Stryer

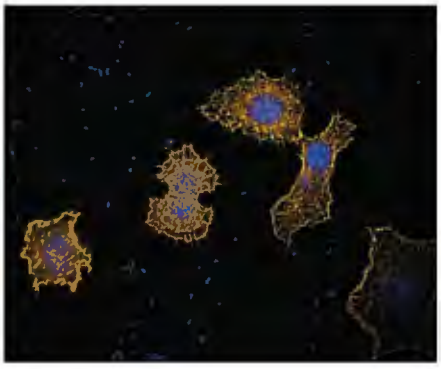
Bioquímica

Curso básico

John L. **Tymoczko**
Jeremy M. **Berg**
Lubert **Stryer**



EDITORIAL REVERTÉ





Bioquímica

CURSO BÁSICO

Traducción de la
segunda edición original



John L. Tymoczko
Jeremy M. Berg
Lubert Stryer

EDITORIAL
REVERTÉ
Barcelona · Bogotá · Buenos Aires · Caracas · México

Título de la obra original:

Biochemistry. A Short Course, Second Edition.

Edición original en lengua inglesa publicada por

W. H. FREEMAN AND COMPANY, New York and Basingstoke
Copyright © 2013, 2010 by W. H. Freeman and Company. *All Rights Reserved*

Edición en español:
© Editorial Reverté, S. A., 2014

Edición en papel:

ISBN: 978-84-291-7603-2

Edición e-book (PDF):

ISBN: 978-84-291-9575-0

Versión española traducida por:

Juan Manuel González Mañas

Dr. en Ciencias Biológicas (Especialidad Bioquímica)
Profesor Titular del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular
Facultad de Ciencia y Tecnología de la Universidad del País Vasco (UPV-EHU)

FORMACIÓN DE INTERIORES: Reverté-Aguilar, S. L.

CORRECCIÓN DE TEXTOS: Carlos Cistué Solá

DISEÑO DE LA CUBIERTA: David Kimura + Gabriela Varela

Propiedad de:

EDITORIAL REVERTÉ, S. A.
Loreto, 13-15. Local B
Tel: (34) 93 419 33 36
08029 Barcelona. España
reverte@reverte.com

www.reverte.com

Reservados todos los derechos. La reproducción total o parcial de esta obra, por cualquier medio o procedimiento, comprendidos la reprografía y el tratamiento informático, y la distribución de ejemplares de ella mediante alquiler o préstamo públicos, queda rigurosamente prohibida sin la autorización escrita de los titulares del copyright, bajo las sanciones establecidas por las leyes.

1407

A nuestros profesores
y a nuestros estudiantes

Sobre los autores

John L. Tymoczko está en posesión de la Cátedra Towsley de Biología en el Carleton College, donde imparte docencia desde 1976. Actualmente enseña Bioquímica, Bases Metabólicas de las Enfermedades Humanas, Oncogenes y Biología Molecular del Cáncer y Bioquímica del Ejercicio, y colabora en la docencia de un curso preliminar: Flujos de Energía en Sistemas Biológicos. En 1970, el profesor Tymoczko se licenció en la Universidad de Chicago y, en 1973, se doctoró en Bioquímica por la Universidad de Chicago bajo la dirección de Shutsung Liao en el Instituto Ben May para la Investigación del Cáncer. Posteriormente, consiguió una plaza posdoctoral con Hewson Swift, del Departamento de Biología de la Universidad de Chicago. Su investigación se ha centrado en receptores de esteroides, partículas de ribonucleoproteína y en el procesamiento de receptores mediante enzimas proteolíticas.

Jeremy M. Berg se licenció y graduó en Química por la Universidad de Stanford (donde investigó junto a Keith Hodgson y Lubert Stryer) y se doctoró en Química por la Universidad de Harvard bajo la dirección de Richard Holm. Posteriormente, consiguió una beca posdoctoral para trabajar en Biofísica bajo la supervisión de Carl Pabo en la Escuela de Medicina de la Universidad Johns Hopkins. Entre 1986 y 1990 fue Profesor Titular del Departamento de Química de la Universidad Johns Hopkins. Después, se trasladó a la Escuela de Medicina de la Universidad Johns Hopkins en calidad de Catedrático y Director del Departamento de Biofísica y Biofísica Química, donde permaneció hasta 2003. Entre 2003 y 2011 prestó sus servicios como Director del Instituto Nacional de Ciencias Médicas en el Instituto Nacional de la Salud. En 2011 se trasladó a la Universidad de Pittsburgh, donde es Vicecanciller Senior Adjunto de Estrategia Científica y Planificación, así como miembro de la facultad en el Departamento de Biología Computacional y de Sistemas. Ha sido galardonado con el Premio de Química Pura otorgado por la *American Chemical Society* (1994), el Premio Eli Lilly para la Investigación Fundamental en Química Biológica (1995), el Premio al Joven Científico más destacado del año en Maryland (1995), el premio Harrison Howe otorgado por la Sección Rochester de la *American Chemical Society* (1997), el premio Howard Schachman al Servicio Público otorgado por la *American Society for Biochemistry and Molecular Biology* (2011) y el premio al Servicio Público otorgado por la *American Chemical Society* (2011). Es miembro del Instituto de Medicina de la Academia Nacional de Ciencias y de la Asociación Americana para el Avance de la Ciencia. Mientras trabajaba en la Universidad Johns Hopkins recibió el premio W. Barry Wood a la Docencia (seleccionado por los estudiantes de medicina), el premio a la Docencia de estudiantes de Grado y el premio al Catedrático Docente en Ciencias Preclínicas.

Lubert Stryer posee la Cátedra Winzer de Biología Celular (en calidad de emérito) en la Escuela de Medicina y es Catedrático emérito de Neurobiología en la Universidad Stanford, en cuya facultad ha permanecido desde 1976. Se graduó en la Escuela de Medicina de Harvard. El profesor Stryer ha sido galardonado con numerosos premios por su investigación sobre las interacciones entre la luz y la vida, incluyendo el premio Eli Lilly para la Investigación Fundamental en Química Biológica y el premio al Inventor más Destacado, otorgado por la *Intellectual Property Owners' Association* y es miembro electo de la Academia Nacional de Ciencias y de la Sociedad Filosófica Americana. En 2006, se le concedió la Medalla Nacional de la Ciencia. La publicación de la primera edición de *Biochemistry*, en 1975, revolucionó la enseñanza de la Bioquímica.

Prefacio

Como seres humanos, somos expertas máquinas de aprendizaje. Mucho antes de que un bebé descubra que es capaz de modificar una hoja de papel haciendo una bola con ella, ya está adquiriendo ingentes cantidades de información. Este aprendizaje prosigue a lo largo de su vida en infinidad de formas: aprendiendo a montar en bici y a copiar hábitos sociales de sus amigos; aprender a conducir un coche y a cuadrar un talonario de cheques; aprender a resolver una ecuación cuadrática y a interpretar una obra de arte.

Gran parte del aprendizaje es necesario para la supervivencia, e incluso los organismos más sencillos aprenden a evitar el peligro y a reconocer el alimento. Sin embargo, los seres humanos tienen un don especial, ya que también adquirimos habilidades y conocimientos para hacer que nuestras vidas sean más plenas y tengan más sentido. Muchos estudiantes saben que leer novelas y ver películas incrementa la calidad de nuestras vidas porque podemos expandir nuestros horizontes colocándonos, a través de otros, en situaciones que nunca experimentaríamos, reaccionando con solidaridad o sin ella ante personajes que nos recuerdan a nosotros mismos o que son muy distintos de cualquier persona que hayamos conocido.

Pero curiosamente nosotros, los profesores de ciencias, a veces olvidamos que los cursos de ciencias pueden resultar enriquecedores o reveladores de nuestra condición humana. Larry Gould, antiguo presidente del Carleton College, fue también geólogo y explorador del Ártico. Como científico, profesor y administrador, estaba muy interesado en la educación científica, sobre todo en cómo se relacionaba con otras disciplinas. En la charla inaugural que ofreció al ser nombrado presidente dijo "la Ciencia es una parte del mismo todo, al igual que la filosofía y los demás campos del conocimiento. No son disciplinas mutuamente excluyentes sino que son interdependientes y se solapan entre sí". Nuestro objetivo era escribir un libro que anime a los estudiantes a considerar la bioquímica desde esta perspectiva más amplia, como una forma de enriquecer su conocimiento del mundo.

La Bioquímica en su contexto

La Bioquímica, por muy esotérica que pueda parecer por sí sola, resulta más fácil de comprender si se estudia en un contexto que afecta al estudiante. A lo largo del libro haremos hincapié en estas conexiones.

Novedades en esta edición

Esta segunda edición incorpora recientes descubrimientos y avances que han cambiado nuestra forma de pensar en relación con los conceptos fundamentales de la bioquímica y de la salud humana. Se ha prestado especial atención a los siguientes temas:

Las **bases metabólicas del cáncer** y el papel de la glucólisis en el cáncer (Capítulos 16 y 18)

Las **funciones bioquímicas de las glicoproteínas** (Capítulo 10)

La **recombinación durante la reparación del DNA** (Capítulo 35)

La **PCR cuantitativa** (Capítulo 41)

En el índice detallado, que comienza en la página xvii, las secciones nuevas se destacan como **NOVEDAD**.

Técnicas experimentales

En esta nueva edición, nuestra descripción de las técnicas experimentales se ha actualizado, ampliado e incluido en la versión impresa del libro de texto. El Capítulo 5, Técnicas en bioquímica de proteínas, y el Capítulo 41, Tecnología del DNA recombinante, describen las técnicas más importantes utilizadas por los bioquímicos en el pasado, así como las nuevas tecnologías que permiten a los bioquímicos realizar descubrimientos en los laboratorios de hoy en día.

El metabolismo en su contexto: dieta y obesidad

Los nuevos conocimientos relacionados con el papel de la leptina en la sensación de hambre y de saciedad han cambiado radicalmente nuestra forma de pensar sobre la obesidad y la creciente epidemia de diabetes. En las secciones "El metabolismo en su contexto" de esta edición, tratamos la integración del metabolismo en relación con la dieta y la obesidad. Mostrando cómo los productos de una ruta afectan, o se ven afectados, por otros, logramos que los estudiantes vuelvan a considerar la visión global de la bioquímica. Los estudiantes ven que las rutas que están estudiando en un momento dado no existen de forma aislada sino que operan en concierto con las otras rutas que ya han estudiado. Por medio de ejemplos de la relación que existe entre el control metabólico y la obesidad, el cáncer y el ejercicio, la conexión entre la vida y la bioquímica se hace visible de una forma mucho más sencilla. El metabolismo de todas las biomoléculas está integrado en los siguientes apartados:

La señalización de la insulina regula el metabolismo (Capítulo 13)

La señalización celular facilita la homeostasis calórica (Capítulo 14)

Los precursores formados por el músculo son utilizados por otros órganos (Capítulo 17)

La descomposición y la síntesis del glucógeno se regulan de forma recíproca (Capítulo 25)

El metabolismo de los ácidos grasos es una fuente de conocimiento sobre diversos estados fisiológicos (Capítulo 27)

En el hígado, el etanol altera el metabolismo energético (Capítulo 28)

Aspectos clínicos

En los Aspectos clínicos, los estudiantes ven cómo los conceptos considerados en ese apartado afectan a un aspecto de una enfermedad o de su curación. Analizando los conceptos bioquímicos en el contexto de una enfermedad, los estudiantes aprenden por qué estos conceptos son relevantes para la vida humana y qué ocurre cuando la bioquímica se descontrola. Algunos ejemplos de las cuestiones que planteamos a lo largo del libro sobre la salud humana incluyen:

¿Por qué a algunas personas les duele el estómago si beben leche? (p. 285)

¿En qué aspectos se parecen, biológicamente hablando, el cáncer y hacer ejercicio? (p. 292)

¿Qué ocurre cuando se altera el metabolismo de los nucleótidos? (p. 568)

¿Cómo surgen las cataratas a partir de un fallo en una ruta bioquímica sencilla? (p. 286)

¿Cómo funciona la aspirina? (p. 201)

¿Por qué ciertos tipos de colesterol permiten predecir ataques al corazón? (p. 512)

¿Qué ocurre cuando los atletas toman esteroides? (p. 514)

¿Por qué los errores en la replicación del DNA pueden producir cáncer? (p. 619)

¿Cómo es posible que se pueda tratar el cáncer induciendo más errores? (pp. 592 y 620)

Aspecto clínico

Mutaciones en el factor de iniciación 2 provocan un curioso estado patológico

Las mutaciones en el factor de iniciación 2 eucariótico dan lugar a una misteriosa enfermedad denominada enfermedad de la sustancia blanca evanescente (VWM), en la que las células nerviosas del cerebro desaparecen y son sustituidas por líquido cerebroespinal (Figura 40.13). La sustancia blanca del cerebro está formada fundamentalmente por axones nerviosos que conectan la sustancia gris del cerebro con el resto del organismo. La muerte, que sobreviene a causa de la fiebre o del coma generalizado, puede producirse en cualquier momento en un intervalo comprendido entre unos pocos años y décadas después de aparecer la enfermedad. Un aspecto particularmente enigmático de la enfermedad es su especificidad tisular. Es de esperar que una mutación en un proceso bioquímico tan importante para la vida como lo es la iniciación de la síntesis de proteínas sea letal o que, por lo menos, afecte a todos los tejidos del organismo. Las enfermedades como la VWM muestran de manera gráfica que, aunque se han realizado grandes avances en bioquímica, todavía se necesita mucha más investigación para comprender la complejidad de la salud y de la enfermedad. ■

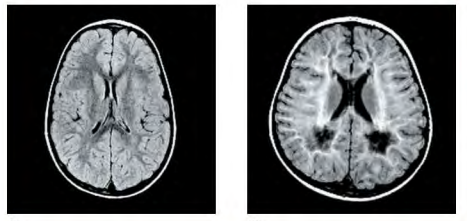


Figura 40.13 Efectos de la enfermedad de la sustancia blanca evanescente. (A) En el cerebro normal, las imágenes obtenidas mediante resonancia magnética (MRI) permiten visualizar la sustancia blanca, que aparece en color gris oscuro. (B) En el cerebro enfermo, la MRI pone de manifiesto que la sustancia blanca es reemplazada por el fluido cerebroespinal, que aparece de color blanco. [Cortesía de Marjo S. van der Knaap, M.D., Ph.D., VU University Medical Center, Holanda.]

Aspectos biológicos

La bioquímica afecta a todos los aspectos de nuestro mundo, a veces de forma extraña y sorprendente. Al igual que los Aspectos clínicos, los Aspectos biológicos refuerzan los conocimientos de los estudiantes sobre los conceptos bioquímicos a medida que aprenden cómo unos sencillos cambios en los procesos bioquímicos pueden tener efectos espectaculares. Nuestro objetivo consiste en enriquecer los conocimientos del estudiante sobre su mundo contestando a preguntas como las siguientes:

¿Cómo digieren las serpientes su alimento antes de comérselo? (p. 242)

¿Qué ocurre cuando las algas respiran demasiado? (p. 362)

¿Por qué se pone duro el pan? (p. 413)

¿Por qué no es una buena idea comer patatas fritas verdes? (p. 395)

¿Cómo funcionan los herbicidas? (p. 403)

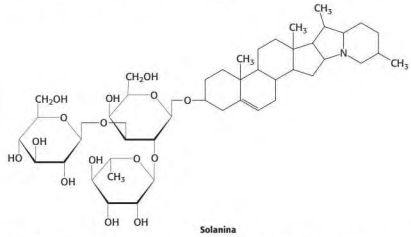
¿Por qué las serpientes son unos cazadores tan eficaces? (p. 206)

¿Cómo puede una mutación en una proteína mitocondrial alterar el comportamiento de los cerdos? (p. 378)

Aspecto biológico

En las patatas, la clorofila sugiere la presencia de una toxina

A la hora de identificar patatas venenosas, la síntesis de clorofila es una señal de advertencia. La luz activa una ruta nociva de las patatas que da lugar a la síntesis de solanina, un alcaloide tóxico. Entre los alcaloides vegetales se incluyen moléculas como la nicotina, la cafeína, la morfina, la cocaína y la codeína.



Solanina

La solanina es tóxica para los animales porque inhibe la acetilcolinesterasa, una enzima crucial para el control de la transmisión de los impulsos nerviosos. Se cree que la planta sintetiza solanina para disuadir a los insectos de que se coman la patata. La luz también hace que las patatas sinteticen clorofila, lo que da lugar a que los tubérculos se vuelvan verdes. Las patatas verdes han estado expuestas a la luz y, por tanto, es probable que también estén sintetizando solanina (Figura 22.9). Por este motivo, es mejor no comer patatas verdes ni patatas fritas que tengan los bordes de color verde. ■



Figura 22.9 Patatas tóxicas. Las patatas expuestas a la luz sintetizan clorofila, lo que da lugar a patatas verdosas. La luz también activa una ruta que provoca la síntesis de solanina, un alcaloide tóxico. Las patatas fritas hechas con patatas expuestas a la luz tienen los bordes verdes. [Science Photo Library/Alamy.]

A modo de referencia rápida para los profesores se incluye, en la página x, una lista de todos los Aspectos clínicos y biológicos.

Ejemplos nutricionales

Existen abundantes ejemplos de la relación subyacente entre la nutrición y la bioquímica. En esta edición, algunos ejemplos responden a preguntas como estas:

¿Por qué dependemos de la vitamina C? (p. 55)

¿Son eficaces los suplementos de CoQ 10? (p. 360)

¿Cómo se pone crujiente la corteza del pan? (p. 414)

¿Por qué la vitamina D es un "esteroide honorario"? (p. 513)

En la página xi hay una lista completa de los ejemplos nutricionales incluidos en esta edición.

Apéndice con enzimas y coenzimas

Hemos incluido un apéndice con un nuevo diseño que incluye nueve vitaminas clave, con información importante, como los principales alimentos donde se encuentran, las enfermedades provocadas por una insuficiencia, la cantidad diaria recomendada y la página del libro en la que se estudia detalladamente cada vitamina. Esta tabla se encuentra en las páginas A6-A15.

Enseñanza y aprendizaje con este libro

Además de proporcionar un marco contextual atractivo para la bioquímica a lo largo del libro, hemos incluido varias alternativas para que los estudiantes comprueben su grado de comprensión, refuercen las conexiones entre las diversas partes del libro y practiquen lo que han aprendido.

Enfoque aplicado en los temas difíciles

Teniendo en cuenta las opiniones de profesores de toda Norteamérica, hemos prestado especial atención a los aspectos que resultan difíciles para los estudiantes, creando nuevas secciones, como, por ejemplo::

Preparar tampones es una tarea frecuente en el laboratorio (Capítulo 2): utiliza un enfoque aplicado para ayudar a los estudiantes a comprender el concepto de pH.

Existen seis clases principales de enzimas (Capítulo 6): ayuda a los estudiantes a reconocer qué pueden hacer las enzimas.

Problemas al final de cada capítulo

Cada capítulo incluye un amplio conjunto de problemas prácticos. En la segunda edición se ha incrementado en un 50% el número de problemas que aparecen al final de cada capítulo.

Problemas para atrevidos es una nueva sección que exige, además de hacer cálculos, conocer las estructuras químicas y los conceptos que resultan difíciles para la mayoría de los estudiantes.

Los **Problemas de interpretación de datos** entrenan a los estudiantes para el análisis de datos y la obtención de conclusiones científicas.

Los **Problemas de integración de capítulos** establecen conexiones entre conceptos que aparecen en diversos capítulos.

Al final del libro, las Soluciones a los Problemas incluyen, de forma breve, las soluciones a todos los problemas que aparecen al final de cada capítulo. Con mucho gusto, ofrecemos soluciones ampliadas en el nuevo libro de acompañamiento *Student Companion*, elaborado por Frank Deis, Nancy Counts Gerber, Richard Gumport y Roger Koeppe. En la página xiii se pueden encontrar más detalles sobre este complemento.

Objetivos de aprendizaje

En clase, los objetivos de aprendizaje se utilizan de muchas formas distintas. Para ayudar a reforzar los conceptos clave al tiempo que el estudiante está leyendo el capítulo, hemos marcado estos conceptos con el símbolo ✓ y un número. Estos distintivos aparecen en la introducción de cada sección, así como en los capítulos en los que se presentan los conceptos clave. También están asociados a algunos problemas del final de cada capítulo para ayudar a los estudiantes a desarrollar habilidades a la hora de resolver problemas y para ayudar a los profesores a la hora de evaluar el grado de comprensión de los estudiantes en relación con algunos de los conceptos clave de cada capítulo.

En este capítulo analizaremos las propiedades de los diversos niveles de la estructura de las proteínas. Posteriormente, investigaremos cómo la estructura primaria determina la estructura tridimensional final.

✓2 Comparar y contrastar los distintos niveles de estructura de las proteínas y cómo se relacionan entre sí.

4.1 Estructura primaria: los aminoácidos se unen mediante enlaces peptídicos para formar cadenas polipeptídicas

Las proteínas son complicadas moléculas tridimensionales, pero su estructura tridimensional depende básicamente de su *estructura primaria* —los *polímeros lineales* formados por la unión del grupo α-carboxilo de un aminoácido con el grupo α-amino de otro aminoácido. El enlace que une los aminoácidos en una proteína se denomina *enlace peptídico* (también llamado *enlace amida*). La formación de un dipéptido a partir de dos aminoácidos va acompañada de la pérdida de una molécula de agua (**Figura 4.1**). En casi todos los casos, el equilibrio de esta reacción está desplazado hacia la hidrólisis en lugar de hacia la síntesis. Por tanto, la biosíntesis de enlaces peptídicos requiere un aporte de energía libre. No obstante, los enlaces peptídicos son bastante estables desde el punto de vista cinético porque la velocidad de hidrólisis es extremadamente baja; en ausencia de catalizador, la vida media de un enlace peptídico en disolución acuosa se aproxima a los 1.000 años.

Anotaciones al margen

En el libro de texto recurrimos a las anotaciones al margen de varias formas para ayudar a captar la atención de los estudiantes, resaltar la importancia de la bioquímica en sus vidas y hacerla más accesible.

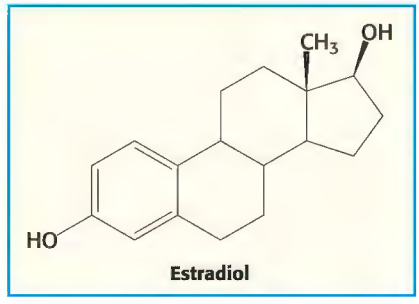
- Las **Preguntas rápidas** permiten a los estudiantes comprobar el grado de comprensión del material a medida que lo leen, de modo que puedan determinar inmediatamente si tienen que repasar un tema o pasar al siguiente. Al final de cada capítulo se pueden encontrar las respuestas a las Preguntas rápidas.

  Las **Estructuras al margen** permiten a los estudiantes entender el tema tratado sin necesidad de ir a buscar una estructura básica o un grupo funcional que se pueda haber visto anteriormente en el libro o en otro curso.

  Los **Hechos al margen** son anotaciones cortas que complementan el tema bioquímico que se está estudiando y que lo relacionan con aspectos de la vida corriente o que permiten vislumbrar qué piensan los científicos sobre la ciencia.

- Las **Vitaminas y Coenzimas** se muestran en el margen, cerca de donde se han citado como parte del mecanismo de una enzima o de una ruta metabólica. Gracias a estas anotaciones al margen, los estudiantes aprenderán cómo se obtienen vitaminas a partir de la dieta y qué pasa cuando no se encuentran en la cantidad suficiente. Estas importantes moléculas y sus estructuras se pueden encontrar en el Apéndice D para ayudar a los estudiantes a encontrar fácilmente dónde se estudia cada vitamina en el libro.

? PREGUNTA RÁPIDA 1 ¿Qué factores determinan el punto de fusión de los ácidos grasos?



Estradiol

Vitamina C

Los seres humanos se encuentran entre los pocos mamíferos que son incapaces de sintetizar la vitamina C. Los productos cítricos son la fuente más habitual de esta vitamina. La vitamina C funciona como un antioxidante general para reducir la presencia de especies reactivas del oxígeno por todo el organismo. Además, actúa como un antioxidante específico manteniendo en estado reducido los metales que necesitan determinadas enzimas, como, por ejemplo, la enzima que sintetiza la hidroxiprolina. [Fotografía de Don Farrell/Digital Vision/Getty Images.]



Aspectos clínicos *En el texto, este icono indica el comienzo de un Aspecto clínico.*

Defectos en la función de los orgánulos (p. 14)
Estados patológicos e ingesta de proteínas (p. 42)
Osteogénesis imperfecta y escorbuto (p. 55)
Enfermedades debidas a un plegamiento defectuoso de las proteínas (p. 61)
Insuficiencia de aldehído deshidrogenasa (p. 108)
Gota (p. 117)
Acción de la penicilina (p. 132)
Obtención de imágenes mediante resonancia magnética funcional (p. 144)
Hemoglobina fetal (p. 146)
Anemia falciforme (p. 147)
Hemoglobina glucosilada (p. 161)
Eritropoyetina (p. 168)
Proteoglicanos (p. 169)
Enfermedad de las células I (p. 172)
Lectinas (p. 173)
Unión del virus de la gripe (p. 173)
Síndrome de Hutchinson-Gilford o progeria (p. 189)
Aplicaciones clínicas de los liposomas (p. 197)
Aspirina e ibuprofeno (p. 201)
Digital e insuficiencia cardiaca congestiva (p. 204)
Multirresistencia a fármacos (p. 204)
Ictiosis arlequín (p. 205)
Cólera y tosferina (p. 221)
Rutas de transducción de señales y cáncer (p. 229)
Inhibidores de la proteína quinasa como fármacos anticancerígenos (p. 230)
Generación de ATP para el ejercicio (p. 254)
Degeneración asociada a la pantotenato quinasa (p. 260)
Intolerancia a la lactosa (p. 285)
Galactosemia (p. 286)
Ejercicio y cáncer (p. 292)
Insulina y diabetes de tipo 2 (p. 309)
Insuficiencia de fosfatasa (p. 324)
Incremento de la actividad de la piruvato deshidrogenasa quinasa y cáncer (p. 325)
Beriberi (p. 325)
Defectos en el ciclo del ácido cítrico y cáncer (p. 340)
Enfermedades mitocondriales (p. 381)
Enfermedad de Hers (p. 430)
Diabetes mellitus (p. 444)
Enfermedades relacionadas con el almacenamiento del glucógeno (p. 445)
Anemia hemolítica (p. 459)
Insuficiencia de carnitina (p. 468)
Inhibidores de la ácido graso sintasa como fármacos (p. 487)
Ácido γ-hidroxibutírico (p. 487)
Modificación de una enzima clave mediante aspirina (p. 489)
Unión a gangliósidos (p. 501)
Síndrome de distrés respiratorio y enfermedad de Tay-Sachs (p. 501)
Hipercolesterolemia y aterosclerosis (p. 510)
El papel de las HDL en la protección contra la ateroesclerosis (p. 512)
Raquitismo y vitamina D (p. 513)
Efectos anabólicos de los andrógenos (p. 514)
Defectos hereditarios del ciclo de la urea (hiperamonemia) (p. 529)
Fenilcetonuria (p. 536)
Niveles elevados de homocisteína y enfermedad vascular (p. 548)
Fármacos anticancerígenos que bloquean la síntesis de timidilato (p. 564)
Adenosina desaminasa y la inmunodeficiencia combinada grave (p. 568)
Gota y niveles elevados de urato (p. 568)
Síndrome de Lesch-Nyhan (p. 569)
Ácido fólico y espina bífida (p. 569)
Daños en el DNA y crecimiento de las células cancerosas (p. 592)
Antibióticos que actúan sobre la DNA girasa (p. 602)
Bloqueo de la telomerasa para el tratamiento del cáncer (p. 609)
Enfermedad de Huntington (p. 614)
Defectos en la reparación del DNA y cáncer (p. 619)
Identificación de carcinógenos químicos (p. 620)
Antibióticos que inhiben la transcripción (p. 637)
Sensibilidad al quórum (p. 640)
Secuencias intensificadoras y cáncer (p. 650)
Células madre pluripotentes inducidas (p. 650)
Receptores de hormonas esteroideas como dianas para fármacos (p. 653)
Mutaciones en el pre-mRNA que causan enfermedades (p. 666)
Maduración alternativa (p. 667)
Enfermedad de la sustancia blanca evanescente (p. 697)
Antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas (p. 698)
Difteria e inhibición de la síntesis de proteínas (p. 699)
Ricina, un inhibidor letal de la síntesis de proteínas (p. 700)
Avances en la tecnología de secuenciación del DNA (p. 719)
Usos de la reacción en cadena de la polimerasa (p. 722)

Aspectos biológicos *En el texto, este icono indica el comienzo de un Aspecto biológico.*

Adaptaciones de la hemoglobina (p. 147)
Glucosinolatos (p. 163)
Grupos sanguíneos (p. 171)
Membranas de arqueobacterias (p. 187)
Canales TRP (*transient receptor potential*) (p. 206)
Enzimas digestivas en el veneno de serpiente (p. 242)
Origen endosimbiótico de las mitocondrias (p. 351)
La zona muerta del Golfo de México (p. 362)
Desacoplamiento regulado y generación de calor (p. 378)
Cloroplastos (p. 391)
Clorofila en las patatas (p. 395)
Herbicidas y las reacciones luminosas de la fotosíntesis (p. 403)
Erupciones volcánicas y fotosíntesis (p. 412)
Endurecimiento del pan (p. 413)
Agotamiento del glucógeno y fatiga (p. 432)
Insuficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (p. 460)
Hibernación y eliminación del nitrógeno (p. 529)
Formas de eliminar el nitrógeno (p. 530)
Sensibilidad al quórum (p. 640)
Avances en la tecnología de secuenciación del DNA (p. 719)
Usos de la reacción en cadena de la polimerasa (p. 722)

Ejemplos nutricionales

Enfermedad por reflujo gastroesofágico (p. 26)
Lisina como un aminoácido esencial (p. 40)
Ácido glutámico para dar sabor (p. 41)
Kwashiorkor e ingesta de proteínas (p. 42)
Vitamina C y escorbuto (p. 55)
Papaína para macerar la carne (p. 94)
Metabolismo del etanol y caras sonrojadas (p. 108)
Regulación defectuosa como causa de la gota (p. 117)
Pepsina y digestión (pp. 127 y 238)
Quimotripsina y digestión (pp. 134 y 239)
Brassicales, herbívoros y cáncer (p. 163)
Sacarosa, lactosa y maltosa (p. 164)
Almidón (p. 165)
Fibra alimentaria (p. 166)
Aceite de oliva (pp. 179 y 182)
Ácidos grasos en la dieta (p. 182)
Absorción de glucosa en el intestino (p. 205)
Pez globo y tetrodotoxina (p. 206)
Proteínas y digestión (pp. 238-240)
Carbohidratos de la dieta y digestión (pp. 240-241)
Lípidos y digestión (pp. 241-242)
Obesidad y homeostasis calórica (pp. 243-244)
Creatina y ejercicio (pp. 254-255)
Moléculas combustible (pp. 255-256)
Pantotenato (p. 260)
Transportadores activados en el metabolismo (p. 261)
Vitaminas del grupo B (p. 262)
Vitaminas que no son coenzimas (pp. 262-263)
Niacina (p. 279)
Etanol (pp. 280-281)
Tiamina (p. 281)
Fermentación en productos alimenticios (pp. 282-283)
Azúcares utilizados como fuente de energía (pp. 283-285)
Intolerancia a la lactosa (p. 285)
Galactosemia (p. 286)
Biotina (p. 303)
Dieta y diabetes de tipo 2 (p 309)
Insuficiencia de piruvato deshidrogenasa fosfatasa y metabolismo de la glucosa (p. 324)
Beriberi e insuficiencia de tiamina (pp. 325-326)
Ácido cítrico y frutos cítricos (p. 332)
Manzanas y ácido málico (p. 337)
Semillas ricas en grasa (p. 341)
Coenzima Q (CoQ 10) (p. 360)
Antioxidantes (p. 364)
Clorofila en las patatas (p. 395)
Feofitina y cocción de verduras verdes (p. 397)
Almidón y síntesis de sacarosa (pp. 412-413)
Por qué se pone duro el pan (pp. 413-414)
Agotamiento del glucógeno y fatiga (432)
Almacenamiento de glucosa en forma de glucógeno (p. 440)
"Carga de carbohidratos" (p. 440)
Metabolismo del glucógeno y diabetes (pp. 444-445)
Estrés oxidativo y glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (p. 459)
Carnitina (p. 468)
Vitamina B_{12} (pp. 472 y 473)
Diabetes y cuerpos cetónicos (p. 475)
Ayuno y cuerpos cetónicos (p. 476)
Ácidos grasos ω (p. 488)
Etanol y metabolismo del hígado (pp. 491-492)
Metabolismo del colesterol (pp. 503-508)
Colesterol "bueno" y "malo" (p. 512)
Esteroides (pp. 512.513)
Vitamina D (pp. 512-514)
Etanol y metabolismo del ácido retinoico (p. 515)
Degradación de aminoácidos (pp. 530-537)
Piridoxina (vitamina B_6) (p. 545)
Aminoácidos esenciales (p. 545)
Gota y urato como oxidante (pp. 568-569)
Insuficiencia de ácido fólico (pp. 569-570)
Identificación de carcinógenos químicos (p. 620)
Procesamiento del azúcar de la leche por *E. coli* (p. 638)
Acción de las hormonas esteroideas (p. 651)
Envenenamiento por ricina (p. 700)
Hierro y control de la síntesis de proteínas (p. 702)
Agarosa (p. 712)

Recursos multimedia y suplementos

Se pone a disposición de profesores y estudiantes un paquete completo de recursos que facilitan el uso de diversas estrategias de enseñanza y aprendizaje. Todos estos recursos se ofrecen en su versión original en inglés y son accesibles a través del siguiente enlace web:
www.reverte.com/microsites/stryercursobasico

Para los estudiantes

Los **Vídeos** que enseñan a resolver problemas, creados por Scott Ensign, de la Universidad del Estado de Utah, suponen una ayuda en red (24 horas al día, 7 días a la semana) para que los estudiantes resuelvan problemas. Mediante una estrategia que consta de dos partes, cada vídeo de 10 minutos cubre un problema clave del libro de texto relacionado con un tema que, tradicionalmente, cuesta dominar a los estudiantes. En primer lugar, el Dr. Ensign describe una estrategia para resolver el problema y, después, aplica esa estrategia al problema en cuestión, siguiendo una serie de pasos claros y concisos. Los estudiantes pueden fácilmente parar el vídeo, rebobinar y repasar cualquiera de los pasos hasta llegar a comprender no solo la solución, sino también el razonamiento subyacente. Esta forma de trabajar con los problemas se ha diseñado para hacer que los estudiantes mejoren y adquieran confianza al aplicar estrategias clave a la hora de resolver otros problemas del libro o de los exámenes.



Las **Figuras Animadas** permiten a los estudiantes visualizar las ilustraciones del libro de texto que muestran la estructura de una proteína en la red, en 3D y de forma interactiva utilizando la herramienta Jmol. Los estudiantes pueden utilizar el zoom y rotar 56 estructuras "vivas" para comprender mejor su naturaleza tridimensional y para poder experimentar con distintas formas de visualización (modelo espacial compacto, esferas y varillas, cintas o esqueleto) gracias a una interfaz muy fácil de usar.

Herramienta de autoevaluación que permite a los estudiantes comprobar sus conocimientos haciendo un examen, en la red, con preguntas de múltiple elección para cada capítulo, así como un examen de preguntas de múltiple elección, a modo de repaso de química general.

Los **Enlaces de Internet** conectan a los estudiantes con el mundo de la bioquímica, más allá del aula.

Para los profesores

Todas las características citadas para los estudiantes, más:

Ficheros optimizados de todas las ilustraciones, fotografías y tablas del libro de texto, incluyendo las estructuras de compuestos frecuentes, para garantizar la máxima claridad y visibilidad en el aula o en la pantalla del ordenador.

Banco de preguntas de tipo test, elaborado por Harvey Nikkel, de la Universidad del Estado del Gran Valle, Susan Knock, de la Universidad Texas A&M en Galves- ton y Joseph Provost, de la Universidad del Estado de Minnesota en Moorhead, y que ofrece más de 1.500 preguntas en formato Word, que se pueden modificar.

Agradecimientos

Damos las gracias a los profesores que han repasado los capítulos de este libro. Su agudeza visual y sus agudos comentarios nos han ido influenciando considerablemente a medida que escribíamos y dábamos forma a los diversos borradores de cada capítulo, hasta llegar a crear la obra completa.

Paul Adams
University of Arkansas
John Amaral
Vancouver Island University
Glenn Barnett
Central College
Lois Bartsch
Kaplan University
Toni Bell
Bloomsburg University of Pennsylvania
Veronic Bezaire
Carleton University
Gary Blomquist
University of Nevada
Jeanne Buccigross
College of Mount St Joseph
Jean A. Cardinale
Alfred University
Natalie Coe
Green Mountain College
Randolph Coleman
College of William & Mary
Scott Covey
University of British Columbia
John Ferguson
Bard College
Jon Friesen
Illinois State University
Alex Georgakilas
East Carolina University
Christina Goode
California State University, Fullerton
Ron Harris
Marymount College
Jane E. Hobson
Kwantlen Polytechnic University
Frans Huijing
University of Miami
Sajith Jayasinghe
California State University, San Marcos
David Josephy
University of Guelph
Julia Koeppe
Ursinus College
Dmitry Kolpashchikov
University of Central Florida
Jodi Kreiling
University of Nebraska, Omaha
Paul Larsen
University of California, Riverside
Guiin Lee
Pennsylvania State University, Abington
Scott Lefler
Arizona State University
Aime Levesque
University of Hartford
Lisa M. Lindert
California Polytechnic State University, San Luis Obispo
Linda Luck
State University of New York, Plattsburgh
John Picione
Daytona State College
Carol Potenza
New Mexico State University
Gary Powell
Clemson University
Terence Puryear
Northeastern Illinois University
David Sabatino
Seton Hall University
Matthew Saderholm
Berea College
Ann Shinnar
Lander College for Men/Touro College
Salvatore Sparace
Clemson University
Narasimha Sreerama
Colorado State University
Jon Stolzfus
Michigan State University
Jeffrey Temple
Southeastern Louisiana University
Jana Villemain
Indiana University of Pennsylvania
Todd Weaver
University of Wisconsin, La Crosse
Wu Xu
University of Louisiana, Lafayette
Laura Zapanta
University of Pittsburgh

Hemos tenido el placer de trabajar con nuestros colegas de W. H. Freeman and Company en una serie de proyectos y, en consecuencia, hemos tenido ocasión de agradecerles sus esfuerzos en numerosas ocasiones. Aunque la sección de agradecimientos puede parecer, necesariamente, algo protocolaria, nuestra gratitud por su esfuerzo y asesoramiento es tan sincera como cuando éramos unos autores sin experiencia. Con esta edición, nuestras experiencias han resultado tan agradables y gratificantes como en nuestros anteriores proyectos. Sin lugar a dudas, nuestros colaboradores en Freeman son gente inteligente, motivada y cuidadosa que sabe cómo emprender proyectos estresantes, aunque estimulantes, y reducir el estrés sin menoscabar la excitación. Tenemos que expresar nuestro agradecimiento a muchas personas por esta experiencia. En primer lugar, nos gustaría reconocer el apoyo, la paciencia, los excelentes consejos y el buen humor de nuestra editora Kate Ahr Parker. Kate es capaz de sugerir retos difíciles con tanta gracia y ecuanimidad que resulta sencillo aceptar el desafío. En esta edición se ha incorporado un nuevo miembro al equipo del libro, Anna Bristow, que ha sido nuestra guía, aunque su puesto se denomine editora de desarrollo. Anna es otro ejemplo más de los destacados editores de desarrollo de Freeman con los que hemos tenido el placer de trabajar. Su saber hacer, su paciencia y su asesoramiento han hecho que este esfuerzo haya tenido éxito y que haya resultado divertido. Georgia Lee Hadler, editora jefe del proyecto, gestionó la trayectoria del proyecto y su maquetación global con su admirable eficacia de siempre. Patricia Zimmerman, la editora del manuscrito, mejoró la coherencia literaria y la claridad del texto. Vicki Tomaselli, gestora de diseño, y Patrice Sheridan, diseñadora, contribuyeron a que el libro tenga un aspecto atrayente y accesible. Christine Buese y Ramón Rivera Morest, editora de fotografía e investigador fotográfico, respectivamente, encontraron las fotografías que nos ayudaron a lograr uno de nuestros principales objetivos —conectar la bioquímica con el día a día del estudiante. Janice Donnola, coordinadora de ilustraciones, dirigió hábilmente el aspecto final de las nuevas ilustraciones. Paul Rohloff, gerente de producción, se aseguró de que se pudiesen solventar fácilmente las dificultades de agenda, composición y fabricación. Debbie Clare, directora adjunta de mercadotecnia, presentó esta segunda edición al mundo académico con el mismo entusiasmo que empleó en la primera edición. Nuestra gratitud hacia el personal de ventas de W. H. Freeman por su apoyo entusiasta es mayor de lo que se puede expresar con palabras. Sin los esfuerzos del equipo de ventas por convencer a los profesores para que examinen nuestro libro, toda nuestra ilusión y nuestro entusiasmo por este libro se habrían quedado en nada. También queremos dar las gracias a Elizabeth Widdicombe, presidenta de W. H. Freeman and Company. Su visión sobre los libros de texto de ciencias y su habilidad a la hora de reunir un equipo humano excepcional hace que trabajar con W. H. Freeman sea un auténtico placer.

Aparte del equipo de Freeman, damos las gracias a Adam Steinberg, de la Universidad de Wisconsin, por las ilustraciones de los nuevos modelos moleculares y a Lois Bartsch, de la Universidad Kaplan y a Jean A. Cardinale, de la Universidad Alfred, por su meticulosa búsqueda de erratas. John Amaral, de la Universidad de la Isla de Vancouver, Lisa M. Lindert, de la Universidad Politécnica del Estado de California en San Luis Obispo y a Scott Lefler, de la Universidad del Estado de Arizona han leído todos y cada uno de los capítulos y han comprobado la precisión y la claridad de las ilustraciones. Les estamos muy agradecidos por sus numerosos comentarios y sugerencias. Damos las gracias especialmente a Greg Gatto, investigador de GlaxoSmithKline, que ha sido nuestro comunicador social para las ideas y para los problemas, consejero científico, revisor y chico para todo en cuestiones científicas. Sus contribuciones al éxito de esta empresa han sido maravillosas. También queremos dar las gracias a nuestros colegas, tanto de nuestras propias instituciones como de todo el país, que han contestado pacientemente a nuestras preguntas y nos han animado en nuestro empeño. Por último, tenemos una deuda de gratitud con nuestras familias. Sin su apoyo, consuelo y comprensión, nunca se habría emprendido este proyecto y, mucho menos, se habría completado con éxito.

Índice resumido

PARTE I
EL DISEÑO MOLECULAR DE LA VIDA

SECCIÓN 1 La Bioquímica nos ayuda a comprender nuestro mundo 1
Capítulo 1 La Bioquímica y la unidad de la vida 3
Capítulo 2 Agua, enlaces débiles y la generación de orden a partir del caos 17

SECCIÓN 2 Estructura y composición de las proteínas 33
Capítulo 3 Aminoácidos 35
Capítulo 4 Estructura tridimensional de las proteínas 45
Capítulo 5 Técnicas en bioquímica de proteínas 67

SECCIÓN 3 Conceptos básicos y cinética de las enzimas 91
Capítulo 6 Conceptos básicos sobre la actividad de las enzimas 93
Capítulo 7 Cinética y regulación 105
Capítulo 8 Mecanismos e inhibidores 125
Capítulo 9 La hemoglobina, una proteína alostérica 141

SECCIÓN 4 Carbohidratos y lípidos 155
Capítulo 10 Carbohidratos 157
Capítulo 11 Lípidos 179

SECCIÓN 5 Membranas celulares, canales, bombas y receptores 193
Capítulo 12 Estructura y función de las membranas 195
Capítulo 13 Rutas de transducción de señales 215

PARTE II
TRANSDUCCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE ENERGÍA

SECCIÓN 6 Los inhibidores de las proteína quinasas pueden ser eficaces fármacos anticancerosos 235
Capítulo 14 Digestión: convertir una comida en compuestos bioquímicos celulares 237
Capítulo 15 Metabolismo: conceptos básicos y diseño 247

SECCIÓN 7 Glucólisis y Gluconeogénesis 269
Capítulo 16 Glucólisis 271
Capítulo 17 Gluconeogénesis 299

SECCIÓN 8 El ciclo del ácido cítrico 315
Capítulo 18 Preparación del ciclo 317
Capítulo 19 Extracción de electrones mediante el ciclo 329

SECCIÓN 9 Fosforilación oxidativa 347
Capítulo 20 La cadena transportadora de electrones 349
Capítulo 21 La fuerza protón-motriz 367

SECCIÓN 10 Las reacciones luminosas de la fotosíntesis y el ciclo de Calvin 387
Capítulo 22 Las reacciones luminosas 389
Capítulo 23 El ciclo de Calvin 407

SECCIÓN 11 Metabolismo del glucógeno y ruta de las pentosas fosfato 421
Capítulo 24 Degradación del glucógeno 423
Capítulo 25 Síntesis del glucógeno 437
Capítulo 26 La ruta de las pentosas fosfato 451

SECCIÓN 12 Metabolismo de los ácidos grasos y de los lípidos 463
Capítulo 27 Degradación de los ácidos grasos 465
Capítulo 28 Síntesis de los ácidos grasos 481
Capítulo 29 Síntesis de lípidos 497

SECCIÓN 13 El metabolismo de las moléculas que contienen nitrógeno 521
Capítulo 30 Degradación de aminoácidos y el ciclo de la urea 523
Capítulo 31 Síntesis de aminoácidos 541
Capítulo 32 Metabolismo de nucleótidos 555

PARTE III
SÍNTESIS DE LAS MOLÉCULAS DE LA VIDA

SECCIÓN 14 Estructura de los ácidos nucleicos y replicación del DNA 575
Capítulo 33 Estructura de las macromoléculas que contienen información: DNA y RNA 577
Capítulo 34 Replicación del DNA 597
Capítulo 35 Reparación y recombinación del DNA 613

SECCIÓN 15 Síntesis, maduración y regulación del RNA 627
Capítulo 36 Síntesis y regulación del RNA en bacterias 629
Capítulo 37 Expresión génica en eucariotas 645
Capítulo 38 Maduración del RNA en eucariotas 661

SECCIÓN 16 Síntesis de proteínas y tecnología del DNA recombinante 675
Capítulo 39 El código genético 679
Capítulo 40 El mecanismo de la síntesis de proteínas 689
Capítulo 41 Tecnología del DNA recombinante 709

Índice

PARTE I
EL DISEÑO MOLECULAR DE LA VIDA

SECCIÓN 1 La Bioquímica nos ayuda a comprender nuestro mundo 1

Capítulo 1 La Bioquímica y la unidad de la vida 3

1.1 Los sistemas vivos necesitan un repertorio limitado de átomos y moléculas 4

1.2 Hay cuatro clases principales de biomoléculas 5

Las proteínas son biomoléculas muy versátiles 5

Los ácidos nucleicos son las moléculas de la célula que almacenan información 6

Los lípidos son una forma de almacenamiento de combustible y actúan a modo de barrera 6

Los carbohidratos son moléculas combustible y almacenan información 7

1.3 El dogma central describe los principios básicos de la transferencia de información biológicar 7

1.4 Las membranas delimitan la célula y desempeñan funciones celulares 8

Las funciones bioquímicas se encuentran confinadas en los compartimentos celulares 11

Algunos orgánulos procesan y seleccionan proteínas e intercambian materiales con el entorno 12

Aspecto clínico Fallos en la función de los orgánulos pueden dar lugar a enfermedades 14

Capítulo 2 Agua, enlaces débiles y la generación de orden a partir del caos 17

2.1 Los movimientos térmicos aportan la energía para las interacciones biológicas 18

2.2 Las interacciones bioquímicas tienen lugar en una disolución acuosa 18

2.3 Las interacciones débiles son importantes propiedades bioquímicas 20

Las interacciones electrostáticas se producen entre cargas eléctricas 20

Los puentes de hidrógeno se forman entre un átomo electronegativo y el hidrógeno 21

Las interacciones de van der Waals dependen de la asimetría transitoria de las cargas eléctricas 21

Los enlaces débiles permiten establecer interacciones de forma repetida 22

2.4 Las moléculas hidrofóbicas se agrupan entre sí 22

La formación de membranas está impulsada por el efecto hidrofóbico 23

El plegamiento de las proteínas está impulsado por el efecto hidrofóbico 24

Los grupos funcionales presentan propiedades químicas específicas 24

2.5 El pH es un parámetro importante de los sistemas bioquímicos 26

Una pequeña fracción del agua se ioniza 26

Un ácido es un donador de protones mientras que una base es un aceptor de protones 27

Los ácidos tienen distinta tendencia a ionizarse 27

Los tampones oponen resistencia a los cambios de pH 28

Los tampones son esenciales en los sistemas biológicos 29

NUEVO Preparar tampones es una tarea frecuente en el laboratorio 30

SECCIÓN 2 Estructura y composición de las proteínas 33

Capítulo 3 Aminoácidos 35

Las biomoléculas se representarán de dos formas distintas 35

3.1 Las proteínas se construyen a partir de un repertorio de 20 aminoácidos 36

La mayoría de los aminoácidos se presentan en dos formas que son imágenes especulares entre sí 36

Todos los aminoácidos presentan al menos dos grupos cargados 36

3.2 Los aminoácidos contienen una amplia gama de grupos funcionales 37

Los aminoácidos hidrofóbicos contienen, principalmente, cadenas laterales hidrocarbonadas 37

Los aminoácidos polares tienen cadenas laterales que presentan un átomo electronegativo 39

Los aminoácidos cargados positivamente son hidrofílicos 40

Los aminoácidos cargados negativamente presentan cadenas laterales ácidas 41

Las cadenas laterales ionizables incrementan la reactividad y la formación de enlaces 41

3.3 Los aminoácidos esenciales deben obtenerse a partir de la dieta 42

Aspecto clínico La ingesta inadecuada de proteínas da lugar a estados patológicos 42

Capítulo 4 Estructura tridimensional de las proteínas 45

4.1 Estructura primaria: los aminoácidos se unen por medio de enlaces peptídicos para formar cadenas polipeptídicas 46

Cada proteína tiene una secuencia de aminoácidos única, especificada en los genes 47

Aunque las cadenas polipeptídicas son flexibles, existen restricciones conformacionales 48

4.2 Estructura secundaria: las cadenas polipeptídicas se pueden plegar para dar lugar a estructuras regulares 50

La hélice alfa es una estructura enrollada estabilizada por puentes de hidrógeno intracatenarios 50

Las hojas beta se estabilizan mediante puentes de hidrógeno entre hebras polipeptídicas 51

Las cadenas polipeptídicas pueden cambiar de dirección formando giros de 180° y bucles 53

Las proteínas fibrosas proporcionan soporte estructural a células y tejidos 53

NUEVO Aspecto clínico Defectos en la estructura del colágeno dan lugar a estados patológicos 55

4.3 Estructura terciaria: las proteínas hidrosolubles se pliegan formando estructuras compactas 55

La mioglobina ilustra los principios de la estructura terciaria 55

La estructura terciaria de muchas proteínas se puede dividir en unidades funcionales y estructurales 57

4.4 Estructura cuaternaria: múltiples cadenas polipeptídicas se pueden ensamblar para formar una única proteína 57

4.5 La secuencia de aminoácidos de una proteína determina su estructura tridimensional 58
Las proteínas se pliegan mediante la estabilización progresiva de intermediarios en vez de mediante búsquedas aleatorias 59
NUEVO Algunas proteínas están intrínsecamente desestructuradas y pueden existir en múltiples conformaciones 60
Aspecto clínico Algunas enfermedades neurológicas están relacionadas con el plegamiento defectuoso y la agregación de proteínas 61

Capítulo 5 Técnicas en bioquímica de proteínas 67

5.1 El proteoma es la representación funcional del genoma 68
5.2 La purificación de una proteína es el primer paso para comprender su función 68
Las proteínas se pueden purificar gracias a sus distintas propiedades químicas 69
Para purificarlas, las proteínas tienen que ser extraídas de la célula 69
Las proteínas se pueden purificar en función de su solubilidad, de su tamaño, de su carga o de su afinidad hacia un ligando 70
Las proteínas se pueden separar y visualizar mediante electroforesis en gel 72
Un protocolo de purificación se puede evaluar de forma cuantitativa 75
5.3 Para purificar y caracterizar proteínas se utilizan técnicas inmunológicas 76
La centrifugación es una técnica que permite separar proteínas 76
El ensayo que detecta la presencia del complejo estradiol-receptor consiste en una centrifugación en gradiente 77
Se pueden generar anticuerpos contra proteínas específicas 78
Es posible preparar de forma sencilla anticuerpos monoclonales con prácticamente cualquier tipo de especificidad que deseemos 79
El receptor de estrógenos se puede purificar mediante inmunoprecipitación 81
Se pueden detectar y cuantificar proteínas mediante un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas 82
La transferencia Western permite detectar proteínas que han sido previamente separadas por electroforesis en gel 82
5.4 La determinación de la estructura primaria facilita el estudio de la función de las proteínas 84
Las secuencias de aminoácidos ofrecen información de diversa índole 86

SECCIÓN 3 Conceptos básicos y cinética de las enzimas 91

Capítulo 6 Conceptos básicos sobre la actividad de las enzimas 93

6.1 Las enzimas son catalizadores potentes y muy específicos 93
Las enzimas proteolíticas ilustran el intervalo de especifidad enzimática 94
NUEVO Existen seis clases principales de enzimas 94
6.2 Muchas enzimas necesitan cofactores para llevar a cabo su actividad 95
6.3 La energía libre es una función termodinámica útil para comprender las enzimas 96
El incremento de energía libre aporta información sobre la espontaneidad pero no sobre la velocidad de una reacción 96
El incremento de energía libre estándar de una reacción está relacionado con la constante de equilibrio 97
Las enzimas alteran la velocidad de la reacción pero no el equilibrio de la reacción 98
6.4 Las enzimas facilitan la formación del estado de transición 99
El primer paso de la catálisis enzimática es la formación de un complejo enzima-sustrato 100
Los centros activos de las enzimas poseen algunas características comunes 100
La energía de la unión entre una enzima y su sustrato es importante para la catálisis 101
Los análogos de los estados de transición son potentes inhibidores de las enzimas 101

Capítulo 7 Cinética y regulación 105

7.1 La cinética es el estudio de las velocidades de reacción 106
7.2 El modelo de Michaelis-Menten describe la cinética de muchas enzimas 107
Aspecto clínico Los cambios en la K_M pueden tener consecuencias fisiológicas 108
Los valores de K_M y $V_{máx}$ se pueden determinar de varias formas 109
Los valores de K_M y $V_{máx}$ son características importantes de las enzimas 109
El cociente K_{cat}/K_M es una medida de la eficiencia catalítica 110
La mayoría de las reacciones bioquímicas incluyen múltiples sustratos 111
7.3 Las enzimas alostéricas son catalizadores y sensores de información 112
Las enzimas alostéricas se regulan mediante los productos de las rutas que se encuentran bajo su control 112
Las enzimas reguladas alostéricamente no se ajustan a la cinética de Michaelis-Menten 114
Las enzimas alostéricas dependen de cambios en la estructura cuaternaria 114
Moléculas reguladoras modulan el equilibrio R $\rightleftharpoons$ T 116
El modelo secuencial también puede explicar los efectos alostéricos 116
Aspecto clínico La pérdida de control alostérico puede dar lugar a estados patológicos 117
7.4 Las moléculas de enzima se pueden estudiar de una en una NUEVO 117

Capítulo 8 Mecanismos e inhibidores 125

8.1 Existen muchas enzimas, pero utilizan unas pocas estrategias básicas 125
8.2 La actividad enzimática se puede modular mediante la temperatura, el pH y moléculas inhibidoras 126
La temperatura incrementa la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas 126
La mayoría de las enzimas tienen un pH óptimo 127
Las enzimas se pueden inhibir mediante moléculas específicas 128
Los inhibidores reversibles se pueden distinguir gracias a sus cinéticas 129

Los inhibidores irreversibles se pueden utilizar para trazar el mapa del centro activo 131
Aspecto clínico La penicilina inactiva de forma irreversible una enzima clave de la síntesis de la pared celular bacteriana 132
8.3 La quimotripsina ilustra los principios básicos de la catálisis y de la inhibición 134
La serina 195 es necesaria para la actividad de la quimotripsina 134
El mecanismo de la quimotripsina tiene lugar en dos etapas conectadas a través de un intermediario unido de forma covalente 135
El papel catalítico de la histidina 57 se demostró mediante marcaje por afinidad 136
La serina forma parte de una tríada catalítica que incluye a la histidina y al ácido aspártico 136

Capítulo 9 La hemoglobina, una proteína alostérica 141

9.1 La hemoglobina muestra un comportamiento cooperativo 142
9.2 La mioglobina y la hemoglobina se unen al oxígeno por los grupos hemo 142
Aspecto clínico La obtención de imágenes por resonancia magnética funcional pone de manifiesto las regiones del cerebro que procesan la información sensorial 144
9.3 La hemoglobina se une al oxígeno de forma cooperativa 144
9.4 Un regulador alostérico determina la afinidad de la hemoglobina hacia el oxígeno 146
Aspecto clínico La afinidad de la hemoglobina hacia el oxígeno se ajusta para adaptarse a las necesidades del entorno 146
Aspecto biológico Las adaptaciones de la hemoglobina permiten el transporte de oxígeno en ambientes extremos 147
Aspecto clínico La anemia falciforme es una enfermedad causada por una mutación en la hemoglobina 147
9.5 Los iones hidrógeno y el dióxido de carbono promueven la liberación del oxígeno 149

SECCIÓN 4 Carbohidratos y lípidos 155

Capítulo 10 Carbohidratos 157

10.1 Los monosacáridos son los carbohidratos más sencillos 158
Muchos de los azúcares más frecuentes son moléculas cíclicas 159
Aspecto clínico La formación de hemiacetales cíclicos origina un nuevo carbono asimétrico 161
Los monosacáridos se unen a alcoholes y aminas mediante enlaces glicosídicos 162
NUEVO Aspecto biológico Los glucosinolatos protegen a las plantas y añaden sabor a nuestra dieta 163
10.2 Los monosacáridos se unen para formar carbohidratos complejos 163
Enzimas específicas son responsables del ensamblaje de los oligosacáridos 163
La sacarosa, la lactosa y la maltosa son los disacáridos más frecuentes 164
El glucógeno y el almidón son formas de almacenamiento de la glucosa 165
La celulosa, un componente estructural de las plantas, está formada por unidades de glucosa 165
10.3 Los carbohidratos se unen a proteínas para formar glicoproteínas 167
Los carbohidratos se pueden unir a los residuos de asparagina, serina o treonina de las proteínas 167
Aspecto clínico La hormona eritropoyetina es una glicoproteína 168
Los proteoglicanos, formados por polisacáridos y proteínas, tienen importantes funciones estructurales 168
Aspecto clínico Los proteoglicanos son componentes importantes del cartílago 169
Las mucinas son glicoproteínas que forman parte del moco 170
Aspecto biológico Los grupos sanguíneos se basan en los patrones de glicosilación de las proteínas 171
Aspecto clínico La falta de glicosilación puede dar lugar a estados patológicos 172
10.4 Las lectinas son proteínas que se unen a carbohidratos de forma específica 172
Las lectinas promueven la interacción entre células 173
Aspecto clínico Las lectinas facilitan el desarrollo embrionario 173
Aspecto clínico El virus de la gripe se une a residuos de ácido siálico 173

Capítulo 11 Lípidos 179

11.1 Los ácidos grasos son una importante fuente de combustibles 180
Los ácidos grasos varían en la longitud de la cadena y en el grado de saturación 181
El grado y el tipo de insaturación son importantes para la salud 182
11.2 Los triacilgliceroles constituyen la forma de almacenamiento de los ácidos grasos 183
11.3 Los lípidos de las membranas son de tres tipos 184
Los fosfolípidos son los lípidos de membrana más abundantes 184
Los lípidos de membrana pueden incluir carbohidratos 186
Los esteroides son lípidos con funciones diversas 186
Aspecto biológico Las membranas de los extremófilos están formadas por lípidos que contienen enlaces éter y cadenas ramificadas 187
Los lípidos de membrana contienen una región hidrofílica y una región hidrofóbica 187
Algunas proteínas se modifican por la unión covalente de grupos hidrofóbicos 188
Aspecto clínico El envejecimiento prematuro puede ser el resultado de la incorrecta unión de un grupo hidrofóbico a una proteína 189

SECCIÓN 5 Membranas celulares, canales, bombas y receptores 193

Capítulo 12 Estructura y función de las membranas 195

12.1 Los fosfolípidos y los glicolípidos forman bicapas 196
Aspecto clínico Se pueden formar vesículas lipídicas a partir de fosfolípidos 197
Las bicapas lipídicas son muy impermeables a los iones y a la mayoría de las moléculas polares 197

12.2 La fluidez de la membrana se controla mediante la composición de ácidos grasos y el contenido de colesterol 198
12.3 Las proteínas desempeñan la mayoría de los procesos que tienen lugar en la membrana 199
Las proteínas se asocian con la bicapa lipídica de varias formas 199
Aspecto clínico La asociación de la prostaglandina H_2-sintasa I con la membrana explica los efectos de la aspirina 201
12.4 Los lípidos y muchas proteínas de membrana difunden lateralmente en el plano de la membrana 201
12.5 Una de las principales funciones de las proteínas es la de actuar como transportadores 202
En muchas células, la ATPasa de Na^+-K^+ es un importante sistema de bombeo 203
Aspecto clínico La digital inhibe la bomba de Na^+-K^+ bloqueando su desfosforilación 204
Aspecto clínico La multirresistencia a fármacos pone de relieve la importancia de una familia de bombas de membrana con dominios de unión al ATP 204
Aspecto clínico La ictiosis arlequín es una dramática consecuencia de una mutación en una proteína transportadora de tipo ABC 205
Los transportadores secundarios utilizan un gradiente de concentración para impulsar la formación de otro gradiente 205
Los canales específicos pueden transportar iones rápidamente a través de las membranas 206
NUEVO Aspecto biológico Las serpientes de cascabel venenosas utilizan canales iónicos para generar una imagen térmica 206
La estructura del canal de iones potasio desvela los fundamentos de la especificidad iónica 207
La estructura del canal de iones potasio explica su elevada velocidad de transporte 208

Capítulo 13 Rutas de transducción de señales 215
13.1 La transducción de señales depende de circuitos moleculares 216
13.2 Proteínas receptoras transmiten información al interior de la célula 217
Los receptores con siete hélices transmembrana cambian de conformación en respuesta a la unión de ligandos y activan las proteínas G 217
La unión de ligandos a los receptores 7TM da lugar a la activación de proteínas G 218
Las proteínas G activadas transmiten señales uniéndose a otras proteínas 219
El AMP cíclico estimula la fosforilación de muchas proteínas diana mediante la activación de la proteína quinasa A 219
Las proteínas G se reinician a sí mismas de forma espontánea mediante la hidrólisis de GTP 220
Aspecto clínico El cólera y la tosferina se deben a una alteración de la actividad de las proteínas G 221
La hidrólisis del fosfatidilinositol bisfosfato por parte de la fosfolipasa C genera dos mensajeros secundarios 222
13.3 Algunos receptores dimerizan en respuesta a la unión de ligandos y reclutan a las tirosina quinasas 223
La dimerización de receptores puede dar lugar al reclutamiento de la tirosina quinasa 223
Algunos receptores contienen dominios de la tirosina quinasa en sus estructuras covalentes 224
Ras pertenece a otra clase de proteínas G señalizadoras 226
13.4 El metabolismo en su contexto: la señalización de la insulina regula el metabolismo 226
El receptor de la insulina es un dímero que se cierra en torno a una molécula de insulina unida 227
Una vez activada, la quinasa del receptor de la insulina inicia una cascada de quinasas 227
La señalización de la insulina finaliza gracias a la acción de las fosfatasas 228
13.5 El ion calcio es un mensajero citoplasmático ubicuo 228
13.6 Defectos en las rutas de transducción de señales pueden provocar enfermedades 229
Aspecto clínico La conversión de proto-oncogenes en oncogenes desbarata la regulación del crecimiento celular 229
Aspecto clínico Los inhibidores de las proteína quinasas pueden ser eficaces fármacos anticancerosos 230

PARTE II
TRANSDUCCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE ENERGÍA

SECCIÓN 6 Los inhibidores de las proteína quinasas pueden ser eficaces fármacos anticancerosos 235

Capítulo 14 Digestión: convertir una comida en compuestos bioquímicos celulares 237
14.1 La digestión prepara las biomoléculas grandes para ser utilizadas por el metabolismo 238
14.2 Las proteasas digieren las proteínas a aminoácidos y péptidos 238
14.3 Los carbohidratos de la dieta se digieren por la alfa-amilasa 240
14.4 La digestión de los lípidos se complica por su hidrofobicidad 241
Aspecto biológico Los venenos de serpiente digieren desde fuera hacia dentro 242
14.5 NUEVO El metabolismo en su contexto: la señalización celular facilita la homeostasis calórica 243
El cerebro juega un papel fundamental en la homeostasis calórica 243
Las señales del tracto gastrointestinal inducen la sensación de saciedad y facilitan la digestión 244
La leptina y la insulina regulan el control a largo plazo de la homeostasis calórica 244

Capítulo 15 Metabolismo: conceptos básicos y diseño 247
15.1 El metabolismo se compone de multitud de reacciones interconectadas 248
El metabolismo consta de reacciones que producen energía y de reacciones que requieren energía 249
Una reacción favorable desde el punto de vista termodinámico puede impulsar una reacción desfavorable 249
15.2 El ATP es la moneda universal de la energía libre 250
La hidrólisis del ATP es exergónica 250

La hidrólisis del ATP impulsa el metabolismo desplazando el equilibrio de las reacciones acopladas 251
El elevado potencial de transferencia de fosforilos del ATP da lugar a diferencias estructurales entre el ATP y los productos de su hidrólisis 252
El potencial de transferencia de fosforilos es una importante forma de transformación de energía celular 253
Aspecto clínico El ejercicio recurre a varios métodos para generar ATP 254
15.3 La oxidación de combustibles carbonados es una importante fuente de energía celular 255
La oxidación del carbono va acompañada de una reducción 255
Los compuestos con un elevado potencial de transferencia de fosforilos pueden acoplar la oxidación del carbono a la síntesis de ATP 256
15.4 Las rutas metabólicas presentan multitud de aspectos recurrentes 257
Los transportadores activados son un ejemplo del diseño modular y de la economía del metabolismo 257
Aspecto clínico La falta de pantotenato activado da lugar a problemas neurológicos 260
Muchos transportadores activados se generan a partir de vitaminas 261
15.5 Los procesos metabólicos se regulan, principalmente, de tres maneras 263
Se controla la cantidad de enzima 263
Se regula la actividad catalítica 264
Se controla la accesibilidad de los sustratos 264

SECCIÓN 7 Glucólisis y Gluconeogénesis 269

Capítulo 16 Glucólisis 271
16.1 La glucólisis es una ruta de conversión de la energía 272
La hexoquinasa atrapa la glucosa en la célula e inicia la glucólisis 272
La fructosa 1,6-bisfosfato se genera a partir de la glucosa 6-fosfato 274
El azúcar de seis átomos de carbono se rompe en dos fragmentos de tres átomos de carbono 275
La oxidación de un aldehído impulsa la formación de un compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos 276
Se forma ATP mediante la transferencia de fosforilos a partir del 1,3-bisfosfoglicerato 277
Se genera otro ATP durante la formación del piruvato 278
Durante la conversión de glucosa en piruvato se forman dos moléculas de ATP 279
16.2 El metabolismo del piruvato regenera el NAD^+ 279
Las fermentaciones son una forma de oxidar el NADH 279
En ausencia de oxígeno, las fermentaciones proporcionan energía útil 282
16.3 La fructosa y la galactosa se convierten en intermediarios de la glucólisis 283
Aspecto clínico Muchos adultos sufren intolerancia a la leche por una insuficiencia de lactasa 285
Aspecto clínico La galactosa es muy tóxica si falta la transferasa 286
16.4 La ruta glucolítica está sometida a un control muy riguroso 287
En el músculo, la glucólisis se regula mediante retroinhibición para satisfacer las necesidades de ATP 287
En el hígado, su versatilidad bioquímica se encarga de regular la glucólisis 288
Una familia de transportadores permite a la glucosa entrar y salir de las células animales 291
Aspecto clínico El cáncer y el ejercicio afectan a la glucólisis de forma similar 292
16.5 El metabolismo en su contexto: la glucólisis ayuda a las células beta del páncreas a detectar la glucosa 293

Capítulo 17 Gluconeogénesis 299
17.1 Se puede sintetizar glucosa a partir de precursores distintos de los carbohidratos 300
La gluconeogénesis no es exactamente la inversa de la glucólisis 300
La conversión de piruvato en fosfoenolpiruvato comienza con la formación de oxalacetato 302
El oxalacetato es enviado al citoplasma y se convierte en fosfoenolpiruvato 304
La conversión de fructosa 1,6-bisfosfato en fructosa 6-fosfato y ortofosfato es una reacción irreversible 304
La generación de glucosa libre es un punto de control importante 305
Para sintetizar glucosa a partir de piruvato se consumen seis grupos fosforilo con un elevado potencial de transferencia 305
17.2 La gluconeogénesis y la glucólisis se regulan de forma recíproca 306
La carga energética determina qué ruta es más activa, la glucólisis o la gluconeogénesis 306
En el hígado, el equilibrio entre la glucólisis y la gluconeogénesis es sensible a la concentración de glucosa en la sangre 307
Aspecto clínico En la diabetes de tipo 2, la insulina no consigue inhibir la gluconeogénesis 309
Los ciclos del sustrato amplifican las señales metabólicas 309
17.3 El metabolismo en su contexto: los precursores formados por el músculo son utilizados por otros órganos 310

SECCIÓN 8 El ciclo del ácido cítrico 315

Capítulo 18 Preparación del ciclo 317
18.1 La piruvato deshidrogenasa forma acetil-coenzima A a partir de piruvato 318
La síntesis de acetil-coenzima A a partir de piruvato requiere tres enzimas y cinco coenzimas 319
Conectores flexibles permiten que la lipoamida se mueva entre centros activos distintos 321

18.2 El complejo piruvato deshidrogenasa se regula por medio de dos mecanismos 323
Aspecto clínico Una regulación defectuosa de la piruvato deshidrogenasa da lugar a la acidosis láctica 324
NUEVO Aspecto clínico La intensificación de la actividad de la piruvato deshidrogenasa quinasa facilita el desarrollo del cáncer 325
Aspecto clínico La interrupción del metabolismo del piruvato es la causa del beriberi 325

Capítulo 19 Extracción de electrones mediante el ciclo 329

19.1 El ciclo del ácido cítrico consta de dos etapas 330
19.2 La primera etapa oxida dos átomos de carbono para conseguir electrones de alta energía 330
La citrato sintasa forma citrato a partir de oxalacetato y acetil-coenzima A 330
El mecanismo de la citrato sintasa evita reacciones no deseadas 331
El citrato se isomeriza a isocitrato 332
El isocitrato se oxida y se descarboxila a alfa-cetoglutarato 332
La descarboxilación oxidativa del alfa-cetoglutarato forma succinil-coenzima A 333
19.3 La segunda etapa regenera el oxalacetato y recoge los electrones de alta energía 333
A partir de la succinil-coenzima A se genera un compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos 333
La succinil-coenzima A sintetasa transforma un tipo de energía bioquímica en otro 334
La oxidación del succinato regenera el oxalacetato 335
El ciclo del ácido cítrico produce electrones con un elevado potencial de transferencia, un nucleósido trifosfato y dióxido de carbono 335
19.4 El ciclo del ácido cítrico está regulado 338
El ciclo del ácido cítrico se controla en varios puntos 338
El ciclo del ácido cítrico es una fuente de precursores biosintéticos 339
El ciclo del ácido cítrico tiene que ser capaz de reponerse rápidamente 339
NUEVO Aspecto clínico Defectos en el ciclo del ácido cítrico contribuyen al desarrollo del cáncer 340
19.5 El ciclo del glioxilato permite a plantas y bacterias convertir las grasas en carbohidratos 340

SECCIÓN 9 Fosforilación oxidativa 347

Capítulo 20 La cadena transportadora de electrones 349

20.1 En eucariotas, la fosforilación oxidativa tiene lugar en las mitocondrias 350
Las mitocondrias están rodeadas por una doble membrana 350
Aspecto biológico Las mitocondrias son el resultado de un proceso endosimbiótico 351
20.2 La fosforilación oxidativa depende de la transferencia de electrones 352
El potencial redox es una medida del potencial de transferencia electrónica de un electrón 352
El flujo de electrones a través de la cadena transportadora de electrones crea un gradiente de protones 353
La cadena transportadora de electrones es un conjunto de reacciones de oxidación-reducción acopladas 354
20.3 La cadena respiratoria consta de bombas de protones y una conexión física con el ciclo del ácido cítrico 357
NUEVO Los electrones de alto potencial del NADH se incorporan a la cadena respiratoria a través de la NADH-Q oxidorreductasa 357
El ubiquinol es el punto de entrada de los electrones procedentes del $FADH_2$ de las flavoproteínas 358
Los electrones fluyen desde el ubiquinol al citocromo *c* a través de la Q-citocromo *c* oxidorreductasa 359
El ciclo Q canaliza los electrones desde un transportador de dos electrones hacia un transportador de un electrón y bombea protones 359
La citocromo *c* oxidasa cataliza la reducción del oxígeno molecular a agua 360
Aspecto biológico La zona muerta: demasiada respiración 362
Los derivados tóxicos del oxígeno molecular como el radical superóxido se neutralizan por medio de enzimas protectoras 363

Capítulo 21 La fuerza protón-motriz 367

21.1 Un gradiente de protones impulsa la síntesis de ATP 368
La ATP sintasa está formada por una unidad que canaliza los protones y por una unidad catalítica 369
El flujo de protones a través de la ATP sintasa da lugar a la liberación del ATP fuertemente unido 370
La catálisis rotativa es el motor molecular más pequeño del mundo 371
El flujo de protones en torno al anillo c impulsa la síntesis de ATP 371
21.2 Las lanzaderas permiten el movimiento a través de las membranas mitocondriales 373
Los electrones del NADH citoplasmático entran en las mitocondrias gracias a lanzaderas 374
La entrada del ADP a las mitocondrias está acoplada a la salida del ATP 375
Los transportadores mitocondriales permiten el intercambio de metabolitos entre el citoplasma y las mitocondrias 376
21.3 La respiración celular está regulada por la necesidad de ATP 376
La oxidación completa de la glucosa produce aproximadamente 30 moléculas de ATP 376
La velocidad de la fosforilación oxidativa está determinada por la necesidad de ATP 378
NUEVO Aspecto biológico El desacoplamiento regulado da lugar a la generación de calor 379
Aspecto clínico La fosforilación oxidativa se puede inhibir en muchos puntos 380
Se está descubriendo un número cada vez mayor de enfermedades mitocondriales 381
La transmisión de energía por medio de gradientes de protones es un concepto clave de la bioenergética 382

SECCIÓN 10 Las reacciones luminosas de la fotosíntesis y el ciclo de Calvin 387

Capítulo 22 Las reacciones luminosas 389

22.1 La fotosíntesis tiene lugar en los cloroplastos 390
Aspecto biológico Los cloroplastos, al igual que las mitocondrias, surgieron a partir de un proceso endosimbiótico 391

22.2 La fotosíntesis transforma la energía de la luz en energía química 391
En la mayoría de los sistemas fotosintéticos, la clorofila es el principal aceptor de luz 392
Los complejos captadores de luz intensifican la eficiencia de la fotosíntesis 393
Aspecto biológico En las patatas, la clorofila sugiere la presencia de una toxina 395

22.3 Dos fotosistemas generan un gradiente de protones y NADPH 395
El fotosistema I utiliza la energía de la luz para generar ferredoxina reducida, un potente reductor 396
El fotosistema II transfiere electrones al fotosistema I y genera un gradiente de protones 397
El citocromo *bf* conecta el fotosistema II al fotosis 398
La oxidación del agua restablece el equilibrio de oxidación-reducción y aporta protones al gradiente de protones 398

22.4 Un gradiente de protones impulsa la síntesis de ATP 400
La ATP sintasa de los cloroplastos se parece mucho a la de las mitocondrias 400
El flujo cíclico de los electrones a través del fotosistema I da lugar a la producción de ATP en lugar de NADPH 401
La absorción de ocho fotones da lugar a la formación de una molécula de O_2, dos de NADPH y tres de ATP 402
Los componentes de la fotosíntesis se disponen de forma muy ordenadad 402
Aspecto biológico Muchos herbicidas inhiben las reacciones luminosas de la fotosíntesis 403

Capítulo 23 El ciclo de Calvin 407

23.1 El ciclo de Calvin sintetiza hexosas a partir de dióxido de carbono y agua 407
El dióxido de carbono reacciona con la ribulosa 1,5-bisfosfato para formar dos moléculas de 3-fosfoglicerato 408
Las hexosas fosfato se sintetizan a partir de fosfoglicerato y se regenera la ribulosa 1,5-bisfosfato 409
Para elevar el dióxido de carbono al nivel de una hexosa se utilizan tres moléculas de ATP y dos moléculas de NADPH 412
Aspecto biológico Una erupción volcánica puede afectar a la fotosíntesis en todo el mundo 412
En las plantas, el almidón y la sacarosa son las principales reservas de carbohidratos 412
Aspecto biológico Por qué se pone duro el pan: el papel del almidón 413

23.2 El ciclo de Calvin se regula por el entorno 414
La tiorredoxina desempeña un papel clave en la regulación del ciclo de Calvin 414
La rubisco también cataliza una reacción oxigenasa improductiva 415
En las plantas tropicales, la ruta C_4 acelera la fotosíntesis concentrando el dióxido de carbono 416
El metabolismo ácido de las crasuláceas permite el crecimiento en ecosistemas áridos 418

SECCIÓN 11 Metabolismo del glucógeno y ruta de las pentosas fosfato 421

Capítulo 24 Degradación del glucógeno 423

24.1 La descomposición del glucógeno requiere varias enzimas 424
La fosforilasa escinde el glucógeno liberando glucosa 1-fosfato 424
Para descomponer el glucógeno también se necesita una enzima desramificante 425
La fosfoglucomutasa convierte la glucosa 1-fosfato en glucosa 6-fosfato 426
El hígado contiene glucosa 6-fosfatasa, una enzima hidrolítica que no se encuentra en el músculo 426

24.2 La fosforilasa se regula mediante interacciones alostéricas y fosforilación reversible 427
La fosforilasa del músculo se regula por la carga energética intracelular 428
La fosforilasa del hígado produce glucosa para que sea utilizada por otros tejidos 428
La fosforilasa quinasa se activa mediante fosforilación y mediante iones calcio 429
Aspecto clínico La enfermedad de Hers se debe a una insuficiencia de fosforilasa 430

24.3 La adrenalina y el glucagón son una señal de que hay que descomponer glucógeno 430
Las proteínas G transmiten la señal para que se inicie la descomposición del glucógeno 430
La descomposición del glucógeno se tiene que desactivar rápidamente cuando sea necesario 432
NUEVO Aspecto biológico El agotamiento de la reserva de glucógeno coincide con la sensación de cansancio 432

Capítulo 25 Síntesis de glucógeno 437

25.1 El glucógeno se sintetiza y se degrada mediante rutas distintas 437
La UDP-glucosa es una forma activada de la glucosa 438
La glucógeno sintasa cataliza la transferencia de glucosa desde la UDP-glucosa a una cadena creciente de glucógeno 438
Una enzima ramificante forma enlaces alfa-1,6 439
La glucógeno sintasa es la enzima reguladora clave de la síntesis de glucógeno 440
El glucógeno es una eficaz forma de almacenar glucosa 440

25.2 El metabolismo en su contexto: la descomposición y la síntesis del glucógeno se regulan de forma recíproca 441
La proteína fosfatasa 1 revierte los efectos reguladores que ejercen las quinasas sobre el metabolismo del glucógeno 441
La insulina estimula la síntesis de glucógeno desactivando la glucógeno sintasa quinasa 443
Aspecto clínico En el hígado, el metabolismo del glucógeno regula el nivel de glucosa en la sangre 443
Aspecto clínico Las enfermedades relacionadas con el almacenamiento del glucógeno se pueden entender en términos bioquímicos 445

Capítulo 26 La ruta de las pentosas fosfato 451

26.1 La ruta de las pentosas fosfato genera NADPH y azúcares de cinco átomos de carbono 451
Durante la conversión de glucosa 6-fosfato en ribulosa 5-fosfato se generan dos moléculas de NADPH 452
La ruta de las pentosas fosfato y la glucólisis están conectadas mediante la transcetolasa y la transaldolasa 452

26.2 El metabolismo en su contexto: la glucólisis y la ruta de las pentosas fosfato se controlan de forma coordinada 451
La velocidad de la ruta de las pentosas fosfato se controla mediante el nivel de $NADP^+$ 456
El destino de la glucosa 6-fosfato depende de las necesidades de NADPH, ribosa 5-fosfato y ATP 456

26.3 La glucosa 6-fosfato deshidrogenasa disminuye el estrés oxidativo 451
Aspecto clínico La insuficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa provoca una anemia hemolítica causada por medicamentos 459
Aspecto biológico En determinadas circunstancias, una insuficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa confiere una ventaja evolutiva 460

SECCIÓN 12 Metabolismo de los ácidos grasos y de los lípidos 463

Capítulo 27 Degradación de los ácidos grasos 465

27.1 Los ácidos grasos se metabolizan en tres etapas 465
NUEVO Los triacilgliceroles se hidrolizan por medio de lipasas estimuladas por hormonas 466
Antes de su oxidación, los ácidos grasos se unen a la coenzima A 467
Aspecto clínico Si los ácidos grasos no entran en las mitocondrias surgen estados patológicos 468
La oxidación de los ácidos grasos genera acetil-CoA, NADH y $FADH_2$ 469
La oxidación completa de palmitato genera 106 moléculas de ATP 470

27.2 La degradación de ácidos grasos insaturados y de ácidos grasos de cadena impar requiere pasos adicionales 471
Para la oxidación de ácidos grasos insaturados se necesitan una isomerasa y una reductasa 471
Los ácidos grasos de cadena impar generan propionil-CoA en el último paso, la tiolisis 473

27.3 Los cuerpos cetónicos son otra fuente de combustible procedente de las grasas 473
La síntesis de cuerpos cetónicos tiene lugar en el hígado 473
Los animales no pueden convertir los ácidos grasos en glucosa 474

27.4 El metabolismo en su contexto: el metabolismo de los ácidos grasos es una fuente de conocimiento sobre diversos estados fisiológicos 475
La diabetes puede dar lugar a la producción excesiva de cuerpos cetónicos, algo que puede provocar la muerte 475
En condiciones de ayuno prolongado, los cuerpos cetónicos son una fuente de combustible fundamental 476

Capítulo 28 Síntesis de ácidos grasos 481

28.1 La síntesis de ácidos grasos tiene lugar en tres etapas 482
El citrato transporta grupos acetilo desde las mitocondrias al citoplasma 482
El NADPH que se necesita para la síntesis de ácidos grasos procede de varias fuentes 483
La formación de malonil-CoA es el paso comprometido para la síntesis de ácidos grasos 483
La síntesis de ácidos grasos consta de una serie de reacciones de condensación, reducción, deshidratación y reducción 484
La síntesis de palmitato necesita 8 moléculas de acetil-CoA, 14 moléculas de NADPH y 7 moléculas de ATP 486
NUEVO En los animales, los ácidos grasos se sintetizan mediante un complejo enzimático multifuncional 486
Aspecto clínico Los inhibidores de la ácido graso sintasa pueden ser fármacos útiles 487
Aspecto clínico Un pequeño ácido graso que provoca grandes problemas 487

28.2 Enzimas complementarias alargan e introducen insaturaciones en los ácidos grasos 488
Enzimas unidas a membrana generan ácidos grasos insaturados 488
Las hormonas eicosanoides se sintetizan a partir de los ácidos grasos poliinsaturados 488
Aspecto clínico La aspirina ejerce sus efectos modificando covalentemente una enzima clave 489

28.3 La acetil-CoA carboxilasa es un regulador clave del metabolismo de los ácidos grasos 489
La acetil-CoA carboxilasa se regula mediante las condiciones celulares 489
La acetil-CoA carboxilasa se regula mediante diversas hormonas 490

28.4 El metabolismo en su contexto: en el hígado, el etanol altera el metabolismo energético 491

Capítulo 29 Síntesis de lípidos: almacenamiento de lípidos, de fosfolípidos y de colesterol 497

29.1 El fosfatidato es un precursor de los lípidos de reserva y de muchos lípidos de membrana 497
El triacilglicerol se sintetiza a partir del fosfatidato en dos pasos 498
La síntesis de fosfolípidos necesita precursores activados 498

Los esfingolípidos se sintetizan a partir de ceramida 500
Aspecto clínico Los gangliósidos sirven como lugar de unión para los patógenos 501
Aspecto clínico La interrupción del metabolismo lipídico da lugar al síndrome de distrés respiratorio y a la enfermedad de Tay-Sachs 501
NUEVO En el metabolismo de los lípidos, la ácido fosfatídico fosfatasa es una enzima reguladora clave 502

29.2 El colesterol se sintetiza a partir de acetil-coenzima A en tres etapas 503
La síntesis de colesterol comienza con la síntesis de mevalonato 503
El escualeno (C_{30}) se sintetiza a partir de seis moléculas de isopentenilpirofosfato (C_5) 504
Para formar colesterol, el escualeno adopta estructuras cíclicas 505

29.3 La regulación de la síntesis de colesterol tiene lugar a varios niveles 506

29.4 Las lipoproteínas transportan colesterol y triacilgliceroles por todo el organismo 508
Las lipoproteínas de baja densidad desempeñan un papel decisivo en el metabolismo del colesterol 509
Aspecto clínico La ausencia del receptor de LDL da lugar a la hipercolesterolemia y a la ateroesclerosis 510
Aspecto clínico Las HDL parecen proteger contra la ateroesclerosis 512

29.5 El colesterol es el precursor de las hormonas esteroideas 512
Las sales biliares facilitan la absorción de lípidos 512
Las hormonas esteroideas son moléculas señal fundamentales 512
La vitamina D se sintetiza a partir del colesterol gracias a la energía de la luz solar 513
Aspecto clínico La vitamina D es necesaria para el desarrollo de los huesos 513
Aspecto clínico Los andrógenos se pueden utilizar para mejorar de manera artificial el rendimiento de los atletas 514
Los átomos de oxígeno se incorporan a los esteroides por medio de citocromo P450 monooxigenasas 515
El metabolismo en su contexto: el etanol también se procesa mediante el sistema citocromo P450 515

SECCIÓN 13 El metabolismo de las moléculas que contienen nitrógeno 521

Capítulo 30 Degradación de aminoácidos y ciclo de la urea 523

30.1 La eliminación del nitrógeno es el primer paso de la degradación de aminoácidos 524
Mediante la desaminación oxidativa del glutamato, los grupos alfa-amino se convierten en iones amonio 524
Los tejidos periféricos transportan nitrógeno al hígado 525

30.2 En la mayoría de los vertebrados terrestres, los iones amonio se convierten en urea 526
El ciclo de la urea está conectado con la gluconeogénesis 528
Aspecto clínico El metabolismo en su contexto: la hiperamonemia se debe a defectos congénitos del ciclo de la urea 529
NUEVO Aspecto biológico La hibernación plantea problemas a la hora de eliminar el nitrógeno 529
Aspecto biológico La urea no es la única forma de deshacerse del exceso de nitrógeno 530

30.3 Los átomos de carbono de los aminoácidos degradados aparecen en los principales intermediarios metabólicos 530
El piruvato es un punto de entrada al metabolismo 531
El oxalacetato es otro punto de entrada al metabolismo 532
El alfa-cetoglutarato también es otro punto de entrada al metabolismo 532
La succinil coenzima A es un punto de entrada para varios aminoácidos no polares 533
Los aminoácidos de cadena ramificada generan acetil-coenzima A, acetoacetato o succinil-coenzima A 533
Para degradar los aminoácidos aromáticos se necesitan oxigenasas 534
La metionina se degrada a succinil-coenzima A 536
Aspecto clínico Errores congénitos del metabolismo pueden alterar la degradación de aminoácidos 536

Capítulo 31 Síntesis de aminoácidos 541

31.1 El complejo nitrogenasa fija el nitrógeno 542
El cofactor hierro-molibdeno de la nitrogenasa se une al nitrógeno atmosférico y lo reduce 543
El ion amonio se incorpora a los aminoácidos a través del glutamato y la glutamina 543

31.2 Los aminoácidos se sintetizan a partir de intermediarios de las principales rutas 544
Los seres humanos pueden sintetizar algunos aminoácidos pero tienen que conseguir otros a partir de la dieta 545
Algunos aminoácidos se pueden sintetizar mediante sencillas reacciones de transaminación 545
Serina, cisteína y glicina se sintetizan a partir del 3-fosfoglicerato 546
El tetrahidrofolato transporta unidades monocarbonadas activadas 546
La *S*-adenosilmetionina es el principal donador de grupos metilo 547
Aspecto clínico Los niveles elevados de homocisteína están correlacionados con la enfermedad vascular 548

31.3 La retroinhibición regula la biosíntesis de aminoácidos 549
El punto de regulación suele ser el paso comprometido 549
Las rutas ramificadas necesitan una sofisticada regulación 549

Capítulo 32 Metabolismo de nucleótidos 555

32.1 Panorámica general de la biosíntesis de nucleótidos y su nomenclatura 556

32.2 Una vez ensamblado el anillo de pirimidina, se une al azúcar ribosa 557
El CTP se forma mediante la aminación del UTP 558
Las quinasas convierten los nucleósidos monofosfato en nucleósidos trifosfato 559
NUEVO Las bases pirimidínicas se reciclan mediante rutas de recuperación 559

32.3 El anillo de purina se ensambla sobre la ribosa fosfato 560
El AMP y el GMP se forman a partir del IMP 560
NUEVO *In vivo*, las enzimas de la ruta para la síntesis de purinas se asocian entre sí 560
Las bases se pueden reciclar mediante rutas de recuperación 562
32.4 Los ribonucleótidos se reducen a desoxirribonucleótidos 563
El timidilato se forma mediante la metilación del desoxiuridilato 563
Aspecto clínico Algunos fármacos anticancerosos muy eficaces bloquean la síntesis de timidilato 564
32.5 La biosíntesis de nucleótidos se regula mediante retroinhibición 565
La biosíntesis de pirimidinas se regula mediante la aspartato transcarbamilasa 565
La síntesis de nucleótidos de purina se controla en varios puntos mediante retroinhibición 566
La síntesis de desoxirribonucleótidos se controla mediante la regulación de la ribonucleótido reductasa 566
32.6 Alteraciones en el metabolismo de los nucleótidos pueden dar lugar a estados patológicos 567
Aspecto clínico La pérdida de la actividad adenosina desaminasa provoca la inmunodeficiencia combinada grave 568
Aspecto clínico Niveles elevados de urato en el suero inducen la gota 568
Aspecto clínico El síndrome de Lesch-Nyhan es una dramática consecuencia de las mutaciones en una enzima de las rutas de recuperación 569
NUEVO Aspecto clínico La insuficiencia de ácido fólico provoca defectos al nacer, como la espina bífida 569

PARTE III
SÍNTESIS DE LAS MOLÉCULAS DE LA VIDA

SECCIÓN 14 Estructura de los ácidos nucleicos y replicación del DNA 575

Capítulo 33 Estructura de las macromoléculas que contienen información: DNA y RNA 577

33.1 Un ácido nucleico está formado por bases unidas a un esqueleto azúcar-fosfato 578
El DNA y el RNA se diferencian en el azúcar que contienen y en una de las bases 578
Los nucleótidos son las unidades monoméricas de las ácidos nucleicos 579
Las moléculas de DNA son muy largas y tienen direccionalidad 580
33.2 Las hebras de los ácidos nucleicos pueden formar una estructura de doble hélice 581
La doble hélice se estabiliza mediante puentes de hidrógeno y el efecto hidrofóbico 581
La doble hélice facilita la transmisión precisa de la información hereditaria 583
Meselson y Stahl demostraron que la replicación es semiconservativa 583
Las hebras de la doble hélice se pueden separar de manera reversible 585
33.3 Las dobles hélices del DNA pueden adoptar múltiples formas 585
El DNA-Z es una doble hélice levógira en la que los grupos fosforilo del esqueleto se disponen en zigzag 586
Los surcos mayor y menor están revestidos por grupos que forman puentes de hidrógeno específicos para cada secuencia 587
El DNA de doble hebra se puede enrollar sobre sí mismo generando estructuras superenrolladas 587
33.4 El DNA eucariótico está asociado a proteínas específicas 589
Los nucleosomas son complejos formados por DNA e histonas 589
El DNA eucariótico se enrolla alrededor de las histonas formando nucleosomas 590
Aspecto clínico Los daños en el DNA pueden inhibir el crecimiento de las células cancerosas 592
33.5 El RNA puede adoptar estructuras complejas 592

Capítulo 34 Replicación del DNA 597

34.1 Las polimerasas replican el DNA 598
La DNA polimerasa cataliza la formación de enlaces fosfodiéster 598
NUEVO La especificidad de la replicación está determinada por la complementariedad de las bases 600
NUEVO La separación de las hebras del DNA requiere helicasas específicas y la hidrólisis del ATP 600
Las topoisomerasas preparan el DNA para su desenrollamiento 602
Aspecto clínico La topoisomerasa bacteriana es una diana terapéutica 602
Muchas polimerasas comprueban las bases recién añadidas y escinden los errores 603
34.2 La replicación del DNA está muy coordinada 604
En *Escherichia coli*, la replicación del DNA comienza en un único lugar 604
La primasa sintetiza un RNA cebador que permite dar comienzo a la síntesis de DNA 604
Una hebra del DNA se sintetiza de forma continua y la otra hebra se sintetiza de forma fragmentada 605
La replicación del DNA requiere polimerasas con elevada procesividad 605
La hebra conductora y la hebra retardada se sintetizan de forma coordinada 606
La síntesis de DNA es más compleja en eucariotas que en bacterias 608
Los telómeros son estructuras singulares localizadas en los extremos de los cromosomas lineales 608
Aspecto clínico Los telómeros se replican mediante la telomerasa, una polimerasa especializada que tiene su propio molde de RNA 609

Capítulo 35 Reparación y recombinación del DNA 613

35.1 La replicación del DNA puede generar errores 614
Aspecto clínico Algunas enfermedades genéticas se deben a la extensión de repeticiones de tres nucleótidos 614
Las bases se pueden dañar por agentes oxidantes, por agentes alquilantes y por la luz 615
35.2 Los daños en el DNA se pueden detectar y reparar 617
En el DNA, la presencia de timina en lugar de uracilo permite reparar las citosinas desaminadas 619

Aspecto clínico Muchos tipos de cáncer se deben a una reparación defectuosa del DNA 619
Aspecto clínico Muchos posibles carcinógenos se pueden detectar gracias a sus efectos mutagénicos en bacterias 620
35.3 La recombinación del DNA desempeña importantes funciones tanto en la replicación como en la reparación 621
NUEVO Los cortes en ambas hebras se pueden reparar mediante recombinación 621
La recombinación es importante para diversos procesos biológicos 622

SECCIÓN 15 Síntesis, maduración y regulación del RNA 627

Capítulo 36 Síntesis y regulación del RNA en bacterias 629
36.1 El RNA celular se sintetiza mediante RNA polimerasas 629
Los genes representan las unidades transcripcionales 630
NUEVO La RNA polimerasa está formada por múltiples subunidades 631
36.2 La síntesis del RNA consta de tres etapas 631
La transcripción se inicia en los lugares promotores del DNA molde 631
Las subunidades sigma de la RNA polimerasa reconocen los lugares promotores 632
Las hebras de RNA crecen en sentido 5′→ 3′ 633
La elongación tiene lugar en las burbujas de transcripción que se desplazan a lo largo del DNA molde 634
Una horquilla de RNA seguida de varios residuos de uracilo pone fin a la transcripción de algunos genes 634
La proteína rho ayuda a terminar la transcripción de algunos genes 635
Después de la transcripción, los precursores del RNA de transferencia y del RNA ribosómico se escinden y se modifican químicamente 636
Aspecto clínico Algunos antibióticos inhiben la transcripción 637
36.3 El operón *lac* ilustra el control de la expresión génica en bacterias 638
Un operón está formado por elementos reguladores y por genes que codifican proteínas 638
La unión a ligandos puede inducir cambios estructurales en las proteínas reguladoras 639
Se puede estimular la transcripción mediante proteínas que entran en contacto con la RNA polimerasa 639
NUEVO Aspecto biológico Muchas células bacterianas liberan señales químicas que regulan la expresión génica en otras células 640
NUEVO Algunos RNA mensajeros detectan directamente las concentraciones de algunos metabolitos 640

Capítulo 37 Expresión génica en eucariotas 645
37.1 Las células eucarióticas poseen tres tipos de RNA polimerasas 646
37.2 La RNA polimerasa II necesita una regulación compleja 648
El complejo proteico TFIID inicia el ensamblaje del complejo de transcripción activo 649
Las secuencias intensificadoras pueden estimular la transcripción en lugares de inicio situados a miles de bases de distancia 649
Aspecto clínico Un uso inapropiado de los intensificadores puede provocar cáncer 650
Multitud de factores de transcripción interaccionan con los promotores e intensificadores eucarióticos 650
NUEVO Aspecto clínico Se pueden generar células madre pluripotentes inducidas introduciendo cuatro factores de transcripción en células diferenciadas 650
37.3 La expresión génica se regula mediante hormonas 651
Los receptores hormonales nucleares poseen una estructura de dominios similar 651
Los receptores hormonales nucleares reclutan coactivadores y correpresores 653
Aspecto clínico Los receptores de hormonas esteroideas son la diana de algunos medicamentos 653
37.4 La acetilación de histonas da lugar a la remodelación de la cromatina 654
El metabolismo en su contexto: la acetil-CoA desempeña un papel fundamental en la regulación de la transcripción 654
Las desacetilasas de histonas contribuyen a la represión de la transcripción 656

Capítulo 38 Maduración del RNA en eucariotas 661
38.1 El RNA ribosómico maduro se genera mediante la escisión de una molécula precursora 662
38.2 El RNA de transferencia se procesa de forma intensiva 662
38.3 El RNA mensajero se modifica y experimenta una serie de cortes y empalmes 663
En los precursores del mRNA, unas secuencias localizadas al final de los intrones especifican los lugares de corte 664
En los espliceosomas, los RNA pequeños nucleares catalizan la maduración de los precursores del mRNA 665
Aspecto clínico Las mutaciones que afectan a la maduración del pre-mRNA provocan enfermedades 666
Aspecto clínico La mayoría de los pre-mRNA humanos pueden madurar de formas alternativas para producir proteínas diferentes 667
La transcripción y la maduración del mRNA están acopladas 667
NUEVO Las correcciones en el RNA cambian las proteínas codificadas por el mRNA 668
38.4 El RNA puede funcionar como un catalizador 669

SECCIÓN 16 Síntesis de proteínas y tecnología del DNA recombinante 675

Capítulo 39 El código genético 675
39.1 El código genético conecta la información de los ácidos nucleicos con la de las proteínas 676
El código genético es, prácticamente, universal 676
Las moléculas de RNA de transferencia tienen un diseño común 677
Algunas moléculas de RNA de transferencia reconocen más de un codón debido al balanceo de las bases emparejadas 679

La síntesis de proteínas grandes requiere que la frecuencia de los errores sea baja 680

39.2 Los aminoácidos se activan uniéndose al RNA de transferencia 680
Los aminoácidos se activan primero mediante adenilación 681
Las aminoacil-tRNA sintetasas poseen lugares para la activación de los aminoácidos con gran capacidad discriminatoria 682
La corrección de errores por parte de las aminoacil-tRNA sintetasas aumenta la fidelidad de la síntesis de proteínas 682
Las sintetasas reconocen los bucles del anticodón y los tallos aceptores de las moléculas de RNA de transferencia 682

39.3 Un ribosoma es una partícula de ribonucleoproteína que consta de dos subunidades 683
Los RNA ribosómicos desempeñan un papel central en la síntesis de proteínas 683
El RNA mensajero se traduce en dirección 5′ → 3′ 684

Capítulo 40 El mecanismo de la síntesis de proteínas 689

40.1 La síntesis de proteínas descodifica la información del mRNA 689
Los ribosomas tienen tres lugares de unión a moléculas de tRNA que conectan las subunidades de 30S y de 50S 690
La señal de inicio es AUG (o GUG) precedida de varias bases que se emparejan con el RNA ribosómico de 16S 690
La síntesis de proteínas bacteriana comienza con el formilmetionil-RNA de transferencia 691
Durante la formación del complejo de iniciación de 70S, el formilmetionil-tRNA$_f$ se sitúa en el lugar P del ribosoma 692
Los factores de elongación suministran los aminoacil-tRNA al ribosoma 692

40.2 La peptidiltransferasa cataliza la síntesis de enlaces peptídicos 693
La formación de un enlace peptídico va seguida de una translocación de los tRNA y del mRNA, impulsada por el GTP 693
La síntesis de proteínas finaliza mediante factores de liberación que leen los codones Stop 695

40.3 Las bacterias y los eucariotas difieren en la iniciación de la síntesis de proteínas 696
Aspecto clínico Mutaciones en el factor de iniciación 2 provocan un curioso estado patológico 697

40.4 Diversas biomoléculas pueden inhibir la síntesis de proteínas 698
Aspecto clínico Algunos antibióticos inhiben la síntesis de proteínas 698
Aspecto clínico En eucariotas, la toxina de la difteria bloquea la síntesis de proteínas inhibiendo la translocación 699
Aspecto clínico La ricina modifica de forma letal el RNA ribosómico de 28S 700

40.5 Los ribosomas unidos al retículo endoplasmático
NUEVO sintetizan proteínas de membrana y proteínas que van a ser secretadas 700
La síntesis de proteínas comienza en ribosomas que se encuentran libres en el citoplasma 701
Las secuencias señal identifican las proteínas que tienen que ser translocadas a través de la membrana del retículo endoplasmático 701

40.6 La síntesis de proteínas se regula mediante diversos mecanismos 702
El uso del RNA mensajero está sujeto a regulación 702
La estabilidad del RNA mensajero también se puede regular 703
Los RNA pequeños pueden regular la estabilidad del RNA mensajero y su utilización 703

Capítulo 41 Tecnología del DNA recombinante 709

41.1 La genética inversa permite la síntesis de ácidos nucleicos a partir de una secuencia de proteína 709
La secuencia de una proteína nos conduce a la secuencia del ácido nucleico correspondiente 710
Se pueden sintetizar sondas de DNA mediante métodos automatizados 710

41.2 La tecnología del DNA recombinante ha revolucionado todos los aspectos de la biología 711
Las enzimas de restricción cortan el DNA generando fragmentos específicos 712
Los fragmentos de restricción se pueden separar y visualizar mediante electroforesis en gel 712
Las enzimas de restricción y la DNA ligasa son herramientas clave para formar moléculas de DNA recombinante 713

41.3 Los genes eucarióticos se pueden manipular con una precisión considerable 714
El DNA complementario obtenido a partir del mRNA se puede expresar en células huésped 714
El cDNA del receptor de estrógenos se puede identificar mediante una búsqueda en una biblioteca de cDNA 715
Se pueden explorar las bibliotecas de DNA complementario en busca de las proteínas sintetizadas 716
A partir de la digestión del DNA genómico se pueden clonar genes específicos 717
El DNA se puede secuenciar mediante la terminación controlada de la replicación 717
Aspecto clínico y biológico Los métodos de secuenciación de "última generación" permiten la rápida determinación de la secuencia completa de un genoma 719
Mediante la reacción en cadena de la polimerasa es posible amplificar enormemente secuencias de DNA seleccionadas 720
Aspecto clínico y biológico La PCR es una poderosa técnica para el diagnóstico médico, la medicina forense y los estudios de evolución molecular 722
NUEVO Los niveles de expresión génica se pueden analizar de forma exhaustiva 722

Apéndices A1
Glosario B1
Soluciones a los problemas C1
Índice alfabético D1





Capítulo 1:
La Bioquímica y la unidad de la vida



Capítulo 2:
Agua, enlaces débiles y la generación de orden a partir del caos

SECCIÓN 1

La Bioquímica nos ayuda a comprender nuestro mundo

El objetivo final de todos los esfuerzos científicos consiste en desarrollar un conocimiento más profundo y más amplio tanto de nosotros mismos como del mundo en que vivimos. La Bioquímica ha tenido y seguirá teniendo un destacado papel a la hora de ayudarnos a desarrollar este conocimiento. La *Bioquímica*, el estudio de los seres vivos a nivel molecular, nos ha desvelado muchos de los detalles de los procesos más importantes de la vida. Por ejemplo, la bioquímica nos ha mostrado cómo fluye la información desde los genes hasta moléculas que poseen capacidades funcionales. En los últimos años, la bioquímica también ha desvelado algunos de los misterios de los generadores moleculares que proporcionan la energía que impulsa a los seres vivos. El hecho de ser conscientes de que podemos comprender estos procesos esenciales de la vida tiene importantes repercusiones filosóficas. ¿Qué significa, desde el punto de vista bioquímico, ser un humano? ¿Qué diferencias bioquímicas hay entre un ser humano, un chimpancé, un ratón y una mosca de la fruta? ¿Son nuestros parecidos mayores que nuestras diferencias?

El conocimiento adquirido gracias a la bioquímica está ejerciendo una gran influencia sobre la medicina y otras disciplinas. Aunque puede que no estemos acostumbrados a pensar en las enfermedades desde el punto de vista de las moléculas, la enfermedad, en última instancia, consiste en algún tipo de disfunción a nivel molecular. Los defectos moleculares que provocan la anemia falciforme, la fibrosis quística, la hemofilia y muchas otras enfermedades genéticas se han esclarecido a nivel bioquímico. La bioquímica también está contribuyendo en gran medida al diagnóstico clínico. Por ejemplo, niveles elevados en sangre de determinados indicadores enzimáticos nos advierten de si un paciente ha padecido recientemente un infarto de miocardio (un ataque al corazón).

La agricultura, también, está utilizando la bioquímica para desarrollar herbicidas y pesticidas más eficaces y más seguros para el medio ambiente, y para crear mediante ingeniería genética plantas que sean, por ejemplo, más resistentes a los insectos.

En esta sección aprenderemos algunos de los conceptos fundamentales sobre los que se estructura el estudio de la bioquímica. Comenzamos con una introducción sobre las moléculas de la bioquímica, seguida de una visión general de la unidad fundamental de la bioquímica y de la propia vida: la célula. Por último, estudiamos los enlaces reversibles débiles que propician la formación de estructuras biológicas y permiten las interacciones entre moléculas que hacen posible la vida.

✓ Al final de esta sección, usted debería ser capaz de:

- ✓ 1 Describir las clases fundamentales de biomoléculas y saber cómo diferenciarlas.
- ✓ 2 Enumerar las etapas del dogma central
- ✓ 3 Identificar las características fundamentales que diferencian a las células eucarióticas de las células procarióticas.
- ✓ 4 Describir las propiedades químicas del agua y explicar cómo afecta el agua a las interacciones bioquímicas.
- ✓ 5 Describir los tipos de interacciones reversibles no covalentes y explicar por qué las interacciones reversibles son importantes en bioquímica.
- ✓ 6 Definir el pH y explicar por qué los cambios de pH pueden afectar a los sistemas bioquímicos.

CAPÍTULO 1

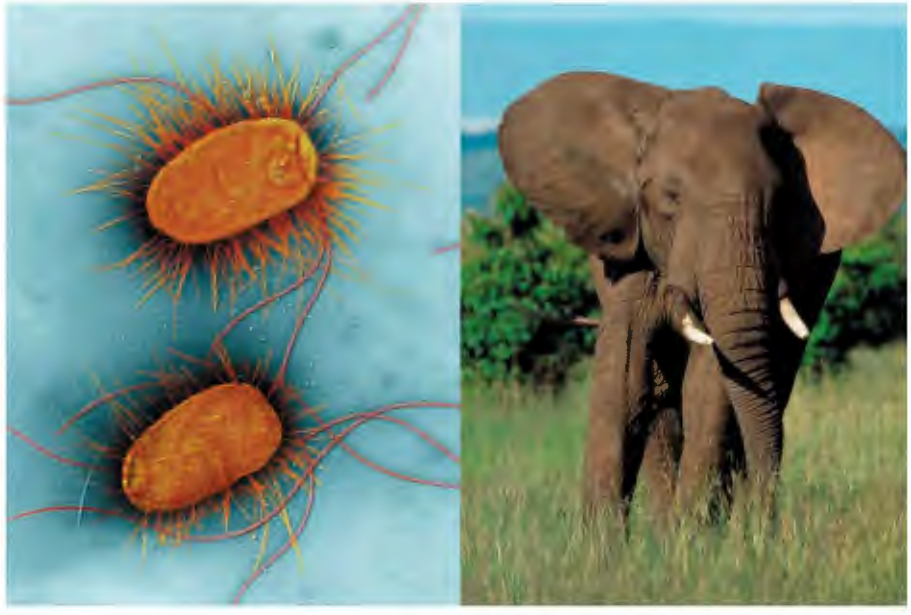
La Bioquímica y la unidad de la vida

1.1 Los sistemas vivos necesitan un repertorio limitado de átomos y moléculas

1.2 Hay cuatro clases principales de biomoléculas

1.3 El dogma central describe los principios básicos de la transferencia de información biológica

1.4 Las membranas delimitan la célula y desempeñan funciones celulares



A pesar de la inmensa diferencia que hay entre sus masas –el elefante africano tiene una masa 3×10^{18} veces mayor que la de la bacteria *E. coli*– y su complejidad, el funcionamiento bioquímico de estos dos organismos es increíblemente parecido. [*E. coli*: Eye of Science/Photo Researchers. Elephant: Imagebroker/Alamy.]

Uno de los principales objetivos de la bioquímica, uno que ha sido logrado con rotundo éxito, consiste en comprender qué significa, a nivel molecular, estar vivo. Otro objetivo trata de ampliar estos conocimientos hasta el nivel de organismo —es decir, de comprender los efectos de las manipulaciones moleculares sobre la clase de vida que desarrolla un organismo. Por ejemplo, comprender cómo funciona a nivel molecular la hormona insulina ilustra cómo controla el organismo los niveles de combustible en su sangre. Con frecuencia, este tipo de conocimiento facilita la comprensión de los estados patológicos como, por ejemplo, la diabetes, que aparece cuando la señalización de la insulina deja de funcionar. A su vez, este conocimiento puede ser una fuente de ideas sobre cómo poder tratar la enfermedad.

Durante más de un siglo, la bioquímica ha sido un área de investigación activa. Se ha aprendido mucho sobre cómo manipulan la energía y la información diversos organismos. Sin embargo, uno de los resultados más fascinantes de la investigación bioquímica ha sido la constatación de que, desde el punto de vista bioquímico, todos los organismos tienen mucho en común. *A nivel molecular, los organismos son extraordinariamente uniformes.* A esta observación se la denomina frecuentemente *la unidad de la bioquímica* pero, en realidad, ilustra la unidad de la vida. En 1954, el bioquímico francés Jacques Monod condensó esta idea en la frase "Todo lo que ha resultado ser cierto en [la bacteria] *E. coli* también debe ser verdad en los elefantes". Esta uniformidad pone de manifiesto el hecho de que todos los organismos de la Tierra han surgido a partir de un ancestro común. En las primeras etapas de la evolución de la vida surgió un conjunto de procesos bioquímicos esenciales, común a todos los

organismos. La diversidad de la vida en el mundo moderno se ha generado mediante procesos evolutivos que han actuado sobre este conjunto de procesos a lo largo de millones o incluso miles de millones de años.

Comenzaremos nuestro estudio de la bioquímica centrándonos en los aspectos comunes. Examinaremos las moléculas y los componentes moleculares utilizados por todas las formas de vida y, posteriormente, consideraremos las normas que gobiernan cómo se accede a la información biológica y cómo se transmite de una generación a la siguiente. Por último, ofreceremos una visión general de la unidad fundamental de la vida —la célula. Esto es sólo el principio. A medida que vayamos explorando los fundamentos químicos de la vida nos encontraremos una y otra vez con todas las moléculas y estructuras que se ven en este capítulo.

1.1 Los sistemas vivos necesitan un repertorio limitado de átomos y moléculas

Se han identificado noventa elementos naturales y, sin embargo, sólo tres de ellos —el oxígeno, el hidrógeno y el carbono— representan el 98% de los átomos de un organismo. Además, la abundancia de estos tres elementos en la vida difiere tremendamente de su abundancia en la corteza terrestre (Tabla 1.1). ¿A qué puede atribuirse esta disparidad entre lo que está disponible y lo que pasa a formar parte de los organismos?

Una de las razones de que el oxígeno y el hidrógeno sean tan abundantes se debe a la ubicuidad del agua, o "la matriz de la vida", como la denominaba el bioquímico Albert Szent-Györgi. Esta diminuta molécula —que consta únicamente de tres átomos— hace que la vida en la Tierra sea posible. De hecho, hoy en día, la opinión general es que todo tipo de vida necesita agua, y éste es el motivo por el que se han dedicado tantos esfuerzos en las últimas décadas para determinar si Marte tuvo agua en el pasado y si aún la tiene. La importancia del agua para la vida es tan decisiva que su presencia equivale a afirmar que podría haber vida. En el Capítulo 2 consideraremos las propiedades del agua y cómo estas propiedades facilitan la bioquímica.

Después del oxígeno y del hidrógeno, el siguiente elemento más abundante en los seres vivos es el carbono. En los sistemas vivos, la mayoría de las grandes moléculas están compuestas, mayoritariamente, de carbono. Las moléculas combustible están formadas en su totalidad por carbono, hidrógeno y oxígeno. Los combustibles biológicos, al igual

Tabla 1.1 Composiciones químicas expresadas como porcentaje del número total de átomos

	Composición en		
Elemento	Seres humanos (%)	Agua de mar (%)	Corteza terrestre (%)
Hidrógeno	63	66	0,22
Oxígeno	25,5	33	47
Carbono	9,5	0,0014	0,19
Nitrógeno	1,4	<0,1	<0,1
Calcio	0,31	0,006	3,5
Fósforo	0,22	<0,1	<0,1
Cloro	0,03	0,33	<0,1
Potasio	0,06	0,006	2,5
Azufre	0,05	0,017	<0,1
Sodio	0,03	0,28	2,5
Magnesio	0,01	0,003	2,2
Silicio	<0,1	<0,1	28
Aluminio	<0,1	<0,1	7,9
Hierro	<0,1	<0,1	4,5
Titanio	<0,1	<0,1	0,46
Los demás	<0,1	<0,1	<0,1

Nota: A causa del redondeo, los porcentajes totales no suman el 100%.
Fuente: Tomado de E. Frieden, The chemical elements of life, *Sci. Am.* 227(1), 1972, p. 54.

que los combustibles que impulsan máquinas, reaccionan con el oxígeno para producir dióxido de carbono y agua. Cuando se trata de combustibles biológicos, esta reacción, denominada combustión, proporciona la energía necesaria para impulsar el funcionamiento de la célula. Para hacernos una idea de por qué el carbono es particularmente idóneo para la vida, comparémoslo con el silicio, su pariente más cercano entre los elementos naturales. En la corteza terrestre, el silicio es mucho más abundante que el carbono (ver la Tabla 1.1) y, al igual que el carbono, puede formar cuatro enlaces covalentes —una propiedad crucial a la hora de construir moléculas grandes. Sin embargo, los enlaces carbono-carbono son más fuertes que los enlaces silicio-silicio. Esta diferencia en la fortaleza del enlace se traduce en dos consecuencias importantes. En primer lugar, se pueden construir moléculas grandes utilizando un esqueleto de enlaces carbono-carbono debido a la estabilidad de estos enlaces. En segundo lugar, se libera más energía cuando se produce la combustión de enlaces carbono-carbono que cuando el silicio reacciona con el oxígeno. Por tanto, las moléculas basadas en el carbono son materiales de construcción más robustos y son mejores combustibles que las moléculas basadas en el silicio. Incluso después de haber sido sometido a combustión, el carbono ofrece una ventaja frente al silicio. El dióxido de carbono se disuelve fácilmente en agua y puede existir en forma de gas; por tanto, permanece en los circuitos bioquímicos, es emitido por un tejido o por un organismo para ser utilizado por otro tejido o por otro organismo. Por el contrario, el silicio es prácticamente insoluble tras reaccionar con el oxígeno. Cuando se ha combinado con el oxígeno, queda permanentemente fuera de la circulación.

Otros elementos desempeñan un papel esencial en los sistemas vivos —particularmente el nitrógeno, el fósforo y el azufre. Además, algunos oligoelementos son absolutamente imprescindibles para una serie de procesos vitales a pesar de estar presentes en cantidades diminutas en comparación con el oxígeno, hidrógeno y carbono. A medida que avancemos en nuestro estudio de la bioquímica iremos viendo el uso específico que se da a estos elementos.

1.2 Hay cuatro clases principales de biomoléculas

✓ 1 Describir las clases fundamentales de biomoléculas y comentar las diferencias que hay entre ellas.

Los sistemas vivos contienen un conjunto de biomoléculas abrumador. Sin embargo, estas biomoléculas se pueden dividir en tan sólo cuatro clases: proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y carbohidratos.

Las proteínas son biomoléculas muy versátiles

Gran parte de nuestro estudio de la bioquímica girará en torno a las proteínas. Las *proteínas* se construyen a partir de 20 elementos de construcción, denominados *aminoácidos*, unidos entre sí mediante enlaces peptídicos para formar polímeros largos no ramificados (Figura 1.1). Estos polímeros se pliegan formando estructuras tridimensionales precisas que facilitan una enorme variedad de funciones bioquímicas. Las proteínas actúan como moléculas señal (por ejemplo, la hormona insulina es una señal de que hay combustible en la sangre) y como receptores para las moléculas señal. Los receptores transmiten a la célula la información de que se ha recibido una señal e inician la respuesta celular. Así, por ejemplo, la insulina se une a su receptor particular, denominado receptor de la insulina, e inicia la respuesta biológica a la presencia de combustible en la sangre. Las proteínas también desempeñan papeles estructurales, permiten la movilidad y proporcionan defensas contra peligros ambientales. Quizás el papel más destacado de las proteínas sea el de

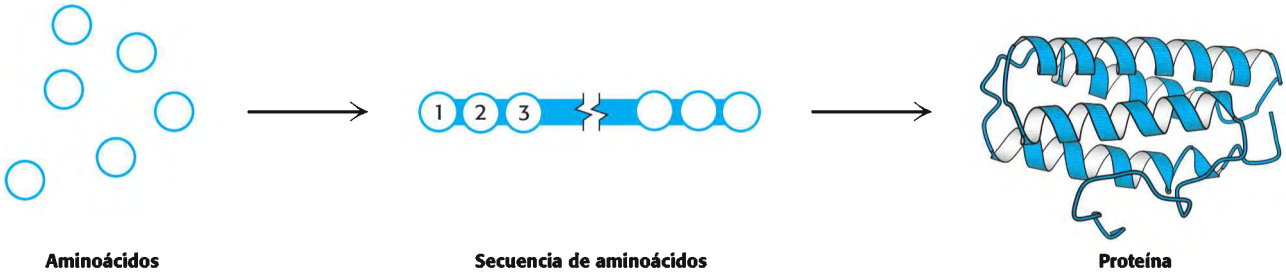
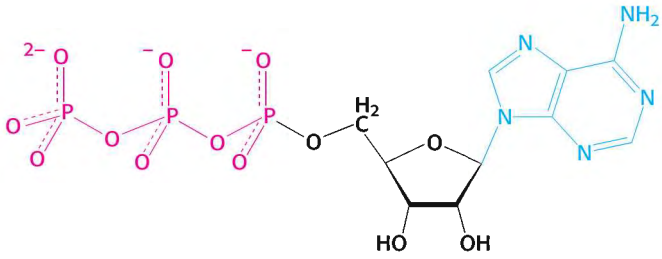


Figura 1.1 Plegamiento de proteínas. La estructura tridimensional de una proteína viene dictada por la secuencia de aminoácidos que componen la proteína.



Adenosina trifosfato (ATP)

Figura 1.2 Estructura de un nucleótido. Un nucleótido (en este caso, la adenosina trifosfato) consta de una base (mostrada en azul), un azúcar de cinco átomos de carbono (en negro) y, por lo menos, un grupo fosforilo (en rojo).

catalizadores —agentes que incrementan la velocidad de una reacción química sin verse ellos mismos afectados de forma permanente. Los catalizadores de naturaleza proteica se denominan *enzimas*. Todos y cada uno de los procesos que tienen lugar en los sistemas vivos dependen de las enzimas.

Los ácidos nucleicos son las moléculas de la célula que almacenan información

Como guardianes de la información de la célula, la principal función de los *ácidos nucleicos* consiste en almacenar y transferir información. Contienen las instrucciones para todas las funciones e interacciones celulares. Al igual que las proteínas, los ácidos nucleicos son moléculas lineales. Sin embargo, los ácidos nucleicos se construyen a partir de tan solo cuatro elementos de construcción denominados *nucleótidos*. Un nucleótido está formado por un azúcar de cinco átomos de carbono, una desoxirribosa o una ribosa, que se encuentra unido a un anillo heterocíclico denominado base y a, por lo menos, un grupo fosforilo (Figura 1.2).

Hay dos tipos de ácidos nucleicos. El *ácido desoxirribonucleico* (DNA) y el *ácido ribonucleico* (RNA). La información genética es almacena en forma de DNA —el "listado de los componentes" que determina la naturaleza de un organismo. El DNA se construye a partir de cuatro desoxirribonucleótidos que sólo se diferencian entre sí por la estructura del anillo de las bases —adenina (A), citosina (C), guanina (G) y timina (T). La información que contiene el DNA es la secuencia de nucleótidos unidos entre sí mediante enlaces fosfodiéster. En todos los organismos superiores el DNA está en forma de una hélice de doble hebra (Figura 1.3). En la doble hélice, las bases interaccionan entre sí —la A con la T y la C con la G.



Figura 1.3 La doble hélice. Dos cadenas individuales de DNA interaccionan para formar una doble hélice. El esqueleto azúcar-fosfato de una de las dos cadenas se muestra de color rojo; el otro se muestra en azul. Las bases se representan de color verde, púrpura, naranja y amarillo.

El RNA es un tipo de ácido nucleico de hebra sencilla. Algunas regiones del DNA se copian en forma de una clase especial de moléculas de RNA denominada RNA mensajero (mRNA). El RNA mensajero es un molde para la síntesis de proteínas. A diferencia del DNA, el mRNA suele descomponerse una vez utilizado. La composición del RNA es parecida a la del DNA, salvo por dos excepciones: en vez de la base timina (T) contiene la base uracilo (U) y el azúcar que forma parte de los ribonucleótidos contiene un grupo hidroxilo (—OH) adicional.

Los lípidos son una forma de almacenamiento de combustible y actúan a modo de barrera

Comparados con las principales biomoléculas, los *lípidos* son mucho más pequeños que las proteínas y ácidos nucleicos. Mientras que las proteínas y los ácidos nucleicos pueden tener masas moleculares comprendidas entre varios miles y millones, un lípido típico tiene un peso molecular de 1300. Además, los lípidos no son polímeros formados por unidades que se repiten, como en el caso de proteínas y ácidos nucleicos. Una característica fundamental de muchos lípidos importantes desde el punto de vista bioquímico es su naturaleza química dual: parte de la molécula es *hidrofílica*, lo que quiere decir que se puede disolver en agua, mientras que la otra parte, formada por una o más cadenas hidrocarbonadas, es *hidrofóbica* y no se puede disolver en agua (Figura 1.4). Esta naturaleza dual permite a los lípidos formar barreras que delimitan la célula y los compartimentos celulares. Los lípidos permiten el desarrollo de los conceptos "dentro" y "fuera" a nivel bioquímico. Las cadenas hidrocarbonadas no pueden interaccionar con el agua y, en su lugar, interaccionan con las de otros lípidos para formar una barrera, o membrana, mientras que los componentes hidrosolubles interaccionan con el medio acuoso a ambos lados de la membrana. Los lípidos también son una importante forma de almacenamiento de la energía. Como veremos más adelante, el componente hidrofóbico de los lípidos puede ser sometido a combustión y suministrar gran cantidad de energía celular. Los lípidos también son importantes moléculas señal.

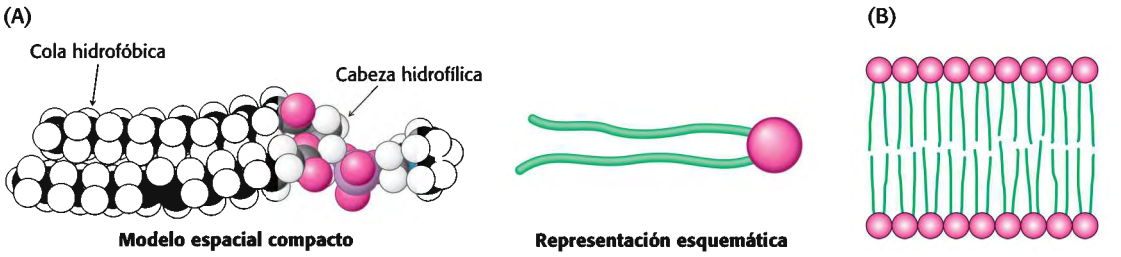
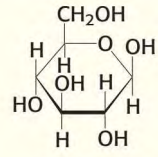


Figura 1.4 Las propiedades duales de los lípidos. (A) Una parte de una molécula lipídica es hidrofílica; la otra parte es hidrofóbica. (B) En agua, los lípidos pueden formar una bicapa, constituyendo una barrera que separa dos compartimentos acuosos.

Los carbohidratos son moléculas combustible y almacenan información

La mayoría de nosotros ya sabe que los *carbohidratos* son una importante fuente de combustible para la mayoría de las criaturas vivas. El carbohidrato utilizado con más frecuencia como combustible es la glucosa, un azúcar sencillo. En los animales, la glucosa se almacena en forma de *glucógeno*, que está formado por muchas moléculas de glucosa unidas por sus extremos y que, de vez en cuando, presenta ramificaciones (Figura 1.5). En las plantas, la forma de almacenamiento de la glucosa es el almidón, cuya composición molecular es parecida a la del glucógeno.

Hay miles de carbohidratos distintos. Pueden unirse entre sí formando cadenas y estas cadenas pueden estar profusamente ramificadas, mucho más que en el caso del glucógeno o del almidón. Este tipo de cadenas de carbohidratos desempeñan importantes funciones a la hora de ayudar a que las células se reconozcan entre sí. Muchos de los componentes del exterior celular se encuentran unidos a diversos carbohidratos que pueden ser reconocidos por otras células y actuar como lugares donde se producen interacciones célula-célula.



Glucosa

? PREGUNTA RÁPIDA 1 Nombra las cuatro clases de biomoléculas y cita una función importante de cada una.

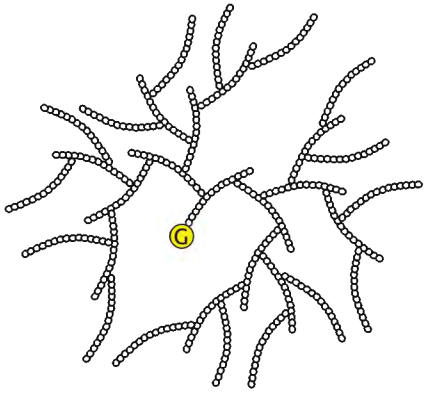
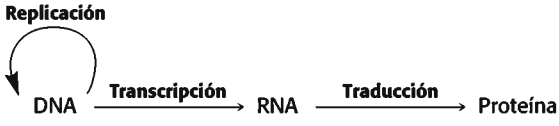


Figura 1.5 Estructura del glucógeno. El glucógeno es un polímero ramificado formado por moléculas de glucosa. La proteína identificada mediante una letra G en el centro de la molécula de glucógeno es necesaria para la síntesis del glucógeno (Capítulo 25).

1.3 El dogma central describe los principios básicos de la transferencia de información biológica

✓ 2 Enumerar las etapas del dogma central

En todas las células, el procesamiento de la información es bastante complejo. La complejidad aumenta a medida que las células se encuentran formando parte de los tejidos y a medida que los tejidos se convierten en parte integrante de los organismos. El esquema que describe el procesamiento de la información a nivel de la expresión de los genes fue propuesto por primera vez en 1958 por Francis Crick.



Crick denominó a este esquema el *dogma central*: la información fluye desde el DNA al RNA y, posteriormente, a la proteína. Además, el DNA se puede replicar. Los aspectos básicos de este dogma son ciertos pero, como se verá más adelante, este esquema no es tan simple como se indica en la figura.

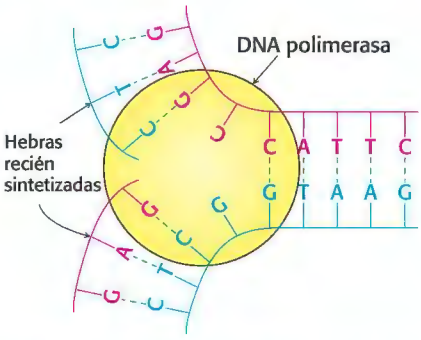


Figura 1.6 Replicación del DNA. Cuando las dos hebras de una molécula de DNA se separan, cada hebra puede servir de molde para la síntesis de una nueva pareja. La DNA polimerasa cataliza la replicación.

El DNA constituye la información heredable —*el genoma*. Esta información está organizada en forma de unidades discretas denominadas *genes*. Es esta colección de genes la que determina la naturaleza física del organismo. Cuando una célula se duplica, el DNA se copia y, por tanto, las células hijas recién formadas poseen genomas idénticos. El proceso de copiar el genoma se denomina *replicación*. Un grupo de enzimas que, colectivamente, reciben el nombre de *DNA polimerasa* cataliza el proceso de replicación (**Figura 1.6**).

Los genes, por sí mismos, carecen de utilidad. La información tiene que hacerse accesible. Esta accesibilidad se consigue mediante el proceso de *transcripción*, en el cual, una forma de ácido nucleico, el DNA, se transcribe en otra forma, el RNA. La enzima *RNA polimerasa* cataliza este proceso (**Figura 1.7**). Qué genes se transcriben, así como cuándo y dónde se transcriben, resulta decisivo para el destino de la célula. Por ejemplo, aunque en un cuerpo humano todas y cada una de las células contienen la información del DNA que codifica las instrucciones para fabricar todos los tejidos, esta información está compartimentada. Los genes que se expresan en el hígado son distintos de los expresados en los músculos o en el cerebro. *De hecho, es esta expresión selectiva la que define la función de una célula o tejido.*

Un aspecto fundamental de la expresión selectiva de la información genética es la transcripción de los genes en mRNA. La información codificada en el mRNA se convierte en algo real durante el proceso de *traducción* porque la información se traduce, literalmente, de una forma química (un ácido nucleico) a otra (una proteína). Las proteínas han sido descritas como la mano de obra de la célula y *la traducción convierte la información genética en una forma funcional*. La traducción tiene lugar en unos complejos macromoleculares de gran tamaño denominados *ribosomas*, que están formados por RNA y proteínas (**Figura 1.8**).

Ahora que han sido presentadas las biomoléculas fundamentales y se ha revisado brevemente el dogma central de la transferencia de información, echemos un vistazo a la plataforma —la célula— que contiene y coordina la bioquímica necesaria para la vida.

Tal y como se define en el *Oxford English Dictionary*, transcribir significa hacer una copia escrita de (algo); copiar a partir de un original; escribir (una copia).

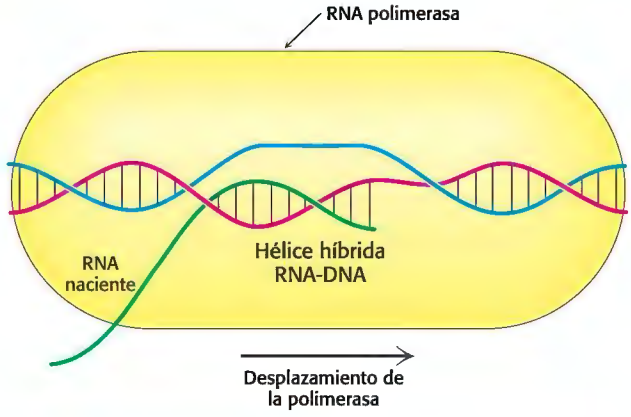


Figura 1.7 Transcripción del RNA. La transcripción, catalizada por la RNA polimerasa, hace una copia en RNA de una de las hebras del DNA.

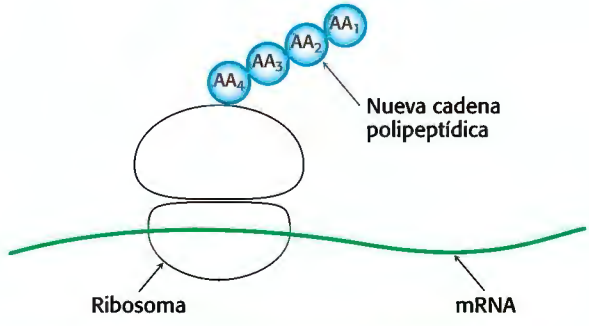


Figura 1.8 La traducción tiene lugar en los ribosomas
Un ribosoma descodifica la información del mRNA y la traduce en la secuencia de aminoácidos de una proteína.

✓ 3 Identificar las características fundamentales que diferencian a las células eucarióticas de las células procarióticas.

1.4 Las membranas delimitan la célula y desempeñan funciones celulares

La célula es la unidad básica de la vida. Las células pueden crecer, replicarse e interaccionar con su entorno. Los organismos vivos pueden ser tan simples como una única célula o tan complejos como un cuerpo humano, que está formado por, aproximadamente, 100 billones de células. Cada célula está delimitada por una membrana que separa el interior de la célula de su entorno. Una *membrana* es una *bicapa lipídica*: dos capas de lípidos dispuestas con sus cadenas hidrocarbonadas interaccionando entre sí y los grupos hidrofílicos de las cabezas polares interaccionando con el entorno (**Figura 1.9**).

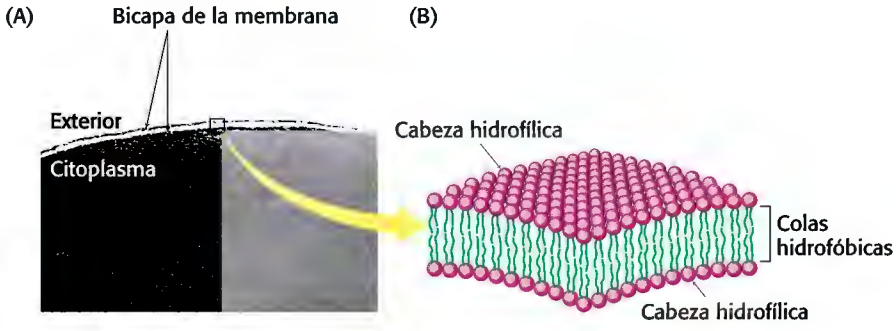


Figura 1.9 Estructura en forma de bicapa de una membrana. (A) Las membranas están compuestas por dos capas o láminas. (B) Las partes hidrofóbicas de las capas interaccionan entre sí y las partes hidrofílicas interaccionan con el entorno. [Fotografía cortesía de J. D. Robertson].

Hay dos tipos básicos de célula: las células eucarióticas y las células procarióticas (**Figura 1.10**). La principal diferencia entre las dos es la existencia de compartimentos rodeados de membrana en *eucariotas* y la ausencia de este tipo de compartimentos en *procariotas*. Las células procarióticas, ejemplificadas por la bacteria del intestino humano *Escherichia coli*, tienen una estructura relativamente sencilla. Están rodeadas por dos

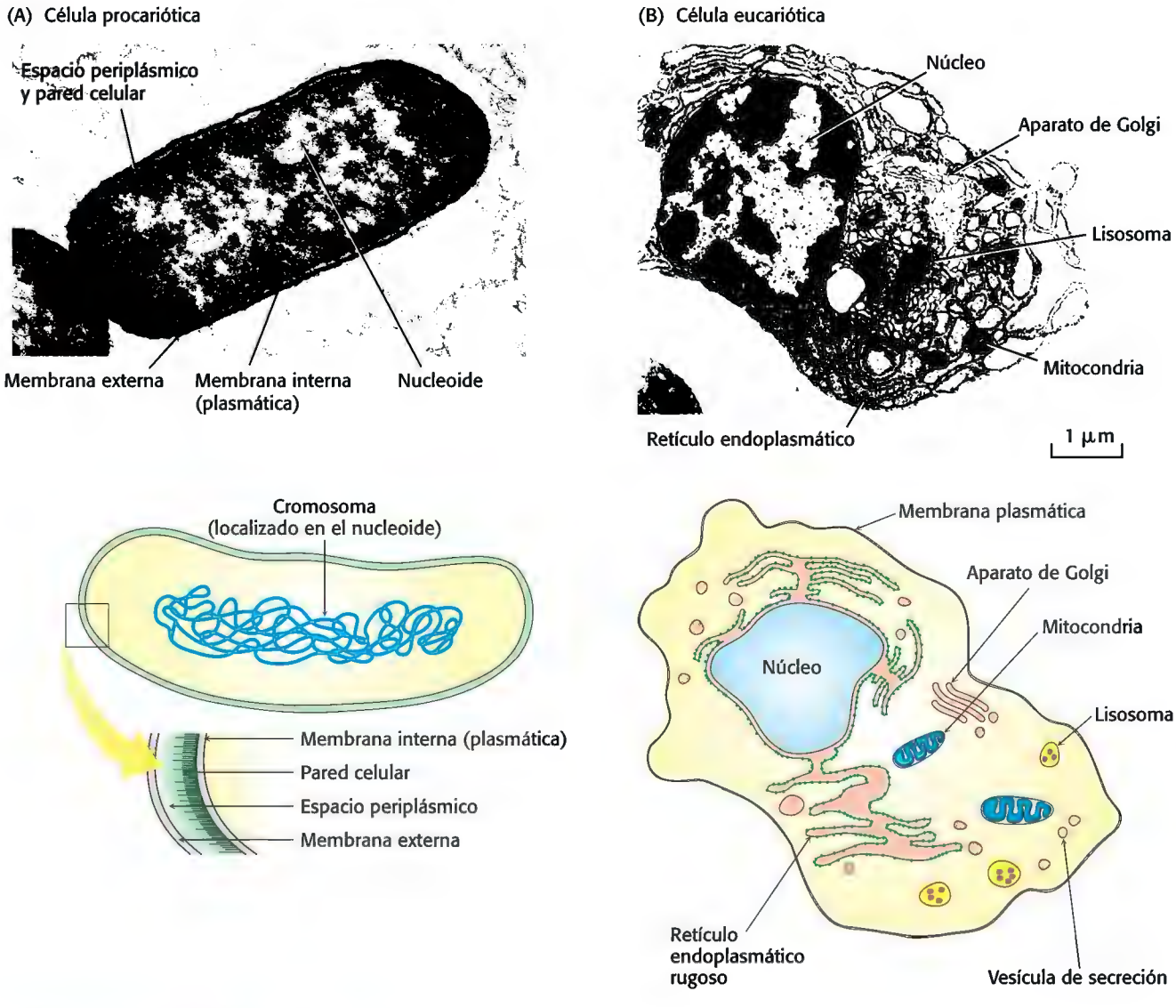


Figura 1.10 Células procarióticas y eucarióticas. Las células eucarióticas presentan más estructura interna que las células procarióticas. Los componentes del interior de una célula eucariótica y de forma particularmente notoria, el núcleo, están delimitados por membranas. [Micrografías: (A) ©Biology Pics/Science Source; (B) tomado de P. C. Cross y K. L. Mercer, *Cell and Tissue Ultrastructure: A Functional Perspective* (W. H. Freeman and Company, 1993), p. 199. Diagramas: (A y B) Tomados de H. Lodish y col., *Molecular Cell Biology*, 6ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2008), p. 3].

membranas separadas por el espacio periplásmico. Aunque los seres humanos están formados por 100 billones de células, somos portadores de un número aún mayor de células tanto en nuestro interior como sobre nuestra superficie. En la mayoría de los casos, nuestra actitud en relación con nuestros colegas procarióticos es la de "vive y deja vivir". Por ejemplo, los procariotas que viven en nuestros intestinos nos ayudan durante el proceso de digestión. En otros aspectos, los procariotas son los responsables de que nuestras vidas sean más agradables. Diversos procariotas nos suministran nata, yogur y queso. No obstante, los procariotas también pueden causar una amplia gama de enfermedades.

Independientemente del tipo de célula —eucariótica o procariótica, animal o vegetal— son dos las características bioquímicas mínimas que constituyen una célula: debe haber (1) una barrera que separe la célula de su entorno y (2) un interior que difiera químicamente del entorno y que albergue la bioquímica de la vida. La barrera se denomina *membrana plasmática* y el material básico intracelular se denomina *citoplasma.*

La membrana plasmática La membrana plasmática separa el interior de la célula del exterior, una célula de otra célula. Esta membrana es impermeable para la mayoría de las sustancias, incluso para sustancias que deben acceder al interior de la célula como, por ejemplo, combustibles, materiales de construcción y moléculas señal. En consecuencia, el funcionamiento de la membrana a modo de barrera debe moderarse para permitir la entrada y salida de moléculas e información. En otras palabras, la membrana debe hacerse semipermeable pero de un modo muy selectivo. Esta *permeabilidad selectiva* es la tarea de las proteínas que están integradas en la membrana plasmática o asociadas a ella (Figura 1.11). Estas proteínas facilitan la entrada de combustibles, como la glucosa, y de materiales de construcción, como los aminoácidos, y transmiten información —por ejemplo, la presencia de insulina en el torrente sanguíneo.

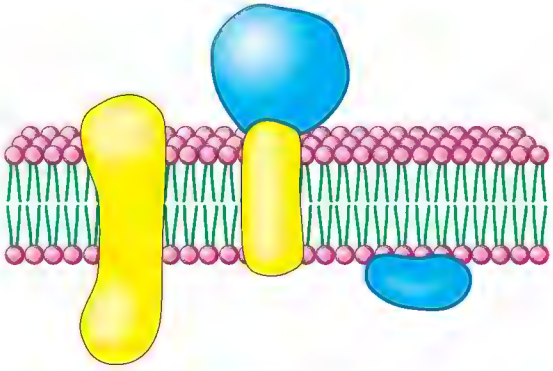


Figura 1.11 Proteínas de membrana. Las proteínas integradas en las membranas (en amarillo) y las que están unidas a ellas (en azul), permiten el intercambio de material e información con el entorno.

La pared celular vegetal La membrana plasmática de un vegetal está rodeada de una pared celular (Figura 1.12). La pared celular está formada fundamentalmente por celulosa, un largo polímero lineal de moléculas de glucosa. Las moléculas de celulosa interaccionan entre sí y con otros componentes de la pared celular para formar una robusta pared protectora para la célula.

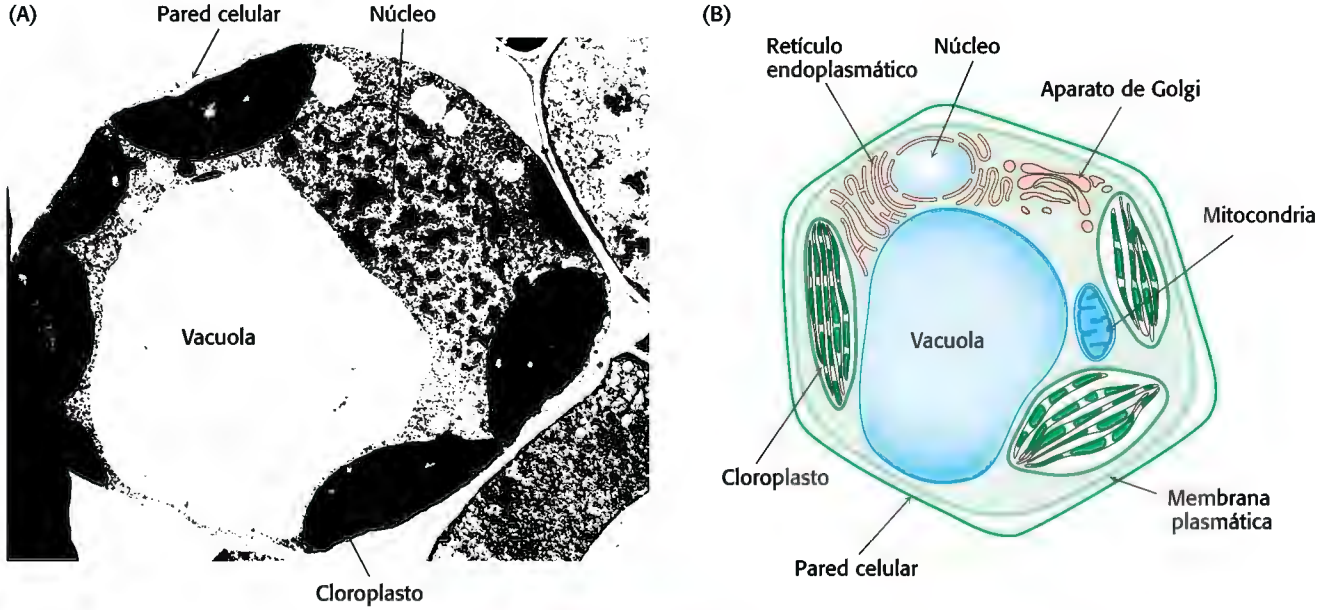


Figura 1.12 Una célula vegetal (A) Fotomicrografía de una célula de una hoja. (B) Diagrama de una célula vegetal típica. [(A) Biophoto Associates/Photo Researchers.]

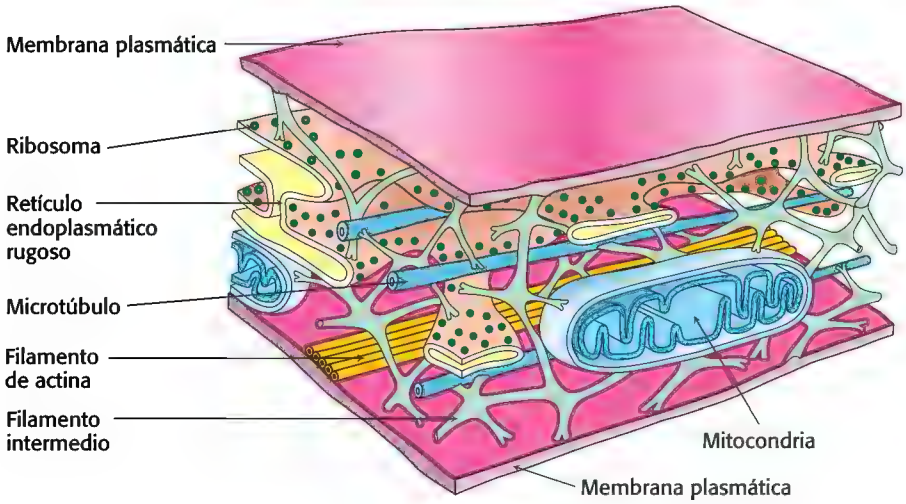


Figura 1.13 El citoesqueleto.
Los filamentos de actina, los filamentos intermedios y los microtúbulos son componentes del citoesqueleto, que determina la forma de la célula y contribuye al movimiento de la célula. Estos componentes se distribuyen por todo el citoplasma, asociándose con los demás orgánulos celulares. [Tomado de W. K. Purves y col., *Life*, 7ª ed, (W. H. Freeman and Company, 2004), p. 80].

El citoplasma La sustancia básica de la célula, el material que está rodeado por la membrana plasmática, se denomina citoplasma. Es el lugar donde tienen lugar multitud de procesos bioquímicos, incluyendo las etapas iniciales del metabolismo de la glucosa, de la síntesis de ácidos grasos y de la síntesis de proteínas. Anteriormente se creía que el citoplasma era una "sopa" de biomoléculas importantes pero cada vez está resultando más claro que la bioquímica del citoplasma está altamente organizada por medio de un entramado de filamentos estructurales denominado *citoesqueleto*. En muchos eucariotas, el citoesqueleto es un entramado formado por tres tipos de fibras de naturaleza proteica —los filamentos de actina, los filamentos intermedios y los microtúbulos— que sostienen la estructura de la célula, ayudan a que determinadas actividades bioquímicas estén localizadas en un lugar preciso e incluso funcionan a modo de "autopistas moleculares" a través de los cuales las moléculas se pueden desplazar de un lado a otro de la célula (Figura 1.13).

Las funciones bioquímicas se encuentran confinadas en los compartimentos celulares

Una diferencia calve entre las células eucarióticas y las células procarióticas es la presencia en eucariotas de un complejo conjunto de compartimentos intracelulares rodeados de membrana denominados *orgánulos* (ver la Figura 1.10B). A continuación, haremos un recorrido por la célula para investigar los orgánulos más destacados, que aparecerán en multitud de ocasiones durante nuestro estudio de la bioquímica.

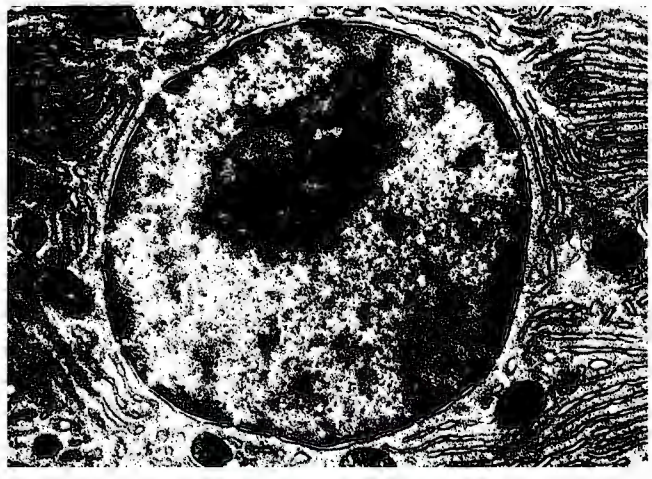


Figura 1.14 El núcleo.
[Don W. Fawcett/Photo Researchers.]

El núcleo El orgánulo de mayor tamaño es el *núcleo*, que es un orgánulo rodeado de una doble membrana (Figura 1.14). La membrana nuclear está salpicada de poros que permiten el transporte hacia el interior o hacia el exterior del núcleo. Este transporte es crucial porque *el núcleo es el centro de información de la célula*. El núcleo es el lugar donde se encuentra el genoma de un organismo. Sin embargo, el núcleo es más que un almacén. Es el lugar donde la información genómica se expresa de forma selectiva en el momento adecuado y en su justa medida.

La mitocondria La *mitocondria* posee dos membranas: una membrana mitocondrial externa que está en contacto con el citoplasma y una membrana mitocondrial interna que delimita la matriz de la mitocondria —el equivalente mitocondrial del citoplasma (Figura 1.15). El espacio entre las dos membranas es el espacio intermembrana. En las mitocondrias, las moléculas combustible son sometidas a combustión para convertirse en dióxido de carbono y agua con la generación de energía celular, adenosina trifosfato (ATP). Aproximadamente el 90% de la energía utilizada por una célula típica se produce en este orgánulo. Venenos como el cianuro y el monóxido de

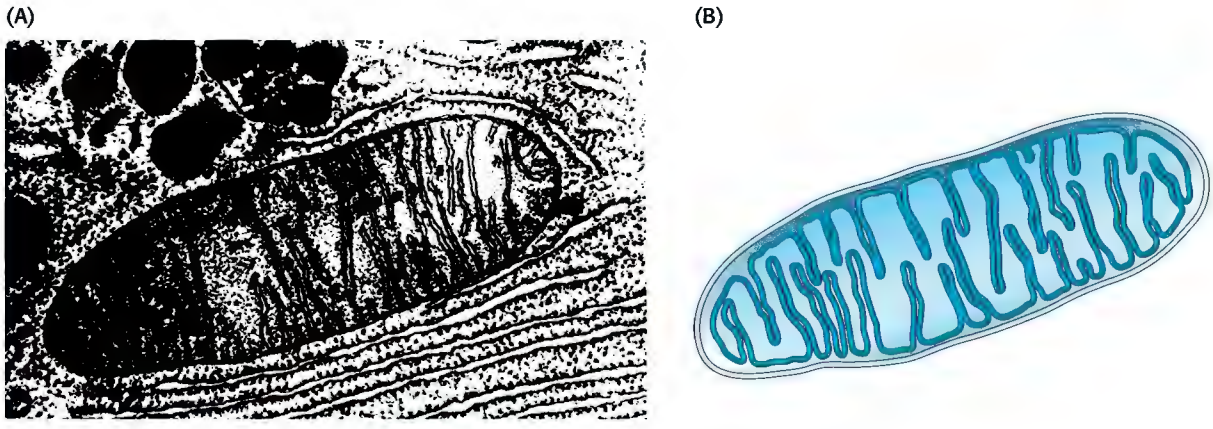


Figura 1.15 La mitocondria. En el panel B, la matriz mitocondrial se muestra en color azul claro [(A) Keith R. Porter/Photo Researchers.]

carbono son tan mortíferos precisamente porque interrumpen el funcionamiento de las mitocondrias. Cuando estudiemos la bioquímica de este orgánulo en detalle, veremos que la estructura de la mitocondria está íntimamente relacionada con su funcionamiento bioquímico.

El cloroplasto Otro orgánulo rodeado de doble membrana y esencial para todas las formas de vida, pero que sólo se puede encontrar en las células vegetales, es el *cloroplasto* (ver Figura 1.12). Los cloroplastos proporcionan energía a la célula vegetal, a la planta y al resto del mundo viviente. Un cloroplasto es el lugar donde se produce una proeza bioquímica extraordinaria: la conversión de la luz solar en energía química, un proceso denominado *fotosíntesis*. Cada comida que ingerimos, ya sea una ensalada o un gran filete de jugosa carne, debe su existencia a la fotosíntesis. Si se detuviese la fotosíntesis, la vida en la Tierra desaparecería en unos 25 años. Se cree que la extinción masiva del periodo Cretácico (hace 65,1 millones de años), en la que desaparecieron los dinosaurios, fue debida a la colisión de un meteorito de gran tamaño que lanzó a la atmósfera una cantidad de material tan grande que impidió el paso de la luz del sol y, por tanto, dejó de haber fotosíntesis.

Algunos orgánulos procesan y seleccionan proteínas e intercambian materiales con el entorno

Examinemos brevemente otros orgánulos eucarióticos (ver Figura 1.10B) en el contexto de cómo cooperan entre sí para llevar a cabo tareas bioquímicas de vital importancia.

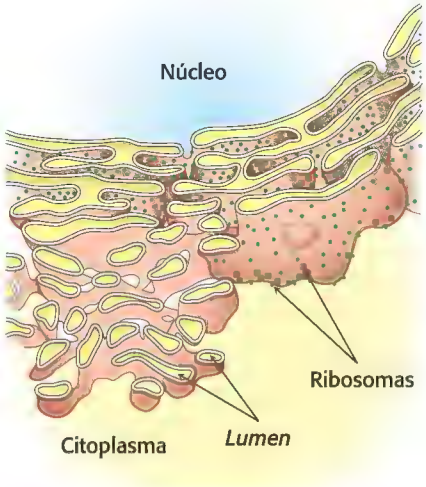


Figura 1.16 El retículo endoplasmático (RE). El RE liso carece de ribosomas. El RE rugoso tiene ribosomas adheridos a él. [Tomado de D. Sadava y col., *Life*, 8ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2008), p. 77].

El retículo endoplasmático El *retículo endoplasmático* es un conjunto de sacos membranosos. Multitud de reacciones bioquímicas tienen lugar tanto sobre la superficie citoplasmática de estos sacos como en su interior, también llamado lumen. Hay dos tipos de retículo endoplasmático: *el retículo endoplasmático liso* (RE liso o REL) y el *retículo endoplasmático rugoso* (RE rugoso o RER), tal y como se ilustra en la **Figura 1.16** (ver también la Figura 1.10). El retículo endoplasmático liso desempeña diversas funciones, pero una función especialmente significativa es el procesamiento de sustancias químicas exógenas (sustancias químicas que se han originado en el exterior de la célula) como, por ejemplo, las drogas. Cuanta más droga ingiera un organismo, entre las que se incluye el alcohol, mayor cantidad de retículo endoplasmático liso habrá en el hígado.

El retículo endoplasmático rugoso presenta aspecto granulado a causa de los ribosomas que se encuentran unidos por el lado citoplasmático. Los ribosomas que se encuentran libres en el citoplasma intervienen en la síntesis de las proteínas que se van a utilizar en el interior de la célula. Los ribosomas adheridos al retículo endoplasmático rugoso sintetizan las proteínas que estarán insertadas en las membranas celulares o que serán secretadas al exterior de la célula.

Durante el proceso de traducción, las proteínas sintetizadas en el retículo endoplasmático rugoso son transportadas hasta el *lumen*. En el interior del *lumen* del

retículo endoplasmático rugoso, una proteína se pliega adoptando su estructura tridimensional gracias a la ayuda de otras proteínas denominadas *chaperonas* y, con frecuencia, se somete a modificaciones como, por ejemplo, la adición de carbohidratos. A continuación, la proteína plegada y modificada queda confinada en unas regiones del retículo endoplasmático rugoso que carecen de ribosomas. Estas regiones se desprenden del retículo endoplasmático rugoso en forma de *vesículas de transporte*.

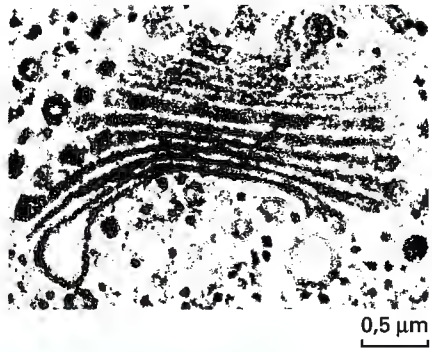


Figura 1.17 El aparato de Golgi. [Cortesía de L. Andrew Staehelin, Universidad de Colorado].

El aparato de Golgi Las vesículas de transporte que emergen del retículo endoplasmático rugoso son transportadas hasta el *aparato de Golgi* —un conjunto de membranas apiladas— y se fusionan con él (Figura 1.17). En el aparato de Golgi se siguen procesando las proteínas contenidas en las vesículas de transporte. Concretamente, se les añade un conjunto distinto de carbohidratos. En el interior del aparato de Golgi se clasifican las proteínas en función de sus diversos destinos.

Gránulos de secreción Cuando se desprende una vesícula del aparato del Golgi repleta de proteínas destinadas a la secreción se forma un *gránulo de secreción*, o gránulo de zimógeno. El gránulo es dirigido hacia la membrana celular. Cuando se recibe la señal apropiada, el gránulo de secreción se fusiona con la membrana plasmática y vierte su contenido en el medio extracelular, un proceso denominado *exocitosis* (Figura 1.18).

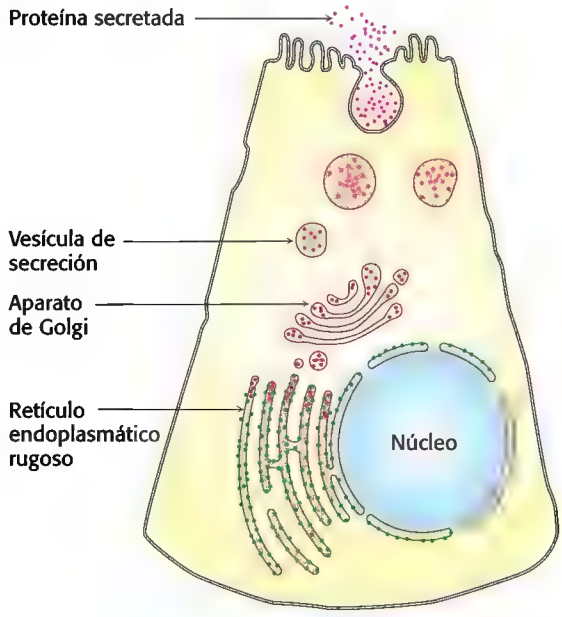


Figura 1.18 Exocitosis. Ta ruta de secreción. [Tomado de H. Lodish y col., *Molecular Cell Biology*, 5ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2004), p. 169].

El endosoma Cuando la membrana plasmática forma invaginaciones que se desprenden formando un *endosoma* (un proceso que no se muestra en la Figura 1.10B) se incorpora material al interior de la célula. Este proceso se denomina *endocitosis*, que es lo contrario de la exocitosis. La endocitosis se utiliza para hacer llegar al interior de la célula compuestos bioquímicamente importantes como iones hierro, vitamina B_{12} y colesterol. La endocitosis tiene lugar en pequeñas regiones de la membrana, como cuando se introduce una proteína en la célula (Figura 1.19). Por otro lado, también es posible introducir en la célula grandes cantidades de material. Cuando se introduce gran cantidad de material en la célula el proceso se denomina *fagocitosis*. La Figura 1.20 muestra una célula del sistema inmunitario denominada macrófago fagocitando una bacteria. Los macrófagos fagocitan bacteria como forma de proteger a un organismo de la infección. ¿Cuál es el destino de las vesículas formadas por endocitosis o por fagocitosis?

Lisosomas El *lisosoma* es un orgánulo que contiene una amplia gama de enzimas digestivas. La formación de los lisosomas es parecida a la formación de los gránulos de secreción, pero los lisosomas se fusionan con los endosomas en vez de con la membrana celular. Después de producirse la fusión, las enzimas del lisosoma digieren el material, liberando pequeñas moléculas que pueden ser utilizadas por la célula como materiales de construcción o como combustible. Sin embargo, los lisosomas no sólo se limitan a degradar material extracelular. Otra de sus funciones consiste en la digestión de orgánulos intracelulares dañados. La Figura 1.21 muestra una mitocondria que está siendo digerida en el interior de un lisosoma.

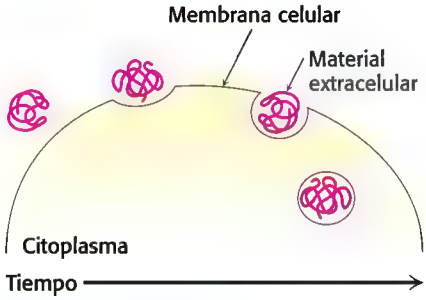


Figura 1.19 Endocitosis.



Figura 1.20 Fagocitosis. Bacterias (señaladas con flechas) fagocitadas por un macrófago. [Cortesía del Dr. Stanley Falkow].



Figura 1.21 Un lisosoma. Micrografía de un lisosoma durante el proceso de digestión de una mitocondria (M) y de otros materiales celulares. [©Biophoto Associates/Science Source].

PREGUNTA RÁPIDA 2 Cite tres orgánulos o estructuras que se pueden encontrar en las células vegetales pero no en las células animales.

Vacuolas vegetales Además del cloroplasto, otro orgánulo característico de las células vegetales es una vacuola de gran tamaño. En algunas células vegetales, este orgánulo rodeado por una única membrana puede ocupar hasta el 80% del volumen de una célula (ver la Figura 1.12). Estas vacuolas almacenan agua, iones y diversos nutrientes. Por ejemplo, las vacuolas de los frutos cítricos son ricas en ácido cítrico, que es el responsable del sabor ácido de estas frutas. El transporte de moléculas a través de la membrana de la vacuola se lleva a cabo por medio de proteínas.

Aspecto clínico

Fallos en la función de los orgánulos pueden dar lugar a enfermedades

Muchos estados patológicos surgen a causa del mal funcionamiento de diversos orgánulos. Por ejemplo, la hipercolesterolemia familiar, una enfermedad en la que niños con edades tan tempranas como 6 años mueren de ataques al corazón, se debe a una endocitosis ineficaz del colesterol presente en la sangre. Los elevados niveles de colesterol resultantes dan lugar a ataques al corazón. La enfermedad de Tay-Sachs, que se caracteriza por debilidad muscular, demencia y muerte a edades tempranas, normalmente antes de los 3 años, es el resultado de un funcionamiento incorrecto de los lisosomas. A medida que avancemos en nuestro estudio de la bioquímica repasaremos estas enfermedades y examinaremos muchas otras. ■

La organización celular es una muestra del elevado contenido de información de la célula. Pero este breve repaso sólo ha raspado la superficie del procesamiento de información que debe llevarse a cabo para construir algo tan sofisticado como una célula. En el resto de este libro de texto examinaremos las rutas bioquímicas de la energía y de la información que contribuyen a la construcción y al mantenimiento de los sistemas vivos.

Resumen

1.1 Los sistemas vivos necesitan un repertorio limitado de átomos y moléculas
En los seres vivos, el oxígeno, el hidrógeno y el carbono constituyen el 98% de sus átomos. El hidrógeno y el oxígeno son los que predominan por la gran cantidad de agua que contienen pero en todas las biomoléculas, el átomo más frecuente es el carbono.

1.2 Hay cuatro clases principales de biomoléculas
Las proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y carbohidratos constituyen las cuatro clases principales de biomoléculas. Las proteínas son las más versátiles y desempeñan una función especialmente destacada cuando actúan como enzimas. Los ácidos nucleicos son, fundamentalmente, moléculas que contienen información: el DNA es la información genética de la mayoría de los organismos, mientras que el RNA desempeña diversas funciones, incluyendo la de servir de conexión entre el DNA y las proteínas. Los lípidos sirven de combustible y para formar membranas. Los carbohidratos son las principales moléculas combustible y también desempeñan un papel en las interacciones célula-célula.

1.3 El dogma central describe los principios básicos de la transferencia de información biológica
El dogma central de la biología establece que el DNA se replica para formar nuevas moléculas de DNA. El DNA también se puede transcribir para formar RNA. Una parte de la información almacenada en forma de RNA, el denominado RNA mensajero, se puede traducir a proteínas.

1.4 Las membranas delimitan la célula y desempeñan funciones celulares
Las membranas, formadas por bicapas lipídicas, son cruciales para establecer fronteras entre las células y su entorno y para fijar límites entre regiones internas de multitud de células. Desde el punto de vista estructural hay dos tipos distintos de célula: las células eucarióticas y las células procarióticas. Las células eucarióticas se caracterizan por un complejo conjunto de compartimentos intracelulares rodeados de membrana denominados orgánulos. El núcleo es el orgánulo más grande y alberga la información genética de la célula. Otros orgánulos desempeñan funciones en la transformación de la energía, en el procesamiento y secreción de proteínas y en la digestión. Por el contrario, las células procarióticas son más pequeñas y menos complejas y carecen de compartimentos rodeados de membrana.

Términos clave

unidad de la bioquímica (p. 3)
proteínas (p. 5)
ácidos nucleicos (p. 6)
nucleótidos (p. 6)
ácido desoxirribonucleico (DNA) (p. 6)
ácido ribonucleico (RNA) (p. 6)
lípidos (p. 6)
carbohidratos (p. 7)
glucógeno (p. 7)
dogma central (p. 7)
replicación (p. 8)
transcripción (p. 8)
traducción (p. 8)
membrana (p. 8)
bicapa lipídica (p. 8)
eucariotas (p. 9)
procariotas (p. 9)
membrana plasmática (p. 10)
citoplasma (p. 10)
citoesqueleto (p. 10)
núcleo (p. 11)
mitocondria (p. 12)
cloroplastos (p. 12)
retículo endoplasmático (RE) (p. 12)
Aparato de Golgi (p. 13)
gránulos de secreción (de zimógeno) (p. 13)
exocitosis (p. 13)
endosomas (p. 13)
endocitosis (p. 13)
fagocitosis (p. 13)
lisosomas (p. 13)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Proteínas: catalizadores. Ácidos nucleicos: transferencia de la información. Lípidos: combustiblesy estructura. Carbohidratos: combustiblesy comunicación célula-célula.

2. Cloroplastos, vacuolas y pared celular.

Problemas

1. *E. coli y los elefantes.* ¿Qué se quiere decir mediante la expresión "unidad de la bioquímica? ¿Cuáles son las implicaciones de la unidad de la bioquímica?

2. *Similares, pero no iguales.* Describa las diferencias estructurales entre el DNA y el RNA. ✓ 1

3. *Polímeros.* ¿Qué diferencias hay entre la estructura polimérica de las proteínas y la del glucógeno? ✓ 1

4. *Una creencia oficial.* Defina el dogma central de la biología. ✓ 2

5. *Procesamiento de la información.* Defina replicación, transcripción y traducción en relación con el dogma central. ✓ 2

6. *Acelera.* ¿Qué es una enzima? ✓ 1

7. *Complejas y no tan complejas.* ¿Qué diferencias hay entre células eucarióticas y células procarióticas? ✓ 3

8. *¿Un órgano diminuto?* ¿Qué es un orgánulo? ✓ 3

9. *Doble cobertura.* ¿Qué orgánulos están rodeados por dos membranas?

10. *Perforada.* ¿En qué se diferencia la membrana nuclear de otras membranas?

11. *Una estrategia de salida.* Trace la ruta que conduce a la formación de una proteína de secreción desde su gen hasta su exocitosis por parte de la célula.

12. *Función y estructura.* Asigne cada función al orgánulo correspondiente.

(a) Retículo endoplasmático _____
(b) Retículo endoplasmático liso _____
(c) Retículo endoplasmático rugoso _____
(d) Aparato de Golgi _____
(e) Vesículas de transporte _____
(f) Gránulos de secreción _____
(g) Endosoma _____
(h) Lisosoma _____
(i) Mitocondria _____
(j) Cloroplasto _____
(k) Núcleo _____
(l) Membrana plasmática _____

1. Lugar donde se encuentra la mayor parte del DNA de la célula
2. Lugar donde se oxida el combustible
3. Separa el interior de la célula del exterior
4. Transporta sustancias bioquímicas importantes al interior de la célula
5. Membrana con ribosomas adheridos
6. Lugar donde se produce la fotosíntesis
7. Contiene enzimas digestivas
8. Destinadas a fusionarse con la membrana plasmática
9. Forma frecuente de la membrana citoplasmática
10. Lugar donde se añaden carbohidratos a las proteínas
11. Facilita la comunicación entre el retículo endoplasmático rugoso y el aparato de Golgi
12. Procesa sustancias químicas exógenas

CAPÍTULO 2

Agua, enlaces débiles y la generación de orden a partir del caos

2.1 Los movimientos térmicos aportan la energía para las interacciones biológicas

2.2 Las interacciones bioquímicas tienen lugar en una disolución acuosa

2.3 Las interacciones débiles son importantes propiedades bioquímicas

2.4 Las moléculas hidrofóbicas se agrupan entre sí

2.5 El pH es un parámetro importante de los sistemas bioquímicos



Nuestros sentidos —vista, gusto, olfato, oído y tacto— nos permiten captar experiencias del mundo. Disfrutamos de la suavidad de la piel de un gatito y del sonido de sus ronroneos mediante el tacto y el oído. Sorprendentemente, estos sensuales placeres dependen de enlaces químicos débiles y reversibles. [Marc Hill/Alamy.]

Las células, tal y como se sugiere en el Capítulo 1, ofrecen una extraordinaria muestra de orden funcional. Los materiales de construcción de las células son los millones de moléculas individuales que se incluyen dentro de las cuatro clases fundamentales de biomoléculas presentes en los seres vivos —proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y carbohidratos. Estas moléculas son, en su mayor parte, estables porque están construidas con enlaces covalentes fuertes —enlaces en los que los electrones se comparten entre los átomos involucrados. Sin embargo, tanto la extraordinaria estructura de la célula como su funcionamiento se estabilizan mediante interacciones débiles que poseen tan solo una fracción de la fuerza de los enlaces covalentes.

Dos cuestiones nos vienen inmediatamente a la cabeza: ¿Cómo es posible esta estabilización? y ¿por qué resulta ventajosa? La respuesta a la primera pregunta es que "la estabilidad está en los números". Muchos enlaces débiles pueden dar lugar a estructuras estables de gran tamaño. La respuesta a la segunda pregunta es que los enlaces débiles permiten interacciones transitorias. Un sustrato se puede unir a una enzima y el producto puede abandonar la enzima. Una hormona se puede unir a su receptor y, posteriormente, disociarse del receptor una vez ha sido recibida la señal. Los enlaces débiles permiten interacciones dinámicas y hacen posible que la energía y la información se desplacen por la célula y por el organismo. *Las interacciones químicas transitorias constituyen la base de la bioquímica y de la propia vida.*

El agua es el disolvente de la vida y afecta enormemente a los enlaces débiles haciendo que algunos sean más débiles e impulsando la formación de otros. Por ejemplo, las moléculas hidrofóbicas, como las grasas, no pueden interaccionar de ninguna manera con el agua. Sin embargo, se puede sacar provecho de esta antipatía química. La

solución energética para la antipatía química que existe entre el agua y las moléculas hidrofóbicas impulsa tanto la formación de las membranas como la intricada estructura tridimensional de las biomoléculas, especialmente en el caso de las proteínas.

Nuestra percepción de la vida se produce a una distancia de 4 angstroms (4Å), la longitud típica de los enlaces no covalentes. La presión de un apretón de manos, la sensación de un beso, la lectura de las palabras de esta página —todas estas sensaciones son el resultado de moléculas grandes unidas covalentemente interaccionando de manera no covalente con una amplia gama de otras moléculas grandes o con iones sodio, o con fotones o con otros tipos de moléculas señal, siempre a una distancia de aproximadamente 4 Å.

Un angstrom (Å) = 0,1 nanómetro (nm) = 1×10^{-10} metros (m). Su nombre se debe al físico sueco Anders Jonas Ångström (1814-1874) quien expresó las longitudes de onda en forma de múltiplos de 1×10^{-10} metros. Posteriormente, esa longitud recibió el nombre de angstrom.

En este capítulo, nos centraremos en las interacciones transitorias entre moléculas —interacciones débiles y reversibles, pero esenciales. Veremos en qué condiciones se tienen que encontrar las moléculas para que puedan interactuar y, posteriormente, examinaremos los fundamentos químicos de las diversas interacciones débiles. Por último, estudiaremos un tipo especialmente importante de interacciones débiles y reversibles —la ionización del agua y de los ácidos débiles.

2.1 Los movimientos térmicos aportan la energía para las interacciones biológicas

En 1827, el botánico escocés Robert Brown observó con un microscopio gránulos de polen suspendidos en agua. Se dio cuenta de que los gránulos se movían constantemente de un lado a otro de forma aleatoria y pensó que estaba observando la fuerza vital intrínseca de los gránulos de polen. Desechó esa idea cuando observó el mismo comportamiento en partículas de colorante en agua o con partículas de polvo en el aire. El movimiento que observaba, que posteriormente recibió el nombre de *movimiento browniano*, es una fuente de energía fundamental para la vida. El movimiento de las partículas que observó Brown se debe a la fluctuación aleatoria de la energía contenida en el entorno —el ruido térmico. Las moléculas de agua y gas del entorno están rebotando de un sitio a otro aleatoriamente a una velocidad que está determinada únicamente por la temperatura. Cuando estas moléculas colisionan con gránulos de polen o con motas de polvo, las partículas, a su vez, se mueven al azar.

El movimiento browniano es responsable de que se establezcan muchas interacciones bioquímicas. En el contexto de la célula, el agua es el medio más frecuente en donde se produce el ruido térmico del movimiento browniano. El agua es el lubricante que facilita el flujo de energía y las transformaciones de la información mediante movimiento browniano. Las enzimas encuentran sus sustratos; los combustibles se pueden modificar de forma progresiva para producir energía y las moléculas señal pueden difundir desde sus lugares de origen hasta el sitio donde producirán un efecto gracias al movimiento browniano.

Por supuesto, el medio interno de la célula no es tan simple como acabamos de insinuar. Las células no son meros sacos llenos de agua con biomoléculas moviéndose de un lado a otro. Tal y como se describió en el Capítulo 1, un elevado grado de organización, como el que proporcionan las grandes agrupaciones moleculares, facilita el intercambio de metabolitos y de moléculas señal impulsado por el movimiento browniano. A lo largo de nuestro estudio de la bioquímica nos volveremos a encontrar muchas veces con ejemplos de este tipo de organización.

El agua es el medio cuyo movimiento browniano proporciona la fuerza motriz para las interacciones bioquímicas. ¿Cuáles son las propiedades del agua que la convierten en el medio perfecto para la vida?

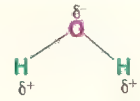
2.2 Las interacciones bioquímicas tienen lugar en una disolución acuosa

✓ 4 Describir las propiedades químicas del agua y explicar cómo afecta el agua a las interacciones bioquímicas.

El agua es el disolvente de la vida. En los seres humanos, el 65% es agua; en los tomates, el 90%, y en una célula típica, aproximadamente el 70%. De hecho, la mayoría de los organismos están formados principalmente por agua, ya sean bacterias, cactus, ballenas o elefantes. Muchas de las moléculas orgánicas necesarias para la bioquímica de los sistemas vivos se disuelven en agua. Básicamente, el agua hace que las moléculas se puedan mover y permite que se establezcan interacciones entre las moléculas

gracias a la energía suministrada por el movimiento browniano. ¿Cuál es el fundamento químico de la capacidad del agua para disolver tantas biomoléculas?

El agua es una molécula sencilla, formada por dos átomos de hidrógeno unidos mediante enlaces covalentes a un único átomo de oxígeno. Las importantes propiedades del agua se deben al hecho de que el oxígeno es un átomo electronegativo. En otras palabras, aunque los enlaces que unen los átomos de hidrógeno al átomo de oxígeno son covalentes, los electrones del enlace pasan más tiempo cerca del átomo de oxígeno. Como la distribución de carga no es uniforme, se dice que la molécula de agua es *polar*. El átomo de oxígeno posee una ligera carga negativa (que se designa como δ^-), y los átomos de hidrógeno poseen la correspondiente ligera carga positiva (δ^+).



Esta polaridad tiene importantes repercusiones químicas. Los átomos de hidrógeno con carga parcial positiva de una molécula de agua pueden interaccionar con los átomos de oxígenos, con carga parcial negativa de otra molécula de agua. Esta interacción recibe el nombre de *puente de hidrógeno* (**Figura 2.1**). Como ya veremos, los puentes de hidrógeno no son exclusivos de las moléculas de agua y, de hecho, son enlaces débiles que aparecen con frecuencia en las biomoléculas. El agua líquida posee una estructura parcialmente ordenada en la que continuamente se están formando y deshaciendo agrupaciones de moléculas unidas mediante puentes de hidrógeno y en la que cada molécula de agua está formando puentes de hidrógeno con una media de 3,4 moléculas vecinas. Por tanto, el agua es cohesiva. La polaridad del agua y su capacidad para formar puentes de hidrógeno la convierte en un disolvente para cualquier molécula polar o cargada.

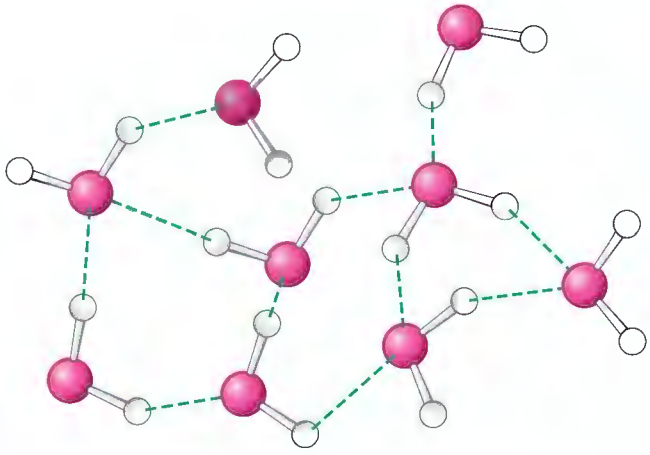


Figura 2.1 Los puentes de hidrógeno del agua. Entre las moléculas de agua se forman puentes de hidrógeno (mostrados como líneas verdes discontinuas) dando lugar a una estructura abierta y muy ordenada.

Los árboles gigantes de los bosques de secuoyas —árboles que pueden alcanzar más de cien metros de altura— son una extraordinaria demostración del poder cohesivo del agua derivado de los puentes de hidrógeno. El agua se eleva hasta las copas de los árboles gracias a la transpiración, la evaporación del agua en las hojas más altas. La transpiración empuja el agua desde las raíces hacia arriba. Esta columna de agua se mantiene mediante los puentes de hidrógeno que se forman entre las moléculas de agua. De hecho, la fuerza del puente de hidrógeno puede desempeñar un papel limitante en la altura máxima que puede alcanzar una secuoya. Cuando los enlaces se rompen se produce una embolia (burbuja de aire) que impide el flujo de agua hacia la copa del árbol (**Figura 2.2**).

Aunque la capacidad del agua para disolver muchas sustancias bioquímicas es de vital importancia, el hecho de que el agua no pueda disolver determinados compuestos es igual de importante. Cierto tipo de moléculas, denominadas moléculas *no polares* o *hidrofóbicas*, no se pueden disolver en agua. Estas moléculas, en presencia de agua, se comportan exactamente igual que el aceite en un aliño de ensalada que contenga aceite y vinagre: se recluyen escondiéndose del agua, un proceso denominado efecto hidrofóbico (p. 23). Sin embargo, los sistemas vivos sacan mucho provecho de esta aversión química para impulsar la creación de multitud de complicadas estructuras que son necesarias para mantener una existencia continuada. De hecho, las membranas de las células y de los orgánulos se forman gracias al efecto hidrofóbico.



Figura 2.2 Bosque de secuoyas. La formación de puentes de hidrógeno permite al agua desplazarse desde las raíces hasta las hojas más altas de las secuoyas gigantes. [imagebroker.net/SuperStock]

✓ 5 Describir los tipos de interacciones reversibles no covalentes y explicar por qué las interacciones reversibles son importantes en bioquímica.

2.3 Las interacciones débiles son importantes propiedades bioquímicas

Las interacciones moleculares no covalentes y fácilmente reversibles son interacciones esenciales para el flujo de energía y de información. Este tipo de fuerzas débiles no covalentes interviene en la replicación fidedigna del DNA, en el plegamiento de las proteínas para adoptar complicadas formas tridimensionales, en el reconocimiento específico de reactantes por parte de las enzimas y en la detección de señales moleculares. *Los tres tipos fundamentales de enlaces no covalentes son (1) los enlaces iónicos o interacciones electrostáticas; (2) los puentes de hidrógeno y (3) las interacciones de van der Waals*. Difieren en su geometría, fuerza y especificidad. Además, estos enlaces se ven muy afectados y de diversas formas por la presencia de agua. Veamos las características de cada tipo de enlace.

Las interacciones electrostáticas se producen entre cargas eléctricas

Las *interacciones electrostáticas*, también llamadas *enlaces iónicos* o *puentes salinos*, son las interacciones entre las distintas cargas eléctricas de los átomos. Suelen producirse entre átomos que presentan una carga completamente negativa y una carga completamente positiva. La fuerza de una interacción electrostática entre dos iones viene definida por la *ley de Coulomb*:

$$F = \frac{kq_1q_2}{Dr^2}$$

donde F es la fuerza, q_1 y q_2 son las cargas de los dos átomos (en unidades de carga eléctrica), r es la distancia entre los dos átomos (en angstroms), D es la constante dieléctrica (que da cuenta de los efectos atribuibles al medio que los separa) y k es la constante de proporcionalidad. Por tanto, la interacción electrostática entre dos átomos que presentan cargas unitarias de signo contrario varía de forma inversamente proporcional al cuadrado de la distancia que los separa y a la naturaleza del medio en que se encuentran. Las interacciones electrostáticas son más fuertes en el vacío, donde $D = 1$. La distancia a la cual la fuerza del enlace es máxima es de unos 3 Å. Debido a sus características polares, el agua (cuya constante dieléctrica es de 80) debilita las interacciones electrostáticas. Por el contrario, las interacciones electrostáticas son máximas en un entorno sin carga. Por ejemplo, la interacción electrostática entre dos iones que presentan cargas unitarias de signo contrario y que se encuentran a una distancia de 3 Å en agua tiene una energía de $-5{,}8$ kJ mol^{-1} ($-1{,}4$ Kcal mol^{-1}), mientras que entre los mismos dos iones a una distancia de 3 Å en un disolvente no polar como el hexano (que tiene una constante dieléctrica de 2) tiene una energía de -231 kJ mol^{-1} (-55 (Kcal mol^{-1}). (Nota: un kilojulio, en forma abreviada kJ, equivale a 0,239 kilocalorías, en forma abreviada kcal).

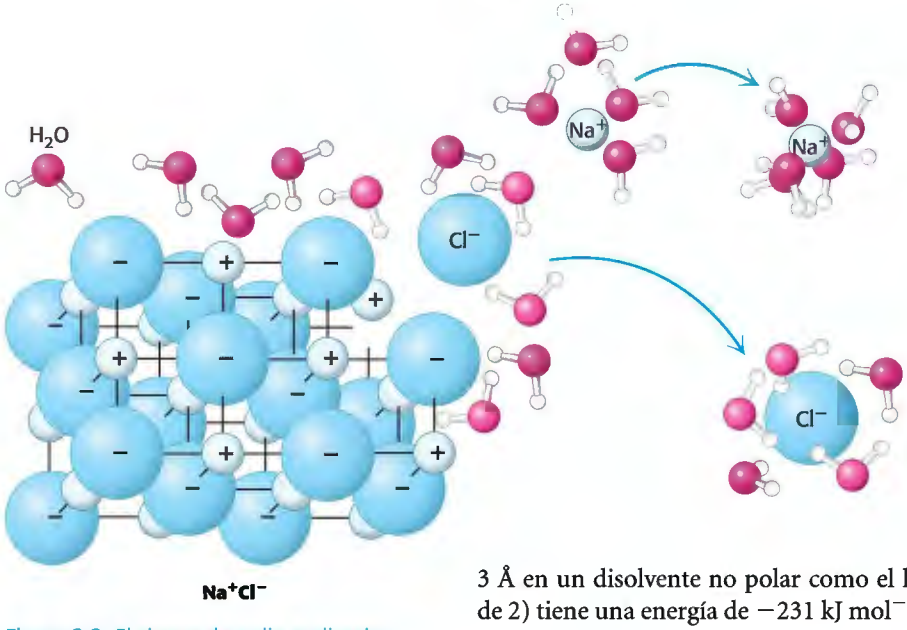
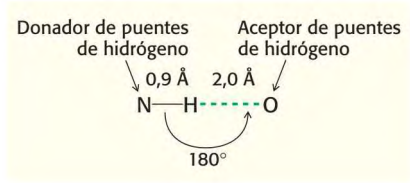


Figura 2.3 El cloruro de sodio se disuelve en agua. A medida que los iones sodio se dispersan, sus cargas positivas se neutralizan mediante las cargas parcialmente negativas de los átomos de oxígeno del agua. Los iones cloruro se encuentran rodeados por las cargas parcialmente positivas de los átomos de hidrógeno. [Tomado de D. L. Nelson y M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 5.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2008), p. 47.]

¿Por qué debilita el agua las interacciones electrostáticas? Consideremos lo que ocurre cuando se añade un grano de sal, NaCl, al agua. Incluso en su forma cristalina, la sal se representa de forma más apropiada mediante la forma iónica, Na^+Cl^-. La sal se disuelve —el enlace iónico entre Na^+ y Cl^- se destruye— porque ahora, los iones individuales se unen a las moléculas de agua en vez de unirse entre sí (**Figura 2.3**). El agua puede disolver prácticamente cualquier molécula que tenga la suficiente carga, total o parcial, como para interaccionar con el agua. Este poder de disolución es crucial. El movimiento browniano impulsa las colisiones entre las moléculas disueltas y muchas de estas colisiones dan lugar a interacciones efímeras pero productivas.

Los puentes de hidrógeno se forman entre un átomo electronegativo y el hidrógeno

Los puentes de hidrógeno no son exclusivos de las moléculas de agua; la desigual distribución de las cargas que permite la formación de puentes de hidrógeno puede aparecer siempre que el hidrógeno se encuentre unido covalentemente a un átomo electronegativo. En bioquímica, los dos átomos electronegativos que participan con más frecuencia en puentes de hidrógeno son el oxígeno y el nitrógeno. Los puentes de hidrógeno típicos que incluyen estos átomos se muestran en la Figura 2.4. Los puentes de hidrógeno son mucho más débiles que los enlaces covalentes. Tienen energías comprendidas entre los 8 y los 20 kJ mol^{-1} (entre 2 y 5 kcal mol^{-1}) en comparación con los aproximadamente 418 kJ mol^{-1} (100 kcal mol^{-1}) de un enlace covalente carbono–hidrógeno. Los puentes de hidrógeno también son algo más largos que los enlaces covalentes; sus distancias de enlace (medidas desde el átomo de hidrógeno) oscilan entre 1,5 y 2,6 Å; por tanto, las distancias que separan los dos átomos distintos del hidrógeno en un puente de hidrógeno están comprendidas entre 2,4 y 3,5 Å. Los puentes de hidrógeno formados entre dos moléculas se romperán en agua, ya que es la propia agua la que formará puentes de hidrógeno con las moléculas (Figura 2.5). Por el contrario, la formación de puentes de hidrógeno entre dos moléculas es más intensa en ausencia de agua.



Donador de puentes de hidrógeno	Aceptor de puentes de hidrógeno
$N^{\delta-}—H^{\delta+}$	$N^{\delta-}$
N—H	O
O—H	N
O—H	O

Figura 2.4 Puentes de hidrógeno en los que intervienen átomos de nitrógeno y átomos de oxígeno. Se muestran las posiciones de las cargas parciales (δ^+ y δ^-).

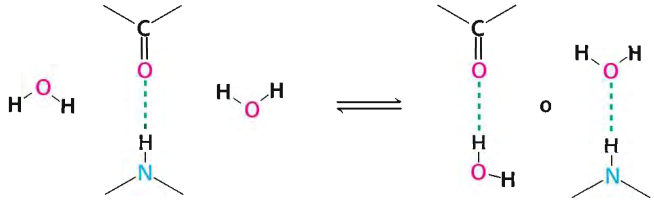


Figura 2.5 Destrucción de los puentes de hidrógeno. La competencia que se establece con las moléculas de agua destruye los puentes de hidrógeno en otras moléculas.

Las interacciones de van der Waals dependen de la asimetría transitoria de las cargas eléctricas

Muchas biomoléculas importantes ni son polares ni tienen carga. No obstante, estas moléculas pueden interaccionar entre sí de manera electrostática mediante una *interacción de van der Waals*. Este tipo de interacción se basa en que la distribución de carga eléctrica alrededor de un átomo cambia con el tiempo y, en un momento dado, la distribución de carga deja de ser perfectamente simétrica: habrá regiones con carga parcial positiva y regiones con carga parcial negativa. Esta asimetría transitoria de la carga eléctrica alrededor de un átomo actúa mediante interacciones electrostáticas para inducir una asimetría complementaria en la distribución de los electrones alrededor de los átomos colindantes. La atracción resultante entre los dos átomos aumenta a medida que se acercan uno a otro, hasta que se encuentran separados por la *distancia de contacto* de van der Waals, que está comprendida entre 3 y 4 Å, en función de los átomos involucrados (Figura 2.6). A distancias más cortas, predominan fuerzas repulsivas muy intensas porque las nubes electrónicas externas se solapan. Las energías asociadas a las interacciones de van der Waals son bastante pequeñas; las interacciones típicas aportan entre 2 y 4 kJ mol^{-1} (entre 0,5 y 1,0 kcal mol^{-1}) por cada pareja de átomos. Sin embargo, cuando las superficies de dos moléculas grandes con forma complementaria entran en contacto, un gran número de átomos se encuentran a la distancia de contacto de van der Waals y el efecto neto, la suma de muchos pares de átomos, puede ser considerable. Aunque el lema de todas las interacciones electrostáticas podría ser "la estabilidad está en los números", esta consigna es particularmente adecuada en el caso de las interacciones de van der Waals.

Las salamanquesas constituyen un sorprendente ejemplo del poder de las interacciones de van der Waals (Figura 2.7). Estas criaturas pueden subir por las paredes y andar por el techo desafiando la fuerza de la gravedad gracias a las interacciones de van der Waals que se establecen entre sus pies y la superficie de la pared o del techo.

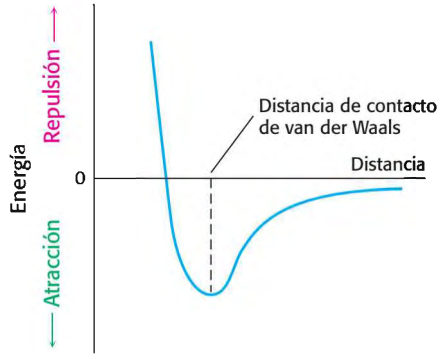


Figura 2.6 Energía de una interacción de van der Waals a medida que se van acercando dos átomos. La energía es más favorable a la distancia de contacto de van der Waals. La energía aumenta rápidamente a medida que ambos átomos se acercan a menor distancia debido a las repulsiones electrón-electrón.

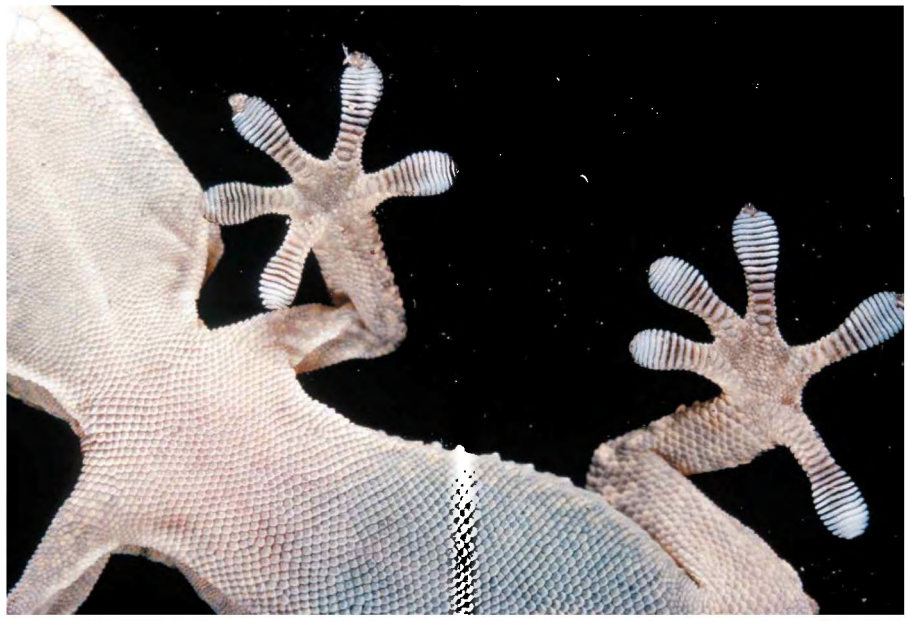


Figura 2.7 El poder de las interacciones de van der Waals. Las salamanquesas pueden desplazarse por el techo sujetas únicamente por enlaces débiles denominados fuerzas de van der Waals. [Stephen Dalton/Photo Researchers.]

Los enlaces débiles permiten establecer interacciones de forma repetida

Una característica importante de los enlaces débiles es que se pueden romper con facilidad. El DNA proporciona un excelente ejemplo de por qué la ruptura de enlaces débiles resulta decisiva. Los puentes de hidrógeno entre los pares de bases estabilizan la doble hélice y mantienen la información codificada —la secuencia de bases— en el interior de la hélice, alejada de posibles reacciones dañinas (Figura 2.8; ver también la Figura 1.3). Sin embargo, tal y como se afirmó en el Capítulo 1, para que la información sea útil, tiene que ser accesible. Por consiguiente, la doble hélice se puede abrir —las hebras se separan— para que el DNA se pueda replicar o para que los genes del DNA se puedan expresar. Las interacciones débiles son lo suficientemente fuertes como para estabilizar y proteger el DNA, pero lo suficientemente débiles como para permitir el acceso a la información de la secuencia de bases en las circunstancias adecuadas.

? **PREGUNTA RÁPIDA 1** Se puede decir que todas las interacciones débiles son básicamente interacciones electrostáticas. Explique por qué.

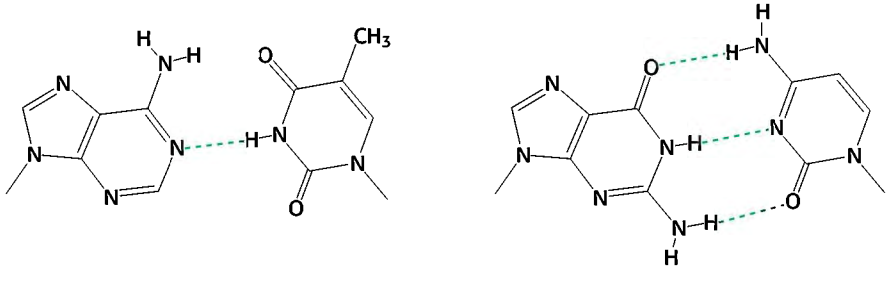


Figura 2.8 Estabilización de la doble hélice. Los puentes de hidrógeno entre los pares de bases adenina-timina y guanina-citosina estabilizan la doble hélice.

2.4 Las moléculas hidrofóbicas se agrupan entre sí

La existencia de vida en la Tierra depende de manera decisiva de la capacidad del agua para disolver moléculas polares o con carga. Sin embargo, no todas las moléculas son polares o iónicas. Existe otro tipo de moléculas que se denominan moléculas no polares o hidrofóbicas porque, sencillamente, no pueden interaccionar con el agua. El aliño de ensalada con aceite y vinagre ilustra las propiedades de las moléculas hidrofóbicas en presencia de agua. A menos que se agite la mezcla vigorosamente, el aceite y el vinagre (este último formado mayoritariamente por agua) forman dos capas distintas. Incluso después de agitar, las capas se vuelven a formar rápidamente. ¿Cuál es el fundamento de este tipo de organización?

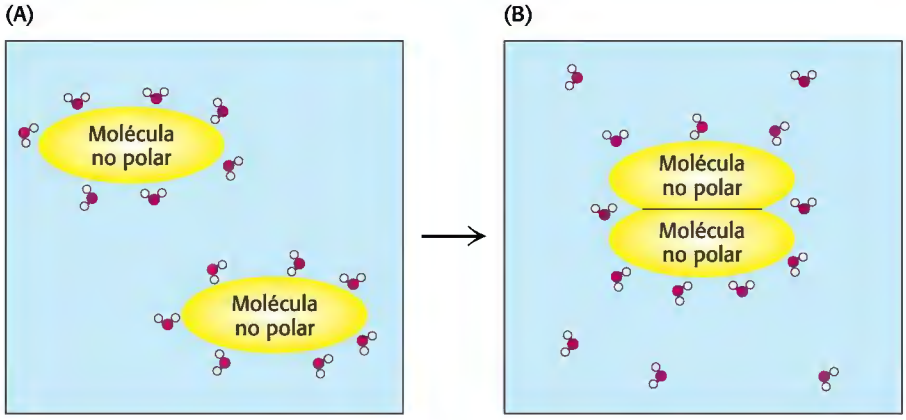


Figura 2.9 El efecto hidrofóbico. En agua, la agregación de grupos no polares da lugar a un incremento de la entropía debido a la liberación de moléculas de agua que pasan a formar parte de la masa de agua mayoritaria.

Para entender cómo tiene lugar esta organización tenemos que remitirnos a la segunda ley de la Termodinámica:

En los procesos espontáneos, la entropía total de un sistema y su entorno siempre aumenta.

La *entropía* es una medida del desorden. El sistema puede ser una reacción química, una célula o una botella de aliño para ensalada. Consideremos la introducción de una única molécula no polar, como, por ejemplo, el benceno, en algo de agua (**Figura 2.9**).



Benceno

Como no hay forma química de que el benceno interaccione con la molécula de agua se genera una cavidad en el agua. La cavidad deshace de forma transitoria algunos de los puentes de hidrógeno formados entre las moléculas de agua. A continuación, las moléculas de agua desplazadas se reorientan para formar el mayor número posible de nuevos puentes de hidrógeno. Sin embargo, hay muchas menos formas de establecer puentes de hidrógeno alrededor de la molécula de benceno que en el agua pura. *Las moléculas de agua que rodean la molécula de benceno están mucho más ordenadas que en cualquier otro lugar de la disolución*. La introducción de la molécula no polar en agua ha provocado *un descenso de la entropía del agua*. Ahora consideremos la disposición de dos moléculas de benceno en agua. No se disponen en dos pequeñas cavidades separadas (Figura 2.9A) sino que, por efecto de la coalescencia, forman una única cavidad de mayor tamaño (Figura 2.9B). Se organizan. El fundamento energético para la formación de este tipo de orden es que la asociación de las moléculas de benceno libera parte de las moléculas de agua organizadas en torno a las moléculas individuales de benceno, aumentando así la entropía del sistema. *En el agua, las moléculas de solutos no polares se ven obligadas a agruparse, básicamente no porque tengan una gran afinidad entre sí sino porque cuando se asocian liberan moléculas de agua*. Esta asociación impulsada por la entropía se denomina *efecto hidrofóbico* y las interacciones resultantes reciben el nombre de *interacciones hidrofóbicas*. Las interacciones hidrofóbicas se forman de manera espontánea —no hace falta ningún aporte de energía— porque, cuando se producen, la entropía del agua aumenta.

La formación de membranas está impulsada por el efecto hidrofóbico

El significado biológico del efecto hidrofóbico es más evidente cuando consideramos moléculas más complejas que el benceno, como, por ejemplo, un fosfolípido (ver el Capítulo 11). Recordemos que la estructura del fosfolípido muestra dos propiedades químicas distintas (ver Figura 1.4). A la parte superior de la molécula se la denomina cabeza, es hidrofílica y está formada por especies polares y cargadas. Sin embargo, el resto de la molécula, que consta de dos largas cadenas hidrocarbonadas, no puede interaccionar con el agua. Este tipo de molécula, con dos personalidades químicas distintas, se denomina *molécula anfipática* o *molécula anfifílica*. Cuando se encuentran expuestas al agua, las moléculas se orientan por sí solas de modo que los grupos funcionales de la cabeza hidrofílica interaccionan con el medio acuoso mientras que las colas hidrofóbicas se recluyen escondiéndose del agua e interaccionando única-

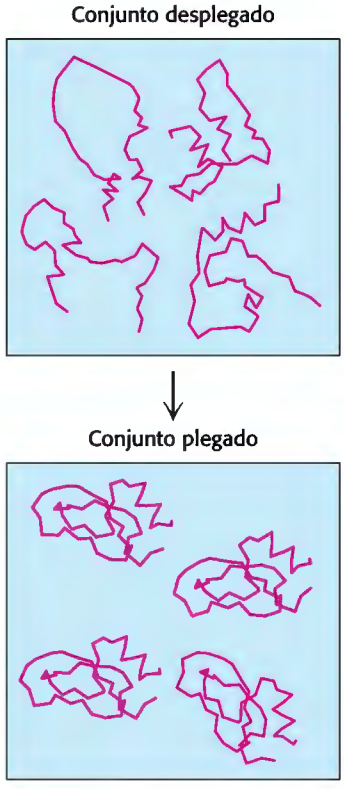


Figura 2.10 Plegamiento de proteínas. El plegamiento de proteínas supone la transición de una mezcla desordenada de proteínas desplegadas a una disolución relativamente uniforme de moléculas de proteína plegadas.

? **PREGUNTA RÁPIDA 2** Explique por qué el siguiente enunciado se aplica a la bioquímica: Se puede generar orden mediante un incremento de la aleatoriedad.

mente entre ellas. En condiciones adecuadas pueden formar *membranas*. Los lípidos forman una bicapa cerrada y continua con dos superficies externas hidrofílicas y un interior hidrofóbico que está estabilizado mediante interacciones de van der Waals entre las colas hidrofóbicas.

Las membranas definen el interior y el exterior de la célula, y también separan los componentes de las células eucarióticas en distintos compartimentos bioquímicos (pp. 7 y 9). Paradójicamente, se ha introducido orden gracias a un incremento del desorden del agua. En este libro volveremos muchas veces al tema de las membranas, ya que las membranas son fundamentales para muchos aspectos de la transformación de la energía y de la información.

El plegamiento de las proteínas está impulsado por el efecto hidrofóbico

Las proteínas, que se estudiarán en los Capítulos 3 y 4, representan la verdadera mano de obra de la bioquímica, desempeñando papeles destacados en todos los aspectos de la manipulación de la energía y de la información. Las proteínas desempeñan estas funciones porque son capaces de formar estructuras tridimensionales complejas que permiten establecer interacciones específicas con otras biomoléculas. Estas interacciones definen la función de una proteína. ¿Cómo favorece el efecto hidrofóbico el plegamiento de las proteínas? Consideremos un sistema formado por moléculas idénticas de proteína desplegadas en una disolución acuosa (**Figura 2.10**). Cada molécula de proteína desplegada puede adoptar una conformación única —no habrá dos moléculas con la misma conformación— y, por lo tanto, el sistema está bastante desordenado y la entropía del conjunto de moléculas es elevada. Sin embargo, en las condiciones adecuadas, el plegamiento de las proteínas se produce de manera espontánea y todas las moléculas adoptan la misma conformación, lo que supone un claro descenso de la entropía. Para evitar la violación de la segunda ley de la Termodinámica, la entropía debe estar aumentando en algún otro lugar del sistema o en sus alrededores.

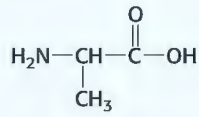
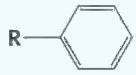
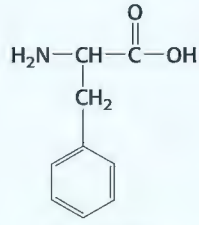
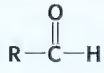
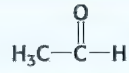
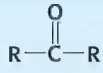
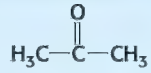
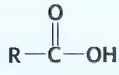
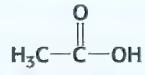
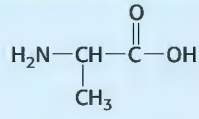
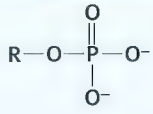
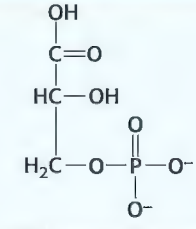
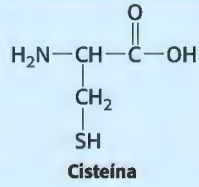
¿Cómo podemos resolver la aparente contradicción de que las proteínas adopten de manera espontánea una estructura ordenada y, al mismo tiempo, la entropía aumente? Podemos recurrir nuevamente al efecto hidrofóbico para introducir orden. Algunos de los aminoácidos que forman parte de las proteínas presentan grupos no polares (p. 37). Estos aminoácidos no polares tienen una fuerte tendencia a asociarse entre sí en el interior de la proteína plegada. El aumento de la entropía del agua que resulta de la interacción de estos aminoácidos hidrofóbicos ayuda a compensar las pérdidas de entropía asociadas al proceso de plegamiento. Por tanto, los mismos principios termodinámicos que permiten la formación de membranas facilitan la formación de complejas estructuras tridimensionales.

Aunque el efecto hidrofóbico impulsa el plegamiento de las proteínas, durante el proceso de plegamiento se forman muchos enlaces débiles, entre los que se incluyen puentes de hidrógeno e interacciones de van der Waals, para estabilizar la estructura tridimensional. Estas interacciones sustituyen a las interacciones con el agua que se producen cuando la proteína está desplegada.

Los grupos funcionales presentan propiedades químicas específicas

A medida que avancemos en nuestro estudio de la bioquímica nos encontraremos con un número de biomoléculas abrumador. Sin embargo, hay generalizaciones que hacen que sea más fácil manejar ese gran número de moléculas. Tal y como se ha visto hasta ahora, todas las biomoléculas interaccionan entre sí y con su entorno utilizando los tres tipos de interacciones reversibles y el efecto hidrofóbico. Ya vimos en el Capítulo 1 que solo hay cuatro tipos principales de biomoléculas. Podemos hacer que los fundamentos químicos de la bioquímica sean aún más manejables si nos percatamos de que en todas las biomoléculas, entre las que se incluyen las cuatro clases descritas en el Capítulo 1, podemos encontrar un número limitado de grupos de átomos con propiedades químicas características, que se denominan *grupos funcionales* (**Tabla 2.1**). Cada uno de los ocho grupos funcionales más frecuentes, mostrados en la Tabla 2.1, confiere propiedades químicas similares a las moléculas de las que forman parte. Estos grupos reciben el nombre de grupos funcionales porque las propiedades químicas que confieren son necesarias para la función bioquímica de las moléculas. Hay que señalar que todos estos grupos poseen capacidad para formar puentes de

Tabla 2.1 Algunos grupos funcionales decisivos en bioquímica

Grupo Funcional	Clase de compuesto	Fórmula estructural	Ejemplo
Hidrofóbico	Cadenas hidrocarbonadas (alifáticas)	R—CH_3	 **Alanina**
	Aromático (hidrocarburos que forman un anillo con varios dobles enlaces)		 **Fenilalanina**
Hidroxilo	Alcohol	R—OH	$H_3C—CH_2—OH$ **Etanol**
Aldehído	Aldehídos		 **Acetaldehído**
Ceto	Cetonas		 **Acetona**
Carboxilo	Ácido carboxílico		 **Ácido acético**
Amino	Aminas	$R—NH_2$	 **Alanina**
Fosfato	Fosfatos orgánicos		 **Ácido 3-fosfoglicérico**
Sulfhidrilo	Tioles	R—SH	 **Cisteína**

Nota: existen muchos grupos alifáticos (cadenas hidrocarbonadas) y aromáticos. Se muestran, a modo de ejemplo, el grupo metilo y el grupo bencilo. Observe también que muchos de los ejemplos presentan más de un grupo funcional. La letra R indica el resto de la molécula. Por último, observe que en los aldehídos, cetonas y ácidos carboxílicos, entre los que se incluyen los aminoácidos, hay *un átomo de carbono unido mediante un doble enlace a un átomo de oxígeno*, C═O, que se denomina grupo carbonilo. Los grupos carbonilo son frecuentes en las sustancias bioquímicas.

hidrógeno, enlaces iónicos o ambos, excepto en el caso de los grupos hidrofóbicos que pueden interaccionar con otros grupos hidrofóbicos mediante interacciones de van der Waals. Básicamente, cada biomolécula que encontremos en nuestro estudio de la bioquímica tendrá uno o más de estos grupos funcionales.

✓ 6 Definir el pH y explicar por qué los cambios de pH pueden afectar a los sistemas bioquímicos.

2.5 El pH es un parámetro importante de los sistemas bioquímicos

Un ejemplo frecuente de una modificación patológica del pH del medio es la enfermedad por reflujo gastroesofágico o ERGE. Cuando el ácido estomacal refluye hacia el esófago se desarrolla esta enfermedad digestiva crónica. El reflujo del ácido, que se suele sentir como un ardor de estómago, irrita el revestimiento del esófago, ya que lo expone a condiciones muy ácidas (pH 1 ó 2). El ERGE puede provocar inflamación crónica del esófago, lo que puede causar complicaciones, entre las que se incluyen las úlceras esofágicas y el cáncer de esófago. Entre los factores de riesgo del ERGE se encuentran el hábito de fumar y la obesidad.

Ejemplos especialmente importantes de reacciones reversibles son aquellos que incluyen la liberación o la unión de un ion hidrógeno, H^+, también llamado protón. El *pH* de una disolución es una medida de la concentración de iones hidrógeno, que puede alcanzar valores comprendidos entre 0 y 14. Los números más bajos indican un entorno ácido y los números más altos indican un entorno básico. De hecho, el pH es un parámetro importante de los sistemas vivos. Por ejemplo, el pH de la sangre humana es aproximadamente 7,4 y una desviación de ± 0,5 unidades puede dar lugar a un coma o a la muerte. ¿Por qué resulta esencial el mantenimiento del pH adecuado? Las alteraciones del pH pueden afectar de forma drástica al entorno electrostático interno de un organismo, lo que puede modificar los enlaces débiles que mantienen la estructura de las biomoléculas. Por lo general, la alteración de la estructura significa la pérdida de la función. Por ejemplo, los enlaces iónicos pueden debilitarse o desaparecer con un cambio del pH y los puentes de hidrógeno se pueden formar o no en función del pH. Dado lo crucial que resulta mantener el pH adecuado para el correcto funcionamiento de los sistemas bioquímicos, es importante disponer de una forma de describir el pH. A continuación, estudiaremos la naturaleza cuantitativa del pH, el efecto de ácidos y bases sobre el pH y la forma en que las células mantienen un pH prácticamente constante.

Una pequeña fracción del agua se ioniza

En química, el equilibrio es la condición en la que las concentraciones de reactivos y productos no experimentan un cambio neto con el tiempo.

Cantidades muy pequeñas de agua pura se disocian y forman iones hidronio (H_3O^+) e hidroxilo (OH^-), siendo la concentración de cada tipo de ion 10^{-7} M. Para simplificar nos referiremos al ion hidronio sencillamente como ion hidrógeno (H^+) y escribiremos el equilibrio de la siguiente forma

$$H_2O \rightleftharpoons H^+ + OH^-$$

La constante de equilibrio K_{eq} de esta disociación viene dada por la expresión

$$K_{eq} = [H^+][OH^+] / [H_2O] \quad (1)$$

donde los corchetes indican concentraciones molares (M) de las moléculas. Si introducimos en la ecuación el valor de las concentraciones de H^+ y de OH^- (10^{-7} M cada una) y de la concentración del agua (55,5 M), vemos que la constante de equilibrio del agua es

$$K_{eq} = 10^{-7}\,M \times 10^{-7}\,M/55{,}5\,M = 1{,}8 \times 10^{-16}\,M$$

Como la concentración del agua apenas cambia por la pequeña cantidad de agua que se ioniza, podemos ignorar cualquier cambio en la concentración de agua y definir una nueva constante:

$$K_{eq} = 10^{-7}\,M \times 10^{-7}\,M/55{,}5\,M = 1{,}8 \times 10^{-16}\,M$$

que entonces se reduce a

$$K_w = K_{eq} \times [H_2O] \quad (2)$$

K_w es el *producto iónico del agua*. A 25 °C, K_w es $1{,}0 \times 10^{-14}$. Desde el punto de vista cuantitativo, el pH de cualquier disolución se define como

$$pH = \log_{10}(1/[H^+]) = -\log_{10}[H^+] \quad (3)$$

Por tanto, el pH del agua pura, que contiene igual cantidad de H^+ que de OH^- es de 7. Obsérvese que las concentraciones de H^+ y de OH^- están inversamente relacionadas; así, pH + pOH = 14, donde el pOH se calcula sustituyendo la concentración

de protones por la concentración de iones hidroxilo en la ecuación 3. Si la concentración de H^+ es elevada, la concentración de OH^- debe ser reducida y viceversa. Por ejemplo, si la $[H^+] = 10^{-2}$ M, la $[OH^-] = 10^{-12}$ M.

Consideremos un problema algo más complejo. Si la $[H^+]$ en una disolución es de $2{,}5 \times 10^{-4}$ M, ¿cuál sería la $[OH^-]$? Para resolver este problema lo primero que tenemos que hacer es recordar la ecuación del producto iónico del agua:

$$K_w = [H^+][OH^-] = 1{,}0 \times 10^{-14}\text{M}^2$$

Se puede determinar la $[OH^-]$ reorganizando esta ecuación para despejar $[OH^-]$ e introduciendo el valor de la concentración de protones:

$$[OH^-] = \frac{K_w}{[H^+]} = \frac{1{,}0 \times 10^{-14}\text{M}^2}{2{,}5 \times 10^{-14}\text{M}} = 4 \times 10^{-9}\text{M}$$

Por tanto, si se conoce la concentración de protones o de iones hidroxilo, se puede determinar la concentración del ion desconocido.

Un ácido es un donador de protones mientras que una base es un aceptor de protones

Los ácidos orgánicos son destacadas biomoléculas. Estos ácidos se ionizarán para generar un protón y una base:

$$\text{Ácido} \rightleftharpoons H^+ + \text{base}$$

La especie que se forma por la ionización de un ácido es su *base conjugada* y para diferenciarla del ácido ionizado se le añade el sufijo "ato". Por el contrario, la protonación de una base da lugar a su *ácido conjugado*. Consideremos el ácido acético, un ácido carboxílico. Los ácidos carboxílicos son grupos funcionales clave que se encuentran en un gran número de sustancias bioquímicas (ver la Tabla 2.1). El ácido acético y el ion acetato son un par conjugado ácido-base.

$$\underset{\text{Ácido acético}}{CH_3COOH} \rightleftharpoons H^+ + \underset{\text{Acetato}}{CH_3COO^-}$$

Los ácidos tienen distinta tendencia a ionizarse

¿Cómo podemos medir la fuerza de un ácido? Por ejemplo, ¿cómo podemos determinar si un ácido se disociará o no en un entorno bioquímico determinado como, por ejemplo, la sangre? Examinemos los ácidos débiles, ya que es el tipo de ácidos que se encuentra en los sistemas bioquímicos. El equilibrio de ionización de un ácido débil (HA) viene dado por

$$HA \rightleftharpoons H^+ + A^-$$

La constante de equilibrio K_a para esta ionización es

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} \tag{4}$$

Cuanto mayor sea el valor de K_a, más fuerte será el ácido (Figura 2.11).

¿Cuál es la relación entre el pH y la proporción ácido/base? En otras palabras, ¿cómo estará de disociado un ácido a un pH concreto? Reorganizando la ecuación 4 se puede obtener una expresión muy útil que establece la relación entre el pH y la proporción ácido/base:

$$\frac{1}{[H^+]} = \frac{1}{K_a}\frac{[A^-]}{[HA]} \tag{5}$$

Tomando logaritmos a ambos lados de la ecuación 5, resulta

$$\log\left(\frac{1}{[H^+]}\right) = \log\left(\frac{1}{K_a}\right) + \log\left(\frac{[A^-]}{[HA]}\right) \tag{6}$$

Se define el $\log(1/K_a)$ como el pK_a del ácido.

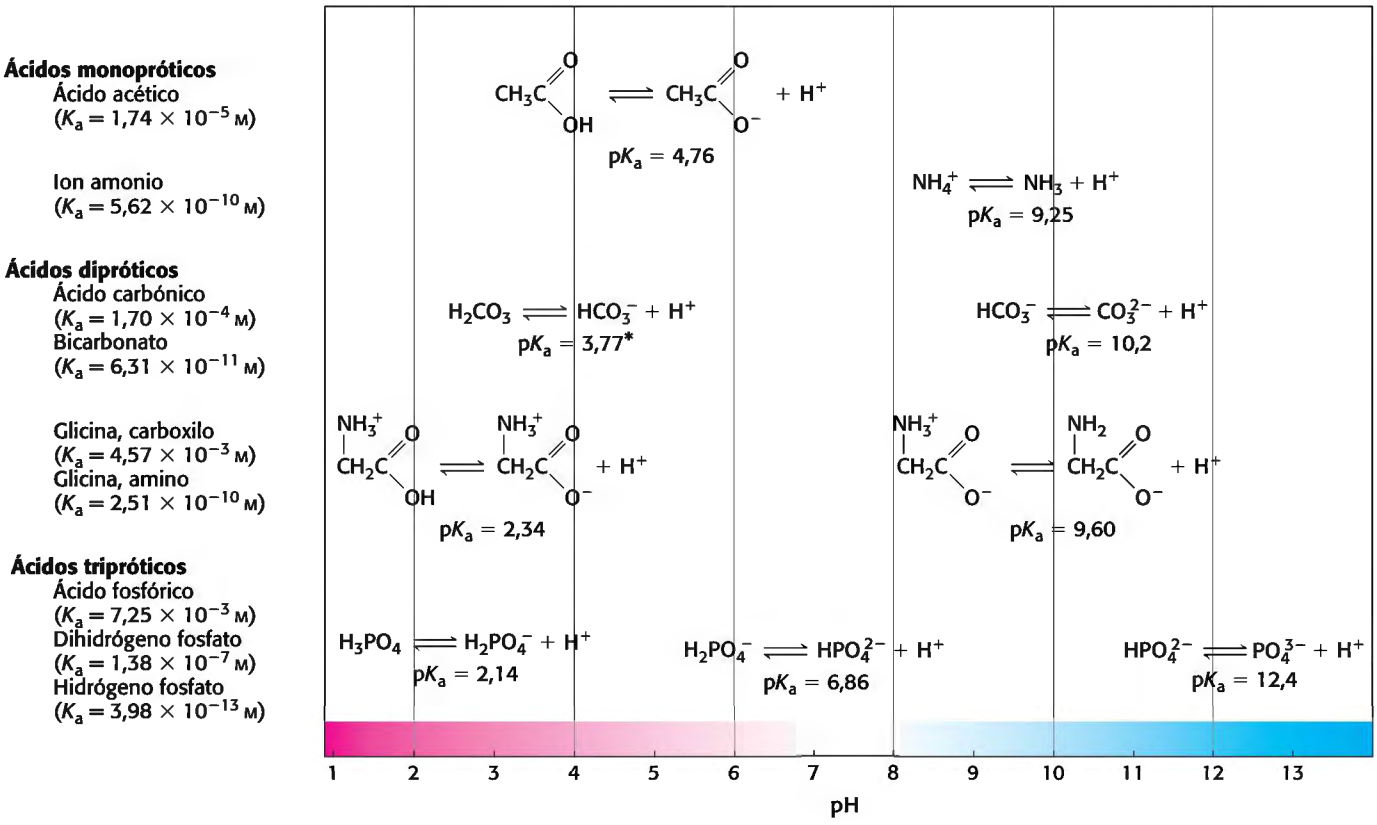


Figura 2.11 Diversos pares conjugados ácido-base. Muchos pares conjugados ácido-base son importantes en bioquímica. La figura muestra una selección de este tipo de parejas. *Observe* que algunos ácidos pueden liberar más de un protón. La reacción de disociación y el pK_a de cada par se muestran en la posición que les corresponde en una escala de pH. En la parte izquierda de la figura se indican las constantes de equilibrio de los ácidos. *Observe el pK_a del ácido carbónico. Debido al gran reservorio de dióxido de carbono que hay en la sangre y a su rápido equilibrio con el ácido carbónico, se considera que el pK_a del ácido carbónico en la sangre es 6,1. [Tomado de D. L. Nelson y M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 5.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2008), Fig. 2.15.]

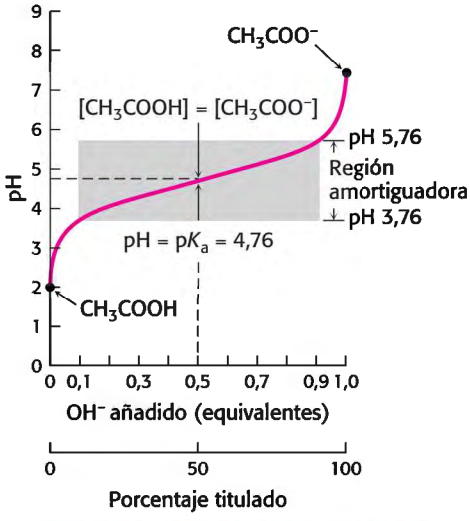


Figura 2.12 Curva de titulación del ácido acético. *Observe* que, en las proximidades del pK_a del ácido acético, el pH no cambia mucho al añadir más base. [Tomado de D. L. Nelson y M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 5.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2008), p. 58.]

Sustituyendo en la ecuación 6 el $\log 1/[H^+]$ por pH y el $\log 1/K_a$ por pK_a, resulta

$$pH = pK_a + \log\left(\frac{[A^-]}{[HA]}\right) \qquad (7)$$

que es la que se conoce habitualmente como *ecuación de Henderson-Hasselbalch*. Hay que señalar que, cuando la concentración de moléculas de ácido ionizadas iguala a la de moléculas de ácido no ionizadas, o lo que es lo mismo, $[A^-] = [HA]$, el $\log([A^-]/[HA]) = 0$ y, por tanto, *el pK_a es sencillamente el pH en el que la mitad del ácido se ha disociado.*

Por encima del pK_a predomina $[A^-]$; mientras que por debajo del pK_a, predomina [HA]. El pK_a es más útil que la constante de ionización (K_a) para hacer referencia a la fuerza de un ácido porque el pK_a no necesita del uso de la, a veces engorrosa, notación científica. En la Figura 2.11 se puede observar que a pH fisiológico (≈7,4) los ácidos más importantes en bioquímica estarán, en su mayor parte, disociados. Por tanto, es frecuente referirse a estas moléculas como la base conjugada (p. ej., piruvato) y no como el ácido (p. ej., pirúvico).

Los tampones oponen resistencia a los cambios de pH

Un par conjugado ácido-base (como el ácido acético y el ion acetato) posee una propiedad importante: opone resistencia a los cambios del pH de una disolución. En otras palabras, actúa como un *amortiguador*. Los amortiguadores también se denominan *tampones*. Consideremos la adición de OH^- a una disolución de ácido acético (HA):

$$HA + OH^- \rightleftharpoons A^- + H_2O$$

La gráfica que describe cómo cambia el pH de esta disolución con la cantidad de OH^- añadido se denomina *curva de titulación* (Figura 2.12). Hay que destacar que

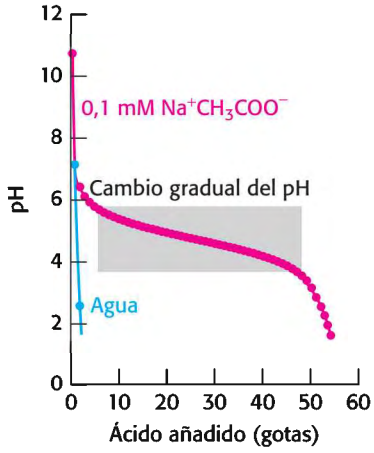


Figura 2.13 Acción amortiguadora. La adición de un ácido fuerte –digamos que 1M HCl– al agua pura da lugar a un descenso inmediato del pH hasta un valor en torno a 2, tal y como indica la línea azul. Por el contrario, la adición de ácido a una disolución 0,1 mM de acetato sódico ($Na^+CH_3COO^-$) da lugar a un cambio mucho más gradual del pH que se mantiene hasta valores de pH por debajo de 3,5, tal y como indica la línea roja.

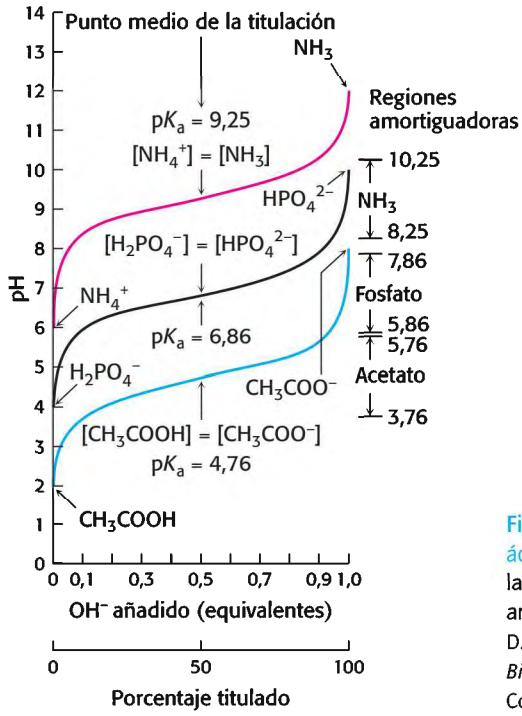


Figura 2.14 Curvas de titulación de tres ácidos débiles importantes. *Observe* que las regiones que presentan capacidad amortiguadora son distintas. [Tomado de D. L. Nelson y M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 5.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2008), p. 59.]

hay un punto de inflexión en la curva a pH 4,8, que es el pK_a del ácido acético. En las proximidades de este pH, la adición de una cantidad relativamente grande de OH^- al tampón provoca pocos cambios en el pH de la disolución. En otras palabras, el tampón mantiene el valor del pH en torno a un valor determinado, a pesar de la adición de protones o de iones hidroxilo. La Figura 2.13 compara los cambios de pH que se producen cuando se añade un ácido fuerte al agua pura con los cambios de pH que se producen cuando ese mismo ácido fuerte se añade a una disolución tamponada. El pH de una disolución tamponada no cambia con la rapidez que lo hace el del agua pura. En general, la eficacia de un ácido débil a la hora de amortiguar cambios de pH es máxima en las proximidades del valor de su pK_a. La Figura 2.14 muestra los intervalos de amortiguación de tres ácidos débiles distintos.

Los tampones son esenciales en los sistemas biológicos

Es importante conocer el funcionamiento de los tampones por dos razones. En primer lugar, la mayor parte de la investigación bioquímica se lleva a cabo mediante experimentos *in vitro* (en vidrio, es decir, en un tubo de ensayo). Como las biomoléculas que se están investigando son sensibles al pH, los bioquímicos tienen que utilizar tampones para mantener el pH adecuado durante los experimentos. A menudo, la selección del tampón adecuado es fundamental a la hora de diseñar un experimento que se desarrolle con éxito.

En segundo lugar, necesitamos comprender los tampones para entender cómo controla un organismo el pH de su medio interno *in vivo* —es decir, en el organismo vivo. Como ya se ha mencionado anteriormente, muchos procesos bioquímicos generan ácidos. ¿Cómo se mantiene el pH del organismo en respuesta a la producción de ácido? ¿Cuáles son los amortiguadores fisiológicamente importantes?

A modo de ejemplo de un sistema fisiológico examinaremos la amortiguación del pH de la sangre. Durante el consumo de combustibles bioquímicos en condiciones aerobias se produce dióxido de carbono (CO_2) (Capítulo 19). El dióxido de carbono reacciona con el agua para producir un ácido débil, al ácido carbónico:

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3 \qquad (8)$$

El ácido carbónico se disocia fácilmente dando lugar a un protón y al ion bicarbonato:

$$H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^- \qquad (9)$$

El par conjugado ácido-base $H_2CO_3/H_2CO_3^-$ actúa como un tampón. Si se añade un ácido, los protones liberados se combinarán con el ion bicarbonato, de modo que el efecto sobre el pH será reducido. La eficacia del sistema amortiguador $H_2CO_3/H_2CO_3^-$ se intensifica por el hecho de que la cantidad de tampón en la sangre se puede ajustar de forma rápida. Por ejemplo, si hay un aporte de ácido a la sangre, la reacción 9 tendrá lugar hacia la izquierda haciendo que la reacción 8 proceda hacia la izquierda. A continuación, el CO_2 recién generado puede expirarse por los pulmones. Básicamente, la proporción $H_2CO_3/H_2CO_3^-$ se conserva, lo que mantiene el pH constante. Este mecanismo de control del pH de la sangre se denomina *alcalosis respiratoria compensatoria*.

Preparar tampones es una tarea frecuente en el laboratorio

Consideremos una tarea que es habitual en un laboratorio de biología: preparar un tampón. Imaginemos que tenemos una proteína y queremos ver cómo cambia la actividad en función del pH. Para ello, necesitamos tampones que abarquen un intervalo de valores de pH y analizaremos la actividad de la proteína a cada valor. A modo de ejemplo, veamos cómo preparar 1 litro de tampón acetato 0,3 M a pH 4,47. Disponemos de una disolución 2 M de ácido acético (un ácido débil) y de una disolución 2,5 M de hidróxido potásico (KOH) (una base fuerte). Estas disoluciones se denominan disoluciones stock. Recordemos que un tampón acetato estará formado por una mezcla de ion acetato y ácido acético; por lo tanto, lo primero que hay que hacer es determinar la proporción que tendrá que haber entre el acetato y el ácido acético para que el pH sea 4,47 y, después, habrá que calcular la cantidad de cada componente que hace falta para obtener una molaridad total (la concentración del ácido más la concentración de la base) igual a 0,3 M.

Básicamente, todos los problemas de tampones se pueden resolver con un poco de química básica y la ecuación de Henderson-Hasselbalch:

$$\mathrm{pH} = \mathrm{p}K_a + \log\left(\frac{[\mathrm{A}^-]}{[\mathrm{HA}]}\right)$$

Insertando los parámetros conocidos:

$$4{,}47 = 4{,}77 + \log\left(\frac{[\text{acetato}]}{[\text{ácido acético}]}\right)$$

o

$$-0{,}3 = \log\left(\frac{[\text{acetato}]}{[\text{ácido acético}]}\right)$$

Resolviendo esta ecuación, se obtiene

$$\left(\frac{[\text{acetato}]}{[\text{ácido acético}]}\right) = 0{,}5$$

Esta ecuación nos dice que, para obtener un pH = 4,47 con un tampón acetato, dos tercios del acetato serán aportados por el ácido y un tercio por la base. Como queremos que la molaridad total sea 0,3 M, necesitaremos 0,2 M de ácido acético y 0,1 M de acetato. Ahora, vayamos a la química básica.

Lo primero de todo es que no tenemos ninguna disolución de acetato; solo tenemos ácido acético e hidróxido potásico. Por tanto, todo el acetato del tampón procederá del ácido acético, por lo que habrá que convertir una tercera parte del ácido acético en acetato. Entonces, ¿cuánto ácido acético de nuestra disolución stock 2 M tenemos que añadir para obtener ácido acético 0,3 M? Recordemos que, por definición, una disolución 0,3 M contiene 0,3 moles por litro. Ahora tenemos que determinar qué volumen de la disolución stock 2 M contiene 0,3 moles. Si una disolución 2 M contiene 2 moles por litro, 0,15 litros, o 150 ml, de la disolución stock contendrán 0,3 moles de ácido acético. Vertemos esta cantidad en una botella etiquetada "tampón acetato 0,3 M, pH 4,47". ¿Y qué hay del acetato? La única fuente de iones acetato es el ácido acético y, por tanto, debemos generar el acetato mediante la adición de KOH a los 150 ml de ácido acético que acabamos de poner en una botella aparte. El hidróxi-

do potásico es una base fuerte; cuando se mezcla con ácido acético convertirá una cantidad equivalente de ácido acético en acetato o, para ser más precisos, en acetato potásico. Tenemos que generar una concentración de iones acetato 0,1 M a partir de los 0,3 moles de ácido acético que ya tenemos en la botella. Utilizando el mismo razonamiento anterior, sabemos que 0,04 litros, ó 40 ml, de KOH convertirán 40 ml de ácido acético en acetato. La disolución completa de tampón acetato 0,3 M a pH 4,47 se genera mezclando 150 ml de ácido acético 2 M, 40 ml de KOH 2,5 M y 810 ml de agua para tener un volumen final de 1 litro. Aviso importante: resulta más seguro añadir el ácido y la base al agua. Por tanto, tras completar los cálculos, añadimos primero el agua, después el ácido y luego la base. No olvide mezclar bien. Añada sus iniciales a la etiqueta de modo que todos sepamos a quién echar la culpa si el experimento no sale bien.

Resumen

2.1 Los movimientos térmicos aportan la energía para las interacciones biológicas

El movimiento browniano, el movimiento aleatorio de los fluidos y gases, está impulsado por el ruido térmico de fondo. En el interior de la célula, el movimiento browniano aporta la energía para muchas de las interacciones necesarias para el funcionamiento de un sistema bioquímico.

2.2 Las interacciones bioquímicas tienen lugar en una disolución acuosa

La mayoría de las interacciones bioquímicas tienen lugar en disoluciones acuosas. El agua es una molécula polar, en la que el átomo de oxígeno es portador de una carga parcial negativa y los átomos de hidrógeno son portadores de una carga parcial positiva. Las cargas de las moléculas de agua interaccionan con las cargas de signo contrario de otras moléculas de agua para formar puentes de hidrógeno.

2.3 Las interacciones débiles son importantes propiedades bioquímicas

En los sistemas bioquímicos son tres los tipos de interacciones débiles más frecuentes. Las interacciones electrostáticas tienen lugar entre iones que presentan cargas opuestas. La fuerza de las interacciones electrostáticas depende de la naturaleza del medio. El fundamento del puente de hidrógeno es la desigual distribución de carga que se produce cuando un átomo de hidrógeno está unido covalentemente a un átomo electronegativo, como, por ejemplo, el oxígeno o el nitrógeno. En las biomoléculas, los puentes de hidrógeno se debilitan en presencia de agua porque el agua forma puentes de hidrógeno con mucha facilidad. Las interacciones electrostáticas transitorias, denominadas interacciones de van der Waals, se producen cuando la asimetría transitoria de cargas en una molécula no polar induce asimetrías complementarias en moléculas no polares cercanas.

2.4 Las moléculas hidrofóbicas se agrupan entre sí

La segunda ley de la Termodinámica establece que la entropía del universo siempre está aumentando. Esta ley es el fundamento del efecto hidrofóbico: en disolución acuosa, las moléculas no polares se ven forzadas a agruparse debido al incremento resultante en la entropía de las moléculas de agua. El efecto hidrofóbico es una de las consideraciones energéticas más importantes en los sistemas biológicos, y explica muchos aspectos de la estructura de la vida, incluyendo la formación de membranas y el plegamiento específico de las proteínas. Los grupos funcionales son grupos de átomos que se encuentran en muchas biomoléculas distintas y que confieren propiedades químicas específicas.

2.5 El pH es un parámetro importante de los sistemas bioquímicos

El pH de una disolución es una medida de la concentración de iones hidrógeno y es un parámetro importante en los sistemas bioquímicos, tanto *in vivo* como *in vitro*. Los tampones son pares conjugados ácido-base que se oponen a los cambios de pH. Los tampones son esenciales en los sistemas biológicos porque los cambios de pH dan lugar a efectos drásticos en la estructura de las biomoléculas y pueden incluso provocar la muerte.

Términos clave

movimiento browniano (p. 18)
puente de hidrógeno (p. 19)
interacciones electrostáticas (enlaces iónicos) (p. 20)
interacciones de van der Waals (p. 21)
entropía (p. 23)
efecto hidrofóbico (p. 23)
pH (p. 26)
tampones (p. 29)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Los enlaces iónicos, los puentes de hidrógeno y las interacciones de van der Waals dependen de la desigual distribución de los electrones, lo que da lugar a una desigual distribución de la carga.

2. Básicamente, el enunciado describe el efecto hidrofóbico. Se pueden formar determinadas estructuras bioquímicas complejas, impulsadas por el aumento de entropía que tiene lugar cuando se retiran grupos hidrofóbicos de una disolución acuosa.

Problemas

1. *Un paseo aleatorio.* Defina el movimiento browniano.

2. *Desigualdad.* Se dice que el agua es polar pero que no tiene carga. ¿Cómo es eso posible? ✓ 4

3. *Permanecemos unidos.* ¿Por qué son los enlaces débiles tan importantes en bioquímica? ✓ 4

4. *Tipos de enlace.* ¿Qué tipos de enlace débil son importantes en bioquímica? ¿Cómo afecta el agua a estos enlaces? ✓ 4

5. *Temperatura y enlaces.* En el agua líquida, cada molécula está unida mediante puentes de hidrógeno a aproximadamente 3,4 moléculas de agua. ¿Qué efecto tendría la congelación del agua sobre el número de puentes de hidrógeno? ¿Y calentar el agua?

6. *El contexto importa.* ¿Cuál sería el efecto de un disolvente inorgánico sobre las interacciones electrostáticas? ✓ 5

7. *Algunos átomos se llevan la mejor parte.* ¿Qué es un átomo electronegativo? y ¿por qué este tipo de átomos es tan importante en bioquímica? ✓ 5

8. *Aceite y vinagre.* Defina el efecto hidrofóbico. ✓ 5

9. *Las leyes son importantes.* ¿Cómo permite la segunda ley de la Termodinámica la formación de orden bioquímico?

10. *Catorce, a la una.* Si una disolución acuosa tiene una concentración de iones hidrógeno de 10^{-5} M, ¿cuál es la concentración de iones hidroxilo? ✓ 6

11. *Catorce, a las dos.* Si una disolución acuosa tiene una concentración de iones hidroxilo de 10^{-2} M, ¿cuál es la concentración de iones hidrógeno? ✓ 6

12. *Química ácido-base.* Utilizando la ecuación de Henderson-Hasselbalch, demuestre que, en el caso de un ácido débil, el pK_a es el pH al que la concentración de ácido es igual a la concentración de la base conjugada. ✓ 6

13. *La fuerza del ácido.* ¿Qué relación hay entre el pK_a de un ácido y la fuerza de ese ácido? ✓ 6

Problemas para atrevidos

14. *Encuentre el pK_a.* En un ácido HA, a pH 6 las concentraciones de HA y de A^- son 0,075 y 0,025, respectivamente. ¿Cuál es el valor del pK_a para HA? ✓ 6

15. *Indicador de pH.* Un colorante que sea un ácido y cuyas formas protonada y desprotonada presenten un color distinto se puede utilizar como un indicador de pH. Suponga que tiene una disolución 0,001 M de un colorante con un pK_a de 7,2. A partir del color, se determina que la concentración de la forma protonada es 0,0002 M. Considere que el resto del colorante está en forma desprotonada. ¿Cuál es el pH de la disolución? ✓ 6

16. *¿Cuál es la proporción?* Un ácido con un pK_a de 8,0 se encuentra en una disolución cuyo pH es 6,0. ¿Cuál es la proporción entre las formas protonada y desprotonada del ácido? ✓ 6

17. *Capacidad amortiguadora.* Se preparan dos disoluciones de acetato sódico, una con una concentración de 0,1 M y la otra con una concentración de 0,01 M. Calcule los valores de pH obtenidos tras añadir a estas dos disoluciones las siguientes concentraciones de HCl: 0,0025 M, 0,005 M, 0,01 M y 0,05 M. ✓ 6

18. *Otra proporción.* Calcule la concentración de ácido acético y de iones acetato en un tampón acetato 0,2 M a pH 5. El pK_a del ácido acético es 4,76. ✓ 6



Capítulo 3: Aminoácidos



Capítulo 4: Estructura tridimensional de las proteínas



Capítulo 5: Técnicas en bioquímica de proteínas

SECCIÓN 2

Estructura y composición de las proteínas

En los seres vivos, las proteínas son las macromoléculas más versátiles y desempeñan funciones cruciales en prácticamente todos los procesos biológicos. Entre otras muchas cosas, actúan como catalizadores, proporcionan soporte mecánico, generan movimiento y controlan el crecimiento y la diferenciación. De hecho, gran parte de este libro se va a centrar en comprender qué es lo que hacen las proteínas y cómo llevan a cabo estas funciones.

Son varias las propiedades clave que permiten a las proteínas intervenir en una amplia gama de funciones.

1. Las proteínas son polímeros lineales formados a partir de unidades monoméricas denominadas aminoácidos que se unen por sus extremos. Curiosamente, la secuencia de aminoácidos determina la forma tridimensional de la proteína. La función de la proteína depende directamente de su estructura tridimensional.
2. Las proteínas contienen una amplia gama de grupos funcionales, que son los responsables del amplio espectro de funciones proteicas.
3. Las proteínas pueden interaccionar entre sí y con otras macromoléculas para formar agrupaciones complejas. Dentro de estas agrupaciones, las proteínas pueden actuar de forma sinérgica para generar capacidades de las que carecen las proteínas individuales.
4. Algunas proteínas son bastante rígidas mientras que otras muestran una flexibilidad considerable. En células y tejidos, las unidades rígidas pueden funcionar como elementos estructurales. Las proteínas con cierta flexibilidad pueden actuar a modo de bisagras, resortes o palancas que resultan decisivos para la función de la proteína o para el ensamblaje de los complejos proteicos.

En esta sección estudiaremos la estructura de las proteínas partiendo de cero. Comenzamos analizando las propiedades químicas de los aminoácidos. A continuación, veremos cómo se unen los aminoácidos entre sí para formar una cadena polipeptídica.

La forma de los aminoácidos determina la forma y la flexibilidad de la cadena polipeptídica. Una proteína funcional es una estructura tridimensional compleja y estudiaremos los diversos niveles de estructura de las proteínas. Veremos que la estructura tridimensional final de las proteínas se forma de manera espontánea. Por último, veremos cómo se purifican y caracterizan las proteínas. Los investigadores se aprovechan de las diferencias en las características físicas de proteínas parecidas, que en muchos casos son muy ligeras, para separar unas de otras. También estudiaremos las potentes técnicas inmunológicas que se pueden utilizar para purificar y seguir investigando las proteínas u otras biomoléculas.

✓ Al final de esta sección, usted debería ser capaz de:

- ✓ 1 Identificar los principales tipos de aminoácidos.
- ✓ 2 Comparar y contrastar los distintos niveles de estructura de las proteínas y cómo se relacionan entre sí.
- ✓ 3 Describir la información bioquímica que determina la estructura tridimensional final de las proteínas y explicar qué es lo que impulsa la formación de esta estructura.
- ✓ 4 Explicar cómo se pueden purificar las proteínas.
- ✓ 5 Explicar cómo se pueden utilizar las técnicas inmunológicas para purificar e identificar proteínas.

CAPÍTULO 3

Aminoácidos

3.1 Las proteínas se construyen a partir de un repertorio de 20 aminoácidos

3.2 Los aminoácidos contienen una amplia gama de grupos funcionales

3.3 Los aminoácidos esenciales deben obtenerse a partir de la dieta



En el maravilloso cuento de Lewis Carrol *A través del espejo*, Alicia entra en un mundo de encantadoras curiosidades. Si Alicia hubiese sido bioquímica, se habría preguntado si la estereoquímica de los aminoácidos *del espejo* sería la imagen especular de la de los aminoácidos de su mundo normal. [The Granger Collection.]

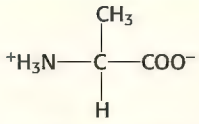
El papel de los aminoácidos en la vida como material para la construcción de proteínas se aprecia fácilmente en las tiendas de comida energética. De hecho, sus baldas están repletas de aminoácidos en polvo que se utilizan como suplemento a la dieta, lo que permite a los culturistas intensificar el crecimiento muscular. Sin embargo, los aminoácidos, por sí solos, son compuestos clave en bioquímica. Algunos aminoácidos funcionan como moléculas señal, como, por ejemplo, neurotransmisores, y todos los aminoácidos son precursores de otras biomoléculas, como, por ejemplo, hormonas, ácidos nucleicos, lípidos y, como acabamos de mencionar, proteínas. En este capítulo, vamos a estudiar las propiedades químicas fundamentales de los aminoácidos.

Las biomoléculas se representarán de dos formas distintas

Las proteínas, como todas las sustancias químicas en general, deben su asombrosa variedad de funciones a la capacidad para formar estructuras tridimensionales. ¿Cómo se ven estas biomoléculas en páginas bidimensionales? En este libro, las mo-

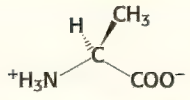
léculas se representan de dos formas distintas, dependiendo del aspecto de la molécula que se quiera resaltar.

Cuando visualizar *los átomos que constituyen la molécula* (como los carbonos y los hidrógenos) es más importante que observar la forma de la molécula, utilizamos una representación denominada proyección de Fischer. En una *proyección de Fischer*, cada átomo está identificado y los enlaces al átomo de carbono central se representan mediante líneas horizontales y verticales. Por convención, se considera que los enlaces horizontales se proyectan hacia fuera de la página, hacia el espectador, y que los enlaces verticales se proyectan hacia dentro de la página, alejándose del espectador.



Proyección de Fischer de la alanina

Cuando el énfasis recae en *la función* de una molécula, es más importante visualizar la forma de la molécula. En estos casos, se utilizan las representaciones estereoquímicas porque transmiten una visión inmediata de la estructura de la molécula y, por tanto, dan indicios sobre su función. Las representaciones estereoquímicas también simplifican el gráfico, haciendo así que la función de una molécula se intuya de forma más clara. Los átomos de carbono y de hidrógeno no se muestran de forma explícita a menos que resulten importantes para la actividad de la molécula. De esta forma es más fácil identificar los grupos funcionales.



Representación estereoquímica de la alanina

Para ilustrar la *estereoquímica* correcta de los átomos de carbono tetraédricos, se utilizan cuñas para indicar la dirección de un enlace, bien hacia dentro o bien hacia fuera de la página. Una cuña sólida indica un enlace que sale del plano de la página hacia el observador. Una cuña discontinua indica un enlace que se aleja del observador por detrás del plano de la página. Los dos enlaces restantes se representan mediante líneas rectas.

✓ 1 Identificar los principales tipos de aminoácidos.

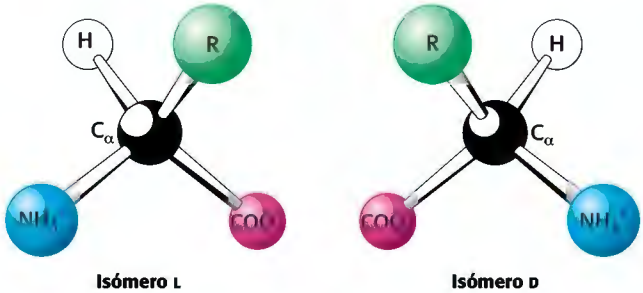
3.1 Las proteínas se construyen a partir de un repertorio de 20 aminoácidos

Los aminoácidos son los materiales de construcción de las proteínas. Un *α-aminoácido* consta de un átomo de carbono central, denominado *carbono α*, unido a un grupo amino, a un grupo ácido carboxilo, a un átomo de hidrógeno y a una *cadena lateral*, denominada grupo R. Cada tipo de aminoácido posee un grupo R distinto.

La mayoría de los aminoácidos se presentan en dos formas que son imágenes especulares entre sí

Con cuatro grupos distintos enlazados al átomo de carbono α tetraédrico, los α-aminoácidos son *quirales*: pueden existir en cualquiera de las dos formas que son imágenes especulares entre sí y que se denominan isómero L e isómero D, (Figura 3.1).

Solo los aminoácidos L forman parte de las proteínas. ¿En qué se basa la preferencia por los *aminoácidos L*? No se conoce la respuesta pero existen evidencias de que los aminoácidos puros (L o D) son ligeramente más solubles que un cristal DL estable. Por tanto, si por simple azar hubiese un pequeño exceso de aminoácidos L, esta pequeña diferencia de solubilidad podría haberse amplificado a lo largo del tiempo de forma que el isómero L acabase siendo el predominante en disolución.



Isómero L **Isómero D**

Figura 3.1 Isómeros L y D de los aminoácidos. La letra R hace referencia a la cadena lateral. Los isómeros L y D son imágenes especulares entre sí.

Todos los aminoácidos presentan al menos dos grupos cargados

A pH neutro, los aminoácidos libres en disolución se encuentran mayoritariamente en forma de *iones dipolares* (también denominados *zwitteriones*). En la forma dipolar, el grupo amino está protonado (NH_3^+) y el grupo carboxilo está desprotonado (COO^-). El estado de ionización de un aminoácido varía con el pH (Figura 3.2). En disoluciones ácidas (por ejemplo, a pH 1), el grupo amino está protonado (NH_3^+) y el grupo carboxilo no está disociado (−COOH). A medida que se eleva el pH, el ácido carboxílico es el primer grupo que cede un protón, porque su pK_a está cercano a 2. La forma dipolar persiste hasta que el pH se acerca a 9, momento en el que el grupo amino protonado pierde un protón. En condiciones fisiológicas, los aminoácidos se encuentran en la forma dipolar.

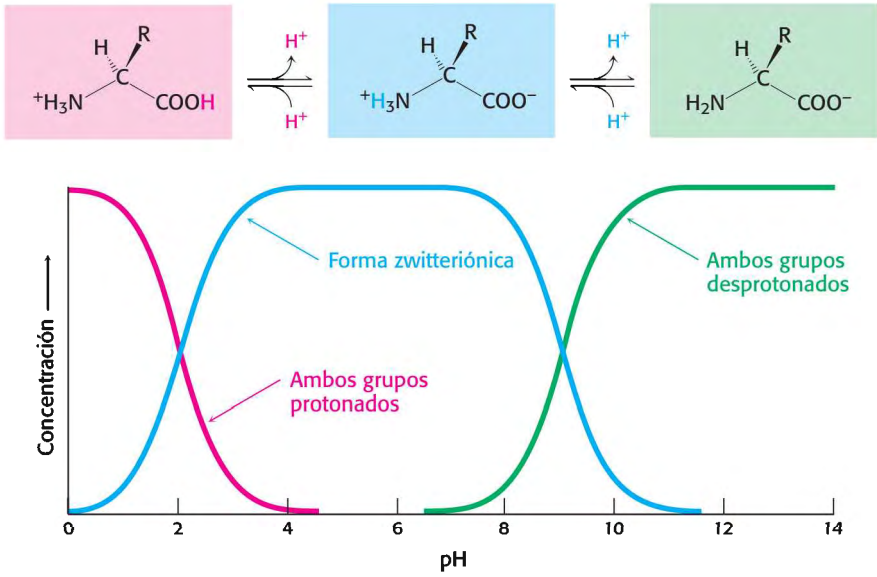


Figura 3.2 Estado de ionización en función del pH. El estado de ionización de los aminoácidos se modifica cuando cambia el pH. La forma zwitteriónica predomina en las proximidades del pH fisiológico, cuyo valor aproximado es 7,4.

3.2 Los aminoácidos contienen una amplia gama de grupos funcionales

Generalmente, en las proteínas se pueden encontrar veinte tipos de cadenas laterales que varían en *tamaño*, *forma*, *carga*, *capacidad para formar puentes de hidrógeno*, *carácter hidrofóbico* y *reactividad química*. Muchas de estas propiedades se deben a los grupos funcionales. Los grupos funcionales de los aminoácidos incluyen alcoholes, tioles, tioéteres, ácidos carboxílicos, carboxamidas y diversos grupos básicos. La mayoría de estos grupos son químicamente reactivos.

Todas las proteínas de todas las especies —bacterias, arqueobacterias y eucariotas— se construyen a partir del mismo conjunto de 20 aminoácidos aunque hay unas pocas excepciones. Este alfabeto fundamental para la construcción de proteínas tiene varios miles de millones de años de antigüedad. El extraordinario abanico de funciones mediadas por proteínas es resultado de la diversidad y versatilidad de estos 20 materiales de construcción.

Aunque hay muchas formas de clasificar los aminoácidos, dividiremos estas moléculas en cuatro grupos, en base a las características químicas generales de sus grupos R:

1. Aminoácidos hidrofóbicos con grupos R no polares.
2. Aminoácidos polares con grupos R neutros cuya carga no está distribuida de manera uniforme.
3. Aminoácidos cargados positivamente con grupos R que presentan una carga positiva a pH fisiológico (pH $\approx$ 7,4).
4. Aminoácidos cargados negativamente con grupos R que presentan una carga negativa a pH fisiológico.

Los aminoácidos hidrofóbicos contienen, principalmente, cadenas laterales hidrocarbonadas

Los aminoácidos que contienen cadenas laterales formadas únicamente por hidrógeno y carbono son hidrofóbicos. El aminoácido más sencillo es la *glicina*, que tiene un único átomo de hidrógeno en su cadena lateral. Con dos átomos de hidrógeno unidos al átomo de carbono α, la glicina es el único aminoácido aquiral. La *alanina*, el siguiente aminoácido más sencillo, posee un grupo metilo ($-CH_3$) en su cadena lateral (Figura 3.3). Las abreviaturas de tres letras y los símbolos de una letra que aparecen debajo de los nombres de los aminoácidos representados en la Figura 3.3 y en ilustraciones posteriores forman parte del vocabulario de los bioquímicos.

En los aminoácidos ramificados *valina*, *leucina* e *isoleucina* se encuentran cadenas alifáticas de mayor tamaño. La *metionina* contiene una cadena lateral fundamentalmente hidrofóbica que incluye un grupo *tioéter* ($-S-$). Las distintas formas y

tamaños de estas cadenas laterales hidrocarbonadas les permiten empaquetarse juntas para dar lugar a estructuras compactas con poco espacio libre. La *prolina* también tiene una cadena lateral alifática, pero se diferencia del resto de los aminoácidos en que su cadena lateral está unida al carbono α y al átomo de nitrógeno. La prolina afecta considerablemente a la arquitectura de la proteína porque su estructura en forma de anillo hace que, desde el punto de vista conformacional, tenga más restricciones que los demás aminoácidos.

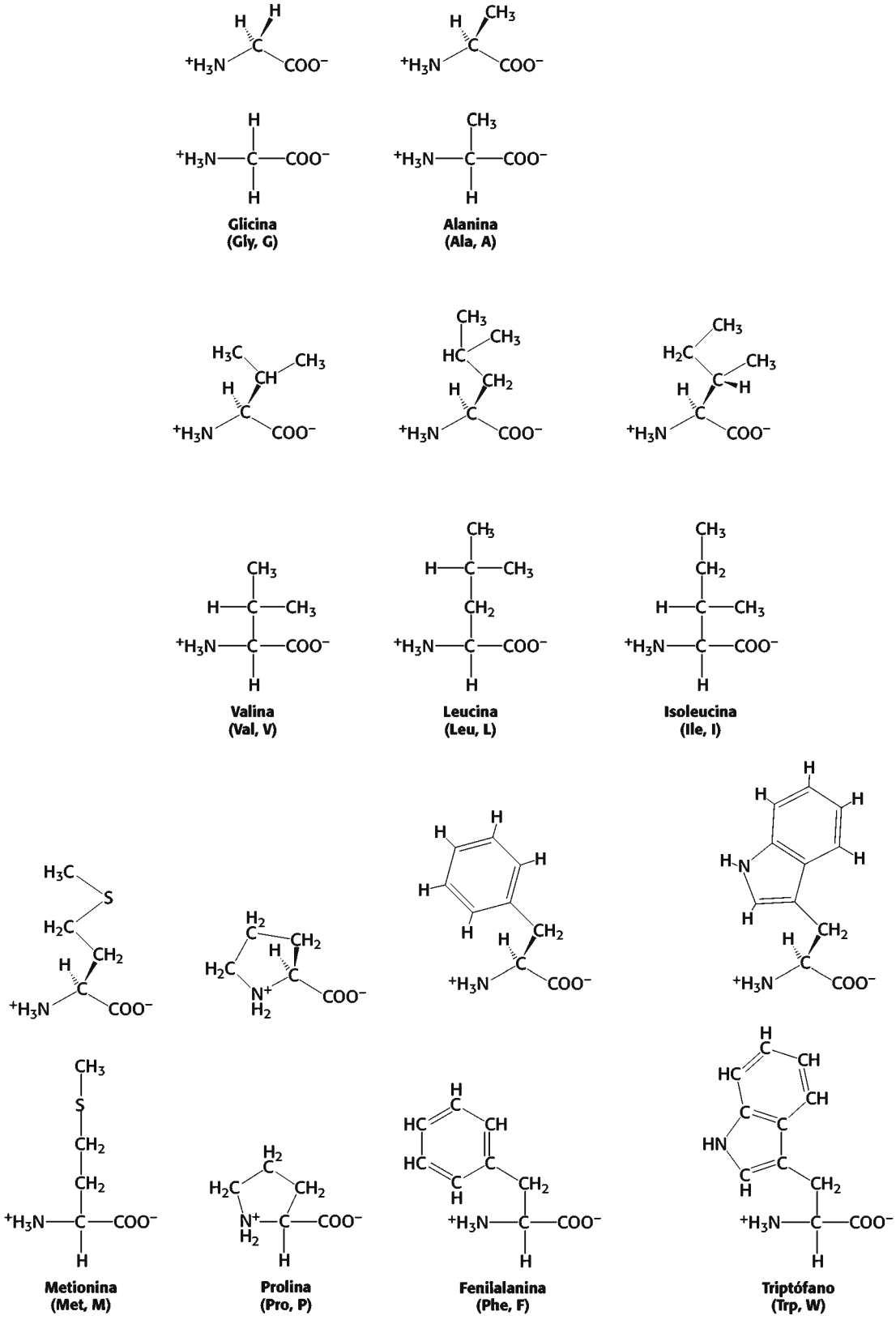


Figura 3.3 Aminoácidos hidrofóbicos.

Hay dos aminoácidos con *cadenas laterales aromáticas* sencillas que también se clasifican como hidrofóbicos (ver la Figura 3.3). La *fenilalanina*, tal y como indica su nombre, contiene un anillo fenilo ocupando el lugar de uno de los átomos de hidrógeno del grupo metilo de la alanina. El *triptófano* tiene un anillo indol unido a un grupo metileno ($-CH_2-$); el grupo indol consta de dos anillos fusionados que contienen un grupo NH.

Los aminoácidos hidrofóbicos, particularmente los alifáticos y aromáticos de mayor tamaño, tienden a agruparse en el interior de la proteína, lejos del entorno acuoso de la célula. Esta tendencia de los grupos hidrofóbicos a agruparse se denomina *efecto hidrofóbico* (pp. 22-23) y es la fuerza motriz para la formación de la estructura tridimensional única para cada proteína soluble en agua. Las distintas formas y tamaños de estas cadenas laterales hidrocarbonadas les permiten empaquetarse en grupo para dar lugar a estructuras compactas con poco espacio libre.

Los aminoácidos polares tienen cadenas laterales que presentan un átomo electronegativo

El siguiente grupo de aminoácidos que estudiaremos son aquellos que, en conjunto, son neutros pero que, sin embargo, son polares porque el grupo R contiene un átomo electronegativo que acapara los electrones. Hay tres aminoácidos, *serina*, *treonina* y *tirosina* que contienen un grupo hidroxilo ($-OH$) (Figura 3.4). Los electrones del

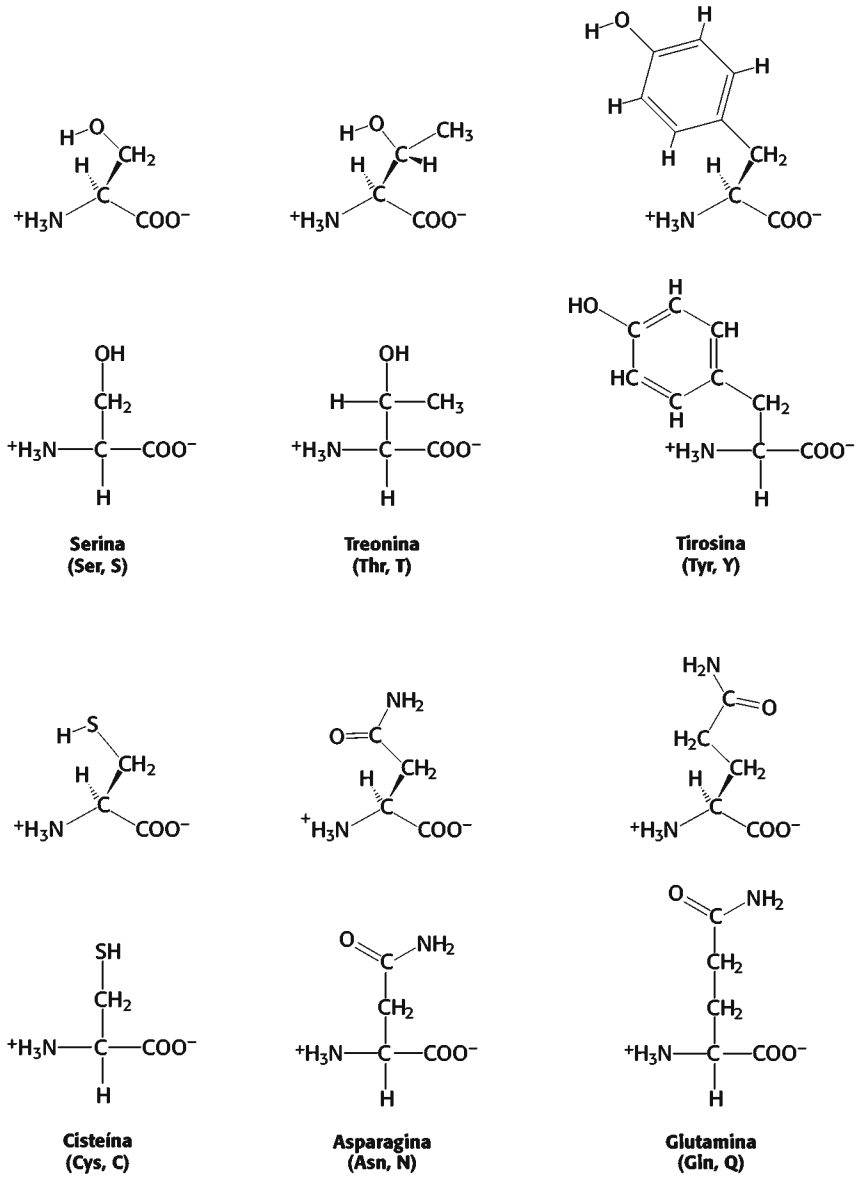


Figura 3.4 Aminoácidos polares.

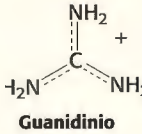
enlace O—H son atraídos por el átomo de oxígeno, haciéndolo parcialmente negativo, lo que, a su vez, convierte al hidrógeno en parcialmente positivo. Se puede considerar la serina como una versión de la alanina que tiene un grupo hidroxilo unido al grupo metilo, mientras que la treonina parece una valina en la que un grupo hidroxilo ocupa el lugar de uno de los grupos metilo de la valina. La tirosina es parecida a la fenilalanina pero contiene un grupo hidroxilo hidrofílico unido al gran anillo aromático. Los grupos hidroxilo de la serina, treonina y tirosina los hacen más *hidrofílicos* (les gusta el agua) y *reactivos* que sus respectivos homólogos no polares alanina, valina y fenilalanina. La *cisteína* es, desde el punto de vista estructural, similar a la serina pero contiene un grupo *sulfhidrilo*, o *tiol* (—SH), en lugar del grupo hidroxilo. El grupo sulfhidrilo es mucho más reactivo que un grupo hidroxilo y a pH ligeramente básico puede perder un protón para formar un grupo tiolato reactivo. Una pareja de grupos sulfhidrilos que se encuentren muy cerca puede formar enlaces disulfuro —enlaces covalentes que resultan particularmente importantes a la hora de estabilizar algunas proteínas, tal y como se verá en el Capítulo 4. Además, el conjunto de aminoácidos polares incluye la *asparagina* y el *glutamato*, que contienen una *carboxamida* terminal.

La lisina es un aminoácido esencial (p. 42), lo cual quiere decir que los seres humanos no pueden sintetizar lisina y deben obtenerla a partir de la dieta. En animales de experimentación sometidos a una dieta basada en cereales, la ingesta insuficiente de lisina incrementó la ansiedad provocada por el estrés. Recientes estudios sugieren que esta respuesta a la carencia de lisina también podría producirse en los seres humanos.

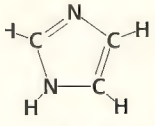
Los aminoácidos cargados positivamente son hidrofílicos

Centramos ahora nuestra atención en los aminoácidos que contienen cadenas laterales cargadas positivamente que hacen que estos aminoácidos sean muy hidrofílicos (**Figura 3.5**). La *lisina* y la *arginina* poseen largas cadenas laterales que terminan en grupos que están *cargados positivamente* a pH neutro. La lisina acaba en un grupo amino y la arginina en un grupo guanidinio. Observe que los grupos R de la lisina y de la arginina presentan características duales —las cadenas carbonadas constituyen un esqueleto hidrocarbonado parecido al del aminoácido leucina, pero la cadena termina con una carga positiva. Esta combinación de características contribuye a la gran variedad de propiedades químicas de estos aminoácidos.

La *histidina* contiene un grupo imidazol, un anillo aromático que también puede estar cargado positivamente. Con un valor de pK_a cercano a 6, el grupo imidazol de la histidina es único en el sentido de que en las proximidades del pH neutro puede estar sin carga o cargado positivamente, en función de su entorno local (**Figura 3.6**). De hecho, la histidina se encuentra frecuentemente en los centros activos de las enzimas, donde el anillo imidazol puede unir o liberar protones en el transcurso de las reacciones enzimáticas.



Guanidinio



Imidazol

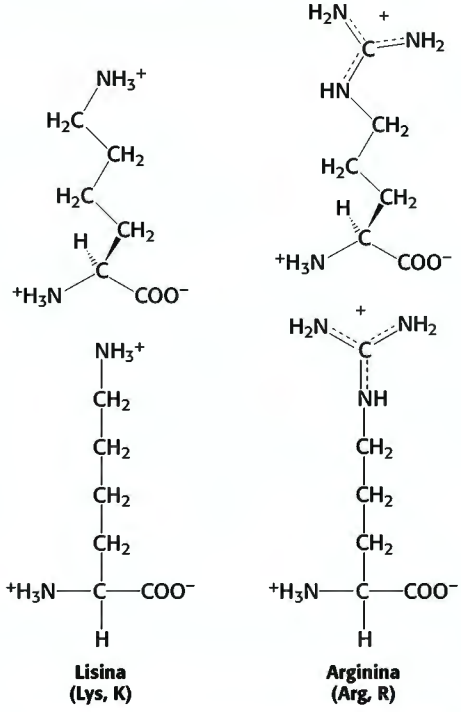


Figura 3.5 Aminoácidos cargados positivamente.

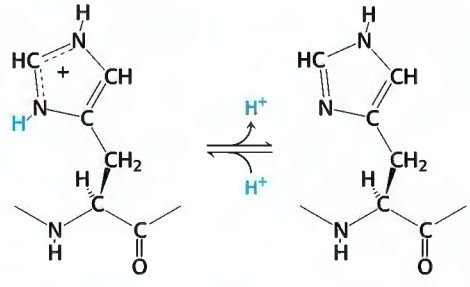


Figura 3.6 Ionización de la histidina. En las proximidades del pH fisiológico, la histidina puede unirse a protones o liberarlos.

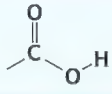
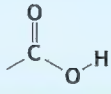
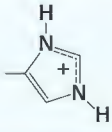
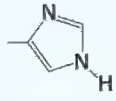
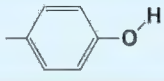
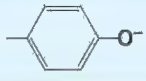
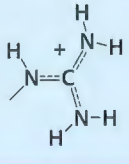
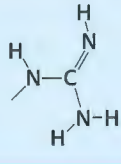
Los aminoácidos cargados negativamente presentan cadenas laterales ácidas

Los dos aminoácidos que pertenecen a este grupo, el *ácido aspártico* y el *ácido glutámico*, poseen *cadenas laterales ácidas* que habitualmente se encuentran cargadas negativamente en las condiciones intracelulares (Figura 3.7). A menudo, estos aminoácidos se denominan *aspartato* y *glutamato* para enfatizar la presencia de la carga negativa en sus cadenas laterales. En algunas proteínas, estas cadenas laterales aceptan protones, lo que neutraliza la carga negativa. A menudo, esta capacidad es importante desde el punto de vista funcional. El aspartato y el glutamato están relacionados con la asparagina y a la glutamina ya que, en estos últimos, la carboxamida ocupa el lugar que en la primera pareja ocupan los grupos carboxílicos.

Las cadenas laterales ionizables incrementan la reactividad y la formación de enlaces

Siete de los 20 aminoácidos —tirosina, cisteína, arginina, lisina, histidina, ácido aspártico y ácido glutámico— presentan cadenas laterales fácilmente ionizables. Estos siete aminoácidos son capaces tanto de formar enlaces iónicos como de donar o aceptar protones para facilitar las reacciones. La capacidad de donar o aceptar protones se denomina catálisis ácido-base y es una importante reacción química para muchas enzimas. Veremos la importancia de la histidina como catalizador ácido-base cuando estudiemos la quimotripsina, una enzima que digiere proteínas, en el Capítulo 8. La Tabla 3.1 muestra los equilibrios y los valores de pK_a para la ionización de las cadenas laterales de estos siete aminoácidos.

Tabla 3.1 Valores típicos del pK_a de los grupos ionizables de las proteínas

Grupo	Ácido	Base	pK_a típico
Grupo α-carboxilo terminal			3,1
Ácido aspártico Ácido glutámico			4,1
Histidina			6,0
Grupo α-amino terminal			8,0
Cisteína			8,3
Tirosina			10,9
Lisina			10,8
Arginina			12,5

Nota: los valores de pK_a dependen de la temperatura, de la fuerza iónica y del microentorno del grupo ionizable.

El glutamato monosódico (GMS), que es glutamato con sodio unido a un grupo ácido, se utiliza frecuentemente como un intensificador del sabor. De hecho, el sabor del glutamato y del aspartato (denominado *umami*, que procede de la palabra japonesa "exquisitez") es uno de los cinco sabores primarios; los otros son: dulce, ácido, amargo y salado.

? PREGUNTA RÁPIDA Cite tres aminoácidos que estén cargados positivamente a pH neutro. Cite tres aminoácidos que contengan grupos hidroxilo.

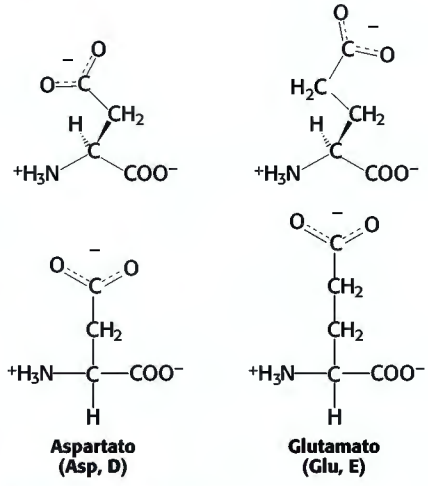


Figura 3.7 Aminoácidos cargados negativamente.

Tabla 3.2 Conjunto básico de 20 aminoácidos

No esenciales	Esenciales
Alanina	Histidina
Arginina	Isoleucina
Asparagina	Leucina
Aspartato	Lisina
Cisteína	Metionina
Glutamato	Fenilalanina
Glutamina	Treonina
Glicina	Triptófano
Prolina	Valina
Serina	
Tirosina	

3.3 Los aminoácidos esenciales deben obtenerse a partir de la dieta

La mayoría de los microorganismos pueden sintetizar el conjunto básico completo de 20 aminoácidos, mientras que los seres humanos solo pueden fabricar 11 de ellos. Los aminoácidos que no se pueden generar en el organismo deber ser suministrados por la dieta y se denominan *aminoácidos esenciales*. El resto se denominan aminoácidos no esenciales (Tabla 3.2). Esta denominación hace referencia a un organismo en unas condiciones concretas. Por ejemplo, un ser humano adulto puede sintetizar suficiente arginina como para satisfacer sus necesidades, pero un niño en crecimiento necesita más arginina que la que su cuerpo es capaz de suministrar para satisfacer las demandas de la síntesis de proteínas durante el crecimiento rápido.



Figura 3.8 Niño que padece kwashiorkor. Observe la tripa hinchada. Esta hinchazón (edema) se debe a la acumulación de líquido en los tejidos porque no hay suficientes proteínas en la sangre. [Stephen Morrison/epa/Corbis.]

Aspecto clínico

La ingesta inadecuada de proteínas da lugar a estados patológicos

Un ejemplo de la importancia de los aminoácidos en la dieta (ingeridos habitualmente en forma de proteínas) es el *kwashiorkor*, una forma particular de malnutrición. Esta enfermedad se definió por vez primera en la década de 1930 en Ghana. En la lengua Ga, un dialecto ghaniano, *kwashiorkor* significa "enfermedad del niño desplazado"; es decir, la enfermedad que surge cuando un niño es destetado a causa del nacimiento de un hermano. Es una forma de malnutrición que aparece cuando la ingesta de proteínas es insuficiente. Los síntomas iniciales de la enfermedad son un letargo generalizado, irritabilidad y un crecimiento atrofiado. Si se trata lo suficientemente pronto, los efectos de la enfermedad son reversibles. Sin embargo, si no se corrige a tiempo, muchos sistemas fisiológicos no consiguen desarrollarse adecuadamente, incluyendo el cerebro. Por ejemplo, los niños padecerán diversas enfermedades infecciosas porque sus sistemas inmunitarios, formados por multitud de proteínas diferentes, no se pueden construir de modo que funcionen de forma apropiada. Análogamente, la falta de proteínas impide el desarrollo completo del sistema nervioso central, lo que da lugar a la aparición de problemas neurológicos.

La característica más frecuente de un niño que padece kwashiorkor es un vientre grande y protuberante (Figura 3.8). El vientre grande no es una señal de un exceso de calorías sino de un edema, otra consecuencia de la falta de proteínas. El edema es la hinchazón que resulta del exceso de agua en los tejidos. Una cantidad insuficiente de proteína en la sangre del niño distorsiona la normal distribución del agua entre el plasma y los capilares circundantes. Aunque lo que más se nota es el vientre hinchado, es frecuente que las extremidades de un niño que padece kwashiorkor también estén hinchadas. Estos niños enfermos ofrecen una imagen abrumadora de la crucial importancia de las proteínas para la vida. ■

Resumen

3.1 Las proteínas se construyen a partir de un repertorio de 20 aminoácidos

Las proteínas son polímeros lineales de aminoácidos. Cada aminoácido consta de un átomo de carbono tetraédrico central unido a un grupo amino, a un grupo ácido carboxílico, a una cadena lateral característica y a un átomo de hidrógeno. Estos centros tetraédricos, a excepción del de la glicina, son quirales; en la proteínas solo hay isómeros L. Todas las proteínas naturales se construyen a partir del mismo conjunto de 20 aminoácidos.

3.2 Los aminoácidos contienen una amplia gama de grupos funcionales

Las cadenas laterales de estos 20 materiales de construcción varían enormemente en su tamaño, forma y presencia de grupos funcionales. En función de las propiedades químicas de las cadenas laterales, los aminoácidos se pueden clasificar de la siguiente forma: (1) cadenas laterales hidrofóbicas —glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, prolina y los aminoácidos aromáticos fenilalanina y triptófano; (2) aminoácidos polares —serina, treonina, tirosina, asparagina y glutamina; (3) aminoácidos cargados positivamente —lisina, arginina e histidina; y (4) aminoácidos cargados negativamente —ácido aspártico y ácido glutámico.

3.3 Los aminoácidos esenciales deben obtenerse a partir de la dieta

La mayoría de los microorganismos son capaces de fabricar los 20 aminoácidos a partir de moléculas más sencillas. A pesar de que los seres humanos pueden fabricar 11 aminoácidos, hay nueve que tienen que ser aportados por la dieta. Estos nueve aminoácidos se denominan aminoácidos esenciales porque son necesarios para un crecimiento y desarrollo saludables.

Términos clave

cadena lateral (grupo R) (p. 36)
aminoácido L (p. 36)
ion dipolar (zwitterión) (p. 36)
aminoácidos esenciales (p. 42)

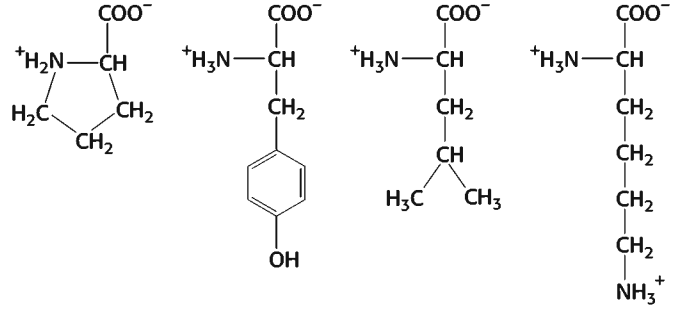
Respuesta a la PREGUNTA RÁPIDA

La lisina, la arginina y la histidina están cargadas positivamente a pH neutro. Los tres aminoácidos que contienen grupos hidroxilo son la serina, la treonina y la tirosina.

Problemas

1. *Mensaje oculto.* Traduzca la siguiente secuencia de aminoácidos al código de una letra: Glu-Leu-Val-Ile-Ser-Ile-Ser-Leu-Ile-Val-Ile-Asn-Gly-Ile-Asn-Leu-Ala-Ser-Val-Glu-Gly-Ala-Ser.

2. *Identificar.* Examine los siguientes cuatro aminoácidos. ¿Cuáles son sus nombres, sus abreviaturas de tres letras y sus símbolos de una letra?



A B C D

3. *Propiedades.* En relación con los aminoácidos mostrados en el problema 2, ¿a cuál o a cuáles se les puede atribuir las siguientes características? ✓ 1

(a) Cadena lateral hidrofóbica _____

(b) Cadena lateral básica _____

(c) Tres grupos ionizables _____

(d) pK_a aproximado de 10 en proteínas _____

(e) Versión modificada de la fenilalanina _____

4. *Emparéjelos.* Empareje cada aminoácido de la columna de la izquierda con el tipo de cadena lateral que le corresponde en la columna de la derecha. ✓ 1

(a) Leu	1. contiene un grupo hidroxilo
(b) Glu	2. ácida
(c) Lys	3. básica
(d) Ser	4. contiene azufre
(e) Cys	5. no polar, aromática
(f) Trp	6. no polar, alifática

5. *Solubilidad.* En cada una de las siguientes parejas de aminoácidos identifique cuál de ellos sería más soluble en agua: (a) Ala, Leu; (b) Tyr, Phe; (c) Ser, Ala; (d) Trp, His.

6. *Carga y pH.* ¿Cuál es la carga neta del aminoácido glicina a pH 7? ¿Y a pH 12?

7. *Punto isoeléctrico.* El punto isoeléctrico (pI) es el pH al cual la molécula no tiene carga neta. El aminoácido glicina tiene dos grupos ionizables: (1) un grupo carboxilo con un pK_a de 2,2 y (2) un grupo α-amino con un pK_a de 9,60. Calcule el pI de la glicina.

8. *R positiva.* ¿Qué aminoácidos tienen grupos R cargados positivamente a pH 7?

9. *Crucial o no crucial.* ¿Qué diferencia hay entre un aminoácido esencial y uno no esencial?

10. *Aromático, no romántico.* ¿Qué tres aminoácidos tienen componentes aromáticos en sus cadenas laterales? ✓ 1

11. *Conseguir una carga.* ¿Qué cadenas laterales de aminoácido son capaces de ionizarse? ✓ 1

12. *Similar al ácido carbólico.* ¿Qué aminoácido contiene un grupo R parecido al fenol y ligeramente ácido?

13. *Enlazarse es bueno.* ¿Cuál o cuáles de los siguientes aminoácidos tienen grupos R con capacidad para formar puentes de hidrógeno? Ala, Gly, Ser, Phe, Glu, Tyr, Ile y Thr.

Problemas para atrevidos

14. *Especies minoritarias.* En el caso de un aminoácido como la alanina, la especie mayoritaria en disolución a pH 7 es la forma zwitteriónica. Considere que el pK_a del grupo amino es 8 y el pK_a del ácido carboxílico es 3. Calcule el cociente entre la concentración de la forma neutra del aminoácido (con el ácido carboxílico protonado y el grupo amino neutro) y la concentración de la forma zwitteriónica a pH 7.

15. *Ionizado a medias.* La Figura 3.2 muestra la curva de titulación de un aminoácido típico que carece de un grupo R cargado. Examine el gráfico y determine, para este aminoácido, el pK_a del grupo carboxilo y el pK_a del grupo amino.

CAPÍTULO 4

Estructura tridimensional de las proteínas

4.1 Estructura primaria: los aminoácidos se unen por medio de enlaces peptídicos para formar cadenas polipeptídicas

4.2 Estructura secundaria: las cadenas polipeptídicas se pueden plegar para dar lugar a estructuras regulares

4.3 Estructura terciaria: las proteínas hidrosolubles se pliegan formando estructuras compactas

4.4 Estructura cuaternaria: múltiples cadenas polipeptídicas se pueden ensamblar para formar una única proteína

4.5 La secuencia de aminoácidos de una proteína determina su estructura tridimensional



La tela de una araña es un dispositivo construido por la araña para capturar presas. El principal componente de la telaraña es la seda de la araña, una proteína. Muchas proteínas presentan hojas β, una unidad fundamental en la estructura de las proteínas. La seda de la araña está formada casi exclusivamente por hojas β. [ra-photos/Stockphoto.]

Las proteínas son el resultado material del tránsito desde el mundo unidimensional de las secuencias del DNA al mundo tridimensional de las moléculas capaces de llevar a cabo actividades diversas. El DNA codifica la secuencia de los aminoácidos que constituyen una proteína. La secuencia de aminoácidos se denomina *estructura primaria* y las proteínas suelen estar formadas por entre 50 y 300 aminoácidos. Sin embargo, las proteínas funcionales no son simples polímeros largos de aminoácidos. Estos polímeros se pliegan para adoptar estructuras tridimensionales concretas con funciones bioquímicas específicas. La estructura tridimensional que se obtiene a partir de un patrón regular de puentes de hidrógeno entre los grupos NH y CO de los aminoácidos que componen la cadena polipeptídica se denomina *estructura secundaria*. La estructura tridimensional se hace más compleja cuando los grupos R de aminoácidos que están muy separados en la estructura primaria se unen entre sí. Este nivel de estructura se denomina *estructura terciaria* y es el nivel estructural más alto que puede alcanzar un polipéptido individual. Sin embargo, muchas proteínas necesitan más de una cadena para funcionar. Este tipo de proteínas presentan *estructura cuaternaria*, que puede ser tan sencilla como una proteína funcional formada por dos cadenas polipeptídicas idénticas o tan compleja como una proteína formada por docenas de cadenas polipeptídicas distintas. Sorprendentemente, la estructura tridimensional final de una proteína está determinada simplemente por la secuencia de aminoácidos de la proteína.

En este capítulo analizaremos las propiedades de los diversos niveles de la estructura de las proteínas. Posteriormente, investigaremos cómo la estructura primaria determina la estructura tridimensional final.

✓ 2 Comparar y contrastar los distintos niveles de estructura de las proteínas y cómo se relacionan entre sí.

4.1 Estructura primaria: los aminoácidos se unen mediante enlaces peptídicos para formar cadenas polipeptídicas

Las proteínas son complicadas moléculas tridimensionales, pero su estructura tridimensional depende básicamente de su *estructura primaria* –los *polímeros lineales* formados por la unión del grupo α-carboxilo de un aminoácido con el grupo α-amino de otro aminoácido. El enlace que une los aminoácidos en una proteína se denomina *enlace peptídico* (también llamado *enlace amida*). La formación de un dipéptido a partir de dos aminoácidos va acompañada de la pérdida de una molécula de agua (Figura 4.1). En casi todos los casos, el equilibrio de esta reacción está desplazado hacia la hidrólisis en lugar de hacia la síntesis. Por tanto, la biosíntesis de enlaces peptídicos requiere un aporte de energía libre. No obstante, los enlaces peptídicos son bastante estables desde el punto de vista cinético porque la velocidad de hidrólisis es extremadamente baja; en ausencia de catalizador, la vida media de un enlace peptídico en disolución acuosa se aproxima a los 1.000 años.

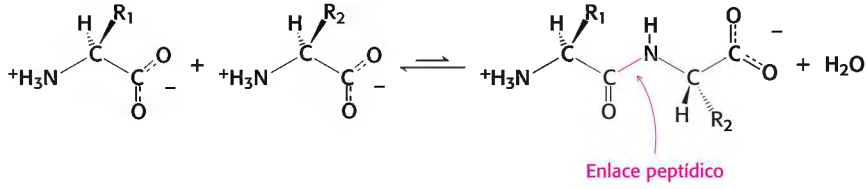


Figura 4.1 Formación del enlace peptídico. La unión de dos aminoácidos está acompañada de la pérdida de una molécula de agua.

Un conjunto de aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos forma una *cadena polipeptídica* y, dentro de un polipéptido, cada unidad de aminoácido se denomina *residuo*. *Una cadena polipeptídica tiene direccionalidad* porque sus extremos son distintos: en uno de sus extremos hay un grupo α-amino y en el otro hay un grupo α-carboxilo. Por convención, se considera que el inicio de una cadena polipeptídica corresponde al extremo amino y, por tanto, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica se escribe empezando por el residuo amino-terminal. Así, en el pentapéptido Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu (YGGFL), la tirosina es el residuo amino-terminal (N-terminal) y la leucina es el residuo carboxilo-terminal (C-terminal) (Figura 4.2). La secuencia inversa, Leu-Phe-Gly-Gly-Tyr (LFGGY) es un pentapéptido distinto con propiedades químicas diferentes. Hay que destacar que los dos péptidos en cuestión tienen la misma *composición de aminoácidos* pero difieren en su estructura primaria.

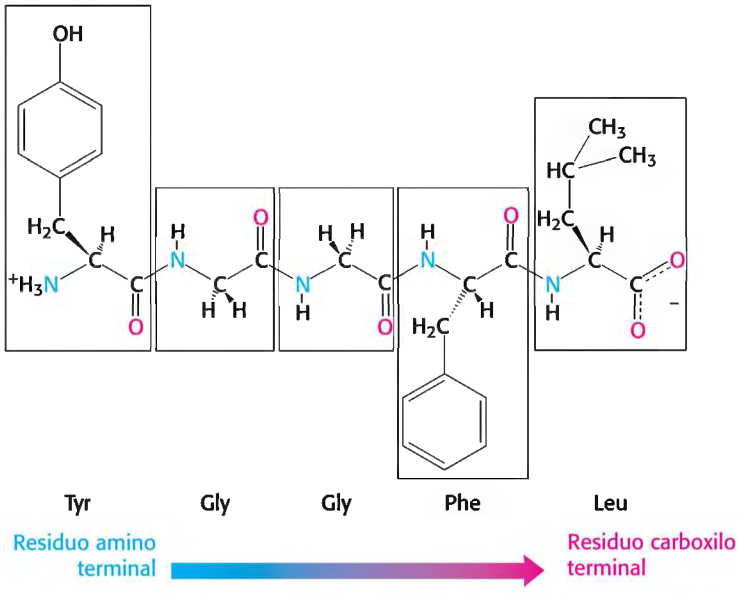


Figura 4.2 Las secuencias de aminoácidos tienen una dirección. Esta ilustración del pentapétptido Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu (YGGFL) muestra la secuencia desde el extremo amino hasta el extremo carboxilo. Este pentapéptido, denominado Leu-encefalina, es un péptido opioide que modula la percepción del dolor.

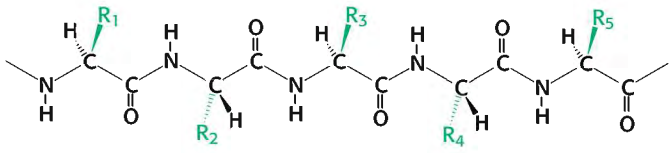


Figura 4.3 Componentes de una cadena polipeptídica. Una cadena polipeptídica consta de un esqueleto constante (mostrado de color negro) y cadenas laterales variables (mostradas en verde).



Grupo carbonilo

Una cadena polipeptídica consta de una parte que se repite regularmente, denominada la *cadena principal* o *esqueleto*, y una parte variable formada por las *cadenas laterales* correspondientes a cada aminoácido (Figura 4.3). El esqueleto polipeptídico posee un elevado potencial para la formación de puentes de hidrógeno. Cada residuo contiene un grupo carbonilo (C=O), que es un buen aceptor de puentes de hidrógeno y, a excepción de la prolina, un grupo amino (N–H), que es un buen donador de puentes de hidrógeno. Estos grupos interaccionan entre sí y con los grupos funcionales de las cadenas laterales para estabilizar estructuras concretas.

La mayoría de las cadenas polipeptídicas naturales contienen entre 50 y 2.000 residuos de aminoácido y se las denomina comúnmente *proteínas*. La proteína de mayor tamaño que se conoce es la proteína muscular *titina*, que sirve de andamio para el ensamblaje de las proteínas contráctiles del músculo. La titina está formada por casi 27.000 aminoácidos. Los péptidos formados por un reducido número de aminoácidos se denominan *oligopéptidos* o, sencillamente, *péptidos*. El peso molecular medio de un residuo de aminoácido es de unos 110 g mol^{-1} y, por tanto, los pesos moleculares de la mayor parte de las proteínas oscilan entre 5.500 y 220.000 g mol^{-1}. También podemos hacer referencia a la masa de una proteína, que se expresa en unas unidades denominadas daltons; un *dalton* es una unidad de masa prácticamente igual a la masa de un átomo de hidrógeno. Una proteína con un peso molecular de 50.000 g mol^{-1} posee una masa de 50.000 daltons o 50 kDa (kilodaltons).

En algunas proteínas, la cadena polipeptídica lineal se encuentra entrecruzada mediante enlaces covalentes. Los entrecruzamientos más frecuentes son los *puentes disulfuro*, formados por la oxidación de una pareja de residuos de cisteína (Figura 4.4). La unidad resultante, compuesta por dos cisteínas unidas, se denomina *cistina*. Los puentes disulfuro se pueden formar entre residuos de cisteína de la misma cadena polipeptídica o pueden conectar dos cadenas distintas. En raras ocasiones, se pueden encontrar en las proteínas entrecruzamientos distintos del puente disulfuro en los que participan otras cadenas laterales.

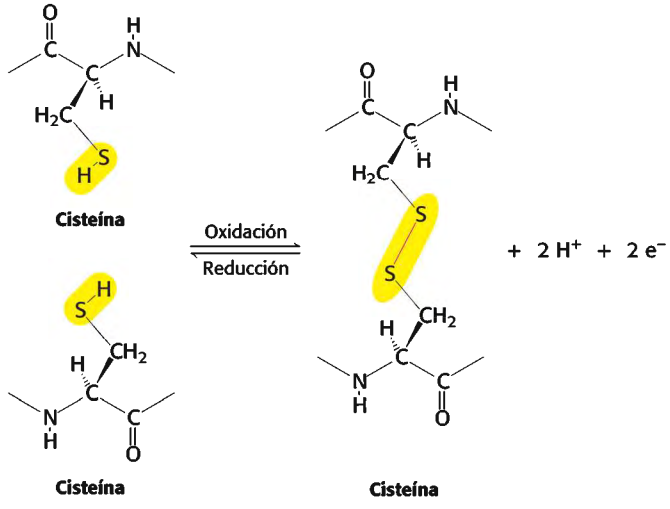


Figura 4.4 Entrecruzamientos. La formación de un puente disulfuro entre dos residuos de cisteína es una reacción de oxidación.

Cada proteína tiene una secuencia de aminoácidos única, especificada en los genes

En 1953, Frederick Sanger determinó la secuencia de aminoácidos de la insulina, una hormona de naturaleza proteica (Figura 4.5). *Este trabajo constituye uno de los grandes hitos de la bioquímica porque mostró por vez primera que una proteína posee una secuencia de aminoácidos perfectamente definida*, formada únicamente por aminoácidos L enlazados mediante enlaces peptídicos. La hazaña de Sanger estimuló a otros científicos a estudiar la secuencia de una amplia gama de proteínas. Hoy en día se conoce la secuencia de aminoácidos completa de millones de proteínas.

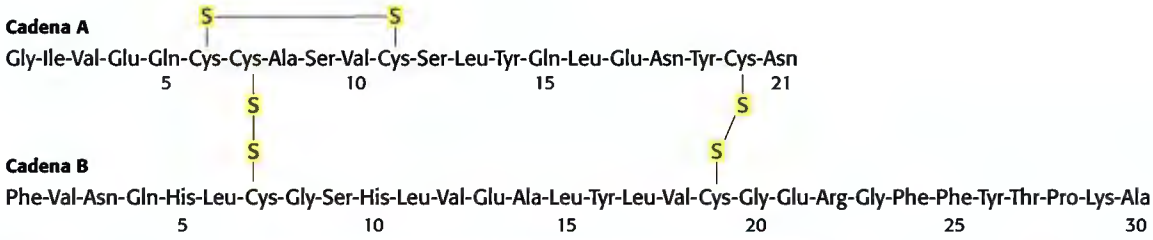


Figura 4.5 Secuencia de aminoácidos de la insulina bovina.

? PREGUNTA RÁPIDA (a) ¿Cuál es el extremo amino del tripéptido Gly-Ala-Asp? (b) ¿Cuál es la masa molecular aproximada de una proteína formada por 300 aminoácidos? (c) Aproximadamente, ¿cuántos aminoácidos hacen falta para formar una proteína que tenga una masa molecular de 110.000?

Conocer las secuencias de aminoácidos es importante por varias razones. En primer lugar, las secuencias de aminoácidos determinan las estructuras tridimensionales de las proteínas. En segundo lugar, conocer la secuencia de una proteína suele ser imprescindible a la hora de esclarecer su mecanismo de acción (p. ej., el mecanismo catalítico de una enzima). En tercer lugar, la determinación de la secuencia forma parte de la *patología molecular*, un área de la medicina que está creciendo rápidamente. Las alteraciones en la secuencia de aminoácidos pueden provocar un funcionamiento anómalo y dar lugar a enfermedades. Enfermedades graves y, en algunos casos, letales como, por ejemplo, la anemia falciforme (Capítulo 9) y la fibrosis quística, pueden ser el resultado de un cambio en un único aminoácido dentro de la proteína. En cuarto lugar, la secuencia de una proteína desvela muchos aspectos de su historial evolutivo. Las secuencias de aminoácidos de las proteínas solo se parecerán en el caso de que posean un ancestro común. En consecuencia, a partir de las secuencias de aminoácidos es posible rastrear eventos moleculares que tuvieron lugar durante la evolución; la paleontología molecular es un área floreciente de la investigación.

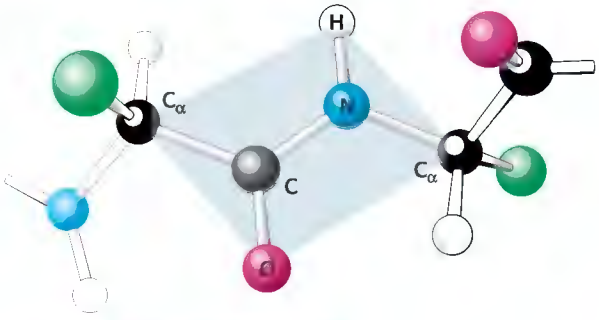
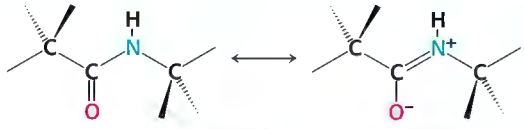


Figura 4.6 Los enlaces peptídicos son planos. En una pareja de aminoácidos unidos, seis átomos (C_α, C, O, N, H, C_α) se encuentran en un mismo plano. Las cadenas laterales se muestran como bolas verdes.

Aunque las cadenas polipeptídicas son flexibles, existen restricciones conformacionales

La estructura primaria determina la estructura tridimensional de una proteína y la estructura tridimensional determina la función de la proteína. ¿Qué reglas determinan la relación entre una secuencia de aminoácidos y la estructura tridimensional de una proteína? Esta pregunta es muy difícil de contestar, pero sabemos que ciertas características del propio enlace peptídico son importantes. En primer lugar, *el enlace peptídico es prácticamente plano* (**Figura 4.6**). Por tanto, en una pareja de aminoácidos unidos mediante un enlace peptídico hay seis átomos situados en el mismo plano: el átomo de carbono α y el grupo CO del primer aminoácido y el grupo NH y el átomo de carbono α del segundo aminoácido. En segundo lugar, el enlace peptídico posee un marcado *carácter de doble enlace* gracias a las estructuras resonantes: los electrones en estado de resonancia alternan entre un enlace sencillo puro y un doble enlace puro.



Estructuras resonantes en un enlace peptídico

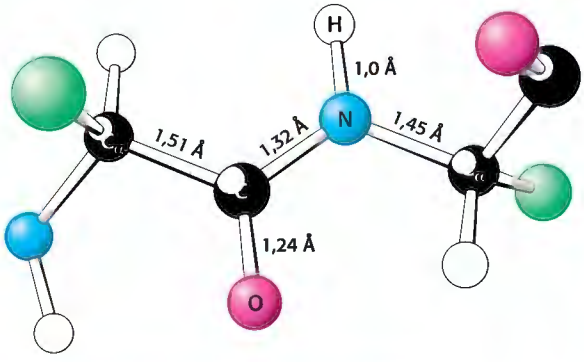
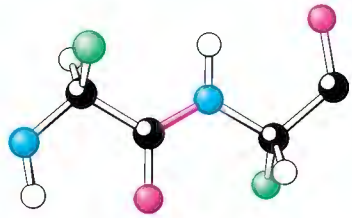


Figura 4.7 Longitudes de enlace típicas de una unidad peptídica. La unidad peptídica se muestra en configuración *trans*.

Este carácter parcial de doble enlace impide la rotación en torno a este enlace y, por tanto, impone restricciones a la conformación del esqueleto peptídico. El carácter de doble enlace también se refleja en la longitud del enlace entre los grupos CO y NH. Normalmente, en un enlace peptídico, la distancia C—N es de 1,32 Å (**Figura 4.7**), que es un valor intermedio entre los valores esperados para un enlace sencillo C—N (1,45 Å) y un doble enlace C=N (1,27 Å). Por último, *el enlace peptídico no está cargado*, lo que permite a los polímeros de aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos formar estructuras globulares con un elevado grado de empaquetamiento que, en caso contrario, se verían inhibidas por la repulsión electrostática.

Para un enlace peptídico plano existen dos configuraciones posibles. En la configuración *trans*, los dos átomos de carbono α se encuentran en los lados opuestos del enlace peptídico. En la configuración *cis*, estos grupos se encuentran del mismo lado

del enlace peptídico. *Casi todos los enlaces peptídicos de las proteínas son de tipo trans.* Esta preferencia por *trans* y no por *cis* se puede explicar por el hecho de que en la configuración *cis* hay impedimentos estéricos entre los grupos R y en la configuración *trans* no (**Figura 4.8**).



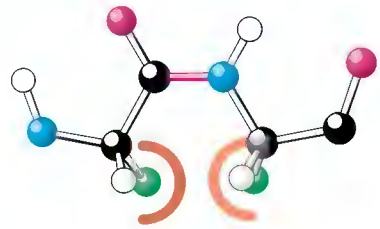


Figura 4.8 Enlaces peptídicos *cis* y *trans*. La forma *trans* está muy favorecida debido a los impedimentos estéricos que se producen en la forma *cis*.

A diferencia de lo que ocurre en el enlace peptídico, los enlaces entre el grupo amino y el átomo de carbono α y entre el átomo de carbono α y el grupo carbonilo son enlaces sencillos puros. Las dos unidades peptídicas rígidas adyacentes pueden rotar en torno a estos enlaces, adoptando diversas orientaciones. *Esta libertad de rotación en torno a dos de los enlaces de cada aminoácido permite a las proteínas plegarse de muchas maneras distintas.* Las rotaciones en torno a estos enlaces se pueden especificar mediante *ángulos de torsión* (**Figura 4.9**). El ángulo de rotación en torno al enlace entre el átomo de nitrógeno y el átomo de carbono α se denomina *phi* (ϕ). El ángulo de rotación en torno al enlace entre el átomo de carbono α y el átomo de carbono carbonilo se denomina *psi*(ψ). Si miramos hacia el átomo de carbono α, una rotación en el sentido de las agujas del reloj en torno a cualquiera de estos enlaces corresponde a un valor positivo. Los ángulos ϕ y ψ determinan la trayectoria de la cadena polipeptídica.

Normalmente, se estima que el ángulo de torsión, que es una medida de la rotación en torno a un enlace, adopta valores comprendidos entre −180° y +180°. A veces, los ángulos de torsión se denominan ángulos diedros.

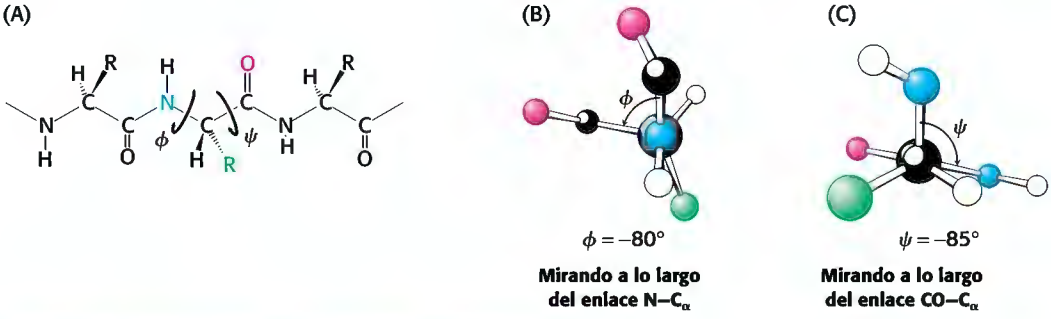


Figura 4.9 Rotación en torno a los enlaces de un polipéptido. En un polipéptido, la estructura de cada aminoácido se puede ajustar mediante rotación en torno a dos enlaces sencillos. (A) Phi (ϕ) es el ángulo de rotación en torno al enlace situado entre el átomo de nitrógeno y el átomo de carbono α, mientras que psi (ψ) es el ángulo de rotación en torno al enlace situado entre el átomo de carbono carbonilo y el átomos de carbono α. (B) Perspectiva obtenida al mirar a lo largo del enlace situado entre el nitrógeno y el átomo de carbono α. El ángulo ψ se mide por la rotación del carbono carbonilo unido al átomo de carbono α: si está a la derecha es positivo y si está a la izquierda es negativo. (C) El ángulo ψ se mide por la rotación del grupo amino al observarlo mirando a lo largo del enlace que conecta el carbono carbonilo con el átomo de carbono α; si está a la derecha es positivo y si está a la izquierda es negativo. Hay que señalar que la perspectiva mostrada es la inversa a como se mide la rotación y, por tanto, el ángulo tiene un valor negativo.

¿Son posibles todas las combinaciones de ϕ y ψ? Gopalasamudram Ramachandran se dio cuenta de que hay muchas combinaciones que no se encuentran en la naturaleza debido a impedimentos estéricos entre los átomos. Los valores de ϕ y ψ de las conformaciones posibles se pueden visualizar mediante una gráfica bidimensional denominada *diagrama de Ramachandran* (**Figura 4.10**). Tres cuartas partes de

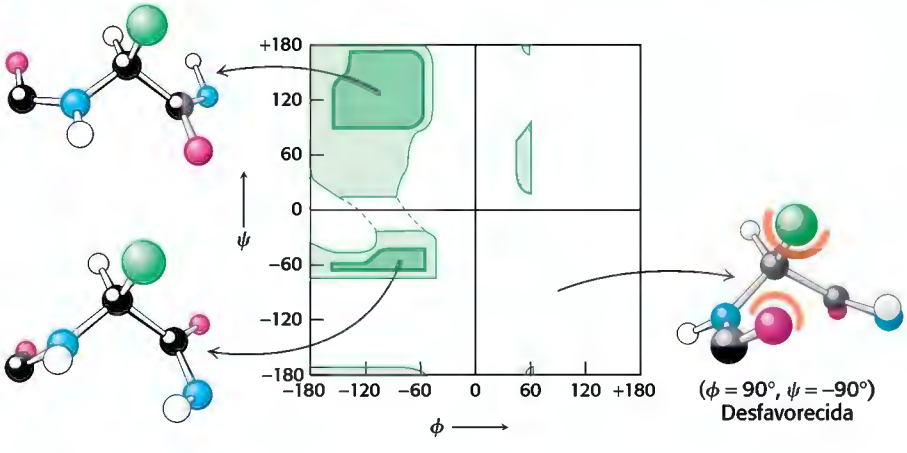


Figura 4.10 Diagrama de Ramachandran que muestra los valores de ϕ y ψ. No todos los valores de ϕ y de ψ son posibles sin que se produzcan colisiones entre los átomos. En el gráfico, las regiones más favorables se muestran de color verde oscuro; las regiones que se encuentran en el límite se muestran de color verde claro. La estructura de la derecha está desfavorecida por los impedimentos estéricos.

las posibles combinaciones (ϕ, ψ) están excluidas sencillamente por impedimentos estéricos locales. *La exclusión estérica, el hecho de que dos átomos no puedan ocupar el mismo sitio al mismo tiempo, restringe el número de posibles conformaciones peptídicas y es, por tanto, un potente principio organizador.*

4.2 Estructura secundaria: las cadenas polipeptídicas se pueden plegar para dar lugar a estructuras regulares

¿Puede una cadena polipeptídica plegarse para dar lugar a una estructura repetida regularmente? En 1951, Linus Pauling y Robert Corey propusieron que ciertas cadenas polipeptídicas tienen la capacidad de plegarse formando dos tipos de estructuras periódicas denominadas *hélice* α (hélice alfa) y *hoja plegada* β (hoja plegada beta). Posteriormente se identificaron otras estructuras, como, por ejemplo, los *giros* y los *bucles*. Las hélices alfa, las hojas plegadas β y los giros se forman gracias al establecimiento de un patrón regular de puentes de hidrógeno entre los grupos NH y CO del péptido que pertenecen a aminoácidos que, con frecuencia, se encuentran cerca el uno del otro en la secuencia lineal o estructura primaria. Estos segmentos plegados de forma regular se denominan *estructura secundaria*.

La hélice alfa es una estructura enrollada estabilizada por puentes de hidrógeno intracatenarios

La primera de las estructuras secundarias propuestas por Pauling y Corey fue la hélice α, una estructura en forma de cilindro con un esqueleto fuertemente enrollado. Las cadenas laterales de los aminoácidos que componen la estructura se orientan hacia fuera, adoptando una disposición helicoidal (Figura 4.11). La hélice α se estabiliza mediante puentes de hidrógeno entre los grupos NH y CO de la cadena principal. El grupo CO de cada aminoácido forma un puente de hidrógeno con el grupo NH del aminoácido que está situado cuatro residuos más allá en la secuencia (Figura 4.12). Por

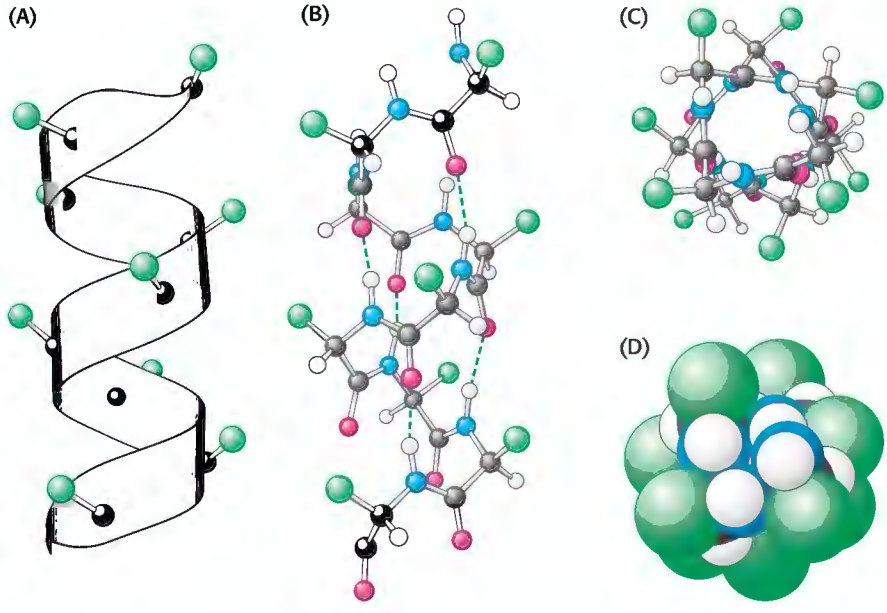


Figura 4.11 Estructura de la hélice α. (A) Representación de cintas que muestra los átomos de carbono α y las cadenas laterales (en verde). (B) Perspectiva lateral de una representación de esferas y varillas que muestra los puentes de hidrógeno (líneas punteadas) entre los grupos NH y CO. (C) Perspectiva tomada desde uno de los extremos que muestra el esqueleto enrollado en el interior de la hélice y las cadenas laterales (en verde) proyectándose hacia el exterior. (D) Modelo espacial compacto de la región mostrada en (C) que muestra que el interior de la hélice está empaquetado de forma muy compacta.

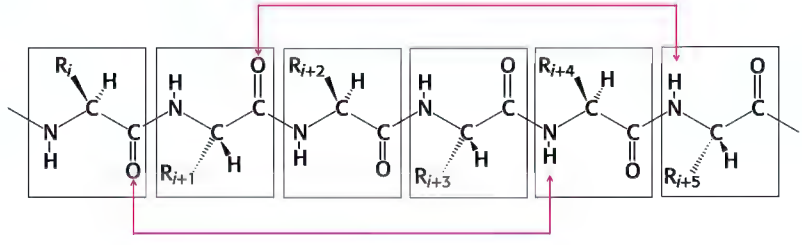


Figura 4.12 Esquema que muestra la disposición de los puentes de hidrógeno en una hélice α. En la hélice α, el grupo CO del residuo *i* forma un puente de hidrógeno con el grupo NH del residuo *i* + 4.

tanto, salvo en el caso de los aminoácidos que están cerca de los extremos de una hélice α, *todos los grupos CO y NH de la cadena principal están formando puentes de hidrógeno*. La posición relativa de cada residuo en relación con el siguiente viene definida por un *desplazamiento*, también denominado *traslación*, de 1,5Å a lo largo del eje de la hélice y por una rotación de 100 grados, lo que equivale a 3,6 residuos de aminoácido por cada vuelta de la hélice. Así, aminoácidos que en una hélice α se encuentran a una distancia de tres o cuatro posiciones en la secuencia, en el espacio se encuentran muy cerca el uno del otro. Por el contrario, aminoácidos separados por dos posiciones en la secuencia se sitúan en caras opuestas de la hélice y, por tanto, es poco probable que establezcan contacto. El *paso de rosca* de la hélice α es la longitud de una vuelta completa a lo largo del eje de la hélice y equivale al producto de la traslación (1,5 Å) por el número de residuos por vuelta (3,6), es decir, a 5,4 Å. El *sentido de giro* de una hélice puede ser dextrógiro (en el sentido de las agujas del reloj) o levógiro (en el sentido contrario a las agujas del reloj). Las hélices dextrógiras son más favorables desde el punto de vista energético porque presentan menos impedimentos estéricos entre las cadenas laterales y el esqueleto. *Prácticamente todas las hélices α que se encuentran en las proteínas son dextrógiras.* En las representaciones esquemáticas de las proteínas, las hélices α se dibujan como cintas retorcidas o como cilindros (**Figura 4.13**).

El sentido de giro hace referencia a la dirección en que rota la hélice α en relación a su eje. Si al mirar a lo largo del eje de una hélice en dirección N → C la cadena gira en el sentido de las agujas del reloj, el sentido de giro es dextrógiro. Si el giro es en sentido contrario al de las agujas del reloj, el sentido de giro es levógiro.

No todos los aminoácidos se pueden acomodar fácilmente en una hélice α. Las ramificaciones en el carbono β, como en el caso de la valina, treonina e isoleucina, tienden a desestabilizar las hélices α por impedimentos estéricos. Los aminoácidos serina, aspartato y asparagina también tienden a interrumpir las hélices α porque sus cadenas laterales presentan donadores o aceptores de puentes de hidrógeno que están muy cerca de la cadena principal, de modo que pueden competir con los grupos NH y CO de la cadena principal. La prolina también interrumpe las hélices porque carece de un grupo NH y porque su anillo le impide adoptar valores de ϕ que le permitan acomodarse en una hélice α.

El contenido de hélice α de las proteínas oscila en un rango muy amplio, desde cero hasta casi el 100%. Por ejemplo, en la ferritina, una proteína que almacena hierro, alrededor del 75% de los residuos se encuentran en hélices α (**Figura 4.14**). De hecho, alrededor del 25% de todas las proteínas solubles están formadas por hélices α conectadas mediante bucles y giros de la cadena polipeptídica. Por lo general, una única hélice α tiene menos de 45 Å de longitud. Muchas proteínas que atraviesan las membranas biológicas también contienen hélices α.

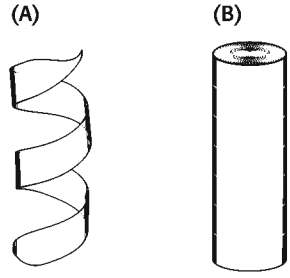


Figura 4.13 Representación esquemática de las hélices α. (A) Representación de cintas. (B) Representación cilíndrica.

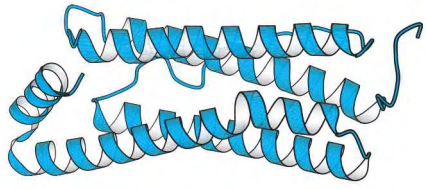


Figura 4.14 Una proteína formada casi exclusivamente por hélices α. La ferritina, una proteína que almacena hierro, está formada por un haz de hélices α. [Elaborada a partir de 1AEW.pdb.]

Las hojas beta se estabilizan mediante puentes de hidrógeno entre hebras polipeptídicas

Pauling y Corey bautizaron al otro motivo estructural periódico propuesto con el nombre de *hoja plegada* β (β porque se trataba de la segunda estructura que esclarecieron). La hoja plegada β (o, sencillamente, la hoja β), difiere notablemente de la hélice α cilíndrica tanto en apariencia como en la estructura de los enlaces.

En vez de ser una única hebra polipeptídica, la hoja β se compone de dos o más cadenas polipeptídicas denominadas *hebras* β. En lugar de estar fuertemente enrollada, como en el caso de la hélice α, una hebra β se encuentra casi totalmente extendida. A lo largo de una hebra β, la distancia entre aminoácidos adyacentes es de aproximadamente 3,5 Å, muy distinta de la distancia que hay a lo largo de una hélice α, que es de 1,5 Å (**Figura 4.15**).

Una hoja β se forma mediante la unión a través de puentes de hidrógeno de dos o más hebras β situadas cerca una de otra. En una hoja β, las cadenas adyacentes pueden

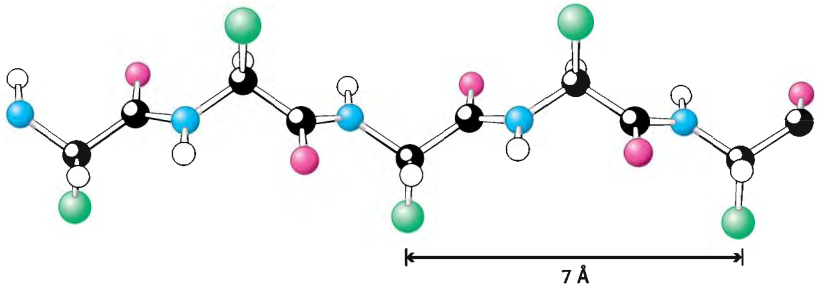


Figura 4.15 Estructura de una hebra β. Las cadenas laterales (en verde) se distribuyen alternativamente por encima y por debajo del plano de la hebra. La barra muestra la distancia entre dos residuos.

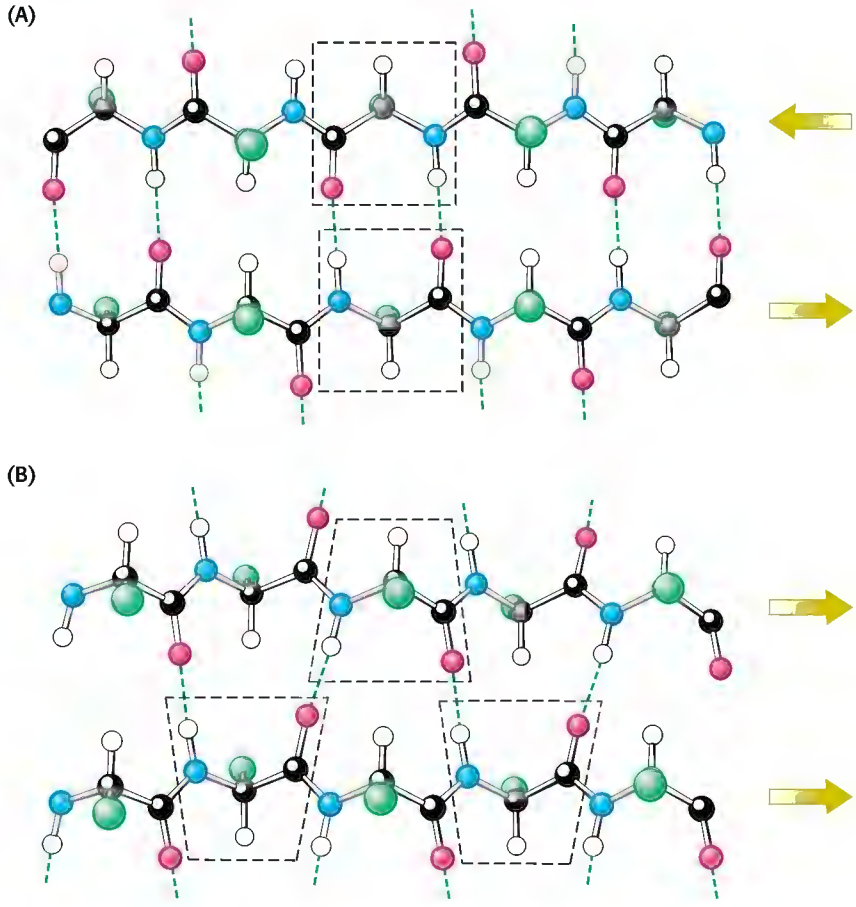


Figura 4.16 Hojas β antiparalela y paralela. (A) Las hebras β adyacentes están orientadas en sentidos opuestos. Los puentes de hidrógeno (líneas verdes punteadas) entre los grupos NH y CO conectan cada aminoácido con un único aminoácido de una hebra adyacente, estabilizando así la estructura. (B) Las hebras β adyacentes están orientadas en el mismo sentido. Los puentes de hidrógeno conectan cada aminoácido de una hebra con dos aminoácidos distintos de la hebra adyacente.

estar orientadas en sentidos opuestos (hoja β antiparalela) o en la misma dirección (hoja β paralela), tal y como se muestra en la **Figura 4.16**. En una hoja β pueden juntarse muchas hebras, normalmente 4 ó 5 pero pueden llegar a ser 10 o más. Estas hojas β pueden ser totalmente antiparalelas, totalmente paralelas o mixtas (**Figura 4.17**). A diferencia de las hélices α, las hojas β pueden estar formadas por secciones de un polipéptido que no se encuentran cerca una de otra. Es decir, en dos hebras β situadas una al lado de la otra, el último aminoácido de una hebra y el primer aminoácido de la hebra adyacente no tienen por qué ser vecinos en la secuencia de aminoácidos.

En las representaciones esquemáticas, las hebras β se dibujan normalmente como flechas anchas que apuntan en la dirección del extremo carboxilo terminal para indicar el tipo de hoja β que están formando –paralela o antiparalela. Las hojas β pueden

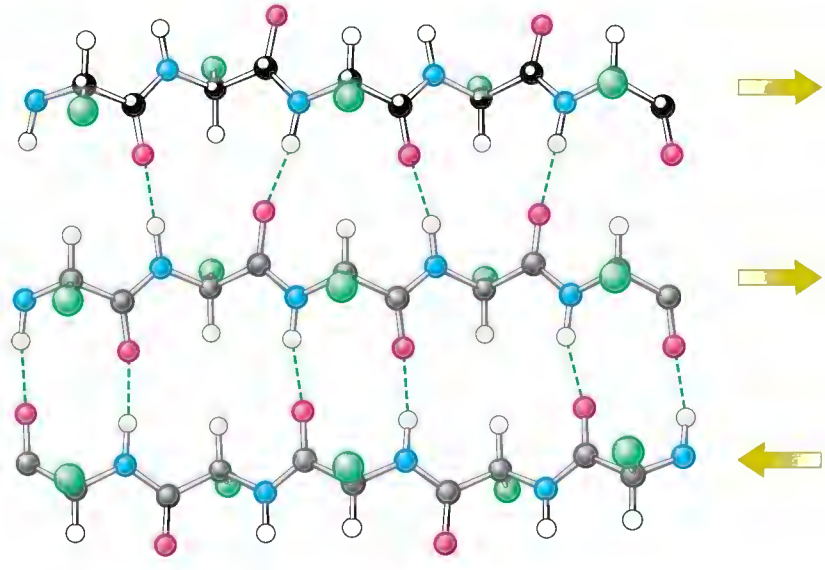


Figura 4.17 Estructura de una hoja β mixta.

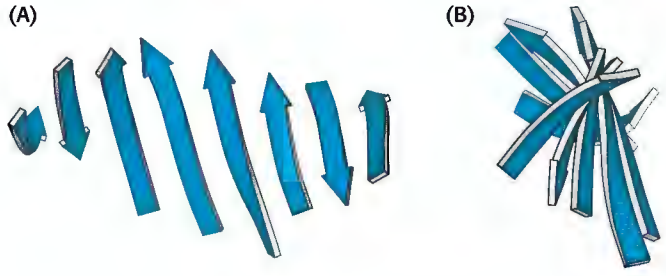


Figura 4.18 Una hoja β retorcida. (A) Un modelo esquemático. (B) La misma representación esquemática rotada 90° para mostrar la torsión con más claridad.

ser casi planas, pero la mayoría adoptan una forma algo retorcida (Figura 4.18). En muchas proteínas, la hoja β es un elemento estructural importante. Por ejemplo, las proteínas que se unen a ácidos grasos, que son importantes en el metabolismo de los lípidos, están formadas casi exclusivamente por hojas β (Figura 4.19).

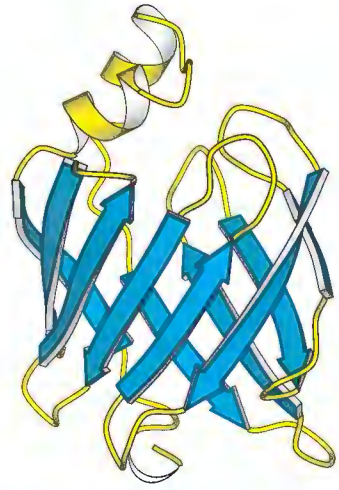


Figura 4.19 Una proteína rica en hojas β. Estructura de una proteína que se une a ácidos grasos. [Elaborada a partir de 1FTP.pdb.]

Las cadenas polipeptídicas pueden cambiar de dirección formando giros de 180° y bucles

La mayoría de las proteínas tienen forma globular compacta, lo que obliga a invertir la dirección de sus cadenas polipeptídicas. Muchos de estos cambios de dirección se consiguen mediante unos sencillos elementos estructurales denominados *giros de 180°* y *bucles* (Figura 4.20). Los giros y los bucles se localizan, invariablemente, sobre la superficie de las proteínas y, por tanto, intervienen a menudo en las interacciones con otras proteínas y con el entorno. Normalmente, los bucles expuestos a un disolvente acuoso están compuestos por aminoácidos con grupos R hidrofílicos.

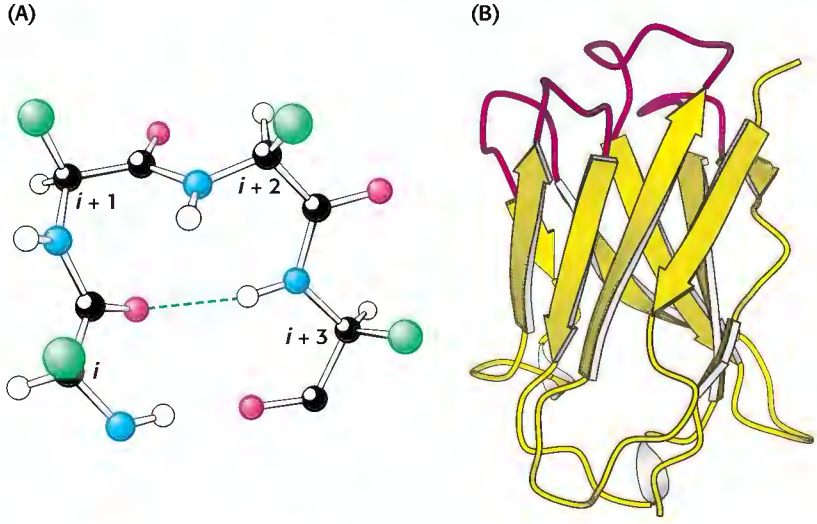


Figura 4.20 Estructura de un giro de 180°. (A) Para estabilizar el giro, el grupo CO del residuo *i* de la cadena polipeptídica forma un puente de hidrógeno con el grupo NH del residuo *i* + 3. (B) Región de una molécula de anticuerpo que posee bucles superficiales (mostrados en rojo). [Elaborada a partir de 7FTP.pdb.]

Las proteínas fibrosas proporcionan soporte estructural a células y tejidos

Las proteínas fibrosas forman largas fibras que desempeñan un papel estructural. Aunque algunas de estas proteínas poseen regiones con una estructura tridimensional compleja, en la mayoría de los casos, la estructura tridimensional de las proteínas fibrosas es relativamente sencilla, ya que consta de vastos tramos de estructura secundaria. Dos proteínas fibrosas muy abundantes, la α-queratina y el colágeno, presentan unos tipos de hélice especiales. La α-queratina, que es el componente principal de la lana y del pelo, consta de dos hélices α dextrógiras entrelazadas que forman una especie de superhélice levógira denominada *helicoide enrollado*. La α-queratina es miembro de una superfamilia de proteínas denominada *proteínas con helicoides enrollados* (Figura 4.21). En estas proteínas, se pueden entrelazar dos o más hélices α para formar una estructura muy estable que puede tener una longitud de 1.000 Å (100 nm) o más. Los seres humanos tienen unos 60 miembros de esta familia, entre los que se incluyen los filamentos intermedios (p. 11) y las proteínas musculares miosina y tropomiosina. Las dos hélices de la α-queratina están entrecruzadas mediante interacciones débiles, tales como las fuerzas de van der Waals y las interacciones iónicas.

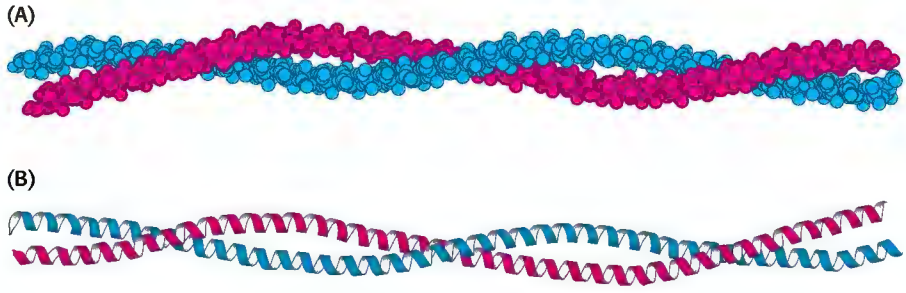


Figura 4.21 Un α-helicoide enrollado. (A) Modelo espacial compacto. (B) Diagrama de cintas. Las dos hélices se enrollan sobre sí mismas para formar una superhélice. Este tipo de estructura está presente en muchas proteínas, entra las que se incluyen la queratina del pelo, plumas, garras y cuernos. [Elaborada a partir de 1CIG.pdb.]

Además, las dos hélices pueden estar unidas mediante puentes disulfuro formados entre residuos de cisteína adyacentes.

El colágeno, que es la proteína más abundante en mamíferos, presenta un tipo de hélice distinto. El colágeno es el principal componente fibroso de la piel, huesos, tendones, cartílagos y dientes. Contiene tres cadenas polipeptídicas helicoidales, cada una con una longitud de casi 1.000 residuos. En la secuencia de aminoácidos, la glicina aparece cada tres posiciones y la secuencia glicina-prolina-prolina aparece de forma recurrente (**Figura 4.22**).

```
13
-Gly-Pro-Met-Gly-Pro-Ser-Gly-Pro-Arg-
22
-Gly-Leu-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Hyp-
31
-Gly-Pro-Gln-Gly-Phe-Gln-Gly-Pro-Hyp-
40
-Gly-Glu-Hyp-Gly-Glu-Hyp-Gly-Ala-Ser-
49
-Gly-Pro-Met-Gly-Pro-Arg-Gly-Pro-Hyp-
58
-Gly-Pro-Hyp-Gly-Lys-Asn-Gly-Asp-Asp-
```

Figura 4.22 Secuencia de aminoácidos de parte de una cadena de colágeno. Cada tres posiciones hay una glicina. La prolina y la hidroxiprolina también son muy abundantes.

En este tipo de hélice no se forman puentes de hidrógeno en el seno de cada cadena peptídica. En vez de ello, *las hélices se estabilizan mediante repulsiones estéricas entre los anillos de pirrolidina de los residuos de prolina* (**Figura 4.23**).

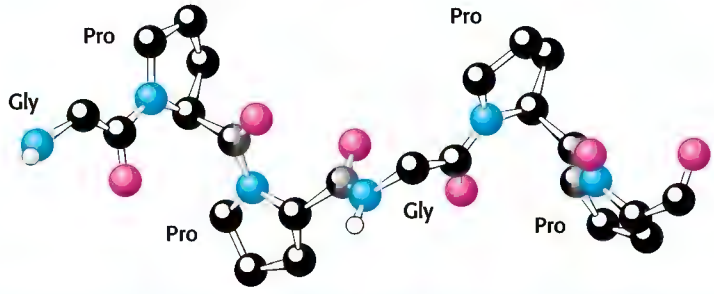


Figura 4.23 Conformación de una de las hebras que forman parte de una triple hélice de colágeno.

Los anillos de pirrolidina se apartan uno de otro cuando la cadena polipeptídica adopta su forma helicoidal, que contiene alrededor de tres residuos por vuelta. Tres hebras se enrollan entre sí para formar un *cable superhelicoidal* que se estabiliza mediante puentes de hidrógeno entre las hebras. Los puentes de hidrógeno se forman entre los grupos NH del enlace peptídico de los residuos de glicina y los grupos CO de residuos de las otras cadenas. El interior del cable helicoidal formado por tres hebras del cable tiene un alto grado de ocupación y eso explica por qué en cada hebra tiene que haber una glicina cada tres posiciones: *el único residuo que puede encajar en una ubicación interior es la glicina* (**Figura 4.24A**). Los residuos de aminoácido que están a cada lado de la glicina se localizan en el exterior del cable, donde encuentran sitio para los voluminosos anillos de los residuos de prolina (Figura 4.24B).

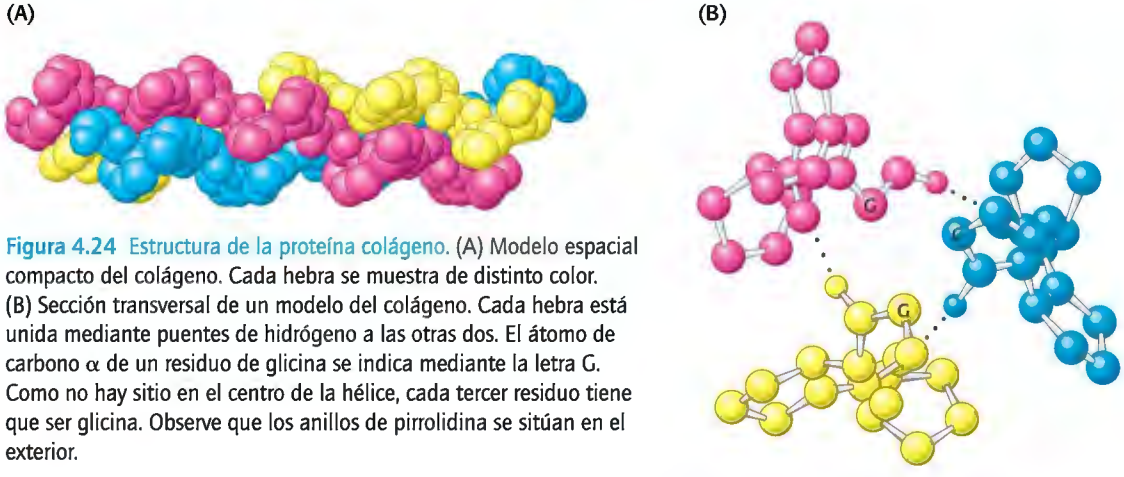


Figura 4.24 Estructura de la proteína colágeno. (A) Modelo espacial compacto del colágeno. Cada hebra se muestra de distinto color. (B) Sección transversal de un modelo del colágeno. Cada hebra está unida mediante puentes de hidrógeno a las otras dos. El átomo de carbono α de un residuo de glicina se indica mediante la letra G. Como no hay sitio en el centro de la hélice, cada tercer residuo tiene que ser glicina. Observe que los anillos de pirrolidina se sitúan en el exterior.

Aspecto clínico

Defectos en la estructura del colágeno dan lugar a estados patológicos

La importancia de la posición de la glicina en el interior de la triple hélice se ve reflejada en el caso de la enfermedad *osteogénesis imperfecta*, también conocida como la enfermedad de los huesos de cristal. En esta enfermedad, cuyos efectos pueden ser desde leves hasta muy graves, otros aminoácidos sustituyen al residuo interno de glicina. Esta sustitución da lugar a retrasos y defectos en el plegamiento del colágeno, y la acumulación de colágeno defectuoso provoca la muerte celular. El síntoma más grave es una fragilidad ósea extrema. En los ojos, el colágeno defectuoso hace que la parte blanca de los ojos presente una tonalidad azul (esclerótica azul).

Como ya hemos visto, los residuos de prolina son importantes a la hora de generar la estructura de helicoide enrollado del colágeno. La hidroxiprolina es una versión modificada de la prolina en la que un grupo hidroxilo sustituye a un átomo de hidrógeno en el anillo de pirrolidina. Es un componente habitual del colágeno, que en la secuencia glicina-prolina-prolina aparece en la posición de la segunda prolina. La hidroxiprolina es esencial para estabilizar el colágeno y su formación es un ejemplo que pone de manifiesto nuestra dependencia de la vitamina C.

La vitamina C es necesaria para la formación de fibras de colágeno estables porque interviene en la formación de hidroxiprolina a partir de prolina. Un colágeno poco estable provoca el escorbuto. Los síntomas del escorbuto incluyen lesiones cutáneas y fragilidad de los vasos sanguíneos. Los más llamativos son las encías sangrantes, la pérdida de dentadura y las infecciones periodontales. Las encías son especialmente sensibles a la carencia de vitamina C porque el colágeno de las encías se recambia con rapidez. La vitamina C es necesaria para la actividad continuada de la *prolilhidroxilasa*, que sintetiza hidroxiprolina. Esta reacción necesita un ion Fe^{+2} para activar el O_2. Este ion de hierro, cuando está formando parte de la prolilhidroxilasa, tiene tendencia a oxidarse, lo que inactiva a la enzima. ¿Cómo se recupera la actividad de la enzima? El *ascorbato* (vitamina C) viene al rescate reduciendo el Fe^{+3} de la enzima inactivada. Así, en este caso, el ascorbato actúa a modo de *antioxidante* específico. ■

Vitamina C
Los seres humanos se encuentran entre los pocos mamíferos que son incapaces de sintetizar la vitamina C. Los productos cítricos son la fuente más habitual de esta vitamina. La vitamina C funciona como un antioxidante general para reducir la presencia de especies reactivas del oxígeno por todo el organismo. Además, actúa como un antioxidante específico manteniendo en estado reducido los metales que necesitan determinadas enzimas, como, por ejemplo, la enzima que sintetiza la hidroxiprolina. [Fotografía de Don Farrell/Digital Vision/Getty Images.]



4.3 Estructura terciaria: las proteínas hidrosolubles se pliegan formando estructuras compactas

Como ya hemos estudiado, la estructura primaria es la secuencia de aminoácidos y la estructura secundaria es la mera repetición de estructuras formadas gracias a los puentes de hidrógeno que se establecen entre los átomos de hidrógeno y oxígeno del esqueleto peptídico. Otro nivel estructural, la *estructura terciaria*, hace referencia a la disposición espacial de los residuos de aminoácido que se encuentran muy alejados en la secuencia y al patrón de puentes disulfuro. Este nivel de estructura es el resultado de las interacciones entre los grupos R de la cadena peptídica. Para explorar los principios de la estructura terciaria estudiaremos la *mioglobina*, la primera proteína que se llegó a observar a nivel atómico.

La mioglobina ilustra los principios de la estructura terciaria

La mioglobina es un ejemplo de proteína globular (**Figura 4.25**). A diferencia de las proteínas fibrosas, como, por ejemplo, la queratina, las proteínas globulares presentan una estructura tridimensional compacta y son solubles en agua. En la célula, las proteínas globulares, con su estructura tridimensional más compleja, llevan a cabo la mayor parte de las transacciones químicas.

La mioglobina, una única cadena polipeptídica de 153 aminoácidos, es una proteína que se une al oxígeno y que se encuentra principalmente en el músculo cardiaco y en el músculo esquelético; parece facilitar la difusión de oxígeno desde la sangre hasta las mitocondrias, el principal lugar donde se utiliza el oxígeno en la célula. La capacidad de la mioglobina para unirse al oxígeno depende de la presencia del gupo hemo, un grupo prostético (es decir, que ayuda) que contiene un átomo de hierro. *La mioglobina es una molécula extremadamente compacta.* Sus dimensiones globales son $45 \times 35 \times 25$ Å, un orden de magnitud menor de lo que ocuparía en el caso de estar totalmente estirada. Aproximadamente, el 70% de la cadena principal se encuentra

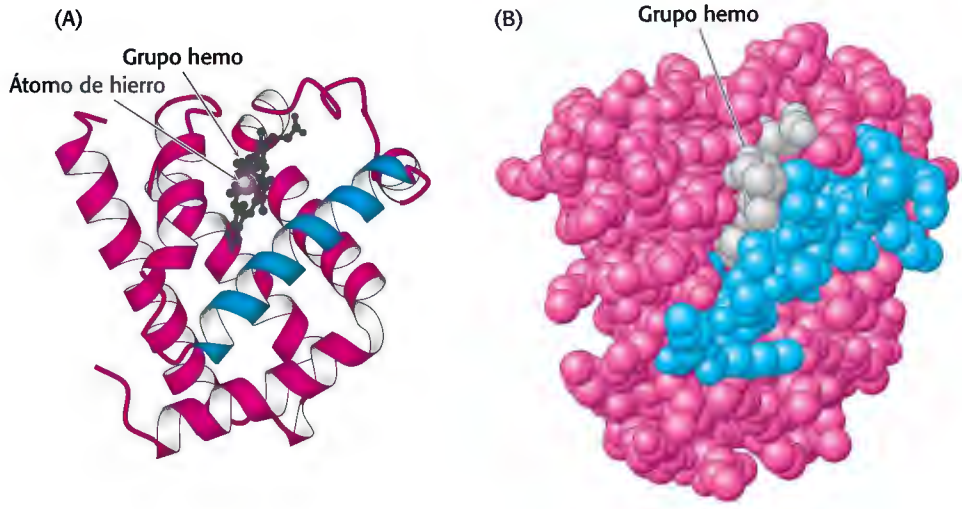


Figura 4.25 Estructura tridimensional de la mioglobina. (A) El diagrama de cintas muestra que la proteína está formada mayoritariamente por hélices α. (B) Un modelo espacial compacto con la misma orientación muestra lo densamente empaquetada que está la proteína plegada. *Observe* que el grupo hemo está alojado en una hendidura de la proteína compacta de modo que solo uno de sus bordes queda expuesto. Una de las hélices se representa de color azul para poder comparar las dos representaciones estructurales. [Elaborada a partir de 1A6N.pdb.]

plegada en forma de ocho hélices α y gran parte del resto de la cadena se encuentra formando giros y bucles entre las hélices.

La mioglobina, como la mayoría de las proteínas, es asimétrica debido al plegamiento complejo de su cadena principal. Hay un principio unificador que emerge a partir de la distribución de las cadenas laterales. Lo más sorprendente es que *el interior está formado casi exclusivamente por residuos no polares* (**Figura 4.26**). Los únicos residuos polares del interior son dos residuos de histidina, que desempeñan un papel crucial en la unión del hierro del grupo hemo al oxígeno. Por otra parte, el exterior de la mioglobina está formado tanto por residuos no polares como por residuos polares, que pueden interaccionar con el agua y, de este modo, hacer que la molécula sea soluble en agua. El modelo espacial compacto muestra que hay muy poco espacio libre en el interior.

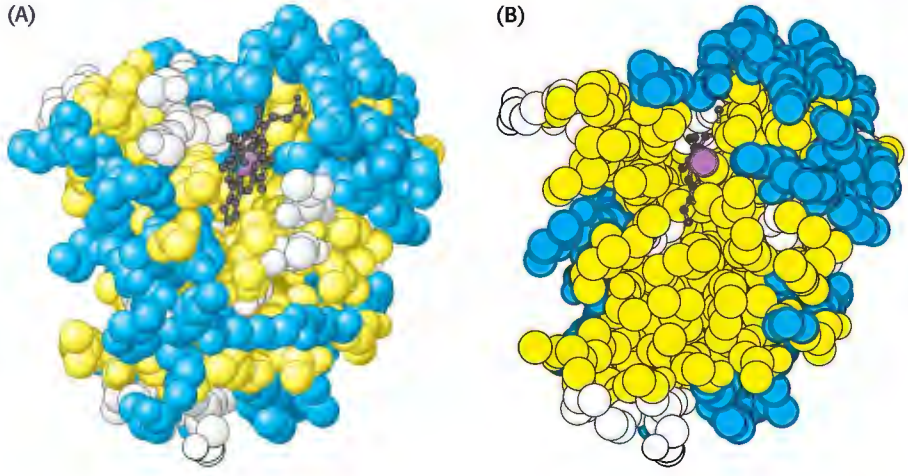


Figura 4.26 Distribución de aminoácidos en la mioglobina. (A) Modelo espacial compacto de la mioglobina en el que los aminoácidos hidrofóbicos se muestran de color amarillo, los aminoácidos cargados de color azul y los demás de color blanco. *Observe* que la superficie de la molécula presenta muchos aminoácidos cargados, así como algunos aminoácidos hidrofóbicos. (B) En esta representación de una sección transversal, *observe* que en el interior de la estructura se encuentran, sobre todo, los aminoácidos hidrofóbicos mientras que los aminoácidos cargados se encuentran sobre la superficie de la proteína. [Elaborada a partir de 1MBD.pdb.]

El contraste entre la distribución de residuos polares y no polares pone de manifiesto un aspecto crítico de la arquitectura de las proteínas. En un medio acuoso, como, por ejemplo, el interior de una célula, el plegamiento de las proteínas está dirigido por el efecto hidrofóbico —la fuerte tendencia de los residuos hidrofóbicos a evitar todo contacto con el agua. *Por tanto, la cadena polipeptídica se pliega de modo que sus cadenas laterales hidrofóbicas se recluyen en el interior y sus cadenas polares, cargadas, se disponen sobre la superficie.* Análogamente, un grupo peptídico NH o CO sin emparejar prefiere claramente el agua a un entorno no polar. La única forma de introducir un segmento de la cadena principal en un entorno hidrofóbico consiste en emparejar todos los grupos NH y CO mediante puentes de hidrógeno. Este emparejamiento se consigue de forma impecable en el caso de una hélice α o de una hoja β. Las interacciones de van der Waals entre cadenas laterales hidrocarbonadas densamente empaquetadas también contribuyen a la estabilidad de las proteínas. Ahora podemos comprender por qué el conjunto de 20 aminoácidos incluye algunos que difieren sutilmente en tamaño y forma. Proporcionan una paleta de formas que hace que puedan encajar perfectamente entre sí para rellenar por completo el interior de una proteína y, de este modo, maximizar las interacciones de van der Waals, que necesitan de un íntimo contacto.

Algunas proteínas que atraviesan las membranas biológicas son "la excepción que confirma la regla" porque presentan una distribución inversa de los aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos. Consideremos, por ejemplo, las porinas, unas proteínas que se encuentran en las membranas externas de multitud de bacterias. Las membranas están formadas mayoritariamente por las cadenas hidrocarbonadas hidrofóbicas de los lípidos (Capítulo 12). Por tanto, la parte externa de las porinas está recubierta, principalmente, de residuos hidrofóbicos que interaccionan con el entorno hidrofóbico. Por el contrario, el centro de la proteína contiene muchos aminoácidos cargados y polares que rodean un canal repleto de agua que transcurre por el centro de la proteína, atravesándola de lado a lado. Por consiguiente, como las porinas funcionan en entornos hidrofóbicos, están "del revés" en comparación con las proteínas que funcionan en una disolución acuosa.

La estructura terciaria de muchas proteínas se puede dividir en unidades funcionales y estructurales

En muchas proteínas se pueden encontrar ciertas combinaciones de estructura secundaria que, a menudo, desempeñan funciones similares. Estas combinaciones s e denominan *motivos* o *estructuras supersecundarias*. Por ejemplo, en muchas proteínas que se unen al DNA, podemos encontrar una hélice α separada de otra hélice α por medio de un giro, lo que se denomina una unidad *hélice-giro-hélice* (Figura 4.27).

Algunas cadenas polipeptídicas se pliegan formando dos o más regiones compactas que pueden estar conectadas por medio de un segmento flexible de la cadena polipeptídica, como si fuesen las perlas de un collar. Estas unidades globulares compactas, denominadas *dominios*, tienen un tamaño que oscila entre 30 y 400 residuos de aminoácido. Por ejemplo, la región extracelular de CD4, una proteína de la superficie celular que está presente en determinadas células del sistema inmunitario, consta de cuatro dominios similares, cada uno con aproximadamente 100 aminoácidos (Figura 4.28). Proteínas distintas pueden tener dominios comunes incluso aunque sus estructuras terciarias globales sean diferentes.

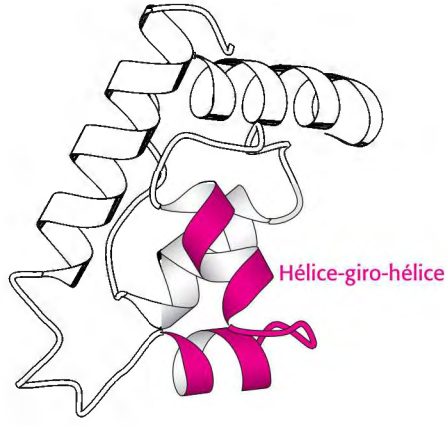


Figura 4.27 Motivo hélice-giro-hélice, un elemento de la estructura supersecundaria. Los motivos hélice-giro-hélice se encuentran en muchas de las proteínas que se unen al DNA. [Elaborada a partir de 1LMB.pdb.]

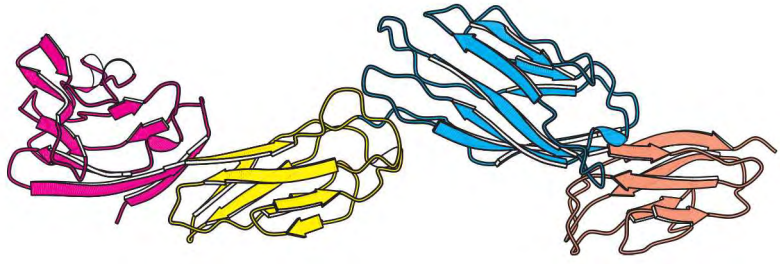


Figura 4.28 Dominios proteicos. La proteína de la superficie celular CD4 está formada por cuatro dominios similares. [Elaborada a partir de 1WIO.pdb.]

4.4 Estructura cuaternaria: múltiples cadenas polipeptídicas se pueden ensamblar para formar una única proteína

En su estado funcional, muchas proteínas están formadas por más de una cadena polipeptídica. En este tipo de proteínas, cada cadena polipeptídica se denomina *subunidad*. La *estructura cuaternaria* hace referencia a la disposición de las subunidades y a la naturaleza de sus interacciones. En general, las interacciones entre las subunidades de proteínas que presentan estructura cuaternaria son las interacciones débiles estudiadas en el Capítulo 2: puentes de hidrógeno, enlaces iónicos e interacciones de van der Waals.

El tipo de estructura cuaternaria más sencillo consiste en un *dímero* formado por dos subunidades idénticas. Esta organización está presente en Cro, una proteína que se une al DNA y que se puede encontrar en un virus bacteriano llamado λ (Figura 4.29). La estructura cuaternaria puede ser tan simple como dos subunidades idénticas o tan compleja como docenas de cadenas polipeptídicas distintas. Puede haber más de un tipo de subunidad y, a menudo, en distinto número. Por ejemplo, la hemoglobina humana, la proteína que transporta el oxígeno en la sangre, consta de dos subunidades de un

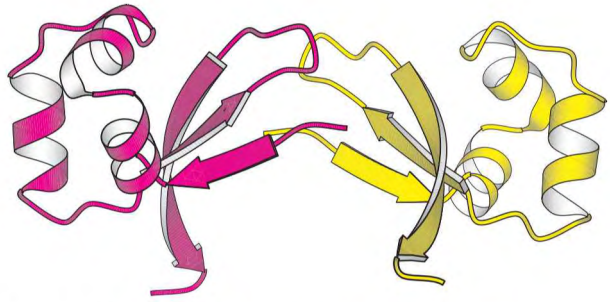


Figura 4.29 Estructura cuaternaria. La proteína Cro del bacteriófago λ es un dímero de subunidades idénticas. [Elaborada a partir de 5CRO.pdb].

tipo (denominado α) y dos subunidades de otro tipo (denominado β), tal y como se observa en la Figura 4.30. Por tanto, la molécula de hemoglobina es un *tetrámero* $\alpha_2\beta_2$. Hay que señalar que las subunidades de la hemoglobina se denominan α y β por razones históricas y que la designación α o β no tiene nada que ver con la hélice α o la hebra β.

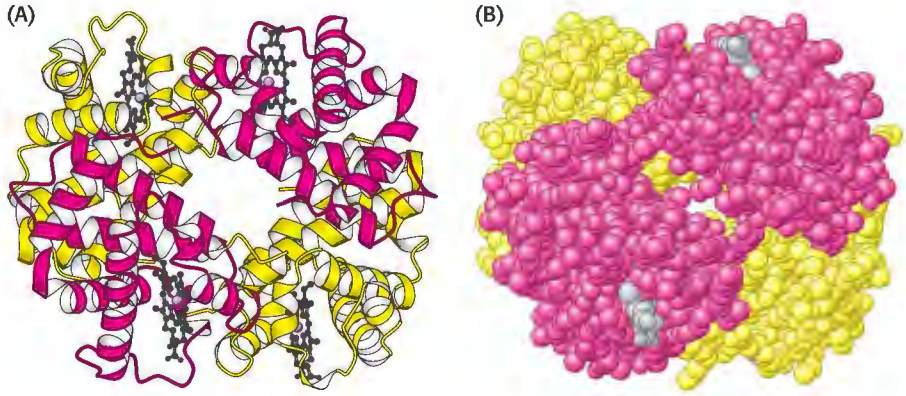


Figura 4.30 Tetrámero $\alpha_2\beta_2$ de la hemoglobina humana. Estructura de las dos subunidades α idénticas (en rojo) y de las dos subunidades β idénticas (en amarillo). (A) Diagrama de cintas que muestra que están formadas principalmente por α-hélices. (B) Modelo espacial compacto que muestra el denso empaquetamiento de los átomos y la situación de los grupos hemo (en gris), que ocupan las hendiduras de la proteína. [Elaborada a partir de 1A3N.pdb.]

✓ 3 Describir la información bioquímica que determina la estructura tridimensional final de las proteínas y explicar qué es lo que impulsa la formación de esta estructura.

4.5 La secuencia de aminoácidos de una proteína determina su estructura tridimensional

¿Cómo se consigue la elaborada estructura tridimensional de las proteínas? En la década de 1950, los trabajos clásicos de Christian Anfinsen sobre la enzima ribonucleasa pusieron de manifiesto la relación que existe entre la secuencia de aminoácidos de una proteína y su conformación. La ribonucleasa es una única cadena polipeptídica que consta de 124 residuos de aminoácido entrecruzados mediante puentes disulfuro (Figura 4.31). La estrategia de Anfinsen consistía en destruir la estructura tridimensional de la enzima para después determinar las condiciones necesarias para el restablecimiento de la estructura terciaria. Se añadieron a una disolución de ribonucleasa agentes caotrópicos, como la *urea*, que destruye todos los enlaces no covalentes de una proteína. Posteriormente, se rompieron de manera reversible los puentes disulfuro con un compuesto como el β-*mercaptoetanol*, que reacciona con grupos sulfhidrilo (Figura 4.32). En presencia de un gran exceso de β-mercaptoetanol, la totalidad de los disulfuros (las cistinas) se convierten en sulfhidrilos (cisteínas).

Cuando se trató la ribonuclesa con β-mercaptoetanol en urea 8 M, el resultado fue una cadena polipeptídica plegada de forma aleatoria y *desprovista de actividad enzimática*. Cuando una proteína se convierte en un péptido enrollado de forma aleatoria sin su actividad normal se dice que se ha *desnaturalizado* (Figura 4.33).

A continuación, Anfinsen observó algo de enorme importancia: la ribonucleasa desnaturalizada, liberada mediante diálisis de la urea y del β-mercaptoetanol, recuperaba poco a poco su actividad enzimática. Se percató inmediatamente de la importancia de este descubrimiento fortuito: la enzima se replegó de forma espontánea adoptando una forma catalíticamente activa en la que todos los puentes disulfuro se habían vuelto a formar correctamente. Todas las propiedades físicas y químicas que

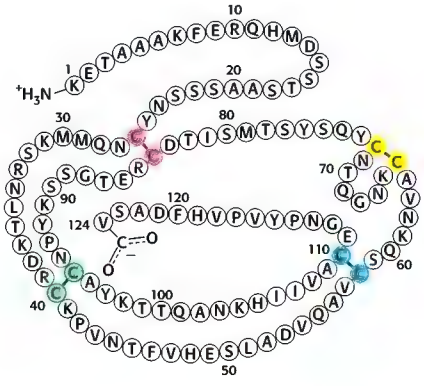


Figura 4.31 Secuencia de aminoácidos de la ribonucleasa bovina. Los cuatro puentes disulfuro están coloreados. [Tomado de C. H. W. Hirs, S. Moore y W. H. Stein, *J. Biol. Chem.* 235(1960): 633-647.]

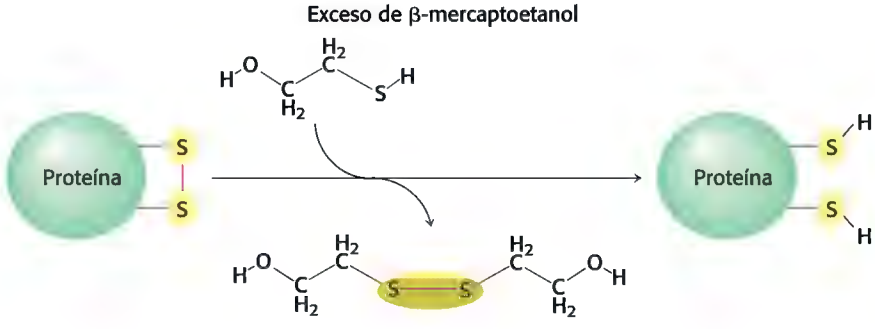


Figura 4.32 Papel del β-mercaptoetanol en la reducción de puentes disulfuro. *Observe* que, a medida que se reducen los puentes disulfuro, el β-mercaptoetanol se oxida y forma dímeros.

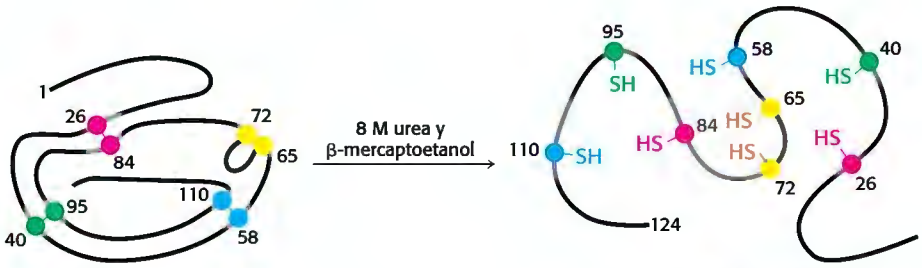
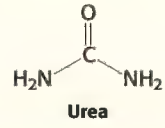


Figura 4.33 Reducción y desnaturalización de la ribonucleasa.

se midieron en la enzima replegada eran prácticamente idénticas a las de la enzima nativa. Estos experimentos demostraron que *la información necesaria para especificar la estructura tridimensional catalíticamente activa de la ribonucleasa reside en su secuencia de aminoácidos*. Estudios posteriores han establecido la validez general de este principio central de la bioquímica: *la secuencia determina la conformación*. Que la conformación dependa de la secuencia es especialmente importante, ya que la conformación determina la función.

Se han realizado experimentos de replegamiento similares en muchas otras proteínas. En muchos casos, es posible generar la estructura nativa en las condiciones adecuadas. Sin embargo, en otras proteínas, el replegamiento no se produce de forma eficiente. En estos casos, es frecuente que las moléculas de proteína desplegadas se enreden entre sí formando agregados. En el interior de las células, unas proteínas denominadas *chaperonas* impiden este tipo de interacciones inapropiadas.



Urea

Las proteínas se pliegan mediante la estabilización progresiva de intermediarios en vez de mediante búsquedas aleatorias

¿Cómo lleva a cabo una proteína la transición entre una estructura desplegada y la conformación única que corresponde a su forma nativa? Una posibilidad es que se intenten todas las conformaciones posibles para determinar cuál es la más favorable desde el punto de vista energético. ¿Cuánto tiempo llevaría este tipo de búsqueda aleatoria? Cyrus Levinthal calculó que, si en una proteína con 100 residuos cada residuo puede asumir tres conformaciones distintas, el número total de estructuras sería de 3^{100}, lo que equivale a 5×10^{47}. Si la conversión de una estructura en otra se hiciese en 10^{-13} segundos (s), el tiempo total de búsqueda sería de $5 \times 10^{47} \times 10^{-13}$ s, lo que equivale a 5×10^{-34} s ó $1{,}6 \times 10^{27}$ años. Obviamente, incluso a una proteína pequeña le llevaría demasiado tiempo plegarse de forma correcta probando al azar todas las conformaciones posibles. Además, los experimentos de Anfinsen demostraron que las proteínas se pliegan en una escala de tiempo mucho más reducida. La enorme diferencia entre el tiempo calculado y el tiempo real de plegamiento se denomina la *paradoja de Levinthal*. La paradoja de Levinthal y los resultados de Anfinsen sugieren que las proteínas no se pliegan probando todas y cada una de las posibles conformaciones; en vez de ello, deben seguir una ruta de plegamiento que, por lo menos, ya esté parcialmente definida y que esté formada por intermediarios entre la proteína totalmente desnaturalizada y su estructura nativa.

La forma de librarse de esta paradoja consiste en reconocer el poder de la *selección acumulativa*. Richard Dawkins, en su libro *El relojero ciego*, se preguntó cuánto tiempo le llevaría a un mono que esté aporreando una máquina de escribir al azar reproducir el comentario de Hamlet a Polonio, "Methinks it is like a weasel" (Creo que se parece más bien a una comadreja) (**Figura 4.34**). Haría falta un número astronómicamente grande de pulsaciones, alrededor de 10^{40}. Sin embargo, supongamos que conservamos los caracteres correctos y dejamos que el mono vuelva a teclear únicamente los incorrectos. En este caso, solo harían falta, por término medio, unos pocos miles de pulsaciones. La diferencia crucial entre ambos casos es que en el primero se lleva a cabo una búsqueda completamente aleatoria mientras que en el segundo, se retienen intermediarios parcialmente correctos.

La esencia del plegamiento de las proteínas es la tendencia a retener los intermediarios parcialmente correctos porque son ligeramente más estables que las regiones desplegadas. Sin embargo, el problema del plegamiento de las proteínas es mucho más complicado que el presentado a nuestro Shakespeare simiesco. En primer lugar, el criterio de corrección no es un escrutinio residuo a residuo de la conformación efectuado por un

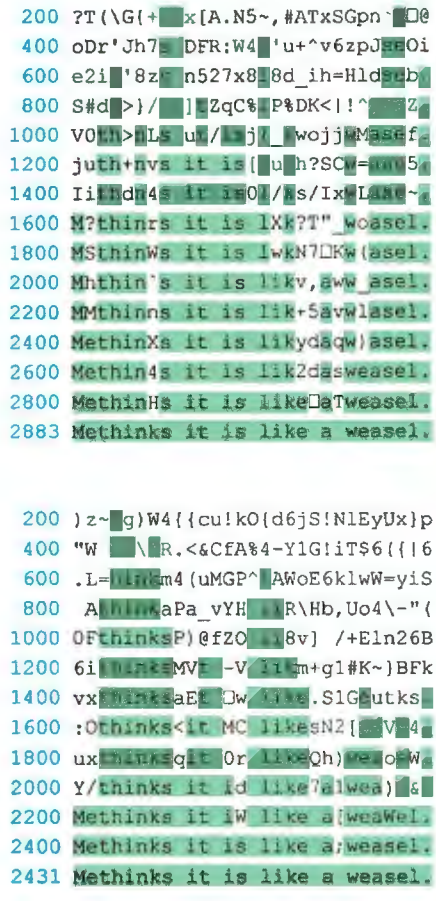


Figura 4.34 Analogía del mono que escribe a máquina. Un mono aporreando una máquina de escribir al azar podría escribir una línea del *Hamlet* de Shakeaspeare, siempre y cuando se conserven las pulsaciones correctas. En las dos simulaciones realizadas por ordenador que aparecen en la figura, a la izquierda de cada línea se indica el número de pulsaciones acumuladas.

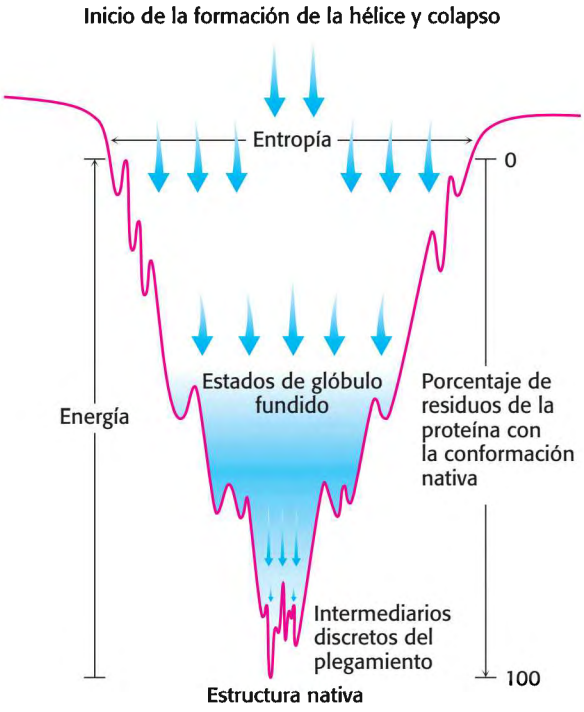


Figura 4.35 Embudo de plegamiento. El embudo de plegamiento representa la termodinámica del plegamiento de las proteínas. La parte superior del embudo representa todas las conformaciones desnaturalizadas posibles —es decir, la máxima entropía conformacional. Las depresiones a ambos lados del embudo representan intermediarios semiestables que pueden facilitar o dificultar la formación de la estructura nativa, según su profundidad. Las estructuras secundarias, como las hélices, se forman y se agolpan entre sí para iniciar el plegamiento. [Tomado de D. L. Nelson y M. M. Cox, Lehninger *Principles of Biochemistry*, 5.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2008), p. 143.]

observador omniscente sino le energía libre total del intermediario del plegamiento. En segundo lugar, incluso las proteínas correctamente plegadas son solo ligeramente más estables. En una proteína típica con 100 residuos, la diferencia de energía libre entre el estado plegado y los estados desplegados es de 42 kJ mol^{-1} (10 kcal mol^{-1}); por tanto, cada residuo contribuye, por término medio, con solo 0,42 kJ mol^{-1} (0,1 kcal mol^{-1}) de energía al mantenimiento del estado plegado. Esta cantidad es menor que la cantidad de energía térmica que, a temperatura ambiente, es de 2,5 kJ mol^{-1} (0,6 kcal mol^{-1}). Esta exigua energía de estabilización significa que se pueden perder los intermediarios correctos, especialmente los que se forman en las primeras etapas del plegamiento. No obstante, las interacciones que conducen al plegamiento pueden estabilizar intermediarios a medida que la estructura se va formando. En la analogía anterior es como si el mono tuviese, de alguna manera, libertad para deshacer sus pulsaciones correctas.

A veces, el plegamiento de las proteínas se visualiza como un *embudo de plegamiento* o panorama energético (Figura 4.35). La anchura del embudo representa todas las conformaciones posibles de la proteína desplegada. La profundidad del embudo representa la diferencia de energía entre la proteína desplegada y la proteína nativa. Cada punto de la superficie representa una posible estructura tridimensional y su valor energético. El embudo sugiere que hay varias rutas alternativas hacia la estructura nativa.

Una ruta modelo sostiene que, en primer lugar, se producen las interacciones locales —en otras palabras, se forma la estructura secundaria— y estas estructuras secundarias facilitan las interacciones de largo alcance que dan lugar a la formación de la estructura terciaria. Otra ruta modelo propone que el efecto hidrofóbico aglutina los aminoácidos hidrofóbicos que se encuentran alejados en la secuencia de aminoácidos. La agrupación de los aminoácidos hidrofóbicos en el interior da lugar a la formación de una estructura globular. Como se supone que las interacciones hidrofóbicas son dinámicas y permiten a la proteína formar interacciones cada vez más estables, la estructura se denomina *glóbulo fundido*. Otro modelo más general, denominado modelo de nucleación-condensación, es básicamente una combinación de los dos modelos anteriores. En el modelo de nucleación-condensación, tanto las interacciones locales como las de largo alcance dan lugar a la formación del estado nativo.

Algunas proteínas están intrínsecamente desestructuradas y pueden existir en múltiples conformaciones

Hasta ahora, el análisis sobre el plegamiento de las proteínas se basaba en el paradigma de que una secuencia de aminoácidos determinada se plegará en una estructura tridimensional concreta. Este paradigma es válido para muchas proteínas, como las enzimas o las proteínas de transporte. Sin embargo, se sabe desde hace ya algún tiempo que algunas proteínas pueden adoptar dos estructuras diferentes, una de las cuales da lugar a la agregación de la proteína y a estados patológicos (p. 61). Se creía que estas estructuras alternativas que se originan a partir de una única secuencia de aminoácidos eran rarezas: la excepción al paradigma. Sin embargo, en el caso de ciertas proteínas, trabajos recientes han puesto en entredicho la universalidad de la idea de que, incluso en condiciones celulares normales, cada secuencia de aminoácidos da lugar a una única estructura.

Nuestro primer ejemplo es una clase de proteínas denominadas *proteínas intrínsicamente desestructuradas* (IUP). Como su nombre indica, en condiciones fisiológicas, estas proteínas, en su totalidad o solo en parte, carecen de una estructura tridimensional concreta. De hecho, se ha estimado que el 50% de las proteínas eucarióticas tienen, por lo menos, una región desestructurada con una longitud mayor de 30 aminoácidos. Estas proteínas adoptan una estructura definida cuando interaccionan con otras proteínas. Esta versatilidad molecular significa que una proteína puede asumir distintas estructuras e interaccionar con diferentes socios, desempeñando diversas funciones bioquímicas. Las IUP parecen ser especialmente importantes en las rutas de señalización y de regulación.

Otra clase de proteínas que no se ajustan al paradigma son las *proteínas metamórficas*. Estas proteínas parecen existir como un conjunto de estructuras, con aproximadamente la misma energía, que se encuentran en equilibrio. Pequeñas moléculas u otras proteínas se pueden unir a un determinado elemento del conjunto, dando lugar a un complejo que posee una función bioquímica distinta de la de otro conjunto formado por la misma proteína metamórfica unida a un compañero diferente. Un ejemplo especialmente claro de proteína metamórfica es la citoquina linfotactina. Las citoquinas son moléculas señal del sistema inmunitario que se unen a proteínas receptoras localizadas sobre la superficie de las células del sistema inmunitario, induciendo una respuesta inmunológica. La linfotactina adopta dos estructuras muy diferentes que están en equilibrio (Figura 4.36). Una de las estructuras es la característica de las quimioquinas, que consta de una hoja β de tres hebras y una hélice carboxilo-terminal. Esta estructura se une a su receptor y lo activa. La estructura alternativa es un dímero idéntico formado exclusivamente por hojas β. Cuando adopta esta estructura, la linfotactina se une al glicosaminoglicano, un carbohidrato complejo (Capítulo 10). Las actividades bioquímicas de cada estructura son mutuamente excluyentes: la estructura típica de las citoquinas no se puede unir al glicosaminoglicano y la estructura en hoja β no puede activar al receptor. Sin embargo, resulta sorprendente que ambas actividades sean necesarias para que la actividad bioquímica de la citoquina sea completa.

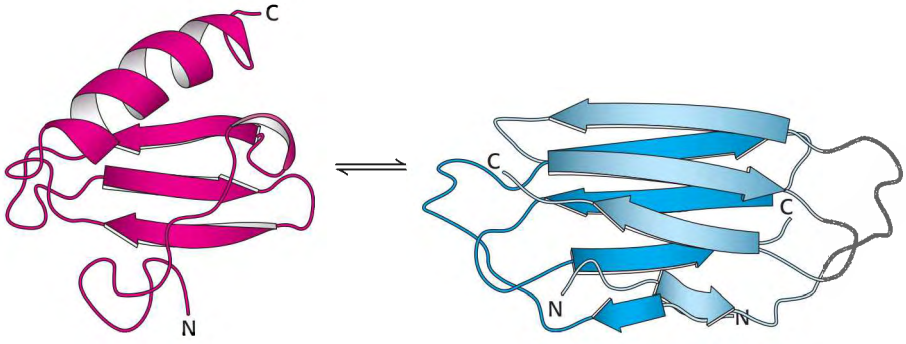


Figura 4.36 La linfotactina adopta dos conformaciones que se encuentran en equilibrio. [Tomado de R. L. Tuinstra, F. C. Peterson, S. Kutlesa, E. S. Elgin, M. A. Kron y B. F. Volkman, *Proc. Natl. Sci. U. S. A.* 105: 5057–5062, 2008, Fig. 2A.]

Hay que señalar que, en la práctica, las IUP y las proteínas metamórficas aumentan la capacidad del genoma para codificar proteínas. En algunos casos, un gen puede codificar una única proteína que tenga más de una estructura y función. Estos ejemplos también ilustran la naturaleza dinámica del estudio de la bioquímica y el entusiasmo que suscita: con frecuencia, incluso las ideas muy arraigadas son sometidas a modificaciones.

Aspecto clínico

Algunas enfermedades neurológicas están relacionadas con el plegamiento defectuoso y la agregación de proteínas

Entender el plegamiento de las proteínas y sus errores tiene un interés que va más allá de lo puramente académico. Diversas enfermedades, entre las que se incluyen la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington y las encefalopatías espongiformes transmisibles (la enfermedad del prión), están relacionadas con proteínas plegadas de forma incorrecta. Todas estas enfermedades dan lugar a la precipitación de agregados proteicos, denominados *fibrillas amiloides* o *placas* (Figura 4.37). Por ello, estas enfermedades se conocen con el nombre de *amiloidosis*. Una característica común de las amiloidosis es que proteínas que normalmente son solubles se convierten en fibrillas insolubles ricas en hojas β. La proteína correctamente plegada es ligeramente más estable que la forma incorrecta. Pero las formas incorrectas se agregan, obligando a que más formas correctas adopten el estado incorrecto. A continuación, nos centraremos en las encefalopatías espongiformes transmisibles.

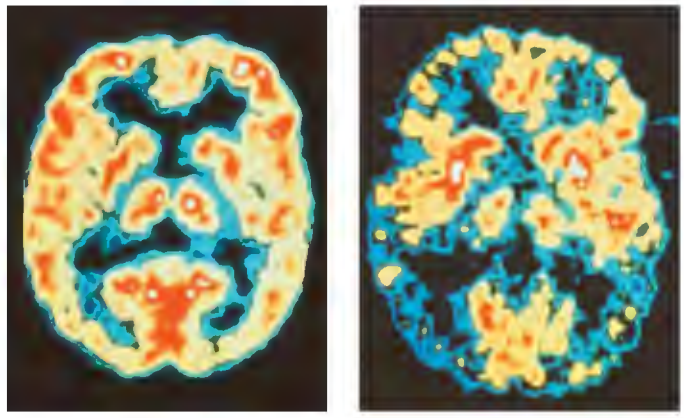


Figura 4.37 La enfermedad de Alzheimer. Escáneres de tomografía de emisión de positrones (TEP) coloreados del cerebro de una persona normal (a la izquierda) y de un paciente con la enfermedad de Alzheimer (a la derecha). Código de colores: actividad cerebral intensa (rojo y amarillo); actividad reducida (azul y negro). El escáner del paciente con la enfermedad de Alzheimer muestra un grave deterioro de la actividad cerebral. [Dr. Robert Friedland/Photo Researchers.]

Una de las grandes sorpresas de la medicina moderna fue el descubrimiento por parte de Stanley Prusiner de que ciertas enfermedades neurológicas infecciosas se transmitían por medio de agentes cuyo tamaño era similar al de los virus, pero que estaban formados exclusivamente por proteínas. Estas enfermedades incluyen la *encefalopatía espongiforme bovina* (comúnmente conocida como la *enfermedad de las vacas locas*) y las enfermedades análogas en otros organismos, que incluyen la *enfermedad de Creutzfeldt-Jakob* (ECJ) en los seres humanos y la *tembladera* en las ovejas. Los agentes causantes de estas enfermedades se denominan *priones*, los cuales están formados mayoritariamente o en su totalidad por una proteína celular denominada PrP que, normalmente, se encuentra presente en el cerebro. Los priones son formas agregadas de la proteína PrP y se denominan PrP^{SC}.

La estructura de la proteína PrP normal contiene extensas regiones de hélice α y relativamente poca estructura en forma de hebras β. La estructura de la PrP^{SC} de mamíferos todavía no se ha determinado, debido a las dificultades impuestas por su naturaleza insoluble y heterogénea. Sin embargo, diversas evidencias indican que algunas partes de la proteína que habían estado en una conformación de hélice α o de giros se han convertido en conformaciones de tipo hebra β. Esta conversión sugiere que PrP es solo un poco más estable que PrP^{SC}, rica en hebras β; sin embargo, tras la formación de PrP^{SC}, la hebra β de una proteína se une con las de otra para formar hojas β, enlazando las dos proteínas y provocando la formación de agregados o fibrillas amiloides.

Tras constatar que el agente infeccioso de las enfermedades priónicas es la forma agregada de una proteína que ya estaba presente en el cerebro, surge un modelo para la transmisión de la enfermedad (**Figura 4.38**). Los agregados proteicos generados a partir de las versiones aberrantes de PrP actúan como núcleos a los que se unen otras moléculas de PrP. De este modo, las enfermedades priónicas se pueden transmitir de un organismo individual a otro mediante la transferencia de un núcleo agregado, como probablemente sucedió durante el brote de la enfermedad de las vacas locas que tuvo lugar en el Reino Unido en la década de 1990: el ganado alimentado con piensos de origen animal que contenía material procedente de las vacas enfermas desarrolló, a su vez, la enfermedad. Las fibras amiloides también se pueden observar en el cerebro de pacientes con determinadas enfermedades neurodegenerativas no infecciosas, como la enfermedad de Alzheimer o la enfermedad de Parkinson. La forma en que estos agregados provocan la muerte de las células que los albergan constituye un área de investigación activa. ■

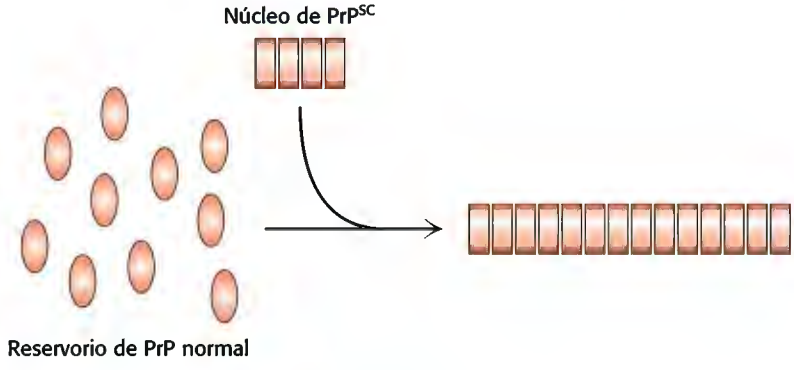


Figura 4.38 Modelo para la transmisión de la enfermedad priónica basado exclusivamente en las proteínas. Un núcleo formado por proteínas con una conformación anormal crece gracias a la incorporación de proteínas procedentes del reservorio normal.

Resumen

4.1 Estructura primaria: los aminoácidos se unen mediante enlaces peptídicos para formar cadenas polipeptídicas

En un polipéptido, los aminoácidos están unidos mediante enlaces amida formados entre el grupo carboxilo de un aminoácido y el grupo amino del siguiente. Esta unión, denominada enlace peptídico, presenta varias propiedades importantes. En primer lugar, es resistente a la hidrólisis y, por tanto, las proteínas son extraordinariamente estables desde el punto de vista cinético. En segundo lugar, cada enlace peptídico contiene un donador de puentes de hidrógeno (el grupo NH) y un aceptor de puentes de hidrógeno (el grupo CO). Como son polímeros lineales, las proteínas pueden describirse como secuencias de aminoácidos. Estas secuencias se escriben desde el extremo amino hacia el extremo carboxilo.

4.2 Estructura secundaria: las cadenas polipeptídicas se pueden plegar para dar lugar a estructuras regulares

Dos de los principales elementos de estructura secundaria son la hélice α y la hebra β. En la hélice α, la cadena polipeptídica se retuerce dando lugar a un cilindro compacto. En el interior de la hélice, el grupo CO de cada aminoácido forma un puente de hidrógeno con el grupo NH de un residuo de aminoácido situado cuatro posiciones más adelante en la cadena polipeptídica. En la hebra β, la cadena polipeptídica está extendida prácticamente por completo. Dos o más hebras β conectadas mediante puentes de hidrógeno entre los grupos NH y CO pueden agruparse para formar hojas β. Las hebras de las hojas β pueden ser antiparalelas, paralelas o mixtas.

4.3 Estructura terciaria: las proteínas hidrosolubles se pliegan formando estructuras compactas

La estructura compacta y asimétrica que adoptan los polipéptidos individuales se denomina estructura terciaria. Las estructuras terciarias de las proteínas solubles en agua presentan algunas características comunes: (1) un interior formado por aminoácidos con cadenas laterales hidrofóbicas y (2) una superficie formada principalmente por aminoácidos hidrofílicos que interaccionan con el medio acuoso. La fuerza motriz para la formación de la estructura terciaria de las proteínas solubles en agua son las interacciones hidrofóbicas que establecen entre los residuos del interior. Algunas proteínas que se encuentran en un entorno hidrofóbico, en las membranas, presentan una distribución inversa de sus aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos. En estas proteínas, los aminoácidos hidrofóbicos se encuentran sobre la superficie para interaccionar con el entorno, mientras que los grupos hidrofílicos están en el interior de la proteína, protegidos del entorno.

4.4 Estructura cuaternaria: múltiples cadenas polipeptídicas se pueden ensamblar para formar una única proteína

Las proteínas que constan de más de una cadena polipeptídica presentan estructura cuaternaria; cada cadena polipeptídica individual se denomina una subunidad. La estructura cuaternaria puede ser tan sencilla como dos subunidades idénticas o tan compleja como docenas de subunidades diferentes. En la mayoría de los casos, las subunidades se mantienen unidas por medio de enlaces no covalentes.

4.5 La secuencia de aminoácidos de una proteína determina su estructura tridimensional

La secuencia de aminoácidos determina por completo la estructura tridimensional y, por tanto, el resto de las propiedades de una proteína. Algunas proteínas pueden desplegarse por completo y, a pesar de ello, replegarse de forma eficiente una vez colocadas en condiciones en las que la forma plegada sea estable. La secuencia de aminoácidos de una proteína está determinada por las secuencias de las bases en una molécula de DNA. Esta información unidimensional contenida en la secuencia se extiende al mundo tridimensional gracias a la capacidad de las proteínas para plegarse de forma espontánea.

Términos clave

estructura primaria (p. 46)
enlace peptídico (amida) (p. 46)
puente disulfuro (p. 47)
ángulo phi (ϕ) (p. 49)
ángulo psi (ψ) (p. 49)
diagrama de Ramachandran (p. 49)
estructura secundaria (p. 50)
hélice α (p. 57)
hoja plegada β (p. 51)
hebra β (p. 51)
estructura terciaria (p. 55)
motivo (estructura supersecundaria) (p. 57)
dominio (p. 57)
subunidad (p. 57)
estructura cuaternaria (p. 57)
embudo de plegamiento (p. 60)
glóbulo fundido (p. 60)
proteína intrínsicamente desestructurada (IUP) (p. 60)
proteína metamórfica (p. 61)
prión (p. 62)

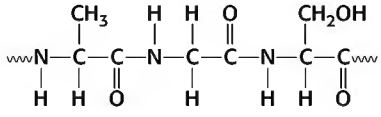
? Respuesta a la PREGUNTA RÁPIDA

(a) La glicina se encuentra en el extremo amino. (b) El peso molecular medio de los aminoácidos es 110. Por lo tanto, una proteína formada por 300 aminoácidos tiene un peso molecular de aproximadamente 33.000. (c) Una proteína con un peso molecular de 110.000 está formada por, aproximadamente, 1.000 aminoácidos.

Problemas

1. *Cuestión de estabilidad.* Las proteínas son bastante estables. La vida media de un enlace peptídico en disolución acuosa es de casi 1.000 años. Sin embargo, la energía libre de la hidrólisis de proteínas es negativa y bastante grande. ¿Cómo se puede explicar la estabilidad del enlace peptídico en vista del hecho de que la hidrólisis libera una considerable cantidad de energía?

2. *Asigne un nombre a cada componente.* Examine el segmento de una proteína mostrado en la figura. ✓ 2



(a) ¿Qué tres aminoácidos están presentes?
(b) De los tres, ¿cuál está más próximo al aminoácido amino-terminal?
(c) Identifique los enlaces peptídicos.
(d) Identifique los átomos de carbono α.

3. *¿Quién está cargado?* Dibuje la estructura del dipéptido Gly-His. ¿Cuál es la carga del péptido a pH 4,0? ¿Y a pH 7,5?

4. *Primero abreviar, después calcular la carga.* Examine el siguiente péptido y conteste a las preguntas *a*, *b* y *c*.

Thr-Glu-Pro-Ile-Val-Ala-Pro-Met-Glu-Tyr-Gly-Lys

(a) Escriba la secuencia utilizando las abreviaturas de una letra.
(b) Estime la carga neta a pH 7.
(c) Estime la carga neta a pH 12.

5. *¿Detectan los vecinos la presión?* La Tabla 3.1 muestra los valores de pK_a típicos de los grupos ionizables de las proteínas. Sin embargo, al medir los pK_a de cada grupo en proteínas plegadas se han determinado más de 500 valores de pK_a. ¿Cómo se explica esta discrepancia?

6. *Prohibiciones.* ¿Por qué está prohibida la rotación en torno al enlace peptídico? ¿Cuáles son las consecuencias de esta ausencia de rotación? ✓ 2

7. *¿No hacen una pareja adorable?* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 2

(a) Estructura primaria _____
(b) Enlace peptídico (amida) _____
(c) Puente disulfuro _____
(d) Ángulo phi (ϕ) _____
(e) Ángulo psi (ψ) _____
(f) Diagrama de Ramachandran _____
(g) Hélice α _____
(h) Hoja plegada β _____
(i) Hebra β _____
(j) Estructura secundaria _____

1. Se forma entre dos átomos de cisteína
2. Estructura con forma de cilindro con un esqueleto enrollado de forma compacta
3. Ángulo de rotación en torno al enlace que une el átomo de N con el átomo de carbono α
4. Cadena polipeptídica totalmente extendida
5. Se forma mediante puentes de hidrógeno entre cadenas paralelas o antiparalelas
6. Estructuras tridimensionales que se repiten con regularidad
7. Enlace responsable de la estructura primaria
8. Secuencia de aminoácidos en una proteína
9. Ángulo de rotación en torno al enlace que une el átomo de carbono α con el átomo de carbono carbonilo
10. Gráfica de los ángulos phi y psi

8. *Sopa de letras.* ¿Cuántos polipéptidos distintos con una longitud de 50 aminoácidos se pueden formar a partir de los 20 aminoácidos habituales? ✓ 2

9. *Goloso, pero consciente de las calorías.* El aspartamo (Nutrasweet), un edulcorante artificial, es un dipéptido formado por Asp-Phe en el que el extremo carboxilo se ha modificado

mediante la adición de un grupo metilo. Dibuje la estructura del aspartamo a pH 7.

10. *¿Proteínas vertebradas?* ¿Qué se quiere decir al utilizar el término *esqueleto polipeptídico*?

11. *No es un sidecar.* Defina el término cadena lateral (*side chain*) en el contexto de los aminoácidos o de la estructura de las proteínas.

12. *Uno de muchos.* ¿Qué diferencia hay entre *composición de aminoácidos* y *secuencia de aminoácidos*? ✓ 2

13. *Saber es bueno.* Enumere algunas de las ventajas de conocer la estructura primaria de una proteína. ✓ 2

14. *Compare y constraste.* Enumere algunas de las diferencias que hay entre una hélice α y una hebra β. ✓ 2

15. *Niveles de complicación.* ¿Cuáles son los niveles estructurales de las proteínas? Describa el tipo de enlaces característicos de cada nivel. ✓ 2

16. *Dos por dos.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 2

(a) Estructura terciaria _____
(b) Estructura supersecundaria _____
(c) Dominio _____
(d) Subunidad _____
(e) Estructura cuaternaria _____
(f) Embudo de plegamiento _____
(g) Glóbulo fundido _____
(h) Proteína metamórfica _____
(i) Proteína intrínsecamente desestructurada_____
(j) Prión _____

1. Componente básico de la estructura cuaternaria
2. Un panorama energético
3. Estructura que se caracteriza por interacciones hidrofóbicas dinámicas
4. Proteínas que, en condiciones fisiológicas, carecen total o parcialmente de una estructura tridimensional concreta
5. Hace referencia a la disposición espacial de los residuos de aminoácidos que se encuentran muy separados en la secuencia
6. Proteínas que existen en forma de un conjunto de estructuras con aproximadamente la misma energía y que están en equilibrio
7. Regiones compactas que pueden estar conectadas por medio de un segmento flexible de la cadena polipeptídica
8. Hace referencia a la disposición de las subunidades y a la naturaleza de sus interacciones
9. Provoca encefalopatías espongiformes
10. Combinaciones de estructura secundarias que están presentes en muchas proteínas

17. *¿Quién va primero?* ¿Esperaría usted que los enlaces peptídicos Pro-X fuesen propensos a adoptar conformaciones *cis* del mismo modo que los enlaces X-Pro? ¿Por qué? o ¿por qué no? ✓ 2

18. *Contrastando isómeros.* En un disolvente orgánico como el dioxano, la poli-L-leucina se presenta en forma de hélice α, mientras que la poli-L-isoleucina no. ¿Por qué estos aminoácidos con el mismo número y tipo de átomos muestran distinta tendencia a formar hélices? ✓ 2

19. *Activo de nuevo.* Se ha descubierto que una mutación que sustituye un residuo de alanina del interior de una proteína por una valina provoca una pérdida de actividad. Sin embargo, la actividad se recupera cuando una segunda mutación en una posición distinta sustituye un residuo de isoleucina por una glicina. ¿Cómo puede esta segunda mutación dar lugar al restablecimiento de la actividad? ✓ 3

20. *La exposición cuenta.* Muchos de los bucles que se han observado en las proteínas están formados por aminoácidos hidrofílicos. ¿Por qué? ✓ 2 y 3

21. *Adiós, estado nativo. Hola, caos.* ¿Cómo contribuiría cada uno de los siguientes tratamientos a la desnaturalización de las proteínas? ✓ 3

(a) Calor
(b) Adición de detergentes hidrofóbicos
(c) Grandes cambios en el pH

22. *A menudo, irreemplazables.* En la evolución de las proteínas, la glicina es un residuo de aminoácido muy conservado. ¿Por qué? ✓ 3

23. *Posibles compañeros.* Identifique los grupos de una proteína que pueden formar puentes de hidrógeno o uniones electrostáticas con una cadena lateral de arginina a pH 7.

24. *Ondas permanentes.* La forma del cabello viene determinada, en parte, por el patrón de puentes disulfuro de la queratina, su proteína mayoritaria. ¿Cómo se pueden inducir los rizos?

25. *La ubicación lo es todo 1.* La mayoría de las proteínas tienen un exterior hidrofílico y un interior hidrofóbico. ¿Esperaría usted que se mantenga esta estructura en las proteínas insertadas en el interior hidrofóbico de una membrana? Explique por qué. ✓ 3

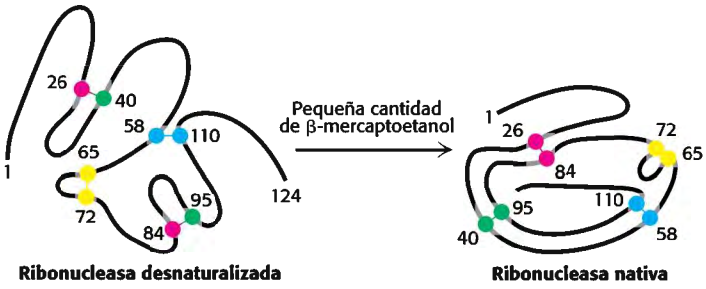
26. *La ubicación lo es todo 2.* A menudo, las proteínas que atraviesan membranas biológicas contienen hélices α. Dado que el interior de las membranas es muy hidrofóbico, pronostique qué tipo de aminoácidos se podrán encontrar en este tipo de hélices. ¿Por qué es particularmente adecuada la presencia de una hélice α en el entorno hidrofóbico del interior de una membrana? ✓ 3

27. *Manchas de grasa.* Las subunidades α y β de la hemoglobina presentan una extraordinaria semejanza estructural con la mioglobina. Sin embargo, residuos que en la mioglobina son hidrofílicos en las subunidades de la hemoglobina son hidrofóbicos. ¿Por qué? ✓ 3

28. *Puede que el tamaño sí importe.* La osteogénesis imperfecta manifiesta una amplia variedad de síntomas, desde leves hasta graves. Basándose en sus conocimientos sobre los aminoácidos y la estructura del colágeno, proponga una explicación bioquímica para esta variedad de síntomas.

Problemas para atrevidos

29. *Un poco de ayuda.* Anfinsen descubrió que la ribonucleasa desnaturalizada se convertía espontáneamente en ribonucleasa nativa y totalmente activa tras añadir una pequeña cantidad de β-mercaptoetanol a una disolución acuosa de la proteína. Explique estos resultados. ✓ 3



30. *Revoltijo.* Una enzima denominada isomerasa de puentes disulfuro (PDI) cataliza reacciones de intercambio disulfuro-sulfhidrilo. La PDI convierte rápidamente la ribonucleasa desnaturalizada en una ribonucleasa enzimáticamente activa. Por el contrario, la PDI inactiva rápidamente a la insulina. ¿Qué indica esta importante observación sobre la relación entre la secuencia de aminoácidos de la insulina y su estructura tridimensional? ✓ 3

31. *Estirando la diana.* Una proteasa es una enzima que cataliza la hidrólisis de los enlaces peptídicos de las proteínas diana. ¿Cómo podría una proteasa unirse a una proteína diana de forma que su cadena principal se quede totalmente extendida en las proximidades del enlace peptídico vulnerable?

32. $V = 4/3\ \pi r^3$. Considere dos proteínas, una con un peso molecular de 10.000 y la otra con un peso molecular de 100.000. Ambas son globulares y con forma esférica parecida. ¿Qué diferencia habrá en la proporción entre aminoácidos hidrofílicos e hidrofóbicos de ambas proteínas?

33. *Forma y dimensión.* La tropomiosina, una proteína del músculo de 70 kDa, es un α-helicoide enrollado formado por dos hebras. Calcule la longitud de la molécula.

34. *Ribonucleasa desnaturalizada.* Cuando llevó a cabo su experimento sobre replegamiento de las proteínas, Christian Anfinsen obtuvo un resultado bastante distinto cuando la ribonucleasa reducida se reoxidaba mientras todavía estaba en presencia de urea 8 M y, después, se dializaba la muestra para retirar la urea. La ribonucleasa reoxidada de esta forma poseía únicamente el 1% de la actividad enzimática de la proteína nativa. ¿Por qué los resultados de la reoxidación de la ribonuclesa reducida fueron tan diferentes en presencia y en ausencia de urea? ✓ 3

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 5

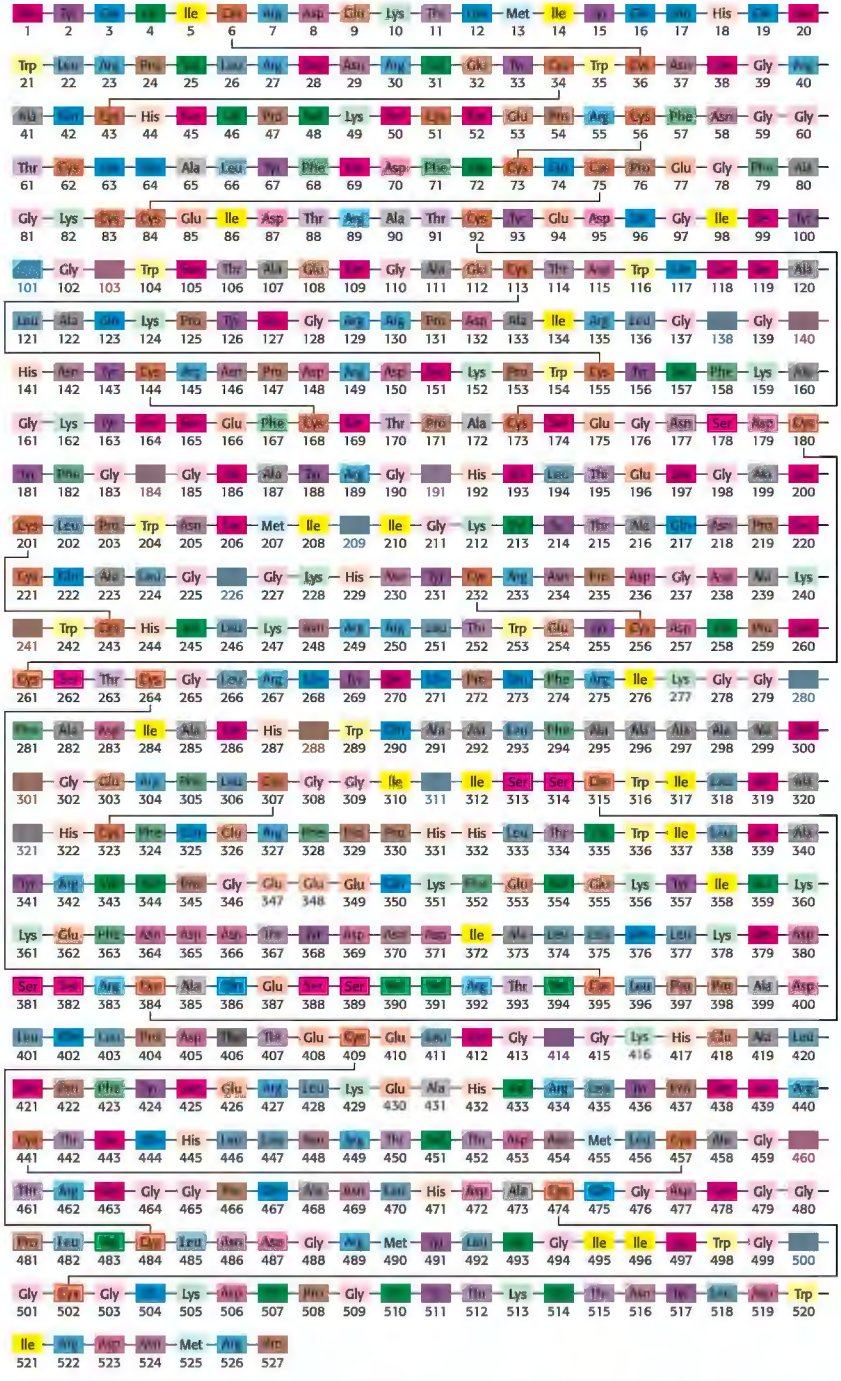
Técnicas en bioquímica de proteínas

5.1 El proteoma es la representación funcional del genoma

5.2 La purificación de una proteína es el primer paso para comprender su función

5.3 Para purificar y caracterizar proteínas se utilizan técnicas inmunológicas

5.4 La determinación de la estructura primaria facilita el estudio de la función de las proteínas



Secuencia de aminoácidos de la tenecteplasa, un agente fibrinolítico para el tratamiento del infarto agudo de miocardio. [Tomado de X. Rabasseda, *Drugs Today* 37(11): 749, 2001.]

En esta sección ya hemos aprendido algunos de los principios básicos de la estructura y función de las proteínas y seguiremos prestando atención a las proteínas estudiándolas en su contexto metabólico. Este enfoque sobre las proteínas hace que surja una interesante cuestión: ¿Cómo sabemos lo que sabemos sobre las proteínas? La primera etapa para entender cómo funcionan las proteínas en la célula consiste en estudiar su comportamiento fuera de la célula, *in vitro*. Para ello, hay que separar las proteínas de los demás componentes de la célula de manera que se puedan identificar y caracterizar sus propiedades bioquímicas. En otras palabras, hay que purificar la proteína.

En este capítulo examinaremos algunas de las principales técnicas de purificación de proteínas, incluyendo las potentes técnicas inmunológicas. Todas estas técnicas aprovechan las propiedades bioquímicas únicas de cada proteína. Posteriormente, aprenderemos cómo se determina una propiedad crucial de las proteínas: su secuencia de aminoácidos o estructura primaria.

5.1 El proteoma es la representación funcional del genoma

Cada año se están desvelando los genomas de más organismos y se está determinando la secuencia exacta de las bases del DNA y el número de genes que codifican. Por ejemplo, los investigadores llegaron a la conclusión de que el genoma del gusano cilíndrico *Caenorhabditis elegans* consta de 97 millones de bases y alrededor de 19.000 genes que codifican proteínas, mientras que el de la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* contiene 180 millones de bases y alrededor de 14.000 genes. El genoma humano completamente secuenciado contiene 3.000 millones de bases y alrededor de 23.000 genes. Pero este conocimiento genómico es análogo al listado de las piezas que componen un coche: no explica qué piezas forman parte de los distintos componentes ni cómo funcionan las piezas cuando están juntas. Se ha acuñado una nueva palabra, *proteoma*, para hacer referencia a un nivel de información más complejo, el nivel de la información *funcional*, que abarca los tipos de proteínas, sus funciones y las interacciones que dan lugar a una unidad funcional.

El término proteoma proviene de *prote*ínas expresadas por el gen*oma*. El genoma incluye una lista de productos génicos que *podrían* estar presentes, pero en un contexto biológico concreto solo un subconjunto de estos productos génicos se expresará realmente. El proteoma nos dice qué proteínas están presentes de forma funcional. A diferencia del genoma, el proteoma no es una característica fija de la célula. En vez de ello, como representa la expresión funcional de la información, varía en función del tipo celular, del estado de desarrollo y de las condiciones ambientales, como, por ejemplo, la presencia de hormonas. Además, las proteínas se pueden modificar enzimáticamente de varias formas. Y no solo eso, estas proteínas no están aisladas; con frecuencia interaccionan entre sí para formar complejos con propiedades funcionales específicas.

El conocimiento del proteoma se adquiere aislando, caracterizando y catalogando las proteínas. En algunos casos, no en todos, este proceso comienza con la separación de una proteína particular del resto de las biomoléculas de la célula.

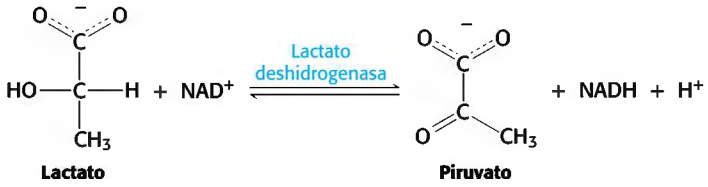
✓ 4 Explicar cómo se pueden purificar las proteínas.

5.2 La purificación de una proteína es el primer paso para comprender su función

Para comprender una proteína —su secuencia de aminoácidos, su estructura tridimensional y cómo funciona en condiciones normales y patológicas— tenemos que purificarla. En otras palabras, tenemos que aislar la proteína que nos interesa de los otros miles de proteínas que hay en la célula. Esta muestra proteica puede representar menos del 1% del material de partida, independientemente de que el material de partida sean células en cultivo o un órgano concreto de una planta o animal. En este capítulo, vamos a estudiar la purificación de dos proteínas: una enzima que se purifica por medio de técnicas bioquímicas estándar y una proteína que se une a hormonas, denominada receptor, que no se pudo purificar por medio de técnicas bioquímicas estándar, por lo que hubo que recurrir a una estrategia inmunológica.

Las proteínas se pueden purificar gracias a sus distintas propiedades químicas

La purificación de proteínas necesita mucho ingenio y paciencia, pero, antes incluso de emprender la tarea, necesitamos un test capaz de identificar la proteína que nos interesa. Usaremos este test después de cada etapa de la purificación para ver si la purificación está funcionando. Este tipo de test se denomina *ensayo* y se basa en alguna propiedad única que permita identificar la proteína. En el caso de las enzimas, que son catalizadores de naturaleza proteica (Capítulo 6), el ensayo se basa normalmente en la reacción catalizada por la enzima en la célula. Por ejemplo, la enzima lactato deshidrogenasa, importante en el metabolismo de la glucosa, lleva a cabo la siguiente reacción:



El producto, la forma reducida del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADH), a diferencia de los demás componentes de la reacción, absorbe luz a 340 nm. En consecuencia, podemos seguir el avance de la reacción midiendo la absorbancia de luz a 340 nm por unidad de tiempo —por ejemplo, 1 minuto después de haber añadido la muestra que contiene la enzima. Por tanto, durante la purificación de la lactato deshidrogenasa, nuestro ensayo de actividad enzimática consiste en el incremento de la absorbancia de luz a 340 nm que se produce al cabo de 1 minuto. Hay que señalar que el ensayo nos indica cuánta *actividad* enzimática hay, no cuánta proteína hay.

Para estar seguros de que nuestro protocolo de purificación está funcionando, necesitamos una pieza de información adicional —la cantidad total de proteína presente en la mezcla que se está ensayando. Esta medida de la cantidad total de proteína incluye tanto a la enzima que nos interesa como a las demás proteínas presentes, pero *no* es una medida de la actividad enzimática. Cuando sabemos cuánta actividad enzimática hay y cuánta proteína tenemos, podemos estimar el progreso de nuestra purificación midiendo, en cada paso, la *actividad específica*, es decir, el cociente entre la actividad enzimática y la cantidad de proteína que se utiliza en el ensayo. La actividad específica aumentará a medida que la proteína que nos interesa representa un porcentaje mayor en la mezcla de proteínas utilizada en el ensayo. Básicamente, el objetivo de la purificación consiste en eliminar todas las proteínas excepto aquella que nos interesa. Desde el punto de vista cuantitativo, eso significa que queremos maximizar la actividad específica.

? **PREGUNTA RÁPIDA 1** ¿Por qué se necesita un ensayo para la purificación de proteínas?

Para purificarlas, las proteínas tienen que ser extraídas de la célula

Si ya disponemos de un ensayo, ahora tenemos que romper las células, liberando los contenidos celulares de forma que podamos tener acceso a nuestra proteína. La ruptura de las membranas celulares produce un *homogenado*, una mezcla de todos los componentes de la célula en ausencia de células intactas. Esta mezcla se centrifuga utilizando una fuerza centrífuga pequeña, con lo que se obtiene un precipitado de material pesado en el fondo del tubo de la centrífuga y una disolución más ligera por encima, denominada sobrenadante. Los precipitados están enriquecidos en un orgánulo particular (**Figura 5.1**). Al precipitado y al sobrenadante se les denomina *fracciones* porque estamos fraccionando el homogenado. El sobrenadante se centrifuga de nuevo aplicando una fuerza mayor, con lo que se obtiene otro precipitado y otro sobrenadante. Este procedimiento, denominado *centrifugación diferencial*, permite obtener varias fracciones de densidad decreciente, donde cada fracción todavía contiene cientos de proteínas distintas, que serán sometidas al ensayo para determinar si presentan la actividad que se está purificando. Normalmente, habrá una fracción que tenga más actividad enzimática que las demás y, por tanto, será la que se utilice como material de partida al que se le aplicarán técnicas de purificación más selectivas. La fracción que se utiliza como punto de partida para su posterior purificación se denomina extracto crudo.

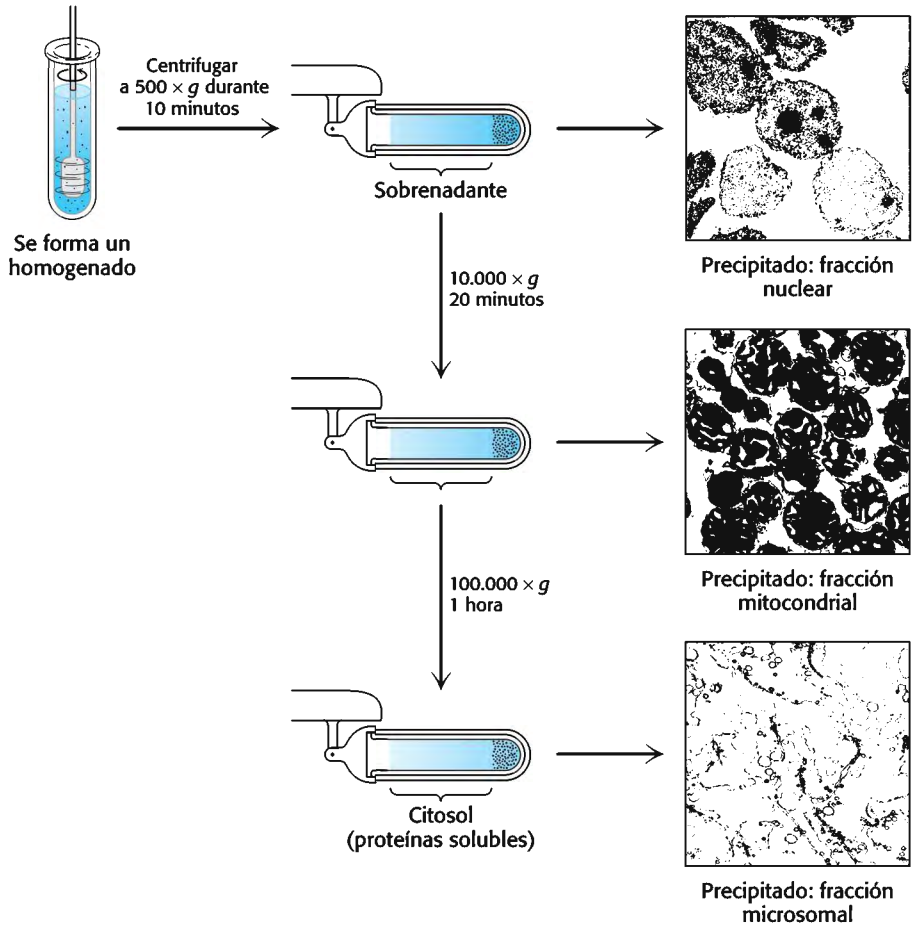


Figura 5.1 Centrifugación diferencial. Las células se rompen en un homogeneizador y la mezcla resultante, denominada homogenado, se somete a varias etapas de centrifugación aumentando la fuerza centrífuga en cada paso. El material más denso formará un precipitado a menor fuerza centrífuga que el material menos denso. Las fracciones aisladas se pueden purificar todavía más. [Fotografías cortesía de los doctores S. Fleischer y B. Fleischer.]

Las proteínas se pueden purificar en función de su solubilidad, de su tamaño, de su carga o de su afinidad hacia un ligando

Las proteínas se purifican en base a su diferente *solubilidad*, *tamaño*, *carga* y *afinidad específica por la unión* a ciertos ligandos. Normalmente, las mezclas de proteínas se someten a una serie de separaciones, cada una de ellas basada en una propiedad diferente.

Precipitación por sal La mayoría de las proteínas necesitan algo de sal para disolverse (para "entrar" en la disolución), un proceso denominado, en inglés, *salting in*. Sin embargo, cuando la concentración de sal es elevada, la mayoría de las proteínas precipitan y "salen" de la disolución, un efecto denominado *precipitación por sal* (en inglés, *salting out*) (Figura 5.2). La precipitación por sal se debe a la competencia que se establece entre los iones de la sal y la proteína por el agua necesaria para mantener la proteína en disolución (el agua de solvatación). La concentración de sal a la que precipita una proteína difiere de una proteína a otra. Por tanto, se puede utilizar la precipitación por sal para fraccionar una mezcla de proteínas. Por desgracia, muchas proteínas pierden su actividad en presencia de concentraciones de sal tan altas. Sin embargo, se puede eliminar la sal mediante el proceso de *diálisis*. Se coloca la disolución que contiene proteínas y sal en una pequeña bolsa hecha de una membrana semipermeable que tenga poros, como, por ejemplo, una membrana de celulosa (Figura 5.3). Las proteínas son demasiado grandes para atravesar los poros de la membrana, mientras que las moléculas más pequeñas y los iones, como las sales, pueden salir de la bolsa a través de los poros y acceder al medio externo de la bolsa (el dializado).

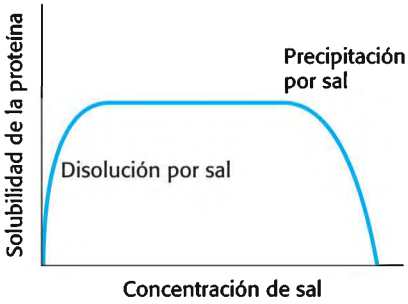


Figura 5.2 Solubilidad de las proteínas en función de la concentración de sal. La gráfica muestra cómo varía la solubilidad de una proteína ficticia en función de los cambios en la concentración de sal. Cada proteína mostrará una curva distinta.

Separación por tamaño La *cromatografía de filtración en gel*, también denominada cromatografía de exclusión molecular, separa proteínas en base a su tamaño. Se aplica la muestra sobre la parte superior de una columna que contiene unas bolitas porosas hechas de un polímero insoluble, como, por ejemplo, dextrano, agarosa o poliacrilamida (Figura 5.4). Las moléculas pequeñas pueden adentrarse en estas bo-

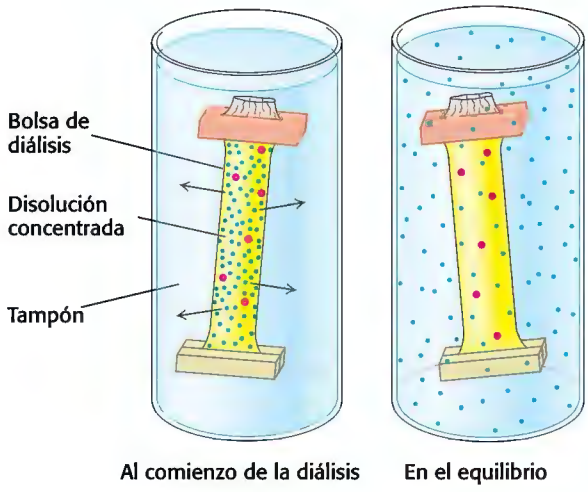


Figura 5.3 Diálisis. Las moléculas de proteína (de color rojo) quedan retenidas en el interior de la bolsa de diálisis mientras que las moléculas pequeñas (en azul) difunden hacia el medio circundante.

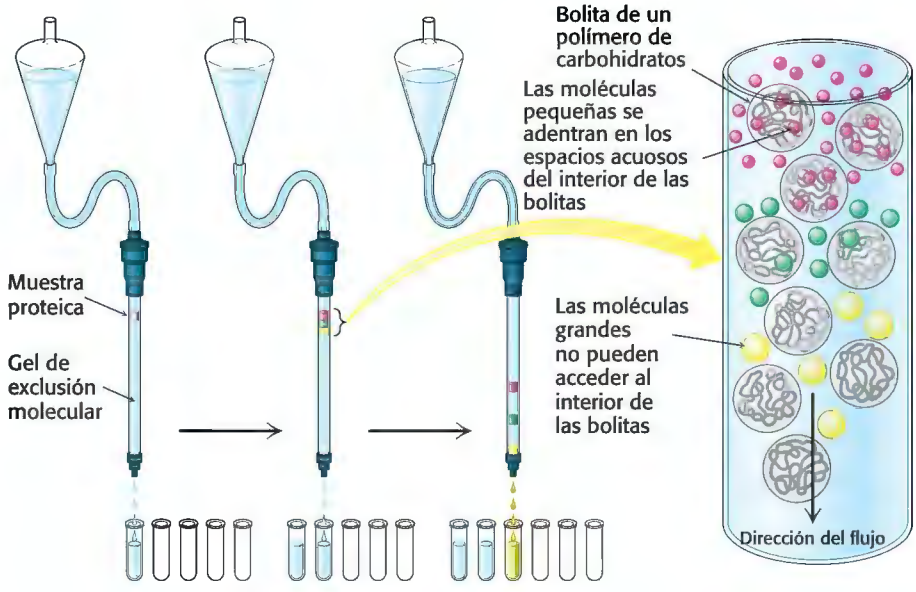


Figura 5.4 Cromatografía de filtración en gel. Se aplica un pequeño volumen de una mezcla de proteínas sobre la parte superior de una columna que contiene bolitas porosas. Como las moléculas grandes no pueden acceder al volumen interno de las bolitas, emergen antes que las moléculas pequeñas.

litas, pero las grandes no y, por lo tanto, esas moléculas más grandes siguen una trayectoria más corta hacia el extremo inferior de la columna y emergen primero. Las moléculas con un tamaño que les permita adentrarse de vez en cuando en una bolita saldrán de la columna en una posición intermedia y las moléculas pequeñas, que siguen una trayectoria más larga y más tortuosa, saldrán en último lugar.

Cromatografía de intercambio iónico Mediante este tipo de cromatografía se pueden separar proteínas en base a su carga neta. Si una proteína presenta una carga neta positiva a pH 7, se unirá normalmente a una columna rellena de bolitas que contengan grupos carboxilato cargados negativamente, mientras que una proteína cargada negativamente no se unirá a la columna (**Figura 5.5**). Posteriormente, una proteína cargada positivamente que se haya unido a este tipo de columna se podrá liberar mediante un incremento de la concentración de sal en el tampón que se añade por la parte superior de la columna. Los iones de la sal con carga positiva competirán con los grupos de la proteína con carga positiva para unirse a la columna. De forma análoga, una proteína con carga neta negativa se unirá a bolitas de intercambio iónico que contengan cargas positivas y se podrán eluir de la columna utilizando un tampón que contenga sal.

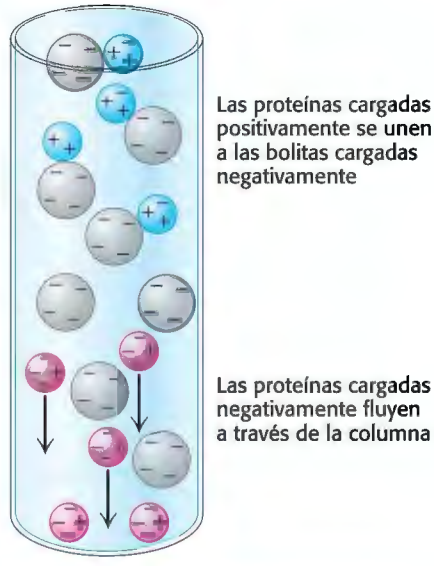


Figura 5.5 Cromatografía de intercambio iónico. Esta técnica separa proteínas fundamentalmente en función de su carga neta.

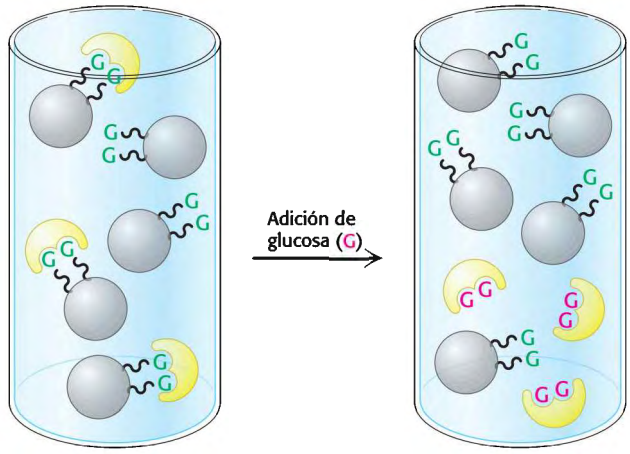


Figura 5.6 Cromatografía de afinidad. Cromatografía de afinidad de la concanavalina A (mostrada en color amarillo) sobre un soporte sólido que contiene residuos de glucosa unidos covalentemente (G).

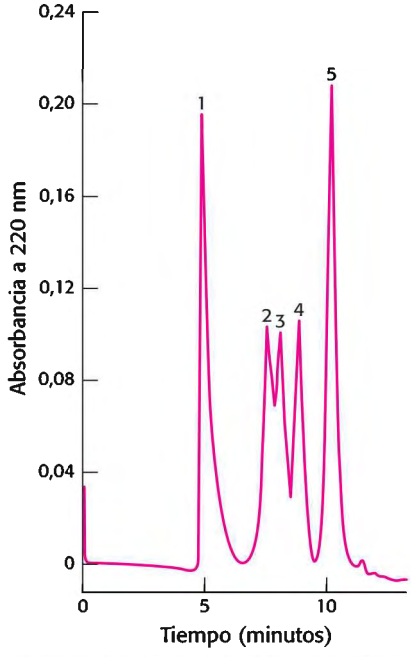


Figura 5.7 Cromatografía líquida de alta presión (HPLC). Gracias a su mayor poder de resolución, la filtración en gel mediante HPLC permite distinguir cada proteína con claridad. Las proteínas se detectan por su absorbancia de ondas de luz de 220 nm: (1) tiroglobulina (669 kDa), (2) catalasa (232 kDa), (3) seroalbúmina bovina (67 kDa), (4) ovoalbúmina (43 kDa) y (5) ribonucleasa (13,4 kDa). [Tomado de K. J. Wilson y T. D. Schlabach. En *Current Protocols in Molecular Biology*, vol. 2, suppl. 41, F. M. Ausubel, R. Brent, R. E. Kingston, D. D. Moore, J. G. Seidman, J. A. Smith y K. Struhl, Eds. (Wiley, 1998), p. 10.14.1.]

Cromatografía de afinidad Se trata de otro potente método de purificación de proteínas. Esta técnica se aprovecha del hecho de que algunas proteínas presentan una elevada afinidad hacia grupos químicos específicos o hacia determinadas moléculas. Por ejemplo, la proteína de origen vegetal concanavalina A, que se une a la glucosa, se puede purificar haciendo pasar un extracto crudo a través de una columna llena de bolitas que contengan residuos de glucosa unidos covalentemente. La concanavalina A se une a este tipo de bolitas mientras que las demás proteínas, en su mayor parte, no. Posteriormente, la concanavalina A unida se puede liberar de la columna añadiendo una disolución concentrada de glucosa. La glucosa de la disolución desplaza los residuos de glucosa adheridos a la columna de los lugares de unión de la concanavalina A (Figura 5.6).

Cromatografía líquida de alta presión La capacidad de las técnicas en columna para separar proteínas individuales, denominada *poder de resolución*, puede mejorar sustancialmente utilizando una técnica que se conoce con el nombre de *cromatografía líquida de alta presión* (HPLC), que es una versión mejorada de las técnicas en columna vistas hasta ahora. Las propias bolitas que constituyen el material de la columna están mucho más finamente divididas y, en consecuencia, hay más lugares de interacción y, por tanto, mayor poder de resolución. Como la columna está rellena de un material más fino hay que aplicar presión a la columna para obtener velocidades de flujo adecuadas. El resultado neto es un una elevada resolución, así como una rápida separación (Figura 5.7).

Las proteínas se pueden separar y visualizar mediante electroforesis en gel

¿Cómo podemos comprobar si un protocolo de purificación es eficaz? Una forma consiste en demostrar que la actividad específica aumenta tras cada paso de purificación. Otro método consiste en visualizar el número de proteínas presentes en cada etapa. La técnica de *electroforesis en gel* hace posible este último método.

Una molécula con carga neta se desplazará en un campo eléctrico, un fenómeno denominado *electroforesis*. La distancia y la velocidad a la que se mueve una proteína en la electroforesis depende de la fuerza del campo eléctrico, de la carga neta de la proteína, que varía en función del pH de la disolución electroforética, y de la forma de la proteína. Las separaciones electroforéticas se realizan casi siempre en geles, como los de poliacrilamida, porque el gel actúa como un tamiz molecular que incrementa el poder de separación. Las moléculas pequeñas en comparación con el tamaño de los poros del gel se desplazan fácilmente a través del gel, mientras que las moléculas mucho más grandes que los poros prácticamente permanecen inmóviles. Las moléculas de tamaño intermedio se mueven a través del gel con distinto grado de dificultad. La

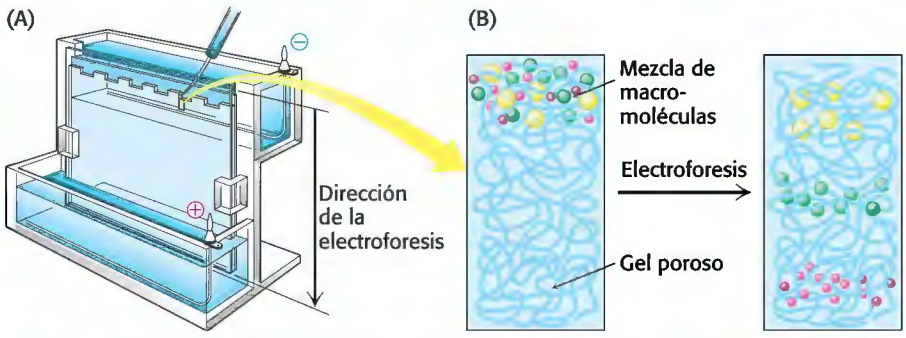


Figura 5.8 Electroforesis en gel de poliacrilamida. (A) Aparato para la electroforesis en gel. Normalmente, se someten varias muestras a electroforesis en una lámina de gel de poliacrilamida. Se utiliza una micropipeta para colocar las disoluciones de proteínas en los pocillos creados en el gel. A continuación, se coloca la tapa sobre la cámara que contiene el gel y se aplica voltaje. Los complejos SDS (dodecilsulfato sódico)-proteína, cargados negativamente, migran hacia el ánodo, en la parte inferior del gel. (B) La acción de cribado de un gel poroso de poliacrilamida separa las proteínas en función de su tamaño, siendo las más pequeñas las que se mueven con mayor rapidez.

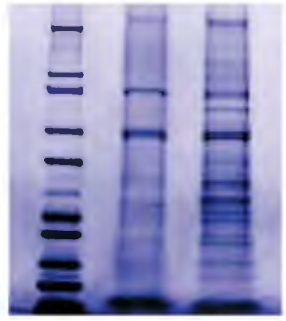
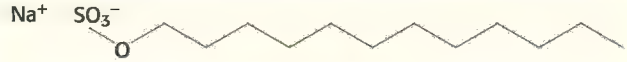


Figura 5.9 Tinción de proteínas tras una electroforesis. Las proteínas sometidas a electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de SDS se pueden visualizar tiñéndolas con azul de Coomassie. La calle de la izquierda contiene un conjunto de proteínas marcadoras con un peso molecular conocido. Estas proteínas marcadoras se han separado en función de su tamaño, ya que las proteínas más pequeñas avanzan más por el interior del gel que las proteínas más grandes. Las dos calles restantes contienen dos mezclas proteicas distintas. [Wellcome Photo Library.]

electroforesis de proteínas se lleva a cabo en una fina lámina de poliacrilamida colocada verticalmente. El pH de la disolución electroforética se ajusta de modo que todas las proteínas estén cargadas negativamente. La dirección del flujo es desde el cátodo hacia el ánodo (**Figura 5.8**).

Las proteínas se pueden separar fundamentalmente en función de su masa mediante una electroforesis en un gel de poliacrilamida en presencia del detergente dodecilsulfato sódico (SDS), una técnica denominada SDS-PAGE (*SDS-polyacrylamide-gel electrophoresis*). El SDS cargado negativamente desnaturaliza las proteínas y se une a las proteínas desnaturalizadas en una proporción constante de una molécula de SDS por cada dos aminoácidos de la proteína. Las cargas negativas de la multitud de moléculas de SDS unidas a la proteína "inundan" la carga normal de la proteína y hacen que todas las proteínas tengan la misma relación carga/masa. Por tanto, las proteínas solo se diferenciarán por su masa. Por último, se añade un reactivo para grupos sulfhidrilo, como el mercaptoetanol, para reducir los puentes disulfuro y hacer que las proteínas sean totalmente lineales. A continuación, se someten los complejos SDS-proteína a electroforesis. Cuando la electroforesis se ha completado, las proteínas del gel se pueden visualizar tiñéndolas con plata o con un colorante, como el azul de Coomassie, que permiten observar una serie de bandas (**Figura 5.9**). *Las proteínas pequeñas se desplazan rápidamente a través del gel mientras que las proteínas grandes permanecen en la parte superior, cerca del lugar donde se aplicó la muestra.*



Dodecilsulfato sódico (SDS)

Isoelectroenfoque Las proteínas también se pueden separar electroforéticamente en base a su contenido relativo de residuos ácidos y básicos. El *punto isoeléctrico* (pI) de una proteína es el pH al que su carga neta es cero. A este pH, la proteína no migrará en un campo eléctrico. Si se somete una mezcla de proteínas a electroforesis en un gradiente de pH formado en un gel en ausencia de SDS, cada proteína se desplazará hasta alcanzar una posición en el gen en la que el pH sea igual al pI de la proteína. Este método de separación de proteínas se denomina *isoelectroenfoque*. Se pueden separar proteínas cuya carga neta difiere en una unidad (**Figura 5.10**).

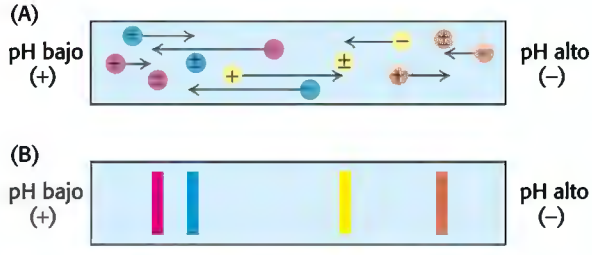


Figura 5.10 Fundamento del isoelectroenfoque. Antes de cargar la muestra, se establece un gradiente de pH en un gel. (A) Se carga la muestra y se aplica voltaje. Cada proteína migrará hasta su pH isoeléctrico, ya que en este punto carecen de carga neta. (B) Las proteínas forman bandas que se pueden escindir para ser utilizadas en posteriores experimentos.

Electroforesis bidimensional El isoelectroenfoque se puede combinar con la SDS-PAGE para conseguir separaciones con una resolución elevada. En primer lugar, se somete una única muestra a isoelectroenfoque. Después, este gel con una sola calle se coloca hori-

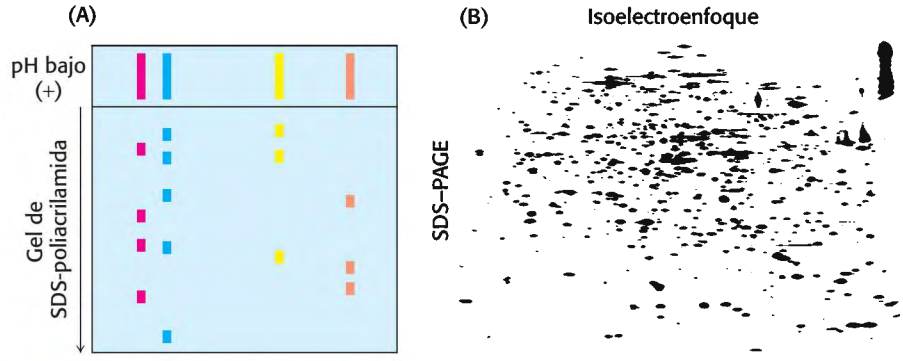


Figura 5.11 Electroforesis bidimensional. (A) En primer lugar, se fracciona una muestra proteica mediante isoelectroenfoque en una dirección, tal y como se describe en la Figura 5.10. A continuación, se superpone el gel de isoelectroenfoque sobre un gel de poliacrilamida-SDS y se lleva a cabo una electroforesis en la segunda dirección, perpendicular a la separación original. Las proteínas con el mismo valor de pI se separan ahora en función de su masa. (B) Mediante electroforesis bidimensional se separaron las proteínas de *E. coli*, pudiéndose diferenciar más de un millar de proteínas distintas. En primer lugar, se separaron las proteínas en función de su pH isoeléctrico en la dirección horizontal y, posteriormente, en función de sus masas aparentes en la dirección vertical. [(B) Cortesía del Dr. Patrick H. O'Farrell.]

zontalmente sobre una lámina de SDS-poliacrilamida y se somete de nuevo a electroforesis, en una dirección perpendicular a la del isoelectroenfoque, para obtener un patrón de manchas bidimensional. En este tipo de gel, las proteínas se han separado horizontalmente en función de su punto isoeléctrico y verticalmente en función de su masa. En un único experimento de *electroforesis bidimensional* se pueden separar más de mil proteínas diferentes de la bacteria *Escherichia coli* (Figura 5.11).

Se pueden someter a electroforesis bidimensional proteínas obtenidas a partir de células en distintas condiciones fisiológicas. Después se puede comparar la intensidad de cada mancha individual en los geles y así saber si la concentración de determinadas proteínas ha cambiado en respuesta a un cambio en el estado fisiológico (Figura 5.12). ¿Cómo podemos averiguar la identidad de una proteína que muestre este tipo de respuesta? Aunque en un gel bidimensional aparecen muchas proteínas, no todas ellas están identificadas. Hoy en día es posible identificar proteínas acoplando la electroforesis en gel bidimensional con la espectrometría de masas, una técnica muy sensible a la hora de determinar la masa exacta de las proteínas presentes en una muestra determinada.

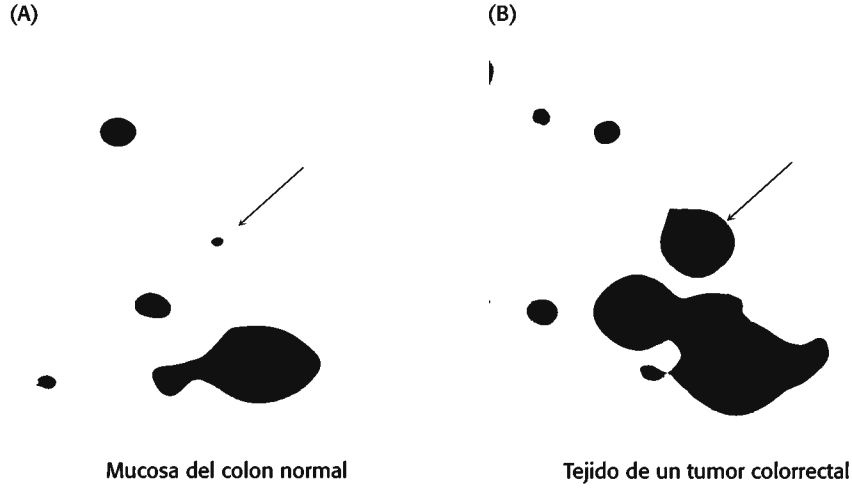


Figura 5.12 Alteraciones en los niveles de proteína detectados mediante electroforesis bidimensional. Mediante electroforesis bidimensional se analizaron muestras de (A) mucosa normal del colon y (B) tejido de un tumor colorrectal de una misma persona. En la sección del gel mostrada, son evidentes los cambios en la intensidad de varias manchas, incluyendo un espectacular incremento en los niveles de la proteína señalada con una flecha, que corresponde a la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa. [Cortesía de Lin Quinsong © 2010, The American Society for Biochemistry and Molecular Biology.]

Tabla 5.1 Cuantificación de un protocolo de purificación para una proteína ficticia

Etapa	Proteína total (mg)	Actividad total (unidades)	Actividad específica (unidades mg^{-1})	Rendimiento (%)	Grado de purificación
Homogeneización	15.000	150.000	10	100	1
Fraccionamiento salino	4.600	138.000	30	92	3
Cromatografía de intercambio iónico	1.278	115.500	90	77	9
Cromatografía de filtración en gel	68,8	75.000	1.100	50	110
Cromatografía de afinidad	1,75	52.500	30.000	35	3.000

Un protocolo de purificación se puede evaluar de forma cuantitativa

Normalmente, mediante una combinación de técnicas de purificación se puede obtener una proteína pura. Para determinar el éxito de un protocolo de purificación de proteínas monitorizamos el proceso en cada etapa midiendo la actividad específica y realizando un análisis de SDS-PAGE. Veamos los resultados de la purificación de una proteína ficticia, resumidos en la Tabla 5.1 y en la Figura 5.13. En cada etapa se miden los siguientes parámetros:

- *Proteína total.* La cantidad de proteína presente en una fracción se obtiene determinando la concentración de proteína en una parte alícuota de esa fracción y multiplicando este valor por el volumen total de la fracción.
- *Actividad total.* La actividad enzimática de la fracción se calcula midiendo la actividad enzimática de una parte alícuota de esa fracción y multiplicando este valor por el volumen total de la fracción.

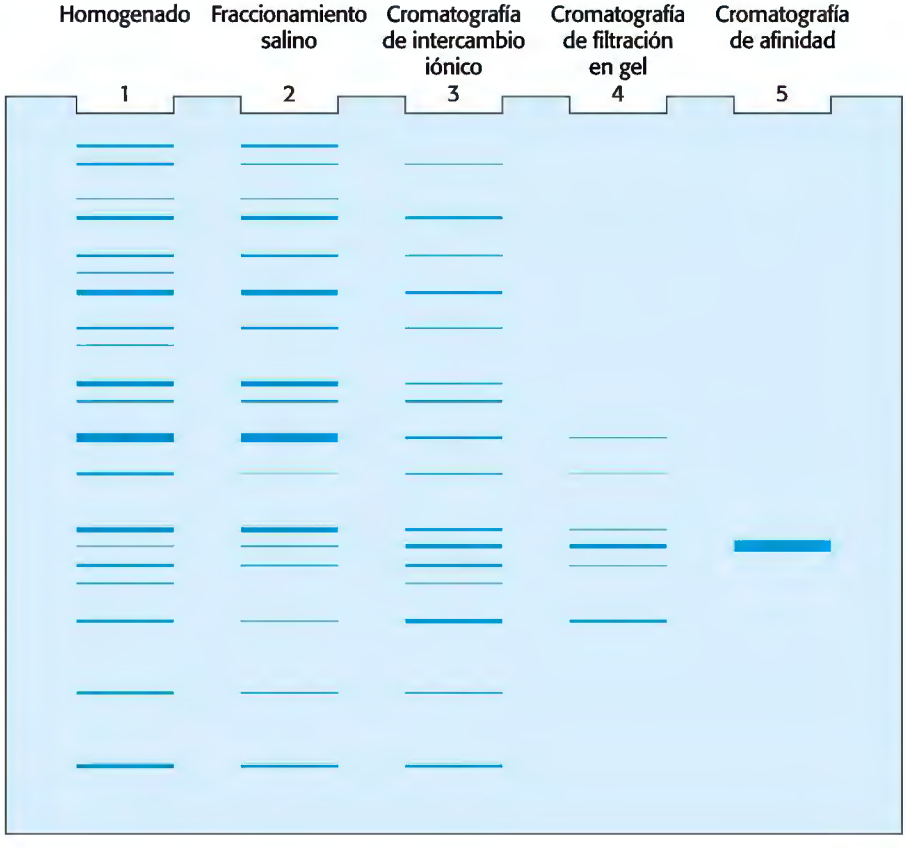


Figura 5.13 Análisis electroforético de la purificación de una proteína. El esquema de purificación de la Tabla 5.1 se analizó mediante SDS-PAGE. Cada calle contenía 50 μg de muestra. La eficacia de la purificación se puede observar a simple vista, ya que la banda de la proteína de interés se hace más prominente en comparación con las otras bandas.

- *Actividad específica*. Este parámetro, que se obtiene dividiendo la actividad total entre la proteína total, nos permite medir el grado de purificación comparando las actividades específicas determinadas después de cada paso de la purificación. Recordemos que el objetivo de un protocolo de purificación consiste en maximizar la actividad específica.
- *Rendimiento*. Este parámetro es una medida de la actividad total existente tras cada paso de la purificación, expresada como porcentaje de la actividad del extracto crudo. Se considera que la actividad del extracto inicial es del 100%.
- *Grado de purificación*. Este parámetro es una medida del incremento de la pureza y se obtiene dividiendo la actividad específica, calculada después de cada paso de la purificación, entre la actividad específica del extracto inicial.

Tal y como se observa en la Tabla 5.1, varios pasos de purificación permiten conseguir un grado de purificación de varios miles. Inevitablemente, en cada paso de la purificación se pierde parte de la proteína que nos interesa de modo que nuestro rendimiento global es del 35%. Un buen protocolo de purificación no solo tiene en cuenta el grado de purificación sino también el rendimiento.

La SDS-PAGE de la Figura 5.13 muestra que, si tras cada paso de la purificación cargamos la misma cantidad de proteína en cada calle, el número de bandas disminuye en proporción con el grado de purificación, y la cantidad de la proteína que nos interesa aumenta en relación con la cantidad total de proteína presente.

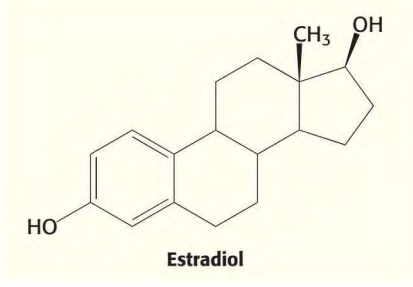
? PREGUNTA RÁPIDA 2 ¿Qué diferencias físicas entre proteínas permiten su purificación?

✓ 5 Explicar cómo se pueden utilizar las técnicas inmunológicas para purificar e identificar proteínas.

5.3 Para purificar y caracterizar proteínas se utilizan técnicas inmunológicas

En el caso de las enzimas, el ensayo consiste en una medida de la actividad enzimática —la desaparición de sustrato o la aparición de producto. Veamos la purificación de otro tipo de proteínas, el receptor de estrógenos. Al hacerlo, aprenderemos algunas técnicas más de caracterización bioquímica y comprobaremos el poder de las técnicas inmunológicas.

El receptor de estrógenos es una proteína que se une a la hormona esteroidea femenina estradiol (un estrógeno) para, posteriormente, regular la expresión de los genes que intervienen en el desarrollo del fenotipo femenino. Pero el receptor de estrógenos carece de actividad enzimática. ¿Cómo podemos detectar su presencia? Podemos abordar esta cuestión haciéndonos otra pregunta: ¿Cuál es la propiedad más característica del receptor de estrógenos? En los tejidos sensibles a los estrógenos, el receptor de estrógenos es la única proteína presente que puede unirse con una elevada afinidad al estradiol. Podemos aprovechar esta propiedad exclusiva exponiendo una mezcla que contenga el receptor a estradiol marcado radioactivamente. Como el receptor de estrógenos posee una afinidad tan alta hacia el estradiol, será la única proteína de la célula que se una a este esteroide radioactivo. ¿Cómo sabemos si el receptor se ha unido a este esteroide? Para responder a esta pregunta se necesita la segunda parte de nuestro ensayo —un método que permita detectar el complejo estradiol-receptor. Una técnica muy práctica para detectarlo es la denominada *centrifugación zonal*, *centrifugación en gradiente de densidad* o, más frecuentemente, *centrifugación en gradiente*.



Estradiol

La centrifugación es una técnica que permite separar proteínas

Previamente, hemos estudiado la técnica de centrifugación diferencial, que se utiliza para fraccionar la célula en varios componentes que contienen distintos orgánulos. Ahora veremos la ultracentrifugación, que es capaz de separar complejos moleculares mucho más pequeños. Cuando se someten a una fuerza centrífuga, las proteínas o los complejos proteicos se moverán en un medio líquido. La velocidad a la que se desplazarán estos complejos o partículas al someterlos a este tipo de fuerza viene determinada por tres características fundamentales: la masa, la densidad y la forma. Un método práctico para cuantificar la velocidad de movimiento consiste en calcular el *coeficiente de sedimentación*, *s*, de una partícula mediante la siguiente ecuación:

$$s = m(1 - \bar{v}\rho)/f$$

Tabla 5.2 Coeficientes de sedimentación (S) y pesos moleculares de algunas proteínas

Proteína	Valor S (unidades Svedberg)	Peso molecular
Inhibidor de la tripsina pancreática	1	6.520
Citocromo *c*	1,83	12.310
Ribonucleasa A	1,78	13.690
Mioglobina	1,97	17.800
Tripsina	2,5	23.200
Anhidrasa carbónica	3,23	28.800
Concanavalina A	3,8	51.260
Malato deshidrogenasa	5,76	74.900
Lactato deshidrogenasa	7,54	146.200

donde m es la masa de la partícula, $\bar{v}$ es el volumen parcial específico (el inverso de la densidad de la partícula), ρ es la densidad del medio y f es el coeficiente de fricción (una medida de la forma de la partícula). El término $(1 - \bar{v}\rho)$ es la fuerza del empuje que ejerce el medio líquido.

Los coeficientes de sedimentación se expresan normalmente en unidades denominadas *Svedberg* (S), que equivalen a 10^{-13} *s*. Cuanto más pequeño sea el valor S, más lentamente se desplaza una molécula en un campo centrífugo. En la Tabla 5.2 se recogen los valores S de una serie de proteínas.

A partir de la ecuación anterior se pueden sacar algunas conclusiones importantes:

1. La velocidad de sedimentación de una partícula depende, en parte, de su masa. Una partícula más voluminosa sedimentará más rápidamente que una partícula menos voluminosa que tenga la misma forma y densidad.
2. La forma también influye sobre la velocidad de sedimentación porque afecta a la resistencia debida a la viscosidad. El coeficiente de fricción f de una partícula compacta es menor que el de una partícula extendida de igual masa. Por tanto, las partículas alargadas sedimentan más despacio que las partículas esféricas de igual masa.
3. Una partícula densa se mueve más rápidamente que una partícula menos densa porque la fuerza de empuje que se opone al movimiento $(1 - \bar{v}\rho)$ es menor en el caso de la partícula más densa.
4. La velocidad de sedimentación también depende de la densidad de la disolución (ρ). Las partículas se hunden cuando $\bar{v}\rho < 1$, flotan cuando $\bar{v}\rho > 1$ y no se mueven cuando $\bar{v}\rho = 1$.

El ensayo que detecta la presencia del complejo estradiol-receptor consiste en una centrifugación en gradiente

¿Cómo analizamos la velocidad de movimiento de una proteína en un campo centrífugo? El primer paso consiste en formar un gradiente de densidad en un tubo de centrífuga. Para crear un gradiente lineal de la concentración de sacarosa que varíe desde el 20% en el fondo del tubo hasta el 5% en su parte superior, se mezclan distintas proporciones de una disolución de baja densidad (p. ej., sacarosa al 5%) y de una disolución de densidad elevada (p. ej., sacarosa al 20%) (Figura 5.14). El papel del gradiente es doble. Por un lado, el gradiente estabiliza el líquido e impide el movimiento de líquido

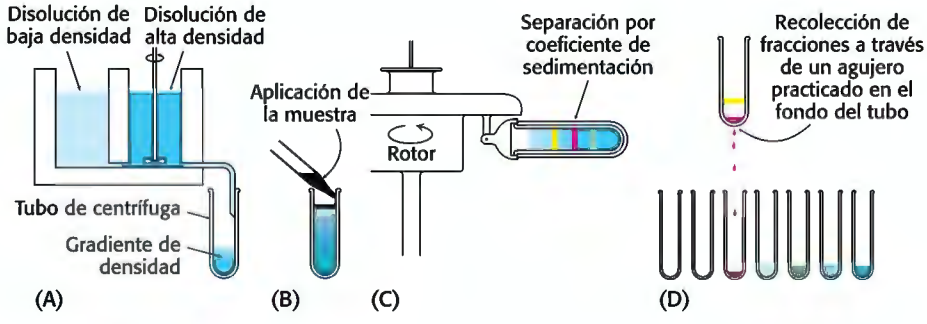


Figura 5.14 Centrifugación zonal. Las etapas son las siguientes: (A) se forma un gradiente de densidad, (B) se aplica la muestra encima del gradiente, (C) se coloca el tubo en un rotor basculante y se centrifuga y (D) se recogen las muestras. [Tomado de D. Freifelder, *Physical Biochemistry*, 2.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 1982), p. 397.]

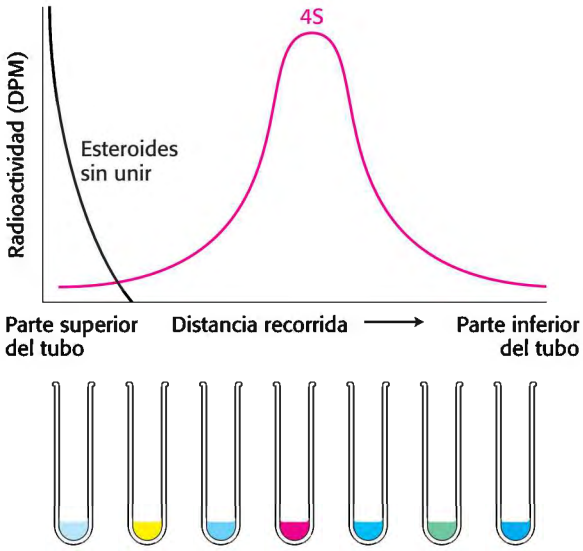


Figura 5.15 Análisis mediante centrifugación en gradiente del complejo estradiol-receptor. Durante la centrifugación, la proteína receptora unida al estradiol radioactivo avanza a través del gradiente. Aunque parte del estradiol no unido difunde hacia el gradiente, el esteroide no recorre una distancia significativa. Abreviatura: DPM, desintegraciones por minuto.

por convección. Por otra parte, la resistencia al movimiento debida a la densidad cada vez mayor del gradiente ayuda a mejorar la separación de los componentes de la mezcla.

A continuación, se coloca en la parte superior del gradiente de densidad un pequeño volumen de la disolución que contiene la mezcla de proteínas que queremos separar, y que incluye al complejo estradiol-receptor marcado radiactivamente. Cuando el rotor empieza a girar, las proteínas se mueven a través del gradiente y se separan en función de sus coeficientes de sedimentación. El tiempo y la velocidad de centrifugación se determinan empíricamente. Las bandas de proteína separadas, o zonas, se pueden recoger haciendo un agujero en el fondo del tubo y recogiendo la disolución gota a gota. Las gotas se pueden analizar para medir el contenido de proteína y la actividad catalítica o cualquier otra propiedad funcional. En el caso del receptor de estrógenos se mide la radioactividad. La Figura 5.15 muestra la radioactividad de cada fracción después de la centrifugación. El estradiol marcado radioactivamente que no se ha unido es demasiado pequeño como para desplazarse cuando está sometido a fuerza centrífuga. En consecuencia, la radioactividad tiene que estar asociada al receptor. Una comparación con sustancias estándar permitió determinar que el valor S del receptor era 4. Sin embargo, cientos de proteínas presentan un valor S en torno a 4. Por tanto, aunque el perfil de radioactividad solo muestra al receptor, en realidad hay muchas otras proteínas en la misma región del tubo de centrífuga. Aunque solo podamos "ver" al receptor, todavía se trata de una colección impura de proteínas.

Ahora que tenemos un ensayo para el receptor, necesitamos diseñar una estrategia para purificar el receptor. Como ya se visto que resulta difícil purificar esta proteína utilizando los métodos descritos anteriormente, utilizaremos técnicas inmunológicas. Estas técnicas proporcionan una poderosa herramienta para estudiar cualquier aspecto de los procesos bioquímicos y, con frecuencia, constituyen el método preferido para la purificación de proteínas. Empezaremos considerando, en primer lugar, algunas propiedades inmunológicas y, después, seguiremos con la técnica que permite obtener anticuerpos monoclonales.

Se pueden generar anticuerpos contra proteínas específicas

Las técnicas inmunológicas comienzan con la generación de anticuerpos contra una proteína concreta. Un *anticuerpo* (también denominado *inmunoglobulina*, Ig; Figura 5.16) es una proteína que sintetiza un animal en respuesta a la presencia de una sustancia foránea, denominada *antígeno*. Los anticuerpos tienen una afinidad específica y elevada hacia los antígenos que motivaron su síntesis. La unión de un anticuerpo y un antígeno es una de las etapas de la respuesta inmunitaria que protege al animal de infecciones. Proteínas, polisacáridos y ácidos nucleicos pueden ser antígenos eficaces. Cuando el antígeno es una proteína, un anticuerpo reconoce un grupo más o menos grande de aminoácidos específicos de la molécula diana que se denomina *determinante antigénico* o *epítopo* (Figura 5.17). Los animales presentan un repertorio muy amplio de células productoras de anticuerpos, cada una de las cuales produce un anticuerpo con una única especificidad. La unión del antígeno

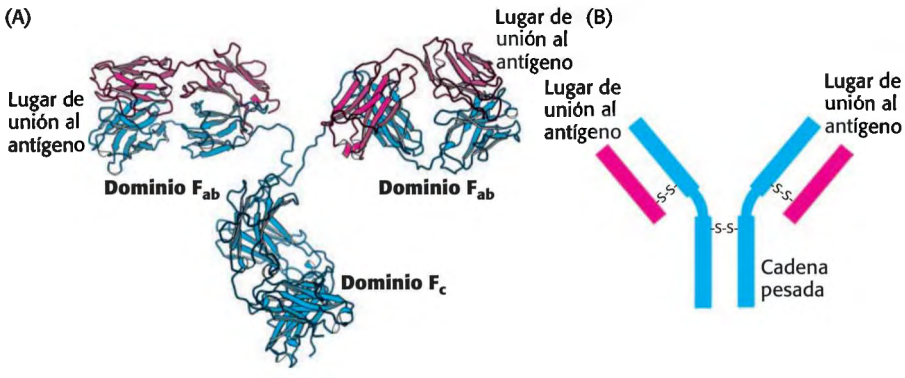


Figura 5.16 Estructura de los anticuerpos. (A) La inmunoglobulina G (IgG) consta de cuatro cadenas, dos cadenas pesadas (en color azul) y dos cadenas ligeras (en color rojo), conectadas mediante puentes disulfuro. Las cadenas pesadas y ligeras se juntan para formar los dominios F_{ab} en cuyos extremos se encuentran los lugares de unión al antígeno. Las dos cadenas pesadas forman el dominio F_c. *Observe* que los dominios F_{ab} se encuentran unidos al dominio F_c mediante conectores flexibles. (B) Representación esquemática de una molécula de IgG. [Elaborada a partir de 1IGT.pdb.]

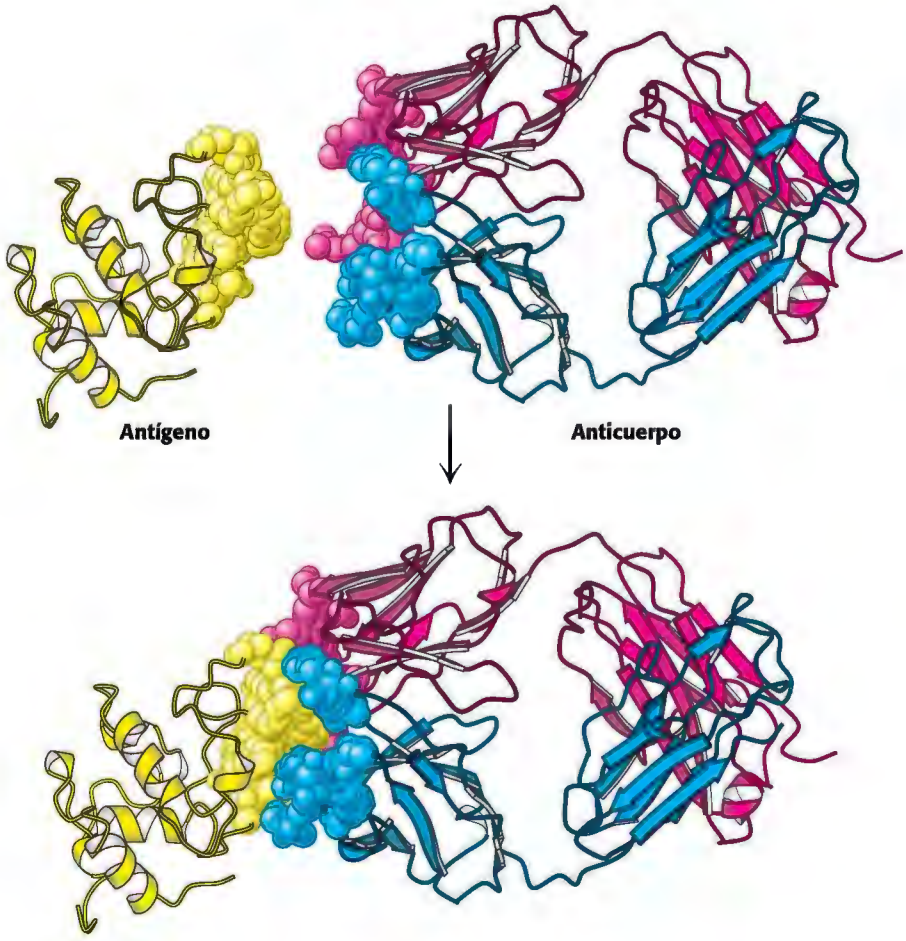


Figura 5.17 Interacciones antígeno-anticuerpo. Un antígeno proteico —la lisozima, en este caso— se une al extremo de un dominio F_{ab} de un anticuerpo. *Observe* que los extremos del anticuerpo y del antígeno tienen formas complementarias, lo que permite que una superficie muy amplia quede oculta tras la unión. [Elaborada a partir de 3HFL.pdb.]

al anticuerpo estimula la proliferación del pequeño número de células que ya había estado formando un anticuerpo capaz de reconocer al antígeno.

Las técnicas inmunológicas dependen de la capacidad para generar anticuerpos contra un antígeno concreto. Para obtener anticuerpos que reconozcan una proteína particular, un bioquímico inyecta la proteína en un conejo. La proteína inyectada estimula la reproducción de las células que producen anticuerpos que la reconocen. Algunas semanas más tarde, se extrae sangre del ratón inmunizado y se centrifuga para separar las células sanguíneas del sobrenadante o suero. El suero, denominado *antisuero*, contiene anticuerpos contra todos los antígenos a los que ha estado expuesto el conejo. Solo algunos de ellos serán anticuerpos contra la proteína inyectada. Además, en muchos casos, muchos tipos distintos de anticuerpos pueden unirse a una única proteína. Por ejemplo, consideremos lo que ocurre cuando se utiliza el 2,4-dinitrofenol (DNP) como antígeno para la generación de anticuerpos. El análisis de los anticuerpos anti-DNP puso de manifiesto una amplia gama de afinidades de unión; las constantes de disociación oscilaban entre 0,1 nM y 1 μM. En consecuencia, cuando se sometió al anticuerpo anti-DNP a isoelectroenfoque (pp. 73-74) se observó un gran número de bandas. Estos resultados indican que los animales producen muchos anticuerpos distintos y que cada uno de ellos reconoce una característica superficial diferente en el mismo antígeno. Los anticuerpos son heterogéneos, o *policlonales* (**Figura 5.18**). La heterogeneidad de los anticuerpos policlonales puede ser ventajosa en el caso de ciertas aplicaciones, como la detección de proteínas que estén presentes en cantidad reducida, porque cada molécula de proteína puede unirse a más de un anticuerpo por muchos lugares antigénicos distintos.

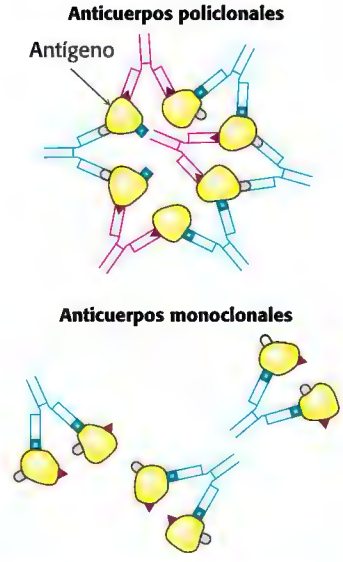


Figura 5.18 Anticuerpos policlonales y monoclonales. La mayoría de los antígenos presentan varios epítopos. Los anticuerpos policlonales son mezclas heterogéneas de anticuerpos, en las que cada anticuerpo es específico para uno de los diversos epítopos que tiene un antígeno. Los anticuerpos monoclonales son todos idénticos, ya que han sido producidos por clones de una única célula productora de anticuerpos. [Tomado de R. A. Goldsby, T. J. Kindt y B. A. Osborne, *Kuby Immunology*, 4.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2000), p. 154.]

Es posible preparar de forma sencilla anticuerpos monoclonales con prácticamente cualquier tipo de especificidad que deseemos

El descubrimiento de un método para producir *anticuerpos monoclonales* con prácticamente cualquier tipo de especificidad que deseemos fue un importante paso hacia adelante que intensificó el poder de las estrategias inmunológicas. Trabajar con una

mezcla impura de anticuerpos dificulta la interpretación de los datos, igual que cuando se trabaja con una mezcla impura de proteínas. Pero en lugar de separar el anticuerpo diana de la mezcla, del mismo modo en que separaríamos una proteína diana de una mezcla de moléculas, resulta más eficaz para nuestro experimento aislar un grupo de células idénticas que produzcan un único tipo de anticuerpos. El problema radica en que, *in vitro*, las células productoras de anticuerpos mueren al cabo de poco tiempo, dejándonos con poco producto para trabajar.

Existen líneas celulares inmortales que producen anticuerpos monoclonales. Estas líneas celulares proceden de un tipo de cáncer, un *mieloma múltiple*, una enfermedad maligna de las células productoras de anticuerpos. En este tipo de cáncer, una única célula del plasma transformada se divide de forma incontrolada, generando un número muy elevado de células de un solo tipo. Este grupo de células es un *clon* porque todas las células descienden de la misma célula y presentan propiedades idénticas. Las células idénticas del mieloma segregan, generación tras generación, gran cantidad de *anticuerpos normales de un único tipo*. Sin embargo, aunque estos anticuerpos fueron útiles a la hora de esclarecer la estructura de los anticuerpos, nada se sabe sobre su especificidad, lo que les hace inútiles para los métodos inmunológicos que se describen a continuación.

César Milstein y Georges Köhler decubrieron que se pueden obtener grandes cantidades de anticuerpos homogéneos con prácticamente cualquier especificidad que deseemos fusionando una célula productora de anticuerpos de vida corta con una célula inmortal de mieloma. Se inyecta un antígeno en un ratón y, varias semanas después, se le extrae el bazo, un tejido que produce anticuerpos (Figura 5.19). Una mezcla de células del plasma procedentes del bazo se fusiona *in vitro* con células de mieloma. Cada una de las células híbridas resultantes, o *células hibridoma*, produce

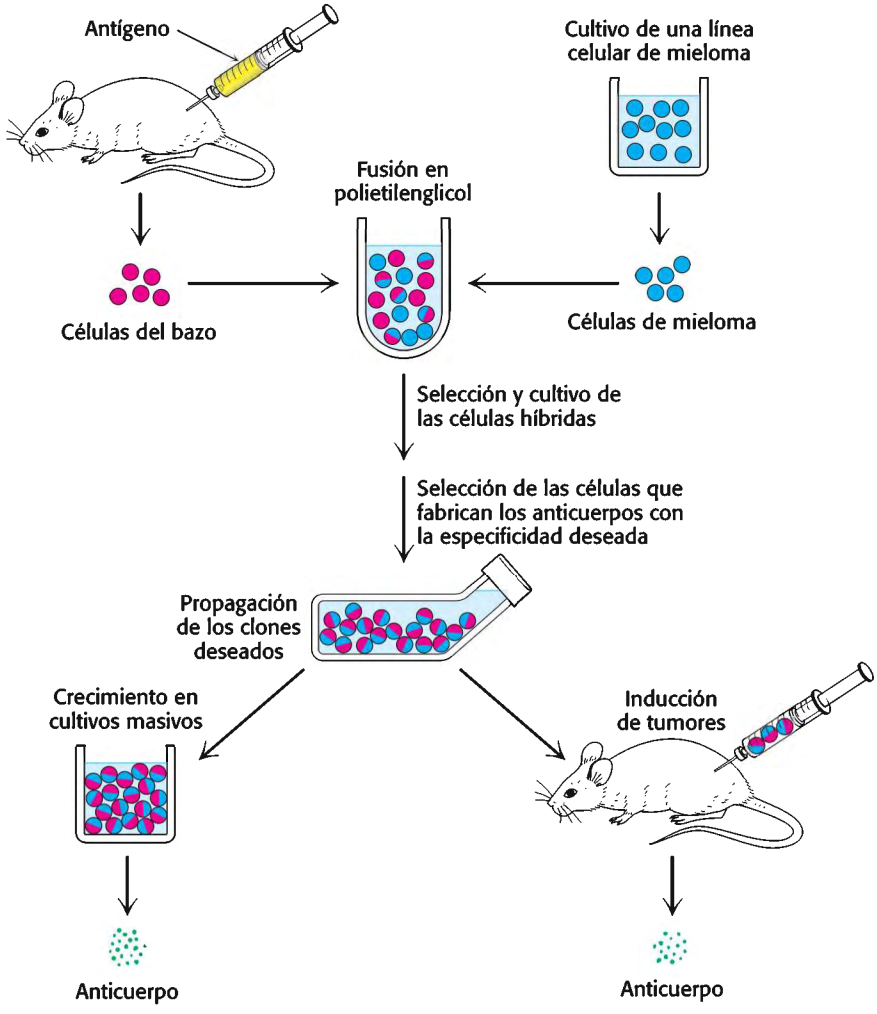


Figura 5.19 Preparación de anticuerpos monoclonales. Las células de hibridoma se forman mediante la fusión de células productoras de anticuerpos y células de mieloma. Se deja que proliferen las células híbridas haciéndolas crecer en un medio selectivo. Se las somete a un escrutinio para determinar cuáles son las que producen el anticuerpo con la especificidad deseada. [Tomado de C. Milstein. Monoclonal antibodies. Copyright © 1980, Scientific American, Inc. Todos los derechos reservados].

indefinidamente los mismos anticuerpos especificados por la célula parental del bazo. Se producirán células hibridoma para todas las proteínas inyectadas en el ratón. Posteriormente se puede hacer un escrutinio de las células, utilizando algún tipo de ensayo específico para la interacción antígeno-anticuerpo, para determinar cuáles son las que producen anticuerpos con la especificidad deseada. Este proceso se repite hasta que se consige aislar una línea celular pura, es decir, un clon que produzca un único tipo de anticuerpo.

Ahora, nuestro objetivo consiste en generar un anticuerpo monoclonal contra el receptor de estrógenos y, después, utilizar el anticuerpo para aislar el receptor. Para ello, inyectamos una pequeña cantidad de citosol procedente del útero de la rata y generamos células hibridoma como acabamos de describir. Tenemos ahora una población de anticuerpos, algunos de los cuales serán específicos contra el receptor de estrógenos. ¿Cómo podemos detectar los anticuerpos específicos para el receptor de estrógenos? Una vez más, utilizaremos la técnica de centrifugación en gradiente. Podemos pensar que, si mezclamos la preparación de anticuerpos con el citosol que contenga el complejo estradiol-receptor marcado radioactivamente, algún anticuerpo se unirá al receptor de estrógenos. Esta unión debería alterar el perfil de sedimentación que se obtenga tras centrifugar el complejo estradiol-receptor marcado radioactivamente. De hecho, eso es lo que sucede. Tras incubar el complejo estradiol-receptor con anticuerpos, el complejo formado por el esteroide radioactivo y el receptor de estrógenos sedimenta a 9S en un gradiente de sacarosa cuando se encuentra asociado al anticuerpo (**Figura 5.20**). Se hace un escrutinio de la población de células productoras de anticuerpo para detectar aquellas que están produciendo los anticuerpos que se unen al complejo estradiol-receptor. Tras varios escrutinios, obtendremos una línea celular pura —una línea celular monoclonal— que solo produce un anticuerpo, denominado *anticuerpo monoclonal*, contra el receptor de estrógenos.

Los laboratorios clínicos utilizan anticuerpos monoclonales en multitud de ensayos. Por ejemplo, la detección en la sangre de enzimas que normalmente están localizadas en el corazón es un indicio de infarto de miocardio (ataque al corazón). Las transfusiones sanguíneas se han hecho más seguras analizando la sangre de los donantes en busca de virus que puedan provocar SIDA, hepatitis u otras enfermedades infecciosas. Los anticuerpos monoclonales también se pueden utilizar como agentes terapéuticos. Por ejemplo, el trastuzumab (cuyo nombre comercial es Herceptin) es un anticuerpo monoclonal muy útil para el tratamiento de varios tipos de cáncer de mama.

El receptor de estrógenos se puede purificar mediante inmunoprecipitación

¿Cómo se puede utilizar un anticuerpo monoclonal puro contra el receptor de estrógenos para aislar el receptor de estrógenos puro a partir de la enorme cantidad de proteínas presentes en el citosol de la célula? Básicamente, podemos pescar el receptor de estrógenos utilizando como cebo estos anticuerpos monoclonales. El anticuerpo monoclonal se puede unir covalentemente a bolitas insolubles hechas de poliacrilamida o de polisacáridos. Se añaden las bolitas unidas a anticuerpos a una pequeña cantidad de citosol y se agita la mezcla suavemente durante unas horas (**Figura 5.21**). Durante esta incubación, solo el receptor de estrógenos se unirá al anticuerpo. Después, se centrifuga la mezcla, y entonces las bolitas, junto con el complejo anticuerpo-antígeno unido, formarán un precipitado en el fondo del tubo de centrífuga. El sobrenadante, que contiene todas las proteínas distintas del receptor de estrógenos, se desecha. A continuación, se resuspende el precipitado en tampón y se vuelve a centrifugar para eliminar todas aquellas proteínas que pudieran haber quedado atrapadas entre las bolitas durante el proceso de centrifugación. Por último, la adición a la mezcla de un agente desnaturalizante de proteínas hace que el receptor de estrógenos se despegue del anticuerpo. Se vuelve a centrifugar la muestra, pero esta vez el receptor de estrógenos permanece en el sobrenadante. Se recoge el sobrenadante y se utiliza como material de partida para obtener el receptor. Esta técnica, denominada *inmunoprecipitación*, es parecida a la cromatografía de afinidad descrita anteriormente, pero se diferencia en que en este caso, el material unido a la matriz —el anticuerpo— presenta una elevada afinidad hacia las proteínas que circularán por ella.

Detengámonos un momento para admirar lo que hemos conseguido. Utilizamos una mezcla impura de proteínas que contenía el receptor de estrógenos para generar una mezcla heterogénea de células productoras de anticuerpos, una pequeña fracción de las cuales están produciendo anticuerpos contra el receptor de estrógenos. A continuación, nos aprovechamos de dos interacciones bioquímicas de gran especificidad —entre el receptor y el estradiol y entre el receptor y su anticuerpo— para purificar, en primer lugar, un anticuerpo monoclonal y, después, el propio receptor.

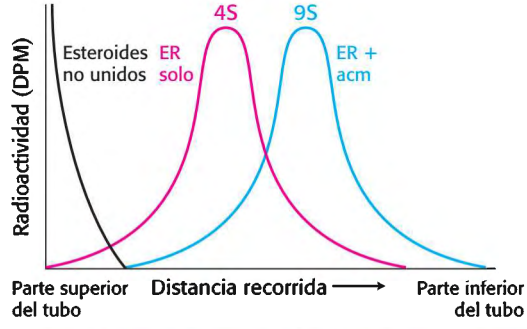


Figura 5.20 Alteración del perfil de sedimentación por la unión del anticuerpo al receptor proteico. El complejo estradiol-receptor-anticuerpo recorre más distancia en el tubo de centrífuga porque es más grande que el complejo estradiol-receptor solo. Abreviaturas: DPM, desintegraciones por minuto; ER, complejo estradiol-receptor; acm, anticuerpo monoclonal.

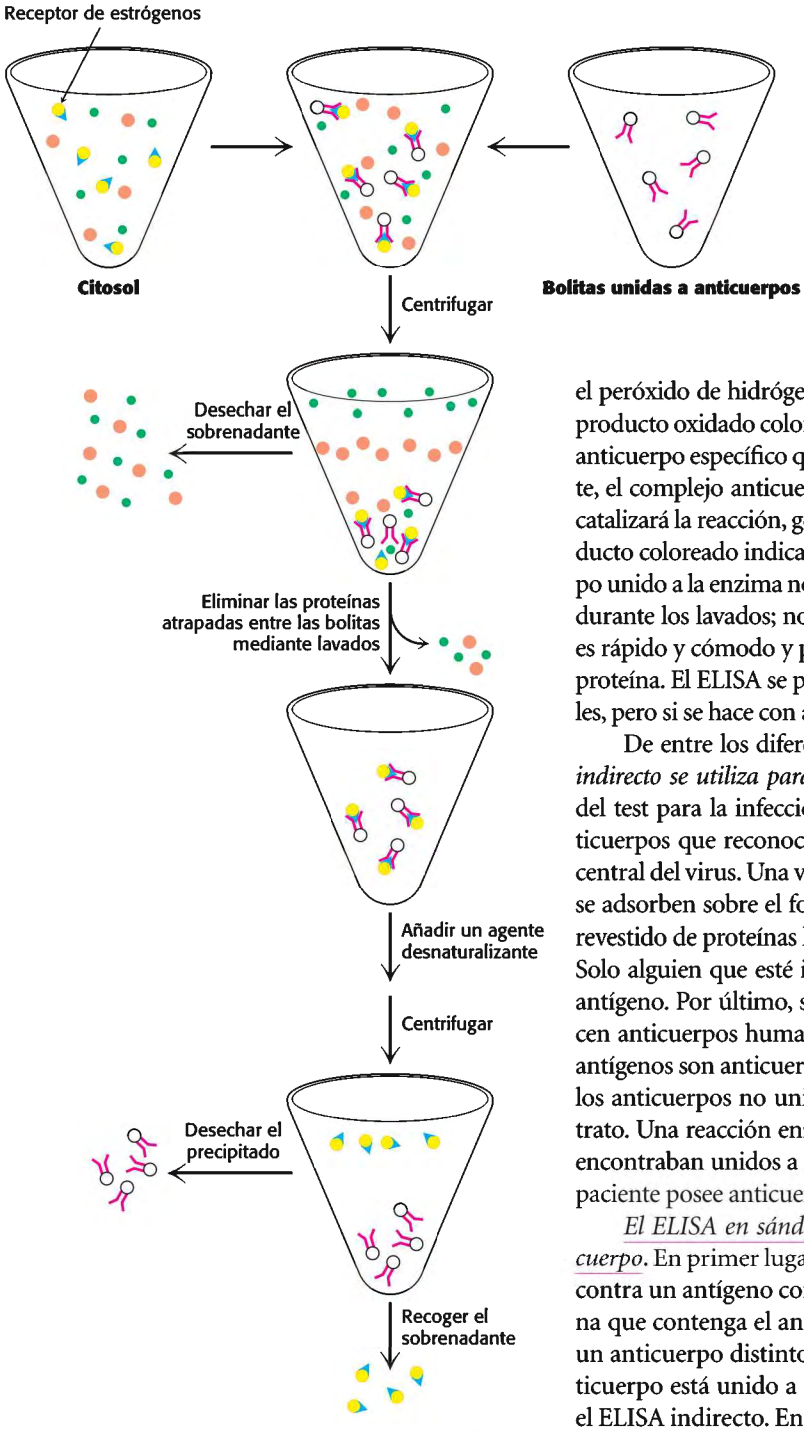


Figura 5.21 Purificación mediante inmunoprecipitación. A una preparación de citosol que contenga el receptor se le añade un anticuerpo monoclonal contra el receptor de estrógenos. El anticuerpo se encuentra unido a una bolita insoluble. A continuación, se agita la mezcla suavemente durante varias horas para dejar que el receptor y el anticuerpo interaccionen. Se centrifuga la mezcla y se desecha el sobrenadante. Se resuspende el precipitado en tampón para hacer un lavado que elimine cualquier componente del citosol que haya quedado atrapado entre las bolitas. Se vuelve a recoger el precipitado y se desecha el sobrenadante. Se trata el complejo anticuerpo-receptor con un agente desnaturalizante. Tras una centrifugación, el sobrenadante contiene el receptor de estradiol puro.

Se pueden detectar y cuantificar proteínas mediante un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

Los anticuerpos no solo ayudan durante la purificación de proteínas sino que también pueden utilizarse como reactivos para cuantificar la cantidad de una proteína u otro antígeno. La técnica se denomina *ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas* (ELISA). Este método utiliza una enzima que reacciona con un sustrato incoloro para generar un producto coloreado. Por ejemplo, la peroxidasa reacciona con el peróxido de hidrógeno y un sustrato cromogénico reducido para generar un producto oxidado coloreado. La enzima se encuentra unida covalentemente a un anticuerpo específico que reconoce un antígeno diana. Si el antígeno está presente, el complejo anticuerpo-enzima se unirá a él; al añadir el sustrato, la enzima catalizará la reacción, generando el producto coloreado. Así, la presencia del producto coloreado indica la presencia del antígeno. Si no hay antígeno, el anticuerpo unido a la enzima no se puede unir a nada y desaparecerá del tubo de reacción durante los lavados; no se generará color cuando se añada el sustrato. El ELISA es rápido y cómodo y puede detectar menos de un nanogramo (10^{-9} g) de una proteína. El ELISA se puede realizar con anticuerpos policlonales o monoclonales, pero si se hace con anticuerpos monoclonales los resultados son más fiables.

De entre los diferentes tipos de ELISA, vamos a considerar dos. *El ELISA indirecto se utiliza para detectar la presencia de anticuerpo* y es el fundamento del test para la infección por VIH. El test del VIH detecta la presencia de anticuerpos que reconocen como antígenos a las proteínas presentes en la parte central del virus. Una vez purificadas, estas proteínas de la parte central del virus se adsorben sobre el fondo de un pocillo. A continuación, se añaden al pocillo revestido de proteínas los anticuerpos de la persona que se está haciendo el test. Solo alguien que esté infectado por el VIH tendrá anticuerpos que se unan al antígeno. Por último, se deja que anticuerpos unidos a enzimas y que reconocen anticuerpos humanos (p. ej., anticuerpos de cabra unidos a enzima cuyos antígenos son anticuerpos humanos) reaccionen en pocillo, y luego se eliminan los anticuerpos no unidos mediante lavados. A continuación, se añade el sustrato. Una reacción enzimática sugiere que los anticuerpos unidos a enzima se encontraban unidos a los anticuerpos humanos lo que, a su vez, implica que el paciente posee anticuerpos contra el antígeno viral (Figura 5.22).

El ELISA en sándwich se utiliza para detectar el antígeno en vez del anticuerpo. En primer lugar, se adsorbe sobre el fondo de un pocillo un anticuerpo contra un antígeno concreto. A continuación, se añade al pocillo sangre u orina que contenga el antígeno y este se une al anticuerpo. Por último, se añade un anticuerpo distinto dirigido contra ese mismo antígeno. Este segundo anticuerpo está unido a una enzima y se procesa tal y como se ha descrito para el ELISA indirecto. En este caso, la cantidad de color formado es directamente proporcional a la cantidad de antígeno presente. En consecuencia, permite medir pequeñas cantidades de antígeno (ver la Figura 5.22).

La transferencia *Western* permite detectar proteínas que han sido previamente separadas por electroforesis en gel

El ELISA es una técnica potente para tratar de detectar la presencia de determinados anticuerpos o antígenos en un gran número de muestras. Otra técnica de inmunoensayo, denominada transferencia *Western* (*Western blotting*) o inmunotransferencia (*inmmunoblotting*) permite detectar cantidades muy pequeñas de una proteína que nos interese en una célula o en un fluido corporal (Figura 5.23). La transferencia *Western* también permite determinar el tamaño de la proteína diana. Un paso clave de la transferencia *Western* consiste en someter la muestra que se está investigando a electroforesis en un gel de SDS-poliacrilamida para separar las proteínas individuales (p. 72).

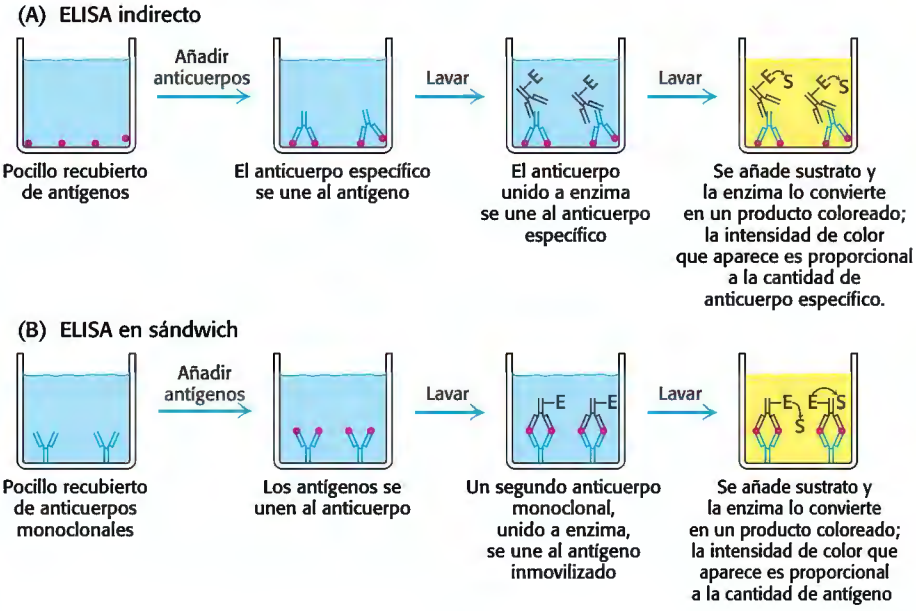


Figura 5.22 ELISA indirecto y ELISA en sándwich. (A) En el ELISA indirecto, la producción de color indica la cantidad de anticuerpo contra un antígeno específico. (B) En el ELISA en sándwich, la producción de color indica la cantidad de antígeno. [Tomada de R. A. Goldsby, T. J. Kindt y B. A. Osborne, *Kuby Immunology*, 4.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2000), p. 162.]

¿Cómo podemos detectar la presencia de la proteína que nos interesa? En principio, podríamos sumergir el gel en una disolución de anticuerpo y detectar la proteína. Sin embargo, los anticuerpos son demasiado grandes como para penetrar en el gel. Para hacer que las proteínas sean accesibles al anticuerpo, las proteínas separadas en el gel se transfieren a la superficie de una lámina de polímero por medio de una corriente eléctrica. Luego, se añade sobre la lámina un anticuerpo específico para la proteína que nos interesa a fin de que reaccione con el antígeno. Posteriormente, se puede detectar la presencia sobre la lámina del complejo anticuerpo-antígeno enjuagando la lámina con un anticuerpo marcado con fluorescencia que sea específico para el primer anticuerpo (p. ej., un anticuerpo de cabra que reconozca a un anticuerpo de ratón). El segundo anticuerpo marcado con fluorescencia pone de manifiesto la presencia del primer anticuerpo. Otra alternativa consiste en que una enzima ligada al segundo anticuerpo genere un producto coloreado, como en el método ELISA. Gracias a la transferencia *Western* es posible encontrar una proteína en una mezcla compleja, la proverbial aguja en un pajar. Esta es la base del test para detectar infecciones por hepatitis C, puesto que se utiliza para detectar una proteína de la parte central del virus. Esta técnica también es muy útil para monitorizar la purificación de proteínas y durante la clonación de genes.

? PREGUNTA RÁPIDA 3 ¿Cuál es el fundamento bioquímico del poder de las técnicas inmunológicas?

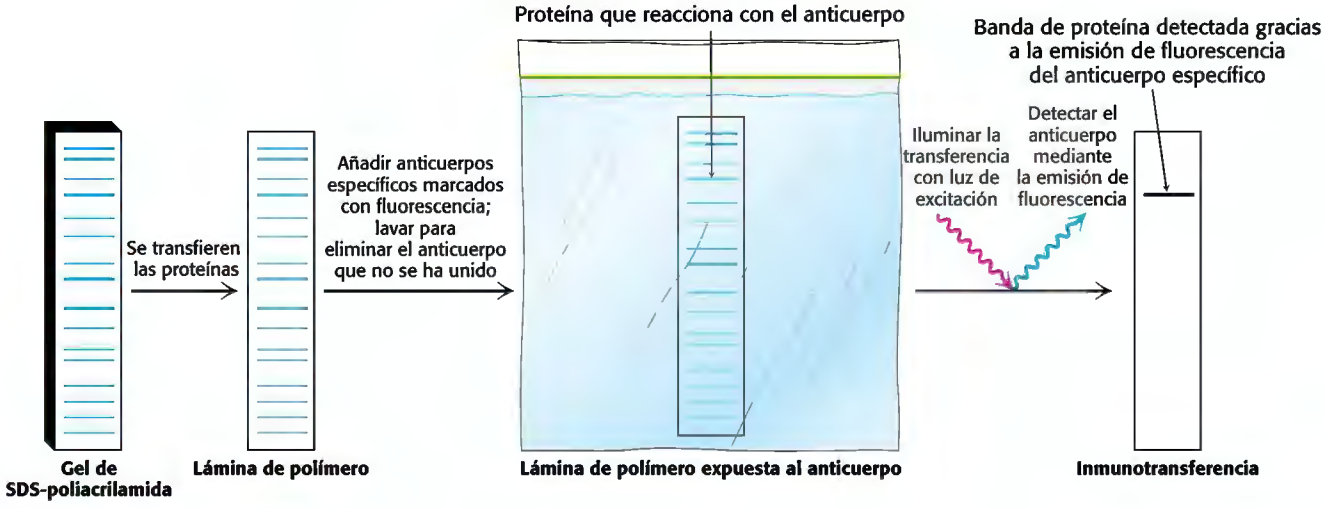


Figura 5.23 Transferencia *Western*. Las proteínas de un gel de SDS-poliacrilamida son transferidas a una lámina de polímero y se tiñen con un anticuerpo fluorescente. Se excita el anticuerpo fluorescente con luz y se visualiza la banda correspondiente a la proteína a la que se ha unido el anticuerpo por medio de un detector apropiado.

5.4 La determinación de la estructura primaria facilita el estudio de la función de las proteínas

Ahora que hemos purificado nuestra proteína, ya sea la lactato deshidrogenasa o el receptor de estrógenos, ¿cuál es el siguiente paso a la hora de estudiar la proteína? Una forma importante de caracterizar una proteína pura consiste en determinar su estructura primaria, que puede decirnos mucho sobre la proteína. Recordemos que la estructura primaria de una proteína es la que determina su estructura tridimensional y que esta es la que determina, en última instancia, la función de la proteína. La comparación de las secuencias de proteínas normales con las aisladas a partir de pacientes con estados patológicos permite comprender las bases moleculares de las enfermedades.

Examinemos en primer lugar cómo se puede secuenciar un péptido sencillo, como, por ejemplo

Ala-Gly-Asp-Phe-Arg-Gly

El primer paso consiste en determinar la *composición de aminoácidos* del péptido. Se hidroliza el péptido en sus aminoácidos constituyentes calentándolo en presencia de un ácido fuerte. A continuación, se pueden separar los aminoácidos individuales mediante cromatografía de intercambio iónico y visualizarlos por medio de un tratamiento con *fluorescamina*, que reacciona con el grupo α-amino para formar un producto muy fluorescente (Figura 5.24). La concentración de un aminoácido en disolución es proporcional a la fluorescencia de la disolución. Despues, se hace pasar la disolución por una columna. La cantidad de tampón necesaria para hacer salir el aminoácido de la columna se compara con el patrón de elución de una mezcla estándar de aminoácidos, y así se puede averiguar la identidad del aminoácido en la disolución (Figura 5.25). La composición de nuestro péptido es

(Ala, Arg, Asp, Gly_2, Phe)

El paréntesis indica que esta es la composición del péptido, no su secuencia.

A continuación, se puede determinar la secuencia de una proteína mediante un proceso denominado *degradación de Edman*, mediante la cual se elimina por orden, de uno en uno, el residuo ubicado en el extremo amino de un péptido (Figura 5.26). El *fenilisotiocianato* reacciona con el grupo amino terminal del péptido que, a continuación, forma un derivado cíclico que se desprende del péptido, dando lugar a un péptido intacto, pero con un aminoácido menos. El compuesto cíclico es un feniltiohidantoín-aminoácido (PTH-aminoácido), que puede ser identificado mediante técnicas cromatográficas. Posteriormente, se puede repetir el procedimiento de Edman de manera cíclica para obtener la secuencia de aminoácidos del péptido.

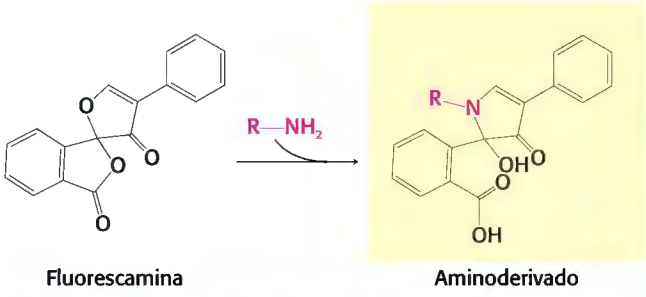


Figura 5.24 Derivados fluorescentes de los aminoácidos. La fluorescamina reacciona con el grupo α-amino de un aminoácido para formar un derivado fluorescente.

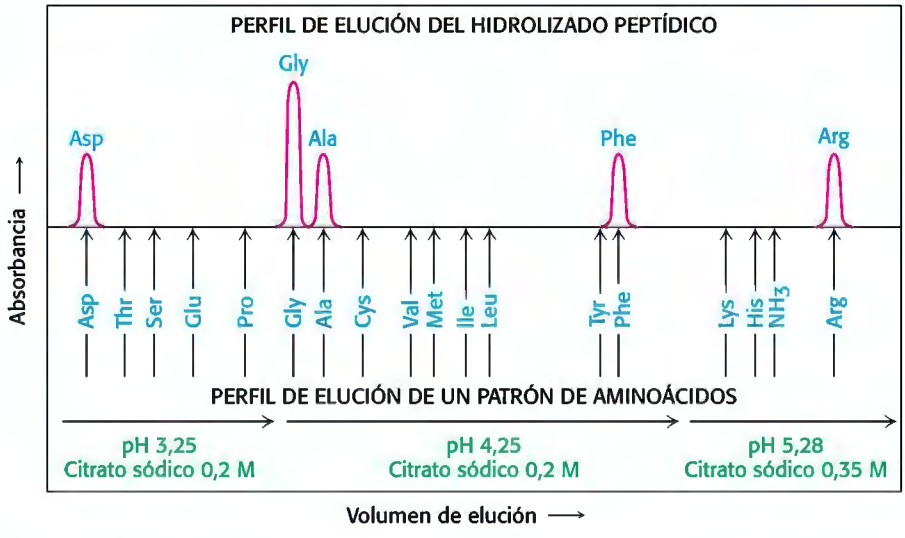


Figura 5.25 Determinación de la composición de aminoácidos. Los distintos aminoácidos presentes en un hidrolizado peptídico se pueden separar mediante cromatografía de intercambio iónico con una resina de poliestireno con grupos sulfónicos (como el Dowex-50). Para eluir los aminoácidos se utilizan tampones (en este caso, citrato sódico) con un pH cada vez mayor. A partir de la absorbancia se puede determinar la cantidad que hay de cada aminoácido. El aspartato, que tiene una cadena lateral ácida, es el primero en salir, mientras que la arginina, que tiene una cadena lateral básica, es la última. Se descubre que el péptido original está compuesto por un residuo de aspartato, uno de alanina, uno de fenilalanina, uno de arginina y dos de glicina.

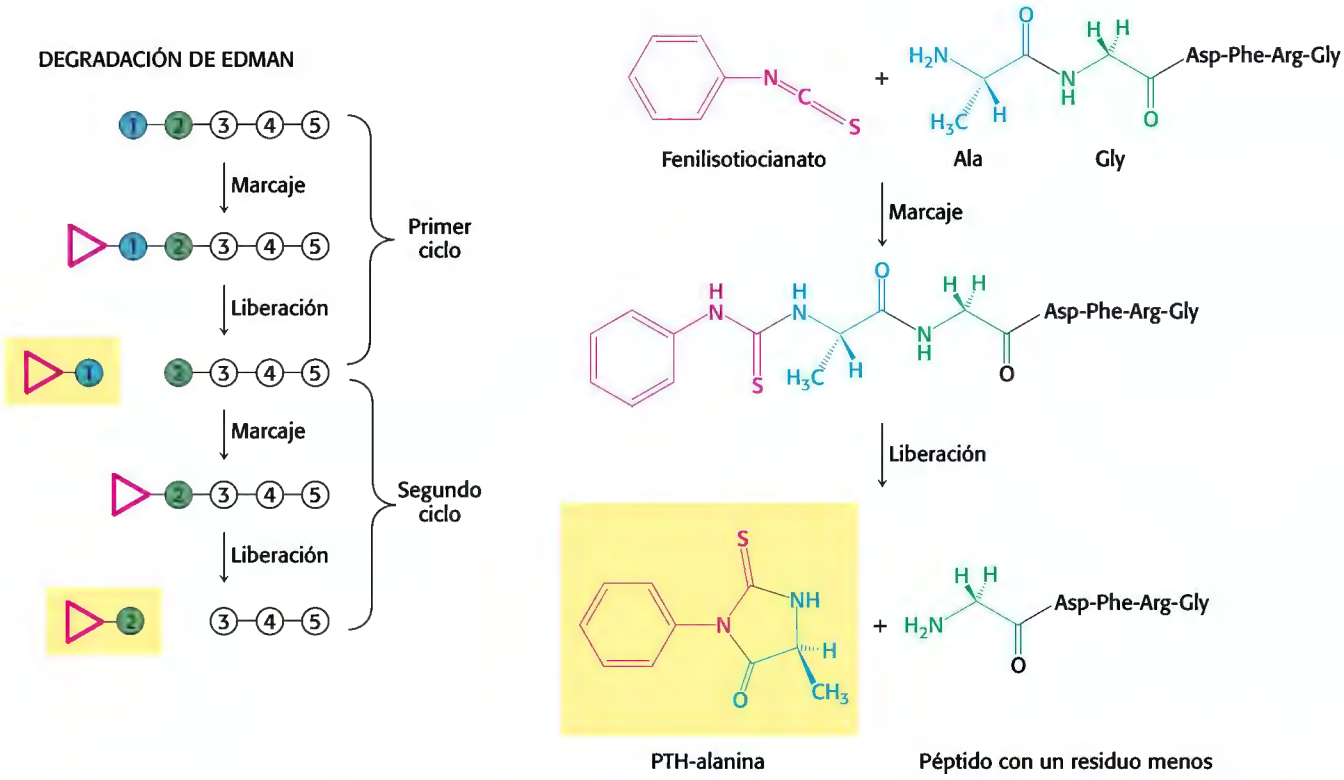


Figura 5.26 Degradación de Edman. El residuo amino terminal marcado (PTH-alanina en el primer ciclo) se puede liberar sin tener que hidrolizar el resto del péptido. Por tanto, en el segundo ciclo se puede determinar el residuo amino terminal del péptido acortado (Gly-Asp-Phe-Arg-Gly). Otros tres ciclos de la degradación de Edman permiten desvelar la secuencia completa del péptido original.

En principio, deberíamos ser capaces de secuenciar una proteína completa utilizando el método de Edman. En la práctica, los péptidos no pueden tener más de unos 50 residuos, ya que las reacciones del método de Edman no son eficientes al 100% y, al final, las reacciones de secuenciación dejan de funcionar. Podemos soslayar este obstáculo rompiendo la proteína original por las posiciones ocupadas por aminoácidos específicos y así generar péptidos más pequeños que se pueden secuenciar independientemente. Básicamente, la estrategia es la de "divide y vencerás".

La ruptura específica se puede conseguir mediante métodos químicos o enzimáticos. La Tabla 5.3 muestra varias maneras de romper cadenas polipeptídicas de forma específica. Los péptidos obtenidos mediante hidrólisis química o enzimática se separan y, a continuación, se determina la secuencia de cada péptido purificado por el método de Edman. Llegados a este punto se conoce la secuencia de aminoácidos de los fragmentos de la proteína pero aún no se ha determinado en qué orden estaban. ¿Cómo podemos ordenar los péptidos para obtener la estructura primaria

Tabla 5.3 Ruptura específica de polipéptidos

Reactivo	Lugar de corte
Ruptura química	
Bromuro de cianógeno	Lado carboxilo de los residuos de metionina
O-Yodosobenzoato	Lado carboxilo de los residuos de triptófano
Hidroxilamina	Enlaces asparagina-lisina
2-Nitro-5-tiocianobenzoato	Lado amino de los residuos de cisteína
Ruptura enzimática	
Tripsina	Lado carboxilo de los residuos de lisina y arginina
Clostripaína	Lado carboxilo de los residuos de arginina
Proteasa de estafilococo	Lado carboxilo de los residuos de aspartato y glutamato (el glutamato sólo en determinadas condiciones)
Trombina	Lado carboxilo de la arginina
Quimotripsina	Lado carboxilo de tirosina, triptófano, fenilalanina, leucina y metionina
Carboxipeptidasa A	Lado amino del aminoácido carboxilo terminal (excepto en el caso de arginina, lisina y prolina)

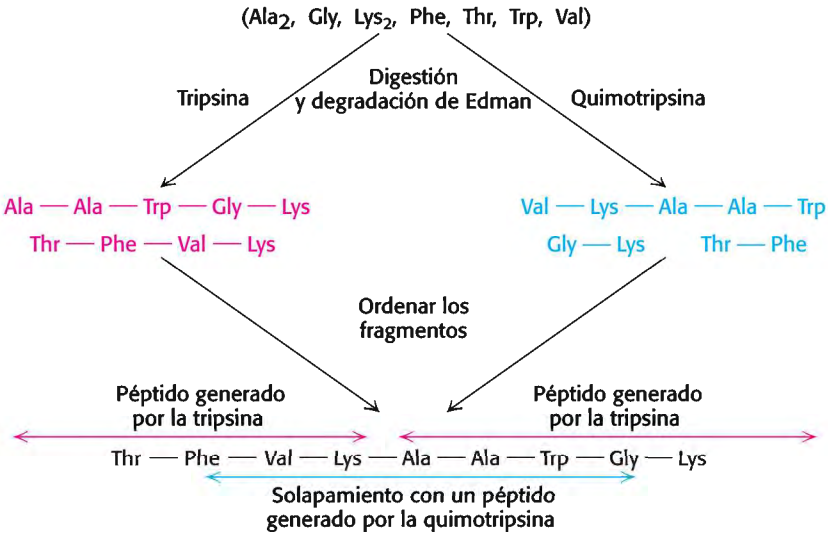


Figura 5.27 Péptidos solapados. El péptido obtenido por digestión con quimotripsina se solapa con dos péptidos obtenidos por digestión con tripsina, lo que permite determinar en qué orden están.

? **PREGUNTA RÁPIDA 4** ¿Qué diferencia hay entre la composición de aminoácidos y la secuencia de aminoácidos?

de la proteína original? La información adicional necesaria se obtiene a partir del *solapamiento de los péptidos* (Figura 5.27). Se utiliza un segundo método de corte para fragmentar la cadena polipeptídica por sitios distintos. Algunos de los péptidos generados mediante la segunda hidrólisis se solaparán con dos o más de los péptidos obtenidos durante la primera hidrólisis y se podrán utilizar para establecer el orden de los péptidos. Es entonces cuando se conoce la secuencia completa de aminoácidos de la cadena polipeptídica.

Las secuencias de aminoácidos ofrecen información de diversa índole

La secuencia de aminoácidos de una proteína es una valiosa fuente de información relacionada con la función, la estructura y la historia de la proteína.

1. *La secuencia de una proteína de interés se puede comparar con las demás secuencias conocidas para determinar si existen parecidos significativos. ¿Pertenece esta proteína a una familia ya establecida?* Una búsqueda de parentesco entre una proteína recién secuenciada y los millones de proteínas secuenciadas previamente se hace en solo unos segundos con un ordenador. Si la proteína recién aislada es miembro de una familia de proteínas ya establecida, podemos empezar a inferir información sobre la estructura y función de la proteína. Por ejemplo, la quimotripsina y la tripsina son miembros de la familia de las serinproteasas, un clan de enzimas proteolíticas que tienen en común un mecanismo catalítico basado en un residuo de serina reactivo. Si la secuencia de la proteína recién aislada muestra similitudes con la secuencia de la tripsina o de la quimotripsina, el resultado sugiere que la nueva proteína también podría ser una serinproteasa.

2. *La comparación de secuencias de la misma proteína en distintas especies proporciona abundante información sobre las rutas evolutivas.* Se pueden inferir las relaciones genealógicas entre especies a partir de las diferencias entre las secuencias de sus proteínas. Podemos incluso estimar el momento en que dos líneas evolutivas divergieron, gracias a la regularidad con que se producen las mutaciones aleatorias. Por ejemplo, una comparación de las seroalbúminas descubiertas en primates indica que los seres humanos y los simios africanos divergieron hace 5 millones de años, no hace 30 millones de años como se creía. Los análisis de secuencia han abierto nuevas perspectivas sobre el registro fósil y la evolución humana.

3. *Se pueden analizar las secuencias de aminoácidos para detectar la presencia de repeticiones internas.* Este tipo de repeticiones internas puede desvelar la propia historia de una proteína individual. Aparentemente, muchas proteínas han surgido mediante la duplicación de genes primordiales. Por ejemplo, la calmodulina, un sensor de calcio ubicuo en los eucariotas (Capítulo 13), contiene cuatro módulos similares para la unión a calcio que surgieron por duplicación génica (Figura 5.28).

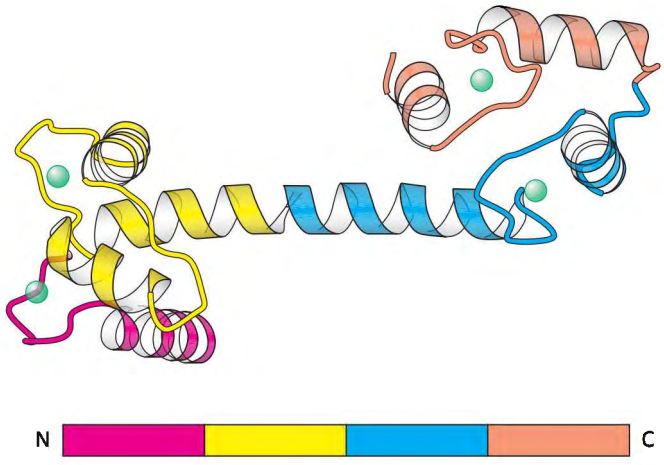


Figura 5.28 Motivos que se repiten en una cadena proteica. La calmodulina, un sensor de calcio, contiene cuatro unidades similares (mostradas de color rojo, amarillo, azul y naranja) en una única cadena polipeptídica. *Observe* que cada unidad se une a un ion calcio (mostrado de color verde). [Elaborada a partir de 1CLL.pdb]

4. *Muchas proteínas contienen secuencias de aminoácidos que actúan como señales que indican cuál será su destino o que controlan su maduración.* Por ejemplo, una proteína destinada a ser exportada por la célula o a incorporarse en una membrana contiene una *secuencia señal*, un segmento de unos 20 aminoácidos hidrofóbicos en las proximidades del extremo amino que dirige a la proteína hacia la membrana apropiada (Capítulo 40). Otra proteína puede contener un segmento de aminoácidos que funciona como una *señal de localización nuclear* que dirige a la proteína hacia el núcleo.

5. *Los datos de la secuencia permiten comprender las enfermedades a nivel molecular.* Muchas enfermedades se deben a mutaciones en el DNA que dan lugar a alteraciones en la secuencia de aminoácidos de una proteína particular. A menudo, estas alteraciones ponen en riesgo la función de la proteína. Por ejemplo, la anemia falciforme se debe a un cambio en un único aminoácido de la estructura primaria de la cadena β de la hemoglobina (Capítulo 9). Aproximadamente, el 70% de los casos de fibrosis quística se debe a la eliminación de un aminoácido concreto de entre los 1.480 aminoácidos que contiene la proteína que controla el transporte de cloro a través de las membranas celulares. De hecho, uno de los principales objetivos de la bioquímica consiste en desvelar el fundamento molecular de las enfermedades con la esperanza de que estos conocimientos ayuden a desarrollar tratamientos eficaces.

6. *La secuencia proteica permite obtener información sobre los ácidos nucleicos.* Conocer la estructura primaria de una proteína permite utilizar la *genética inversa* —la generación de secuencias de DNA que correspondan a parte de la secuencia de aminoácidos basándose en el código genético. Estas secuencias de DNA pueden ser utilizadas como sondas para aislar el gen que codifica la proteína o el DNA correspondiente al mRNA, también denominado cDNA o ADN complementario (Capítulo 14).

Resumen

5.1 El proteoma es la representación funcional del genoma

El rápido progreso en la secuenciación de genes ha permitido avanzar en otro de los objetivos de la bioquímica —la determinación del proteoma. El proteoma es el conjunto completo de proteínas expresadas e incluye información sobre cómo se han modificado, cómo funcionan y cómo interaccionan con otras moléculas. A diferencia del genoma, el proteoma no es estático, ya que varía según el tipo de célula, estado de desarrollo y condiciones ambientales.

5.2 La purificación de una proteína es el primer paso para comprender su función

Es posible separar unas proteínas de otras proteínas o de otras moléculas en función de características tales como la solubilidad, el tamaño, la carga o la afinidad de unión. La SDS-PAGE separa las cadenas polipeptídicas de las proteí-

nas en condiciones desnaturalizantes en función, principalmente, de su masa. Las proteínas también se pueden separar electroforéticamente en función de su carga neta mediante un isoelectroenfoque en un gradiente de pH.

5.3 Para purificar y caracterizar proteínas se utilizan técnicas inmunológicas

Es posible detectar y cuantificar proteínas mediante anticuerpos altamente específicos; los anticuerpos monoclonales son especialmente útiles porque son homogéneos. Se pueden generar anticuerpos monoclonales contra el receptor de estrógenos para, a continuación, utilizarlos como una herramienta para purificar el receptor utilizando la técnica de inmunoprecipitación. Otras técnicas que se emplean con mucha frecuencia son los ensayos de inmunoabsorción ligados a enzimas y las transferencias *Western* a partir de geles de SDS-acrilamida.

5.4 La determinación de la estructura primaria facilita el estudio de la función de las proteínas

La composición de aminoácidos de una proteína se puede determinar hidrolizando la proteína para reducirla a los aminoácidos que la componen. Los aminoácidos se pueden separar mediante cromatografía de intercambio iónico y cuantificar a partir de su reacción con la fluorescamina. Las secuencias de aminoácidos se pueden determinar por medio de la degradación de Edman, que elimina los aminoácidos del extremo amino de un péptido de uno en uno. El fenilisotiocianato reacciona con el grupo amino terminal para formar un feniltiohidantoín-aminoácido y un péptido con un residuo menos. Las cadenas polipeptídicas más largas se fragmentan en otras más pequeñas que se puedan analizar hidrolizándolas con un reactivo que rompa el péptido en lugares específicos. Las secuencias de aminoácidos contienen abundante información relacionada con el parentesco de las proteínas, sus relaciones evolutivas y las enfermedades causadas por mutaciones. El conocimiento de una secuencia aporta valiosas claves para entender su conformación y su función.

Términos clave

proteoma (p. 68)
ensayo (p. 69)
homogenado (p. 69)
centrifugación diferencial (p. 69)
precipitación por sal (p. 70)
diálisis (p. 70)
cromatografía de filtración en gel (p. 70)
cromatografía de intercambio iónico (p. 71)
cromatografía de afinidad (p. 72)
cromatografía líquida de alta presión (HPLC) (p. 72)
electroforesis en gel (p. 72)
isoelectroenfoque (p. 73)
electroforesis bidimensional (p. 73)
centrifugación en gradiente (p. 76)
coeficiente de sedimentación (unidades Svedberg, valor S) (p. 76)
anticuerpo (inmunoglobulina) (p. 78)
antígeno (p. 78)
determinante antigénico (epítopo) (p. 78)
anticuerpo monoclonal (p. 79)
inmunoprecipitación (p. 82)
ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) (p. 82)
transferencia *Western* (p. 82)
degradación de Edman (p. 84)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Un ensayo, que tendría que estar basado en alguna propiedad bioquímica única de la proteína que se está purificando, permite detectar la proteína de interés.

2. Diferencias en tamaño, solubilidad, carga o en la unión específica a determinadas moléculas.

3. La exquisita especificidad de la interacción anticuerpo-antígeno. Esta especificidad permite detectar el antígeno en presencia de gran cantidad de material superfluo.

4. La composición de aminoácidos indica, sencillamente, qué aminoácidos están presentes en la proteína. Muchas proteínas pueden tener la misma composición de aminoácidos. La secuencia de aminoácidos, o estructura primaria, indica en qué orden se disponen los aminoácidos en la proteína. Cada proteína tiene una secuencia de aminoácidos única.

Problemas

1. *Saber que está ahí.* ¿Por qué es necesario un ensayo para purificar una proteína? ✓ 4

2. *Uniendo parejas.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 4

(a) Ensayo _____
(b) Cromatografía de filtración en gel _____
(c) Cromatografía de intercambio iónico _____
(d) Cromatografía de afinidad _____
(e) Cromatografía líquida de alta presión (HPLC) _____
(f) Isoelectroenfoque _____
(g) Coeficiente de sedimentación _____
(h) Determinante antigénico (epítopo) _____
(i) Anticuerpos monoclonales _____
(j) Transferencia *Western* _____

1. Separa proteínas en función de la diferencia de tamaños
2. Permite una resolución elevada y una rápida separación
3. Producidos por células hibridoma
4. Técnica de inmunoensayo precedida de una electroforesis en gel
5. Una medida de la velocidad de movimiento debida a la fuerza centrífuga
6. Separación de proteínas en función de la carga neta
7. Lugar específico reconocido por el anticuerpo
8. Se basa en el hecho de que hay un pH al cual la carga neta de las proteínas es cero
9. Se basa en la atracción hacia un grupo químico o molécula específicos
10. Método para identificar proteínas que se basa en una propiedad única de la proteína

3. *Precipitación por sal* (*salting out*). ¿Por qué precipitan las proteínas cuando la concentración de sal es elevada? ✓ 4

4. *Solubles gracias a la sal* (*salting in*). Aunque muchas proteínas precipitan cuando la concentración de sal es elevada, algunas proteínas necesitan sal para disolverse en agua. Explique por qué algunas proteínas necesitan sal para disolverse.

5. *Competencia por el agua.* ¿Qué tipos de grupos R competirían con los iones salinos por el agua de solvatación?

6. *Selección de columna.* (a) Se digirió el octapéptido AVGWRVKS con la enzima tripsina. ¿Qué tipo de cromatografía sería el más adecuado para separar los productos, la de intercambio iónico o la de filtración en gel? Explique por qué. ✓ 4

(b) Suponga que, esta vez, el péptido ha sido digerido con quimotripsina en vez de con tripsina. ¿Cuál sería la técnica de separación más apropiada? Razone la respuesta.

7. *Muy utilizado en los champús.* El detergente dodecilsulfato sódico (SDS) desnaturaliza las proteínas. Sugiera cómo destruye el SDS la estructura de las proteínas.

8. *¿Se está fabricando más enzima?* En el transcurso de la purificación de una enzima, un investigador realiza un paso de purificación que da lugar a un *incremento* de la actividad total hasta alcanzar un valor mayor que el obtenido con el extracto crudo original. Explique cómo puede aumentar la cantidad de actividad total. ✓ 4

9. *Problema de purificación de proteínas.* Complete la tabla siguiente. ✓ 4

Procedimiento de purificación	Proteína total (mg)	Actividad total (unidades)	Actividad específica (unidades mg^{-1})	Grado de purificación	Rendimiento (%)
Extracto crudo	20.000	4.000.000		1	100
Precipitación con $(NH_4)_2SO_4$	5.000	3.000.000			
Cromatografía en DEAE-celulosa	1.500	1.000.000			
Cromatografía de filtración en gel	500	750.000			
Cromatografía de afinidad	45	675.000			

Nota: el DEAE (dietilaminoetil) presenta una carga positiva, de modo que la cromatografía en DEAE-celulosa es una cromatografía de intercambio aniónico.

10. *Relación carga/masa.* (a) Las proteínas tratadas con un reactivo de grupos sulfhidrilos como el β-mercaptoetanol y disueltas en dodecilsulfato sódico tienen la misma relación carga/masa. Explicar por qué. ✓ 4

(b) ¿En qué condiciones sería incorrecto el enunciado del apartado *a*?

(c) Algunas proteínas migran de forma anómala en geles de SDS-poliacrilamida. Por ejemplo, a veces, el peso molecular determinado a partir de un gel de SDS-poliacrilamida es muy distinto del peso molecular determinado a partir de su secuencia de aminoácidos. Sugiera una explicación para esta discrepancia.

11. *Una atracción especial.* ¿Qué propiedad única del receptor de estrógenos permite su identificación y caracterización? ✓ 5

12. *Muchos o uno.* ¿Qué diferencias hay entre anticuerpos policlonales y anticuerpos monoclonales? ✓ 5

13. *Un caída.* Explique cómo se puede utilizar la inmunoprecipitación para purificar proteínas. ✓ 5

14. *¿No querrás decir quién?* ¿Qué es ELISA y cómo se emplea? ✓ 5

15. *El favorito de John Wayne.* Describa la transferencia *Western*. ✓ 5

16. *Una cuestión de eficacia.* El método de Edman para secuenciar proteínas solo se puede utilizar para determinar la secuencia de proteínas que no tengan más de 50 aminoácidos, aproximadamente. ¿A qué se debe esta limitación en la longitud? ✓ 5

Problema de integración de capítulos

17. *Estructura cuaternaria.* Se purificó una proteína a homogeneidad. La determinación de la masa por cromatografía de filtración en gel arrojó un valor de 60 kDa. La cromatografía en presencia de urea da lugar a una especie de 30 kDa. Cuando se repite la cromatografía en presencia de urea y β-mercaptoetanol, se obtiene una especie molecular de 15 kDa. Describa la estructura de la molécula.

Problemas de interpretación de datos

18. *Secuenciación de proteínas 1.* Determine la secuencia de un hexapéptido en base a los siguientes datos. Nota: cuando no se conoce la secuencia, los aminoácidos se separan con una coma. (Ver la Tabla 5.3.)

Composición de aminoácidos: (2R, A, S, V, Y)

Análisis amino terminal del hexapéptido: A

Digestión con tripsina: (R, A, V) y (R, S, Y)

Digestión con carboxipeptidasa A: no hay digestión

Digestión con quimotripsina: (A, R, V, Y) y (R, S)

19. *Secuenciación de proteínas 2.* Determine la secuencia de un péptido formado por 14 aminoácidos en base a los siguientes datos.

Composición de aminoácidos: (4S, 2L, F, G, I, K, M, T, W, Y)

Análisis amino terminal: S

Digestión con carboxipeptidasa A: L

Digestión con tripsina: (3S, 2L, F, I, M, T, W) (G, K, S, Y)

Digestión con quimotripsina: (F, I, S) (G, K, L) (L, S) (M, T) (S, W) (S, Y)

Análisis del extremo amino del péptido (F, I, S): S

Tratamiento con bromuro de cianógeno: (2S, F, G, I, K, L, M*, T, Y) (2S, L, W)

M*, metionina detectada en forma de homoserina

Problema para atrevidos

20. *Diálisis.* Suponga que hace precipitar una proteína con $(NH_4)_2SO_4$ 1 M y que desea reducir la concentración de $(NH_4)_2SO_4$. Toma 1 ml de su muestra y lo dializa frente a 1.000 ml de tampón. Al final de la diálisis, ¿cuál es la concentración de $(NH_4)_2SO_4$ en su muestra? ¿Cómo podría reducir aún más la concentración de $(NH_4)_2SO_4$?

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.



Capítulo 6: Conceptos básicos sobre la actividad de las enzimas



Capítulo 7: Cinética y regulación



Capítulo 8: Mecanismos e inhibidores



Capítulo 9: La hemoglobina, una proteína alostérica

SECCIÓN 3

Conceptos básicos y cinética de las enzimas

En la Sección 2 consideramos la mano de obra química de la vida: las proteínas. En esta sección, estudiaremos una importante clase de proteínas denominadas enzimas. En los sistemas vivos, las enzimas proteicas son los *catalizadores* más importantes. Los catalizadores son compuestos químicos que aumentan la velocidad de las reacciones sin verse ellos mismos afectados de forma permanente. Por tanto, el papel de las enzimas consiste en hacer que reacciones importantes desde el punto de vista bioquímico tengan lugar a una velocidad compatible con la vida.

Las proteínas son una clase de biomoléculas muy apropiadas para actuar como catalizadores gracias a su capacidad para formar estructuras tridimensionales complejas que pueden reconocer una molécula, o unas pocas, con gran especificidad. Consideradas en su conjunto, la gama de moléculas sobre las que pueden actuar las enzimas es prácticamente ilimitada. Gracias a su especificidad, las enzimas reúnen a los sustratos en un lugar concreto de la enzima, denominado el centro activo, donde se orientan para facilitar la formación y ruptura de enlaces químicos. Las características más llamativas de las enzimas son su *poder catalítico* y su *especificidad*.

Algunas enzimas, aparte de catalizadores, también son sensores de información. Las *enzimas alostéricas* tienen, además de los centros activos, diversos centros reguladores que se unen a señales ambientales. Esta unión modifica la actividad del centro activo.

Comenzamos esta sección con una mirada a las propiedades básicas de las enzimas, poniendo especial énfasis en la energética de las reacciones catalizadas por enzimas. Pasamos, a continuación, a un análisis cinético de las enzimas. Después, vemos cómo las condiciones ambientales modifican la actividad enzimática y estudiamos el mecanismo de acción de la quimotripsina, una enzima que digiere proteínas. Finalizamos la sección con un estudio de la hemoglobina. Esta proteína transportadora de oxígeno es una fuente de conocimientos sobre las propiedades de las proteínas alostéricas.

✓ Al final de esta sección, usted debería ser capaz de:

✓ 1 Describir la relación que hay entre la catálisis enzimática de una reacción, la termodinámica de la reacción y la formación del estado de transición.

✓ 2 Explicar la relación entre el estado de transición y el centro activo de una enzima, y enumerar las características de los centros activos.

✓ 3 Explicar qué es la velocidad de reacción.

✓ 4 Explicar cómo se determina la velocidad de reacción y cómo se utilizan las velocidades de reacción para caracterizar la actividad enzimática.

✓ 5 Identificar las propiedades clave de las proteínas alostéricas y describir la base estructural de estas propiedades.

✓ 6 Enumerar los factores ambientales que afectan a la actividad enzimática y describir cómo ejercen estos factores sus efectos sobre las enzimas.

✓ 7 Explicar cómo contribuyen las propiedades alostéricas a la función de la hemoglobina.

✓ 8 Identificar los reguladores clave de la función de la hemoglobina.

CAPÍTULO 6

Conceptos básicos sobre la actividad de las enzimas

6.1 Las enzimas son catalizadores potentes y muy específicos

6.2 Muchas enzimas necesitan cofactores para llevar a cabo su actividad

6.3 La energía libre es una función termodinámica útil para comprender las enzimas

6.4 Las enzimas facilitan la formación del estado de transición



La actividad de una enzima es responsable del resplandor de una medusa luminiscente. La enzima aequorina cataliza la oxidación de un compuesto químico por el oxígeno en presencia de calcio para liberar CO_2 y luz. [Reinhard Dirscherl/Photolibrary.]

El procesamiento de la energía y de la información que tiene lugar en el interior de las células consiste en miles de reacciones químicas individuales. Para que estas reacciones se produzcan de forma fisiológicamente útil, deben llevarse a cabo a una velocidad que satisfaga las necesidades de la célula y deben mostrar especificidad; es decir, un reactante concreto siempre debería generar un producto determinado. Las reacciones secundarias que den lugar a la formación de subproductos inútiles o perjudiciales tienen que ser minimizadas. En este capítulo, consideraremos las propiedades fundamentales de las enzimas, prestando especial atención a la energética de las reacciones catalizadas por enzimas.

6.1 Las enzimas son catalizadores potentes y muy específicos

Las *enzimas* aceleran las reacciones un millón de veces o más (Tabla 6.1). De hecho, en ausencia de enzimas, la mayoría de las reacciones que tienen lugar en los sistemas biológicos no se producen a velocidades perceptibles. Incluso una reacción tan sencilla como la adición de agua al dióxido de carbono está catalizada por una enzima —concretamente, la anhidrasa carbónica. Esta reacción facilita el transporte de dióxido de carbono desde los tejidos, donde se produce, hacia los pulmones, donde se exhala. La anhidrasa carbónica es una de las enzimas más rápidas que se conocen. Cada molécula de enzima puede hidratar 10^6 moléculas de CO_2 *por segundo*. Esta reacción catalizada es 10^7 veces

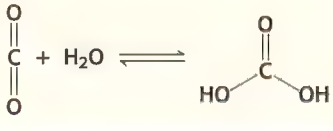


Tabla 6.1 Incremento en la velocidad de reacción producido por algunas enzimas

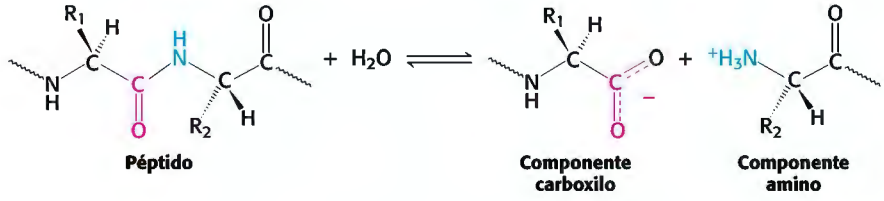
Enzima	Vida media no enzimática	Velocidad en ausencia de catalizador ($k_{no\text{-}cat}$ s^{-1})	Velocidad en presencia de catalizador (k_{cat} s^{-1})	Incremento de la velocidad (k_{cat} $s^{-1}/k_{no\text{-}cat}$ s^{-1})
OMP descarboxilasa	78.000.000 años	$2{,}8 \times 10^{-16}$	39	$1{,}4 \times 10^{17}$
Nucleasa de estafilococo	130.000 años	$1{,}7 \times 10^{-13}$	95	$5{,}6 \times 10^{14}$
AMP nucleosidasa	69.000 años	$1{,}0 \times 10^{-11}$	60	$6{,}0 \times 10^{12}$
Carboxipeptidasa A	7,3 años	$3{,}0 \times 10^{-9}$	578	$1{,}9 \times 10^{11}$
Cetoesteroide isomerasa	7 semanas	$1{,}7 \times 10^{-7}$	66.000	$3{,}9 \times 10^{11}$
Triosa fosfato isomerasa	1,9 días	$4{,}3 \times 10^{-6}$	4.300	$1{,}0 \times 10^{9}$
Corismato mutasa	7,4 horas	$2{,}6 \times 10^{-5}$	50	$1{,}9 \times 10^{6}$
Anhidrasa carbónica	5 segundos	$1{,}3 \times 10^{-1}$	1×10^{6}	$7{,}7 \times 10^{6}$

Abreviaturas: OMP, orotidina monofosfato; AMP, adenosina monofosfato.
Fuente: tomado de A. Radzicka y R. Wolfenden, *Science* 267: 90-93, 1995.

más rápida que la no catalizada. La transferencia de CO_2 desde los tejidos a la sangre y, posteriormente, a los pulmones no sería tan completa en ausencia de esta enzima.

Las enzimas proteolíticas ilustran el intervalo de especifidad enzimática

Las enzimas son altamente específicas tanto en las reacciones que catalizan como en la selección de sus reactantes, que se denominan *sustratos*. Normalmente, una enzima cataliza una única reacción química o un conjunto de reacciones estrechamente relacionadas. Consideremos, a modo de ejemplo, las *enzimas proteolíticas*. *In vivo*, estas enzimas catalizan la *proteolisis*, la hidrólisis de un enlace peptídico.



Las enzimas proteolíticas difieren extraordinariamente en su grado de especificidad hacia el sustrato. La papaína, que se encuentra en las plantas de papaya, es bastante poco selectiva; hidrolizará cualquier enlace peptídico sin importarle mucho la identidad de las cadenas laterales adyacentes. Esta falta de especificidad es la razón de que se incluya en las salsas utilizadas para macerar la carne. La tripsina, una enzima digestiva, es bastante específica y cataliza la ruptura de enlaces peptídicos únicamente en el lado carboxilo de los residuos de lisina y arginina (**Figura 6.1**A). La trombina, una enzima que interviene en la coagulación de la sangre, es incluso más específica que la tripsina. Solo cataliza la hidrólisis del enlace Arg-Gly en determinadas secuencias peptídicas (Figura 6.1B). *La especificidad de una enzima se debe a que la interacción del sustrato con la enzima es muy precisa. Esta precisión es el resultado de la compleja estructura tridimensional de las proteínas que actúan como enzimas.*

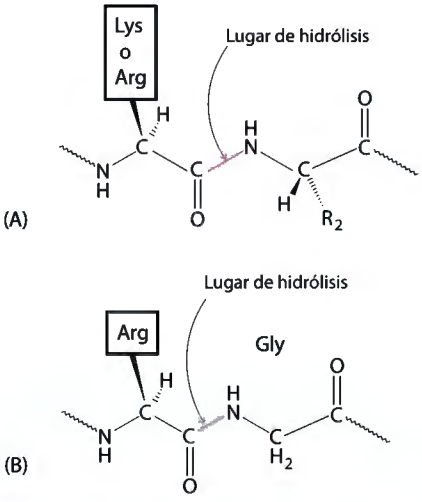


Figura 6.1 Especificidad enzimática.
(A) La tripsina rompe en el lado carboxilo de residuos de arginina y de lisina, mientras que (B) la trombina rompe enlaces Arg-Gly únicamente en determinadas secuencias.

Existen seis clases principales de enzimas

Se han identificado más de un millar de enzimas —una cifra desalentadora para un estudiante de bioquímica. Sin embargo, a pesar de este número tan elevado, solo hay seis clases principales de enzimas, lo que hace que sea mucho más sencillo reconocer su función. A medida que avancemos en nuestro estudio de la bioquímica nos encontraremos con multitud de miembros de estas clases.

1. *Oxidorreductasas*. Estas enzimas transfieren electrones entre moléculas. En otras palabras, catalizan reacciones de oxidación-reducción. Cuando estudiemos la glucólisis , la primera ruta de la degradación de la glucosa, nos encontraremos por primera vez con un miembro de esta clase, la lactato deshidrogenasa.

2. *Transferasas.* Estas enzimas transfieren grupos funcionales entre moléculas. Las aminotransferasas son muy importantes en la síntesis y degradación de aminoácidos, donde intercambian grupos amino entre moléculas donadoras y aceptoras.
3. *Hidrolasas.* Una hidrolasa rompe una molécula mediante la adición de agua. La tripsina, la enzima proteolítica que ya se ha citado, es una hidrolasa.
4. *Liasas.* Una liasa añade átomos o grupos funcionales a un doble enlace o los elimina para formar dobles enlaces. La fumarasa es una liasa crucial para el metabolismo aerobio de los combustibles.
5. *Isomerasas.* Estas enzimas mueven grupos funcionales dentro de una molécula. En la glucólisis nos encontraremos con la triosa fosfato isomerasa.
6. *Ligasas.* Las ligasas unen dos moléculas a costa de la hidrólisis del ATP. La DNA ligasa, una enzima importante en la replicación del DNA, es una representante de esta clase.

La clasificación de todas las enzimas en seis clases también ha permitido el desarrollo de una nomenclatura estándar para las enzimas. Muchas enzimas tienen nombres vulgares que aportan poca información sobre las reacciones que catalizan. La tripsina es un ejemplo de esta falta de información. Pero la mayoría de las enzimas se nombran en función de sus sustratos y de las reacciones que catalizan, añadiendo el sufijo "asa". Así, una péptido hidrolasa es una enzima que hidroliza enlaces peptídicos mientras que una ATP sintasa es una enzima que sintetiza ATP. En este libro se utilizarán nombres vulgares, pero echemos un vistazo a una nomenclatura más precisa.

Los seis grupos (clases) de enzimas se subdividieron y se volvieron a subdividir de forma que mediante un número de cuatro dígitos precedido por las letras *EC* (de *Enzyme Commission*, el organismo que desarrolló este sistema de clasificación) fuese posible identificar de manera precisa cualquier enzima.

Consideremos, a modo de ejemplo, la tripsina. La tripsina rompe enlaces añadiendo agua; por tanto, es un miembro del grupo 3. La tripsina sólo rompe enlaces peptídicos y las hidrolasas que rompen enlaces peptídicos se clasifican como 3.4. La tripsina utiliza un residuo de serina para facilitar la hidrólisis y rompe la cadena proteica por el interior (a diferencia de la eliminación de aminoácidos a partir del extremo de la cadena polipeptídica). Estas enzimas se ubican en el sub-subgrupo 21, de modo que se identifican como 3.4.21. Por último, la tripsina rompe enlaces peptídicos en los que el aminoácido que aporta el grupo carboxilo al enlace peptídico es la lisina o la arginina. Por tanto, el número que identifica inequívocamente a la tripsina es EC 3.4.21.4. Aunque los nombres vulgares se utilizan habitualmente, la clasificación numérica se utiliza siempre que la identidad exacta de la enzima pueda resultar ambigua.

Las reacciones de hidrólisis, la ruptura de un enlace químico mediante la adición de una molécula de agua, son muy importantes en bioquímica.

6.2 Muchas enzimas necesitan cofactores para llevar a cabo su actividad

Aunque el repertorio químico de los grupos funcionales de los aminoácidos es bastante variado (pp. 37-42), con frecuencia son incapaces de satisfacer las necesidades químicas que se requieren para que la catálisis se lleve a cabo. Así, la actividad catalítica de muchas enzimas depende de la presencia de pequeñas moléculas denominadas *cofactores*. Su papel exacto varía según el cofactor y la enzima. Una enzima sin su cofactor se denomina *apoenzima*; la enzima completa, catalíticamente activa, se denomina *holoenzima*. Los cofactores se pueden dividir en dos grupos: (1) pequeñas moléculas orgánicas que se denominan *coenzimas* y que se sintetizan a partir de vitaminas y (2) metales (Tabla 6.2). Las coenzimas fuertemente unidas se denominan *grupos prostéticos* (que ayudan). Las coenzimas asociadas de forma laxa se comportan más bien como cosustratos porque, al igual que los sustratos y los productos, se unen a la enzima y, después de la reacción, se separan de ella. Las coenzimas difieren de los sustratos normales no solo porque a menudo proceden de vitaminas sino también porque son utilizadas por diversas enzimas. Normalmente, enzimas distintas que utilizan la misma coenzima desempeñan transformaciones químicas similares.

Tabla 6.2 Cofactores enzimáticos

Cofactor	Enzima*
Coenzima†	
Tiamina pirofosfato (TPP)	Piruvato deshidrogenasa
Dinucleótido de flavina y adenina (FAD)	Monoamino oxidasa
Dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+)	Lactato deshidrogenasa
Piridoxal fosfato (PLP)	Glucógeno fosforilasa
Coenzima A (CoA)	Acetil-CoA carboxilasa
Biotina	Piruvato carboxilasa
6′-desoxiadenosilcobalamina	Metilmalonil mutasa
Tetrahidrofolato	Timidilato sintasa
Metal	
Zn^{2+}	Anhidrasa carbónica
Mg^{2+}	*EcoRV*
Ni^{2+}	Ureasa
Mo	Nitrogenasa
Se	Glutatión peroxidasa
$Mn^{2+\leftrightarrow 3+}$	Superóxido dismutasa
K^+	Acetoacetil-CoA tiolasa

*Las enzimas citadas son ejemplos de enzimas que utilizan el cofactor indicado.
†Las coenzimas, que a menudo proceden de vitaminas, pueden unirse fuerte o débilmente a la enzima.

✓ 1 Describir la relación que hay entre la catálisis enzimática de una reacción, la termodinámica de la reacción y la formación del estado de transición.

6.3 La energía libre es una función termodinámica útil para comprender las enzimas

Las enzimas aceleran la velocidad de las reacciones químicas, pero las propiedades de la reacción —que pueda producirse o no— dependen de las diferencias de la energía libre. La *energía libre* (*G*) es una propiedad termodinámica que representa una medida de la energía útil, es decir, energía capaz de realizar un trabajo. Para comprender cómo funcionan las enzimas, solo tenemos que considerar dos propiedades termodinámicas de la reacción: (1) la diferencia de energía libre (ΔG) entre los productos y los reactantes y (2) la energía libre necesaria para iniciar la conversión de los reactantes en productos. La primera determina si la reacción tendrá lugar de forma espontánea mientras que la segunda determina la velocidad de la reacción. Las enzimas solo afectan a esta última. Revisemos algunos de los principios de la termodinámica que se aplican a las enzimas.

El incremento de energía libre aporta información sobre la espontaneidad pero no sobre la velocidad de una reacción

El incremento de la energía libre de una reacción (ΔG) nos dice si la reacción puede tener lugar de forma espontánea:

1. *Una reacción puede ocurrir de forma espontánea únicamente si* ΔG *es negativo.* En el contexto de la termodinámica, "de forma espontánea" quiere decir que la reacción tendrá lugar sin aporte de energía y, de hecho, la reacción libera energía. Este tipo de reacciones son *exergónicas.*
2. Una reacción no puede producirse de forma espontánea si ΔG es positivo. Para que se produzca una reacción de este tipo, hace falta un aporte de energía libre. Estas reacciones se denominan *endergónicas.*

3. En un sistema en equilibrio, no hay cambio *neto* en las concentraciones de productos y reactantes, y el ΔG es cero.

4. El ΔG de una reacción depende únicamente de la diferencia de energía libre entre los productos (el estado final) y los reactantes (el estado inicial). *El ΔG de una reacción es independiente de la ruta (o mecanismo molecular) que se ha seguido durante la transformación.* El mecanismo de una reacción no tiene ningún efecto sobre ΔG. Por ejemplo, el ΔG para la transformación de glucosa en CO_2 y H_2O es el mismo si se produce por combustión o a través de una serie de etapas catalizadas por enzimas en el interior de una célula.

5. *El ΔG no proporciona ninguna información sobre la velocidad de una reacción.* Un ΔG negativo indica que una reacción *puede* producirse de forma espontánea, pero no indica si tendrá lugar a una velocidad apreciable. Como veremos un poco más adelante (p. 99), la velocidad de una reacción depende de la *energía libre de activación* ($\Delta G^{\ddagger}$), que no tiene nada que ver con el ΔG de la reacción.

El incremento de energía libre estándar de una reacción está relacionado con la constante de equilibrio

Como en cualquier reacción, para saber si una reacción catalizada por una enzima es espontánea o requiere un aporte de energía, tenemos que ser capaces de determinar el ΔG. Para determinar el incremento de energía libre de la reacción hay que tener en cuenta la naturaleza de los reactantes y de los productos, así como sus concentraciones.

Consideremos la reacción

$$A + B \rightleftharpoons C + D$$

El ΔG de esta reacción viene dado por

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]} \qquad (1)$$

donde ΔG° es el *incremento de energía libre estándar*, R es la constante de los gases, T es la temperatura absoluta y [A], [B], [C] y [D] son las concentraciones molares de los reactantes. ΔG° es el incremento de la energía libre para esta reacción en condiciones estándar —es decir, cuando cada uno de los reactantes A, B, C y D se encuentran a una concentración de 1,0 M (en el caso de un gas, se suele considerar que el estado estándar corresponde a 1 atmósfera) antes del inicio de la reacción y la temperatura es 298 K (25 °C). Así, el ΔG de una reacción depende de la *naturaleza* de los reactantes (expresada en el término ΔG° de la ecuación 1) y de sus *concentraciones* (expresadas en el término logarítmico de la ecuación 1).

Se ha adoptado una convención para simplificar los cálculos de la energía libre de las reacciones bioquímicas. Se considera que el estado estándar tiene pH 7. En consecuencia, cuando uno de los reactantes es H^+, su actividad será 1 (lo que corresponde a un pH 7) en la ecuaciones numeradas que se muestran a continuación. En esas ecuaciones también se considera que la concentración de agua es 1. A lo largo de este libro se utilizará el *incremento de la energía libre estándar a pH 7*, que se representa con el símbolo $\Delta G^{\circ\prime}$. Las unidades de energía que se utilizarán son el *kilojulio* (kJ) y la *kilocaloría* (kcal). Como ya se indicó en el Capítulo 2, 1 kJ equivale a 0,239 kcal.

Una forma sencilla de determinar $\Delta G^{\circ\prime}$ consiste en medir la concentración de los reactantes y de los productos cuando la reacción ha alcanzado el equilibrio. En el equilibrio, no hay cambio neto en las concentraciones de reactantes y productos; básicamente, la reacción se ha detenido y $\Delta G = 0$. Por tanto, en el equilibrio, la ecuación 1 se convierte en

$$0 = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]} \qquad (2)$$

Un *kilojulio* (kJ) equivale a 1000 J.

Un *julio* (J) es la cantidad de energía que se necesita para aplicar una fuerza de 1 newton a lo largo de 1 metro de distancia.

Una *kilocaloría* (kcal) equivale a 1.000 cal.

Una *caloría* (cal) equivale a la cantidad de calor que se necesita para aumentar la temperatura de 1 gramo de agua de 14,5 °C a 15,5 °C.

1 kJ = 0,239 kcal

y, por tanto,

$$\Delta G^\circ = -RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]} \tag{3}$$

La constante de equilibrio en condiciones estándar, K'_{eq}, se define como

$$K_{eq} = \frac{[C][D]}{[A][B]} \tag{4}$$

Sustituyendo la ecuación 4 en la ecuación 3, se obtiene

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq} \tag{5}$$

que se puede reorganizar para dar

$$K_{eq} = e^{-\Delta G^\circ / RT} \tag{6}$$

Sustituyendo los valores $R = 8{,}315 \times 10^{-3}$ kJ mol^{-1} K^{-1} y $T = 298$ K (lo que corresponde a 25 °C), se obtiene

$$K_{eq} = e^{-\Delta G^\circ / 2{,}47} \tag{7}$$

donde en este caso $\Delta G^{\circ\prime}$ viene expresada en kilojulios por mol debido a las unidades escogidas para R en la ecuación 7. Por tanto, la energía libre estándar y la constante de equilibrio de una reacción están relacionadas por medio de una sencilla expresión. Por ejemplo, una constante de equilibrio de 10 supone un incremento de la energía libre estándar de −5,69 kJ mol^{-1} (−1,36 kcal mol^{-1}) a 25 °C (Tabla 6.3). Obsérvese que cada vez que el valor de la constante de equilibrio se multiplica por 10, el $\Delta G^{\circ\prime}$ experimenta un cambio de 5,69 kJ mol^{-1} (1,36 kcal mol^{-1}).

Es importante destacar un hecho: que el ΔG° de una reacción sea mayor, menor o igual que $\Delta G^{\circ\prime}$ depende de las concentraciones de los reactantes y de los productos. El criterio de espontaneidad de una reacción es ΔG, no $\Delta G^{\circ\prime}$. Este punto es importante porque las reacciones que no son espontáneas en base a su $\Delta G^{\circ\prime}$ se pueden volver espontáneas ajustando las concentraciones de reactantes y productos. Este principio es la base del acoplamiento de reacciones para generar rutas metabólicas (Capítulo 15).

? PREGUNTA RÁPIDA ¿Cuál de las siguientes dos reacciones tendrá lugar de forma espontánea? ¿Cuáles son los valores de $\Delta G^{\circ\prime}$ para las reacciones inversas?

A → B $\Delta G^\circ = -10$ kJ mol^{-1}
C → D $\Delta G^\circ = +10$ kJ mol^{-1}

Las enzimas alteran la velocidad de la reacción pero no el equilibrio de la reacción

Como las enzimas son unos magníficos catalizadores resulta tentador atribuirles poderes que no tienen. *Una enzima no puede alterar las leyes de la termodinámica y, por tanto, no puede alterar el equilibrio de una reacción química.* Consideremos una

Tabla 6.3 Relación entre $\Delta G^{\circ\prime}$ y K'_{eq} (a 25°C)

	$\Delta G^{\circ\prime}$	
K'_{eq}	kJ mol^{-1}	kcal mol^{-1}
10^{-5}	28,53	6,82
10^{-4}	22,84	5,46
10^{-3}	17,11	4,09
10^{-2}	11,42	2,73
10^{-1}	5,69	1,36
1	0	0
10	−5,69	−1,36
10^2	−11,42	−2,73
10^3	−17,11	−4,09
10^4	−22,84	−5,46
10^5	−28,53	−6,82

reacción catalizada por una enzima, la conversión de sustrato, S, en producto, P. La Figura 6.2 representa la velocidad de formación de producto en función del tiempo tanto en presencia como en ausencia de enzima. Hay que destacar que la cantidad de producto que se forma es la misma tanto si hay enzima como si no lo hay, pero, en este ejemplo concreto, la cantidad de producto que se forma en unos segundos en presencia de enzima tardaría horas o siglos en formarse si no hubiese enzima (ver la Tabla 6.1).

¿Por qué, al cabo de un tiempo, se estabiliza la velocidad de formación de producto? La reacción ha alcanzado el equilibrio. El sustrato S se sigue convirtiendo en el producto P, pero P se está convirtiendo en S a una velocidad tal que la cantidad de P permanece constante. *Las enzimas aceleran la consecución de los equilibrios, pero no varían sus posiciones. La posición de equilibrio depende únicamente de la diferencia de energía libre entre los reactantes y los productos.*

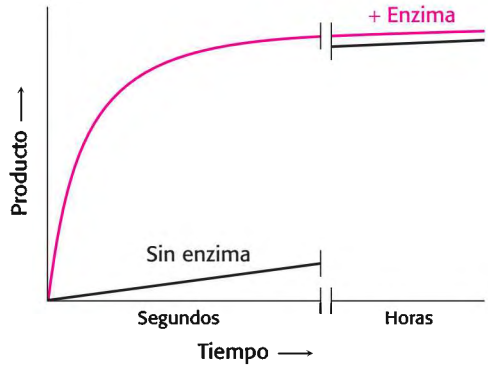


Figura 6.2 Las enzimas aceleran la velocidad de reacción. En el equilibrio se llega al mismo punto, pero de forma mucho más rápida en presencia de una enzima.

6.4 Las enzimas facilitan la formación del estado de transición

✓ 2 Explicar la relación entre el estado de transición y el centro activo de una enzima, y enumerar las características de los centros activos.

La diferencia de energía libre entre los reactantes y los productos explica el equilibrio de una reacción, pero las enzimas aceleran la velocidad a la que se consigue dicho equilibrio. ¿Cómo se puede explicar el incremento de la velocidad en términos termodinámicos? Para ello, no tenemos que considerar los estados inicial y final de la reacción sino la ruta química que va del uno al otro.

Una reacción química en la que el sustrato S forma el producto P atraviesa un *estado de transición* $X^{\ddagger}$ que posee una energía libre mayor que la de S o la de P. El símbolo de la doble cruz representa el estado de transición. El estado de transición es una estructura molecular transitoria que ya ha dejado de ser el sustrato, pero que todavía no es el producto. El estado de transición es la especie menos estable y la que más raramente se podrá encontrar durante el mecanismo de la reacción porque es la que posee mayor energía libre.

$$S \rightleftharpoons X^{\ddagger} + P$$

La diferencia de energía libre entre el estado de transición y el sustrato se denomina *energía libre de activación* o, sencillamente, *energía de activación* y se representa como $\Delta G^{\ddagger}$ (Figura 6.3).

$$\Delta G^{\ddagger} = G_{X}{}^{\ddagger} - G_{S}$$

Hay que señalar que la energía de activación, $\Delta G^{\ddagger}$, no está presente en el cálculo del ΔG final de la reacción porque la energía que se tuvo que añadir para alcanzar el estado de transición se libera cuando el estado de transición se convierte en el producto. La energía de activación sugiere de forma inmediata cómo aceleran las enzimas la velocidad de reacción sin alterar el ΔG de la reacción: las enzimas actúan disminuyendo la energía de activación. En otras palabras, *las enzimas facilitan la formación del estado de transición.*

La combinación de sustrato y enzima genera un mecanismo de reacción en el que la energía del estado de transición es menor de la que tendría en ausencia de la enzima (ver la Figura 6.3). Como la energía de activación es menor, habrá más moléculas con la energía necesaria para alcanzar el estado de transición y se formará más producto y de forma más rápida. La disminución de la barrera de activación es análoga a la disminución de la altura del listón en una competición de salto de altura; habrá más atletas capaces de superar el listón. *La esencia de la catálisis consiste en la estabilización del estado de transición.*

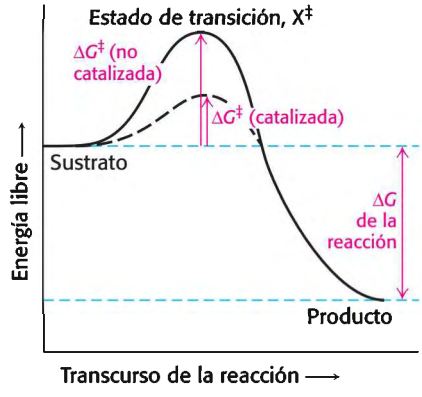


Figura 6.3 Las enzimas reducen la energía de activación. Las enzimas aceleran las reacciones disminuyendo $\Delta G^{\ddagger}$, la energía libre de activación.

El primer paso de la catálisis enzimática es la formación de un complejo enzima-sustrato

Gran parte del poder catalítico de las enzimas se debe a la yuxtaposición de los sustratos con la orientación adecuada para promover la formación de los estados de transición. En los *complejos enzima-sustrato* (ES), las enzimas yuxtaponen los sustratos. El sustrato o sustratos se unen a una región específica de la enzima denominada *centro activo*. Como ya se mencionó en este capítulo, la mayoría de las enzimas son muy selectivas con los sustratos a los que se unen.

Los centros activos de las enzimas poseen algunas características comunes

El centro activo de una enzima es la región que se une a los sustratos (y, de haberlos, a los cofactores). *En el centro activo, la interacción entre la enzima y el sustrato promueve la formación del estado de transición.* El centro activo es la región de la enzima que más directamente reduce el $\Delta G^{\ddagger}$ de la reacción y, por tanto, el que origina el incremento de velocidad característico de la actuación de las enzimas. Aunque las enzimas difieren ampliamente en su estructura, especificidad y mecanismo de catálisis, se puede establecer una serie de generalizaciones en relación con sus centros activos:

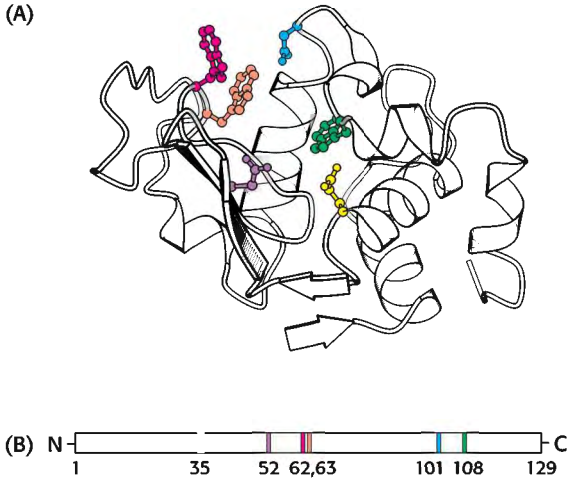


Figura 6.4 Los centros activos pueden incluir residuos alejados. (A) Diagrama de cintas de la enzima lisozima con varios integrantes del centro activo coloreados. (B) Representación esquemática de la estructura primaria de la lisozima que muestra que el centro activo está formado por residuos que proceden de diferentes regiones de la cadena polipeptídica. [Elaborada a partir de 6LYZ.pdb.]

1. *El centro activo es una grieta o hendidura tridimensional* formada por grupos procedentes de distintas regiones de la secuencia de aminoácidos: de hecho, es frecuente que aminoácidos que están cerca uno del otro en la estructura primaria estén limitados estéricamente a la hora de adoptar las relaciones estructurales necesarias para formar el centro activo. En el caso de la lisozima, los grupos importantes del centro activo pertenecen a los residuos 35, 52, 62, 63, 101 y 108 de una secuencia de 129 aminoácidos (**Figura 6.4**). La lisozima, presente en diversos organismos y tejidos, incluyendo las lágrimas del ser humano, degrada la pared celular de algunas bacterias.

2. *El centro activo representa una pequeña parte del volumen total de una enzima.* La mayoría de los residuos de aminoácido de una enzima no están en contacto con el sustrato, lo que hace surgir la interesante cuestión de por qué las enzimas son tan grandes. Casi todas las enzimas están formadas por más de 100 residuos de aminoácido, lo que les confiere una masa de más de 10 kDa y un diámetro de más de 25 Å. Los aminoácidos "extra" actúan como un andamiaje que permite la creación del centro activo tridimensional. En muchas proteínas, los demás aminoácidos también forman parte de centros reguladores, de lugares de interacción con otras proteínas o de canales que conducen a los sustratos hacia sus centros activos.

3. *Los centros activos son microentornos únicos.* La estrecha asociación entre el centro activo y el sustrato significa que, a menudo, el agua queda excluida del centro activo a no ser que sea un reactante. El microentorno no polar de la hendidura favorece tanto la unión de los sustratos como la catálisis.

4. *Los sustratos se unen a las enzimas mediante múltiples interacciones débiles.* En los complejos ES, las interacciones no covalentes entre la enzima y el sustrato son mucho más débiles que los enlaces covalentes. Estas interacciones débiles y reversibles pueden ser interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno o las fuerzas de van der Waals impulsadas por el efecto hidrofóbico. Las fuerzas de van der Waals solo adquieren importancia en la unión cuando un elevado número de átomos del sustrato se acercan de forma simultánea a un elevado número de átomos de la enzima. Por tanto, para que la unión sea lo más fuerte posible, la enzima y el sustrato deberían tener formas complementarias.

5. *La especificidad de la unión depende de la perfectamente definida disposición de los átomos en un centro activo.* Como la enzima y el sustrato interaccionan mediante fuerzas de corto alcance que requieren un contacto íntimo, un sustrato debe tener

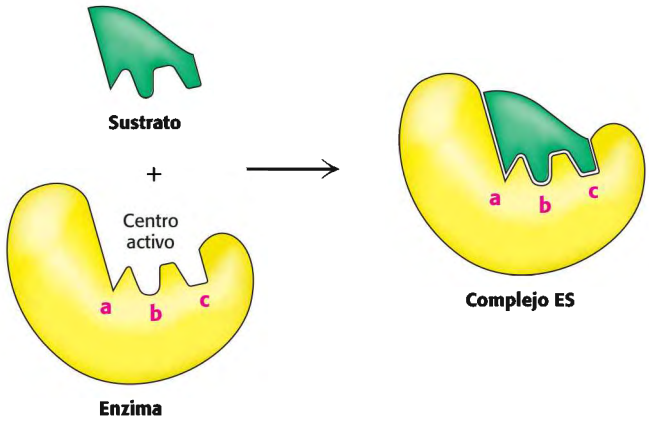


Figura 6.5 Modelo llave-cerradura para la unión de la enzima al sustrato. En este modelo, el centro activo de la enzima libre tiene una forma complementaria a la del sustrato.

una forma que encaje perfectamente en el centro activo. La analogía de la cerradura y la llave propuesta por Emil Fischer en 1890 (Figura 6.5) ha resultado ser muy estimulante y provechosa. Sin embargo, hoy en día sabemos que las enzimas son flexibles y que la forma de los centros activos se puede modificar considerablemente tras la unión del sustrato, tal y como postuló Daniel E. Koshland Jr. en 1958. Los centros activos de algunas enzimas solo adoptan una forma complementaria a la del sustrato *después* de haberse unido el sustrato. Este proceso de reconocimiento dinámico se denomina *ajuste inducido* (Figura 6.6).

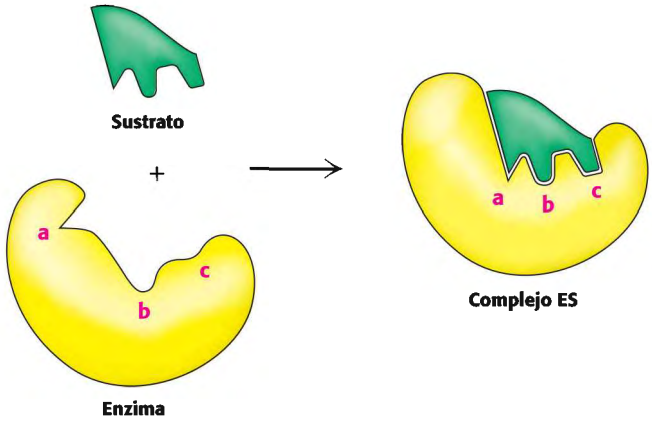


Figura 6.6 Modelo del ajuste inducido para la unión de la enzima al sustrato. En este modelo, la enzima cambia de forma cuando se une al sustrato. El centro activo adopta una forma complementaria a la del sustrato sólo después de haberse unido el sustrato.

La energía de la unión entre una enzima y su sustrato es importante para la catálisis

La energía libre se libera gracias a la formación de un gran número de interacciones débiles entre una enzima y un sustrato complementarios. La energía libre liberada durante la unión se denomina *energía de unión*. Solo el sustrato correcto puede participar en la mayor parte o en la totalidad de las interacciones con el enzima y, de este modo, maximizar la energía de unión, lo que explica la exquisita especificidad que multitud de enzimas exhiben hacia el sustrato. Además, *el conjunto completo de este tipo de interacciones solo se forma cuando el sustrato se encuentra en el estado de transición*. Así, cuando la enzima facilita la formación del estado de transición se libera la máxima energía libre. Se puede pensar que la energía liberada por las interacciones entre la enzima y el sustrato disminuye la energía de activación. Sin embargo, el estado de transición es demasiado inestable como para durar mucho tiempo. Se transforma en sustrato o en producto, pero cuál de los dos se va a acumular está determinado únicamente por la diferencia de energía entre el sustrato y el producto —es decir, por el ΔG de la reacción.

Los análogos de los estados de transición son potentes inhibidores de las enzimas

La importancia de la formación del estado de transición en la catálisis enzimática queda demostrada al estudiar compuestos que se parecen al estado de transición de una reacción, pero sobre los que no puede actuar la enzima. Estas imitaciones se

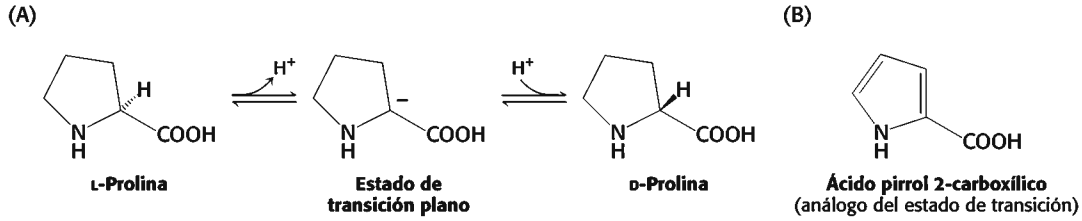


Figura 6.7 Inhibición mediante análogos del estado de transición. (A) La isomerización de la L-prolina a D-prolina por parte de la prolina racemasa, una enzima bacteriana, tiene lugar a través de un estado de transición plano en el que el átomo de carbono α es trigonal en vez de tetraédrico. (B) El pirrol 2-carboxilato, un análogo del estado de transición gracias a su geometría trigonal, es un potente inhibidor de la prolina racemasa.

denominan *análogos del estado de transición*. La inhibición de la prolina racemasa constituye un ejemplo ilustrativo. La racemización de la prolina tiene lugar mediante un estado de transición en el que el carbono α tetraédrico se vuelve trigonal (Figura 6.7). Esta hipótesis está respaldada por el descubrimiento de que el inhibidor pirrol 2-carboxilato se une a la racemasa 160 veces más intensamente que la prolina. *El átomo de carbono α de este inhibidor es trigonal, igual que el del estado de transición.* Se podría pensar que un análogo que también presente una carga negativa en el C_α se uniese todavía con más intensidad. En general, se pueden generar inhibidores de enzimas muy específicos y muy potentes sintetizando compuestos que se parezcan más al estado de transición que al propio sustrato. El poder inhibitorio de los análogos del estado de transición pone de manifiesto la esencia misma de la catálisis: *la unión selectiva del estado de transición.*

La racemización es la conversión de un enantiómero en otro; en el caso de la prolina, la interconversión de los isómeros L y D.

Si nuestra comprensión de la importancia del estado de transición en la catálisis es correcta, los anticuerpos que reconozcan los estados de transición deberían actuar como catalizadores. Se han generado anticuerpos que reconocen los estados de transición de determinadas reacciones y, de hecho, estos anticuerpos, denominados *anticuerpos catalíticos* o *abzimas*, funcionan como enzimas.

Resumen

6.1 Las enzimas son catalizadores potentes y muy específicos

En los sistemas biológicos, los catalizadores son enzimas y prácticamente la totalidad de las enzimas son proteínas. Las enzimas son muy específicas y poseen un gran poder catalítico. Pueden incrementar las velocidades de reacción 10^6 veces o más.

6.2 Muchas enzimas necesitan cofactores para llevar a cabo su actividad

Los cofactores que necesitan las enzimas para su actividad pueden ser coenzimas (pequeñas moléculas orgánicas generadas a partir de vitaminas) o metales.

6.3 La energía libre es una función termodinámica útil para comprender las enzimas

La energía libre (G) es la función termodinámica más útil a la hora de determinar si una reacción puede producirse y para comprender la energética de la catálisis. Una reacción puede producirse de forma espontánea solo si el incremento de energía libre (ΔG) es negativo. Cuando la actividad de los reactantes y de los productos es la unidad, el incremento de energía libre de la reacción se denomina incremento de energía libre estándar ($\Delta G°$). Los bioquímicos utilizan normalmente $\Delta G°'$, el incremento de energía libre estándar a pH 7. Las enzimas no alteran los equilibrios de reacción sino que aumentan las velocidades de reacción.

6.4 Las enzimas facilitan la formación del estado de transición

Las enzimas actúan como catalizadores disminuyendo la energía libre de activación de las reacciones químicas. Las enzimas aceleran las reacciones proporcionando un mecanismo de reacción en el que el estado de transición (la espe-

cie de mayor energía) tiene una menor energía libre y, por tanto, se forma con más rapidez que en el caso de una reacción no catalizada.

La primera etapa de la catálisis consiste en la formación de un complejo enzima-sustrato. Los sustratos se unen a las enzimas en la cavidad del centro activo, una cavidad de la que el agua queda prácticamente excluida una vez unido el sustrato. Con frecuencia, el reconocimiento de los sustratos por parte de las enzimas está asociado a cambios conformacionales del centro activo y este tipo de cambios facilita la formación del estado de transición.

Términos clave

enzima (p. 93)
sustrato (p. 94)
cofactor (p. 95)
apoenzima (p. 95)
holoenzima (p. 95)
coenzima (p. 95)
energía libre (p. 96)
estado de transición (p. 99)
energía libre de activación (p. 99)
complejo enzima-sustrato (ES) (p. 100)
centro activo (p. 100)
ajuste inducido (p. 101)

? Respuesta a la PREGUNTA RÁPIDA

La reacción con el $\Delta G^{\circ\prime}$ negativo será espontánea (exergónica), mientras que la reacción con el $\Delta G^{\circ\prime}$ positivo no será espontánea (endergónica). En el caso de que las reacciones procedan en sentido contrario, los valores numéricos serán los mismos, pero los signos serán opuestos.

Problemas

1. *Raisons d'être.* ¿Cuáles son las dos propiedades de las enzimas que las convierten en unos catalizadores especialmente útiles? ✓ 1

2. *Propiedades compartidas.* ¿Cuáles son las características generales del centro activo de las enzimas? ✓ 2

3. *Compañeros.* ¿Qué necesita una apoenzima para convertirse en una holoenzima?

4. *Diferentes compañeros.* ¿Cuáles son los dos tipos principales de cofactor?

5. *Una al día.* ¿Por qué las vitaminas son necesarias para disfrutar de una buena salud?

6. *Una función de estado.* ¿Cuál es el mecanismo fundamental mediante el cual las enzimas aumentan la velocidad de las reacciones químicas? ✓ 1

7. *Resquicios.* ¿Cuál es la base estructural de la especificidad de las enzimas? ✓ 2

8. *Atracción mutua.* ¿Qué quiere decir el término *energía de unión*? ✓ 2

9. *Unión catalítica.* ¿ Cuál es el papel de la energía de unión en la catálisis enzimática? ✓ 2

10. *Situación pegajosa.* ¿Qué ocurriría en el caso de que una enzima tuviese una mayor energía de unión para el sustrato que para el estado de transición? ✓ 2

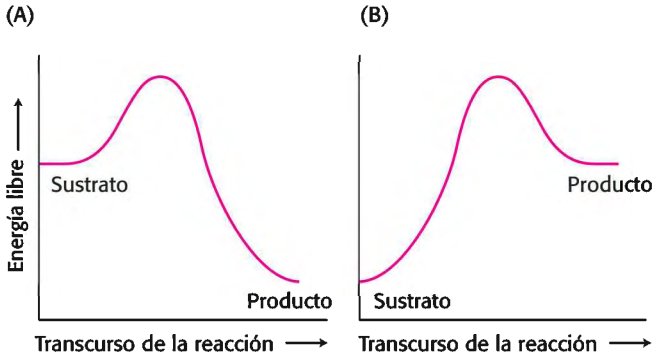
11. *Hechos el uno para el otro.* Asigne a cada término la descripción correspondiente.

(a) Enzima _____
(b) Sustrato _____
(c) Cofactor _____
(d) Apoenzima _____
(e) Holoenzima _____
(f) Coenzimas _____
(g) $\Delta G^{\circ\prime}$ _____
(h) Estado de transición _____
(i) Centro activo _____
(j) Ajuste inducido _____

1. El intermediario menos estable de la reacción
2. Lugar del enzima donde tiene lugar la catálisis
3. Enzima sin cofactor
4. Catalizador de naturaleza proteica
5. Depende de K'_{eq}
6. Cambio estructural de la enzima
7. Reactante en una reacción catalizada por una enzima
8. Una coenzima o un metal
9. Enzima más cofactor
10. Pequeños cofactores orgánicos generados a partir de vitaminas

12. *Da con una mano, recibe con la otra.* ¿Por qué la energía de activación de una reacción no aparece en el ΔG final de la reacción? ✓ 1

13. *Progresando.* La ilustración de la página 104 muestra las curvas que representan el progreso de la reacción en el caso de dos reacciones diferentes. Señale cuál es la energía de activación y el ΔG para cada reacción. ¿Cuál de las reacciones es endergónica? ¿Y exergónica? ✓ 1



14. *Subiendo montañas.* Desde el punto de vista termodinámico, las proteínas son inestables. El ΔG de la hidrólisis de proteínas es bastante negativo a pesar de que las proteínas pueden ser bastante estables. Explique esta aparente paradoja. ¿Qué le está indicando en relación con la síntesis de proteínas?

15. *Protección.* Sugiera por qué la enzima lisozima, que degrada la pared celular de algunas bacterias, se encuentra presente en las lágrimas.

16. *La estabilidad importa.* Con frecuencia, los análogos del estado de transición, que se pueden utilizar como inhibidores enzimáticos y para generar anticuerpos catalíticos, son difíciles de sintetizar. Sugiera un motivo. ✓ 2

17. *Emparéjelos.* Empareje los valores de K'_{eq} con los valores de $\Delta G^{\circ\prime}$ correspondientes. ✓ 1

	K'_{eq}	$\Delta G^{\circ\prime}$ (kJ mol^{-1})
(a)	1	28,53
(b)	10^{-5}	−11,42
(c)	10^{4}	5,69
(d)	10^{2}	0
(e)	10^{-1}	−22,84

18. *¡Energía libre!* Considere la siguiente reacción:

Glucosa 1-fosfato $\rightleftharpoons$ glucosa 6-fosfato

Tras mezclar los reactantes y los productos y dejar que se alcance el equilibrio a 25 °C, se midió la concentración de cada componente:

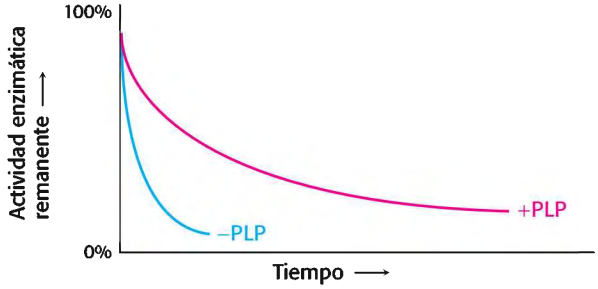
$$[\text{Glucosa 1-fosfato}]_{eq} = 0{,}01\ \text{M}$$
$$[\text{Glucosa 6-fosfato}]_{eq} = 0{,}19\ \text{M}$$

Calcule K_{eq} y $\Delta G^{\circ\prime}$.

19. *¡Más energía libre!* En condiciones estándar (298 K, pH 7), la isomerización de la dihidroxiacetona fosfato (DHAP) en gliceraldehído 3-fosfato (GAP) tiene una constante de equilibrio de 0,0475. Calcule el $\Delta G^{\circ\prime}$ de la isomerización. A continuación, calcule el ΔG de esta reacción cuando la concentración inicial de DHAP es 2×10^{-4} M y la concentración inicial de GAP es 3×10^{-6} M. ¿Qué le sugieren estos valores en relación con la importancia de ΔG, en comparación con $\Delta G^{\circ\prime}$, a la hora de estudiar la termodinámica de las reacciones intracelulares? ✓ 1

20. *Un mutante tenaz.* Suponga que una enzima mutante se une a un sustrato con una intensidad 100 veces mayor que la enzima nativa. ¿Cuál será el efecto de esta mutación sobre la velocidad de la catálisis si la unión del estado de transición no resulta afectada? ✓ 2

21. *Una cuestión de estabilidad.* El piridoxal fosfato (PLP) es una coenzima para la enzima ornitina aminotransferasa. Se purificó la enzima a partir de células cultivadas en un medio carente de PLP y a partir de células cultivadas en un medio que contenía PLP. A continuación, se midió la estabilidad de la enzima incubándola a 37 °C y determinando la actividad enzimática remanente. Se obtuvieron los siguientes resultados.



(a) ¿Por qué disminuye la cantidad de enzima activa con el tiempo de incubación?
(b) ¿Por qué la cantidad de enzima procedente de las células cultivadas en ausencia de PLP desciende con más rapidez?

Problemas para atrevidos

22. *Energía libre, otra vez.* Suponga que tiene una disolución de glucosa 6-fosfato 0,1 M. A esta disolución le añade la enzima fosfoglucomutasa, que cataliza la reacción: ✓ 1

Glucosa 6-fosfato $\overset{\text{Fosfoglucomutasa}}{\rightleftharpoons}$ glucosa 1-fosfato

El $\Delta G^{\circ\prime}$ de la reacción es +7,5 kJ mol^{-1} (+1,8 kcal mol^{-1}).
(a) ¿Tiene lugar la reacción en el sentido que se ha indicado anteriormente? En ese caso, ¿cuáles son las concentraciones finales de glucosa 6-fosfato y de glucosa 1-fosfato?
(b) ¿En qué condiciones celulares se podría producir glucosa 1-fosfato a una velocidad elevada?

23. *Posibles donadores y aceptores.* La hormona progesterona contiene dos grupos cetona. A pH 7, ¿qué cadenas laterales de una proteína podrían formar puentes de hidrógeno con la progesterona?

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 7

Cinética y regulación

7.1 La cinética es el estudio de las velocidades de reacción

7.2 El modelo de Michaelis-Menten describe la cinética de muchas enzimas

7.3 Las enzimas alostéricas son catalizadores y sensores de información

7.4 Las moléculas de enzima se pueden estudiar de una en una



La vida es, sobre todo, movimiento, ya sea a nivel macroscópico en nuestra vida cotidiana o al nivel molecular de una célula. Lo que motivó al fotógrafo francés Jacques Henri Lartigue a fotografiar en 1912 un automóvil a gran velocidad fue capturar la noción de movimiento. En bioquímica, se utiliza la cinética (palabra que procede del griego *kinesis*, que significa "movimiento") para tratar de entender la dinámica de la actividad enzimática. [Fotografía realizada por Jacques Henri Lartigue © Ministerio de Cultura de Francia / AAJHL. Digital Image © Museo de Arte Moderno / con licencia de SCALA / Art Resource, Nueva York.]

La función principal de las enzimas consiste en acelerar la velocidad de las reacciones de forma que sean compatibles con las necesidades del organismo. Por tanto, para comprender cómo funcionan las enzimas necesitamos una descripción cinética de su actividad. Esta descripción nos ayudará a cuantificar parámetros cinéticos, como, por ejemplo, cómo de rápido puede funcionar una enzima, a qué velocidad funcionará a las concentraciones presentes en una célula y sobre qué sustrato actúa más fácilmente la enzima.

Sin embargo, algunas enzimas tienen que hacer algo más que aumentar la velocidad de las reacciones. En la célula, el metabolismo es un complejo conjunto de docenas de rutas metabólicas formado por miles de reacciones diferentes, cada una de ellas catalizada por una enzima distinta. Si todas estas reacciones se produjesen de una forma no regulada el resultado sería un caos metabólico. Una importante clase de enzimas, las denominadas *enzimas alostéricas*, evitan este caos y contribuyen a una integración del metabolismo eficaz. Estas extraordinarias enzimas no son solo catalizadores sino que también son sensores de información. Detectan señales en el entorno que les permite ajustar la velocidad de sus reacciones para satisfacer las necesidades metabólicas de la célula y facilitar la coordinación eficaz de las diversas rutas metabólicas.

En este capítulo estudiaremos un modelo cinético que describe la actividad de una clase de enzimas sencillas denominadas enzimas de Michaelis-Menten. A con-

tinuación, consideraremos otra clase de enzimas, las enzimas alostéricas. A lo largo de nuestro estudio de la bioquímica veremos muchos ejemplos de estas enzimas que detectan información.

✓ 3 Explicar qué es la velocidad de reacción.

7.1 La cinética es el estudio de las velocidades de reacción

El estudio de las velocidades de las reacciones químicas se denomina *cinética*, y el estudio de las velocidades de las reacciones catalizadas por enzimas se denomina *cinética enzimática*. Comenzaremos estudiando brevemente algunos de los principios básicos de la cinética de las reacciones.

¿Qué queremos decir cuando nos referimos a la "velocidad" de una reacción química? Consideremos una reacción sencilla:

$$A \longrightarrow P$$

La velocidad de la reacción, V (de velocidad), es la cantidad de reactante, A, que desaparece en una unidad de tiempo, t, determinada. Equivale a la velocidad a la que se forma el producto, P, es decir, la cantidad de producto P que aparece en una unidad de tiempo determinada.

$$V = -d[A]/dt = d[P]/dt \tag{1}$$

donde d es la disminución de la concentración de sustrato o el aumento de la concentración de producto. Si A es de color amarillo y P es incoloro, podemos seguir la disminución de la concentración de A monitorizando la disminución de la intensidad del color amarillo con el paso del tiempo. De momento, solo se va a considerar el cambio en la concentración de A. La velocidad de la reacción está directamente relacionada con la concentración de A mediante una constante de proporcionalidad, k, denominada *constante de velocidad*.

$$V = k[A] \tag{2}$$

Las reacciones en las que la velocidad es directamente proporcional a la concentración de reactante se denominan *reacciones de primer orden*. Las constantes de velocidad de las reacciones de primer orden tienen unidades de s^{-1} (por segundo).

Muchas reacciones químicas importantes incluyen dos reactantes. Este tipo de reacciones se denominan *reacciones de segundo orden*. Por ejemplo,

$$2\,A \longrightarrow P$$

o

$$A + B \longrightarrow P$$

Se denominan *reacciones bimoleculares* y las ecuaciones de velocidad correspondientes son

$$V = k[A]^2 \tag{3}$$

y

$$V = k[A][B] \tag{4}$$

Las constantes de velocidad, denominadas constantes de velocidad de las reacciones de segundo orden, tienen unidades de $M^{-1}\,s^{-1}$ (por moles/litro y por segundo).

A veces, las reacciones de segundo orden pueden parecer reacciones de primer orden. Por ejemplo, en la reacción 4, si la concentración de B excede en gran medida a la de A y si A está presente a concentraciones reducidas, la velocidad de la reacción será de primer orden con respecto a A y parecerá que no depende de la concentración de B. Estas reacciones se denominan *reacciones de pseudo-primer orden* y las veremos en diversas ocasiones a lo largo de nuestro estudio de la bioquímica.

Curiosamente, en determinadas condiciones, una reacción puede ser de orden cero. En estos casos, la velocidad es independiente de las concentraciones de los reactantes. En determinadas condiciones, las reacciones catalizadas por enzimas pueden parecer reacciones de orden cero.

7.2 El modelo de Michaelis-Menten describe la cinética de muchas enzimas

✓ 4 Explicar cómo se determina la velocidad de reacción y cómo se utilizan las velocidades de reacción para caracterizar la actividad enzimática.

Cuando la concentración de enzima es constante, la velocidad inicial de la catálisis, que se define como el número de moles de producto que se forman por segundo poco después de haber comenzado la reacción, varía con la concentración de sustrato, [S], tal y como se muestra en la Figura 7.1. Una forma razonable de estudiar la actividad enzimática consiste en examinar cómo cambia la velocidad en respuesta a cambios en la concentración de sustrato porque las variaciones de la concentración de sustrato dependen de circunstancias ambientales (p. ej., después de una comida), pero la concentración de enzimas es relativamente constante, especialmente en la escala de tiempos de las velocidades de reacción. La Figura 7.1 muestra que la velocidad de catálisis aumenta de forma lineal a medida que la concentración de sustrato aumenta y que, posteriormente, a concentraciones de sustrato más elevadas, empieza a estabilizarse y a aproximarse de forma asintótica a un valor máximo.

Antes de poder interpretar por completo esta gráfica, tenemos que examinar algunos de los parámetros de la reacción. Consideremos una enzima, E, que cataliza la conversión de S en P según la siguiente reacción:

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} E + P \qquad (5)$$

donde k_1 es la constante de velocidad para la formación del complejo enzima-sustrato (ES), k_2 es la constante de velocidad para la formación del producto P y k_{-1} y k_{-2} son las constantes de las correspondientes reacciones en sentido contrario. La Figura 7.2 muestra, para una serie de concentraciones de sustrato, la cantidad de producto que se forma en función del tiempo. Como era de esperar, en cada caso, la cantidad de producto formado aumenta con el tiempo aunque, en última instancia, llega un momento a partir del cual *no hay un cambio neto* en la concentración de S o P. La enzima sigue siendo activa y convierte el sustrato en producto y viceversa, pero se ha alcanzado el equilibrio de la reacción.

Podemos simplificar todo el estudio de la cinética enzimática si ignoramos la reacción opuesta en la que se forma sustrato a partir del producto. Para ello, basta con definir V_0 como la velocidad a la que aumenta el producto con el tiempo mientras la [P] es baja —es decir, a tiempos próximos al inicio de la reacción (por eso se denomina V_0). Así, en el gráfico de la Figura 7, 2 se determina V_0 para cada concentración de sustrato midiendo la velocidad de formación de producto a tiempos cortos, antes de que llegue a acumularse P. Utilizando esta aproximación se puede simplificar la reacción 5, que ahora se ajusta al siguiente esquema de reacción:

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} E + P \qquad (6)$$

La enzima E se combina con el sustrato S para formar un complejo ES, con una constante de velocidad k_1. El complejo ES tiene dos posibles destinos. Se puede disociar en E y S con una constante de velocidad k_{-1} o puede proseguir para formar el producto P, con una constante de velocidad k_2.

En 1913, basándose en este esquema de reacción y con algunas simples suposiciones, Leonor Michaelis y Maud Menten propusieron un sencillo modelo para explicar estas características cinéticas. La característica esencial de su razonamiento es la existencia de *un complejo ES específico que es un intermediario necesario para la catálisis*. Aunque desde nuestra perspectiva actual resulta algo obvio, la noción de que una enzima tuviese que unirse al sustrato antes de que se produjese la catálisis no era tan evidente para los bioquímicos de la época. Algunos pensaban que las enzimas podrían liberar emanaciones que convertían el sustrato en producto.

La *ecuación de Michaelis-Menten* describe la variación de la actividad enzimática en función de la concentración de sustrato. El desarrollo de la ecuación a partir de los términos que acabamos de describir se encuentra en el Apéndice que aparece al final de este capítulo. Esta ecuación es:

$$V_0 = V_{máx} \frac{[S]}{[S] + K_M} \qquad (7)$$

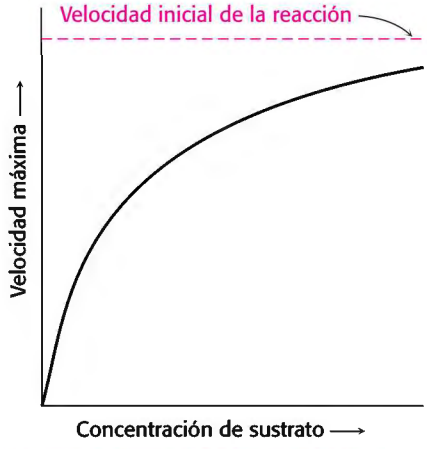


Figura 7.1 Velocidad de reacción en función de la concentración de sustrato para una reacción catalizada por una enzima. Una reacción catalizada por una enzima tiende a alcanzar una velocidad máxima.

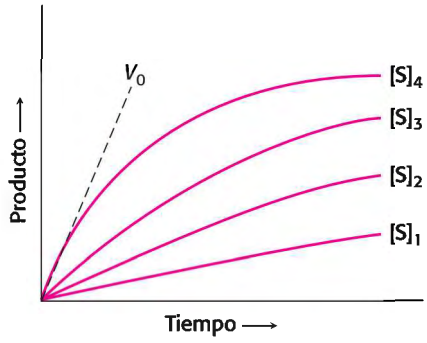


Figura 7.2 Determinación de la velocidad inicial. Se representa la cantidad de producto formado a diferentes concentraciones de sustrato en función del tiempo. Para cada concentración de sustrato se determina la velocidad inicial (V_0) a partir de la pendiente de la curva al comienzo de la reacción, cuando la reacción inversa es insignificante. Se muestra la velocidad inicial para la concentración de sustrato $[S]_4$.

donde

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \tag{8}$$

K_M, una combinación de las constantes de reacción denominada *constante de Michaelis*, es exclusiva para cada enzima y es independiente de la concentración de enzima. K_M describe las propiedades de la interacción enzima-sustrato y, por tanto, variará en el caso de enzimas que puedan utilizar sustratos diferentes. La máxima velocidad posible, $V_{máx}$, solo se puede conseguir cuando la totalidad de la enzima (enzima total, E_T) se encuentra unida al sustrato (S).

$$V_{máx} = k_2[E]_T \tag{9}$$

$V_{máx}$ depende directamente de la concentración de enzima. La ecuación 7 describe la típica curva de Michaelis-Menten tal y como se observa en la Figura 7.3. A concentraciones de sustrato muy bajas, cuando [S] es mucho menor que el valor de K_M, la velocidad es directamente proporcional a la concentración de sustrato; es decir, $V_0 = (V_{máx}/K_M)[S]$. A concentraciones de sustrato elevadas, cuando [S] es mucho mayor que el valor de K_M, $V_0 \approx V_{máx}$; es decir, la velocidad es máxima, independientemente de la concentración de sustrato. Cuando una enzima está operando a $V_{máx}$, la totalidad de enzima disponible se encuentra unida al sustrato; la adición de más sustrato no afectará a la velocidad de la reacción. La enzima está mostrando una cinética de orden cero. En estas condiciones, se dice que la enzima está *saturada*.

Consideremos el caso concreto en el que $V_0 = (V_{máx}/2)$. En estas condiciones, la ecuación 7 pone de manifiesto el significado práctico de K_M. Sustituyendo V_0 por $V_{máx}/2$ y despejando la [S], vemos que cuando $V_0 = (V_{máx}/2)$ la [S] = K_M. Así, *la K_M equivale a la concentración de sustrato a la que la velocidad de la reacción es la mitad de su valor máximo*. En las reacciones catalizadas por enzimas, K_M es una característica importante, ya que resulta decisiva para su función biológica. La determinación de la $V_{máx}$ y la K_M de una reacción catalizada por enzima es, a menudo, uno de los primeros pasos que hay que dar a la hora de caracterizar una enzima.

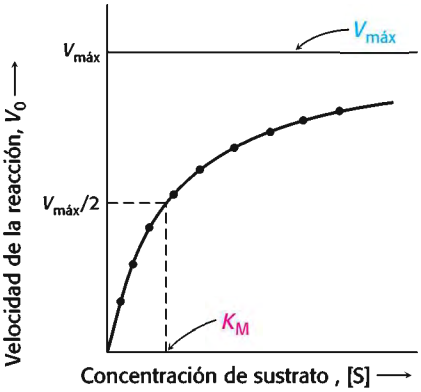


Figura 7.3 Cinética de Michaelis-Menten. Para una enzima que se ajusta a la cinética de Michaelis-Menten, la gráfica de la velocidad de reacción, V_0, en función de la concentración de sustrato, [S], muestra que la velocidad máxima, $V_{máx}$, se alcanza de forma asintótica. La constante de Michaelis-Menten, K_M, es la concentración de sustrato a la cual la velocidad es $V_{máx}/2$.

? PREGUNTA RÁPIDA 1 ¿Qué valor de [S], expresado como una fracción de K_M, se necesita para obtener el 80% de $V_{máx}$?

Aspecto clínico

Los cambios en la K_M pueden tener consecuencias fisiológicas

La repercusión fisiológica de la K_M se refleja en la sensibilidad de algunas personas hacia el etanol (Figura 7.4). Después de ingerir alcohol, aunque sea en pequeñas cantidades, estas personas muestran una cara sonrojada y un ritmo cardiaco acelerado (taquicardia). En el hígado, la alcohol deshidrogenasa convierte el etanol en acetaldehído.

$$\underset{\text{Etanol}}{CH_3CH_2OH} + NAD^+ \xrightleftharpoons{\text{Alcohol deshidrogenasa}} \underset{\text{Acetaldehído}}{CH_3CHO} + NADH + H^+$$

Normalmente, el acetaldehído, que es el causante de los síntomas cuando está presente a concentraciones elevadas, se convierte en acetato mediante la aldehído deshidrogenasa.

$$CH_3CHO + NAD^+ + H_2O \xrightleftharpoons{\text{Aldehído deshidrogenasa}} CH_3COO^- + NADH + 2H^+$$

La mayoría de la gente posee dos versiones de la aldehído deshidrogenasa, una variante mitocondrial con una K_M baja y una variante citoplasmática con K_M elevada. En las personas susceptibles, la enzima mitocondrial es menos activa debido a la sustitución de un único aminoácido y, por tanto, el acetaldehído sólo se procesa mediante la enzima citoplasmática. Como la K_M de la enzima citoplasmática es alta, solo alcanza una velocidad catalítica elevada cuando la concentración de acetaldehído es muy alta. En consecuencia, se convierte menos acetaldehído en acetato; el exceso de acetaldehído se escapa hacia la sangre y es responsable de los efectos fisiológicos. ■



Figura 7.4 El etanol de las bebidas alcohólicas se convierte en acetaldehído. [©Angela Hampton Picture Library/Alamy]

Los valores de K_M y $V_{máx}$ se pueden determinar de varias formas

K_M equivale a la concentración de sustrato a la cual la velocidad es $V_{máx}$ /2; sin embargo, como ocurre con la perfección, es posible acercarse a la $V_{máx}$ pero nunca llegar a ella. Entonces, ¿cómo es posible determinar experimentalmente K_M y $V_{máx}$? y ¿cómo contribuyen estos parámetros a aumentar nuestro conocimiento sobre las reacciones catalizadas por enzimas? Si una enzima funciona siguiendo el sencillo esquema representado en la ecuación 7, se pueden obtener fácilmente la constante de Michaelis, K_M, y la velocidad máxima, $V_{máx}$, a partir de las velocidades de catálisis medidas a diferentes concentraciones de sustrato. La forma más frecuente de obtener K_M y $V_{máx}$ se basa en el uso de programas de ordenador que permiten hacer ajustes de curvas. Sin embargo, un método más antiguo permite ahondar todavía más en el significado de K_M y $V_{máx}$.

Antes de disponer de ordenadores, la determinación de los valores de K_M y $V_{máx}$ se tenía que hacer mediante una transformación algebraica de la ecuación básica de Michaelis-Menten. La ecuación de Michaelis-Menten se puede transformar en una que, al representarla, dé lugar a una línea recta. Si a ambos lados de la ecuación 7 tomamos el inverso, se obtiene que

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_M}{V_{máx}} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{máx}} \qquad (10)$$

Esta es la denominada *ecuación de Lineweaver-Burk* y una representación de $1/V_0$ frente a 1/[S], o *representación doble recíproca*, da lugar a una línea recta en la que la ordenada en el origen es $1/V_{máx}$ y la pendiente es $K_M/V_{máx}$ (Figura 7.5). La abscisa en el origen corresponde a $-1/K_M$. Hoy en día se utiliza poco este método porque los puntos experimentales obtenidos a concentraciones bajas y a concentraciones elevadas se ponderan de manera diferente y, por tanto, están sujetos a error.

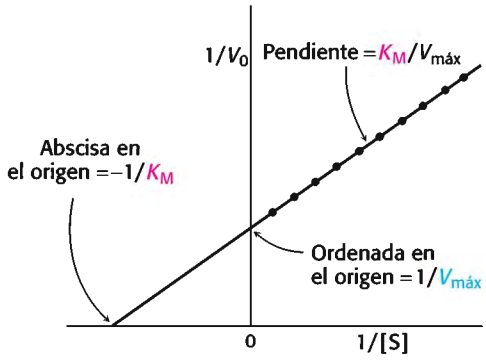


Figura 7.5 Representación doble recíproca o de Lineweaver-Burk. Representando $1/V_0$ en función de 1/[S], se obtiene una representación doble recíproca de la cinética enzimática. La pendiente es $K_M/V_{máx}$, la ordenada en el origen es $1/V_{máx}$ y la abscisa en el origen es $-1/K_M$.

Los valores de K_M y $V_{máx}$ son características importantes de las enzimas

Los valores de K_M de las enzimas varían ampliamente (Tabla 7.1). Para la mayoría de las enzimas, K_M está comprendida entre 10^{-1} y 10^{-7} M. El valor de la K_M de una enzima depende de cada sustrato particular y de condiciones ambientales como el pH, la temperatura y la fuerza iónica. Como ya se ha indicado, la constante de Michaelis, K_M, equivale a la concentración de sustrato a la cual la mitad de los centros activos están ocupados. Por tanto, la K_M proporciona una medida de la concentración de sustrato necesaria para que tenga lugar una catálisis significativa. En el caso de muchas enzimas, las evidencias experimentales sugieren que el valor de K_M representa una aproximación a la concentración de sustrato *in vivo*, lo que, a su vez, sugiere que la mayoría de las enzimas han evolucionado para tener una actividad significativa a la concentración de sustrato que normalmente se encuentra disponible. Podemos especular sobre la idea de por qué una enzima tendría que evolucionar para tener un valor de K_M que corresponda a la concentración de sustrato que suele estar disponible para la enzima. Si la concentración normal de un sustrato está próxima a la K_M, la enzima mostrará una actividad significativa pero la actividad seguirá siendo sensible a los cambios en las condiciones ambientales —es decir, a cambios en la concentración de sustrato. A valores por debajo de K_M, las enzimas son muy sensibles a los cambios en la concentración de sustrato pero presentan poca actividad. A valores de sustrato muy por encima de K_M, las enzimas muestran una gran actividad catalítica pero no son sensibles a los cambios en la concentración de sustrato. Por tanto, como la concentración normal de sustrato es aproximadamente igual a K_M, las enzimas presentan una actividad significativa (la mitad de la $V_{máx}$) pero siguen siendo sensibles a los cambios en la concentración de sustrato.

Tabla 7.1 Valores de K_M para algunas enzimas

Enzima	Sustrato	K_M (μM)
Quimotripsina	Acetil-L-triptofanamida	5.000
Lisozima	Hexa-*N*-acetilglucosamina	6
β-Galactosidasa	Lactosa	4.000
Anhidrasa carbónica	CO_2	8.000
Penicilinasa	Bencilpenicilina	50

Tabla 7.2 Números de recambio para algunas enzimas

Enzima	Número de recambio (por segundo)
Anhidrasa carbónica	600.000
3-Cetoesteroide isomerasa	280.000
Acetilcolinesterasa	25.000
Penicilinasa	2.000
Lactato deshidrogenasa	1.000
Quimotripsina	100
DNA polimerasa I	15
Triptófano sintetasa	2
Lisozima	0,5

La velocidad máxima, $V_{máx}$, da una idea del *número de recambio* de una enzima, que es *el número de moléculas de sustrato que una enzima puede convertir en producto por unidad de tiempo cuando la enzima está totalmente saturada de sustrato*. El número de recambio equivale a la constante de velocidad k_2, que también se denomina k_{cat}. Si se conoce la concentración total de centros activos, $[E]_T$, entonces

$$V_{máx} = k_2[E]_T \tag{11}$$

y, por tanto

$$k_2 = V_{máx}/[E]_T \tag{12}$$

Por ejemplo, una disolución de anhidrasa carbónica 10^{-6} M cataliza la formación de 0,6 M de H_2CO_3 por segundo cuando la enzima se encuentra totalmente saturada de sustrato. Por tanto, k_2 es $6 \times 10^5\ s^{-1}$. Este número de recambio es uno de los más grandes que se conoce. Cada reacción catalizada se produce en un tiempo que equivale, por término medio, a $1/k_2$ y que, en el caso de la anhidrasa carbónica, es de 1,7 µs. Los números de recambio de la mayoría de las enzimas con sus sustratos fisiológicos se encuentran comprendidos entre 1 y 10^4 por segundo (Tabla 7.2).

El cociente K_{cat}/K_M es una medida de la eficiencia catalítica

Cuando la concentración de sustrato es mucho mayor que K_M, la velocidad de catálisis se acerca a $V_{máx}$. Sin embargo, en la célula, la mayoría de las enzimas no suelen estar saturadas de sustrato. En condiciones fisiológicas, la cantidad de sustrato presente suele ser entre un 10% y un 50% de K_M. Por tanto, el cociente $[S]/K_M$ arroja unos valores típicos comprendidos entre 0,01 y 0,1. Cuando $[S] \ll K_M$, la velocidad enzimática es mucho menor que k_{cat} porque la mayoría de los centros activos están sin ocupar. Podemos obtener una ecuación que caracterice la cinética de una enzima en las condiciones celulares más habituales:

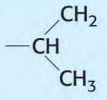
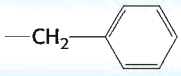
$$V_0 = \frac{k_{cat}}{K_M}[E][S] \tag{13}$$

Cuando $[S] \ll K_M$, casi todos los centros activos se encuentran vacíos. En otras palabras, la concentración de enzima libre, [E], es casi igual a la concentración total de enzima $[E]_T$; y entonces

$$V_0 = \frac{k_{cat}}{K_M}[S][E]_T \tag{14}$$

Así, cuando $[S] \ll K_M$, la velocidad enzimática depende de los valores k_{cat}/K_M, [S] y $[E]_T$. En estas condiciones, k_{cat}/K_M es la constante de velocidad para la interacción entre S y E. La constante de velocidad k_{cat}/K_M es una medida de la eficiencia catalítica porque tiene en cuenta tanto la velocidad de catálisis con un sustrato concreto (k_{cat}) como la fortaleza de la interacción enzima-sustrato (K_M). Por ejemplo, utilizando valores de k_{cat}/K_M, podemos comparar la preferencia de una enzima hacia sustratos diferentes. La Tabla 7.3 muestra los valores de k_{cat}/K_M para diversos sustratos de la quimotripsina, una enzima

Tabla 7.3 Sustratos preferentes para la quimotripsina

Aminoácido presente en el éster	Cadena lateral del aminoácido	k_{cat}/K_M (s^{-1} M^{-1})
Glicina	—H	$1{,}3 \times 10^{-1}$
Valina		2,0
Norvalina	$—CH_2CH_2CH_3$	$3{,}6 \times 10^{2}$
Norleucina	$—CH_2CH_2CH_2CH_3$	$3{,}0 \times 10^{3}$
Fenilalanina		$1{,}0 \times 10^{5}$

Fuente: tomado de A. Fersth, *Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding* (W. H. Freeman and Company, 1999), Tabla 6.3.

digestiva secretada por el páncreas. Claramente, la quimotripsina tiene preferencia a romper enlaces cerca de cadenas laterales hidrofóbicas y voluminosas (p. 134).

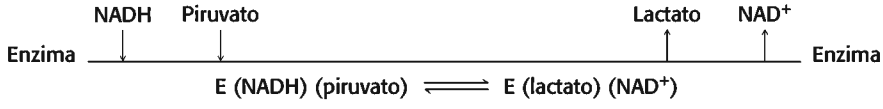
La mayoría de las reacciones bioquímicas incluyen múltiples sustratos

La forma más sencilla de explicar la cinética de Michaelis-Menten consiste en utilizar como ejemplo una reacción con un único sustrato. Sin embargo, en los sistemas biológicos la mayoría de las reacciones comienzan con dos sustratos y generan dos productos. Se pueden representar mediante la siguiente reacción bisustrato:

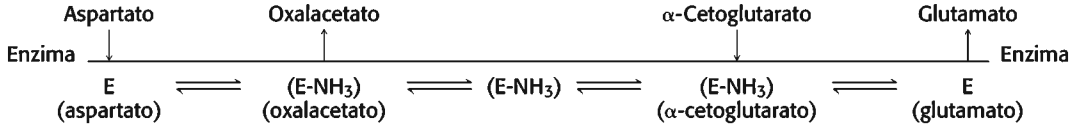
$$A + B \rightleftharpoons P + Q$$

Muchas de estas reacciones transfieren un grupo funcional, como, por ejemplo, un grupo fosforilo o un grupo amonio de un sustrato a otro. Las reacciones de oxidación-reducción transfieren electrones entre sustratos. Aunque se pueden desarrollar ecuaciones para describir la cinética de las reacciones con múltiples sustratos, renunciaremos a hacer una descripción cinética de este tipo de reacciones y sencillamente estudiaremos algunos principios generales de las reacciones bisustrato.

Las reacciones con múltiples sustratos se pueden dividir en dos clases: *reacciones secuenciales* y *reacciones de doble desplazamiento* (Figura 7.6). Los diagramas mostrados en la Figura 7.6 se denominan representaciones de Cleland.



(A) **Reacción secuencial**



(B) **Reacción de doble desplazamiento**

Figura 7.6 Representación de Cleland para reacciones bisustrato. (A) Reacción secuencial. El primer sustrato (NADH) se une a la enzima y, después, se une el segundo sustrato (piruvato) para formar un complejo ternario compuesto por dos sustratos y la enzima. A continuación, tiene lugar la catálisis, en la que se forma un complejo ternario compuesto por dos productos y la enzima. A Después, se liberan los productos de forma secuencial. (B) Doble desplazamiento. Se une el primer sustrato (aspartato) y se produce el primer paso catalítico, con lo que se genera una enzima sustituida ($E\text{-}NH_3$). A continuación, se libera el primer producto (oxalacetato). El segundo sustrato (α-cetoglutarato) se une a la enzima sustituida. Se produce el segundo paso catalítico en el que el NH_3 se transfiere al sustrato para formar el producto final, glutamato, que se desprende de la enzima.

Reacciones secuenciales En las reacciones secuenciales, todos los sustratos se tienen que unir a la enzima antes de que se pueda liberar producto. En consecuencia, en una reacción bisustrato se forma *un complejo ternario* formado por la enzima y los dos sustratos. Los mecanismos secuenciales son de dos tipos: ordenados, en los que los sustratos se unen a la enzima siguiendo un orden definido, y aleatorios.

Reacciones de doble desplazamiento (ping-pong) En las reacciones de doble desplazamiento, o reacciones ping-pong, se liberan uno o más productos antes de que todos los sustratos se hayan unido a la enzima. La característica que define a este tipo de reacciones es la existencia de un *intermediario enzimático sustituido* en el que la enzima se encuentra modificada de forma transitoria. Las reacciones que intercambian grupos amino entre aminoácidos y α-cetoácidos son ejemplos clásicos de mecanismos de doble desplazamiento. Tal y como se muestra en la Figura 7.6, los sustratos y los productos parecen saltar hacia dentro o hacia fuera de la enzima del mismo modo en que una pelota de ping-pong rebota sobre una mesa.

✓ 5 Identificar las propiedades clave de las proteínas alostéricas y describir la base estructural de estas propiedades.

7.3 Las enzimas alostéricas son catalizadores y sensores de información

Las enzimas que se ajustan a la cinética sencilla de Michaelis-Menten se denominan enzimas de Michaelis-Menten. En las células, estas enzimas no están sujetas a regulación y su actividad está gobernada sencillamente por la ley de acción de masas: si hay sustrato presente, catalizan. En la célula, la mayoría de las enzimas son enzimas de Michaelis-Menten.

A pesar de lo importante que es la catálisis para el funcionamiento de la célula, la catálisis por sí sola no es suficiente. El vasto conjunto de reacciones también tiene que estar regulado de forma que las rutas bioquímicas operen de forma coherente. La Figura 7.7A es un mapa callejero de una zona de París. Cada día, cientos de miles de vehículos atraviesan estas calles. Aunque las calles de París son bien conocidas por lo difícil que resulta circular en coche por ellas, imagine cuánto más difícil sería circular por ellas sin las señales de stop, los semáforos o los policías de tráfico. El mapa metabólico que aparece en la Figura 7.7B muestra que el tráfico metabólico también es inmensamente complejo y, al igual que el tráfico callejero, el tráfico metabólico necesita una regulación. Un método eficaz para regular las rutas metabólicas consiste en regular la actividad enzimática. Las enzimas que regulan el flujo de compuestos bioquímicos a través de las rutas metabólicas se denominan *enzimas alostéricas*, por razones que se comentarán en breve. Las características fundamentales de las enzimas alostéricas son: la regulación de la actividad catalítica por medio de señales ambientales, entre las que se incluye el producto final de la ruta metabólica regulada por la enzima; sus cinéticas son más complejas que las de las enzimas de Michaelis-Menten; y presentan una estructura cuaternaria con múltiples centros activos en cada enzima.

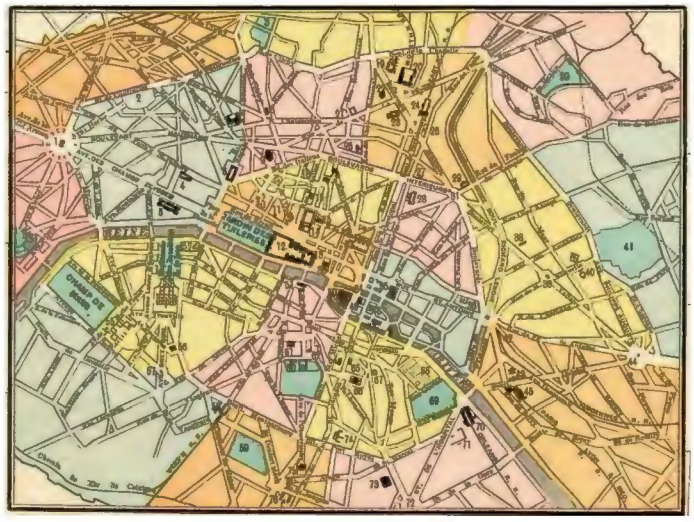
Las enzimas alostéricas se regulan mediante los productos de las rutas que se encuentran bajo su control

Comencemos nuestro estudio de las enzimas alostéricas imaginando qué procesos de control serían útiles para el funcionamiento eficaz de las rutas metabólicas.

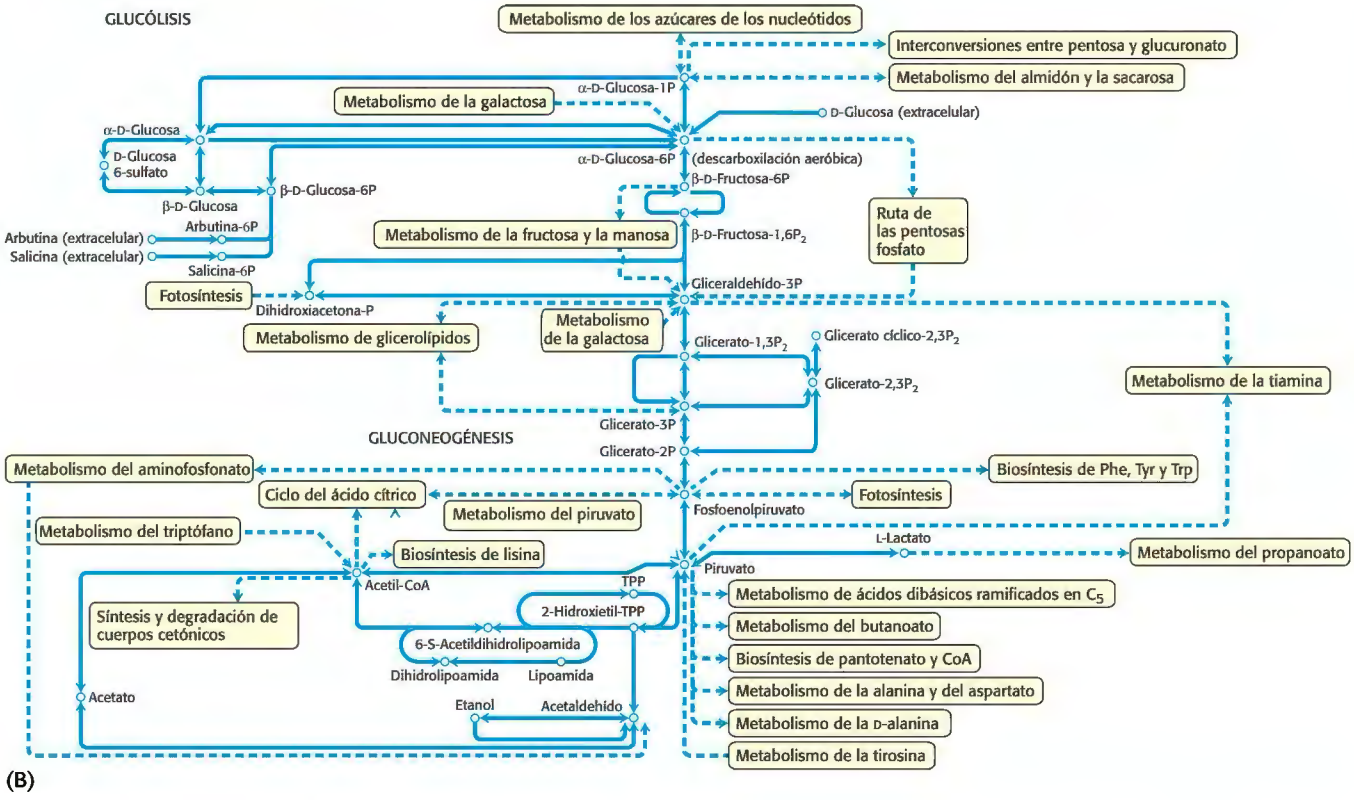
Veamos en primer lugar una ruta metabólica ficticia:

$$A \xrightarrow{e_1} B \xrightarrow{e_2} C \xrightarrow{e_3} D \xrightarrow{e_4} E \xrightarrow{e_5} F$$

En esta ruta metabólica hay cinco reacciones, catalizadas por cinco enzimas distintas, denominadas de e_1 hasta e_5. Como suele ser habitual en situaciones metabólicas reales, solo hace falta una cantidad limitada del producto final, F, y no se puede almacenar. El reactante inicial, A, es valioso y debería conservarse a menos que se necesite F. Por último, B, C, D y E no tienen función biológica excepto la de ser intermediarios químicos durante la síntesis de F. Este último condicionante significa que la primera reacción, A ⟶ B, es el *paso comprometido* en esta ruta; una vez puesta en marcha esta



(A)

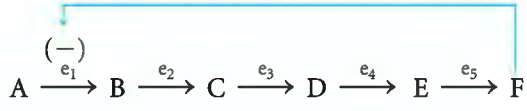


(B)

Figura 7.7 Las interacciones complejas necesitan regulación. (A) Parte de un mapa callejero de París. (B) Representación esquemática de varias rutas metabólicas de plantas que están intercomunicadas. [(A) RoseOfSharon/Alamy Images.]

reacción, B está destinado a convertirse en F. ¿Cómo se puede regular la producción de F de forma que satisfaga los requerimientos celulares sin fabricar más de lo necesario?

En la situación más sencilla, cuando hay suficiente cantidad de F, F se puede unir de forma reversible a e_1, la enzima que cataliza el paso comprometido, e inhibir la reacción, un efecto que se conoce con el nombre de *retroinhibición*.



La retroinhibición es un método frecuente de regulación bioquímica. A menudo, los retroinhibidores no presentan ningún parecido estructural con el sustrato ni con el

producto de la enzima que inhiben. Además, los retroinhibidores no se unen al centro activo sino a un centro regulador característico de la enzima alostérica. Las enzimas alostéricas se denominan así porque están reguladas por moléculas que se unen a lugares distintos del centro activo (del griego *allos*, que significa "otro" y *stereos*, que significa "estructura"). *Las enzimas alostéricas siempre catalizan el paso comprometido de las rutas metabólicas.*

Cuando las rutas metabólicas tienen que comunicarse entre sí, se necesita un nivel adicional de complejidad. Consideremos la ruta mostrada en la Figura 7.8 para la síntesis de K a partir de dos rutas distintas que producen F e I. ¿Cómo pueden coordinarse estas rutas para producir la cantidad apropiada de K? El compuesto K puede inhibir las enzimas e_1 y e_{10} mediante retroinhibición, ya que estas dos enzimas controlan el paso comprometido de cada una de las dos rutas necesarias. Pero, en este caso, podría surgir una segunda situación de despilfarro: si se produjese más F que I, parte de las moléculas de F se desaprovecharían porque no habría suficiente I para unirse a F. Por tanto, ¿cómo se podrían equilibrar las concentraciones de F y de I? El compuesto F podría estimular e_{10} pero inhibir e_1 para igualar la cantidad de I con la de F. Análogamente, el compuesto I podría inhibir e_{10} pero estimular e_1. Por tanto, las enzimas alostéricas pueden reconocer tanto a las moléculas inhibidoras como a las moléculas estimuladoras.

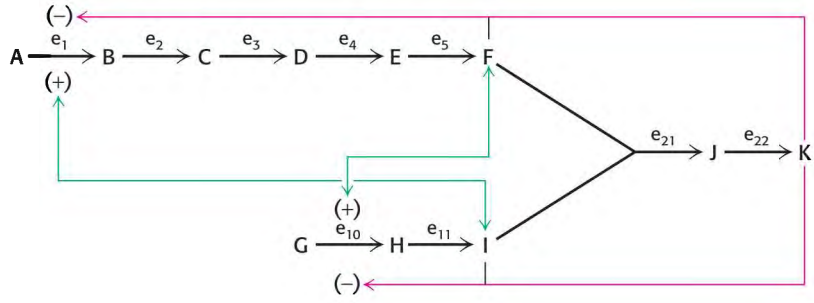


Figura 7.8 Dos rutas cooperan para formar un único producto.

Las enzimas reguladas alostéricamente no se ajustan a la cinética de Michaelis-Menten

Además de ser susceptibles a la regulación por parte de otras moléculas, las enzimas alostéricas se caracterizan por su respuesta ante los cambios en la concentración de sustrato. La Figura 7.9 muestra una curva típica de velocidad frente a sustrato para una enzima alostérica. La curva se diferencia de la que cabría esperar para una enzima que se ajuste a la cinética de Michaelis-Menten por el brusco incremento de V_0 a mitad de la curva. La curva mostrada se denomina sigmoidea porque recuerda a una letra S. Hay que destacar el hecho de que la actividad de las enzimas alostéricas es más sensible a los cambios en la concentración de sustrato en las proximidades de K_M que la actividad de una enzima de Michaelis-Menten que tenga las mismas K_M y $V_{máx}$. La mayor capacidad de respuesta en las proximidades de K_M permite un control más sensible de la velocidad de reacción. La inmensa mayoría de las enzimas alostéricas muestran una cinética sigmoidea.

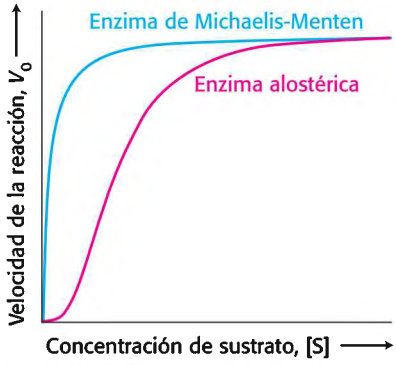


Figura 7.9 Cinética de una enzima alostérica. Las enzimas alostéricas muestran una dependencia sigmoidea entre la velocidad de la reacción y la concentración de sustrato, a diferencia de la curva hiperbólica que se observa en las enzimas de Michaelis-Menten.

Las enzimas alostéricas dependen de cambios en la estructura cuaternaria

Hasta ahora, conocemos dos propiedades exclusivas de las enzimas alostéricas: (1) la regulación de la actividad catalítica y (2) la cinética sigmoidal. ¿Hay alguna relación entre estas dos características exclusivas de las enzimas alostéricas? De hecho, la hay y la relación se manifiesta con más claridad si primero examinamos un modelo de cómo se tendría que representar la cinética sigmoidea.

Consideraremos un posible modelo, el denominado *modelo concertado* o *modelo MWC* en alusión a Jacques Monod, Jefferies Wyman y Jean-Pierre Changeaux, los bioquímicos que lo desarrollaron. El modelo se basa en varias premisas. Primero, las enzimas alostéricas poseen múltiples centros activos en diferentes cadenas polipeptídicas. Segundo, la enzima se puede encontrar en dos estados o conformaciones distintas. Un estado, denominado R (de relajado), corresponde a la conformación

activa, la que cataliza las reacciones. El otro estado, designado T (de tenso), es significativamente menos activo. En ausencia de sustrato o de moléculas señal, R y T se encuentran en equilibrio, siendo T el estado más estable y, por tanto, el más abundante. Para una enzima alostérica típica, el cociente T/R, que se denomina *constante alostérica* (L_0), alcanza un valor en torno a varios cientos. Sin embargo, la diferencia en estabilidad es lo suficientemente pequeña como para que la agitación térmica del ambiente celular proporcione la energía necesaria para impulsar de vez en cuando la conversión espontánea de una forma T en una forma R. Tercero, el modelo concertado también requiere que todas las subunidades o centros activos de la enzima se encuentren en el mismo estado; es decir, o todas son T o todas son R. No se permiten híbridos. Este requerimiento se denomina *regla de simetría*. Por último, el sustrato (S) se une más fácilmente a la forma R de la enzima que a la forma T.

¿Cómo podemos utilizar esta información para explicar la naturaleza sigmoidea de la cinética alostérica? Consideremos una población de enzimas alostéricas en la que cada enzima contiene cuatro centros activos en cuatro subunidades. Si la mayoría de las enzimas se encuentra en la forma tensa, la población de enzimas será menos activa. La unión de S a la forma T es difícil; por tanto, a concentraciones reducidas de sustrato habrá poca actividad (**Figura 7.10**). Sin embargo, si se eleva la concentración de sustrato, se llegará a un punto en el que habrá suficiente S presente de modo que, cuando aparezca de forma espontánea una forma relajada de la enzima, S se unirá a ella. Gracias a la regla de simetría, si un S se une a la forma R, los cuatro posibles centros activos se verán atrapados en la forma R. En consecuencia, el siguiente S que se una a la enzima no tendrá que colisionar de forma no productiva con la gran cantidad de formas T, ya que la forma R de las enzimas se va acumulando gracias a la unión de la S inicial a la enzima. *La unión del sustrato desplaza el equilibrio* $T \rightleftharpoons R$ *a favor de R*. Este comportamiento se denomina *cooperatividad* y explica el brusco aumento de V_0 que se observa en la curva de velocidad frente a concentración de sustrato.

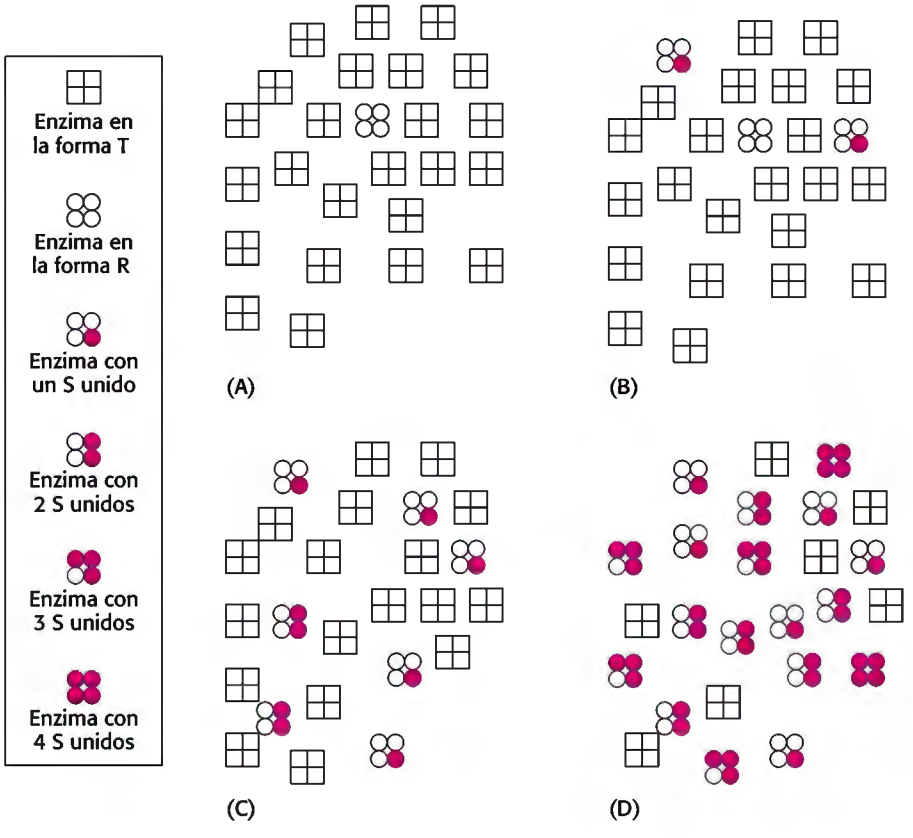


Figura 7.10 Modelo concertado para las enzimas alostéricas. (A) [T] ⋙ [R], lo que significa que L_0 es elevado. En consecuencia, será difícil que S se una a una forma R de la enzima. (B) A medida que la concentración de S aumenta, se unirá a uno de los centros activos de R, atrapando al resto de los centros activos en el estado R (en virtud de la regla de simetría). (C) A medida que más centros activos se encuentran atrapados en el estado R, resulta más fácil para S unirse al estado R. (D) La unión de S a R se hace todavía más fácil a medida que aumenta el número de enzimas que se encuentran en la forma R. En una curva que represente la velocidad en función de [S] se observará que V_0 aumenta rápidamente hacia $V_{máx}$.

¿Cuál es el significado fisiológico de la cooperatividad, manifestada en forma de una cinética sigmoidea? Cooperatividad significa que las enzimas alostéricas muestran un efecto umbral: por debajo de una determinada concentración de sustrato hay poca actividad enzimática. Sin embargo, una vez cruzado el umbral, la actividad enzimática aumenta rápidamente. En otras palabras, del mismo modo en que un interruptor puede estar en posición de encendido o de apagado, la cooperatividad asegura que la mayor parte de la enzima se encuentra "encendida" (estado R) o "apagada" (estado T).

Moléculas reguladoras modulan el equilibrio R ⇌ T

¿Cómo podemos explicar la capacidad para detectar señales de las enzimas alostéricas según el modelo concertado? *Las moléculas reguladoras alteran el equilibrio entre las formas T y R.* Es decir, cambian la proporción relativa de las enzimas en los estados T y R. Un efector positivo se une a un centro regulador de la forma R, distinto del centro activo, y estabiliza esta forma, incrementando así la concentración de R y haciendo que la interacción entre R y S sea más probable. Un efector negativo se une a T y la estabiliza; un efector negativo aumenta la concentración de T y, con ello, disminuye la probabilidad de que un R se una a un S. La Figura 7.11 muestra los efectos de un regulador positivo y de un regulador negativo sobre la cinética de una enzima alostérica. El efector positivo rebaja el umbral de la concentración de sustrato necesaria para que haya actividad, mientras que el efector negativo aumenta el umbral de concentración. Los efectos de las moléculas reguladoras sobre las enzimas alostéricas se denominan *efectos heterotrópicos*. Los efectores heterotrópicos desplazan la curva sigmoidea hacia la izquierda (activadores) o hacia la derecha (inhibidores). Por el contrario, los efectos de los sustratos sobre las enzimas alostéricas se denominan *efectos homotrópicos*. Los efectos homotrópicos son los responsables de la naturaleza sigmoidea de la curva que describe la cinética.

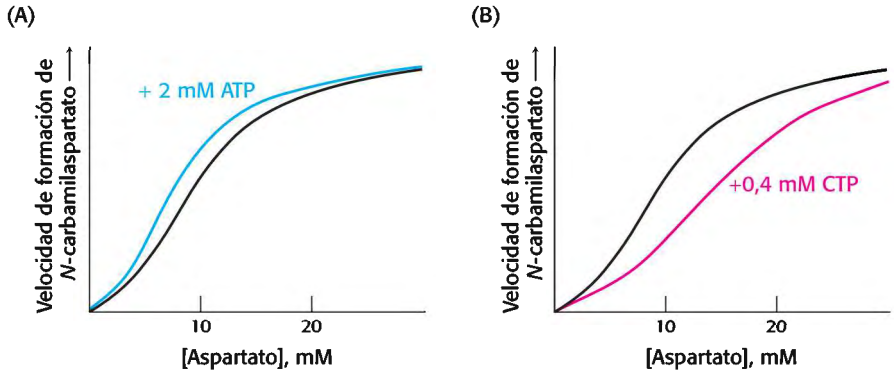


Figura 7.11 Efecto de los reguladores sobre la enzima alostérica aspartato transcarbamilasa. (A) El ATP es un activador alostérico de la aspartato transcarbamilasa porque estabiliza el estado R, haciendo que la unión del sustrato sea más fácil. Como resultado, la curva se desplaza hacia la izquierda (curva azul). (B) La citidina trifosfato (CTP) estabiliza el estado T de la aspartato transcarbamilasa, haciendo que la unión del sustrato y la conversión de la enzima al estado R sea más difícil. Como resultado, la curva se desplaza hacia la derecha (curva roja).

Resulta casi imposible sobrestimar la importancia de las enzimas alostéricas en los sistemas biológicos. Responden de forma inmediata y específica a las señales químicas generadas en cualquier otro lugar de la célula. Son receptoras y transductoras de información química, permitiendo la intercomunicación entre las rutas metabólicas, no solo en el interior de la célula sino también entre células y órganos. La complejidad de los sistemas biológicos se debe a la capacidad de las enzimas alostéricas para detectar señales ambientales.

? **PREGUNTA RÁPIDA 2** ¿Cuál sería el efecto de una mutación en una enzima alostérica que diera lugar a una relación T/R igual a 0?

El modelo secuencial también puede explicar los efectos alostéricos

En el modelo concertado, una enzima alostérica solo puede estar en dos estados, T y R; no se permiten estados intermedios o híbridos. Un modelo alternativo, propuesto por primera vez por Daniel Koshland, propone que las subunidades de las enzimas alostéricas experimentan cambios secuenciales en su estructura. La unión del sustrato a un centro activo afecta a la unión del sustrato a los centros adyacentes sin tener que inducir necesariamente una transición que afecte a la totalidad de la enzima (Figura 7.12). El modelo secuencial explica mejor la cooperatividad negativa, en la que la unión de un

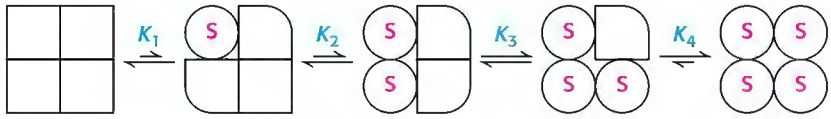


Figura 7.12 El modelo secuencial. La unión de un sustrato (S) cambia la conformación de la subunidad a la que se une. Este cambio conformacional induce cambios en las subunidades vecinas de la enzima alostérica que aumentan su afinidad hacia el sustrato. K_1, K_2, etc., son las constantes de velocidad para la unión del sustrato a los distintos estados de la enzima.

sustrato reduce la afinidad de otros centros activos hacia el sustrato. El resultado de los estudios realizados con diversas proteínas alostéricas sugiere que muchas se comportan siguiendo algún tipo de combinación entre los modelos secuencial y concertado.

Aspecto clínico

La pérdida de control alostérico puede dar lugar a estados patológicos

La importancia del control alostérico de las enzimas se puede apreciar en la ruta que da lugar a la *gota*, una enfermedad de las articulaciones. En esta enfermedad, un exceso de urato cristaliza en el fluido y en el revestimiento de las articulaciones, lo que provoca una dolorosa inflamación cuando las células del sistema inmunitario engullen los cristales de urato sódico (**Figura 7.13**). El urato es el producto final de la degradación de las purinas, las bases que forman parte de los nucleótidos adenina y guanina, tanto en el DNA como en el RNA.

Aunque la gota puede deberse a varias deficiencias metabólicas (ver el Capítulo 31), una interesante causa consiste en la pérdida de regulación alostérica en una importante enzima de la síntesis de purinas. La fosforribosilpirofosfato sintetasa (PRS) cataliza la síntesis de fosforribosilpirofosfato (PRPP), que es un precursor crucial para la síntesis de todos los nucleótidos.



Figura 7.13 Articulación inflamada a causa de la gota. [Medical-on-Line/Alamy Images.]

$$\text{Ribosa 5-fosfato} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Fosforribosilpirofosfato sintetasa}} \text{5-fosforribosil-1-pirofosfato} + \text{AMP}$$

Normalmente, la PRS se retroinhibe por los nucleótidos de purina. Sin embargo, en ciertas personas, el centro regulador ha sufrido una mutación que hace que la PRS sea insensible a la retroinhibición. La actividad catalítica de PRS no resulta afectada y, en algunos casos, se ve aumentada, lo que provoca una superabundancia de nucleótidos de purina, que son convertidos en urato. El exceso de urato se acumula y es la causa de la gota. ■

7.4 Las moléculas de enzima se pueden estudiar de una en una

La mayoría de los experimentos que se realizan para determinar una característica enzimática requieren una preparación de la enzima en una disolución tamponada. Incluso unos pocos microlitros de una disolución de este tipo contendrán millones de moléculas de enzima. Gran parte de lo que se ha aprendido hasta ahora sobre las enzimas procede de estos experimentos, que se denominan *estudios en masa*. Uno de los supuestos básicos de los estudios en masa es que todas las enzimas son iguales o muy parecidas. Cuando determinamos una propiedad de la enzima, como, por ejemplo, el valor de la K_M mediante estudios en masa, ese valor es, necesariamente, un valor medio de todas las enzimas presentes. Sin embargo, sabemos que la heterogeneidad molecular —la capacidad de una molécula para, con el paso del tiempo, asumir varias estructuras distintas con una estabilidad ligeramente distinta— es una propiedad intrínseca de todas las biomoléculas grandes (p. 60). ¿Cómo podemos saber si esta heterogeneidad molecular afecta a la actividad enzimática?

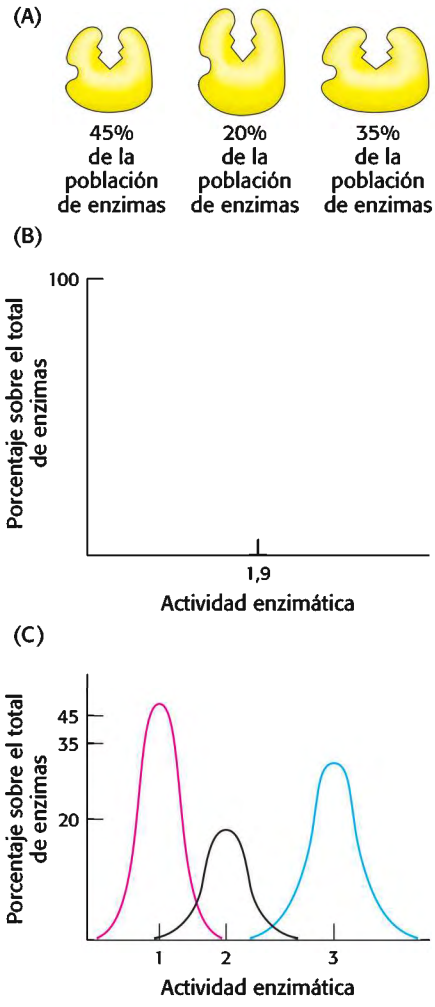


Figura 7.14 Los estudios de una única molécula pueden poner de manifiesto la heterogeneidad molecular.

Consideremos esta situación hipotética. Un marciano visita la Tierra para aprender algo sobre la educación superior. La nave espacial se queda suspendida en lo alto sobre una universidad y nuestro marciano registra meticulosamente los movimientos de la población estudiantil por el campus. Se puede obtener mucha información a partir de estos estudios: dónde es probable que se encuentren los estudiantes a ciertas horas de determinados días; qué edificios se utilizan, cuándo y por cuánta gente. Ahora, supongamos que nuestro visitante ha desarrollado una cámara con muchos aumentos que puede seguir a un estudiante durante todo el día. Estos datos proporcionarían una perspectiva muy diferente de la vida universitaria: ¿Qué come este estudiante? ¿Con quién habla? ¿Cuánto tiempo se dedica a estudiar? Este nuevo método denominado *in singulo*, que examina individuos de uno en uno, aporta gran cantidad de información nueva pero también pone de manifiesto un posible inconveniente del estudio de individuos, ya sean estudiantes o enzimas: ¿Cómo podemos estar seguros de que el estudiante o la molécula es representativo y no se trata de una excepción? Este inconveniente se puede soslayar estudiando un número de individuos suficiente como para poder hacer un análisis estadístico de la validez de los resultados.

Dejemos a nuestro marciano con sus observaciones y consideremos una situación más bioquímica. La Figura 7.14A muestra una enzima que exhibe heterogeneidad molecular, con tres formas activas que catalizan la misma reacción pero a distintas velocidades. Estas formas poseen estabilidades ligeramente distintas pero el ruido térmico es suficiente para convertir unas formas en otras. Cada forma representa una fracción de la población total de enzima, tal y como se indica en la figura. Si tuviésemos que realizar un experimento para determinar la actividad enzimática en unas condiciones concretas utilizando métodos en masa, obtendríamos un único valor, que representaría la media del conjunto heterogéneo (Figura 7.14B). Sin embargo, si tuviésemos que realizar un número suficiente de experimentos con una sola molécula, descubriríamos que la enzima posee tres formas moleculares distintas con actividades muy diferentes (Figura 7.14C). Además, lo más probable es que estas formas distintas se deban a diferencias bioquímicas importantes.

El desarrollo de potentes técnicas —como, por ejemplo, el *patch-clamp* y la fluorescencia de una sola molécula— ha permitido a los bioquímicos observar el funcionamiento de moléculas individuales. Los estudios de una sola molécula abren un nuevo panorama sobre la función de las enzimas en particular y sobre todas las biomoléculas grandes en general.

Resumen

7.1 La cinética es el estudio de las velocidades de reacción

La velocidad de una reacción está determinada por la concentración de reactante y una constante de proporcionalidad denominada constante de velocidad. Las reacciones que son directamente proporcionales a la concentración del reactante se denominan reacciones de primer orden. Las constantes de velocidad de primer orden tienen las unidades de s^{-1}. En muchas reacciones bioquímicas hay dos reactantes. Estas reacciones se denominan bimoleculares. Las constantes de velocidad de las reacciones bimoleculares, denominadas constantes de velocidad de segundo orden, tienen las unidades de $M^{-1}\,s^{-1}$.

7.2 El modelo de Michaelis-Menten describe la cinética de muchas enzimas

Las propiedades cinéticas de muchas enzimas se describen mediante el modelo de Michaelis-Menten. En este modelo, una enzima (E) se combina con un sustrato (S) para formar un complejo enzima-sustrato (ES), que puede proseguir y formar un producto (P) o disociarse en E y S. La velocidad V_0 de formación de producto viene dada por la ecuación de Michaelis-Menten:

$$V_0 = V_{máx} \frac{[S]}{[S] + K_M}$$

en la que $V_{máx}$ es la velocidad de reacción cuando la enzima está totalmente saturada de sustrato y K_M, la constante de Michaelis, es la concentración de sustrato a la cual la velocidad de reacción es mitad de la máxima. La velocidad

máxima, $V_{máx}$, es igual al producto de k_2, o k_{cat}, por la concentración total de enzima. La constante cinética k_{cat}, denominada número de recambio, es el número de moléculas de sustrato convertidas en producto por unidad de tiempo en un único centro catalítico cuando la enzima se encuentra totalmente saturada de sustrato. El número de recambio de la mayoría de las enzimas está comprendido entre 1 y 10^4 por segundo. El cociente k_{cat}/K_M proporciona información sobre la eficacia de la enzima.

7.3 Las enzimas alostéricas son catalizadores y sensores de información

Las enzimas alostéricas constituyen una importante clase de enzimas cuya actividad catalítica se puede regular. Estas enzimas, que no se ajustan a la cinética de Michaelis-Menten, presentan múltiples centros activos. Estos centros activos muestran cooperatividad, que se manifiesta como una dependencia sigmoidal entre la velocidad de reacción y la concentración de sustrato. Los reguladores de las enzimas alostéricas pueden estimular la actividad enzimática o inhibirla.

7.4 Las moléculas de enzima se pueden estudiar de una en una

Hoy en día muchas enzimas se están estudiando *in singulo*, a nivel de una única molécula. Este tipo de estudios es importante porque ofrecen información que es difícil de obtener es estudios realizados con poblaciones de moléculas. Los métodos que estudian moléculas individuales ponen de manifiesto una distribución de las características enzimáticas en vez de un valor medio, que es lo que se obtiene cuando se utilizan métodos en masa.

APÉNDICE: Desarrollo de la ecuación de Michaelis-Menten

Como ya se ha comentado, la característica fundamental del análisis de Michaelis-Menten de la cinética enzimática es la existencia de un complejo enzima-sustrato (ES) específico que es un intermediario necesario para la catálisis. El modelo propuesto es:

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} E + P$$

Una enzima E se combina con el sustrato S para formar un complejo ES con una constante de velocidad k_1. El complejo ES tiene dos posibles destinos. Se puede disociar en E y S, con una constante de velocidad k_{-1}, o puede proseguir para formar el producto P, con una constante de velocidad k_2. El complejo ES también se puede volver a formar a partir de E y P cuando la reacción opera en sentido inverso, con una constante de velocidad k_{-2}. Sin embargo, como ya se ha comentado, simplificamos estas reacciones considerando la velocidad de las reacciones a tiempos cercanos a cero, en los que la formación de producto es insignificante y, por tanto, no se producirá la reacción inversa (k_{-2} [P] ≈ 0).

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} E + P$$

Queremos una expresión que relacione la velocidad de la catálisis con las concentraciones de sustrato y enzima y con las velocidades de cada etapa individual. Nuestro punto de partida es que la velocidad de catálisis es igual al producto de la concentración del complejo ES por k_2.

$$V_0 = k_2[ES] \tag{15}$$

Ahora tenemos que expresar [ES] en función de cantidades conocidas. Las velocidades de formación y descomposición de ES vienen dadas por

$$\text{Velocidad de formación de ES} = k_1[E][S] \tag{16}$$

$$\text{Velocidad de descomposición de ES} = (k_{-1} + k_2)[ES] \tag{17}$$

Para simplificar aún más las cosas, usaremos la *hipótesis del estado estacionario*. En un estado estacionario, las concentraciones de los intermediarios —en este caso, [ES]— permanecen constantes incluso cuando las concentraciones de los materiales de partida y de los productos están cambiando. Este estado estacionario se alcanza cuando las velocidades de formación y descomposición del complejo ES son iguales. Igualando los términos de la derecha de las ecuaciones 16 y 17, se obtiene

$$k_1[E][S] = (k_{-1} + k_2)[ES] \tag{18}$$

Reorganizando la ecuación 18, tenemos

$$[E][S]/[ES] = (k_{-1} + k_2)/k_1 \tag{19}$$

La ecuación 19 se puede simplificar si definimos una nueva constante, K_M, denominada *constante de Michaelis*:

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \tag{20}$$

Hay que destacar que K_M tiene unidades de concentración y es independiente de las concentraciones de enzima y de sustrato.

Insertando la ecuación 20 en la ecuación 19 y despejando [ES], se obtiene

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_M} \tag{21}$$

Ahora, examinemos el numerador de la ecuación 21. Como, normalmente, el sustrato está presente a una concentración mucho mayor que la de la enzima, la concentración de sustrato no unido es prácticamente igual a la concentración total de sustrato. La concentración de enzima no unida [E] es igual a la

concentración total de enzima $[E]_T$ menos la concentración del complejo ES:

$$[E] = [E]_T - [ES] \tag{22}$$

Sustituyendo el valor de [E] en la ecuación 21, se obtiene

$$[ES] = \frac{([E]_T - [ES])[S]}{K_M} \tag{23}$$

Despejando [ES] en la ecuación 23, tenemos

$$[ES] = \frac{[E]_T[S]/K_M}{1 + [S]/K_M} \tag{24}$$

o

$$[ES] = [E]_T \frac{[S]}{[S] + K_M} \tag{25}$$

Introduciendo esta expresión de [ES] en la ecuación 15, se obtiene

$$V_0 = k_2[E]_T \frac{[S]}{[S] + K_M} \tag{26}$$

La velocidad máxima, $V_{máx}$, se alcanza cuando los centros catalíticos de la enzima están saturados de sustrato, es decir, cuando $[ES] = [E]_T$. Entonces,

$$V_{máx} = k_2[E]_T \tag{27}$$

Sustituyendo la ecuación 27 en la ecuación 26, se obtiene la *ecuación de Michaelis-Menten*:

$$V_0 = V_{máx} \frac{[S]}{[S] + K_M} \tag{28}$$

Términos clave

cinética (p. 106)
ecuación de Michaelis-Menten (p. 107)
constante de Michaelis (K_M) (p. 108)
ecuación de Lineweaver-Burk (p. 109)
número de recambio (p. 110)
k_{cat}/K_M (p. 110)
reacción secuencial (p. 111)
reacción de doble desplazamiento (ping-pong) (p. 111)
enzima alostérica (p. 112)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Sustituya V_0 por 0,8 $V_{máx}$ y despeje la [S]. $S = 4\ K_M$.

2. Toda la enzima estaría todo el tiempo en la forma R. No habría cooperatividad. La cinética parecería la de una enzima de Michaelis-Menten.

Problemas

1. *Diferentes órdenes.* ¿Qué diferencias hay entre una constante de velocidad de primer orden y una constante de velocidad de segundo orden? ✓ 3

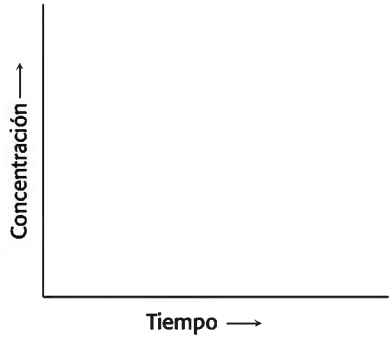
2. *¿Una reacción fraudulenta?* ¿Qué es un una reacción de pseudo-primer orden? ✓ 3

3. *Cambiando de forma coordinada.* En el gráfico de la derecha, muestre cómo cambian a lo largo del tiempo las concentraciones de sustrato y de producto en esta sencilla reacción catalizada por una enzima. ✓ 3

$$S \longrightarrow P$$

(a) En el caso de una reacción en la que el equilibrio esté a favor de la formación de producto.

(b) En el caso de una reacción en la que la constante de equilibrio sea 1.



4. *Activa pero sensible.* ¿Cuál es la ventaja bioquímica de tener una K_M aproximadamente igual a la concentración de sustrato que normalmente se encuentra disponible para una enzima? ✓ 4

5. *Definiendo atributos.* ¿Cuál es la característica definitoria de una enzima que cataliza una reacción secuencial? ¿Y la de una que cataliza una reacción de doble desplazamiento? ✓ 4

6. *¿Afinidad o no afinidad? Esa es la cuestión.* Con frecuencia, la afinidad entre una proteína y una molécula que se une a la proteína se mide mediante una constante de disociación K_D.

$$\text{Proteína} + \text{molécula pequeña} \rightleftharpoons \text{complejo proteína-molécula pequeña}$$

$$K_D = \frac{[\text{proteína}][\text{molécula pequeña}]}{[\text{complejo proteína-molécula pequeña}]}$$

¿Es la K_M una medida de la afinidad del complejo enzimático? ¿En qué circunstancias la K_M tendría un valor aproximadamente igual al de K_D? ✓ 4

7. *Destruyendo el caballo de Troya.* La penicilinasa (también conocida como β-lactamasa) es una enzima presente en algunas bacterias resistentes que hidroliza la penicilina y la vuelve inactiva. En *Staphylococcus aureus*, la masa de esta enzima es de 29,6 kDa. En una disolución de 10 ml que contenía 10^{-9} gramos de penicilinasa purificada se midió la cantidad de penicilina hidrolizada en 1 minuto en función de la concentración de penicilina. Suponga que la concentración de penicilina no cambia de forma apreciable durante el ensayo. ✓ 4

[Penicilina] μM	Cantidad hidrolizada (nanomoles)
1	0,11
3	0,25
5	0,34
10	0,45
30	0,58
50	0,61

(a) Con estos datos, represente V_0 en función de [S] y 1/ V_0 en función de 1/[S]. ¿Cree que la penicilinasa se ajusta a la cinética de Michaelis-Menten? De ser así, ¿cuál es el valor de K_M?
(b) ¿Cuál es el valor de $V_{máx}$?
(c) ¿Cuál es el número de recambio de la penicilinasa en estas condiciones experimentales? Suponga que hay un centro activo por cada molécula de enzima.

8. *La fuerza impulsora de la hidrólisis.* La hidrólisis de pirofosfato a ortofosfato es importante a la hora de hacer avanzar reacciones biosintéticas, como, por ejemplo, la síntesis de DNA. En *Escherichia coli*, esta reacción hidrolítica está catalizada por una pirofosfatasa que tiene una masa de 120 kDa y que está formada por seis subunidades idénticas. Para esta enzima, la unidad de actividad se define como la cantidad de enzima que hidroliza 10 μmoles de pirofosfato en 15 minutos a 37 °C en condiciones de ensayo estándar. La enzima purificada tiene una $V_{máx}$ de 2.800 unidades por miligramo de enzima. ✓ 4

(a) ¿Cuántos moles de sustrato se hidrolizan por segundo y por miligramo de enzima cuando la concentración de sustrato es mucho mayor que la K_M?
(b) ¿Cuántos moles de centro activo hay en 1 mg de enzima? Suponer que cada subunidad tiene un centro activo
(c) ¿Cuál es el número de recambio de la enzima? Comparar este valor con el de otros mencionados en este capítulo.

9. *Una nueva panorámica.* A veces, la gráfica de $1/V_0$ en función de 1/[S] se denomina representación de Lineweaver-Burk. Otra forma de expresar los datos cinéticos consiste en representar V_0 en función de V_0/[S], lo que se conoce como representación de Eadie-Hofstee. ✓ 4
(a) Reorganice la ecuación de Michaelis-Menten para obtener V_0 en función de V_0/[S].
(b) En la gráfica de V_0 en función de V_0/[S], ¿cuál es el significado de la pendiente, de la ordenada en el origen y de la abscisa en el origen?

10. *Más Michaelis-Menten.* Para una enzima que se ajusta a la cinética sencilla de Michaelis-Menten, ¿cuál es el valor de $V_{máx}$ si V_0 es 1 μmol minuto^{-1} cuando la [S] = 1/10 K_M? ✓ 4

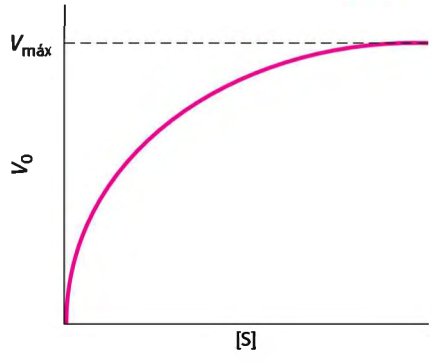
11. *Van juntos, como el espagueti y las albóndigas.* Asigne a cada término la descripción correspondiente.

(a) Enzima _____
(b) Cinética _____
(c) Ecuación de Michaelis-Menten _____
(d) Constante de Michaelis (K_M) _____
(e) Ecuación de Lineweaver-Burk _____
(f) Número de recambio _____
(g) k_{cat}/K_M _____
(h) Reacción secuencial _____
(i) Reacción de doble desplazamiento (ping-pong) _____
(j) Enzima alostérica _____

1. Concentración de sustrato a la que la velocidad es la mitad de $V_{máx}$
2. k_2 o k_{cat}
3. Responde a señales ambientales
4. El estudio de las velocidades de reacción
5. Describe la cinética de reacciones sencillas con un solo sustrato
6. Se forma un complejo ternario
7. Catalizador de naturaleza proteica
8. Representación doble recíproca
9. Una medida de la eficacia de la enzima
10. Incluye un intermediario con la enzima sustituida

12. *Una nueva forma de ver la cooperatividad.* Dibuje la representación doble recíproca de una enzima típica de Michaelis-Menten y la de una enzima alostérica que tenga la misma $V_{máx}$. ✓ 5

13. *Bioquímicos furiosos.* Muchos bioquímicos se vuelven locos, y con razón, cuando ven una representación de Michaelis-Menten como la mostrada más abajo. Para saber por qué se vuelven locos, determine la V_0 como una fracción de $V_{máx}$ cuando la concentración de sustrato es igual a 10 K_M y a 20 K_M. Por favor, controle su indignación. ✓ 4



14. *Saber decir basta.* ¿Qué es la retroinhibición? ¿Por qué es una propiedad útil? ✓ 5

15. *Dado la vuelta.* Una enzima alostérica que sigue el mecanismo concertado tiene una proporción T/R de 300 en ausencia de sustrato. Suponga que una mutación ha invertido la proporción. ¿Cómo afectaría esta mutación a la relación entre la velocidad de reacción y la concentración de sustrato? ✓ 5

16. *Equilibrio RT.* ¿Qué diferencias hay entre efectores homotrópicos y efectores heterotrópicos? ✓ 5

17. *Proyecto de restauración.* La aspartato transcarbamilasa (ATCasa) es una enzima alostérica que regula la síntesis de uridina trifosfato (UTP) y citidina trifosfato (CTP). Las subunidades catalíticas y las subunidades reguladoras se pueden separar. Si se mezclan subunidades catalíticas puras por un lado y subunidades reguladoras puras por otro, se reconstituye la enzima nativa. ¿Cuál es el significado biológico de esta observación? ✓ 5

18. *Cooperatividad negativa.* Se ha purificado una enzima dimérica que presenta dos centros activos idénticos. La unión del sustrato a un centro activo reduce la afinidad hacia el sustrato del otro centro activo. ¿Se puede explicar esta cooperatividad negativa con el modelo concertado? ✓ 5

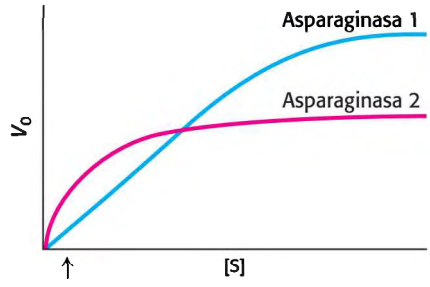
Problemas de interpretación de datos

19. *Una atracción natural, pero más complicada.* Se han aislado dos versiones de la misma enzima, una versión salvaje y un mutante que difiere de la salvaje en un único aminoácido. Trabajando de forma cuidadosa pero expeditiva se han establecido las siguientes características cinéticas de las enzimas. ✓ 4

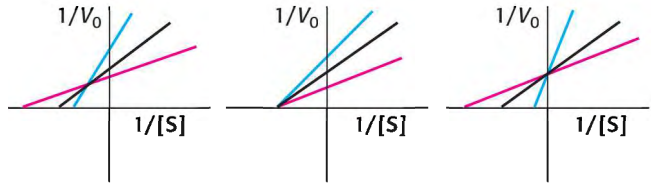
	Velocidad máxima	K_M
Salvaje	100 μmol/min	10 mM
Mutante	1 μmol/min	0,1 mM

(a) Suponiendo que la reacción se produce en dos etapas y que k_{-1} es mucho mayor que k_2, ¿qué enzima tiene mayor afinidad por el sustrato?
(b) ¿Cuál es la velocidad inicial de la reacción catalizada por la enzima salvaje cuando la concentración de sustrato es 10 mM?
(c) ¿Qué enzima desplaza el equilibrio hacia la formación de producto?

20. *La K_M importa.* Para que las células cancerosas proliferen se necesita el aminoácido asparagina. A veces, se emplea una forma de quimioterapia que consiste en tratar a los pacientes con la enzima asparaginasa. Las asparaginasa hidroliza la asparagina produciendo aspartato y amoníaco. La siguiente ilustración muestra las curvas de Michaelis-Menten correspondientes a dos asparaginasas de distinto origen, así como la concentración de asparagina en el ambiente (indicada por la flecha). ¿Qué enzima sería mejor agente quimioterapéutico? ✓ 4



21. *Variando la enzima.* Se ha determinado la representación doble recíproca de una reacción catalizada por una enzima que utiliza un solo sustrato a tres concentraciones de enzima distintas. ¿Cuál de las siguientes tres familias de curvas esperaría obtener? Explique por qué.



22. *Paso limitante.* En la conversión de A en D según la siguiente ruta bioquímica, las enzimas E_A, E_B y E_C tienen los valores de K_M indicados debajo de cada una. Si todos los sustratos y productos están presentes a una concentración 10^{-4} M y las enzimas tienen aproximadamente la misma $V_{máx}$, ¿cuál será el paso limitante? ¿Por qué? ✓ 4

$$A \underset{E_A}{\rightleftharpoons} B \underset{E_B}{\rightleftharpoons} C \underset{E_C}{\rightleftharpoons} D$$

$$K_M = 10^{-2}\,M \quad 10^{-4}\,M \quad 10^{-4}\,M$$

23. *Especificidad enzimática.* En la siguiente tabla se describe la catálisis de la ruptura de enlaces peptídicos en péptidos pequeños por medio de una enzima proteolítica. ✓ 4

Sustrato*	K_M (mM)	k_{cat} (s^{-1})
EMTA↓G	4,0	24
EMTA↓A	1,5	30
EMTA↓F	0,5	18

*Las abreviaturas de los aminoácidos se pueden ver en el capítulo.

La flecha indica el enlace peptídico que se rompe en cada caso.
(a) Si se añade la enzima a una mezcla de estos péptidos en la que todos ellos tienen la misma concentración, ¿qué péptido sería digerido con mayor rapidez? ¿y más lentamente? Explique brevemente su razonamiento.
(b) Se realiza de nuevo el experimento con los siguientes resultados.

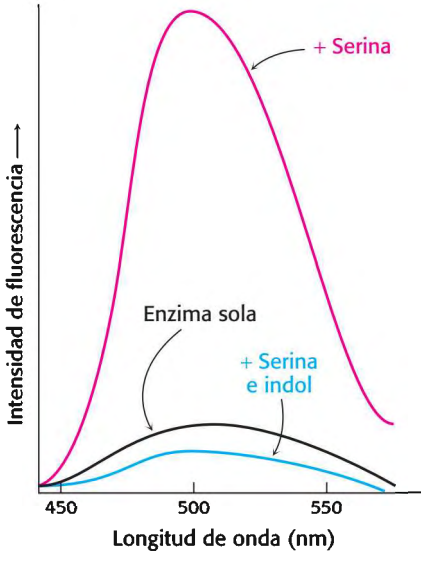
EMTI↓F	9	18

En base a estos datos, sugiera las características de la secuencia de aminoácidos que determinan la especificidad de la enzima.

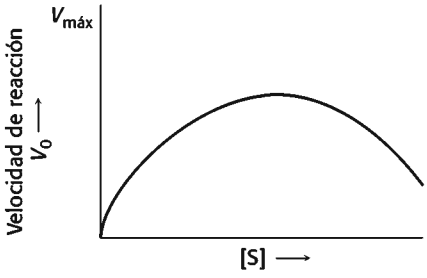
Problemas para atrevidos

Sustratos que compiten. Supongamos que dos sustratos, A y B, compiten por una enzima. Desarrolle una expresión que relacione el cociente entre las velocidades de utilización de A y de B, V_A/V_B, con las concentraciones de estos sustratos y con sus valores de k_{cat} y K_M. (Pista: expresar V_A en función de k_{cat}/K_M para el sustrato A y hacer lo mismo con V_B.) ¿La especificidad está determinada únicamente por la K_M? ✓ 4

25. *Brillo de colores.* La triptófano sintetasa, una enzima bacteriana que contiene un grupo prostético piridoxal fosfato (PLP), cataliza la síntesis de L-triptófano a partir de L-serina y de un derivado del indol. La adición de L-serina a la enzima produce un notable aumento de la fluorescencia del grupo PLP, tal y como muestra el gráfico mostrado más abajo. La posterior adición de indol, el segundo sustrato, reduce esta fluorescecia a un nivel incluso menor que el observado en el caso de la enzima sola. ¿Cómo respaldan estos cambios de fluorescencia la idea de que la enzima interacciona directamente con sus sustratos? ✓ 5

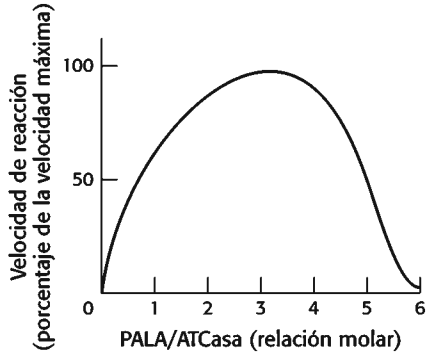


26. *Lo mucho cansa.* Una sencilla enzima de Michaelis-Menten, en ausencia de inhibidor, mostró el siguiente comportamiento cinético. El valor esperado de $V_{máx}$ se muestra sobre el eje *y*. ✓ 4 y 5

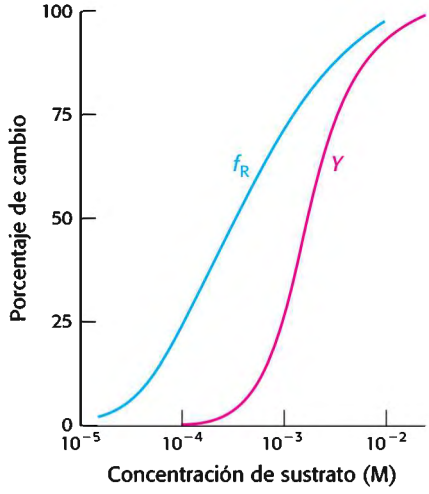


(a) Dibuje la representación doble recíproca correspondiente a la curva de la velocidad en función de la concentración sustrato.
(b) Explique los resultados cinéticos.

27. *Paradójico a primera vista.* El fosfonoacetil-L-aspartato (PALA) es un potente inhibidor de la enzima alostérica aspartato transcarbamilasa (ATCasa), que posee seis centros activos, porque PALA se parece a los dos sustratos fisiológicos. La ATCasa controla la síntesis de nucleótidos de pirimidina. Sin embargo, concentraciones bajas de este análogo bisustrato no reactivo *aumentan* la velocidad de reacción. Al añadir PALA, la velocidad de reacción aumenta hasta que una media de tres moléculas de PALA se encuentran unidas a cada molécula de enzima. Esta velocidad máxima es 17 veces mayor que la observada en ausencia de PALA. Después, al añadir tres moléculas más de PALA a cada molécula de enzima, la velocidad de reacción disminuye hasta prácticamente cero. ¿Por qué concentraciones reducidas de PALA activan la ATCasa? ✓ 5



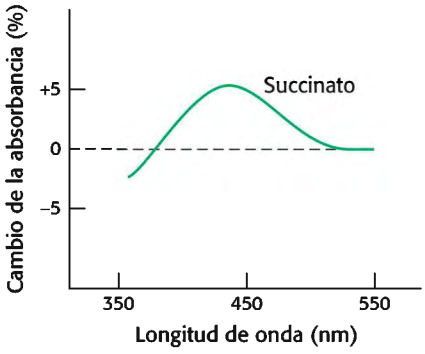
28. *Distinguir un modelo de otro.* La siguiente gráfica muestra la fracción de una enzima alostérica que se encuentra en el estado R (f_R) y la fracción de centros activos unidos al sustrato (Y) en función de la concentración de sustrato. ¿Qué modelo, el concertado o el secuencial, explica mejor estos resultados? ✓ 5



[Tomado M. W. Kirschner y H. K. Schachman, *Biochemistry* 12: 2997-3004, 1996.]

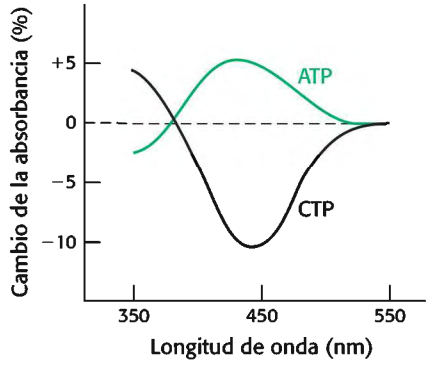
29. *Informando en directo desde la ATCasa 1.* La enzima alostérica aspartato transcarbamilasa (ATCasa) posee seis centros activos, organizados en forma de dos trímeros catalíticos. Se modificó la ATCasa con tetranitrometano para formar un gru-

po nitrotirosina coloreado ($\lambda_{máx}$ = 430 nm) en cada una de sus cadenas catalíticas. La absorción de este grupo informador depende de su entorno inmediato. También se modificó en cada centro catalítico un residuo de lisina esencial a fin de impedir la unión del sustrato. A continuación, los trímeros catalíticos de esta enzima doblemente modificada se combinaron con trímeros nativos para formar una enzima híbrida. Se midió la absorción del grupo nitrotirosina al añadir succinato, un sustrato análogo. ¿Cuál es el significado de los cambios observados en la absorbancia a 430 nm? ✓ 5



[Tomado de H. K. Schachman, *J. Biol. Chem.* 263: 18583-18586, 1988.]

30. *Informando en directo desde la ATCasa 2.* Se construyó un híbrido distinto de la ATCasa para verificar los efectos de los activadores e inhibidores alostéricos. Las subunidades reguladoras normales se combinaron con las subunidades catalíticas que contenían nitrotirosina. En ausencia de sustrato, la adición de ATP, un activador alostérico de la ATCasa, aumentó la absorbancia a 430 nm, el mismo cambio producido por la adición de succinato (ver el gráfico del problema 29). En cambio, el CTP, un inhibidor alostérico, redujo la absorbancia a 430 nm en ausencia de sustrato. ¿Cuál es el significado de los cambios de absorción de los grupos informadores? ✓ 5



Tomado de H. K. Schachman, *J. Biol. Chem.* 263: 18583-18586, 1988.]

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 8

Mecanismos e inhibidores

8.1 Existen muchas enzimas, pero utilizan unas pocas estrategias básicas

8.2 La actividad enzimática se puede modular mediante la temperatura, el pH y moléculas inhibidoras

8.3 La quimotripsina ilustra los principios básicos de la catálisis y de la inhibición



El ajedrez y las enzimas tienen en común el uso de una estrategia, meditada a conciencia en el caso del juego del ajedrez y seleccionada por la evolución en el caso de la acción de una enzima. En la partida de ajedrez representada en la figura, cada jugador se afana en desarrollar estrategias para conseguir dar jaque mate a su adversario. Análogamente, las enzimas poseen estrategias catalíticas, desarrolladas a lo largo del proceso evolutivo, para unirse a sus sustratos y actuar químicamente sobre ellos. [Superstock.]

Hasta ahora, en nuestro estudio de las enzimas, hemos aprendido que una enzima se une a un sustrato en el centro activo para facilitar la formación del estado de transición; hemos desarrollado un modelo cinético para enzimas sencillas; y hemos aprendido que las enzimas alostéricas no son solo catalizadores sino también sensores de información. Ahora vamos a centrar nuestra atención sobre las estrategias catalíticas de las enzimas y, después, estudiaremos cómo se puede modular la actividad enzimática mediante factores ambientales distintos de las señales alostéricas. Por último, consideraremos el mecanismo catalítico de la enzima digestiva quimotripsina, una de las primeras enzimas cuyo mecanismo se ha llegado a conocer en detalle.

8.1 Existen muchas enzimas, pero utilizan unas pocas estrategias básicas

Como veremos en nuestro estudio de la bioquímica, las enzimas catalizan una amplia gama de reacciones químicas. A pesar de su diversidad, todas las enzimas funcionan facilitando la formación del estado de transición. La formación del estado de transición varía de una enzima a otra, pero, para catalizar reacciones específicas, la mayoría de las enzimas utiliza habitualmente una o más de las siguientes estrategias:

1. *Catálisis covalente.* En la catálisis covalente, el centro activo contiene un grupo reactivo, normalmente un potente nucleófilo, que en el transcurso de la catálisis se

Un nucleófilo es un compuesto químico que resulta atraído por las regiones de otra molécula que tengan carga positiva. Un nucleófilo interviene en una reacción química cediendo electrones a otro compuesto químico denominado electrófilo.

modifica covalentemente de forma transitoria. La enzima proteolítica quimotripsina constituye un excelente ejemplo de este mecanismo (p. 134).

2. *Catálisis general ácido-base.* En la catálisis general ácido-base, una molécula diferente al agua desempeña el papel de donador o aceptor de protones. La quimotripsina utiliza un residuo de histidina como catalizador básico para incrementar el poder nucleofílico de la serina (p. 136).
3. *Catálisis mediada por iones metálicos.* Los iones metálicos pueden actuar catalíticamente de varias maneras. Por ejemplo, un ion metálico puede actuar como un catalizador electrofílico, estabilizando una carga negativa sobre un intermediario de la reacción. Alternativamente, un ion metálico puede generar un nucleófilo incrementando la acidez de una molécula cercana, como, por ejemplo, el agua. Por último, un ion metálico se puede unir al sustrato, incrementando el número de interacciones con la enzima y, por tanto, la energía de unión. Los iones metálicos son necesarios como cofactores para muchas de las enzimas que encontraremos durante nuestro estudio de la bioquímica.
4. *Catálisis mediante aproximación y orientación.* Muchas reacciones incluyen dos sustratos distintos. En estos casos, la velocidad de reacción puede incrementarse de forma considerable al colocar los dos sustratos juntos y con la orientación adecuada sobre una única superficie de unión de una enzima.

Un electrófilo es un compuesto químico con déficit de electrones. Por tanto, los electrófilos resultan atraídos hacia los nucleófilos —moléculas o zonas de una molécula ricas en electrones.

Recordemos nuestra reflexión del Capítulo 6 sobre otro aspecto crucial de la catálisis enzimática —la *energía de unión*. El conjunto completo de interacciones de unión entre una enzima y un sustrato se produce únicamente cuando el sustrato se encuentra en el estado de transición. El hecho de que la energía de unión sea máxima cuando la enzima está unida al estado de transición favorece la formación del estado de transición y, con ello, se promueve la catálisis.

✓ 6 Enumerar los factores ambientales que afectan a la actividad enzimática y describir cómo ejercen estos factores sus efectos sobre las enzimas.

8.2 La actividad enzimática se puede modular mediante la temperatura, el pH y moléculas inhibidoras

Independientemente de qué mecanismo o mecanismos utilice una enzima para catalizar una reacción, la velocidad de catálisis se ve afectada por los mismos parámetros ambientales que afectan a todas las reacciones químicas, como, por ejemplo, la temperatura y el pH. Además, algunos productos químicos que interaccionan de forma específica con la complicada estructura tridimensional de la enzima también pueden afectar a la actividad enzimática.

La temperatura incrementa la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas

A medida que se eleva la temperatura, la velocidad de la mayoría de las reacciones aumenta. El aumento de temperatura incrementa el movimiento browniano de las moléculas, con lo que las interacciones entre una enzima y su sustrato son más probables. Para la mayoría de las enzimas, hay una temperatura a la que la actividad catalítica deja de aumentar y se produce una brusca pérdida de actividad (Figura 8.1). ¿Cuál es el fundamento de esta pérdida de actividad? Recordemos que las proteínas poseen



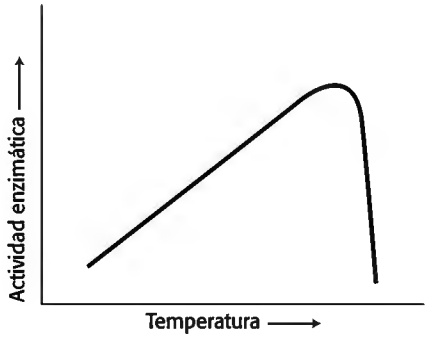


Figura 8.1 Efecto del calor sobre la actividad enzimática. En los gatos siameses, la enzima tirosinasa, que forma parte de la ruta que sintetiza el pigmento que da lugar a una piel oscura, es muy poco tolerante al calor. A la temperatura normal del organismo es inactiva pero funciona a temperaturas ligeramente inferiores. Las extremidades de un gato siamés son lo suficientemente frías como para que la tirosinasa funcione y produzca pigmento. [Fotografía: Jane Burton/Getty.]

una estructura tridimensional compleja que se mantiene por medio de enlaces débiles. Cuando la temperatura aumenta por encima de cierto punto, los enlaces débiles que mantienen la estructura tridimensional no son lo suficientemente fuertes como para soportar la agitación térmica de la cadena polipeptídica y la proteína pierde la estructura que se necesita para su actividad. Se dice que la proteína se ha *desnaturalizado* (p. 58).

En organismos como el nuestro, que mantienen una temperatura corporal constante (endotermos), el efecto de la temperatura externa sobre la actividad enzimática se minimiza. Sin embargo, en organismos que adquieren la temperatura del medio ambiente (ectotermos), la temperatura es un regulador importante de la actividad bioquímica y, de hecho, de la actividad biológica. Los lagartos, por ejemplo, muestran su mayor actividad a temperaturas cálidas mientras que a temperaturas más frías se mantienen relativamente inactivos, una manifestación etológica de la actividad bioquímica (**Figura 8.2**).

Algunos organismos, como las arqueobacterias termofílicas, pueden vivir a temperaturas de 80 °C o mayores, temperaturas que desnaturalizarían a la mayoría de las proteínas. Las proteínas de estos organismos han evolucionado para llegar a ser resistentes a la desnaturalización térmica (**Figura 8.3**).



Figura 8.2 Un lagarto disfrutando al sol. Los ectotermos como el agama roqueño de Namibia *(Agama planiceps)*, ajustan su temperatura corporal y, por tanto, la velocidad de las reacciones bioquímicas, mediante el comportamiento. [Morales/Age Fotostock.]

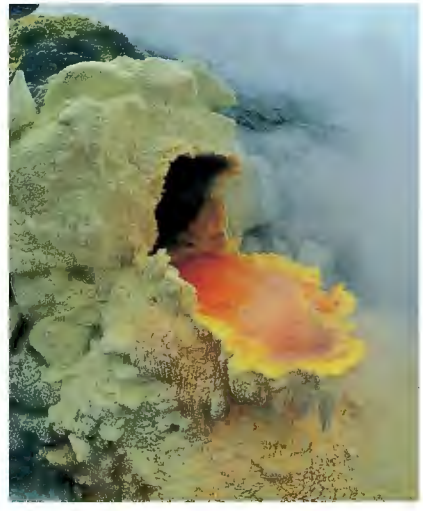


Figura 8.3 Arqueobacterias termofílicas y su entorno. Las arqueobacterias pueden proliferar en hábitats tan duros como una chimenea volcánica. En la figura, las arqueobacterias forman un manto de color naranja rodeado de depósitos sulfurosos de color amarillo. [Images & Volcans/Science Source.]

La mayoría de las enzimas tienen un pH óptimo

A menudo, la actividad enzimática también varía con el pH, la concentración de H^+ en el entorno (p. 26). Cuando se estudia en función del pH, la actividad de la mayoría de las enzimas muestra una curva con forma de campana. Sin embargo, el pH óptimo —el pH al que la enzima exhibe una actividad máxima— varía según la enzima y está relacionado con su entorno. Por ejemplo, la enzima pepsina, que digiere proteínas, opera en el ambiente altamente ácido del estómago, donde el pH oscila entre 1 y 2. A este pH, la mayoría de las enzimas estarían desnaturalizadas, pero la pepsina funciona de forma muy eficaz. Las enzimas segregadas por el páncreas en el duodeno, como la quimotripsina, tienen un pH óptimo cercano a 8, en consonancia con el pH del intestino en esta región (**Figura 8.4**).

¿Cómo podemos explicar el efecto del pH sobre la actividad enzimática teniendo en cuenta nuestros conocimientos sobre las enzimas en particular y sobre las proteínas en general? Imaginemos una enzima que, para ser funcional, requiera la ionización de un residuo de ácido glutámico y de un residuo de lisina en su centro activo. Por lo tanto, la enzima dependería de la presencia de un grupo $-COO^-$ y de un grupo $-NH_3^+$ (**Figura 8.5**). Si se reduce el pH (aumenta la concentración de H^+), los grupos $-COO^-$ se irán convirtiendo gradualmente en grupos $-COOH$, con una concomitante pérdida de actividad enzimática. Hacia el otro lado del pH óptimo, a medida que aumenta el pH (menos H^+, más OH^-), el grupo $-NH_3^+$ cede un H^+ a un OH^- y se convierte en un grupo neutro $-NH_2$, con lo que la actividad enzimática disminuye. A menudo, las curvas de actividad frente a pH indican la presencia de varios grupos ionizables.

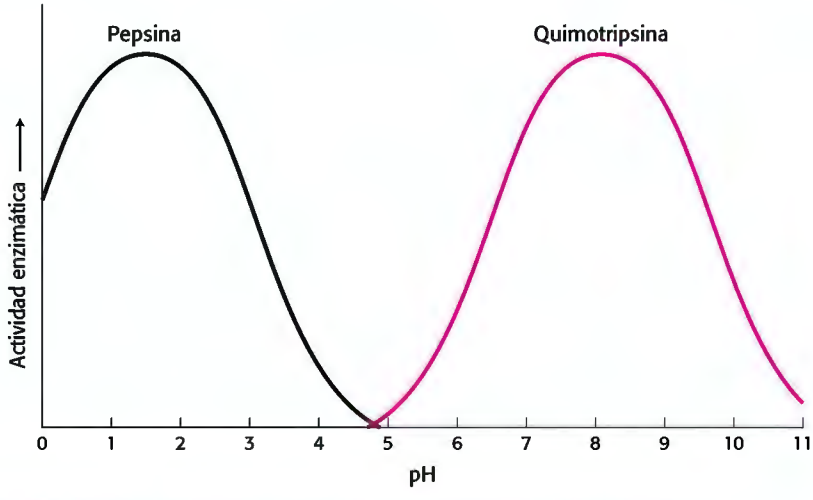


Figura 8.4 Actividad de las enzimas pepsina y quimotripsina en función del pH. La quimotripsina y la pepsina tienen distintos valores de pH óptimo. El pH óptimo de la pepsina es digno de mención. La mayoría de las proteínas estarían desnaturalizadas a este pH ácido.

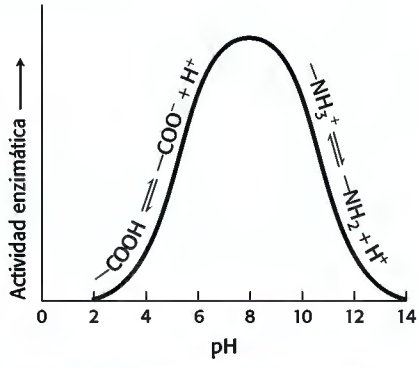


Figura 8.5 Perfil de pH para una enzima ficticia. La dependencia del pH de las enzimas se debe a la presencia de grupos R ionizables.

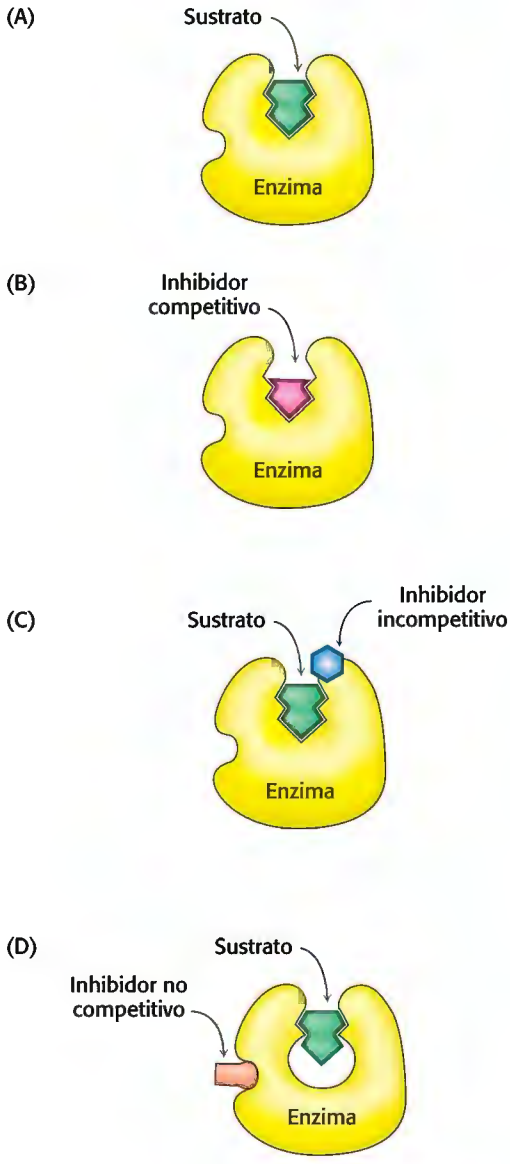


Figura 8.6 Inhibidores reversibles. (A) El sustrato se une al centro activo de una enzima para formar un complejo enzima-sustrato. (B) Un inhibidor competitivo se une al centro activo y, de este modo, impide la unión del sustrato. (C) Un inhibidor incompetitivo sólo se une al complejo enzima-sustrato. (D) Un inhibidor no competitivo no impide la unión del sustrato.

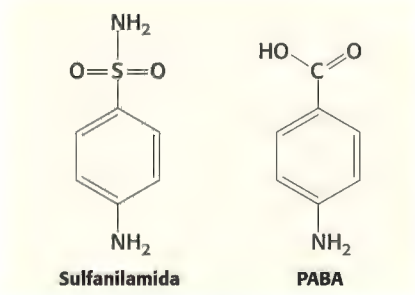
¿Se utiliza alguna vez la alteración del pH del medio celular como un dispositivo regulador? La respuesta es sí, y una enzima esencial para el metabolismo de la glucosa en el músculo esquelético constituye un ejemplo. La fosfofructoquinasa (Capítulo 16) controla la velocidad del metabolismo de la glucosa en condiciones aeróbicas (en presencia de oxígeno). Cuando la glucosa se metaboliza rápidamente en ausencia de oxígeno surge un problema: el producto final es el ácido láctico, que se ioniza fácilmente en lactato y un ion hidrógeno. Para evitar que el músculo se "macere" por la elevada concentración de ácido, si el pH baja con demasiada brusquedad se reduce la actividad de la fosfofructoquinasa lo que, a su vez, reduce el metabolismo de la glucosa en ácido láctico. La fosfofructoquinasa está formada por múltiples subunidades y la disminución del pH hace que las subunidades se disocien, con lo que la enzima se vuelve inactiva y, con ello, se reduce la producción de ácido láctico.

Las enzimas se pueden inhibir mediante moléculas específicas

La unión de moléculas pequeñas específicas e iones puede inhibir la actividad de muchas enzimas. La regulación de las enzimas alostéricas es un ejemplo representativo de este tipo de control (p. 112). En relación con las enzimas alostéricas, la interacción entre la molécula señal y la enzima es el resultado del proceso evolutivo. Además de las moléculas señal que han surgido a lo largo de la evolución, muchos fármacos y agentes tóxicos actúan inhibiendo enzimas. La inhibición por determinados compuestos químicos constituye una fuente de información acerca del mecanismo de acción de la enzima: a menudo, se pueden utilizar inhibidores específicos para identificar los residuos esenciales para la catálisis.

La inhibición enzimática puede ser reversible o irreversible. Iniciamos el estudio de la inhibición enzimática examinando en primer lugar la inhibición reversible. A diferencia de la inhibición irreversible, la *inhibición reversible* se caracteriza por la rápida disociación del complejo enzima-inhibidor. Hay tres tipos frecuentes de inhibición reversible: inhibición competitiva, inhibición incompetitiva e inhibición no competitiva. Estos tres tipos de inhibición se diferencian por la naturaleza de la interacción entre la enzima y el inhibidor y por los efectos del inhibidor sobre la cinética enzimática (**Figura 8.6**). Analizaremos cada uno de estos tres tipos por separado.

En la *inhibición competitiva*, el inhibidor se parece al sustrato y se une al centro activo de la enzima (ver Figura 8.6B). Con ello se evita que el sustrato se pueda unir a ese mismo centro activo. Una enzima se puede unir al sustrato (formando un complejo ES) o al inhibidor (EI), pero no a los dos (ESI). *Un inhibidor competitivo disminuye la velocidad de catálisis reduciendo la proporción de moléculas de enzima unidas a un sustrato.* A cualquier concentración de inhibidor, la inhibición competitiva se puede atenuar aumentando la concentración de sustrato. En estas condiciones, el sustrato "compite con ventaja" con el inhibidor por el centro activo.



Algunos inhibidores competitivos se utilizan como fármacos. Uno de los ejemplos más antiguos fue el uso de la sulfanilamida como antibiótico. La sulfanilamida es un ejemplo de un grupo de fármacos denominados sulfas (o sulfamidas), que son antibióticos que contienen azufre. Estructuralmente, la sulfanilamida se parece al ácido *p*-aminobenzoico (PABA), un metabolito que necesitan las bacterias para la síntesis de ácido fólico. La sulfanilamida se une a la enzima que normalmente metaboliza PABA y la inhibe de forma competitiva, evitando la síntesis de ácido fólico. Los seres humanos, a diferencia de las bacterias, absorben el ácido fólico a partir de la

dieta y, por tanto, no resultan afectados por el fármaco sulfa. Otros inhibidores competitivos usados frecuentemente como medicamentos son el ibuprofeno, que inhibe una ciclooxigenasa que ayuda a generar la respuesta inflamatoria, y las estatinas, que inhiben la enzima clave de la síntesis del colesterol.

La *inhibición incompetitiva* se diferencia por el hecho de que el inhibidor se une únicamente al complejo enzima-sustrato. El lugar de unión del inhibidor incompetitivo se crea solo cuando la enzima se une al sustrato (ver la Figura 8.6C). La inhibición incompetitiva no se puede eludir añadiendo más sustrato. El herbicida glifosato, también conocido como Roundup (su nombre comercial), es un inhibidor incompetitivo de una enzima de la ruta de biosíntesis de aminoácidos aromáticos en plantas. La planta muere porque carece de estos aminoácidos.

En la *inhibición no competitiva*, el inhibidor y el sustrato se pueden unir simultáneamente a una molécula de enzima en distintos lugares de unión (ver la Figura 8.6D). Un inhibidor no competitivo actúa disminuyendo el número total de moléculas de enzima activas en vez de disminuyendo la proporción de moléculas de enzima que se encuentran unidas al sustrato. La inhibición no competitiva, a diferencia de la inhibición competitiva, no se puede eludir incrementando la concentración de sustrato. La doxiciclina, un antibiótico, funciona a bajas concentraciones como inhibidor no competitivo de una enzima proteolítica bacteriana (la colagenasa). La inhibición de esta enzima evita el crecimiento y la reproducción de las bacterias que provocan la piorrea, una enfermedad periodontal.

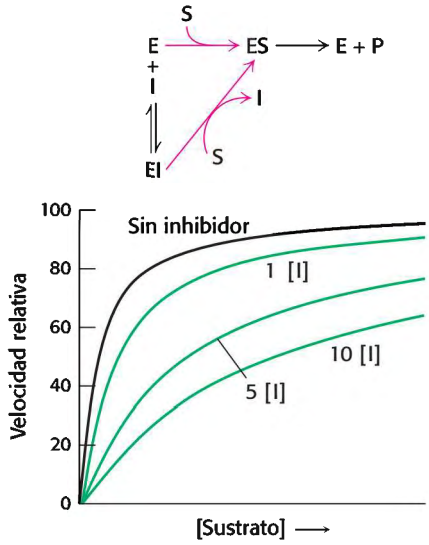


Figura 8.7 Cinética de un inhibidor competitivo. A medida que aumenta la concentración de un inhibidor competitivo se requieren concentraciones más elevadas de sustrato para alcanzar una determinada velocidad de reacción. El esquema de la reacción sugiere cómo podrían las concentraciones de sustrato suficientemente elevadas contrarrestar por completo la inhibición competitiva.

Los inhibidores reversibles se pueden distinguir gracias a sus cinéticas

¿Cómo podemos determinar si un inhibidor reversible actúa mediante inhibición competitiva, incompetitiva o no competitiva? Consideremos únicamente enzimas que se ajustan a la cinética de Michaelis-Menten —es decir, enzimas que no se inhiben alostéricamente. Las medidas de la velocidad de catálisis a diferentes concentraciones de sustrato y de inhibidor permiten distinguir los tres tipos de inhibición reversible. En la inhibición competitiva, el inhibidor compite con el sustrato por el centro activo. *La característica distintiva de la inhibición competitiva es que se puede contrarrestar por medio de una concentración de sustrato suficientemente grande* (**Figura 8.7**). El efecto de un inhibidor competitivo consiste en aumentar el valor aparente de la K_M, lo que significa que se necesita más sustrato para lograr la misma velocidad de reacción. Este nuevo valor aparente de K_M se denomina K_M^{ap}. En presencia de un inhibidor competitivo, una enzima tendrá la misma $V_{máx}$ que en ausencia de inhibidor. Si la concentración es lo suficientemente elevada, prácticamente todos los centros activos estarán ocupados por el sustrato y la enzima será totalmente operativa. Cuanto más inhibidor esté presente, más sustrato se necesitará para desplazarlo y alcanzar la $V_{máx}$.

En la *inhibición incompetitiva*, el inhibidor se une solamente al complejo ES. Este complejo enzima-sustrato-inhibidor, ESI, no prosigue hasta la formación de producto. Como siempre habrá algo de complejo ESI no productivo, la $V_{máx}$ será menor en presencia de inhibidor que en su ausencia (**Figura 8.8**). El inhibidor incompetitivo también reduce el valor aparente de K_M, porque el inhibidor se une a ES para formar ESI, con lo que disminuye la cantidad de ES. Para mantener el equilibrio entre E y ES, más S se une a E. De este modo, se necesita una menor concentración de S para formar la mitad de la concentración máxima de ES, lo que se traduce en una reducción del valor aparente de K_M, ahora denominado K_M^{ap}. Análogamente, el valor de $V_{máx}$ disminuye y se convierte en un valor nuevo denominado $V_{máx}^{ap}$.

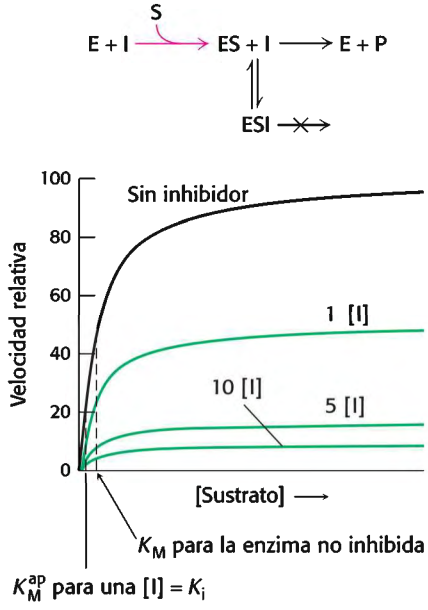


Figura 8.8 Cinética de un inhibidor incompetitivo. El esquema de la reacción muestra que el inhibidor sólo se une al complejo enzima-sustrato. En consecuencia, no se puede alcanzar la $V_{máx}$ incluso a concentraciones de sustrato elevadas. *Observe* que el valor aparente de la K_M (K_M^{ap}) disminuye, haciéndose menor cuanto más inhibidor se añade.

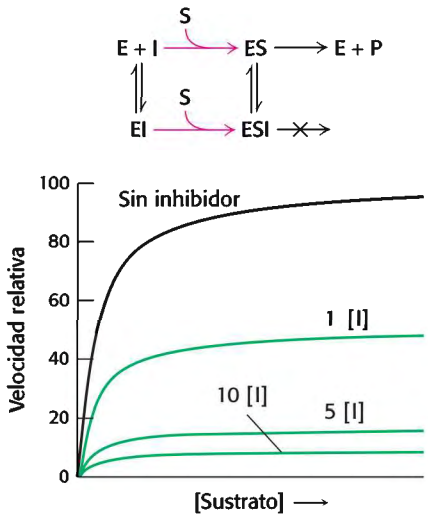


Figura 8.9 Cinética de un inhibidor no competitivo. El esquema de la reacción muestra que el inhibidor se une tanto a la enzima libre como al complejo enzima-sustrato. En consecuencia, al igual que en la inhibición incompetitiva, no se puede alcanzar la $V_{máx}$. La K_M permanece constante y, por tanto, a concentraciones bajas de sustrato, la velocidad de reacción aumenta más lentamente que en el caso de la inhibición incompetitiva.

En la *inhibición no competitiva* (Figura 8.9), un sustrato se puede unir tanto al complejo enzima-inhibidor como a la enzima sola. En cualquier caso, el complejo enzima-inhibidor-sustrato no prosigue hacia la formación de producto. El valor de $V_{máx}$ disminuye hasta el nuevo valor $V^{ap}_{máx}$, mientras que el valor de K_M permanece constante. ¿Por qué disminuye $V_{máx}$ a pesar de que la K_M permanece constante? En esencia, el inhibidor simplemente disminuye la concentración de enzima funcional. La disolución resultante se comporta como una disolución de enzima más diluida. *La inhibición no competitiva no se puede contrarrestar aumentando la concentración de sustrato.*

Las representación doble recíproca es especialmente útil a la hora de diferenciar los inhibidores competitivos, incompetitivos y no competitivos. En la inhibición competitiva, la ordenada en el origen, $1/V_{máx}$, es la misma en presencia y en ausencia de inhibidor, aunque la pendiente ($K_M/V_{máx}$) aumenta si hay inhibidor (Figura 8.10). La ordenada en el origen no cambia porque un inhibidor competitivo no modifica la $V_{máx}$. El incremento en la pendiente de la gráfica $1/V_0$ frente a 1/[S] es un indicador de la fortaleza de la unión del inhibidor competitivo.

En la inhibición incompetitiva (Figura 8.11), el inhibidor se combina únicamente con el complejo enzima-sustrato. La pendiente de la recta es igual que en el caso de enzima sin inhibidor, pero la ordenada en el origen, $1/V_{máx}$, aumenta. En consecuencia, en la inhibición incompetitiva, las rectas de las representación doble recíproca son paralelas.

En la inhibición no competitiva (Figura 8.12), el inhibidor se puede combinar tanto con la enzima como con el complejo enzima-sustrato. En la inhibición no competitiva pura, los valores de las constantes de disociación del inhibidor y la enzima y del inhibidor y el complejo enzima-sustrato son iguales. El valor de $V_{máx}$ disminuye y este nuevo valor se denomina $V^{ap}_{máx}$, de modo que la ordenada en el origen aumenta. En presencia de inhibidor, la pendiente (que equivale a $K_M/V^{ap}_{máx}$), aumenta en la misma proporción. A diferencia de lo que ocurre con la $V_{máx}$, la K_M no se ve afectada por la inhibición no competitiva pura.

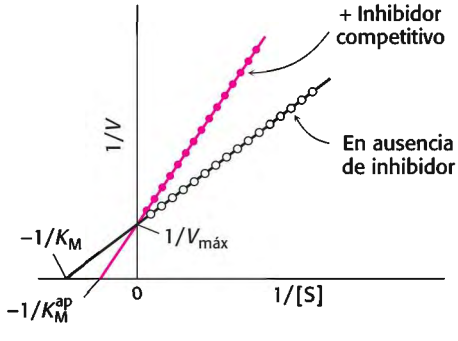


Figura 8.10 Inhibición competitiva mostrada mediante una representación doble recíproca. Una representación doble recíproca de la cinética enzimática en presencia y en ausencia de un inhibidor competitivo pone de manifiesto que el inhibidor no afecta a la $V_{máx}$ pero aumenta la K_M.

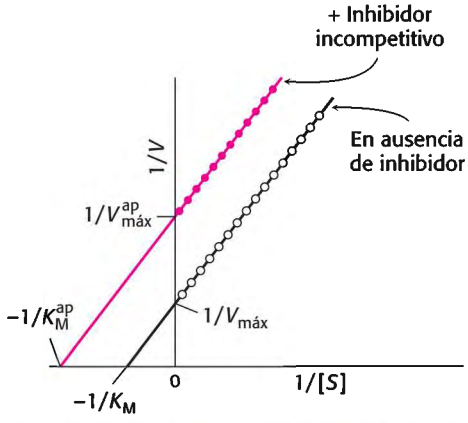


Figura 8.11 Inhibición incompetitiva mostrada mediante una representación doble recíproca. Un inhibidor incompetitivo no afecta a la pendiente de la representación doble recíproca. La $V_{máx}$ y la K_M se reducen en la misma proporción.

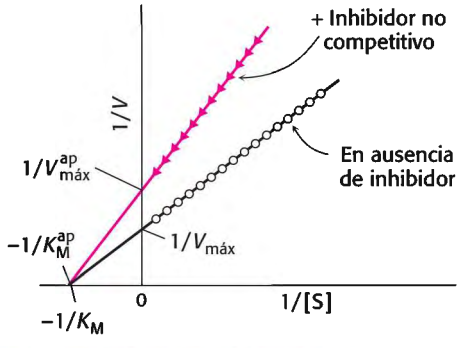


Figura 8.12 Inhibición no competitiva mostrada mediante una representación doble recíproca. Una representación doble recíproca de la cinética enzimática en presencia y en ausencia de un inhibidor no competitivo muestra que la K_M permanece constante y que la $V_{máx}$ disminuye.

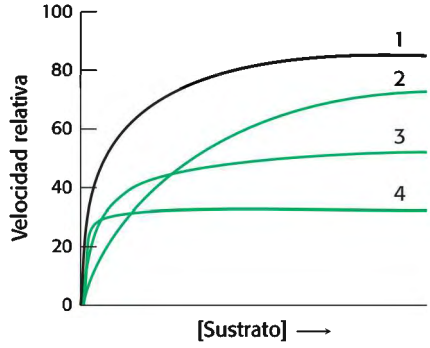
Los inhibidores irreversibles se pueden utilizar para trazar el mapa del centro activo

Mientras que un inhibidor reversible se unirá a una enzima y se disociará de ella rápidamente, un *inhibidor irreversible* se disocia muy lentamente de su enzima diana porque se ha unido fuertemente a la enzima, bien de forma covalente, bien de forma no covalente. Algunos inhibidores irreversibles son importantes fármacos. La penicilina actúa modificando covalentemente la enzima transpeptidasa, evitando con ello la síntesis de la pared celular bacteriana y matando así a las bacterias (p. 132). La aspirina actúa modificando covalentemente la enzima ciclooxigenasa (la misma enzima que se inhibe con ibuprofeno) y reduciendo la síntesis de señales inflamatorias.

Los inhibidores irreversibles que se unen covalentemente a una enzima nos proporcionan un método para desvelar el mecanismo de acción de las enzimas. A la hora de determinar el mecanismo de una enzima, el primer paso consiste en determinar qué grupos funcionales son necesarios para la actividad enzimática. Los inhibidores irreversibles modifican grupos funcionales que, posteriormente, pueden ser identificados. Si el tratamiento con un inhibidor irreversible da lugar a una pérdida de actividad de la enzima, esta pérdida sugiere que el grupo modificado es necesario para la actividad enzimática. Los inhibidores irreversibles se pueden clasificar en cuatro categorías: reactivos específicos de grupo, marcadores de afinidad (análogos del sustrato), inhibidores suicidas y análogos del estado de transición.

Los *reactivos específicos de grupo* reaccionan con grupos R específicos de los aminoácidos. Un ejemplo de un reactivo específico de grupo es el diisopropilfosfofluoridato (DIPF). El DIPF inhibe la enzima proteolítica quimotripsina modificando tan solo uno de los 28 residuos de serina de la proteína, lo que quiere decir que este residuo de serina es especialmente reactivo. Como se verá en la página 135, este residuo de serina está, de hecho, en el centro activo. El DIPF también reveló la existencia de un residuo de serina reactivo en la acetilcolinesterasa, una enzima importante para la transmisión de impulsos nerviosos (**Figura 8.13**). Por ello, tanto el DPIF como otros compuestos similares que se unen a la acetilcolinesterasa y la inactivan son potentes gases nerviosos.

? PREGUNTA RÁPIDA 1 En la gráfica mostrada, identifique la curva que corresponde a cada una de las siguientes condiciones: sin inhibición, inhibición competitiva, inhibición no competitiva, inhibición incompetitiva.



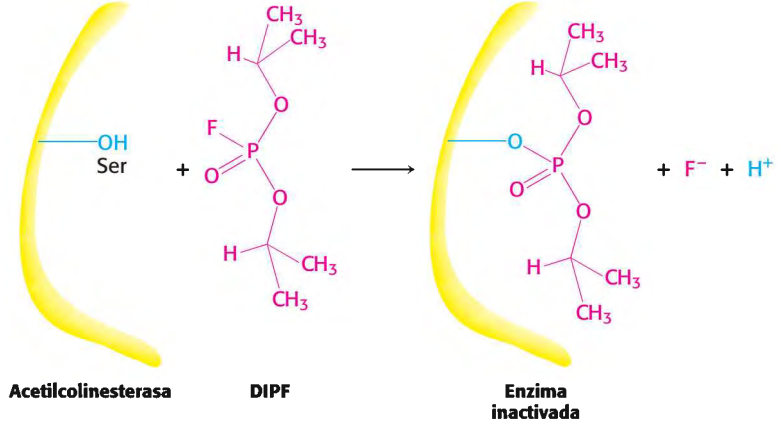


Figura 8.13 Inhibición enzimática por medio del diisopropilfosfofluoridato (DIPF), un reactivo específico de grupo. El DIPF puede inhibir una enzima modificando covalentemente un residuo de serina crucial.

Los *marcadores de afinidad*, también llamados *análogos del sustrato*, son moléculas que modifican covalentemente los residuos del centro activo y son estructuralmente parecidos al sustrato de una enzima. Por tanto, son más específicos para el centro activo de una enzima que los reactivos específicos de grupo. La tosil-L-fenilalanina clorometilcetona (TPCK) es un marcador de afinidad para la quimotripsina (**Figura 8.14**). La TPCK se une al centro activo donde reacciona de forma irreversible con un residuo de histidina de dicho centro, inhibiendo así la enzima.

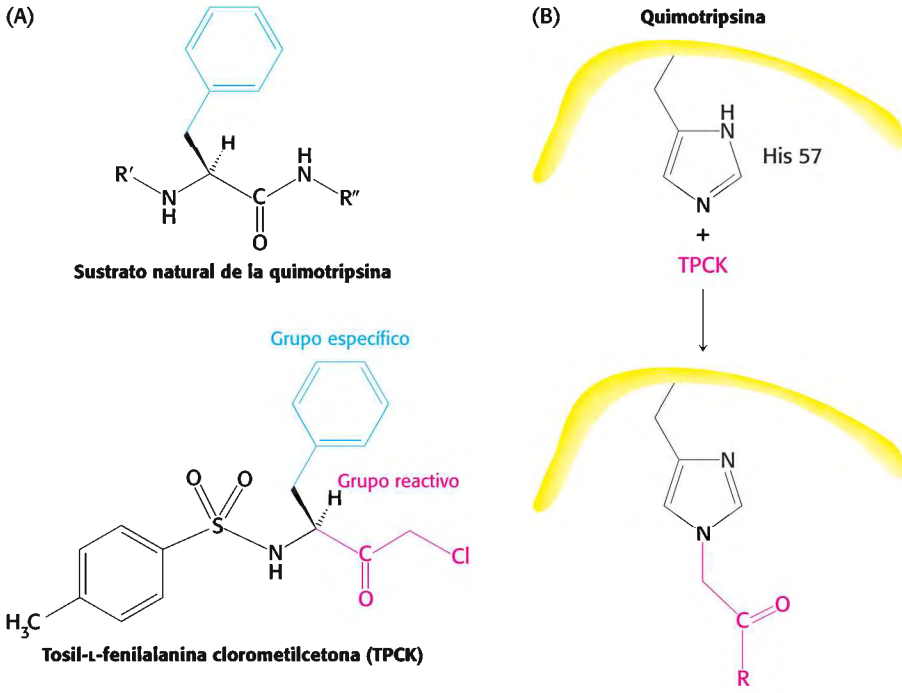


Figura 8.14 Marcaje por afinidad.
(A) La tosil-L-fenilalanina clorometilcetona (TPCK) es un reactivo análogo al sustrato normal de la enzima quimotripsina.
(B) La TPCK se une al centro activo de la quimotripsina y modifica un residuo de histidina esencial.

Los *inhibidores suicidas*, o *inhibidores basados en el mecanismo*, son sustratos modificados químicamente. Estas moléculas proporcionan a los investigadores uno de los métodos más específicos a la hora de modificar el centro activo de una enzima. El inhibidor se une a la enzima como un sustrato y, al principio, es procesado normalmente por el mecanismo catalítico. A continuación, el mecanismo catalítico genera un intermediario químicamente reactivo que inactiva la enzima por medio de una modificación covalente. El hecho de que la enzima participe en su propia inhibición irreversible constituye un sólido indicio de que el grupo modificado covalentemente en la enzima es esencial para la catálisis. El antibiótico penicilina es un inhibidor suicida de la enzima que sintetiza la pared celular de las bacterias.

Los *análogos del estado de transición* son potentes inhibidores enzimáticos (Capítulo 6). Como ya se ha comentado anteriormente, la formación del estado de transición es crucial para la catálisis enzimática (p. 101). Una evidencia importante que respalda el papel de la formación del estado de transición en la catálisis es el poder inhibitorio de los análogos de los estados de transición.

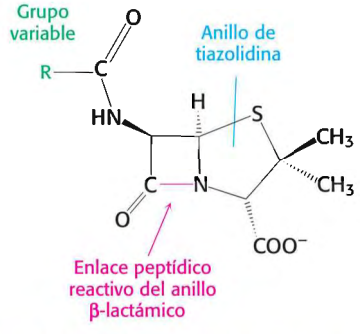


Figura 8.15 Estructura de la penicilina.
El lugar reactivo de la penicilina es el enlace peptídico de su anillo β-lactámico.

Aspecto clínico

La penicilina inactiva de forma irreversible una enzima clave de la síntesis de la pared celular bacteriana

La penicilina, el primer antibiótico descubierto, consta de un anillo de tiazolidina unido a un anillo β-lactámico al que se une mediante un enlace peptídico un grupo R variable (Figura 8.15). Esta estructura puede experimentar una serie de reordenamientos y, concretamente, el anillo β-lactámico es muy inestable. De hecho, esta inestabilidad está estrechamente asociada a la acción antibiótica de la penicilina, como se verá en breve.

¿Cómo inhibe la penicilina el crecimiento bacteriano? Consideremos, por ejemplo, *Staphylococcus aureus*, la causa más frecuente de infecciones por estafilococos. La penicilina actúa interfiriendo en la síntesis de las paredes celulares de *S. aureus*. Esta pared está formada por una macromolécula, denominada *peptidoglicano* (Figura 8.16), que consta de cadenas lineales de polisacáridos que se encuentran entrecruzadas por péptidos cortos (pentaglicinas y tetrapéptidos). El enorme peptidoglicano con forma de bolsa proporciona un soporte mecánico y evita que la bacteria estalle como resultado de su elevada presión osmótica interna. La *glicopéptido transpeptidasa*

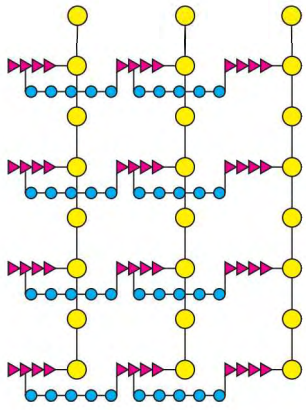


Figura 8.16 Representación esquemática del peptidoglicano de *Staphylococcus aureus*. Los azúcares se muestran en color amarillo, los tetrapéptidos en rojo y los puentes de pentaglicina en azul. La pared celular es una única macromolécula enorme que tiene forma de bolsa gracias a sus numerosos entrecruzamientos.

cataliza la formación de los entrecruzamientos que hacen que el peptidoglicano sea tan estable (**Figura 8.17**). Las paredes celulares de las bacterias son únicas por el hecho de contener D-aminoácidos, que forman los entrecruzamientos por medio de un mecanismo distinto del utilizado en la síntesis de proteínas.

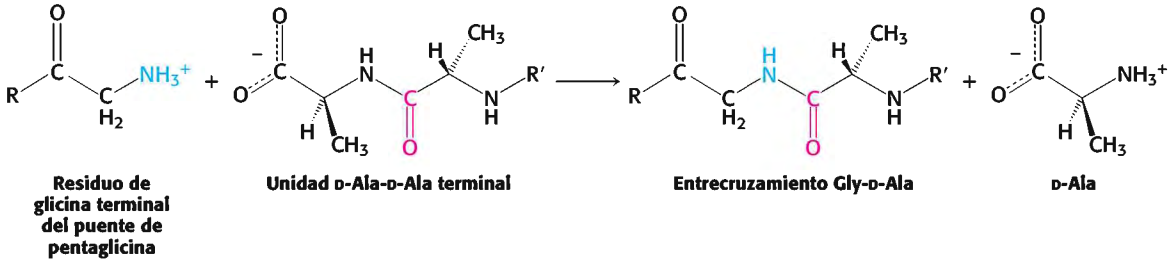


Figura 8.17 Formación de entrecruzamientos en el peptidoglicano de *S. aureus*. Para formar un entrecruzamiento, el grupo amino terminal del puente de pentaglicina de la pared celular ataca al enlace peptídico situado entre dos residuos de D-alanina.

La penicilina inhibe el entrecruzamiento de la transpeptidasa mediante la estrategia del caballo de Troya: imita al sustrato normal para introducirse en el centro activo. Para crear entrecruzamientos entre los tetrapéptidos y las pentaglicinas, la transpeptidasa normalmente forma un *intermediario acilado* con el penúltimo residuo de D-alanina del tetrapéptido. A continuación, este intermediario covalente (la acil-enzima) reacciona con el grupo amino de la glicina terminal de otro péptido para formar el entrecruzamiento (**Figura 8.18**). La penicilina es bien recibida en el centro activo de la transpeptidasa porque se parece al componente D-ala-D-ala del sustrato normal. Al unirse a la transpeptidasa, el residuo de serina del centro activo ataca al átomo

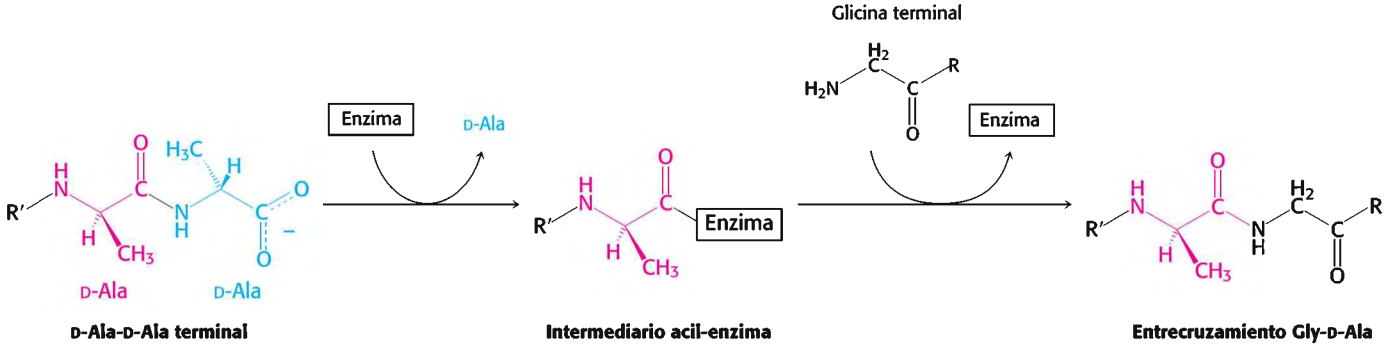


Figura 8.18 Reacción de transpeptidación. Durante la reacción de transpetidación que da lugar a la formación de un entrecruzamiento se forma un intermediario acil-enzima.

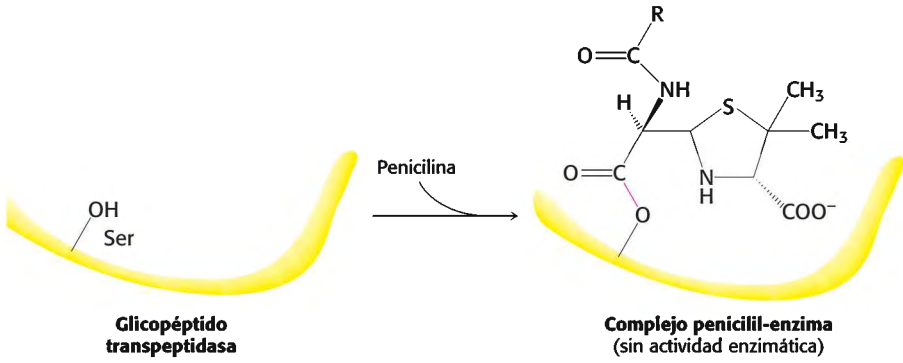


Figura 8.19 Formación de un complejo penicilil-enzima. La penicilina reacciona con la transpeptidasa formando un complejo inactivo que se mantiene estable indefinidamente.

de carbono carbonilo del anillo lactámico para formar un derivado penicilil-serina (Figura 8.19). Esta penicilil-enzima no reacciona más. Por tanto, la transpeptidasa se inhibe de forma irreversible y la síntesis de la pared bacteriana no se puede llevar a cabo. Como la transpeptidasa interviene en su propia desactivación, *la penicilina actúa como un inhibidor suicida.* ■

8.3 La quimotripsina ilustra los principios básicos de la catálisis y de la inhibición

Un estudio detallado del mecanismo de acción de la quimotripsina, una enzima que degrada proteínas, ilustrará algunos de los principios básicos de la catálisis. También será útil como caso práctico para demostrar cómo se pueden investigar los mecanismos de las enzimas, incluyendo el uso de la cinética y de los inhibidores enzimáticos.

En los sistemas vivos, el recambio de las proteínas es un proceso importante. Cuando la célula ya no las necesita, las proteínas tienen que ser degradadas de modo que sus aminoácidos constituyentes puedan ser reciclados para la síntesis de nuevas proteínas. Además, las proteínas ingeridas en la dieta tienen que romperse en péptidos pequeños y en aminoácidos para ser absorbidas en el intestino. La fragmentación de las proteínas se cataliza mediante un gran grupo de enzimas denominadas *enzimas proteolíticas* o *proteasas*. Estas enzimas rompen proteínas mediante una reacción de hidrólisis —la adición de una molécula de agua a un enlace peptídico.

Una enzima de este tipo es la quimotripsina, que es secretada por el páncreas en respuesta a una comida. La quimotripsina rompe de forma selectiva los enlaces peptídicos de aminoácidos hidrofóbicos grandes como el triptófano, la tirosina, la fenilalanina y la metionina, y lo hace por el lado que contiene el grupo carboxilo terminal (Figura 8.20).

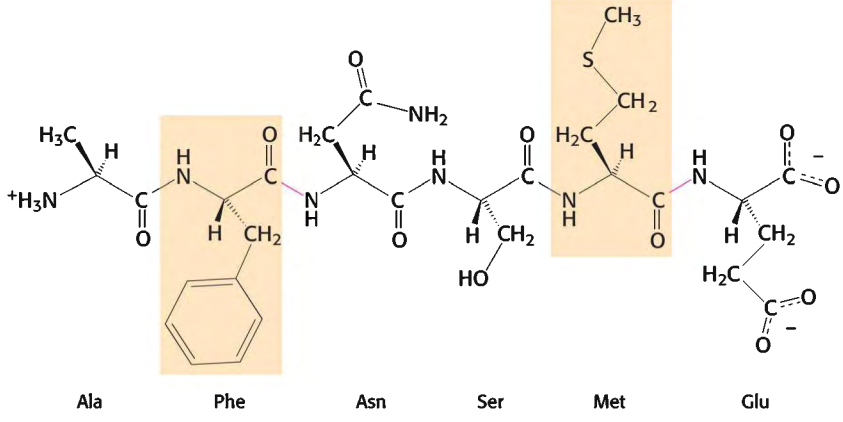


Figura 8.20 Especificidad de la quimotripsina. La quimotripsina rompe las proteínas por el lado carboxilo de los aminoácidos aromáticos o de los aminoácidos hidrofóbicos y voluminosos (sombreados de color naranja). Los enlaces de color rojo indican dónde es más probable que actúe la quimotripsina.

La serina 195 es necesaria para la actividad de la quimotripsina

La quimotripsina es un buen ejemplo del uso de la *modificación covalente* como estrategia catalítica. La enzima utiliza un potente nucleófilo para atacar al grupo carbonilo no reactivo del sustrato. En el transcurso de la catálisis, este nucleófilo se une covalentemente al sustrato durante un breve periodo de tiempo.

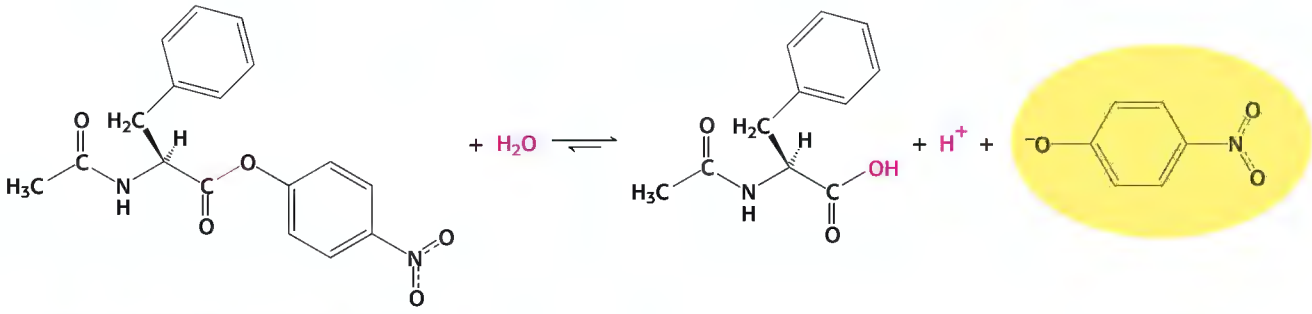


Figura 8.21 Un sustrato cromogénico. La ruptura del éster *p*-nitrofenílico de la *N*-acetil-L-alanina por parte de la quimotripsina da lugar a un producto amarillo, el *p*-nitrofenolato. El *p*-nitrofenolato se forma por la desprotonación del *p*-nitrofenol a pH 7.

¿Cuál es el nucleófilo que utiliza la quimotripsina para atacar al grupo carbonilo del sustrato? Una pista llegó del hecho de que la quimotripsina contiene un residuo de serina extraordinariamente reactivo. Se descubrió que el tratamiento con organofluorofosfatos que modifican residuos de serina, como, por ejemplo, el DIPF (p. 131), inactivaba la enzima de forma irreversible (ver la Figura 8.13). A pesar de que la enzima posee 28 residuos de lisina, solo se modificó uno de ellos, la serina 195, lo que se tradujo en una pérdida total de actividad enzimática. El uso del DIPF, un reactivo específico de grupo, alertó a los investigadores de la importancia para la catálisis de un residuo de serina en particular.

El mecanismo de la quimotripsina tiene lugar en dos etapas conectadas a través de un intermediario unido de forma covalente

Un estudio de la cinética de la enzima sugirió una función para la serina 195. Con frecuencia, la cinética de la acción enzimática se monitoriza fácilmente haciendo que la enzima actúe sobre un análogo del sustrato que forma un producto coloreado. En el caso de la quimotripsina, este tipo de *sustrato cromogénico* es el éster *p*-nitrofenílico de la *N*-acetil-L-alanina. Uno de los productos que se forma cuando la quimotripsina rompe este sustrato es el *p*-nitrofenolato, que tiene color amarillo (**Figura 8.21**). Las medidas de la absorbancia de luz indicaban la cantidad de *p*-nitrofenolato que se estaba produciendo y, de este modo, se disponía de un sencillo método para investigar la actividad de la quimotripsina.

En condiciones de estado estacionario, la ruptura del sustrato obedece la cinética de Michaelis-Menten. Se obtuvieron resultados más reveladores al estudiar la formación de producto a los pocos milisegundos de mezclar la enzima y el sustrato. La reacción entre la quimotripsina y el éster *p*-nitrofenilo de la *N*-acetil-L-alanina se inicia con una rápida producción masiva de producto coloreado, seguida de una formación más lenta a medida que la reacción alcanzaba el estado estacionario (**Figura 8.22**). Estos resultados sugieren que la hidrólisis tiene lugar en dos etapas. El estallido inicial se observa porque la primera etapa es más rápida que la segunda.

Las dos etapas se explican por la formación de un intermediario en el que la enzima y el sustrato se encuentran unidos covalentemente (**Figura 8.23**). En primer lugar, a medida que se va liberando *p*-nitrofenolato, el grupo acilo del sustrato se une covalentemente a la serina 195 de la enzima. El complejo enzima-grupo acilo se denomina *intermediario acil-enzima*. En segundo lugar, el intermediario acil-enzima



Figura 8.22 Cinética de la catálisis de la quimotripsina. Durante la ruptura del éster *p*-nitrofenílico de la *N*-acetil-L-alanina por parte de la quimotripsina se ponen de manifiesto dos etapas: la Fase del estallido inicial de actividad (estado pre-estacionario) y la fase estacionaria.

En un sistema en estado estacionario, la concentración de los intermediarios se mantiene constante a pesar de que las concentraciones de sustratos y productos estén cambiando. Un fregadero lleno de agua y con el grifo abierto lo justo como para compensar la pérdida de agua que se va por el desagüe está en estado estacionario. El nivel del agua en el fregadero nunca cambia a pesar de que el agua está fluyendo constantemente desde el grifo hacia el fregadero y a través del desagüe.

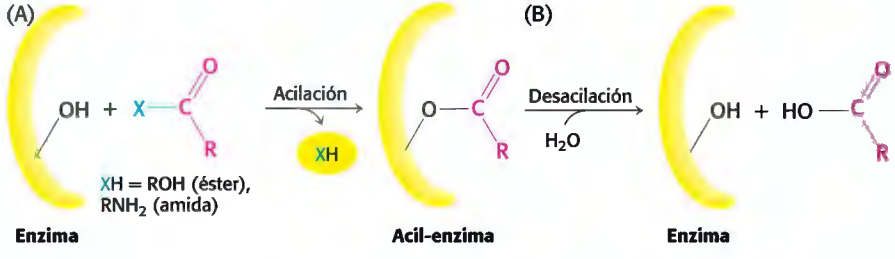


Figura 8.23 Catálisis covalente. La hidrólisis por parte de la quimotripsina tiene lugar en dos etapas: (A) acilación para formar el intermediario acil-enzima seguida de (B) desacilación para regenerar la enzima libre.

se hidroliza para liberar el componente ácido carboxílico del sustrato y regenerar la enzima libre. Así, a medida que se forma el intermediario acil-enzima se produce rápidamente una molécula de *p*-nitrofenolato por cada molécula de enzima. Sin embargo, la enzima tarda más tiempo en "reiniciarse" mediante la hidrólisis del intermediario acil-enzima, y se necesitan las dos etapas para regenerar la enzima. Hay que señalar el hecho de que la catálisis de la quimotripsina se lleva a cabo mediante un intermediario enzimático sustituido, la característica distintiva de un mecanismo de reacción de doble desplazamiento, o ping-pong (p. 112).

El papel catalítico de la histidina 57 se demostró mediante marcaje por afinidad

La importancia para la catálisis de un segundo residuo se demostró mediante marcaje por afinidad. La estrategia consistía en hacer que la quimotripsina reaccionase con una molécula que (1) se uniese específicamente al centro activo gracias a su parecido con un sustrato y, a continuación, (2) formase un enlace covalente estable con un grupo de la enzima que estuviese cerca. Estos requisitos los cumple la TPCK (ver la Figura 8.14). La cadena lateral de fenilalanina de la TPCK le permite unirse específicamente a la quimotripsina. El grupo reactivo de la TPCK es la clorometilcetona, que modifica covalentemente uno de los nitrógenos del anillo de la histidina 57. Gracias a su unión específica al centro activo de la enzima, la TPCK se coloca en una posición que le permite reaccionar con este residuo. El derivado TPCK de la quimotripsina carece de actividad enzimática.

La serina forma parte de una tríada catalítica que incluye a la histidina y al ácido aspártico

Hasta ahora, hemos aprendido que la serina 195 y la histidina 57 son necesarias para la actividad de la quimotripsina y que la reacción se lleva a cabo mediante un intermediario enzimático sustituido. ¿Cómo podemos integrar esta información para desvelar el mecanismo de acción de la quimotripsina? La cadena lateral de la serina 195 está formando un puente de hidrógeno con el anillo de imidazol de la histidina 57. El grupo −NH de este anillo de imidazol está, a su vez, formando un puente de hidrógeno con el grupo carboxilato del aspartato 102, otro componente clave del centro activo. A esta constelación de residuos se la denomina la *tríada catalítica*.

¿Cómo da lugar esta disposición de residuos a la elevada reactividad de la serina 195? El residuo de histidina contribuye a colocar la cadena lateral de la serina en la posición correcta y a polarizar su grupo hidroxilo de forma que esté listo para la desprotonación. En presencia del sustrato, la histidina 57 acepta el protón del grupo hidroxilo de la serina 195. Al hacerlo, la histidina actúa como un catalizador básico general. Al quitar el protón al grupo hidroxilo se genera un ion alcóxido, que es un nucleófilo mucho más potente que el grupo hidroxilo. El residuo de aspartato ayuda a orientar el residuo de histidina y a convertirlo en un mejor aceptor de protones por medio de puentes de hidrógeno y de efectos electrostáticos (**Figura 8.24**).

Estas observaciones sugieren un mecanismo para la hidrólisis de los péptidos (**Figura 8.25**). Tras la unión del sustrato (paso 1), la reacción comienza cuando el átomo de oxígeno de la cadena lateral de la serina 195 lleva a cabo un ataque nucleofílico sobre el átomo de carbono carbonilo del enlace peptídico diana (paso 2). En este momento, en lugar de estar unido a tres átomos dispuestos sobre un mismo plano, al átomo de

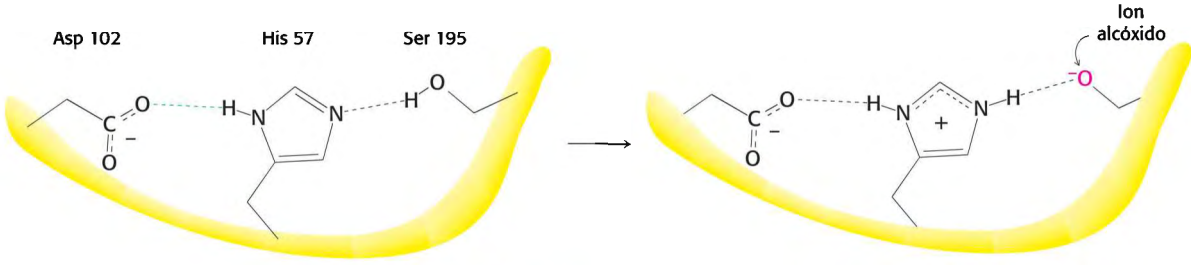


Figura 8.24 La tríada catalítica. La tríada catalítica, mostrada a la izquierda, convierte la serina 195 en un potente nucleófilo, tal y como se ilustra en la parte derecha de la figura.

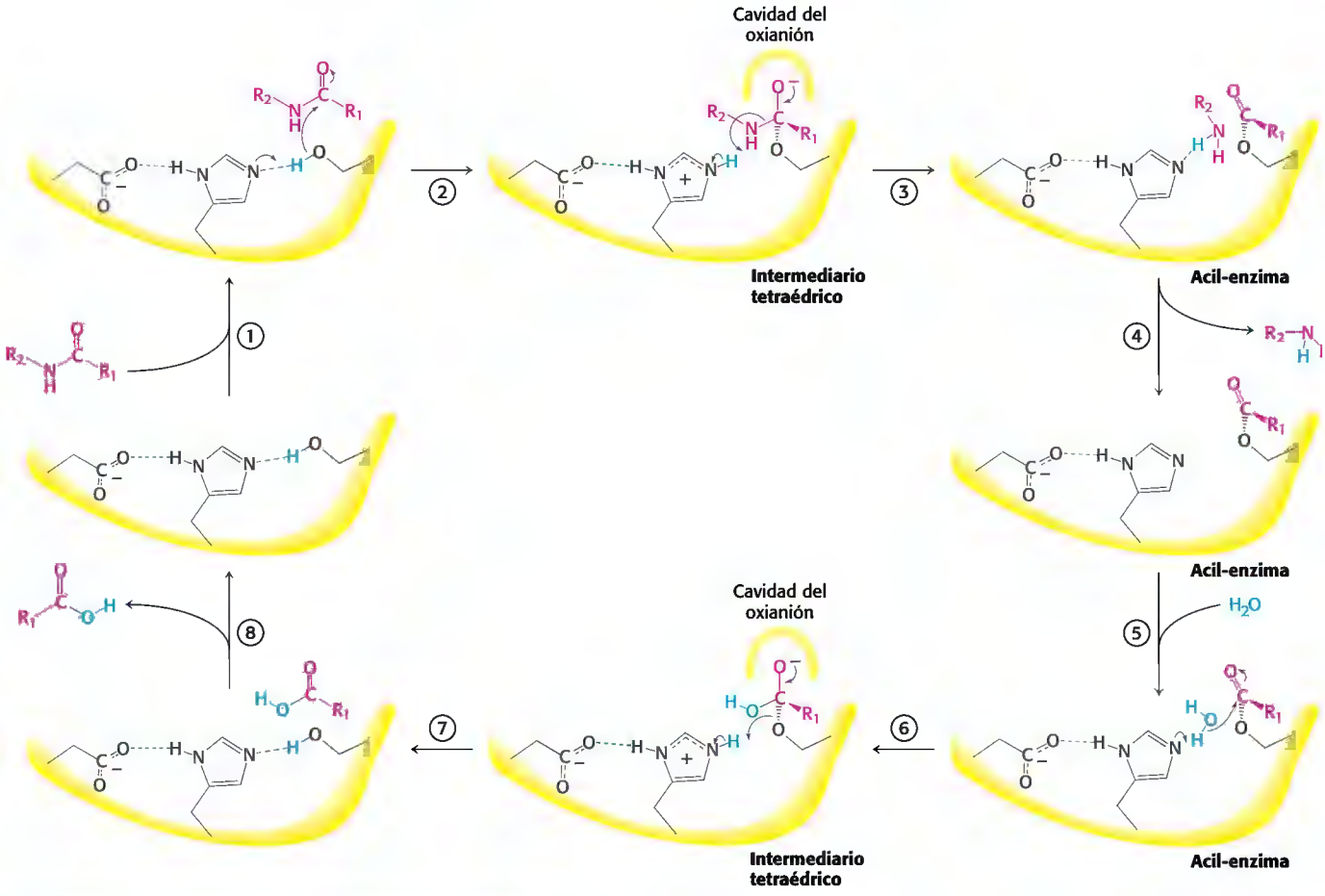


Figura 8.25 Hidrólisis peptídica por parte de la quimotripsina. El mecanismo de la hidrólisis peptídica ilustra los principios de la catálisis covalente y de la catálisis ácido-base. La reacción tiene lugar en ocho pasos: (1) unión del sustrato, (2) ataque nucleofílico de la serina sobre el grupo carbonilo del péptido, (3) colapso del intermediario tetraédrico, (4) liberación del componente amino, (5) unión del agua, (6) ataque nucleofílico del agua sobre el intermediario acil-enzima, (7) colapso del intermediario tetraédrico y (8) liberación del componente ácido carboxílico. Las líneas verdes discontinuas representan puentes de hidrógeno.

carbono carbonilo se encuentra unido a cuatro átomos, formando un tetraedro. El intermediario tetraédrico formado es intrínsecamente inestable y posee una carga negativa sobre el átomo de oxígeno procedente del grupo carbonilo. Esta carga está estabilizada gracias a una región denominada *cavidad del oxianión*, tal y como se muestra en la Figura 8.25. En la cavidad del oxianión, las interacciones con grupos NH ayudan a estabilizar el intermediario tetraédrico (**Figura 8.26**). Estas interacciones contribuyen a la energía de unión que ayuda a estabilizar el estado de transición que precede a la formación del intermediario tetraédrico (ver la Figura 8.25). Este intermediario tetraédrico se colapsa para generar la acil-enzima (paso 3). Este paso está favorecido por la transferencia del protón procedente del residuo de histidina cargado positivamente, que ahora actúa como un catalizador ácido general, al grupo amino del sustrato que se forma tras la ruptura del enlace peptídico. El componente amina queda ahora libre para separarse de la enzima (paso 4), con lo que se completa la primera etapa de la reacción hidrolítica —es decir, la acilación de la enzima.

La siguiente etapa —la desacilación de la enzima— comienza cuando una molécula de agua se sitúa en el lugar ocupado anteriormente por el componente amina del sustrato (paso 5). Es ahora cuando se hidroliza el grupo éster de la acil-enzima mediante un proceso que consiste básicamente en la repetición de los pasos 2, 3 y 4. Actuando de nuevo como un catalizador básico general, la histidina 57 extrae un protón de la molécula de agua. El ion OH^- resultante ataca al átomo de carbono carbonilo del grupo acilo, formando un intermediario tetraédrico (paso 6). Esta estructura se descompone para formar el producto ácido carboxílico (paso 7). Por último, la liberación del producto ácido carboxílico (paso 8) deja lista a la enzima para otro ciclo catalítico.

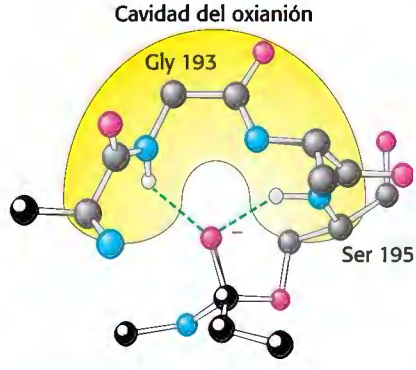


Figura 8.26 Cavidad del oxianión. La estructura estabiliza el intermediario tetraédrico de la reacción de la quimotripsina. *Observe* que los puentes de hidrógeno (mostrados de color verde) conectan grupos NH del esqueleto polipeptídico de la quimotripsina con el átomo de oxígeno cargado negativamente del intermediario.

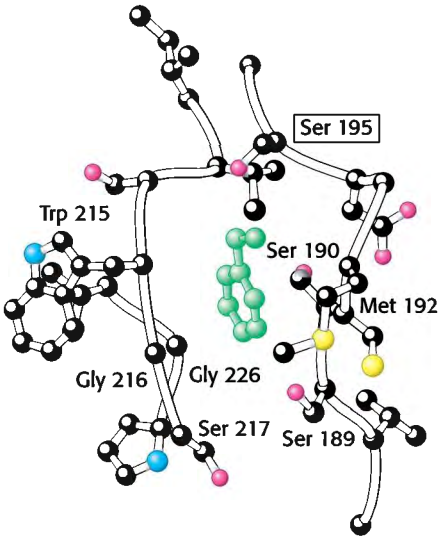


Figura 8.27 Especificidad del bolsillo de la quimotripsina. *Observe* que el profundo bolsillo específico está revestido de muchos grupos hidrofóbicos. La estructura del bolsillo favorece la unión de residuos con largas cadenas laterales hidrofóbicas, como, por ejemplo, la fenilalanina (mostrada en color verde). *Observe también* que el residuo de serina del centro activo (serina 195) está en una posición que le permite romper el esqueleto peptídico entre el residuo unido al bolsillo y el siguiente residuo de la secuencia. Los aminoácidos clave que constituyen el centro activo están señalados.

? PREGUNTA RÁPIDA 2 Utilizando la representación de Cleland (Figura 7.6), muestre cómo se desarrolla la reacción de hidrólisis del tetrapéptido Ala-Phe-Gly-Ala por parte de la quimotripsina.

Este mecanismo explica todas las características de la acción de la quimotripsina excepto la preferencia que muestra por romper los enlaces peptídicos justo después de los residuos con cadenas laterales hidrofóbicas y voluminosas. El estudio de la estructura tridimensional de la quimotripsina con análogos del sustrato y con inhibidores enzimáticos desveló la presencia de un profundo bolsillo relativamente hidrofóbico, denominado bolsillo S1, en el que se pueden acomodar las largas cadenas laterales sin carga de residuos como la fenilalanina y el triptófano. *La unión de una cadena lateral apropiada en el interior de este bolsillo coloca al enlace peptídico adyacente en el centro activo, listo para su hidrólisis* (Figura 8.27). La especificidad de la quimotripsina depende casi exclusivamente de qué aminoácido esté colocado directamente en el lado amino terminal del enlace peptídico que se va a escindir.

Resumen

8.1 Existen muchas enzimas, pero utilizan unas pocas estrategias básicas

Aunque los mecanismos catalíticos de las enzimas varían en los detalles, muchas enzimas utilizan una o más estrategias comunes. Estas incluyen: (1) catálisis covalente, en la que la enzima se modifica covalentemente de forma transitoria, (2) catálisis general ácido-base, en la que alguna molécula distinta del agua actúa como aceptora o donadora de protones; (3) catálisis mediante iones metálicos, que funciona de diversas formas y (4) catálisis por aproximación y orientación, en la que los sustratos se colocan cerca uno de otro y orientados de forma que se facilite la reacción.

8.2 La actividad enzimática se puede modular mediante la temperatura, el pH y moléculas inhibidoras

Moléculas pequeñas o iones específicos pueden inhibir incluso enzimas no alostéricas. En la inhibición irreversible, el inhibidor se une covalentemente a la enzima o se une con tanta fuerza que su disociación de la enzima es muy lenta. Los inhibidores covalentes proporcionan un método para trazar el mapa del centro activo de una enzima. Por el contrario, la inhibición reversible se caracteriza por un equilibrio más rápido entre la enzima y el inhibidor. Un inhibidor competitivo evita que el sustrato se una al centro activo. Reduce la velocidad de reacción disminuyendo la proporción de moléculas de enzima que se encuentran unidas al sustrato. La inhibición competitiva se puede contrarrestar aumentando la concentración de sustrato. En la inhibición incompetitiva, el inhibidor se combina únicamente con el complejo enzima-sustrato. En la inhibición no competitiva, el inhibidor disminuye el número de recambio. Las inhibiciones incompetitiva y no competitiva no se pueden contrarrestar aumentando la concentración de sustrato.

8.3 La quimotripsina ilustra los principios básicos de la catálisis y de la inhibición

La ruptura de enlaces peptídicos por parte de la quimotripsina se inicia con el ataque de un residuo de serina sobre el grupo carbonilo del péptido. El grupo hidroxilo atacante se activa mediante una interacción con el grupo imidazol de un residuo de histidina que, a su vez, está conectado con un residuo de aspartato. Esta tríada catalítica Ser-His-Asp genera un potente nucleófilo. El producto de esta reacción inicial es un intermediario covalente formado por la enzima y un grupo acilo procedente del sustrato unido. La hidrólisis de este intermediario acil-enzima completa el proceso de ruptura. Los intermediarios tetraédricos de estas reacciones presentan una carga negativa sobre el átomo de oxígeno del grupo carbonilo del péptido. Esta carga negativa está estabilizada mediante interacciones con grupos NH del esqueleto polipeptídico de la quimotripsina en una región de la enzima denominada cavidad del oxianión.

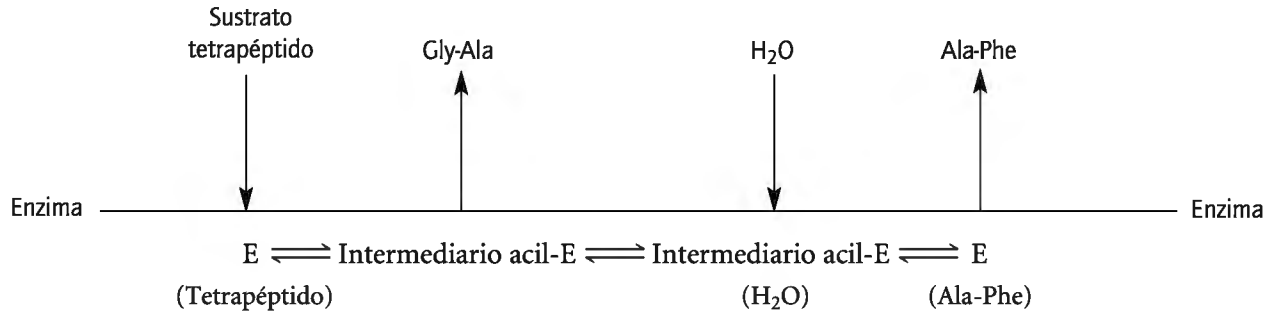
Términos clave

catálisis covalente (p. 125)
catálisis general ácido-base (p. 126)
catálisis mediante iones metálicos (p. 126)
catálisis mediante aproximación (p. 126)
energía de unión (p. 126)
inhibición competitiva (p. 128)
inhibición incompetitiva (p. 129)
inhibición no competitiva (p. 129)
reactivo específico de grupo (p. 131)
marcador de afinidad (análogo del sustrato) (p. 131)
inhibición basada en el mecanismo (suicida) (p. 132)
análogo del estado de transición (p. 132)
modificación covalente (p. 134)
tríada catalítica (p. 136)
cavidad del oxianión (p. 137)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Curva 1, no hay inhibición; curva 2, inhibición competitiva; curva 3, inhibición no competitiva; curva 4, inhibición incompetitiva.

2.



Problemas

1. *Soluciones estratégicas.* ¿Cuáles son las cuatro estrategias catalíticas básicas que utilizan muchas enzimas?

2. *Manteniéndose ocupadas.* Muchas enzimas purificadas se desnaturalizarán si se incuban a 37 °C. Sin embargo, si se incuban a 37 °C en presencia del sustrato, las enzimas son catalíticamente activas. Explique esta aparente paradoja.

3. *Parálisis controlada.* La succinilcolina es un relajante muscular de actuación rápida pero de corta duración que se utiliza cuando se inserta un tubo en la tráquea de un paciente o cuando se utiliza un broncoscopio para examinar la tráquea y los bronquios en busca de señales de cáncer. A los pocos segundos de la administración de succinilcolina, el paciente experimenta una parálisis muscular y se le tiene que colocar en un respirador mientras se lleva a cabo el examen. La succinilcolina es un inhibidor competitivo de la acetilcolinesterasa, una enzima del sistema nervioso, y su efecto inhibidor provoca la parálisis. Sin embargo, la succinilcolina se hidroliza por medio de la colinesterasa del suero sanguíneo, que muestra una mayor especificidad hacia el sustrato que la enzima del sistema nervioso. La parálisis dura hasta que la succinilcolina se hidroliza por medio de la colinesterasa del suero, normalmente al cabo de varios minutos. ✓ 6
(a) Como medida de seguridad, se mide la actividad de la colinesterasa del suero antes de proceder al examen. Explique por qué es una buena idea hacer esta medida.
(b) ¿Qué le ocurriría al paciente si la actividad de la colinesterasa del suero fuese de tan solo 10 unidades de actividad por litro en vez de la actividad normal de alrededor de 80 unidades?
(c) Algunos pacientes presentan una forma mutante de la colinesterasa con una K_M de 10 mM en lugar de 1,4 mM, que es el valor normal. ¿Cuál será el efecto de esta mutación sobre el paciente?

4. *Acción específica.* ¿Cómo pueden utilizarse los reactivos específicos de grupo para determinar el mecanismo de acción de una enzima? ✓ 6

5. *Pan y mantequilla.* Relacione cada término de la columna de la izquierda con la descripción o el compuesto que le corresponda en la columna de la derecha. ✓ 6

(a) Inhibición competitiva _____
(b) Inhibición incompetitiva _____
(c) Inhibición no competitiva _____

1. Inhibidor y sustrato se pueden unir de forma simultánea
2. La $V_{máx}$ permanece constante pero la K_M^{ap} aumenta
3. Sulfanilamida
4. Solo se une al complejo enzima-sustrato
5. Disminuye la $V_{máx}$ y la K_M^{ap}
6. Roundup
7. La K_M permanece constante pero la $V_{máx}$ es menor
8. Doxiciclina
9. El inhibidor se une al centro activo

6. *Modo de inhibición.* Se mide la cinética de una enzima en función de la concentración de sustrato en ausencia y en presencia de inhibidor 2 mM (I). ✓ 6

	Velocidad (μmoles minuto^{-1})	
[S] (μM)	Sin inhibidor	Con inhibidor
3	10,4	4,1
5	14,5	6,4
10	22,5	11,3
30	33,8	22,6
90	40,5	33,8

(a) ¿Cuáles son los valores de $V_{máx}$ y K_M en ausencia de inhibidor? ¿Y en su presencia?
(b) ¿De qué tipo de inhibición se trata?

7. *Un modo distinto.* Se mide la cinética de la enzima del problema 6 en presencia de un inhibidor distinto. La concentración de este inhibidor es 100 μM. ✓ 6

	Velocidad (μmoles minuto^{-1})	
[S] (μM)	Sin inhibidor	Con inhibidor
3	10,4	2,1
5	14,5	2,9
10	22,5	4,5
30	33,8	6,8
90	40,5	8,1

(a) ¿Cuáles son los valores de $V_{máx}$ y K_M en presencia de este inhibidor? Compárelos con los obtenidos en el problema 6.
(b) ¿De qué tipo de inhibición se trata?

8. *Inhibición informativa.* ¿Cuáles son los cuatro tipos principales de inhibidores irreversibles que se pueden utilizar para estudiar la función de las enzimas? ✓ 6

9. *Autopreservación.* Algunas bacterias producen la enzima β-lactamasa, que rompe y abre los anillos lactámicos. ¿Cómo afectaría la presencia de β-lactamasa a la sensibilidad de las bacterias hacia la penicilina? ✓ 6

10. *Uno para todos y todos para uno.* ¿Qué es la tríada catalítica y cuál es la función de cada uno de sus componentes en la actividad de la quimotripsina?

11. *¿Una madriguera para los oxianiones?* ¿Cuál es el propósito de la cavidad del oxianión en la quimotripsina?

12. *Estallido.* Cuando se estudió la actividad de la quimotripsina pocos milisegundos después de mezclar la enzima con el sustrato, ¿qué es lo que motivó el "estallido" de actividad seguido de una reacción en condiciones de estado estacionario?

13. *Diga no al canibalismo.* Si la quimotripsina es una proteasa tan efectiva, ¿por qué no se digiere a sí misma?

Problemas para atrevidos

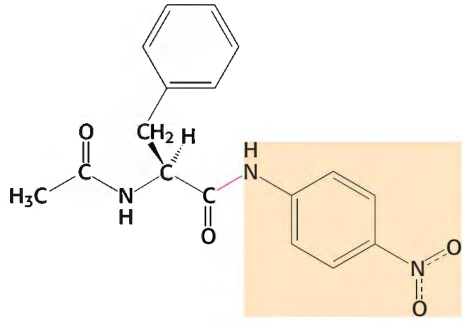
14. *Experimento de titulación.* Se estudió el efecto del pH sobre la actividad de una enzima. En su centro activo, la enzima posee un grupo ionizable que tiene que estar cargado negativamente para que el sustrato se una y tenga lugar la catálisis. El grupo ionizable tiene un pK_a de 6,0. El sustrato está cargado positivamente en todo el intervalo de pH del experimento. ✓ 6

$$E^- + S^+ \rightleftharpoons E^-S^+ \longrightarrow E^- + P^+$$
$$+$$
$$H^+$$
$$\Updownarrow$$
$$EH$$

(a) Represente la curva V_0 frente a pH cuando la concentración de sustrato es mucho mayor que la K_M de la enzima.
(b) Represente la curva V_0 frente a pH cuando la concentración de sustrato es mucho menor que la K_M de la enzima.
(c) ¿A qué pH será la velocidad igual a la mitad de la velocidad máxima que se puede obtener en estas condiciones?

15. *Mutante.* Pronostique el efecto de mutar el ácido aspártico del centro activo de la quimotripsina en asparagina.

16. *Sin estallido.* Al estudiar la ruptura del sustrato *amida*, A, por parte de la quimotripsina no se observó el estallido inicial de actividad. La reacción se monitoriza gracias al color producido por la liberación del componente amino del sustrato (resaltado en color naranja). ¿Por qué no se observa el estallido de actividad?



A

17. *Variaciones sobre un mismo tema.* Recordemos que la TPCK, un marcador de afinidad, inactiva la quimotripsina uniéndose covalentemente a la histidina 57. La tripsina es una proteasa muy similar a la quimotripsina salvo por el hecho de que hidroliza enlaces peptídicos por el lado carboxilo de la lisina o de la arginina. ✓ 6
(a) Cite un compuesto que actúe como marcador de afinidad para la tripsina.
(b) ¿Cómo se podría comprobar la especificidad del marcador?

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 9

La hemoglobina, una proteína alostérica

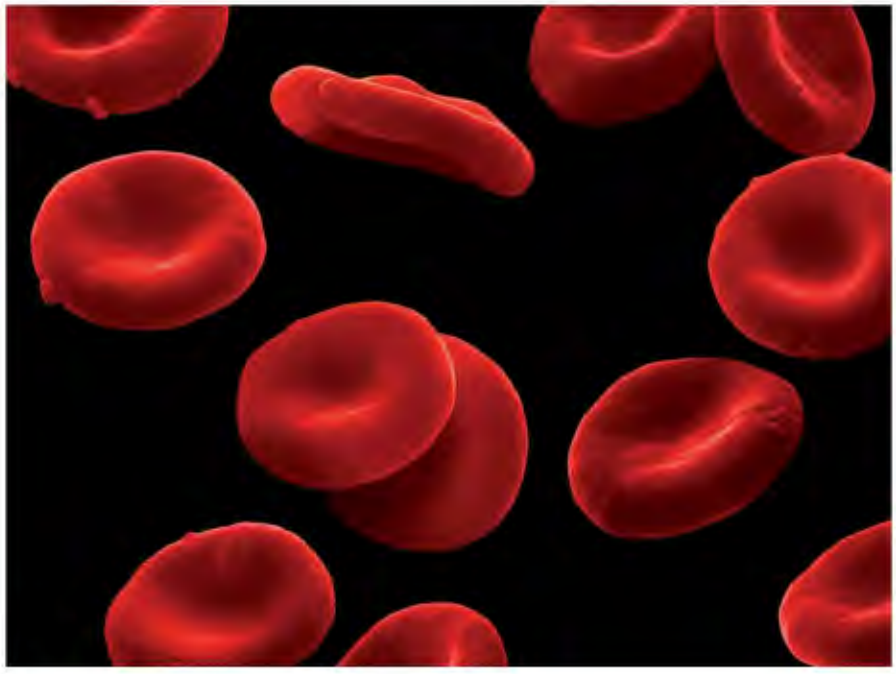
9.1 La hemoglobina muestra un comportamiento cooperativo

9.2 La mioglobina y la hemoglobina se unen al oxígeno por los grupos hemo

9.3 La hemoglobina se une al oxígeno de forma cooperativa

9.4 Un regulador alostérico determina la afinidad de la hemoglobina hacia el oxígeno

9.5 Los iones hidrógeno y el dióxido de carbono promueven la liberación del oxígeno



En el torrente sanguíneo, los glóbulos rojos transportan oxígeno desde los pulmones a los tejidos, donde se necesita oxígeno. La hemoglobina, una proteína formada por cuatro subunidades que contienen un pigmento llamado hemo que se une al oxígeno y que confiere a la sangre su color, transporta oxígeno y lo libera allí donde se necesite. [©Andrew Syred/Stone/Getty Images.]

Uno de los componentes de los glóbulos rojos de la sangre es una proteína fascinante, denominada *hemoglobina*. Esta proteína transporta eficazmente el oxígeno desde los pulmones a los tejidos y contribuye al transporte del dióxido de carbono y de los iones hidrógeno hacia los pulmones.

La hemoglobina es un maravilloso ejemplo del hecho de que el alosterismo no es una propiedad exclusiva de las enzimas. Los principios básicos del alosterismo se reflejan muy bien en el caso de la hemoglobina. De hecho, muchos de los principios de la regulación alostérica se descubrieron gracias al estudio de la hemoglobina, la primera proteína alostérica que se llegó a conocer a nivel atómico. El estudio de las enzimas alostéricas y el de la hemoglobina están tan entrelazados que el bioquímico francés Jacques Monod elevó la hemoglobina a la categoría de "enzima honoraria".

En este capítulo, estudiaremos las propiedades alostéricas de la hemoglobina, incluyendo cómo se regula la capacidad de esta proteína para transportar oxígeno para adecuarse a las necesidades fisiológicas de un organismo. También echaremos un vistazo a un pariente químico cercano de la hemoglobina, la proteína mioglobina. Localizada en el músculo, la *mioglobina* puede facilitar la difusión del oxígeno hacia los lugares de la célula que necesitan oxígeno y proporcionar un suministro de reserva de oxígeno en casos de necesidad, aunque el papel exacto de la mioglobina no está claro.

✓ 7 Explicar cómo contribuyen las propiedades alostéricas a la función de la hemoglobina.

La presión parcial es la fracción de la presión total de una mezcla de gases que corresponde a uno de los componentes de la mezcla, en este caso, al oxígeno. Por ejemplo, 1 atmósfera de presión = 760 torr, o la presión de una columna de mercurio de 760 mm de altura. El aire contiene un 21% de oxígeno si está seco y a nivel del mar y, por tanto, la presión parcial del oxígeno es de 159 torr. En los alveolos de los pulmones, la presión parcial del oxígeno es de 100 torr debido a la presencia de vapor de agua y al intercambio de gases que tiene lugar.

9.1 La hemoglobina muestra un comportamiento cooperativo

La unión del oxígeno a la hemoglobina aislada a partir de glóbulos rojos muestra un comportamiento marcadamente sigmoidal, característico de la cooperatividad entre las subunidades, mientras que la mioglobina muestra una curva hiperbólica (**Figura 9.1**). De hecho, la relevancia fisiológica del *efecto cooperativo* en las proteínas alostéricas resulta particularmente evidente en la acción de la hemoglobina. El oxígeno tiene que ser transportado en la sangre desde los pulmones, donde la *presión parcial* de oxígeno (pO_2) es elevada (aproximadamente 100 torr), hasta los tejidos, donde la presión parcial de oxígeno es mucho menor (normalmente, de unos 20 torr).

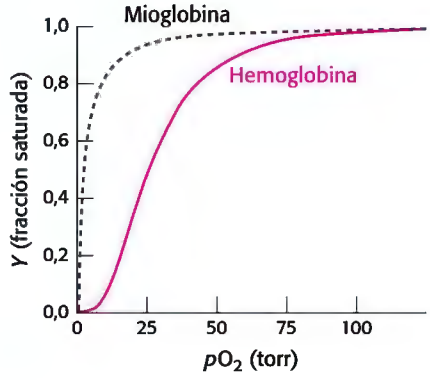


Figura 9.1 Unión del oxígeno a la hemoglobina. Esta curva, obtenida para la hemoglobina de los glóbulos rojos, se parece en cierta forma a la letra "S", lo que indica que en cada molécula de hemoglobina hay varios lugares de unión al oxígeno pero que interaccionan entre sí. A modo de comparación se muestra en color negro la curva de unión de la mioglobina.

Consideremos cómo el comportamiento cooperativo descrito se traduce en un transporte de oxígeno eficiente. En los pulmones, la hemoglobina se satura casi por completo de oxígeno, de tal forma que el 98% de los lugares de unión al oxígeno se encuentran ocupados. Cuando la hemoglobina se desplaza hacia los tejidos, el nivel de saturación desciende hasta el 32%. Por tanto, un total de 98 − 32 = 62% de los posibles lugares de unión liberan su oxígeno en los tejidos. Si la mioglobina, con su gran afinidad hacia el oxígeno, fuese una proteína transportadora de oxígeno liberaría en estas condiciones tan solo el 7% de su oxígeno (**Figura 9.2**). ¿Por qué libera la hemoglobina solo una parte del oxígeno que transporta? Como se podrá suponer a raíz de lo que se comentó anteriormente sobre las enzimas alostéricas, los reguladores alostéricos liberados por los tejidos pueden incrementar aún más la liberación de oxígeno. Estudiaremos estos reguladores más adelante en este mismo capítulo.

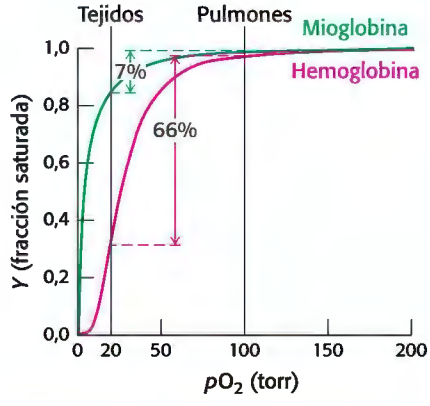
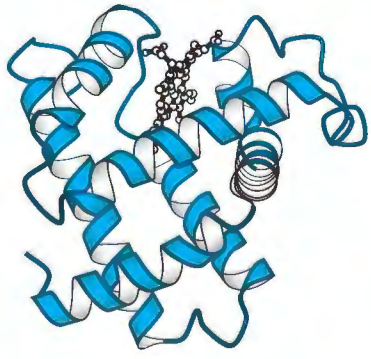


Figura 9.2 La cooperatividad aumenta la liberación de oxígeno por parte de la hemoglobina. Gracias a la cooperatividad entre los lugares de unión al O_2, la hemoglobina libera más O_2 a los tejidos del que liberaría la mioglobina.



Mioglobina

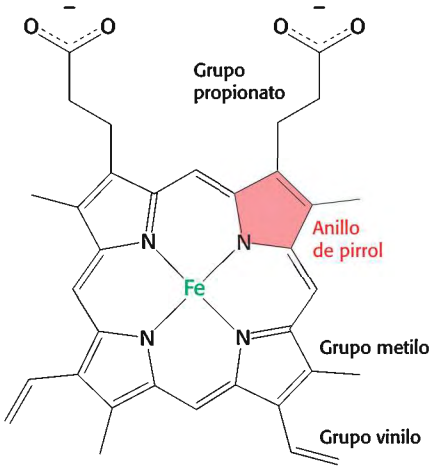
Figura 9.3 Estructura de la mioglobina. *Observe* que la mioglobina consta de una única cadena polipeptídica, formada por hélices conectadas mediante giros, con un lugar de unión al oxígeno. [Elaborada a partir de 1MBD.pdb.]

9.2 La mioglobina y la hemoglobina se unen al oxígeno por los grupos hemo

La mioglobina, una única cadena polipeptídica, está formada mayoritariamente por hélices α que están conectadas entre sí mediante giros para formar una estructura globular (**Figura 9.3**). Esta estructura recurrente, que también está presente en la hemoglobina, se denomina *plegamiento de las globinas*.

La mioglobina puede presentarse en dos formas: como *desoximioglobina*, una forma que no contiene oxígeno, o como *oximioglobina*, una forma que está unida

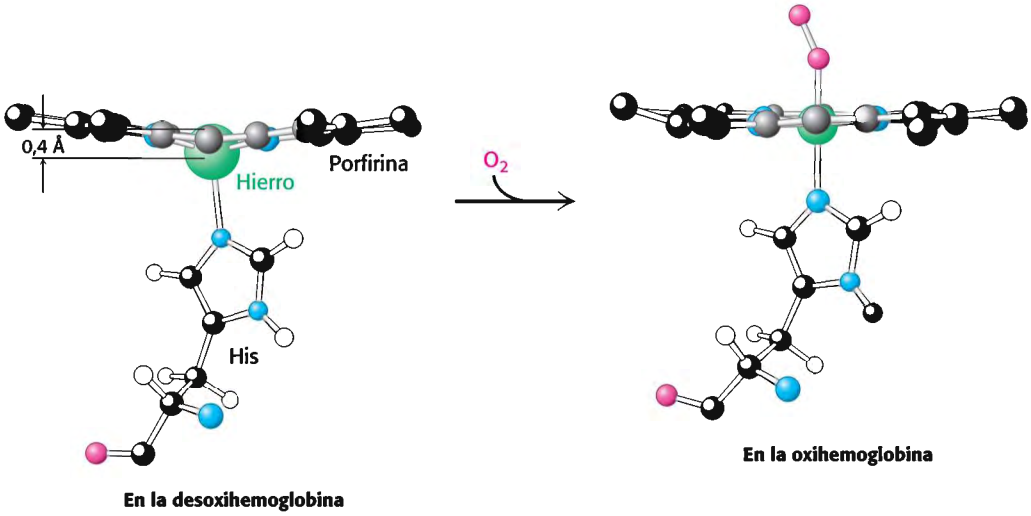
a una molécula de oxígeno. La capacidad de la mioglobina, al igual que la de la hemoglobina, para unirse al oxígeno depende de la presencia de un grupo prostético unido, el denominado *grupo hemo*.



Hemo
(Fe-Protoporfirina IX)

El grupo hemo es el que confiere al músculo y a la sangre su color rojo característico. Está formado por un componente orgánico y por un átomo central de hierro. El componente orgánico, denominado *protoporfirina*, consta de cuatro anillos de pirrol conectados mediante puentes de metino para formar un anillo tetrapirrólico. A este anillo se le unen cuatro grupos metilo, dos grupos vinilo y dos cadenas laterales de propionato.

El átomo de hierro está situado en el centro de la protoporfirina, unido a cuatro átomos de nitrógeno pirrólicos. En condiciones normales, el hierro está en el estado de oxidación ferroso (Fe^{2+}). El ion de hierro puede formar dos enlaces más, uno a cada lado del plano del hemo. Estos lugares de unión se denominan lugares de coordinación quinto y sexto. En la hemoglobina y en la mioglobina, el quinto lugar de coordinación está ocupado por el anillo de imidazol de un residuo de histidina de la proteína. Este residuo de histidina se denomina *histidina proximal*. En la desoxihemoglobina y en la desoximioglobina, el sexto lugar de coordinación permanece desocupado; esta posición está disponible para la unión del oxígeno. El ion de hierro sobresale aproximadamente 0,4 Å del plano de la porfirina porque un ion de hierro, en esta forma, es demasiado grande como para encajar en el hueco perfectamente bien delimitado del interior del anillo de porfirina (Figura 9.4, izquierda). Una segunda histidina, denominada *histidina distal*, está situada en el lado opuesto del hemo, frente a la histidina proximal. La histidina distal evita la oxidación del hierro del hemo a hierro férrico (Fe^{3+}), que no se puede unir al oxígeno, y también reduce la capacidad del monóxido de carbono para unirse al hemo (ver el problema 21).



En la desoxihemoglobina **En la oxihemoglobina**

Figura 9.4 La unión del oxígeno cambia la posición del átomo de hierro. En el hemo de la desoxihemoglobina, el ion hierro sobresale ligeramente del plano de la porfirina (a la izquierda), pero al oxigenarse se mueve hacia el plano del hemo (a la derecha).

La unión de la molécula de oxígeno al sexto lugar de coordinación del ion hierro reorganiza sustancialmente los electrones del hierro de modo que el hierro se vuelve, de hecho, más pequeño, lo que le permite moverse hacia el interior del plano de la porfirina (Figura 9.4, derecha). El oxígeno unido se estabiliza mediante la formación de un puente de hidrógeno con la histidina distal.

Aspecto clínico

La obtención de imágenes por resonancia magnética funcional pone de manifiesto las regiones del cerebro que procesan la información sensorial

El cambio en la estructura electrónica que se produce cuando el ion hierro se mueve hacia el plano de la porfirina está acompañado de cambios en las propiedades magnéticas de la hemoglobina; estos cambios son la base de la *obtención de imágenes por resonancia magnética funcional* (fMRI, *functional magnetic resonance imaging*), uno de los métodos más potentes para estudiar la función del cerebro. Las técnicas de resonancia magnética nuclear detectan señales que se originan fundamentalmente a partir de los protones de las moléculas de agua, pero que se ven alteradas por las propiedades magnéticas de la hemoglobina. Utilizando las técnicas adecuadas, se pueden generar imágenes que pongan de manifiesto las diferencias en la cantidad relativa de desoxi- y de oxihemoglobina y, por lo tanto, la actividad relativa de diversas partes del cerebro. Cuando una región específica del cerebro está activa, los vasos sanguíneos se relajan para permitir un mayor flujo de sangre hacia la zona activa. Así, en las regiones del cerebro más activas habrá más oxihemoglobina.

Estos métodos no invasivos permiten identificar zonas del cerebro que procesan la información sensorial. Por ejemplo, se han obtenido imágenes de sujetos que respiraban aire que tenía o que no tenía sustancias olorosas. En presencia de sustancias olorosas, la técnica de fMRI detecta un incremento del nivel de oxigenación de la hemoglobina (y, por tanto, de la actividad cerebral) en varias regiones del cerebro (**Figura 9.5**). Estas regiones incluyen aquellas situadas en la corteza olfatoria primaria así como otras regiones en las que, presumiblemente, se lleva a cabo el procesamiento secundario de las señales olfatorias. Análisis más minuciosos revelan cómo se produce, paso a paso, la activación de algunas regiones en particular, así como otras características. La fMRI tiene un potencial tremendo para trazar el mapa de regiones y rutas implicadas en el procesamiento de la información sensorial obtenida por todos los sentidos. Por tanto, *un aspecto aparentemente anecdótico de la bioquímica de la hemoglobina constituye la base para observar el funcionamiento del cerebro.* ■

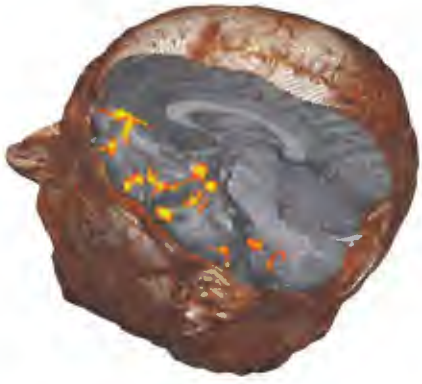


Figura 9.5 Respuesta del cerebro a las sustancias olorosas. Una imagen obtenida mediante resonancia magnética funcional pone de manifiesto la respuesta del cerebro a las sustancias olorosas. Los puntos luminosos indican las regiones del cerebro activadas por las sustancias olorosas. [Tomado de N. Sobel y col., *J. Neurophysiol.* 83(2000): 537–551; cortesía del Dr. Noam Sobel.]

9.3 La hemoglobina se une al oxígeno de forma cooperativa

Al igual que las proteínas alostéricas, la hemoglobina posee estructura cuaternaria. La hemoglobina A humana, presente en los adultos, consta de cuatro subunidades: dos *subunidades* α y dos *subunidades* β. Las subunidades α y β tienen estructuras tridimensionales parecidas y, a su vez, son similares a la de la mioglobina. La me-

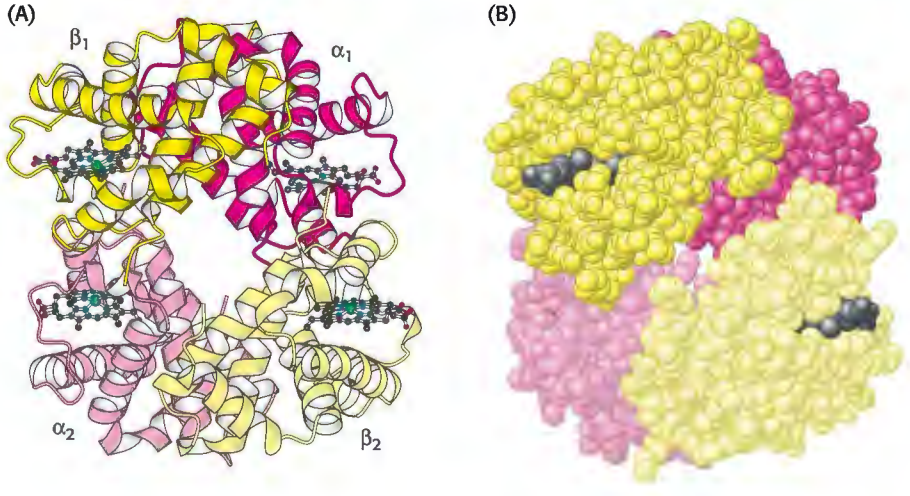


Figura 9.6 Estructura cuaternaria de la hemoglobina. La hemoglobina, que está formada por dos cadenas α y dos cadenas β, funciona como una pareja de dímeros $\alpha\beta$. (A) Diagrama de cintas. (B) Modelo espacial compacto. [Elaborada a partir de 1A3N.pdb.]

jor manera de describir la estructura tridimensional de la hemoglobina (**Figura 9.6**) es como una pareja de *dímeros* $\alpha\beta$ idénticos ($\alpha_1\beta_1$ y $\alpha_2\beta_2$) que se asocian para formar el tetrámero de la hemoglobina. En la desoxihemoglobina, estos dímeros $\alpha\beta$ están conectados mediante una amplia interfaz que incluye, entre otras regiones, el extremo carboxilo de cada cadena. La desoxihemoglobina corresponde al estado T de la hemoglobina, mientras que la oxihemoglobina corresponde al estado R. Recordemos que en el Capítulo 7, al hablar de las enzimas alostéricas, se comentó que el estado T es bioquímicamente menos activo que el estado R. En lo que se refiere a la hemoglobina, el estado T posee una menor afinidad hacia el oxígeno que el estado R.

¿Cómo induce la unión del oxígeno la transición estructural del estado T al estado R? Cuando el ion hierro se mueve hacia el plano de la porfirina, el residuo de histidina unido al quinto lugar de coordinación se mueve con él. Este residuo de histidina forma parte de una hélice α, que también se mueve (**Figura 9.7**). El extremo carboxilo de esta hélice α está situado en la interfaz entre los dos dímeros $\alpha\beta$. En consecuencia, la transición estructural del ion hierro se transmite directamente a las otras subunidades, dando lugar a cambios sustanciales en la estructura cuaternaria que se corresponden con la transición de T a R (**Figura 9.8**). Los dímeros $\alpha_1\beta_1$ y $\alpha_2\beta_2$ rotan unos 15° el uno con respecto al otro. El reordenamiento de la interfaz que conecta los dímeros proporciona una ruta de comunicación entre las subunidades: la presencia de oxígeno en una de las subunidades es comunicada de forma inmediata al resto, de modo que las subunidades cambian de T a R de forma conjunta.

Recordemos que se consideraron dos modelos para la unión cooperativa (pp. 114-117). ¿Cómo se describe mejor la unión cooperativa del oxígeno a la hemoglobina, mediante un modelo concertado o mediante un modelo secuencial? Ningún modelo en su concepción pura explica por completo el comportamiento de la hemoglobina. Se necesita, más bien, un modelo combinado. El comportamiento de la hemoglobina es concertado por el hecho de que la hemoglobina con tres sitios ocupados por el oxígeno adopta casi siempre una estructura cuaternaria asociada con el estado R. El lugar de unión que queda abierto posee una afinidad hacia el oxígeno 20 veces mayor, o más, que la que tiene la hemoglobina totalmente desoxigenada cuando se va a unir al primer átomo de oxígeno. Sin embargo, el comportamiento no es del todo concertado porque la hemoglobina con el oxígeno unido a tan solo uno de los cuatro sitios permanece mayoritariamente en el estado T de la estructura cuaternaria. Sin embargo, esta molécula se une al oxígeno tres veces más intensamente que la hemoglobina totalmente desoxigenada, una observación que solo es consistente con un modelo secuencial. Estos resultados resaltan el hecho de que los modelos concertado y secuencial representan casos idealizados a los que los sistemas reales pueden aproximarse pero que raramente asumen.

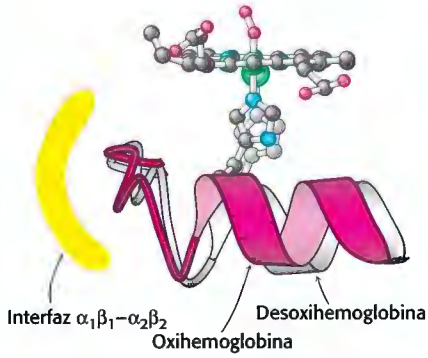


Figura 9.7 Cambios conformacionales en la hemoglobina. Durante la oxigenación, el movimiento del ion hierro acerca la histidina que está asociada al hierro hacia el anillo de porfirina. El correspondiente movimiento de la hélice α donde está ubicada esa histidina altera la interfaz entre los dímeros $\alpha\beta$, lo que, a su vez, provoca otros cambios estructurales. Para poder compararlas, la estructura de la desoxihemoglobina se muestra de color gris, por detrás de la estructura de la oxihemoglobina, en color.

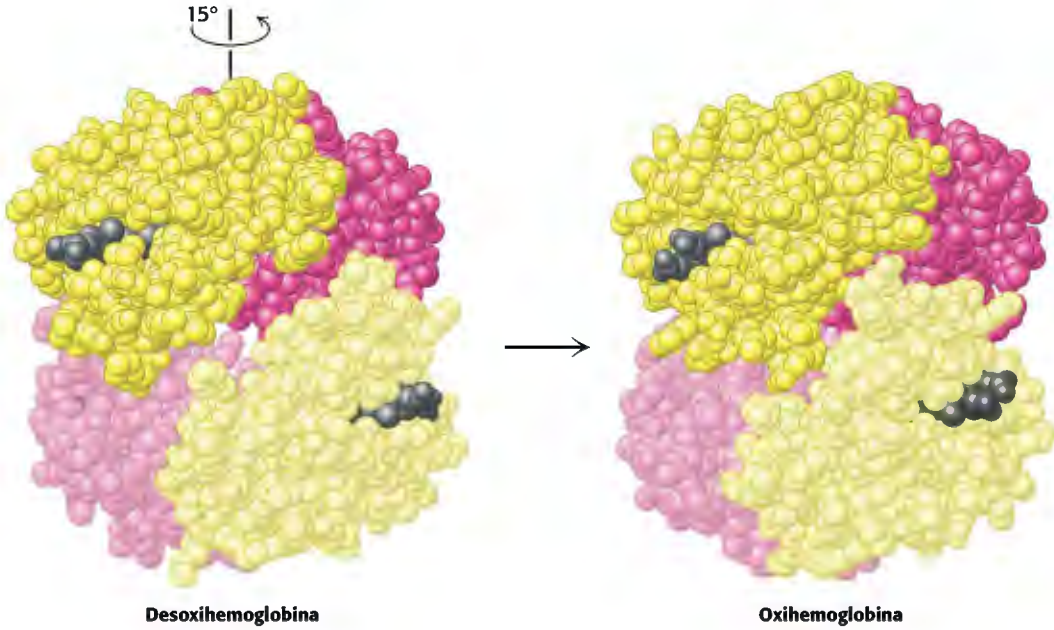
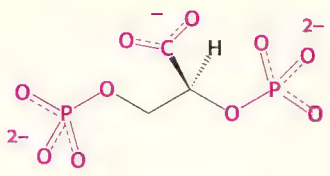


Figura 9.8 Cambios de la estructura cuaternaria durante la unión del oxígeno a la hemoglobina. *Observe* que, durante la oxigenación, un dímero $\alpha\beta$ experimenta una rotación de 15° con respecto al otro. [Elaborada a partir de1A3N.pdb y 1LFQ.pdb.]

✓ 8 Identificar los reguladores clave de la función de la hemoglobina.



2,3-Bisfosfoglicerato (2,3-BPG)

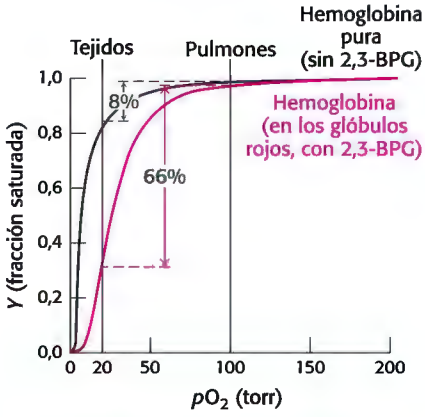


Figura 9.9 Comparación entre la unión del oxígeno a la hemoglobina pura y a la hemoglobina en los glóbulos rojos.
La hemoglobina pura se une al oxígeno con más fuerza que la hemoglobina de los glóbulos rojos. Esta diferencia se debe a la presencia de 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG) en los glóbulos rojos.

9.4 Un regulador alostérico determina la afinidad de la hemoglobina hacia el oxígeno

La unión del oxígeno a la hemoglobina es análoga a la unión del sustrato a una enzima alostérica. ¿También se ve afectada la capacidad de la hemoglobina para unirse al oxígeno por moléculas reguladoras? Se puede encontrar la respuesta comparando el comportamiento de la hemoglobina dentro y fuera de la célula. Es posible extraer la hemoglobina de los glóbulos rojos y purificarla por completo. Curiosamente, la afinidad del oxígeno hacia la hemoglobina purificada es mucho mayor que la afinidad de la hemoglobina en el interior de los glóbulos rojos. La afinidad es tan grande que solo el 8% del oxígeno se liberaría a los tejidos si la hemoglobina de la célula se comportase como la hemoglobina purificada, una cantidad insuficiente para sustentar los tejidos aerobios. ¿Qué es lo que explica la diferencia entre la hemoglobina purificada y la hemoglobina en le interior de los glóbulos rojos? Esta espectacular diferencia se debe a la presencia, en el interior de estas células, de una molécula que actúa como regulador alostérico —el *2,3-bisfosfoglicerato* (2,3-BPG; también conocido como 2,3-difosfoglicerato o 2,3-DPG). Este compuesto altamente aniónico está presente en los glóbulos rojos aproximadamente a la misma concentración que la hemoglobina (≈2 mM). El 2,3-BPG se une a la hemoglobina, reduciendo su afinidad hacia el oxígeno de modo que se libera el 66% del oxígeno en lugar de un exiguo 8% (**Figura 9.9**).

¿Cómo afecta el 2,3-BPG a la afinidad hacia el oxígeno de forma tan significativa? El estudio de la estructura cristalina de la desoxihemoglobina en presencia de 2,3-BPG pone de manifiesto que una única molécula de 2,3-BPG se une a un bolsillo, presente tan solo en la forma T, situado en el centro del tetrámero de hemoglobina. La interacción está favorecida por enlaces iónicos entre las cargas negativas del 2,3-BPG y tres grupos cargados positivamente de cada cadena β (**Figura 9.10**). Así, el 2,3-BPG se une preferentemente a la desoxihemoglobina y la estabiliza, reduciendo en la práctica la afinidad hacia el oxígeno y provocando la liberación del oxígeno. Para que se produzca la transición estructural de T a R, los enlaces entre la hemoglobina y el 2,3-BPG tienen que romperse y el 2,3-BPG tiene que ser expulsado.

Aspecto clínico

La afinidad de la hemoglobina hacia el oxígeno se ajusta para adaptarse a las necesidades del entorno

Consideremos otro ejemplo fisiológico de la importancia de la unión del 2,3-BPG a la hemoglobina. Como un feto no obtiene el oxígeno del aire sino de la hemoglobina de la madre, la *hemoglobina fetal* se tiene que unir al oxígeno cuando lo libera la hemo-

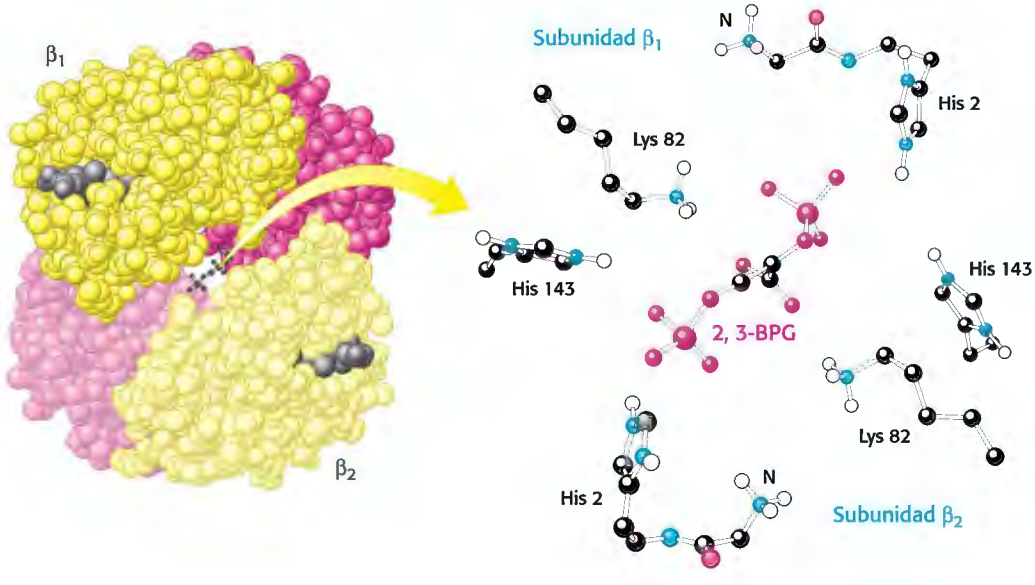


Figura 9.10 Unión del 2,3-BPG a la desoxihemoglobina humana.
El 2,3-bisfosfoglicerato se une a la cavidad central de la desoxihemoglobina (izquierda). Allí, interacciona con tres grupos cargados positivamente de cada cadena β (derecha).
[Elaborada a partir de 1B86.pdb.]

globina de la madre. Para que el feto obtenga oxígeno suficiente para sobrevivir en un ambiente con poco oxígeno, su hemoglobina debe tener una elevada afinidad hacia el oxígeno. ¿Cómo se incrementa la afinidad de la hemoglobina fetal hacia el oxígeno?

El gen de la globina que expresan los fetos difiere del expresado por los seres humanos adultos; los tetrámeros de hemoglobina fetal incluyen dos cadenas α y dos cadenas γ. El 72% de la secuencia de aminoácidos de la cadena γ es idéntico al de la cadena β. Un cambio digno de mención es la sustitución de la histidina 143 situada en el lugar de unión al 2,3-BPG, que en la cadena γ ha sido reemplazada por un residuo de serina. Este cambio elimina dos cargas positivas (una por cada cadena) del lugar de unión al 2,3-BPG y reduce la afinidad del 2,3-BPG por la hemoglobina fetal. La reducción en la afinidad hacia el 2,3-BPG significa que la afinidad de la hemoglobina fetal para unirse al oxígeno es mayor que la de la hemoglobina adulta de la madre (**Figura 9.11**). Esta diferencia en la afinidad hacia el oxígeno permite que el oxígeno se transfiera eficientemente desde los glóbulos rojos de la madre a los del feto. ■

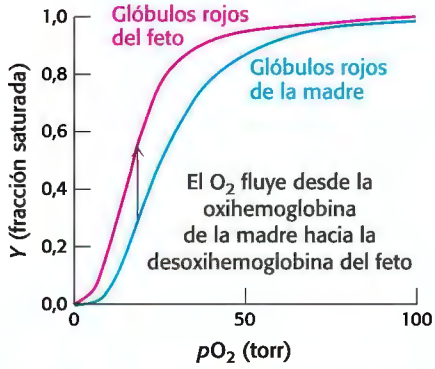


Figura 9.11 Afinidad de los glóbulos rojos fetales hacia el oxígeno. La afinidad de los glóbulos rojos fetales hacia el oxígeno es mayor que la de los glóbulos rojos de la madre porque la hemoglobina fetal no se une al 2,3-BPG tan bien como lo hace la hemoglobina materna.

Aspecto biológico

Las adaptaciones de la hemoglobina permiten el transporte de oxígeno en ambientes extremos

El ganso indio (*Anser indicus*) (**Figura 9.12**) constituye otro ejemplo de las adaptaciones de la hemoglobina. Esta extraordinaria ave migra por encima del Everest a altitudes que superan los 9 km, donde la presión parcial del oxígeno es el 30% de la presión a nivel del mar. A modo de comparación, considere que los seres humanos que suben al Everest deben aclimatarse durante semanas a la menor pO_2 y, aún así, lo normal es que necesiten máscaras de oxígeno para subir. Aunque la base bioquímica de la increíble proeza fisiológica de esta ave no se ha establecido claramente, los cambios en la hemoglobina pueden ser importantes. Comparados con sus primos que vuelan a menor altura, la hemoglobina del ganso indio presenta cuatro cambios en su secuencia de aminoácidos, tres en la cadena α y uno en la cadena β. Uno de los cambios en la cadena α consiste en la presencia de una alanina en vez de una prolina, lo que deshace un contacto de van der Waals y facilita la formación del estado R, permitiendo así a la proteína unirse más fácilmente al oxígeno. ■



Figura 9.12 Ganso indio (*Anser indicus*). [Tierbild Okapia/Photo Researchers.]

Aspecto clínico

La anemia falciforme es una enfermedad causada por una mutación en la hemoglobina

En 1904, James Herrick, un médico de Chicago, examinó a un estudiante de estomatología negro de 20 años que había sido ingresado en el hospital con fiebre y tos. El paciente se sentía débil y mareado y le dolía la cabeza. Durante aproximadamente un año había tenido palpitaciones y dificultad para respirar. En el examen médico, el paciente parecía normal salvo por el hecho de que su corazón estaba sensiblemente agrandado y tenía una anemia considerable.

El frotis sanguíneo del paciente contenía unos glóbulos rojos atípicos, que Herrick describió como "con forma de hoz" (**Figura 9.13**). Poco después de la publicación de la descripción de Herrick se descubrieron otros casos de esta enfermedad, denominada *anemia falciforme*. De hecho, la anemia falciforme no es una enfermedad rara, ya que su incidencia entre los negros es de alrededor de un 4 por 1.000. En el pasado, solía ser una enfermedad mortal, a menudo antes de los 30 años, como resultado de infecciones, fallo renal, fallo cardiaco o trombosis.

La anemia falciforme se transmite genéticamente. Los pacientes con anemia falciforme poseen dos copias del gen anormal (son *homocigóticos*). La descendencia que recibe un alelo anormal de uno de los padres y un alelo normal del otro tienen el *rasgo falciforme*. Normalmente, estas personas *heterocigóticas* no presentan los síntomas. Solo el 1% de los glóbulos rojos de la circulación venosa de un heterocigoto son falciformes, a diferencia del 50% en el caso de un homocigoto.



Figura 9.13 Glóbulo rojo falciforme. Micrografía que muestra un glóbulo rojo falciforme junto a glóbulos rojos con la forma normal. [Eye of Science/Photo Researchers.]



Figura 9.14 Fibras de hemoglobina en células falciformes. Micrografía electrónica que muestra un glóbulo rojo falciforme roto del que emergen fibras de hemoglobina falciforme. [Cortesía del Dr. Robert Josephs y del Dr. Thomas E. Wellems, Universidad de Chicago.]

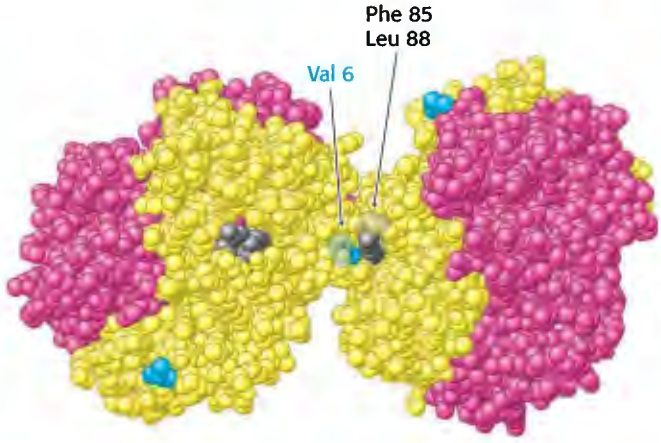


Figura 9.15 Hemoglobina S desoxigenada. La interacción entre la valina 6 (en azul) de una cadena β de una molécula de hemoglobina y una pequeña región hidrofóbica formada por la fenilalanina 85 y la leucina 88 (en gris) de una cadena β de otra molécula de hemoglobina desoxigenada provoca la agregación de la hemoglobina. En las fibras de Hb-S, los residuos de valina 6 expuestos de otras cadenas β participan en otras interacciones de este mismo tipo. [Elaborada a partir de 2HBS.pdb.]

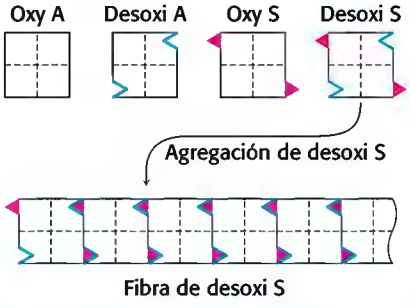


Figura 9.16 Formación de agregados de hemoglobina. El triángulo rojo representa la pequeña región hidrofóbica que provoca la adhesión de las moléculas y que está presente tanto en la oxihemoglobina S como en la desoxihemoglobina S, pero que no aparece en ninguna de las dos formas de la hemoglobina A. El lugar complementario se representa mediante una hendidura que puede acomodar al triángulo.

El estudio del contenido de los glóbulos rojos falciformes revela que las moléculas de hemoglobina se han unido entre sí para formar largos agregados fibrosos que se extienden por toda la célula, deformando los eritrocitos y confiriéndoles su forma de hoz (**Figura 9.14**). La hemoglobina falciforme, denominada *hemoglobina S* (Hb S) para distinguirla de la hemoglobina A normal de los adultos (Hb A), se diferencia de la Hb A por la sustitución de un único aminoácido: en la posición 6 de las cadenas β de la Hb S hay valina en lugar de glutamato. Esta mutación coloca la valina no polar en la superficie de la hemoglobina S. *Esta alteración reduce notablemente la solubilidad de la forma desoxigenada de la hemoglobina, aunque no la de la forma oxigenada.* La cadena lateral expuesta de la valina de la hemoglobina S interacciona con una pequeña región hidrofóbica complementaria de otra molécula de hemoglobina (**Figura 9.15**). El lugar complementario, formado por la fenilalanina β85 y la leucina β88 está expuesto en la hemoglobina desoxigenada aunque no en la hemoglobina oxigenada. Por tanto, *el aspecto falciforme surge cuando hay una elevada concentración de la forma desoxigenada de la hemoglobina S* (**Figura 9.16**). La afinidad hacia el oxígeno y las propiedades alostéricas de la hemoglobina apenas resultan afectadas por la mutación, pero se forman grandes agregados de hemoglobina que, en última instancia deforman la célula.

Se establece un círculo vicioso cuando el aspecto falciforme se genera en un pequeño vaso sanguíneo. El bloqueo del vaso crea una región local con baja concentración de oxígeno. Por tanto, más hemoglobina cambia a la forma desoxi y, así, se forman más células falciformes. Los glóbulos rojos falciformes quedan atrapados en los pequeños vasos sanguíneos, lo que dificulta la circulación y provoca daños en multitud de órganos. Las células falciformes, que son más frágiles que los glóbulos rojos normales, se rompen (se hemolizan) fácilmente, produciendo una anemia grave. Por desgracia, sigue sin descubrirse un tratamiento eficaz para la anemia falciforme. Hay que señalar que la anemia falciforme es otro ejemplo de un estado patológico provocado por una agregación proteica inapropiada (p. 61).

Aproximadamente, uno de cada 100 habitantes del África Occidental padece anemia falciforme. A la vista de las a menudo devastadoras consecuencias de la enfermedad, ¿por qué es tan frecuente esta mutación de la Hb S en África y en algunas otras regiones? Recordemos que las personas con anemia falciforme tienen mutadas las dos copias del gen de la Hb A. Sin embargo, si solo uno de los alelos está mutado, el resultado es el rasgo falciforme. Las personas con el rasgo falciforme son resistentes a la *malaria*, una enfermedad transmitida por un parásito, *Plasmodium falciparum*, que vive en el interior de los glóbulos rojos durante una de las etapas de su ciclo vital. Como la malaria es una enfermedad tan debilitante, las personas con el rasgo falciforme sobreviven más tiempo y tienen más hijos, lo que aumenta la prevalencia del alelo Hb S en aquellas regiones donde la malaria es endémica. ■



Una madre lleva a su hijo a que le hagan el test de la anemia falciforme en un centro médico de Bamako, Mali. [ACELLY/SIPA/Newscom.]

9.5 Los iones hidrógeno y el dióxido de carbono promueven la liberación del oxígeno

El 2,3-bisfosfoglicerato no es el único regulador alostérico de la actividad de la hemoglobina. De hecho, los tejidos metabólicamente activos —aquellos que más oxígeno necesitan, como el músculo— liberan moléculas señal que reducen aún más la afinidad de la hemoglobina hacia el oxígeno. Las moléculas señal son el ion hidrógeno y el dióxido de carbono, efectores heterotrópicos que incrementan la liberación de oxígeno (Figura 9.17). La regulación de la unión del oxígeno por parte de los iones hidrógeno y del dióxido de carbono se denomina *efecto Bohr*, en honor a Christian Bohr, que describió este fenómeno en 1904.

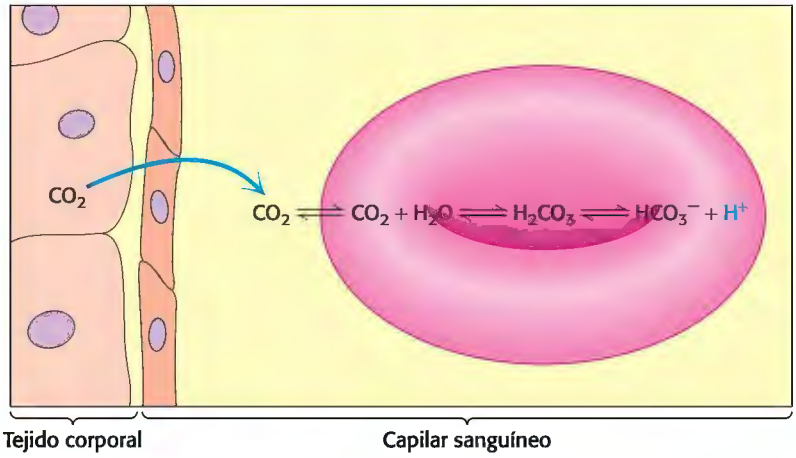


Figura 9.17 El dióxido de carbono y el pH. El dióxido de carbono de los tejidos difunde hacia los glóbulos rojos. En el interior de un glóbulo rojo, el dióxido de carbono reacciona con el agua para formar ácido carbónico, en una reacción catalizada por la enzima anhidrasa carbónica. El ácido carbónico se disocia formando HCO_3^- y H^+, lo que da lugar a un descenso del pH en el interior del eritrocito.

La afinidad de la hemoglobina por el oxígeno disminuye a medida que el pH desciende desde 7,4, el valor del pH en los pulmones, donde la presión parcial de oxígeno es de 100 torrs (Figura 9.18), a pH 7,2, el valor del pH en el músculo activo, donde la presión parcial de oxígeno es de 20 torrs. Esta diferencia en el pH y en la presión parcial se traduce en una liberación de oxígeno que alcanza el 77% de la capacidad de transporte total. Recordemos que solo se liberaría el 66% del oxígeno si no se produjesen cambios en el pH. ¿Cuáles son los fundamentos químicos y estructurales del efecto del pH? La desoxihemoglobina está estabilizada por medio de un enlace iónico, o puente salino, entre el aspartato β94 y la cadena lateral protonada de la histidina β146 (Figura 9.19). A pH alto, la cadena lateral de la histidina β146 no está protonada y no se forma el puente salino, favoreciendo así la unión del oxígeno. A medida que el pH desciende, como en las proximidades de los tejidos que están metabolizando activamente, la cadena lateral de la histidina β146 se protona, se forma el puente salino con el aspartato β94 y se estabiliza la estructura cuaternaria típica de la desoxihemoglobina, lo que da lugar a una mayor tendencia a liberar oxígeno en los tejidos que están metabolizando activamente. La hemoglobina ilustra el hecho de que el pH, como factor ambiental celular, afecta a otras proteínas que no son enzimas.

Además, la hemoglobina responde al dióxido de carbono con una disminución en la afinidad hacia el oxígeno, facilitando así la liberación de oxígeno en los tejidos con una concentración elevada de dióxido de carbono, como aquellos en los que se está llevando a cabo de forma activa la oxidación de las moléculas combustibles para formar dióxido de carbono y agua. Cuando el pH disminuye a 7,2 en presencia de dióxido de carbono a una presión parcial de 40 torr, la cantidad de oxígeno liberada se aproxima al 90% de la capacidad transportadora máxima (Figura 9.20). El dióxido de carbono estabiliza la desoxihemoglobina reaccionando con los grupos amino terminales para formar grupos *carbamato*, que están cargados negativamente.

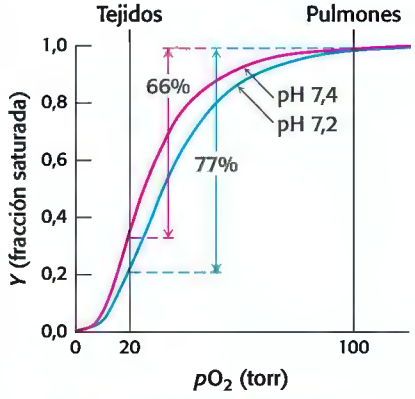


Figura 9.18 Efecto del pH sobre la afinidad de la hemoglobina hacia el oxígeno. El descenso del pH de 7,4 (curva de color rojo) a 7,2 (curva de color azul) se traduce en la liberación de O_2 por parte de la oxihemoglobina.

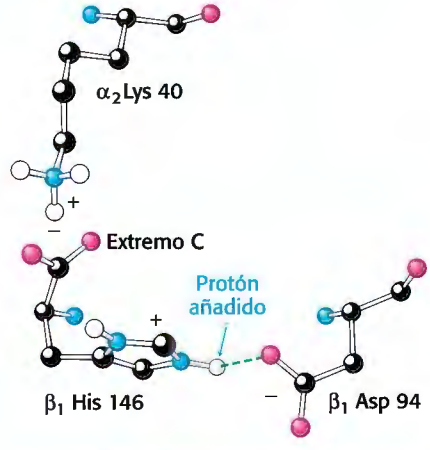


Figura 9.19 Fundamento químico del efecto Bohr. En la desoxihemoglobina, tres residuos de aminoácido forman dos puentes salinos que estabilizan la estructura cuaternaria T. La formación de uno de los puentes salinos depende de la presencia de un protón añadido a la histidina β146. En la desoxihemoglobina, la proximidad de la carga negativa del aspartato β94 favorece la protonación de esta histidina. *Observe* que el puente salino entre la histidina β146 y el aspartato β94 está estabilizado por medio de un puente de hidrógeno (línea punteada de color verde).

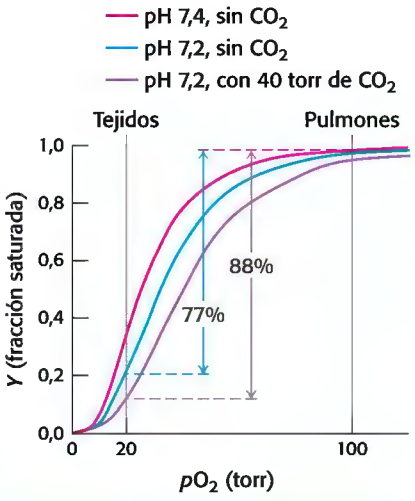
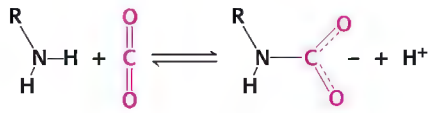


Figura 9.20 Efectos del dióxido de carbono. La presencia de dióxido de carbono disminuye la afinidad de la hemoglobina hacia el oxígeno hasta hacerla incluso menor que cuando el efecto se debe a una disminución del pH, lo que se traduce en un transporte de oxígeno todavía más eficaz desde los pulmones hacia los tejidos.

? **PREGUNTA RÁPIDA** Cite tres factores que estabilizan la forma desoxi de la hemoglobina.



Carbamato

Los extremos amino se sitúan en la interfaz entre los dímeros αβ. Estos grupos carbamato cargados negativamente participan en las interacciones de puente salino, características de la estructura del estado T, que estabilizan la estructura de la desoxihemoglobina y favorecen la liberación de oxígeno. Por tanto, *la regulación heterotrópica de la hemoglobina por parte de los iones hidrógeno y del dióxido de carbono incrementa aún más la eficiencia a la hora de transportar oxígeno de esta magnífica proteína alostérica.*

La hemoglobina unida a dióxido de carbono y a iones hidrógeno es transportada por la sangre de vuelta a los pulmones donde libera los iones hidrógeno y el dióxido de carbono y se vuelve a unir al oxígeno. Por tanto, la hemoglobina, además de transportar oxígeno, ayuda a transportar iones hidrógeno y dióxido de carbono. Sin embargo, el transporte por parte de la hemoglobina solo representa alrededor del 14% del transporte total de estas especies; tanto los iones hidrógeno como el dióxido de carbono también se transportan por la sangre en forma de bicarbonato (HCO_3^-) que se forma espontáneamente o mediante la acción de la *anhidrasa carbónica*, una enzima abundante en los glóbulos rojos (**Figura 9.21**).

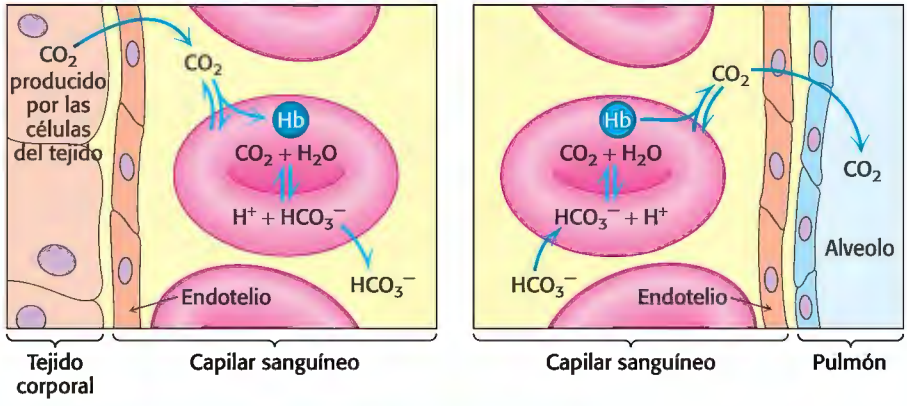


Figura 9.21 Transporte de CO_2 desde los tejidos a los pulmones. La mayor parte del dióxido de carbono se transporta a los pulmones en forma de HCO_3^- producido en los glóbulos rojos y, posteriormente, es liberado al plasma sanguíneo. Una cantidad más pequeña se transporta en forma de carbamato unido a la hemoglobina.

Resumen

9.1 La hemoglobina muestra un comportamiento cooperativo

La hemoglobina es una proteína alostérica que muestra una unión cooperativa al oxígeno molecular. Esta cooperatividad es crucial para el funcionamiento de la hemoglobina porque permite una rápida unión del O_2 en los pulmones y una fácil liberación en los tejidos, donde el O_2 es necesario para sustentar el metabolismo.

9.2 La mioglobina y la hemoglobina se unen al oxígeno por los grupos hemo

La mioglobina es una proteína formada mayoritariamente por hélices α y que se une al grupo prostético hemo. El hemo consta de una protoporfirina, un compuesto orgánico formado por cuatro anillos pirrólicos conectados entre sí, que contiene un ion hierro en estado ferroso (Fe^{2+}) en el centro. El ion hierro está coordinado con la cadena lateral de un residuo de histidina de la mioglobina, la denominada histidina proximal. Uno de los átomos de oxígeno del O_2 se une a un lugar de coordinación abierto del ion hierro. A causa de la transferencia parcial de electrones desde el ion hierro al átomo de oxígeno, el ion hierro se mueve hacia el plano de la porfirina cuando se produce la unión del oxígeno.

9.3 La hemoglobina se une al oxígeno de forma cooperativa

La hemoglobina está formada por cuatro cadenas polipeptídicas: dos cadenas α y dos cadenas β. Cada una de estas cadenas tiene una secuencia de aminoácidos similar a la de la mioglobina y se pliegan adoptando una estructura tridimensional parecida. La mejor manera de describir el tetrámero de hemoglobina es como una pareja de dímeros αβ. La curva de unión al oxígeno tiene forma sigmoidal o forma de "S", lo que indica que la unión del oxígeno es cooperativa. La unión y liberación cooperativas del oxígeno aumentan significativamente la eficacia del transporte de oxígeno.

La estructura cuaternaria de la hemoglobina cambia cuando se une el oxígeno. Durante la transición del estado T al estado R, los dos dímeros αβ rotan aproximadamente 15° el uno con respecto al otro. Los cambios estructurales que se producen en el lugar donde se encuentra el hierro en respuesta a la unión del oxígeno se transmiten a la interfaz entre los dímeros αβ, afectando así al equilibrio entre las formas T y R.

9.4 Un regulador alostérico determina la afinidad de la hemoglobina hacia el oxígeno

Los glóbulos rojos contienen 2,3-bisfosfoglicerato a una concentración aproximadamente igual a la de la hemoglobina. El 2,3-BPG se une fuertemente al estado T, pero no al estado R, estabilizando así el estado T y disminuyendo la afinidad de la hemoglobina hacia el oxígeno. La hemoglobina fetal se une al oxígeno con más intensidad que la hemoglobina adulta debido a que su unión al 2,3-BPG es más débil. Esta diferencia permite la transferencia de oxígeno desde la sangre materna a la sangre del feto.

9.5 Los iones hidrógeno y el dióxido de carbono promueven la liberación del oxígeno

Las propiedades de unión al oxígeno de la hemoglobina se ven notablemente afectadas por el pH y por la presencia de dióxido de carbono, un fenómeno que se conoce con el nombre de efecto Bohr. Al aumentar la concentración de iones hidrógeno —es decir, al disminuir el pH— disminuye la afinidad de la hemoglobina hacia el oxígeno, debido a la protonación de los extremos amino y de determinados residuos de histidina. Los residuos protonados ayudan a estabilizar el estado T. Al aumentar la concentración de dióxido de carbono disminuye la afinidad de la hemoglobina hacia el oxígeno mediante dos mecanismos. En primer lugar, el dióxido de carbono se convierte en ácido carbónico, lo que disminuye la afinidad de la hemoglobina hacia el oxígeno debido a la disminución del pH en el interior de los glóbulos rojos. En segundo lugar, el dióxido de carbono se une a los extremos amino de la hemoglobina para formar carbamatos. Estos grupos cargados negativamente estabilizan la desoxihemoglobina mediante interacciones iónicas. Como los tejidos que están metabolizando rápidamente producen iones hidrógeno y dióxido de carbono, el efecto Bohr ayuda a suministrar oxígeno en aquellos lugares donde más se necesita.

Términos clave

efecto cooperativo (p. 142)
hemo (p. 143)
protoporfirina (p. 143)
histidina proximal (p. 143)
histidina distal (p. 143)
subunidad α (p. 144)
subunidad β (p. 144)
dímero αβ (p. 144)
2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG) (p. 146)
hemoglobina fetal (p. 146)
anemia falciforme (p. 147)
efecto Bohr (p. 149)
carbamato (p. 149)
anhidrasa carbónica (p. 150)

? Respuesta a la PREGUNTA RÁPIDA

La unión al BPG; puentes salinos entre aminoácidos ácidos y básicos; puentes salinos que incluyen al carbamato del extremo amino.

Problemas

1. *Dos por dos.* Asigne a cada término la descripción correspondiente.

(a) Hemoglobina _____
(b) Mioglobina _____
(c) Hemo _____
(d) Protoporfirina _____
(e) Histidina proximal _____
(f) 2,3-Bisfosfoglicerato _____
(g) Anemia falciforme _____
(h) Efecto Bohr _____
(i) Anhidrasa carbónica _____
(j) Carbamato _____

1. Facilita la formación de protones y bicarbonato
2. Regulación de la unión al oxígeno por parte de los iones hidrógeno y del dióxido de carbono
3. Se une en el centro de la hemoglobina
4. Es el resultado del cambio de un único aminoácido en la cadena β de la hemoglobina
5. El componente de la hemoglobina y de la mioglobina que se une al oxígeno
6. Muestra estructura cuaternaria
7. Está formado por cuatro anillos de pirrol
8. Estructuras de los extremos amino que estabilizan el estado T
9. Se une al quinto lugar de coordinación del hemo
10. Sólo presenta estuctura terciaria

2. *Contenido de hemoglobina.* El volumen medio de un glóbulo rojo es de 87 μm^3. La concentración media de la hemoglobina es de 0,34 g ml^{-1}.

(a) ¿Cuánto pesa la hemoglobina presente en un glóbulo rojo?
(b) ¿Cuántas moléculas de hemoglobina hay en un glóbulo rojo?
(c) ¿Podría la concentración de hemoglobina en los glóbulos rojos ser mucho mayor que el valor observado? (Pista: suponga que un glóbulo rojo contiene las moléculas de hemoglobina dispuestas en forma cristalina, con una malla cúbica de 65 Å de lado.)

3. *Contenido de hierro.* ¿Cuánto hierro hay en la hemoglobina de un adulto de 70 kg? Suponga que el volumen de la sangre es de 70 ml kg^{-1} de peso corporal y que el contenido de hemoglobina de la sangre es de 0,16 g ml^{-1}.

4. *Oxigenación de la mioglobina.* El contenido de mioglobina de algunos músculos humanos es de unos 8 g kg^{-1}. En el cachalote, el contenido de mioglobina en el músculo es de 80 g kg^{-1}.
(a) ¿Cuánto O_2 se encuentra unido a la mioglobina en el músculo humano? ¿Y en el músculo del cachalote? Suponga que la mioglobina está saturada de O_2.
(b) A 37 °C, la cantidad de oxígeno disuelto en el agua de los tejidos (que está en equilibrio con la sangre venosa) es aproximadamente $3{,}5 \times 10^{-5}$ M. ¿Cuál es la proporción entre el oxígeno unido a la mioglobina y el disuelto directamente en el agua del músculo del cachalote?

5. *La cooperación es buena.* ¿Cuál es la importancia fisiológica de la unión cooperativa del oxígeno a la hemoglobina? ✓ 7

6. *De repente, se rompió en pedazos.* Los cristales de desoxihemoglobina se rompen en pedazos cuando son expuestos al oxígeno. ¿Por qué? ✓ 7

7. *Vigor híbrido.* Cuando se une al oxígeno, el comportamiento de la hemoglobina muestra aspectos tanto del modelo secuencial como del modelo concertado. Sugiera una explicación. ✓ 7

8. *De madre a hijo.* ¿Qué explicación tiene que la hemoglobina fetal tenga una afinidad hacia el oxígeno mayor que la hemoglobina materna? ✓ 7

9. *Daños estructurales.* ¿Cómo provoca la hemoglobina S daños en los tejidos?

10. *Lo que la salva.* La hemoglobina A inhibe la formación de las largas fibras de hemoglobina S y la posterior formación de glóbulos rojos falciformes durante la desoxigenación. ¿Por qué tiene la hemoglobina A este efecto?

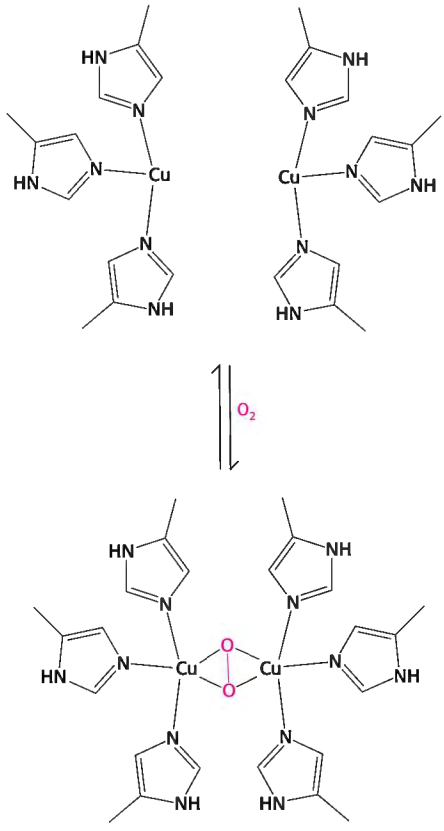
11. *Rastreando la biosfera.* La primera estructura proteica resuelta fue la de la mioglobina de cachalote. Proponga una explicación para el hecho de que el músculo de cachalote sea una rica fuente de esta proteína.

12. *Cabe en el bolsillo.* Describa el papel del 2,3-bisfosfoglicerato en la función de la hemoglobina. ✓ 8

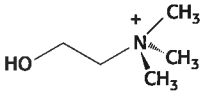
13. *Adaptación a altitudes elevadas.* Cuando una persona pasa un día o más a una altitud elevada (con una presión parcial de oxígeno de 75 torr), aumenta la concentración de 2,3-bisfosfoglicerato en sus glóbulos rojos. ¿Qué efecto tendría un aumento en la concentración de 2,3-BPG sobre la curva de unión al oxígeno de la hemoglobina? Explique por qué esta adaptación sería beneficiosa para desenvolverse bien a altitudes elevadas. ✓ 8

14. *¿Una conferencia aburrida?* ¿Qué es el efecto Bohr y cuál es su fundamento químico? ✓ 8

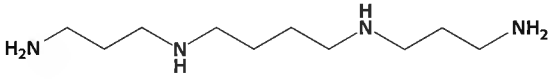
15. *Tomaré langosta.* Los artrópodos como las langostas tienen transportadores de oxígeno muy distintos de la hemoglobina. Los lugares de unión al oxígeno no contienen hemo, pero, en vez de ello, están basados en dos iones de cobre (I). En la página 153 se muestran los cambios estructurales asociados a la unión del oxígeno. ¿Cómo pueden utilizarse estos cambios para facilitar la unión cooperativa del oxígeno?



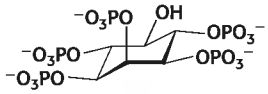
16. *Sustitución exitosa.* Los glóbulos rojos de algunas aves no contienen 2,3-bisfosfoglicerato; en su lugar contienen uno de los cuatro compuestos mostrados en los apartados *a*, *b*, *c* y *d*, que desempeñan un papel funcional análogo. ¿Cuál de esos compuestos es el más adecuado para desempeñar esa función? Explique brevemente por qué. ✓ 8

(a) 

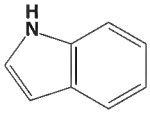
Colina

(b) 

Espermina

(c) 

Inositol pentafosfato

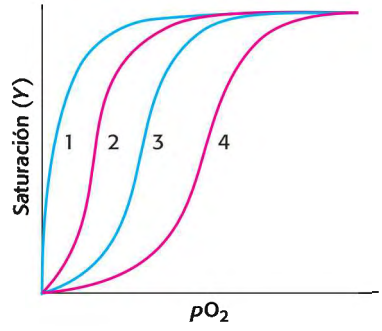
(d) 

Indol

Problema de interpretación de datos

17. *Inclinándose hacia la derecha o hacia la izquierda.* La siguiente ilustración muestra varias curvas de disociación del oxígeno. Suponga que la curva 3 corresponde a la hemoglobina con concentraciones fisiológicas de CO_2 y de 2,3-BPG a pH 7. ¿Qué curva representa cada una de las siguientes alteraciones? ✓ 8

(a) Una disminución del CO_2
(b) Un incremento de 2,3-BPG
(c) Un aumento del pH
(d) Pérdida de la estructura cuaternaria



Problema de integración de capítulos

18. *El lugar lo es todo.* Tal y como se muestra en la Figura 9.10, el 2,3-bisfosfoglicerato está situado en una cavidad central, estabilizando el estado T. ¿Cuál sería el efecto de mutaciones que situaran el lugar de unión del 2,3-BPG sobre la superficie de la hemoglobina? ✓ 8

Problemas para atrevidos

19. *Cinética de liberación.* La constante de equilibrio K para la unión del oxígeno a la mioglobina es de 10^{-6} M, donde K se define como

$$K = [MbO_2]/[Mb][O_2]$$

La constante de velocidad para la combinación del O_2 con la hemoglobina es de $2 \times 10^7\ M^{-1}\ s^{-1}$.

(a) ¿Cuál es la constante de velocidad para la disociación del O_2 de la oxihemoglobina?
(b) ¿Cuál es la duración media del complejo oxihemoglobina?

20. *Ajustando la afinidad hacia los protones.* El pK_a de un ácido depende en parte de su entorno. Pronostique el efecto que tendrá cada uno de los siguientes cambios ambientales sobre el pK_a de la cadena lateral del ácido glutámico. ✓ 8

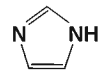
(a) El acercamiento de una cadena lateral de lisina.
(b) El acercamiento del grupo carboxilo terminal de la proteína.
(c) La cadena lateral del ácido glutámico se desplaza desde el exterior de la proteína hacia un lugar no polar del interior.

21. *Gas mortal.* El monóxido de carbono es un gas incoloro e inodoro que se une a la hemoglobina por uno de los lugares de unión al oxígeno. Se une, de hecho, 200 veces más intensamente que el oxígeno, lo que explica su naturaleza tóxica. Aunque solo uno de los cuatro lugares de unión al oxígeno de la he-

moglobina esté ocupado por el monóxido de carbono y los otros tres se encuentren unidos al oxígeno, el oxígeno no se libera. Explique por qué.

22. *Con la carga a cuestas.* Suponga que está subiendo una montaña elevada y que la presión parcial de oxígeno del aire se reduce a 75 torr. Determine el porcentaje de la capacidad transportadora de oxígeno que se estará utilizando, suponiendo que el pH tanto de los tejidos como de los pulmones es de 7,4 y que la concentración de oxígeno en los tejidos es de 20 torr.

23. *Una desconexión.* Utilizando técnicas de DNA recombinante (Capítulo 41), se ha preparado una hemoglobina en la que los residuos de histidina proximales tanto de la subunidad α como de la subunidad β han sido sustituidos por glicina. El anillo de imidazol del residuo de histidina se puede reemplazar mediante la adición de imidazol libre a la disolución.



Imidazol

¿Se podría esperar que esta hemoglobina modificada muestre cooperatividad a la hora de unirse al oxígeno? ¿Por qué? o ¿por qué no?

24. *Efecto parasitario.* Cuando *Plasmodium falciparum*, un protozoo, vive en el interior de los glóbulos rojos, el metabolismo del parásito tiende a liberar ácido. ¿Qué efecto podría tener la presencia de ácido sobre la capacidad para transportar oxígeno de los glóbulos rojos? ¿Y sobre la probabilidad de que estas células se vuelvan falciformes? ✓ 8

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.



Capítulo 10:
Carbohidratos



Capítulo 11:
Lípidos

SECCIÓN 4

Carbohidratos y lípidos

Los carbohidratos y los lípidos, junto con las proteínas y los ácidos nucleicos, constituyen las cuatro clases principales de biomoléculas. Ya hemos visto las proteínas, poniendo especial énfasis en su papel como enzimas. Aunque los carbohidratos y los lípidos desempeñan un variado conjunto de funciones en los sistemas vivos, su función como combustible es la más obvia. Esta función resulta evidente para cualquiera que examine la información nutricional de las etiquetas de los envases de alimentos. En estas etiquetas, a los lípidos se les denomina grasas, por razones que se descubrirán en el Capítulo 11.

Los carbohidratos y los lípidos proporcionan la energía para impulsar todos los procesos bioquímicos que tienen lugar en el interior de una célula o de un organismo. Su papel como combustible es de una importancia tan grande que el sabor y la textura de estas moléculas proporciona placer gustativo y el comportamiento de la mayoría de los animales, incluyendo a los seres humanos, está orientado hacia la búsqueda de alimentos ricos en lípidos y carbohidratos. Por razones que se comentarán en capítulos posteriores, los lípidos aportan mucha más energía utilizable por gramo que los carbohidratos. Sin embargo, la mayoría de los organismos mantienen reservas de ambos tipos de combustible. ¿Por qué tener dos fuentes de combustible si una de ellas es mucho más rica en energía? La respuesta es que todos los lípidos necesitan oxígeno para producir energía biológicamente aprovechable. Aunque los carbohidratos pueden liberar energía cuando reaccionan con el oxígeno, también pueden liberar energía cuando escasea el oxígeno, como ocurre en el caso de los músculos de la pierna de un corredor que esté haciendo un *sprint* para llegar a la meta o en el caso de una bacteria que esté creciendo en un ambiente sin oxígeno.

Por tanto, el uso de lípidos y carbohidratos como combustibles aporta flexibilidad bioquímica para satisfacer las diversas necesidades biológicas de un organismo.

Los carbohidratos y los lípidos también desempeñan importantes funciones estructurales. Por ejemplo, los carbohidratos aportan la fuerza de las paredes celulares vegetales mientras que los lípidos son ubicuos en su papel como componentes de la membrana. De hecho, carbohidratos y lípidos se pueden unir para formar unos componentes particulares de las membranas denominados *glicolípidos*. Por último, estas dos clases de biomoléculas desempeñan funciones esenciales en las rutas de transducción de señales.

En el Capítulo 10 estudiaremos las propiedades bioquímicas de los carbohidratos, resaltando otras funciones, además de su papel como combustibles. En el Capítulo 11 haremos lo mismo con los lípidos, prestando especial atención a las propiedades hidrofóbicas de estas moléculas.

✓ Al final de esta sección, usted debería ser capaz de:

- ✓ 1 Distinguir monosacáridos y polisacáridos, tanto en lo referente a su estructura como a su función.
- ✓ 2 Diferenciar los diversos tipos de glicoproteínas, tanto en lo referente a su estructura como a su función.
- ✓ 3 Describir las propiedades químicas fundamentales de los ácidos grasos.
- ✓ 4 Identificar los principales lípidos y describir sus funciones bioquímicas.

CAPÍTULO 10 Carbohidratos

10.1 Los monosacáridos son los carbohidratos más sencillos

10.2 Los monosacáridos se unen para formar carbohidratos complejos

10.3 Los carbohidratos se unen a proteínas para formar glicoproteínas

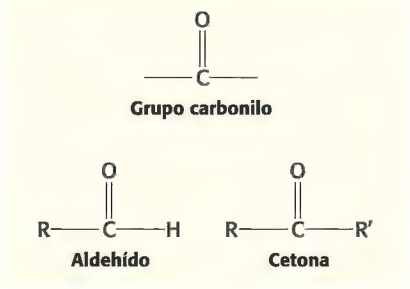
10.4 Las lectinas son proteínas que se unen a carbohidratos de forma específica



Los granos o los cultivos de cereales son una abundante fuente de carbohidratos en cualquier parte del mundo. Katherine Lee Bates, catedrática de inglés de la Universidad de Wellesley, inmortalizó la capacidad de América para producir grano con estas palabras: "América, la bella". La inspiración para escribir estas palabras, le llegó a la catedrática Bates tras comprobar la grandiosidad del Oeste de América durante una visita a la Universidad de Colorado. [David Noton Photography/Alamy.]

Raro es el día en que no leemos u oímos algo sobre los carbohidratos y la dieta. Estudiaremos el papel de los carbohidratos como combustible en capítulos posteriores, pero antes examinaremos qué son los carbohidratos y veremos algunas otras funciones, además de la de combustible, de estas omnipresentes biomoléculas. Los carbohidratos son moléculas basadas en el carbono y ricas en grupos hidroxilo (−OH). De hecho, la fórmula empírica de muchos carbohidratos es $(CH_2O)_n$ —literalmente, un hidrato de carbono. Los carbohidratos sencillos se denominan monosacáridos. Los carbohidratos complejos —polímeros de monosacáridos unidos covalentemente— se denominan polisacáridos. Un polisacárido puede ser muy simple, como cuando está formado por dos monosacáridos idénticos. O puede ser muy complejo, como cuando está formado por docenas de monosacáridos distintos que se unen para formar un polisacárido compuesto por millones de monosacáridos. Los monosacáridos son los monómeros que constituyen los polisacáridos, del mismo modo que los aminoácidos son los monómeros que constituyen las proteínas. Sin embargo, la naturaleza de los enlaces covalentes que unen los monosacáridos para formar un polisacárido es mucho más diversa que el canónico enlace peptídico de las proteínas. La variedad de monosacáridos y los múltiples tipos de enlace que se pueden formar en los polisacáridos pone de manifiesto que los carbohidratos proporcionan a las células un amplio abanico de estructuras tridimensionales que pueden ser utilizadas con diversos fines, algunos tan sencillos como almacenar energía y otros tan complejos como servir de señales de reconocimiento célula-célula.

✓ 1 Distinguir monosacáridos y polisacáridos, tanto en lo referente a su estructura como a su función.

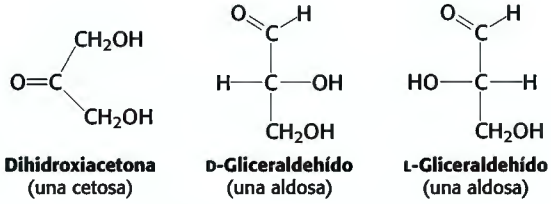


A menudo, los monosacáridos y otros azúcares se representan mediante *proyecciones de Fischer*. Recordemos del Capítulo 3 que, en la proyección de Fischer de una molécula, los átomos unidos a un átomo de carbono asimétrico mediante enlaces horizontales se encuentran por delante del plano de la página y los unidos mediante enlaces verticales se encuentran por detrás del plano.

10.1 Los monosacáridos son los carbohidratos más sencillos

Comenzamos nuestro estudio de los carbohidratos con los monosacáridos, los carbohidratos más sencillos. Estos azúcares simples no solo sirven como moléculas combustible sino que también son constituyentes fundamentales de los sistemas vivos. Por ejemplo, el DNA está formado por azúcares sencillos: su esqueleto consta de grupos fosforilo y desoxirribosa, un azúcar cíclico de cinco carbonos, dispuestos de forma alternante.

Los *mocosacáridos* son aldehídos o cetonas que poseen dos o más grupos hidroxilo. Los monosacáridos más pequeños, que contienen tres carbonos, son la dihidroxiacetona, el D-gliceraldehído y el L-gliceraldehído.



La dihidroxiacetona se denomina cetosa porque contiene un grupo ceto, mientras que el gliceraldehído se denomina aldosa porque contiene un grupo aldehído. Se dice que son *triosas* (tri- significa tres, haciendo referencia a los tres átomos de carbono que contienen). Análogamente, los monosacáridos simples con cuatro, cinco, seis o incluso siete átomos de carbono se denominan *tetrosas*, *pentosas*, *hexosas* y *heptosas*, respectivamente. Quizás los monosacáridos que nos resultan más familiares sean las hexosas glucosa y fructosa. La glucosa es una fuente de energía esencial para prácticamente cualquier forma de vida. La fructosa se utiliza habitualmente como un edulcorante que una vez en el interior de la célula se convierte en derivados de la glucosa.

Los carbohidratos pueden existir en una enorme variedad de formas isoméricas (Figura 10.1). La dihidroxiacetona y el gliceraldehído son *isómeros constitucionales* porque tienen fórmulas moleculares idénticas pero difieren en la forma en que se disponen sus átomos. Los *estereoisómeros* son isómeros que se diferencian por la or-

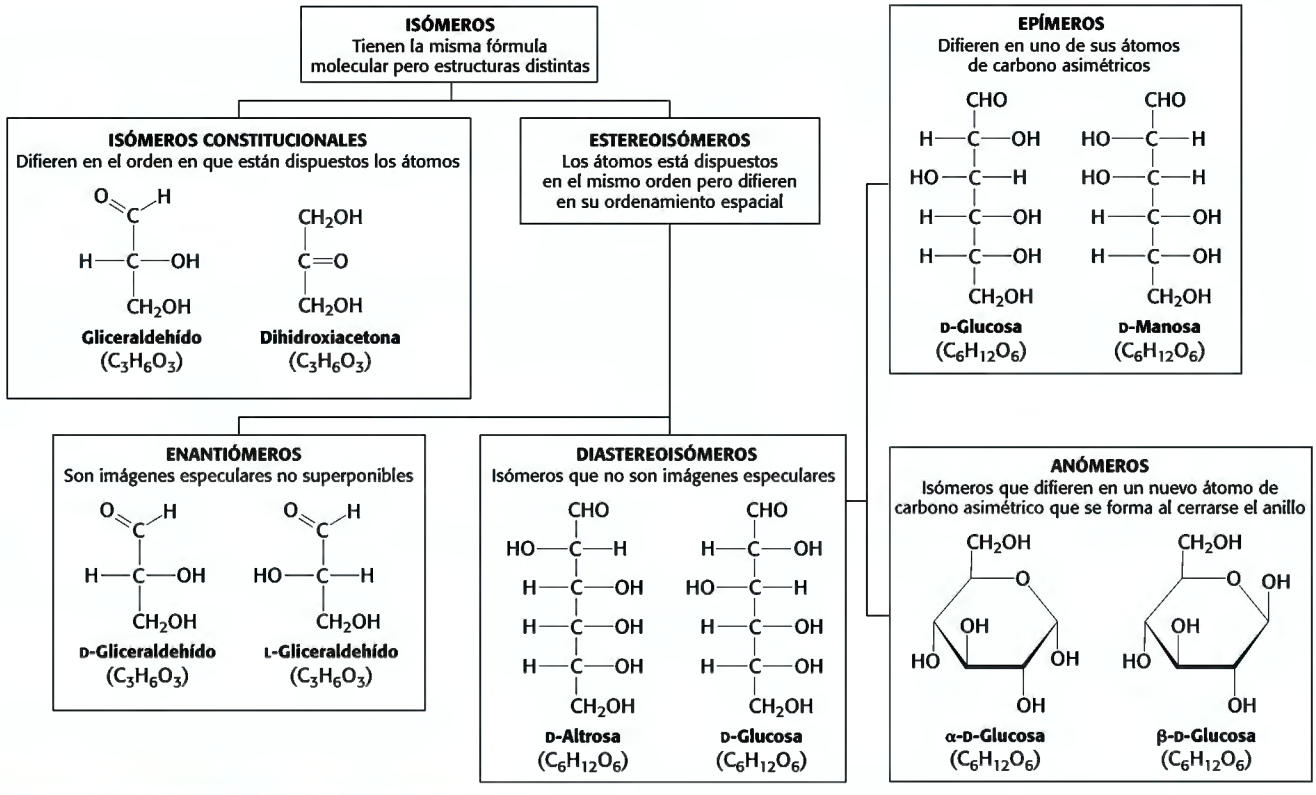


Figura 10.1 Formas isoméricas de los carbohidratos.

denación espacial de sus átomos. El gliceraldehído tiene un único átomo de carbono asimétrico y, por tanto, hay dos estereoisómeros de este azúcar: el D-gliceraldehído y el L-gliceraldehído. Estas moléculas son un tipo de estereoisómeros que se denominan *enantiómeros*, porque son imágenes especulares entre sí.

Los monosacáridos que están formados por más de tres átomos de carbono poseen múltiples átomos de carbono asimétricos, por lo cual no solo existen enantiómeros sino también *diastereoisómeros*, isómeros que no son imágenes especulares entre sí. Por convención, los isómeros D y L se determinan a partir de la configuración del átomo de carbono asimétrico más alejado del grupo aldehído o del grupo cetona.

La Figura 10.2 muestra los azúcares que encontraremos con más frecuencia a lo largo de nuestro estudio de la bioquímica. La D-ribosa, el carbohidrato que forma parte del RNA, es una aldosa de cinco carbonos, al igual que la desoxirribosa, el carbohidrato que forma parte del DNA. La D-glucosa, D-manosa y D-galactosa son aldosas de seis carbonos muy abundantes. Hay que destacar el hecho de que la D-glucosa y la D-manosa se diferencian únicamente por la configuración del C-2, el átomo de carbono que ocupa la segunda posición. Los azúcares que son diastereoisómeros y que difieren en la configuración de un solo centro de asimetría se denominan *epímeros*. Por tanto, la D-glucosa y la D-manosa son epiméricas en el C-2; la D-glucosa y la D-galactosa son epiméricas en el C-4.

También hay que señalar que las cetosas tienen un centro de asimetría menos que las correspondientes aldosas con el mismo número de átomos de carbono. La D-fructosa es la cetohexosa más abundante.

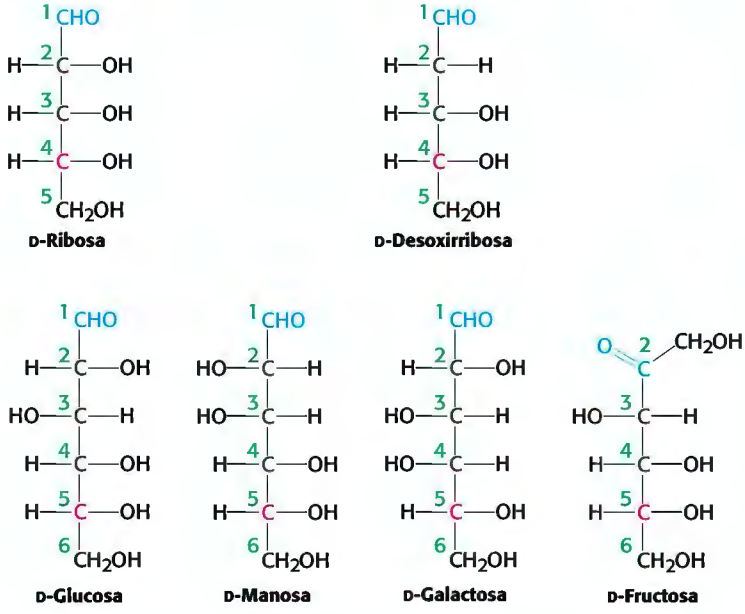
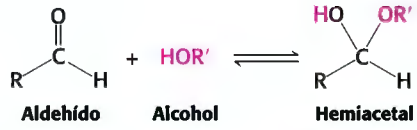


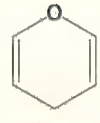
Figura 10.2 Monosacáridos más frecuentes. Las aldosas contienen un grupo aldehído (mostrado de color azul) mientras que las cetosas, como la fructosa, contienen un grupo cetona (también en azul). El átomo de carbono asimétrico más alejado del aldehído o de la cetona (en rojo) es el que indica que se trata de la configuración D. Los números corresponden a la designación estándar para las posiciones de los átomos de carbono (p. ej., el número 2 corresponde al átomo de carbono en segunda posición).

Muchos de los azúcares más frecuentes son moléculas cíclicas

En disolución, las formas predominantes de la ribosa, glucosa, fructosa y muchos otros azúcares no son las cadenas abiertas. En vez de ello, las formas de cadena abierta de estos azúcares se cierran sobre sí mismas formando anillos. El fundamento químico de la formación del anillo consiste en que un aldehído puede reaccionar con un alcohol para formar un *hemiacetal*.



En el caso de una aldohexosa como la glucosa, la misma molécula proporciona tanto el grupo aldehído como el grupo alcohol: en la forma de cadena abierta de la glucosa, el aldehído del C-1 reacciona con el grupo hidroxilo del C-5 para formar un *hemiacetal intramolecular* (Figura 10.3). El hemiacetal cíclico resultante, un anillo de seis átomos, se denomina *piranosa* porque se parece al *pirano*.



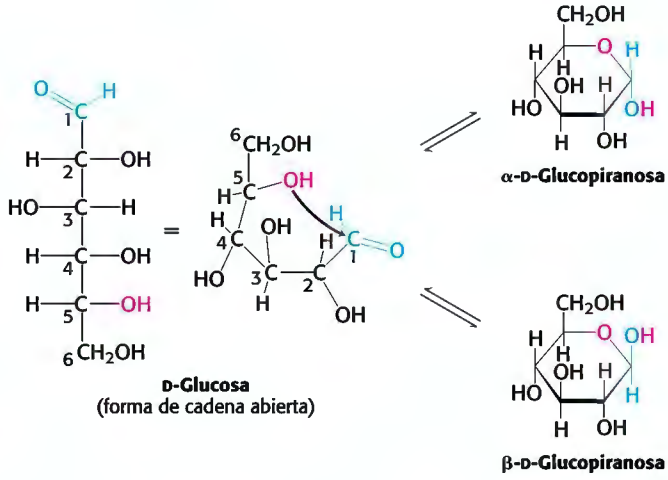
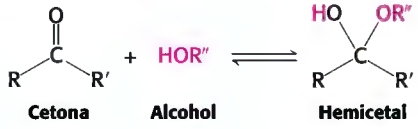


Figura 10.3 Formación de piranosas. La forma de cadena abierta de la glucosa se cierra sobre sí misma cuando el grupo hidroxilo del C-5 ataca al átomo de carbono C-1 del grupo aldehído para formar un hemiacetal intramolecular. Pueden formarse dos formas anoméricas, denominadas α y β.

Análogamente, una cetona también puede reaccionar con un alcohol para formar un *hemicetal.*



El grupo ceto del C-2 de la forma de cadena abierta de una cetohexosa, como la fructosa, puede formar un *hemicetal intramolecular* reaccionando bien con el grupo hidroxilo del C-6 para formar un hemicetal cíclico de seis átomos, o bien con el grupo hidroxilo del C-5 para formar un hemicetal cíclico de cinco átomos (**Figura 10.4**). El anillo de cinco átomos se denomina *furanosa* por su parecido con el *furano*.



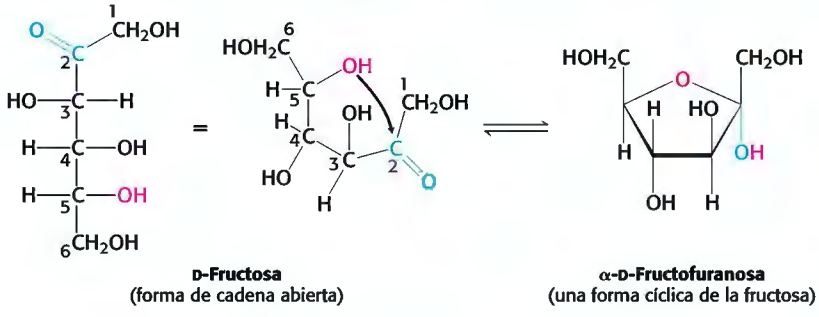


Figura 10.4 Formación de furanosas. La forma de cadena abierta de la fructosa se cierra sobre sí misma formando un anillo de cinco átomos cuando el grupo hidroxilo del C-5 ataca al C-2 del grupo cetona para formar un hemicetal intramolecular. Pueden formarse dos anómeros, aunque solo se muestra el anómero α.

Las representaciones de la glucopiranosa (glucosa) y de la fructofuranosa (fructosa) mostradas en las Figuras 10.3 y 10.4 se denominan *proyecciones de Haworth*. En estas proyecciones, los átomos de carbono del anillo no se indican por escrito. El plano aproximado del anillo (ya que no es perfectamente plano) es perpendicular al plano del papel, de forma que el trazo grueso del anillo se proyecta hacia el lector.

Las proyecciones de Haworth son una forma sencilla de representar carbohidratos, pero pueden generar confusión al hacernos pensar que las moléculas son planas. Por ejemplo, la representación estereoquímica del anillo de piranosa, de seis átomos, muestra que no es plano, debido a la geometría tetraédrica de sus átomos de carbono saturados. En vez de ello, los anillos de piranosa adoptan dos tipos de conformación, que se denominan silla y bote por su parecido con estos objetos (**Figura 10.5**). En la forma silla, los sustituyentes de los átomos de carbono del anillo presentan dos orientaciones: axial y ecuatorial. Los enlaces *axiales* son prácticamente perpendiculares al plano medio del anillo mientras que los enlaces *ecuatoriales* son prácticamente paralelos a este plano. Los sustituyentes axiales se estorban mutuamente cuando se encuentran del mismo lado del anillo (p. ej., los grupos 1,3-diaxiales). Por el contrario, los sustituyentes ecuatoriales disponen de más sitio.

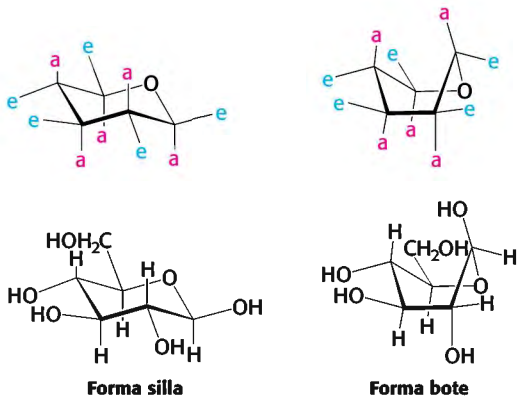


Figura 10.5 Formas silla y bote de la β-D-glucopiranosa. La forma silla es más estable gracias a que hay menos impedimentos estéricos porque las posiciones axiales están ocupadas por átomos de hidrógeno. Abreviaturas: a, axial; e, ecuatorial.

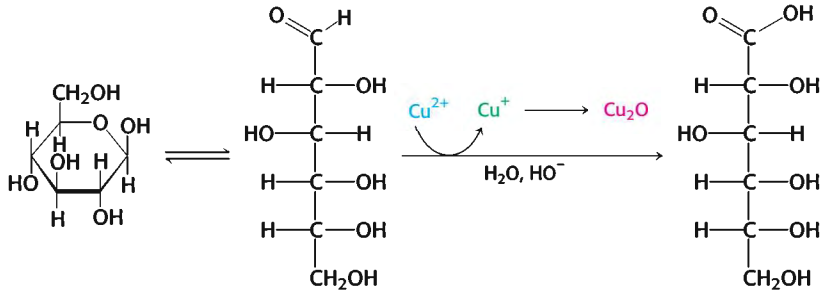
La forma silla de la β-D-glucopiranosa es la que predomina porque todas las posiciones axiales están ocupadas por átomos de hidrógeno. Los grupos −OH y $-CH_2OH$, más voluminosos, se sitúan en la periferia, donde encuentran menos estorbos. La forma bote de la glucosa está desfavorecida porque existen bastantes impedimentos estéricos.

Aspecto clínico

La formación de hemiacetales cíclicos origina un nuevo carbono asimétrico

Hemos visto que los carbohidratos pueden contener muchos átomos de carbono asimétricos. Cuando se forma un hemiacetal cíclico se crea un centro de asimetría adicional, lo que da lugar a otro tipo de diastereoisómero en los azúcares que se denominan *anómeros*. En el caso de la glucosa, el C-1 (el átomo de carbono carbonilo de la forma de cadena abierta) se convierte en un centro de asimetría. Por tanto, se pueden formar dos anillos: α-D-glucopiranosa y β-D-glucopiranosa (ver la Figura 10.3). En el caso de los azúcares de tipo D representados mediante las proyecciones de Haworth con la orientación estándar, tal y como se muestra en la Figura 10.3, *la designación α indica que el grupo hidroxilo unido al C-1 se encuentra por debajo del plano del anillo; β indica que se encuentra por encima del plano del anillo.* El átomo de carbono C-1 se denomina *átomo de carbono anomérico* y las formas α y β se denominan *anómeros*. Una mezcla de glucosa en equilibrio contiene aproximadamente un tercio de anómeros α, dos tercios de anómeros β y <1% de la forma de cadena abierta.

Como los isómeros α y β de la glucosa se encuentran en un equilibrio que pasa por la forma de cadena abierta, la glucosa posee algunas de las propiedades químicas de los aldehídos libres, como la capacidad para reaccionar con agentes oxidantes. Por ejemplo, la glucosa puede reaccionar con el ion cúprico (Cu^{2+}).



Las disoluciones de ion cúprico (también llamadas disoluciones de Fehling) nos proporcionan un sencillo test para detectar la presencia de azúcares como la glucosa. Los azúcares que reaccionan se denominan *azúcares reductores*; los que no reaccionan se denominan *azúcares no reductores*. Con frecuencia, los azúcares reductores pueden reaccionar de manera no específica con otras moléculas. Por ejemplo, al ser un azúcar reductor, la glucosa puede reaccionar con la hemoglobina par formar hemoglobina glucosilada. Los cambios en la cantidad de hemoglobina glucosilada pueden utilizarse para monitorizar la eficacia de tratamientos contra la diabetes mellitus, una enfermedad que se caracteriza por niveles elevados de glucosa en la sangre (Capítulo 25).

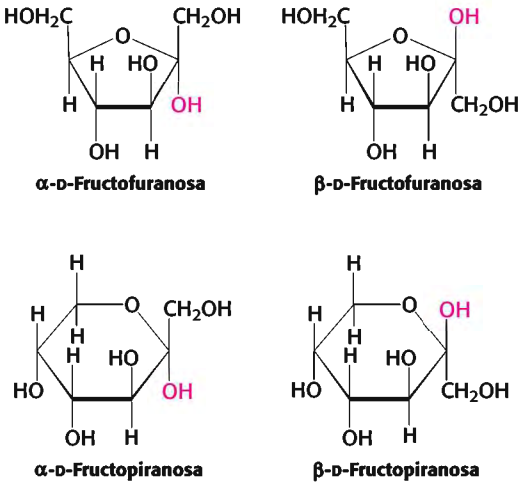
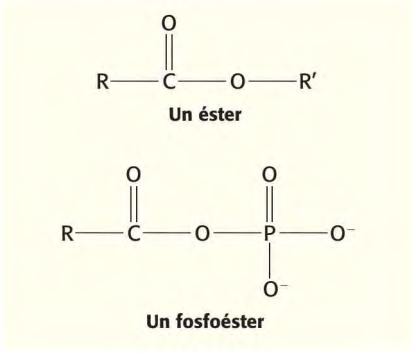


Figura 10.6 Estructuras cíclicas de la fructosa. La fructosa puede formar anillos de furanosa, de cinco átomos, o anillos de piranosa, de seis átomos. En cualquier caso, se pueden formar anómeros α o β.

Como la hemoglobina glucosilada, también denominada hemoglobina A1c, permanece en la circulación, la cantidad de hemoglobina modificada corresponde a la regulación a largo plazo —varios meses— de los niveles de glucosa. En las personas que no son diabéticas, menos del 6% de la hemoglobina se encuentra glucosilada, mientras que en diabéticos sin control, casi el 10% de la hemoglobina está glucosilada. Aunque la glucosilación de la hemoglobina no tiene ningún efecto sobre la unión al oxígeno y, por tanto, es benigna, reacciones de reducción similares entre azúcares y otras proteínas resultan a menudo perjudiciales para el organismo. Las modificaciones conocidas como *productos finales de la glicación avanzada* (AGE, *advanced glycation end products*) parecen estar involucradas en el envejecimiento, la arteriosclerosis y la diabetes, así como en otros estados patológicos. AGE es el nombre asignado a una serie de reacciones entre un grupo amino que no forma parte de los enlaces peptídicos de una proteína y la forma aldehído de un carbohidrato.

La fructosa en forma de anillo de furanosa también tiene formas anoméricas en las que α y β hacen referencia a los grupos hidroxilo unidos al C-2, el átomo de carbono anomérico (ver la Figura 10.4). La fructosa forma anillos de piranosa y de furanosa. Cuando la fructosa se encuentra libre en disolución predomina la forma piranosa, mientras que la forma furanosa predomina en muchos derivados de la fructosa (Figura 10.6).

La β-D-fructopiranosa, que se encuentra en la miel, es uno de los compuestos químicos más dulces que se conocen. La forma β-D-fructofuranosa es mucho menos dulce. El calor convierte la β-D-fructopiranosa en β-D-fructofuranosa, reduciendo el dulzor de la disolución. Por este motivo, el sirope de maíz, que tiene una elevada concentración de fructosa en la forma β-D-fructopiranosa se utiliza como edulcorante para bebidas frías, no para bebidas calientes. ■



Los monosacáridos se unen a alcoholes y aminas mediante enlaces glicosídicos

Las propiedades bioquímicas de los monosacáridos se pueden modificar al reaccionar con otras moléculas. Estas modificaciones aumentan la versatilidad bioquímica de los carbohidratos, capacitándolos para actuar como moléculas señal o volviéndolos más susceptibles a la combustión. Tres reactivos frecuentes son los alcoholes, las aminas y los fosfatos. Un enlace formado entre el átomo de carbono anomérico de la glucosa y el átomo de oxígeno de un alcohol se denomina *enlace glicosídico* —más cconcretamente, enlace *O-glicosídico*— y el producto resultante se denomina *glicósido*. Los enlaces *O*-glicosídicos son los que se forman cuan-

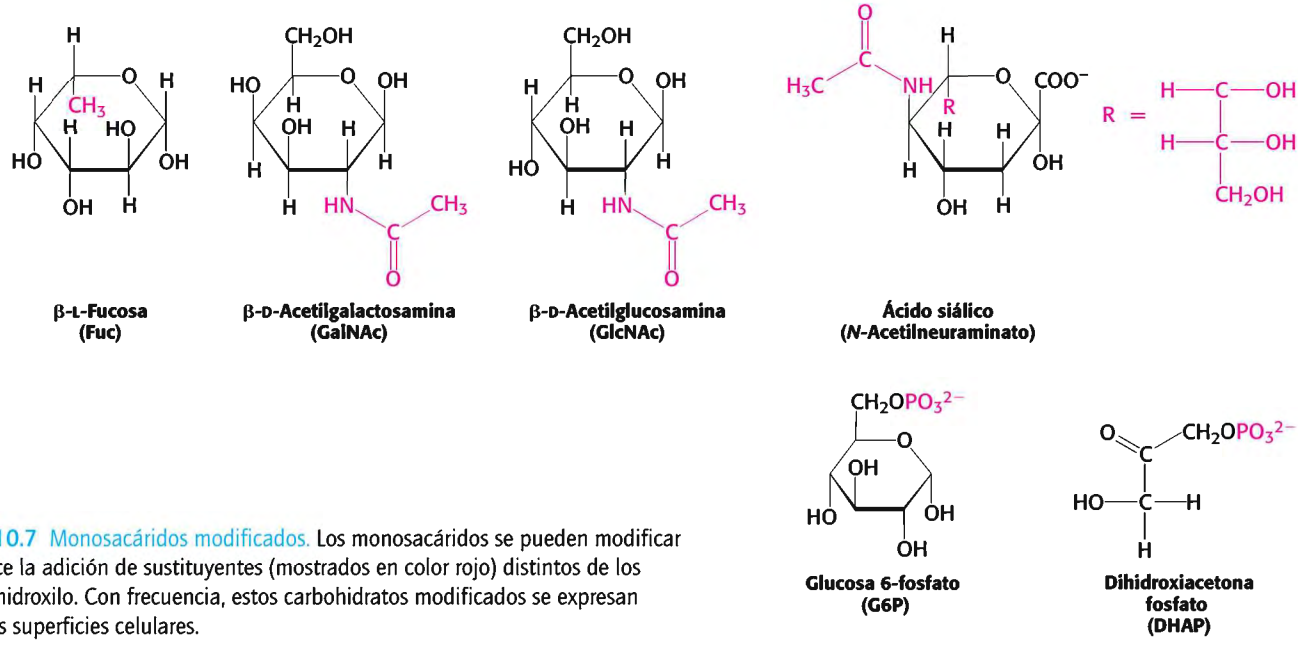


Figura 10.7 Monosacáridos modificados. Los monosacáridos se pueden modificar mediante la adición de sustituyentes (mostrados en color rojo) distintos de los grupos hidroxilo. Con frecuencia, estos carbohidratos modificados se expresan sobre las superficies celulares.

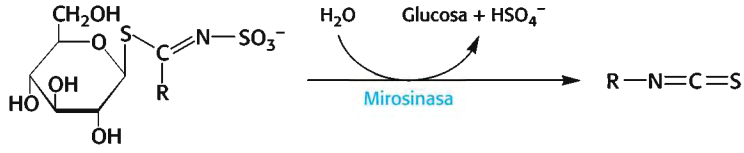
do los carbohidratos se unen entre sí para formar largos polímeros o cuando se unen a proteínas. Además, el átomo de carbono anomérico de un azúcar puede estar unido a un átomo de nitrógeno de un grupo amino para formar un *enlace N-glicosídico*. Los carbohidratos también pueden formar un enlace éster con fosfatos, una de las modificaciones más importantes del metabolismo de los carbohidratos. Por ejemplo, la fosforilación de la glucosa es esencial cuando la glucosa se metaboliza para producir ATP (Capítulo 16). La Figura 10.7 muestra ejemplos de carbohidratos modificados.



Aspecto biológico

Los glucosinolatos protegen a las plantas y añaden sabor a nuestra dieta

Para defenderse de los herbívoros, las plantas, especialmente las del orden Brassicales, producen una clase de glicósidos especial que se denominan *glucosinolatos*. Cuando se hidroliza el glicosinolato se libera isotiocianato, con lo que se genera un sabor ácido que desanima a un insecto a seguir comiendo. El glicosinolato se almacena separado de la enzima que lo activa, la mirosinasa; pero al dañarse el tejido, la enzima y el sustrato se combinan y se produce la reacción de hidrólisis.



Muchos glucosinolatos varían según la naturaleza del componente R. A veces, la combinación del glucosinolato y la mirosinasa se denomina la "bomba de aceite de mostaza". La bomba de aceite de mostaza también se puede activar al masticar, lo que explica el sabor ácido de la mostaza, los pepinillos, la berza, el brécol y otros miembros del orden Brassicales. Curiosamente, en los seres humanos, ciertos glucosinolatos estimulan la producción de enzimas desintoxicantes que podrían desempeñar algún papel en la prevención del cáncer, lo que quizás pueda contribuir al efecto aparantemente protector frente al cáncer de una dieta rica en Brassicales. ■

10.2 Los monosacáridos se unen para formar carbohidratos complejos

Como los azúcares contienen muchos grupos hidroxilo, los enlaces glicosídicos pueden unir un monosacárido con otro. Los *oligosacáridos* se forman mediante la unión de dos o más monosacáridos por enlaces *O*-glicosídicos (Figura 10.8). Por ejemplo, en el disacárido maltosa, se unen dos residuos de D-glucosa mediante un enlace glicosídico entre la forma anomérica α del C-1 de un azúcar y el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo del C-4 del azúcar adyacente. Este tipo de enlace se denomina enlace glicosídico α-1,4. El hecho de que los monosacáridos tengan múltiples grupos hidroxilo implica que se pueden formar muchos enlaces glicosídicos distintos. Por ejemplo, consideremos tres monosacáridos —glucosa, manosa y galactosa. La unión de estas moléculas en el laboratorio puede dar lugar a más de 12.000 estructuras diferentes. En esta sección veremos algunos de los oligosacáridos que se encuentran con más frecuencia en la naturaleza.

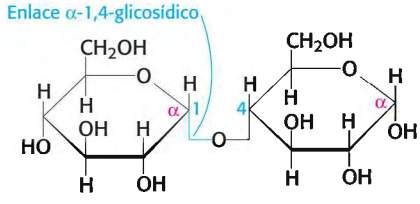


Figura 10.8 Maltosa, un disacárido. Para formar el disacárido maltosa, se unen dos moléculas de glucosa mediante un enlace α-1,4-glicosídico. Los ángulos de los enlaces al átomo de oxígeno central no implican la presencia de átomos de carbono. Los ángulos se añaden tan solo para que la ilustración resulte más sencilla.

Enzimas específicas son responsables del ensamblaje de los oligosacáridos

Los oligosacáridos se sintetizan mediante la acción de enzimas específicas, las *glicosiltransferasas*, que catalizan la formación de enlaces glicosídicos. Dada la diversidad de enlaces glicosídicos conocidos, se necesitan muchas enzimas diferentes. De hecho, en todos los organismos estudiados, las glicosiltransferasas suponen entre el 1% y el 2% de los productos génicos.

En la Figura 10.9 se muestra la forma general de la reacción catalizada por una glicosiltransferasa. El azúcar que se va a añadir se encuentra unido a un nucleótido, ya que esta es su forma activada (rica en energía), como en el caso de la UDP-glucosa (UDP es la abreviatura de uridina difosfato). La unión a un nucleótido para incrementar el contenido energético de una molécula es una estrategia frecuente en la biosíntesis que veremos en multitud de ocasiones a lo largo de nuestro estudio de la bioquímica (Capítulos 16 y 25).

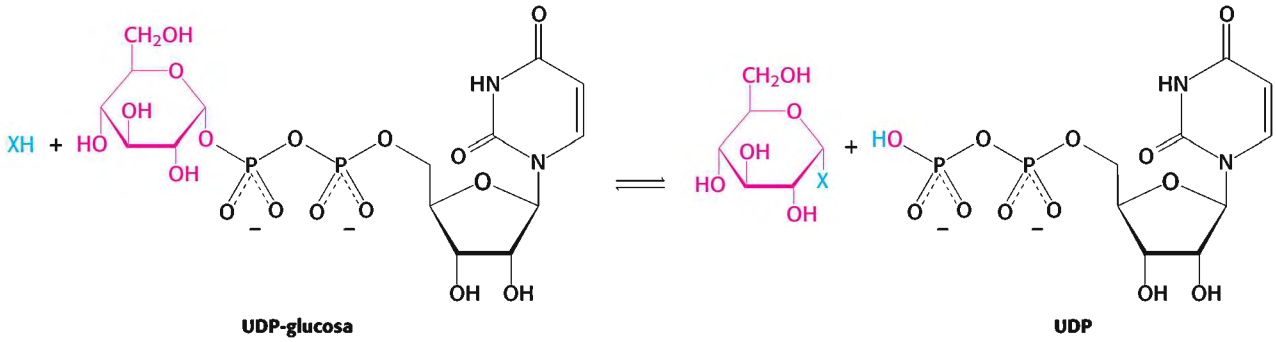


Figura 10.9 Esquema general de la reacción de una glicosiltransferasa. El azúcar que se va a añadir procede de un nucleótido unido a un azúcar —en este caso, UDP-glucosa. El aceptor, representado en la figura por una X, puede ser un monosacárido sencillo, un polisacárido complejo o un residuo de serina o de treonina que forme parte de una proteína.

La sacarosa, la lactosa y la maltosa son los disacáridos más frecuentes

Un *disacárido* consta de dos azúcares unidos mediante un enlace *O*-glicosídico. Tres disacáridos abundantes que utilizamos con frecuencia son la sacarosa, la lactosa y la maltosa (Figura 10.10). La *sacarosa* (el azúcar de mesa común) se obtiene comercialmente a partir de la caña de azúcar o de la remolacha azucarera. En este disacárido, los átomos de carbono anoméricos de una unidad de glucosa y de una unidad de fructosa se encuentran enlazados; la configuración de este enlace glicosídico es α en el caso de la glucosa y β en el caso de la fructosa. La enzima *sacarasa* puede escindir la sacarosa liberando los dos monosacáridos que la componen.

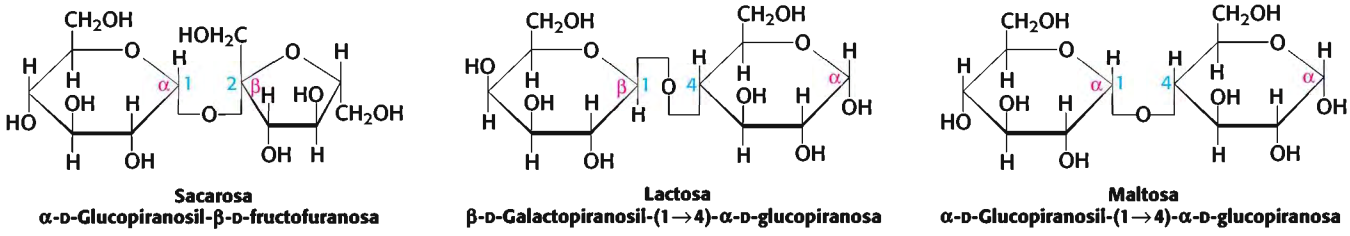


Figura 10.10 Disacáridos más frecuentes. Sacarosa, lactosa y maltosa son componentes habituales en la dieta. Los ángulos de los enlaces al átomo central de oxígeno no implican la presencia de átomos de carbono.

La lactosa, el disacárido de la leche, consta de una galactosa unida a una glucosa mediante un enlace β-1,4-glicosídico. La *lactasa*, en los seres humanos, y la *β-galactosidasa*, en bacterias, hidrolizan la lactosa liberando estos monosacáridos. En la *maltosa*, dos unidades de glucosa se encuentran unidas mediante un enlace α-1,4-glicosídico. La maltosa se obtiene a partir de la hidrólisis de oligosacáridos poliméricos de gran tamaño como el almidón o el glucógeno y, a su vez, se hidroliza a glucosa mediante la *maltasa*. La sacarasa, la lactasa y la maltasa se localizan en las superficies externas de las células epiteliales que recubren el intestino delgado (Figura 10.11). Los productos de la hidrólisis de la sacarosa, la lactosa y la maltosa se pueden seguir procesando para proporcionar energía en forma de ATP.

El glucógeno y el almidón son formas de almacenamiento de la glucosa

Los oligosacáridos poliméricos de gran tamaño, formados por la unión de multitud de monosacáridos, se denominan *polisacáridos* y desempeñan funciones de vital importancia en el almacenamiento de energía y en el mantenimiento de la integridad estructural de un organismo. La diversidad de los distintos monosacáridos que se pueden unir y el elevado número de ordenamientos posibles permiten generar una enorme variedad de polisacáridos distintos. Cuando en un polisacárido todas las unidades de monosacárido son iguales, el polímero se denomina *homopolímero*. En las células animales, el homopolímero más frecuente es el *glucógeno*, la forma de almacenamiento de la glucosa. El glucógeno se encuentra en la mayoría de nuestros tejidos, pero es más abundante en el músculo y en el hígado. Como se verá con más detalle en los Capítulos 24 y 25, el glucógeno es un polímero grande y ramificado de residuos de glucosa. En el glucógeno, la mayoría de las unidades de glucosa están unidas mediante enlaces α-1,4-glicosídicos. Las ramificaciones se forman mediante enlaces α-1,6-glicosídicos, que aparecen aproximadamente cada 10 unidades (**Figura 10.12**).

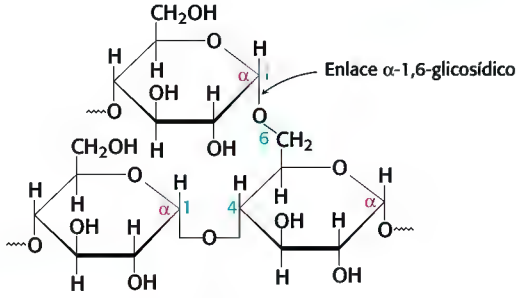


Figura 10.12 Ramificación del glucógeno. Dos cadenas de moléculas de glucosa unidas por enlaces α-1,4-glicosídicos se conectan mediante un enlace α-1,6-glicosídico, con lo que se genera una ramificación. Los enlaces α-1,6-glicosídico de este tipo se forman, aproximadamente, cada 10 unidades de glucosa, lo que convierte al glucógeno en una molécula muy ramificada.



Figura 10.11 Micrografía electrónica de las microvellosidades. La lactasa y otras enzimas que hidrolizan carbohidratos se encuentran en las microvellosidades, las proyecciones que surgen a partir de la cara externa de la membrana plasmática de las células del epitelio intestinal. [Cortesía de Louisa Howard, Universidad de Dartmouth.]

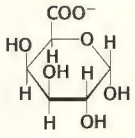
El reservorio nutricional de las plantas es el homopolímero *almidón*, del que existen dos formas. La *amilosa*, la forma no ramificada del almidón, consta de residuos de glucosa con uniones α-1,4. La *amilopectina*, la forma ramificada, presenta aproximadamente un enlace α-1,6 por cada 30 enlaces α-1,4 y su estructura es similar a la del glucógeno salvo por su menor grado de ramificación. Más de la mitad de los carbohidratos ingeridos por los seres humanos es almidón, que se encuentra en el trigo, las patatas y el arroz, por nombrar unas pocas fuentes (**Figura 10.13**). La amilopectina, la amilosa y el glucógeno se hidrolizan rápidamente por medio de la α-*amilasa*, una enzima secretada por las glándulas salivales y el páncreas.



Figura 10.13 La pasta es una fuente habitual de almidón. La pasta, finas láminas de masa sin fermentar y moldeadas de distintas formas, se compone de harina, que tiene un alto contenido de almidón. [Superstock.]

La celulosa, un componente estructural de las plantas, está formada por unidades de glucosa

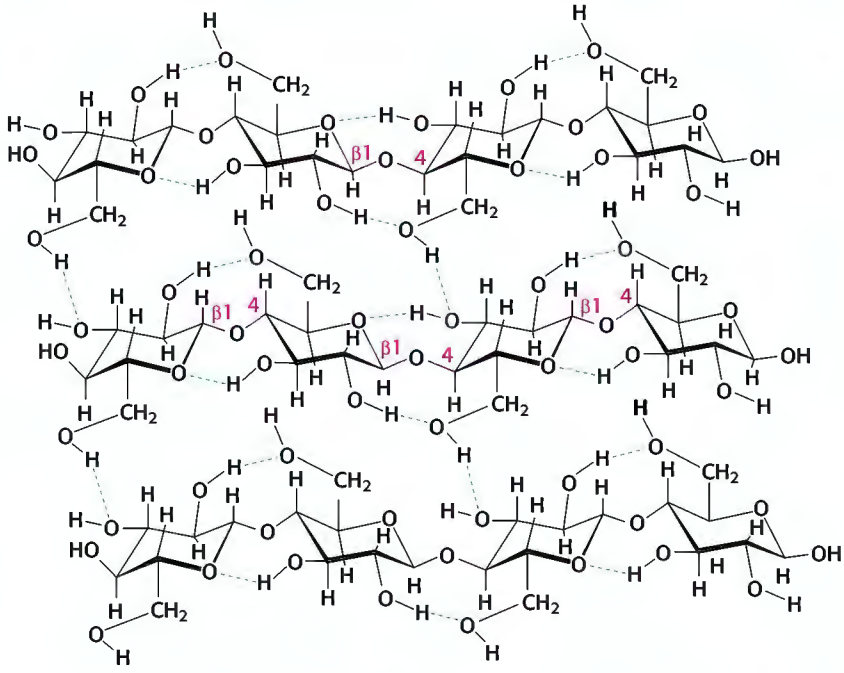
La celulosa, el otro polisacárido mayoritario de la glucosa que está presente en las plantas, desempeña una función estructural en lugar de nutricional y es un componente importante de la pared celular vegetal. *La celulosa se encuentra entre los compuestos orgánicos más abundantes en la biosfera.* Alrededor de 10^{15} kg de celulosa se sintetizan y se degradan en la Tierra cada año, una cantidad 1.000 veces mayor que el peso conjunto de toda la raza humana. La celulosa es un polímero no ramificado de residuos de glucosa unidos mediante enlaces β-1,4, a diferencia del almidón y del glucógeno, que presentan enlaces α-1,4. Esta simple diferencia en la estereoquímica da lugar a dos tipos de moléculas con propiedades y funciones bioquímicas totalmente diferentes. La configuración β permite a la celulosa formar cadenas rectas muy largas. Las cadenas paralelas que interaccionan entre sí mediante puentes de hidrógeno forman unas fibrillas que generan una rígida estructura de soporte. Las cadenas rectas formadas por enlaces β son óptimas para la construcción de fibras con gran resisten-



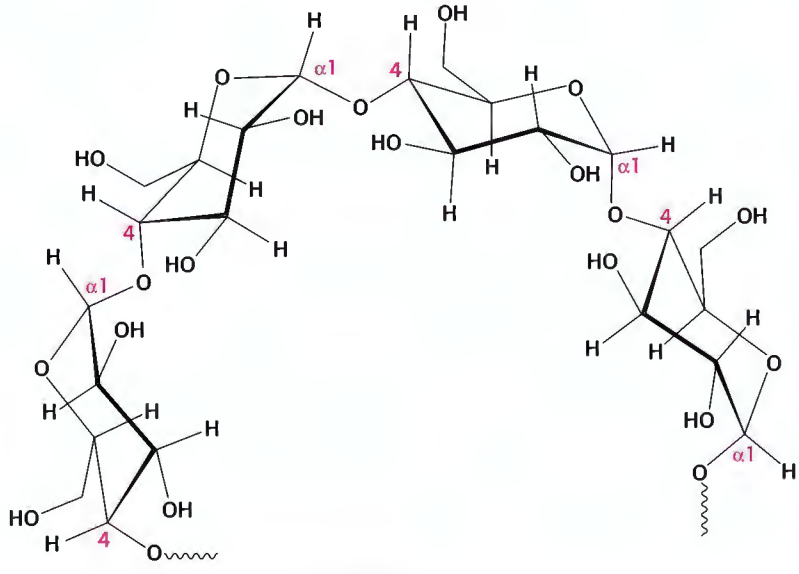
Galacturonato
(ácido galacturónico ionizado)

? **PREGUNTA RÁPIDA 1** Dibuje la estructura del disacárido α-glucosil-(1 → 6)-galactosa en la forma anomérica β.

cia a la tracción. Los enlaces α-1,4 del glucógeno y del almidón generan una arquitectura molecular muy distinta; en lugar de una cadena recta se forma una hélice hueca (**Figura 10.14**). La hélice hueca formada por los enlaces α es muy apropiada para la formación de un almacén de azúcar más compacta y accesible. Aunque los mamíferos carecen de celulasas y, por tanto, no pueden digerir ni la madera ni las fibras vegetales, la celulosa y otras fibras vegetales siguen siendo una parte importante de la dieta de los mamíferos, ya que constituyen la fibra alimentaria. Las fibras solubles, como la *pectina* (ácido poligalacturónico), ralentizan el movimiento de la comida a través del tracto gastrointestinal, permitiendo así una mejor digestión y absorción de nutrientes. Las fibras insolubles, como la celulosa, aumentan la velocidad a la que los productos de la digestión atraviesan el intestino grueso. Este aumento de la velocidad puede minimizar la exposición a las toxinas ingeridas en la dieta.



Celulosa
(enlaces β-1,4)



Almidón y glucógeno
(enlaces α-1,4)

Figura 10.14 Los enlaces glicosídicos determinan la estructura del polisacárido. Los enlaces β-1,4 favorecen cadenas rectas, lo que resulta óptimo para fines estructurales. Los enlaces α-1,4 favorecen estructuras curvadas, que resultan más apropiadas para el almacenamiento.

10.3 Los carbohidratos se unen a proteínas para formar glicoproteínas

✓ 2 Diferenciar los diversos tipos de glicoproteínas, tanto en lo referente a su estructura como a su función.

Un carbohidrato se puede unir covalentemente a una proteína para formar una *glicoproteína*. Estudiaremos tres clases de glicoproteínas. En la primera clase, las denominadas sencillamente glicoproteínas, la parte proteica es el componente mayoritario en peso. Esta polifacética clase desempeña funciones bioquímicas muy variadas. Muchas glicoproteínas forman parte de las membranas celulares, donde intervienen en procesos como la adhesión celular o la unión del espermatozoide a los óvulos. Otras glicoproteínas se forman mediante la unión de carbohidratos a proteínas solubles. Concretamente, muchas de las proteínas secretadas por las células, incluyendo la mayoría de las proteínas presentes en el suero sanguíneo, están glicosiladas, es decir, modificadas por la unión de carbohidratos.

La segunda clase de glicoproteínas son los *proteoglicanos*. El componente proteico de los proteoglicanos está conjugado con un tipo de polisacárido particular, denominado *glicosaminoglicano*. Los carbohidratos representan un porcentaje en peso mucho mayor que en el caso de las glicoproteínas sencillas. Los proteoglicanos funcionan como componentes estructurales y como lubricantes.

La tercera clase de glicoproteínas son las *mucinas* o *mucoproteínas* que, al igual que los proteoglicanos, están compuestas mayoritariamente por carbohidratos. En las mucinas, la *N*-acetilgalactosamina es el carbohidrato que, normalmente, está unido a la proteína. La *N*-acetilgalactosamina es un ejemplo de un *aminoazúcar*, así llamado porque hay un grupo amino que sustituye a un grupo hidroxilo. Las mucinas, un componente clave del moco, funcionan como lubricantes.

Los carbohidratos se pueden unir a los residuos de asparagina, serina o treonina de las proteínas

En todas las clases de glicoproteínas, los azúcares se unen al átomo de nitrógeno amida de la cadena lateral de la asparagina (el denominado *enlace N*) o al átomo de oxígeno hidroxilo de la cadena lateral de la serina o de la treonina (el denominado *enlace O*), tal y como se muestra en la **Figura 10.15**, proceso que recibe el nombre de glicosilación. Todos los oligosacáridos *N*-unidos tienen en común un núcleo de pentasacárido que está formado por tres manosas, un azúcar de seis carbonos, y dos *N*-acetilglucosaminas, una glucosamina en la que el átomo de nitrógeno está unido a un grupo acetilo. A este núcleo se unen otros azúcares para formar la enorme variedad de oligosacáridos que se pueden encontrar en las glicoproteínas (**Figura 10.16**).

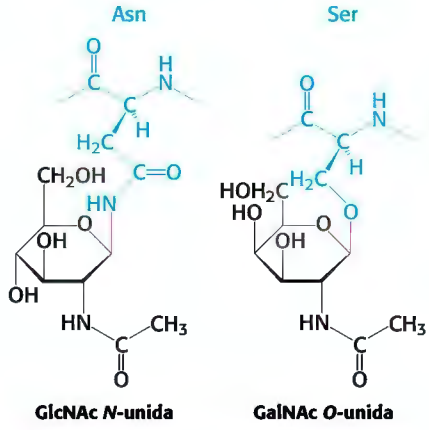


Figura 10.15 Enlaces glicosídicos entre proteínas y carbohidratos. Un enlace glicosídico une un carbohidrato a la cadena lateral de la asparagina (*N*-unido) o a la cadena lateral de la serina o treonina (*O*-unido). Los enlaces glicosídicos se muestran de color rojo. Abreviaturas: GlcNAc, *N*-acetilglucosamina; GalNAc, *N*-acetilgalactosamina.

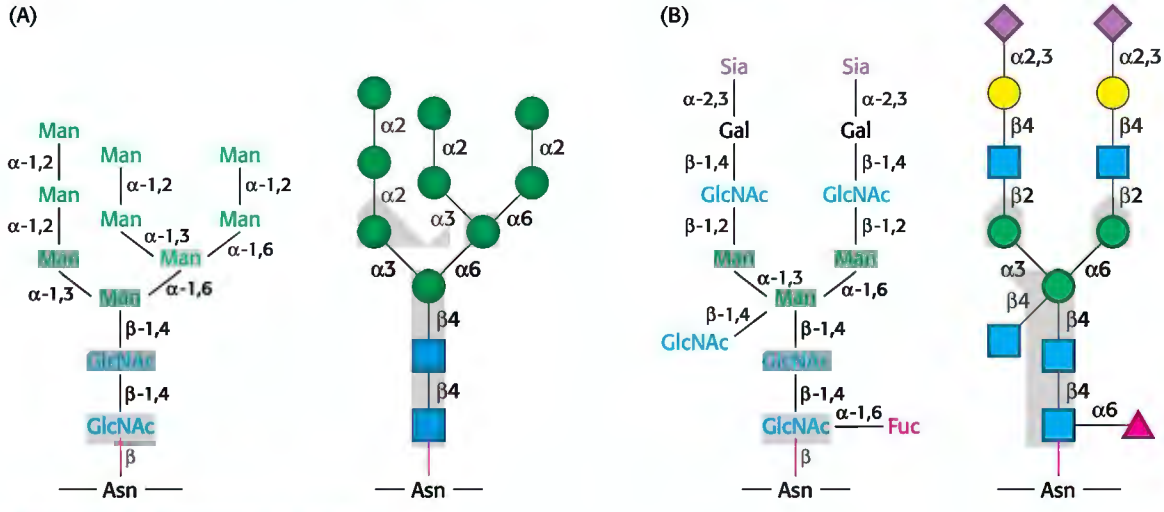


Figura 10.16 Oligosacáridos *N*-unidos. Hay un pentasacárido (sombreado en gris) común a todos los oligosacáridos *N*-unidos que sirve de cimiento para la construcción de una amplia gama de oligosacáridos *N*-unidos, dos de los cuales se muestran en la figura: (A) con alto contenido en manosa; (B) de tipo complejo. En cada caso se muestran las fórmulas químicas detalladas y las estructuras esquemáticas (el código de los símbolos utilizados en el esquema se muestra en la Figura 10.17). Abreviaturas de los azúcares: Fuc, fucosa; Gal, galactosa; GalNAc, *N*-acetilgalactosamina; GlcNAc, *N*-acetilglucosamina; Man, manosa; Sia, ácido siálico.

Aspecto clínico

La hormona eritropoyetina es una glicoproteína

Echemos un vistazo a una glicoproteína presente en el suero sanguíneo que ha mejorado de forma espectacular el tratamiento de la anemia, concretamente la inducida por la quimioterapia contra el cáncer. La hormona *eritropoyetina* (EPO) es una glicoproteína secretada por los riñones que estimula la producción de glóbulos rojos. La EPO está compuesta por 165 aminoácidos y se encuentra *N*-glicosilada en tres residuos de asparagina y *O*-glicosilada en un residuo de serina (Figura 10.17), de manera que el 40% del peso de la EPO madura corresponde a carbohidratos. La glicosilación aumenta la estabilidad de la proteína en la sangre; la proteína no glicosilada solo conserva alrededor de un 10% de la actividad biológica de la forma glicosilada porque es rápidamente retirada de la sangre por el riñón. La disponibilidad de EPO humana recombinante ha ayudado enormemente al tratamiento de las anemias. Algunos atletas de resistencia han utilizado la EPO humana recombinante para incrementar la cantidad de glóbulos rojos y, por tanto, su capacidad para transportar oxígeno, una práctica prohibida por la mayoría de las organizaciones de deportes profesionales. Utilizando la técnica del isoelectroenfoque (p. 73), los laboratorios de análisis de fármacos son capaces de detectar diferencias en los patrones de glicosilación que permiten distinguir en los atletas la EPO natural de algunas formas de EPO recombinante prohibidas. ■

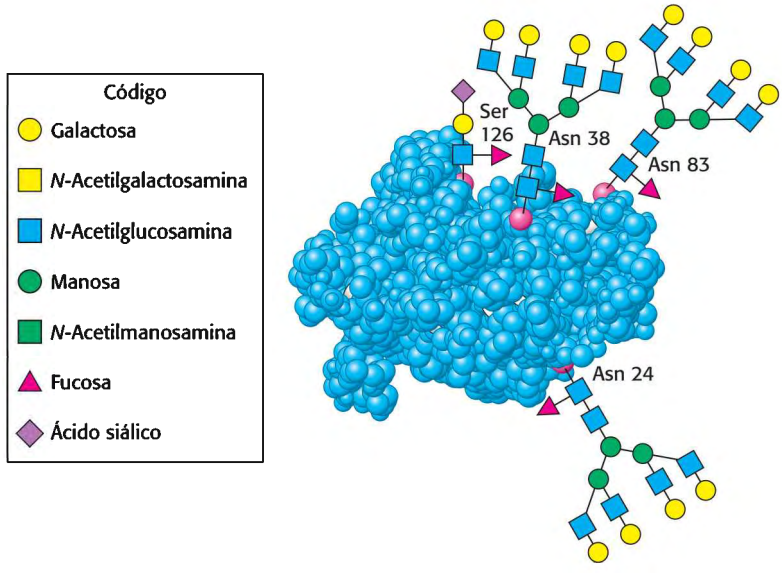


Figura 10.17 Oligosacáridos unidos a la eritropoyetina. La eritropoyetina posee oligosacáridos unidos a tres residuos de asparagina y a un residuo de serina. Las estructuras mostradas se han dibujado, aproximadamente, a la misma escala. Las estructuras de los carbohidratos que aparecen unidos a los residuos de aminoácidos se han representado de forma simbólica utilizando un código cuyo uso está cada vez más extendido (este código es el que se muestra en el recuadro y también es el que se utiliza en las Figuras 10.16, 10.23 y 10.24). [Elaborada a partir de 1BUY.pdb.]

Los proteoglicanos, formados por polisacáridos y proteínas, tienen importantes funciones estructurales

La segunda clase de glicoproteínas que vamos a considerar está compuesta por los proteoglicanos, proteínas unidas a un tipo concreto de polisacáridos denominados glicosaminoglicanos, como ya se comentó anteriormente. El glicosaminoglicano puede representar hasta el 95% de la biomolécula en peso y, por tanto, el proteoglicano se parece más a un polisacárido que a una proteína. Los proteoglicanos no solo funcionan como lubricantes y componentes estructurales del tejido conectivo, sino que también están implicados en la adhesión de las células a la matriz extracelular y en la unión a factores que estimulan la proliferación celular.

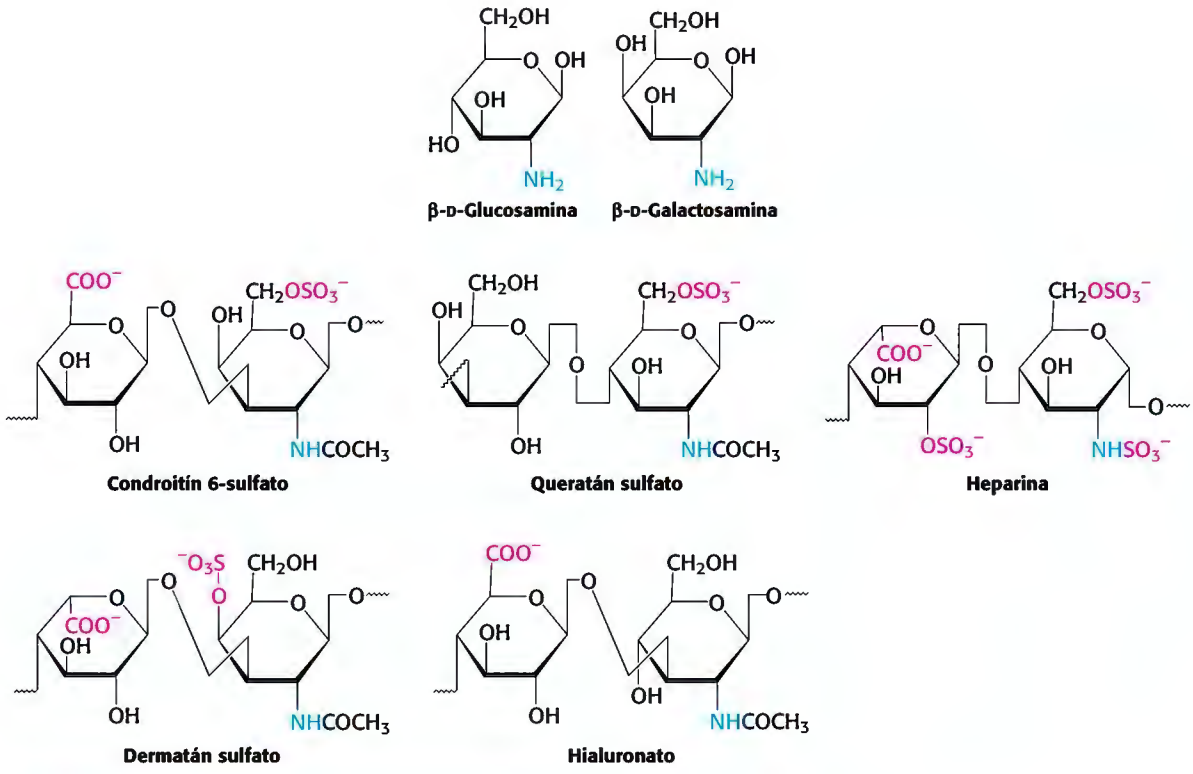


Figura 10.18 Unidades repetitivas de los glicosaminoglicanos. Las fórmulas estructurales de cinco unidades repetitivas de importantes glicosaminoglicanos ilustran la variedad de modificaciones y de enlaces posibles. Los grupos amino se muestran en color azul y los grupos cargados negativamente en rojo. Los átomos de hidrógeno se han omitido para mayor claridad. En cada caso, la estructura de la derecha es un derivado de la glucosamina. A modo de referencia se muestran los azúcares parentales, la β-D-glucosamina y la β-D-galactosamina.

Las propiedades de los proteoglicanos vienen determinadas, fundamentalmente, por el componente glicosaminoglicano. Muchos glicosaminoglicanos están formados por la repetición de un disacárido que contiene un derivado de un aminoazúcar, bien glucosamina o bien galactosamina (**Figura 10.18**). Al menos uno de los dos azúcares de la unidad repetitiva posee *un grupo carboxilato cargado negativamente o un grupo sulfato*. En animales, los principales glicosaminoglicanos son el condroitín sulfato, el queratán sulfato, la heparina, el heparán sulfato y el hialuronato. Las *mucopolisacaridosis* son un conjunto de enfermedades, como la enfermedad de Hurler, que se originan por la incapacidad para degradar glicosaminoglicanos (**Figura 10.19**). Aunque las características clínicas concretas varían con la enfermedad, todas las mucopolisacaridosis dan lugar a deformidades esqueléticas y a una disminución de la esperanza de vida.



Figura 10.19 Enfermedad de Hurler. La enfermedad de Hurler, que antes se denominaba gargolismo, es una mucopolisacaridosis que presenta diversos síntomas: fosas nasales anchas, una depresión del puente nasal, labios y lóbulos de la oreja gruesos y dentadura irregular. En la enfermedad de Hurler no se pueden degradar los glicosaminoglicanos. El exceso de estas moléculas se almacena en los tejidos blandos de las regiones faciales, lo que da lugar a peculiares características faciales. [Cortesía de la National *MPS Society*, www.mpssociety.org]

Aspecto clínico

Los proteoglicanos son componentes importantes del cartílago

El proteoglicano *agrecano* y la proteína colágeno son los componentes fundamentales del cartílago. La triple hélice del colágeno (p. 54) aporta estructura y resistencia a la tracción mientras que el agrecano funciona como amortiguador (**Figura 10.20**). El componente proteico del agrecano es una molécula grande formada por 2.397 aminoácidos (**Figura 10.21**). Muchas moléculas de agrecano están conectadas entre sí por medio del hialuronano, un glicosaminoglicano. Esta combinación de glicosaminoglicano y proteína está especialmente bien adaptada para funcionar como amortiguador. Los glicosaminoglicanos absorben agua, atraída por la gran cantidad de cargas negativas. El agrecano puede amortiguar las fuerzas de compresión porque el agua absorbida permite al proteoglicano recuperar su forma tras haber sido deformado. Cuando se ejerce presión, como, por ejemplo, cuando el pie entra en contacto con el suelo al caminar, el agua del glicosaminoglicano se exprime, lo que amortigua el impacto. Cuando la presión se relaja, el agua se vuelve a unir. La *osteoartritis*, la forma



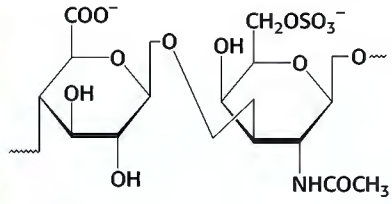


Figura 10.20 El cartílago actúa como un amortiguador. El cartílago del pie de un corredor amortigua el impacto en cada paso que da. A la derecha se muestra la unidad repetitiva de condroitín sulfato, un glicosaminoglicano que forma parte del cartílago. [Radiografía sin título/Nick Veasey/Getty Images.]

más frecuente de artritis, puede aparecer como resultado de la degradación proteolítica del agrecano y del colágeno del cartílago de las articulaciones provocada por una inflamación. Lo más normal es que la causa se deba a un simple "desgaste natural". Se está fomentando mucho la administración de glucosamina y condroitín (ver la Figura 10.18) en los tratamientos para la osteoartritis, pero sus ventajas, excepto para quienes lo fabrican y comercializan, son muy dudosas.



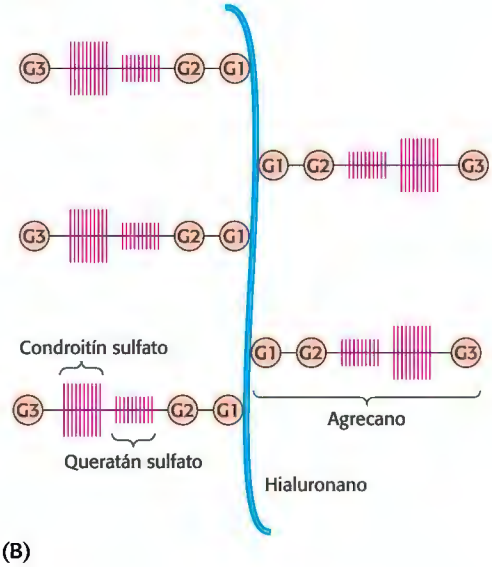


Figura 10.21 Estructura del proteoglicano del cartílago. (A) Micrografía electrónica (coloreada artificialmente) de un proteoglicano del cartílago. Los monómeros de proteoglicano emergen lateralmente a intervalos regulares a ambos lados de un filamento central de hialuronano. (B) Representación esquemática en la que G indica un dominio globular. [(A) Reproducida de Collagen and Related Research, 3, J.A. Buckwalter y L. Rosenberg, Structural Changes during Development in Bovine Fetal Epiphyseal Cartilage, p.489-504, Copyright Elsevier (1983). Cortesía del Dr. Lawrence Rosenberg.]

Aunque los glicosaminoglicanos pueden parecer moléculas poco conocidas, son muy frecuentes en toda la biosfera. La quitina es un glicosaminoglicano que forma parte del exoesqueleto de insectos, crustáceos y arácnidos, siendo, después de la celulosa, el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza (Figura 10.22). ■



Figura 10.22 La quitina, un glicosaminoglicano, está presente en las alas y en el exoesqueleto de los insectos. Los glicosaminoglicanos forman parte del exoesqueleto de insectos, crustáceos y arácnidos. [FLPA/Alamy.]

Las mucinas son glicoproteínas que forman parte del moco

La tercera clase de glicoproteínas que vamos a estudiar está formada por las mucinas (mucoproteínas). En las mucinas, el componente proteico está abundantemente glicosilado en los residuos de serina o de treonina por la *N*-acetilgalactosamina (ver la Figura 10.7). Las mucinas son capaces de formar grandes estructuras poliméricas y son frecuentes en las secreciones mucosas. Estas glicoproteínas son sintetizadas por células especializadas del tracto traqueobronquial, gastrointestinal y urogenital. Dado que una de las principales funciones de las mucinas es la de actuar como lubricante, las mucinas son abundantes en la saliva.

En la Figura 10.23A se muestra un modelo de una mucina. La característica distintiva de las mucinas es una región del esqueleto proteico denominada región con un *número variable de repeticiones en tándem* (VNTR, *variable number of tandem repeats*), que es rica en residuos de serina y treonina *O*-glicosilados. De hecho, los carbohidratos pueden representar hasta el 80% en peso de la molécula. El componente proteico de la mucina se puede conjugar con numerosas estructuras formadas por carbohidratos. La Figura 10.23B muestra una de estas estructuras.

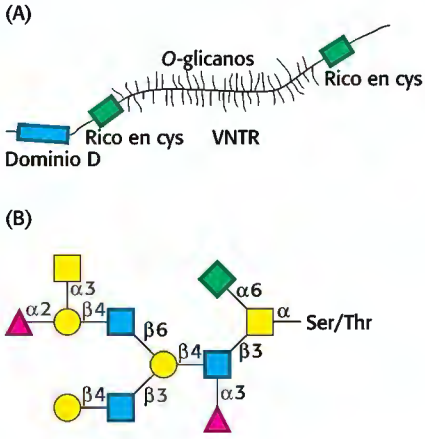


Figura 10.23 Estructura de la mucina. (A) Representación esquemática de una mucoproteína. La región VNTR está muy glicosilada, lo que obliga a la molécula a adoptar una conformación extendida. Los dominios ricos en cisteína y el dominio D facilitan la polimerización de muchas moléculas de este tipo. (B) Ejemplo de un oligosacárido unido a la región VNTR de la proteína. [Tomado de A. Varki, R. D. Cummings, J. D. Esko, H. H. Freeze, G. W. Hart, y M. E. Etzler, *Essentials of Glycobiology*, 2.ª ed. (Cold Spring Harbor Press, 2009), (Parte A) p. 117, Fig. 9.1; (Parte B) p. 118, Fig. 9.2.]

Las mucinas se adhieren a las células epiteliales y actúan a modo de barrera protectora; también hidratan las células subyacentes. Además de proteger las células de agresiones ambientales, como el ácido estomacal, compuestos químicos inhalados en los pulmones y las infecciones bacterianas, las mucinas participan en la fertilización, en la respuesta inmunitaria y en la adhesión celular. Las mucinas se sobreexpresan en la bronquitis y en la fibrosis quística, y la sobreexpresión de las mucinas también es una de las características de los adenocarcinomas —cánceres de las células glandulares de origen epitelial.

Aspecto biológico

Los grupos sanguíneos se basan en los patrones de glicosilación de las proteínas

Los grupos sanguíneos humanos ABO ilustran los efectos de las glicosiltransferasas. Cada grupo sanguíneo se designa por la presencia de uno de los tres carbohidratos distintos, denominados A, B y O, en la superficie de los glóbulos rojos (**Figura 10.24**). Estas estructuras tienen en común un oligosacárido básico denominado antígeno O (a veces también se le llama H). Los antígenos A y B se diferencian del antígeno O por la adición de un monosacárido extra, bien una *N*-acetilgalactosamina (en el caso del antígeno A) o bien una galactosa (en el caso del antígeno B), a la unidad de galactosa del antígeno O por medio de un enlace α-1,3.

Glicosiltransferasas específicas añaden el monosacárido extra al antígeno O. Hay tres genes que codifican estas glicosiltransferasas y cada persona hereda de cada padre los genes de cada tipo. La transferasa de tipo A añade específicamente la *N*-acetilgalactosamina, mientras que la transferasa de tipo B añade galactosa. Estas enzimas son idénticas excepto en 4 de sus 354 posiciones. El fenotipo O es el resultado de una mutación que da lugar a una terminación prematura de la traducción y, por tanto, a la producción de una glicosiltransferasa inactiva.

Estas estructuras tienen importantes repercusiones en las transfusiones de sangre y en otros procesos de trasplante. Si se introduce un antígeno que normalmente no está presente en una persona, el sistema inmunitario de esa persona lo reconocerá como extraño. Se pueden producir reacciones adversas que empezarán por la destrucción intravascular de los glóbulos rojos incompatibles.

¿Por qué hay diferentes tipos de sangre en la población humana? Supongamos que un organismo patógeno como, por ejemplo, un parásito, expresa sobre su superficie celular un antígeno que resulta ser un carbohidrato parecido a uno de los antígenos de los grupos sanguíneos. Este antígeno puede no ser detectado inmediatamente como extraño en una persona con un tipo de sangre que coincida con el antígeno del parásito y el parásito podrá proliferar. Sin embargo, otras personas con tipos de

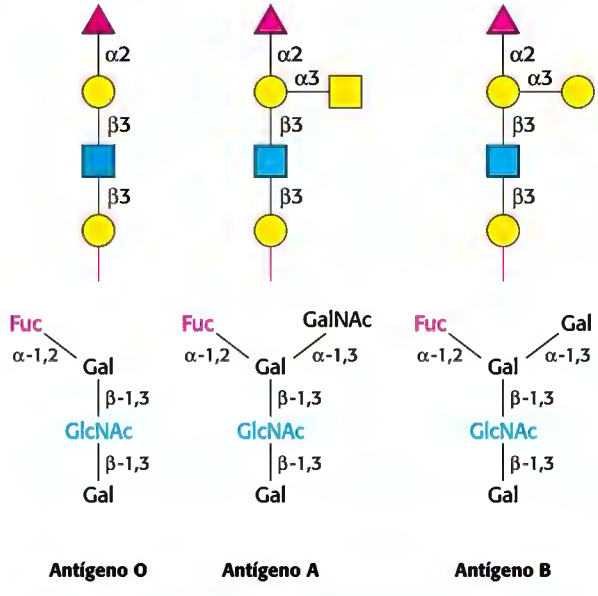


Figura 10.24 Estructura de los oligosacáridos antigénicos A, B y O. Las estructuras de los carbohidratos mostrados en la parte superior de esta ilustración se han dibujado mediante símbolos (se ajustan al código de la Figura 10.17).

sangre diferentes estarían protegidas. Por tanto, habrá presión selectiva tanto sobre los seres humanos, para que diversifiquen los tipos de sangre y eviten el mimetismo de los parásitos, como sobre los parásitos, para que mejoren el mimetismo. La constante "carrera armamentística" entre los microorganismos patógenos y los seres humanos impulsa la evolución de los diversos antígenos superficiales en la población humana. ■

? PREGUNTA RÁPIDA 2 ¿Qué aminoácidos se utilizan para la unión de los carbohidratos a las proteínas?

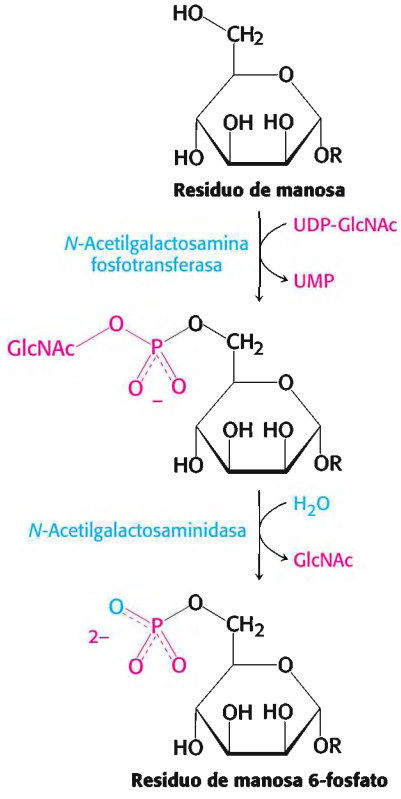


Figura 10.25 Formación del marcador manosa 6-fosfato. Una glicoproteína destinada a ser entregada en los lisosomas adquiere un fosfato marcador en el aparato de Golgi mediante un proceso que consta de dos etapas. En primer lugar, la *N*-acetilgalactosamina fosfotransferasa añade una unidad de fosfo-*N*-acetilglucosamina al grupo 6-OH de un residuo de manosa; posteriormente, la *N*-acetilgalactosaminidasa elimina el azúcar añadido generando un residuo de manosa 6-fosfato en el oligosacárido básico.

Aspecto clínico

La falta de glicosilación puede dar lugar a estados patológicos

Aunque en la mayoría de los casos no se conoce con detalle el papel de la unión de carbohidratos a proteínas, los datos indican que esta glicosilación es importante para el procesamiento y la estabilidad de estas proteínas, como en el caso de la EPO. Por ejemplo, ciertos tipos de distrofia muscular pueden deberse a una glicosilación incorrecta de las proteínas de membrana. De hecho, se ha identificado toda una familia de enfermedades hereditarias humanas graves denominada *trastornos congénitos de la glicosilación*. Estos estados patológicos ponen de manifiesto la importancia de una correcta modificación de las proteínas mediante carbohidratos y sus derivados.

Un ejemplo especialmente claro del papel de la glicosilación es la *enfermedad de las células I* (también llamada mucolipidosis II), una enfermedad relacionada con el almacenamiento en los lisosomas. Normalmente, un carbohidrato marcador dirige ciertas enzimas digestivas desde el aparato de Golgi a los lisosomas, donde suelen llevar a cabo su función. Los *lisosomas* son orgánulos que degradan y reciclan los componentes celulares dañados o el material que ha entrado en la célula por endocitosis (p. 13). En pacientes con la enfermedad de las células I, los lisosomas contienen grandes *inclusiones* de glicosaminoglicanos y glicolípidos sin digerir (p. 168), de ahí la "I" que aparece en el nombre de la enfermedad. Estas inclusiones están presentes porque los lisosomas afectados carecen de las enzimas que normalmente se encargan de la degradación de los glicosaminoglicanos. Sorprendentemente, las enzimas están presentes a concentraciones muy elevadas tanto en la sangre como en la orina. Por tanto, se sintetizan las enzimas activas, pero, en ausencia de una glicosilación apropiada, son exportadas en lugar de ser recluidas en los lisosomas. En otras palabras, *en la enfermedad de las células I, toda una serie de enzimas se envía de forma incorrecta y se entregan en el lugar equivocado*. Normalmente, estas enzimas contienen un residuo de manosa 6-fosfato que se une mediante una reacción que transcurre en dos etapas, catalizadas por la *N*-acetilgalactosamina fosfotransferasa y por la *N*-acetilgalactosaminidasa, respectivamente (**Figura 10.25**). En la enfermedad de las células I, la manosa unida carece de un grupo fosforilo por culpa de una mutación en el gen de la transferasa. De hecho, la manosa 6-fosfato es el marcador que normalmente dirige muchas enzimas hidrolíticas desde el aparato de Golgi a los lisosomas. Los pacientes con la enfermedad de las células I carecen de la fosfotransferasa que cataliza la primera etapa de la adición del grupo fosforilo; la consecuencia es el envío de ocho enzimas esenciales a destinos equivocados. La enfermedad de las células I hace que los pacientes sufran grave retraso psicomotor y malformaciones esqueléticas parecidas a las provocadas por la enfermedad de Hurler (p. 169). Curiosamente, las mutaciones en el gen de la fosfotransferasa también se han relacionado con la tartamudez. No se sabe por qué algunas mutaciones provocan la enfermedad de las células I y otras la tartamudez. ■

10.4 Las lectinas son proteínas que se unen a carbohidratos de forma específica

La diversidad y complejidad de las unidades de carbohidrato y la variedad de formas en que pueden estar unidas en los oligosacáridos y en los polisacáridos sugiere que son importantes desde el punto de vista funcional. La naturaleza no construye patrones complejos cuando basta con uno sencillo. Entonces, ¿a qué se debe toda esta diversidad y complejidad? Hoy en día está claro que estas estructuras formadas por carbohidratos son lugares de reconocimiento para una clase especial de proteínas. Estas proteínas, denominadas *proteínas de unión a glicanos*, se unen a determinadas

estructuras formadas por carbohidratos de la superficie de las células vecinas. Descubiertas por primera vez en las plantas, las proteínas de unión a glicanos son ubicuas y no se ha encontrado ningún ser vivo que carezca de estas proteínas esenciales. Nos centraremos en una clase particular de proteínas de unión a glicanos que se conoce con el nombre de *lectinas* (del latín *legere*, "seleccionar"). La interacción de las lectinas con sus carbohidratos correspondientes es otra muestra de que los carbohidratos son moléculas ricas en información que dirigen multitud de procesos biológicos. Las diversas estructuras formadas por carbohidratos que se pueden encontrar sobre las superficies celulares están muy bien adaptadas para actuar como lugares de interacción entre las células y sus entornos. Curiosamente, las parejas a las que se unen las lectinas son, en muchos casos, los carbohidratos que forman parte de las glicoproteínas.

Las lectinas promueven la interacción entre células

El contacto célula-célula es una interacción esencial para un gran número de funciones bioquímicas, que van desde la formación de un tejido a partir de células aisladas hasta facilitar la transmisión de información. La principal función de las lectinas consiste en facilitar los contactos célula-célula. Normalmente, una lectina posee dos o más lugares de unión para moléculas de carbohidrato. Estos lugares de unión a carbohidratos de la superficie de una célula interaccionan con los carbohidratos expuestos sobre la superficie de otra célula. Las lectinas y los carbohidratos se unen por medio de una serie de interacciones no covalentes débiles que aseguran la especificidad y, a la vez, permiten su separación en caso de que sea necesario. Las interacciones débiles entre la superficie de una célula y la de otra se parecen al funcionamiento del Velcro; cada interacción es débil pero el conjunto es fuerte.

Aunque de pasada, ya nos hemos cruzado con una lectina. Recordemos que, en la enfermedad de las células I, las enzimas lisosomales carecen de manosa 6-fosfato, una molécula que dirige las enzimas hacia el lisosoma. En circunstancias normales, el *receptor de manosa 6-fosfato*, una lectina, se une a las enzimas en el aparato de Golgi y las dirige hacia el lisosoma.



Figura 10.26 Las selectinas intervienen en las interacciones célula-célula. La micrografía electrónica de barrido muestra unos linfocitos adheridos al revestimiento endotelial de un nódulo linfático. Las selectinas L de la superficie del linfocito se unen de forma específica a los carbohidratos del revestimiento de los vasos del nódulo linfático. [Cortesía del Dr. Eugene Butcher.]

Aspecto clínico

Las lectinas facilitan el desarrollo embrionario

Una clase de lectinas está integrada por unas proteínas denominadas *selectinas*, que durante la respuesta inflamatoria unen las células del sistema inmunitario a los lugares donde se ha producido una lesión (Figura 10.26). Las formas L, E y P de las selectinas se unen específicamente a carbohidratos de los vasos de los nódulos *l*infáticos, del *e*ndotelio o de *p*laquetas sanguíneas activadas, respectivamente. La L-selectina, que al principio se pensaba que solo intervenía en la respuesta inmunitaria, es producida por el embrión cuando está listo para adherirse al endometrio del útero materno. Durante un breve periodo de tiempo, las células del endometrio presentan un oligosacárido sobre la superficie celular. Cuando el embrión se une por medio de lectinas, la unión activa rutas señalizadoras en el endometrio para hacer posible la implantación del embrión. ■

Aspecto clínico

El virus de la gripe se une a residuos de ácido siálico

Algunos virus consiguen entrar en las células huésped específicas adhiriéndose a los carbohidratos de la superficie celular. Por ejemplo, el virus de la gripe reconoce los residuos de ácido siálico unidos a los residuos de galactosa que se encuentran en las glicoproteínas de la superficie celular. La proteína vírica que se une a estos azúcares se denomina *hemaglutinina* (Figura 10.27).

Cuando el virus atraviesa la membrana celular, otra proteína vírica, la neuraminidasa (sialidasa), rompe los enlaces glicosídicos de los residuos de ácido siálico, dejando libre al virus para que infecte la célula. Los inhibidores de esta enzima, como el oseltamivir (Tamiflu) y el zanamivir (Relenza), son importantes agentes antigripales.

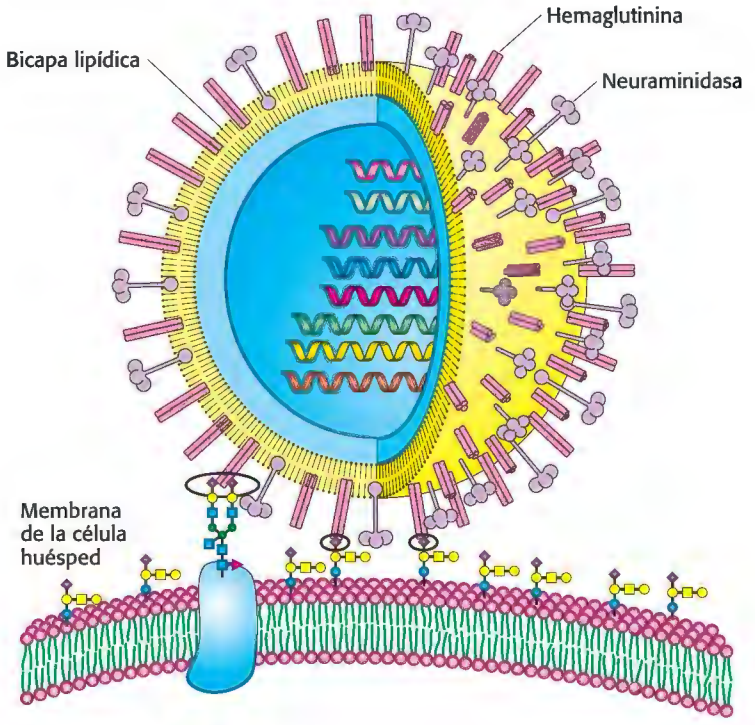


Figura 10.27 Receptores víricos. El virus de la gripe se dirige a las células diana uniéndose a los residuos de ácido siálico (rombos de color púrpura) localizados en los extremos de los oligosacáridos presentes en las glicoproteínas y en los glicolípidos de la superficie celular. La hemaglutinina, una de las proteínas más importantes que se expresan sobre la superficie del virus, se une a estos carbohidratos (interacción señalada mediante óvalos negros). La otra proteína importante de la superficie vírica, la neuraminidasa, es una enzima que rompe las cadenas de oligosacárido liberando a la partícula vírica para que pueda iniciar la siguiente etapa del ciclo vital del virus.

La especificidad de la unión de las hemaglutininas víricas a los carbohidratos puede desempeñar un papel importante en la especificidad de la infección hacia determinadas especies y en la facilidad de transmisión. Por ejemplo, la gripe aviar H5N1 es especialmente mortífera y se propaga fácilmente de un ave a otra. Aunque los seres humanos pueden resultar infectados por este virus, las infecciones son raras y la transmisión de un ser humano a otro todavía más. La base bioquímica de todo ello es que la hemaglutinina del virus aviar reconoce una secuencia de carbohidratos distinta de la que se reconoce en la gripe humana. Aunque los seres humanos poseen esta secuencia, se encuentra en una zona profunda de los pulmones. La infección, por tanto, resulta difícil y, cuando se produce, el virus aviar no se transmite fácilmente al toser o estornudar. ■

Resumen

10.1 Los monosacáridos son los carbohidratos más sencillos

Una aldosa es un carbohidrato con un grupo aldehído (como el gliceraldehído o la glucosa), mientras que una cetosa contiene un grupo ceto (como la dihidroxiacetona o la fructosa). Un azúcar pertenece a la serie D si la configuración absoluta de su átomo de carbono asimétrico más alejado del grupo aldehído o del grupo ceto es igual que la del D-gliceraldehído. La mayoría de las azúcares que se encuentran en la naturaleza pertenece a la serie D. En la forma abierta de la glucosa, el aldehído del C-1 reacciona con el grupo hidroxilo del C-5 para formar un anillo de piranosa de seis átomos. En la forma abierta de la fructosa, el grupo ceto del C-2 reacciona con el grupo hidroxilo del C-5 para formar un anillo de furanosa de cinco átomos. Las pentosas como la ribosa y la desoxirribosa también forman anillos de furanosa. Al originarse uno de estos anillos surge un centro de asimetría adicional en el átomo de carbono anomérico (el C-1 de las aldosas y el C-2 de las cetosas). Los azúcares se unen a alcoholes y aminas por el átomo de carbono anomérico mediante enlaces glicosídicos.

10.2 Los monosacáridos se unen para formar carbohidratos complejos

En los disacáridos y polisacáridos, los azúcares se encuentran unidos entre sí mediante enlaces *O*-glicosídicos. La sacarosa, la lactosa y la maltosa son los disacáridos más frecuentes. La sacarosa (el azúcar de mesa común) consta de una α-glucosa y una β-fructosa unidas mediante un enlace glicosídico entre sus átomos de carbono anoméricos. La lactosa (en la leche) consta de una galactosa unida a una glucosa por medio de un enlace β-1,4. La maltosa (en el almidón)

consta de dos glucosas unidas mediante un enlace α-1,4. El almidón es una forma polimérica de la glucosa en plantas y el glucógeno desempeña un papel similar en animales. La mayoría de las unidades de glucosa del almidón y del glucógeno se unen mediante enlaces α-1,4. El glucógeno presenta más ramificaciones, formadas por enlaces α-1,6, que el almidón y, por tanto, el glucógeno es más soluble. La celulosa, el polímero estructural mayoritario de las paredes celulares vegetales, consta de unidades de glucosa unidas mediante un enlace β-1,4. Estas uniones β dan lugar a largas cadenas rectas que forman fibrillas con gran resistencia a la tracción. Por el contrario, las uniones α del almidón y del glucógeno dan lugar a hélices abiertas, en consonancia con el papel que juegan como reservas energéticas movilizables.

10.3 Los carbohidratos se unen a proteínas para formar glicoproteínas

Con frecuencia, los carbohidratos se encuentran conjugados con proteínas. Enzimas específicas unen las unidades de oligosacárido a las proteínas, bien al átomo de oxígeno de la cadena lateral de un residuo de serina o treonina, o bien al átomo de nitrógeno de la cadena lateral de un residuo de asparagina. Si el componente proteico es el que predomina, el complejo formado por proteína y carbohidrato se denomina glicoproteína. La mayoría de las proteínas que se secretan son glicoproteínas. La eritropoyetina, una molécula señal, es una glicoproteína. Las glicoproteínas también son abundantes en la superficie externa de la membrana plasmática. Las proteínas que están unidas covalentemente a glicosaminoglicanos son proteoglicanos. Los glicosaminoglicanos son polímeros de disacáridos repetitivos. En cada repetición, una de las unidades es un derivado de la glucosamina o de la galactosamina. En las mucoproteínas, al igual que en los proteoglicanos, el componente mayoritario en peso es el carbohidrato. El componente proteico se encuentra intensamente *O*-glicosilado y la unión del oligosacárido a la proteína se produce mediante la *N*-acetilglucosamina. Las mucoproteínas actúan como lubricantes.

10.4 Las lectinas son proteínas que se unen a carbohidratos de forma específica

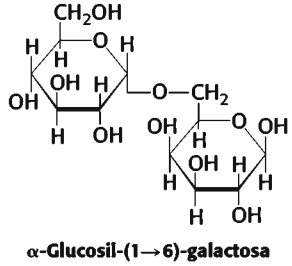
Los carbohidratos de las superficies celulares son reconocidos por unas proteínas denominadas lectinas. En animales, la interacción de las lectinas con sus azúcares diana correspondientes dirige los contactos célula-célula. La proteína vírica hemaglutinina que se encuentra en la superficie del virus de la gripe reconoce los residuos de ácido siálico localizados en la superficie de las células invadidas por el virus.

Términos clave

monosacárido (p. 158)
cetosa (p. 158)
aldosa (p. 158)
enantiómero (p.159)
diastereoisómero (p. 159)
epímero (p. 159)
anómero (p. 161)
azúcar reductor (p. 161)
azúcar no reductor (p. 161)
enlace glicosídico (p. 162)
oligosacárido (p. 163)
glicosiltransferasa (p. 163)
disacárido (p. 164)
polisacárido (p. 165)
glucógeno (p. 166)
almidón (p. 166)
celulosa (p. 166)
glicoproteína (p. 167)
proteoglicano (p. 167)
glicosaminoglicano (p. 167)
mucina (mucoproteína) (p. 167)
lisosoma (p. 172)
lectina (p. 172)
selectina (p. 173)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1.



α-Glucosil-(1→6)-galactosa

2. Asparagina, serina y treonina.

Problemas

1. *El origen de la palabra.* Explique el origen del término *carbohidrato.* ✓ 1

2. *Diversidad.* ¿Cuántos oligosacáridos distintos se pueden obtener uniendo un residuo de glucosa, uno de manosa y uno de galactosa? Suponga que cada azúcar está en su forma piranosa. Compare este número con el número de tripéptidos que se pueden obtener con tres aminoácidos distintos. ✓ 1

3. *Van juntos, como el caballo y el carruaje.* Asigne a cada término la descripción correspondiente.

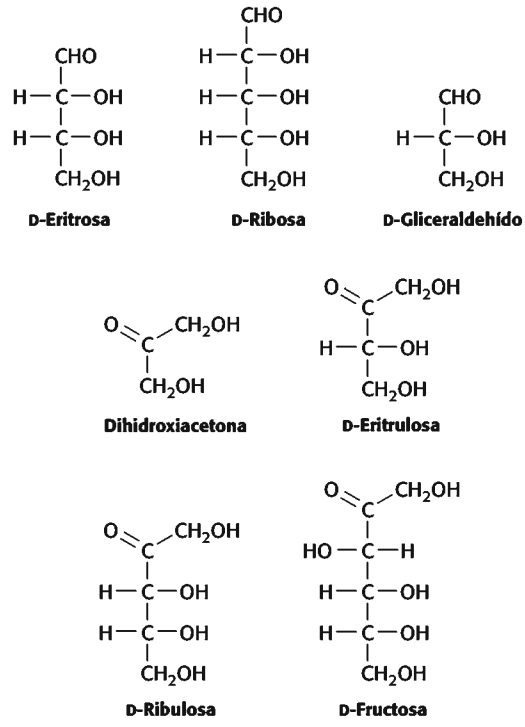
(a) Enantiómeros _____
(b) Celulosa _____
(c) Lectinas _____
(d) Glicosiltransferasas _____
(e) Epímeros _____
(f) Almidón _____
(g) Carbohidratos _____
(h) Proteoglicano _____
(i) Mucoproteína _____
(j) Glucógeno _____

1. Su fórmula molecular es $(CH_2O)n$
2. Monosacáridos que difieren en un único átomo de carbono asimétrico
3. Forma de almacenamiento de la glucosa en animales
4. Forma de almacenamiento de la glucosa en plantas
5. Glicoproteína que contiene glicosaminoglicanos
6. La molécula orgánica más abundante de la biosfera
7. La *N*-acetilgalactosamina es un componente clave de esta glicoproteína
8. Proteínas que se unen a carbohidratos
9. Enzimas que sintetizan oligosacáridos
10. Estereoisómeros que son imágenes especulares entre sí

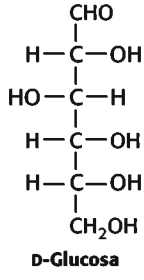
4. *Parejas.* Indique si cada una de las siguientes parejas de azúcares está formada por anómeros, epímeros o una pareja aldosa-cetosa. ✓ 1

(a) D-Gliceraldehído y dihidroxiacetona
(b) D-Glucosa y D-manosa
(c) D-Glucosa y D-fructosa
(d) α-D-Glucosa y β-D-glucosa
(e) D-Ribosa y D-ribulosa
(f) D-Galactosa y D-glucosa

5. *Carbonos y carbonilos.* ¿A qué clases de azúcares pertenecen los monosacáridos mostrados a continuación? ✓ 1



6. *Primos químicos.* Aunque una aldosa con 4 átomos de carbono asimétricos es capaz de formar 16 estereoisómeros, solo 8 de los isómeros se observan habitualmente, entre los que se incluye la glucosa. Son los citados en la lista que se muestra justo después de la estructura de la D-glucosa, que también indica su relación estructural con la glucosa. Utilizando la estructura de la glucosa como referencia, dibuje sus estructuras. ✓ 1



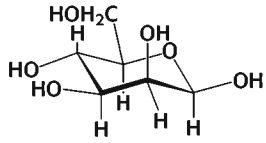
D-Alosa: epimérica en C-3
D-Altrosa: isomérica en C-2 y C-3
D-Manosa: epimérica en C-2
D-Gulosa: isomérica en C-3 y C-4
D-Idosa: isomérica en C-2, C-3 y C-4
D-Galactosa: epimérica en C-4
D-Talosa: isomérica en C-2 y C-4

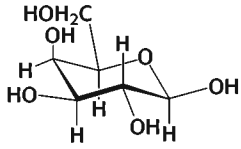
7. *Marcaje revelador.* La glucosa reacciona lentamente con la hemoglobina y otras proteínas para formar compuestos covalentes. ¿Por qué es reactiva la glucosa? ¿Cuál es la naturaleza del compuesto formado? ✓ 1

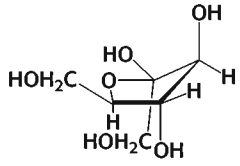
8. *Una propiedad perdida.* La glucosa y la fructosa son azúcares reductores. La sacarosa, o azúcar de mesa, es un disacárido que contiene ambas, fructosa y glucosa. ¿Es la sacarosa un azúcar reductor? Explique por qué. ✓ 1

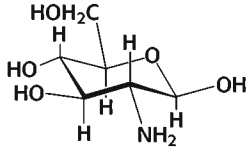
9. *Procedencia del oxígeno.* ¿De dónde procede el átomo de oxígeno unido al C-1 del metil α-D-glucopiranósido?, ¿de la glucosa o del metanol? ✓ 1

10. *Rueda de reconocimiento de azúcares.* Identifique los cuatro azúcares siguientes. ✓ 1

(a) 

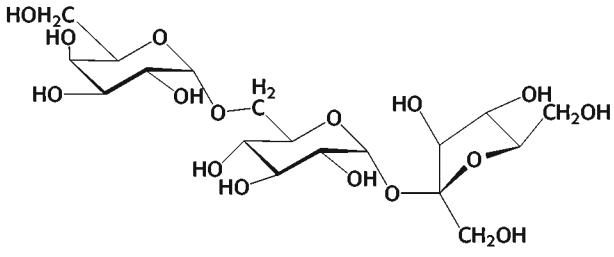
(b) 

(c) 

(d) 

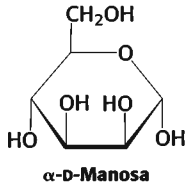
11. *Pegamento celular.* Se cree que un trisacárido de una glicoproteína de la superficie celular desempeña un papel crucial en la adhesión célula-célula en un tejido concreto. Diseñe un experimento que le permita comprobar esta hipótesis. ✓ 2

12. *Partes componentes.* La rafinosa es un trisacárido y un componente minoritario de la remolacha azucarera. ✓ 2
(a) ¿Es la rafinosa un azúcar reductor? ¿Por qué?
(b) ¿Cuáles son los monosacáridos que componen la rafinosa?
(c) La β-galactosidasa es una enzima que elimina residuos de galactosa de un oligosacárido. ¿Cuáles serán los productos del tratamiento de la rafinosa con β-galactosidasa?



Rafinosa

13. *Diferencias anoméricas.* La α-D-manosa es un azúcar de sabor dulce. Por otra parte, la β-D-manosa tiene un sabor más amargo. Con el tiempo, una disolución pura de α-D-manosa pierde su sabor dulce, a medida que se convierte en el anómero β. Dibuje el anómero β y explique cómo se forma a partir del anómero α. ✓ 1



α-D-Manosa

14. *Sabor a miel.* La fructosa en su forma β-D-piranosa es responsable del intenso dulzor de la miel. La forma β-D-furanosa, aunque dulce, no es tan dulce como la forma piranosa. La forma furanosa es la más estable. Dibuje las dos formas y explique por qué no es siempre una buena idea cocinar con miel. ✓ 1

15. *Juntando los extremos.* (a) Compare el número de extremos reductores con el de extremos no reductores en una molécula de glucógeno. (b) Como veremos en el Capítulo 24, el glucógeno es una importante forma de almacenamiento de combustible que se puede movilizar rápidamente. ¿En qué extremo, reductor o no reductor, cree que tiene lugar la mayor parte del metabolismo? ✓ 1

16. *Carne con patatas.* Compare las estructuras del glucógeno y del almidón. ✓ 1

17. *¿En línea recta o con un giro?* Explique las diferentes estructuras del glucógeno y de la celulosa. ✓ 1

18. *Proteínas dulces.* Enumere las principales clases de glicoproteínas, sus características distintivas y sus funciones biológicas. ✓ 2

19. *Prolonga la vida.* ¿Cuál es la función de los carbohidratos unidos a la EPO? ✓ 2

20. *Carbohidratos, no solo para desayunar.* ¿Qué diferencias hay entre una glicoproteína y una lectina? ✓ 2

21. *Amortiguación.* ¿Cuál es la función del glicosaminoglicano en la amortiguación que proporciona el cartílago? ✓ 2

22. *Llaves y cerraduras.* ¿Qué sugiere el hecho de que todos los organismos posean lectinas en relación con la función de los carbohidratos? ✓ 2

23. *Correo sin entregar. No devuelto al remitente.* La enfermedad de las células I surge cuando las proteínas que normalmente están destinadas a los lisosomas carecen de la molécula de carbohidrato apropiada para enviarla a su destino (p. 172). Sugiera otra posible mecanismo para la aparición de la enfermedad de las células I. ✓ 2

24. *Carbohidratos y proteómica.* Suponga que una proteína contiene seis posibles lugares de glicosilación mediante enlaces *N*-glicosídicos. ¿Cuántas proteínas posibles se pueden generar en función de cuáles de estos sitios se encuentren realmente glicosilados? No tenga en cuenta los efectos debidos a la diversidad de los carbohidratos añadidos. ✓ 2

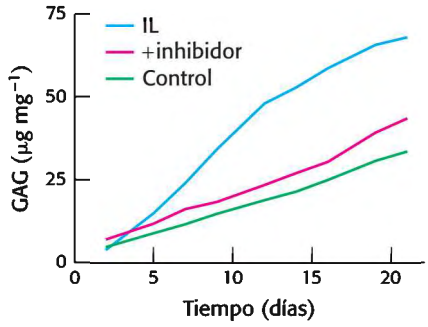
25. *Multitud de posibilidades.* ¿Por qué se considera que los polisacáridos son moléculas ricas en información? ✓ 1

Problema de integración de capítulos

26. *Estereoespecificidad.* La sacarosa, uno de los principales productos de la fotosíntesis en las hojas verdes, se sintetiza por medio de toda una batería de enzimas. En disolución, los sustratos para la síntesis de sacarosa, la D-glucosa y la D-fructosa, son una mezcla de los anómeros α y β, así como de compuestos acíclicos. No obstante, la sacarosa está formada por α-D-glucosa unida mediante su átomo C-1 al átomo C-2 de la β-D-fructosa. ¿Cómo se puede explicar la especificidad de la sacarosa a la vista de sus posibles sustratos?

Problema de interpretación de datos

27. *Articulaciones doloridas.* Uno de los factores que contribuye a la artritis es la inapropiada destrucción proteolítica del componente agrecano del cartílago por medio de la enzima proteolítica agrecanasa. La interleucina 2 (IL-2), una molécula señal del sistema inmunitario, activa la agrecanasa; de hecho, a veces se utilizan sustancias que bloquean la IL-2 para tratar la artritis. Se llevaron a cabo unos estudios para determinar si los inhibidores de la agrecanasa pueden contrarrestar los efectos de la IL-2. Se incubaron fragmentos de cartílago en medios a los que se añadieron diversas sustancias y se midió la destrucción del agrecano en función del tiempo. ✓ 1



[Tomado de M.A. Pratta y col. *J. Biol. Chem.* 278: 45539-45545, 2003, Fig. 7B.]

(a) La degradación del agrecano se midió como liberación de glicosaminoglicano. ¿En qué se basa este ensayo?
(b) ¿En qué casos la liberación de glicosaminoglicano no nos estaría indicando la degradación del agrecano?
(c) ¿Para qué se prepara una muestra control —cartílago incubado al que no se le añade nada?
(d) ¿Cuál es el efecto de la adición de IL-2 al sistema?
(e) ¿Cuál es la respuesta cuando, además de la IL-2, se añade un inhibidor de la agrecanasa?
(f) ¿Por qué con el paso del tiempo se observa algo de destrucción de agrecano en el control?

Problemas para atrevidos

28. *Mutarrotación.* Las rotaciones específicas de los anómeros α y β de la D-glucosa son +112° y +18,7°, respectivamente. Se define la rotación específica $[\alpha]_D$ como la rotación que se observa cuando la luz de una longitud de onda de 589 nm (la línea D de una lámpara de sodio) atraviesa 10 cm de una disolución de la muestra con una concentración de 1 g ml^{-1}. Cuando se disuelve una muestra cristalina de α-D-glucopiranosa en agua, la rotación específica disminuye de 112° a un valor en el equilibrio de 52,7°. Basándose en este resultado, ¿cuáles son las proporciones de los anómeros α y β en el equilibrio? Suponga que la concentración de la forma de cadena abierta es insignificante. ✓ 1

29. *Ruptura con peryodato.* Al tratar con el ion peryodato (IO_4^-) compuestos que contienen grupos hidroxilo en átomos de carbono adyacentes, se rompe el enlace carbono-carbono. ¿Cómo se puede utilizar esta reacción para distinguir entre piranósidos y furanósidos? ✓ 1

30. *Cartografía de la molécula.* Cada uno de los grupos hidroxilo de la glucosa se puede metilar mediante reactivos como el dimetilsulfato en un medio básico. Explique cómo una metilación exhaustiva seguida de la digestión completa de una cantidad conocida de glucógeno le podría permitir determinar el número de ramificaciones y el número de extremos reductores.

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 11

Lípidos

11.1 Los ácidos grasos son una importante fuente de combustibles

11.2 Los triacilgliceroles constituyen la forma de almacenamiento de los ácidos grasos

11.3 Los lípidos de las membranas son de tres tipos



Las aceitunas, el fruto de un pequeño árbol originario de las regiones orientales del Mediterráneo, son atípicas en el sentido de que no se pueden comer a menos que sean procesadas. El aceite de oliva, que se ha utilizado para cocinar desde la Antigüedad, es rico tanto en ácidos grasos monoinsaturados como en antioxidantes. Estos antioxidantes pueden ser una de las razones de los efectos beneficiosos para la salud de la dieta mediterránea. [David Pick/Alamy.]

Los lípidos se definen como moléculas insolubles en agua que son muy solubles en disolventes orgánicos. Esta importante clase de biomoléculas tiene diversas funciones bioquímicas. Por ejemplo, los lípidos se utilizan en muchos casos para almacenar energía. También son componentes clave de las membranas (Capítulo 12) y desempeñan diversos papeles en las rutas de transducción de señales (Capítulo 13). A diferencia de las otras tres clases de biomoléculas (carbohidratos, aminoácidos y ácidos nucleicos), los lípidos no forman polímeros. Sus propiedades individuales y colectivas —en forma de asociaciones no covalentes— les hacen extraordinariamente importantes. En este capítulo estudiaremos cinco clases de lípidos.

1. *Ácidos grasos libres (ácidos grasos no esterificados).* Este es el tipo de lípido más sencillo y el que más se suele utilizar como combustible. Los ácidos grasos varían en la longitud de la cadena hidrocarbonada, lo que tiene importantes repercusiones a la hora de ser utilizados como combustible o de formar parte de los lípidos de membrana.
2. *Triacilgliceroles.* Esta clase de lípidos constituye la forma de almacenamiento de los ácidos grasos.
3. *Fosfolípidos.* Estos lípidos de membrana están formados por ácidos grasos unidos a una molécula de soporte que también se encuentra unida a un grupo fosforilo cargado, creando así una macromolécula con una cabeza polar y una cola no polar.

4. *Glicolípidos*. Estos lípidos se encuentran unidos a carbohidratos y son componentes importantes de las membranas.
5. *Esteroides*. Estos lípidos difieren de las otras clases porque son hidrocarburos policíclicos. Los esteroides funcionan como hormonas que controlan diversas funciones fisiológicas. El esteroide más frecuente es el colesterol, otro componente esencial de las membranas.

✓ 3 Describir las propiedades químicas fundamentales de los ácidos grasos.

11.1 Los ácidos grasos son una importante fuente de combustibles

Las *grasas*, o *ácidos grasos*, son cadenas de átomos de carbono unidos a hidrógeno, denominadas hidrocarburos, que terminan con un grupo ácido carboxílico. Estas cadenas hidrocarbonadas son de distinta longitud y pueden tener uno o varios dobles enlaces, según el tipo de grasa. Las dos funciones esenciales de los ácidos grasos son la de servir como combustible y como materiales de construcción para los lípidos de membrana. Las grasas son buenos combustibles porque están más reducidas que los carbohidratos; es decir, los átomos de carbono están unidos a átomos de hidrógeno o a otros átomos de carbono en vez de a átomos de oxígeno, como en el caso de los carbohidratos. Gracias a este mayor grado de reducción, las grasas proporcionan más energía que los carbohidratos al ser sometidas a combustión para producir dióxido de carbono y agua. Volveremos a comentar este asunto en el Capítulo 15.

Las grasas tienen nombres comunes y nombres sistemáticos. Aunque en el caso de los ácidos grasos utilizaremos los nombres comunes, es importante familiarizarse con los nombres sistemáticos porque a veces es necesario utilizarlos para evitar confusiones. El nombre sistemático de un ácido graso deriva del nombre del hidrocarburo del que procede sustituyendo la *o* final por la terminación *oico*. Por ejemplo, el ácido graso C_{18} saturado conocido comúnmente como ácido esteárico, se denomina *ácido octadecanoico* porque el hidrocarburo del que procede es el octadecano: *octadec-* indica que tiene 18 átomos de carbono y *-ano* significa que solo contiene enlaces sencillos. Los ácidos grasos formados únicamente por enlaces sencillos se denominan ácidos grasos *saturados*, porque cada átomo de carbono se encuentra unido a otros cuatro átomos. Los ácidos grasos con uno o más dobles o triples enlaces se denominan ácidos grasos *insaturados*. El ácido oleico, un ácido graso C_{18} con un doble enlace, se denomina ácido octadec*enoico*; mientras que el ácido linoleico, con dos dobles enlaces, es el ácido octadeca*dienoico*; y el ácido linolénico, con tres dobles enlaces, es el ácido octadeca*trienoico*. La composición y estructura de un ácido graso también se puede indicar mediante números. La notación 18:0 indica un ácido graso C_{18} sin dobles enlaces, mientras que 18:2 significa que hay dos dobles enlaces. La Figura 11.1 muestra la estructura de las formas ionizadas de dos ácidos grasos muy frecuentes —el ácido palmítico (16:0) y el ácido oleico (18:0).

Al estudiar los ácidos grasos, a menudo tenemos que distinguir individualmente cada átomo de carbono. Los átomos de carbono de los ácidos grasos se suelen numerar empezando por el extremo carboxilo, pero también se pueden numerar empezando por el último átomo de carbono, tal y como se muestra al margen. Es frecuente refe-

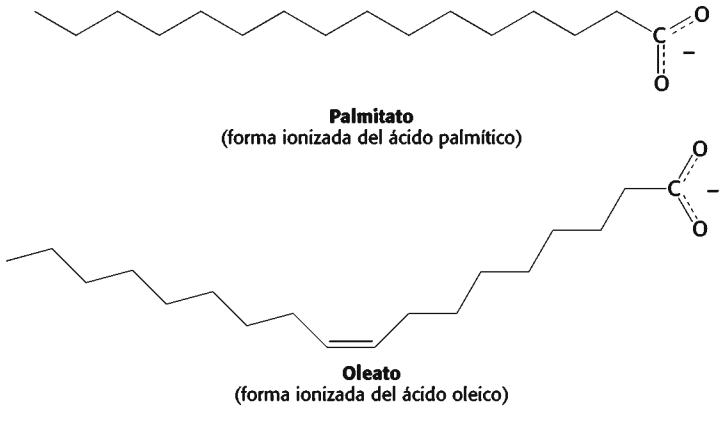
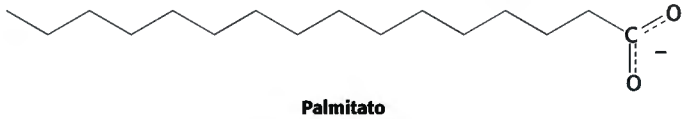
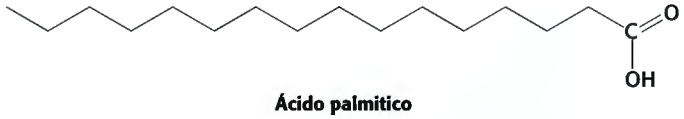


Figura 11.1 Estructuras de dos ácidos grasos. El palmitato es un ácido graso saturado de 16 carbonos y el oleato es un ácido graso de 18 carbonos con un único doble enlace *cis*.

rirse a los átomos de carbono 2 y 3 como carbonos α y β, respectivamente. El último átomo de carbono de la cadena, que es casi siempre el átomo de carbono de un grupo metilo, se denomina *átomo de carbono ω* (ω es el símbolo griego de omega, la última letra del alfabeto griego). La posición de un doble enlace se representa mediante el símbolo Δ seguido de un superíndice numérico. Por ejemplo, *cis*-Δ^9 significa que hay un doble enlace *cis* entre los átomos de carbono 9 y 10; *trans*-Δ^2 significa que hay un doble enlace *trans* entre los átomos de carbono 2 y 3. Al igual que en el caso de las proteínas, *cis* y *trans* hacen referencia a las posiciones relativas de los sustituyentes situados a cada lado del doble enlace. A pH fisiológico, los ácidos grasos están ionizados, como los aminoácidos, de forma que es preferible referirse a ellos como forma carboxilato: por ejemplo, palmitato en lugar de ácido palmítico.



Palmitato
(forma ionizada del ácido palmítico)



Ácido palmítico

Los ácidos grasos varían en la longitud de la cadena y en el grado de saturación

En los sistemas biológicos, los ácidos grasos suelen tener un número par de átomos de carbono, normalmente entre 14 y 24 (Tabla 11.1), siendo los ácidos grasos de 16 y de 18 átomos de carbono los más abundantes. Como ya hemos comentado, la cadena hidrocarbonada puede estar saturada o puede contener uno o más dobles enlaces. En la mayoría de los ácidos grasos insaturados, la configuración de los dobles enlaces es *cis*. En los ácidos grasos poliinsaturados, los dobles enlaces están separados por al menos un grupo metileno.

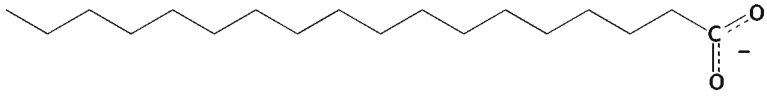
CH_2
Grupo metileno

Las propiedades de los ácidos grasos y de los lípidos derivados de ellos dependen notablemente de la longitud de la cadena y del grado de saturación. Los ácidos grasos insaturados tienen puntos de fusión más bajos que los de los ácidos grasos saturados de igual longitud. Por ejemplo, el punto de fusión del ácido esteárico es de 69,6 °C mientras que el del ácido oleico (que contiene un doble enlace *cis*) es de 13,4 °C. Los puntos de fusión de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie C_{18} son todavía más

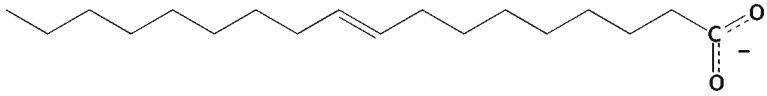
Tabla 11.1 Algunos ácidos grasos naturales de origen animal

Número de átomos de carbono	Número de dobles enlaces	Nombre común	Nombre sistemático	Fórmula
12	0	Laurato	*n*-Dodecanoato	$CH_3(CH_2)_{10}COO^-$
14	0	Miristato	*n*-Tetradecanoato	$CH_3(CH_2)_{12}COO^-$
16	0	Palmitato	*n*-Hexadecanoato	$CH_3(CH_2)_{14}COO^-$
18	0	Estearato	*n*-Octadecanoato	$CH_3(CH_2)_{16}COO^-$
20	0	Araquidato	*n*-Eicosanoato	$CH_3(CH_2)_{18}COO^-$
22	0	Behenato	*n*-Docosanoato	$CH_3(CH_2)_{20}COO^-$
24	0	Lignocerato	*n*-Tetracosanoato	$CH_3(CH_2)_{22}COO^-$
16	1	Palmitoleato	*cis*-Δ^9-Hexadecenoato	$CH_3(CH_2)_5CHCH(CH_2)_7COO^-$
18	1	Oleato	*cis*-Δ^9-Octadecenoato	$CH_3(CH_2)_7CHCH(CH_2)_7COO^-$
18	2	Linoleato	*cis*, *cis*-Δ^9, Δ^{12}-Octadecadienoato	$CH_3(CH_2)_4(CHCHCH_2)_2(CH)_6COO^-$
18	3	Linolenato	todo-*cis*-Δ^9, Δ^{12}, Δ^{15}-Octadecatrienoato	$CH_3CH_2(CHCHCH_2)_3(CH_2)_6COO^-$
20	4	Araquidonato	todo-*cis* Δ^5, Δ^8, Δ^{11}, Δ^{14}- Eicosatetraenoato	$CH_3(CH_2)_4(CHCHCH_2)_4(CH_2)_2COO^-$

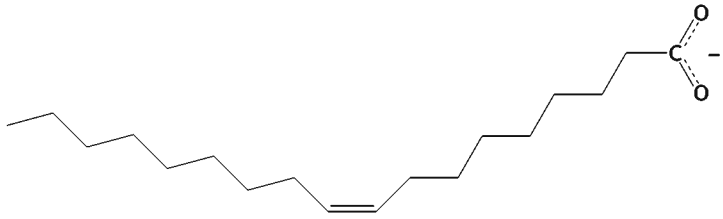
bajos. La presencia de un doble enlace *cis* introduce un acodamiento en el ácido graso y hace que el empaquetamiento compacto de las cadenas resulte imposible. Al no haber un empaquetamiento compacto, se reduce el número de interacciones de van der Waals entre las cadenas, lo que reduce la temperatura de fusión.



Estearato



***trans*-Oleato**



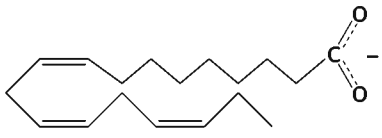
***cis*-Oleato**

La longitud de cadena también afecta al punto de fusión, tal y como queda reflejado por el hecho de que la temperatura de fusión del ácido palmítico (C_{16}) es 6,5 grados menor que la del ácido esteárico (C_{18}). Por tanto, *las longitudes de cadena cortas y las insaturaciones cis aumentan la fluidez de los ácidos grasos y de sus derivados.* La grasa que se acumula en la sartén a medida que se va friendo el bacón está formada fundamentalmente por ácidos grasos saturados y se solidifica poco después de apagar el fuego de la cocina. Por otra parte, el aceite de oliva está formado por altas concentraciones de ácido oleico y algunos ácidos grasos poliinsaturados y permanece líquido a temperatura ambiente. La variabilidad de los puntos de fusión no es simplemente un misterioso dato químico. Las temperaturas de fusión de los ácidos grasos son elementos cruciales a la hora de controlar la fluidez de las membranas celulares, y el grado adecuado de fluidez es esencial para la función de las membranas (Capítulo 12).

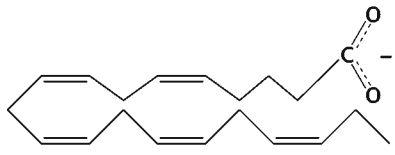
? PREGUNTA RÁPIDA 1 ¿Qué factores determinan el punto de fusión de los ácidos grasos?

El grado y el tipo de insaturación son importantes para la salud

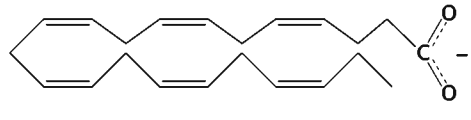
Aunque las grasas con compuestos bioquímicos esenciales, se está relacionando el exceso de grasas saturadas o *trans*-insaturadas en la dieta con niveles elevados de colesterol en la sangre y con las enfermedades cardiovasculares. El fundamento bioquímico de esta correlación aún está por determinar aunque parece ser que las grasas *trans*-insaturadas desencadenan rutas inflamatorias en las células inmunitarias. Por el contrario, determinados ácidos grasos *cis*-poliinsaturados son esenciales en nuestra dieta porque no los podemos sintetizar. Este tipo de ácidos incluye los ácidos grasos ω-3 —ácidos grasos insaturados abundantes en peces de aguas frías como el salmón y que podrían desempeñar algún papel en la protección frente a las enfermedades cardiovasculares. Los ácidos grasos ω-3 importantes son el α-linolenato, que se encuentra en aceites vegetales, y dos ácidos que están presentes en los pescados grasos y en el marisco, el eicosapentaenoato (EPA, ácido eicosapentaenoico) y el docosahexaenoato (DHA, ácido docosahexaenoico).



α-Linolenato



Eicosapentanoato (EPA)



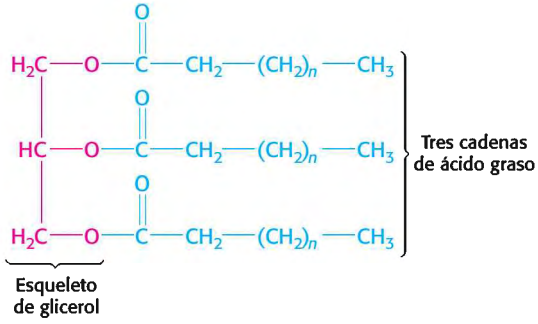
Docosahexaenoato (DHA)

Estos ácidos grasos son precursores de importantes hormonas. Sin embargo, se desconoce la naturaleza de su efecto protector frente a la enfermedad cardiaca. Los estudios muestran que los ácidos grasos ω-3, especialmente los que proceden de organismos marinos, pueden evitar la muerte súbita por un ataque al corazón, reducir el nivel de triglicéridos en sangre, reducir la presión sanguínea y evitar la trombosis al inhibir ligeramente la coagulación sanguínea. Descubrir cómo ejercen sus efectos estas moléculas es una línea de investigación bioquímica muy activa.

11.2 Los triacilgliceroles constituyen la forma de almacenamiento de los ácidos grasos

✓ 4 Identificar los principales lípidos y describir sus funciones bioquímicas.

A pesar del hecho de que los ácidos grasos son nuestra principal fuente de energía, la concentración de ácidos grasos libres en las células o en la sangre es pequeña porque los ácidos grasos son ácidos fuertes. Concentraciones elevadas de ácidos grasos libres desbaratarían el equilibrio de pH en las células. Los ácidos grasos necesarios para la generación de energía se almacenan en forma de *triacilgliceroles*, que están formados por la unión de tres cadenas de ácido graso a una molécula de glicerol. Los ácidos grasos se unen al glicerol por medio de enlaces éster, en un proceso que se denomina *esterificación*. Los jabones corrientes son las sales de sodio o de potasio de los ácidos grasos que se generan al tratar los triacilgliceroles con bases fuertes (Figura 11.2).



Cuando se necesita energía durante un ayuno (p. ej., al dormir), los ácidos grasos se escinden del triacilglicerol y son transportados a las células. La ingestión de comida repone las reservas de triacilglicerol.

Tal y como se comentó en el Capítulo 10, los ácidos grasos son más ricos en energía que los carbohidratos. Además, comparados con los carbohidratos, los ácidos grasos almacenan la energía más eficazmente en forma de triacilgliceroles, que son hidrofóbicos y, por lo tanto, se almacenan de manera prácticamente anhidra. Por el contrario, los carbohidratos polares se unen a moléculas de agua. Por ejemplo, el glucógeno se une al agua. De hecho, 1 g de glucógeno seco se une aproximadamente a 2 g de agua. En consecuencia, *un gramo de grasa prácticamente anhidra almacena, por lo menos, seis veces más energía que un gramo de glucógeno hidratado*. Por esta razón, los triacilgliceroles, y no el glucógeno, han sido seleccionados durante la evolución como el principal reservorio de energía. Consideremos una persona normal, de 70 kg de peso. Los triacilgliceroles representan alrededor de 11 kg de su peso corporal total. Si esta cantidad de energía se almacenase en forma de glucógeno, su cuerpo pesaría, en total, 55 kg más. Las reservas de glucógeno y de glucosa proporcionan suficiente energía como para sustentar las funciones biológicas entre 18 y 24 horas, mientras que las reservas de triacilglicerol permiten sobrevivir durante varias semanas.

En mamíferos, el principal lugar de acumulación de triacilgliceroles es el *tejido adiposo*, que se distribuye por debajo de la piel y en otras zonas distribuidas por todo el organismo. En las células adiposas (células de grasa), las gotitas de triacilglicerol se fusionan por coalescencia para formar un gran glóbulo en el citoplasma que puede ocupar la mayor parte del volumen celular (Figura 11.3). Las células adiposas

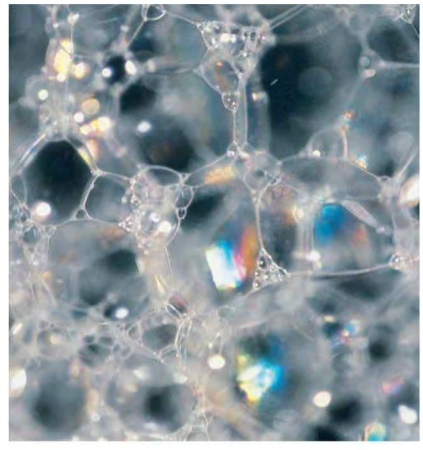


Figura 11.2 Los jabones son las sales de sodio y potasio de los ácidos grasos de cadena larga. Se obtienen a partir del tratamiento de triacilgliceroles con una base fuerte, un proceso que se denomina *saponificación*. Las fuentes más habituales de triacilgliceroles de origen animal son la manteca (de los cerdos) y el sebo (de vacas o de ovejas). [Tetra Images/Getty Images.]

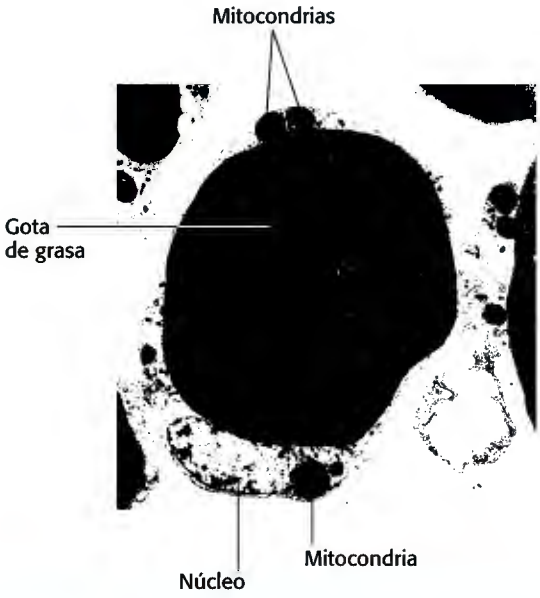


Figura 11.3 Micrografía electrónica de una célula adiposa (adipocito). Una pequeña banda de citoplasma rodea el gran depósito de triacilgliceroles. [Biophoto Associates/Photo Researchers.]

están especializadas en la síntesis y almacenamiento de triacilgliceroles, así como en su movilización, transformándolos en moléculas combustible que son transportadas por la sangre a otros tejidos. El tejido adiposo también actúa como aislante térmico que ayuda a mantener la temperatura corporal. Los osos polares constituyen un buen ejemplo de las propiedades aislantes del tejido adiposo. Durante las temibles tormentas árticas, los osos polares se acurrucan formando una bola compacta que está tan bien aislada que resulta difícil de detectar incluso con instrumentos dotados de sensores de calor.

La utilidad de los triacilgliceroles como fuente de energía se pone de manifiesto de manera espectacular en el caso de las aves migratorias, que son capaces de volar a grandes distancias sin alimentarse. El chorlito dorado americano (*Pluvialis dominica*) y el colibrí de garganta roja (*Archilochus colubris*) (**Figura 11.4**) son dos buenos ejemplos. El chorlito dorado vuela desde Alaska al extremo sur de Sudamérica; un gran tramo del vuelo (3.800 km) se hace sobre mar abierto, donde las aves no se pueden alimentar. El colibrí de garganta roja puede atravesar el Golfo de México volando sin parar. Los ácidos grasos procedentes de los triacilgliceroles proporcionan la fuente de energía para estas hazañas prodigiosas.



Figura 11.4 Colibrí de garganta roja. [William Leaman/Alamy.]

11.3 Los lípidos de las membranas son de tres tipos

Hasta ahora, hemos estudiado solo un tipo de lípidos complejos —los triacilgliceroles, la forma en que se almacenan los ácidos grasos. Sin embargo, los lípidos no solo se pueden utilizar como combustible o como reserva de energía: también pueden actuar como hormonas, como mensajeros en las rutas de transducción de señales y como componentes de las membranas. Las dos primeras de estas funciones de los lípidos se estudiarán en capítulos posteriores. Ahora vamos a estudiar los tres tipos principales de lípidos de membrana: los *fosfolipidos*, los *glicolípidos* y el *colesterol*.

Los fosfolípidos son los lípidos de membrana más abundantes

Los *fosfolípidos* abundan en todas las membranas biológicas. Una molécula de fosfolípido consta de cuatro componentes: uno o más ácidos grasos, un esqueleto al que se unen los ácidos grasos, un fosfato y un alcohol unido al fosfato.

El esqueleto sobre el que se construyen los fosfolípidos puede ser el *glicerol*, un alcohol de tres átomos de carbono, o la *esfingosina*, un alcohol más complejo. Los fosfolípidos derivados del glicerol se denominan *fosfoglicéridos* y están formados por un esqueleto de glicerol al que se unen dos cadenas de ácido graso y un alcohol fosforilado (**Figura 11.5**).

En los fosfoglicéridos, los grupos hidroxilo de los C-1 y C-2 del glicerol están esterificados a los grupos carboxilo de las dos cadenas de ácido graso. El grupo hidroxilo del C-3 del esqueleto de glicerol está esterificado al ácido fosfórico. Si no se añaden más componentes, el compuesto resultante es el *fosfatidato* (*diacilglicerol 3-fosfato*), el fosfoglicérido más sencillo (**Figura 11.6**). En las membranas, la cantidad de fosfatida-

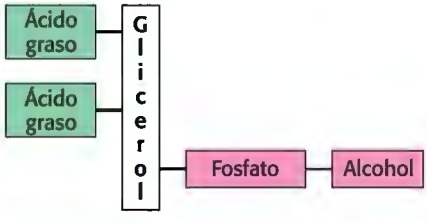


Figura 11.5 Esquema de la estructura de un fosfolípido. En este caso, la plataforma es el glicerol.

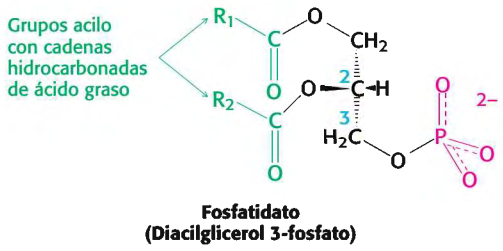


Figura 11.6 Estructura del fosfatidato (diacilglicerol 3-fosfato). Se muestra la configuración absoluta del átomo de carbono central (C-2).

to que hay es muy pequeña. Sin embargo, la molécula es un intermediario clave para la biosíntesis de otros fosfoglicéridos, así como de los triacilgliceroles (Capítulo 29).

Los principales fosfoglicéridos proceden del fosfatidato mediante la formación de un enlace éster entre el grupo fosforilo del fosfatidato y el grupo hidroxilo de diversos alcoholes. Los alcoholes que con más frecuencia se encuentran formando parte de los fosfoglicéridos son el aminoácido serina, la etanolamina, la colina, el glicerol y el inositol. En la **Figura 11.7** se muestran las fórmulas estructurales de la fosfatidilcolina y de otros fosfoglicéridos importantes.

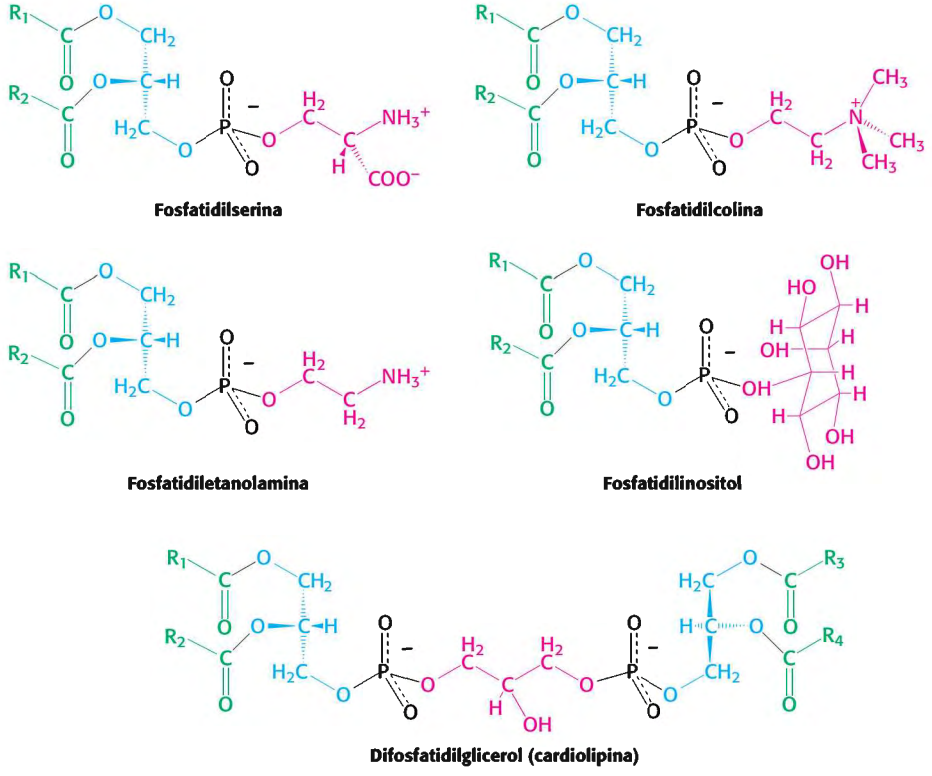


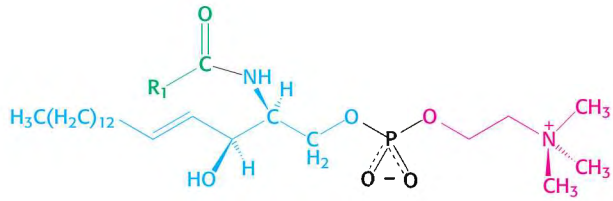
Figura 11.7 Algunos fosfoglicéridos que se encuentran con frecuencia en las membranas.

Los fosfolípidos que se forman sobre un esqueleto de esfingosina se denominan *esfingolípidos*. La *esfingosina* es un aminoalcohol que contiene una larga cadena hidrocarbonada insaturada (**Figura 11.8**). La *esfingomielina* es un esfingolípido que suele estar presente en las membranas. En la esfingomielina, el grupo amino del esqueleto de esfingosina está unido a un ácido graso mediante un enlace amida. Además, el grupo hidroxilo primario de la esfingosina se encuentra unido a la fosforilcolina por medio de un enlace éster. La esfingomielina se encuentra en la membrana plasmática de multitud de células pero es especialmente abundante en las vainas de mielina de las células nerviosas.

La enfermedad de Niemann-Pick puede ser el resultado de una acumulación de esfingomielina provocada por la falta de esfingomielinasa, una enzima que degrada la esfingomielina. Los síntomas de la enfermedad de Niemann-Pick incluyen el retraso mental, convulsiones, parálisis ocular, ataxia y retrasos en el crecimiento.



Esfingosina

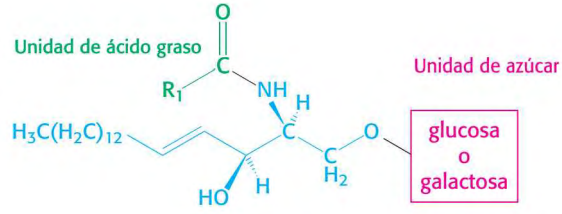


Esfingomielina

Figura 11.8 Estructura de la esfingosina y de la esfingomielina. El componente esfingosina de la esfingomielina se representa de color azul.

Los lípidos de membrana pueden incluir carbohidratos

Los *glicolípidos*, como su propio nombre indica, son *lípidos que contienen azúcares*. Estas moléculas están presentes en todas las membranas celulares, donde intervienen en las interacciones célula-célula. Al igual que la esfingomielina, los glicolípidos de las células animales son derivados de la esfingosina. El grupo amino del esqueleto de esfingosina está acilado con un ácido graso, como en la esfingomielina. Los glicolípidos se diferencian de la esfingomielina en la identidad del componente unido al grupo hidroxilo primario del esqueleto de esfingosina. En los glicolípidos, uno o más azúcares (y no la fosforilcolina) se encuentran unidos a este grupo. El glicolípido más sencillo, denominado *cerebrósido*, contiene un único residuo de azúcar, bien glucosa o bien galactosa.

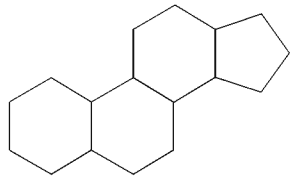


Cerebrósido
(un glicolípido)

Los glicolípidos más complejos, como los *gangliósidos*, contienen una cadena ramificada de hasta siete residuos de azúcar. *En las membranas, los glicolípidos están orientados de forma asimétrica, con los residuos de azúcar situados siempre en la cara extracelular de la membrana.*

Los esteroides son lípidos con funciones diversas

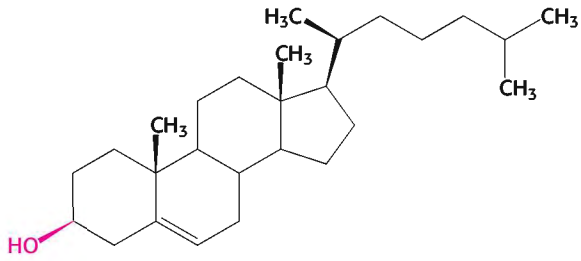
Los esteroides, la última clase de lípidos que estudiaremos en este capítulo, funcionan como potentes hormonas, como en el caso del estradiol y la testosterona, facilitan la digestión de los lípidos de la dieta y son componentes fundamentales de las membranas. A diferencia de las otras clases de lípidos, los esteroides adoptan una estructura cíclica en vez de lineal. Todos los esteroides poseen una anillo tetracíclico denominado núcleo esteroideo. El núcleo esteroideo consta de tres anillos de ciclohexano y un anillo de ciclopentano unidos entre sí.



Núcleo esteroideo

Todos los esteroides importantes en bioquímica son versiones modificadas de esta estructura básica.

El *colesterol* es el esteroide más abundante y el precursor de muchos esteroides bioquímicamente activos.



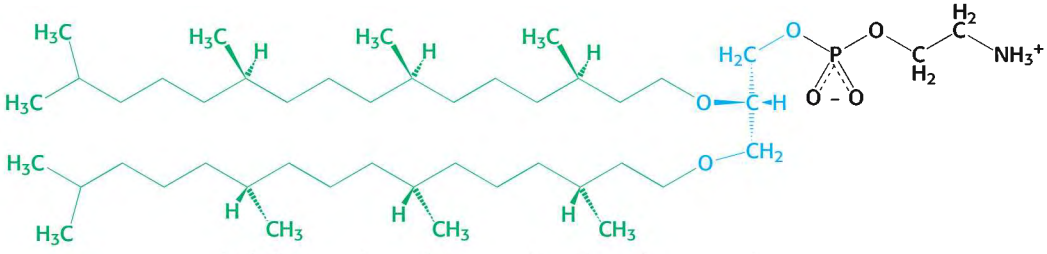
Colesterol

En uno de los extremos del esteroide se encuentra unida una cola hidrocarbonada, mientras que en el otro extremo hay un grupo hidroxilo. Como se verá en el Capítulo 12, el colesterol es importante a la hora de mantener la fluidez de membrana adecuada. Los procariotas carecen de colesterol, que está presente en mayor o menor grado en prácticamente todas las membranas animales. En ciertas células nerviosas, representa casi el 25% de los lípidos de membrana pero en algunas membranas intracelulares está prácticamente ausente. Fuera de las membranas no hay colesterol libre. En vez de ello, se encuentra esterificado a ácidos grasos, tanto para su almacenamiento como para su transporte.

Aspecto biológico

Las membranas de los extremófilos están formadas por lípidos que contienen enlaces éter y cadenas ramificadas

La composición de las membranas de las arqueobacterias se diferencia de la de eucariotas o bacterias en dos importantes aspectos. Estas diferencias están claramente relacionadas con las condiciones hostiles en las que viven muchas arqueobacterias (ver la Figura 8.3). En primer lugar, las cadenas de ácido graso se unen al esqueleto de glicerol mediante enlaces éter en lugar de enlaces éster. El enlace éter es más resistente a la hidrólisis que el enlace éster. En segundo lugar, las cadenas alquílicas, en vez de ser lineales, están ramificadas. Se construyen a partir de repeticiones de un fragmento de cinco carbonos totalmente saturado. Estos hidrocarburos saturados y ramificados son más resistentes a la oxidación.



Lípido de la membrana de la arqueobacteria *Methanococcus jannaschii*

La capacidad de estos lípidos para resistir la hidrólisis y la oxidación puede ayudar a estos organismos a soportar las condiciones extremas en la que crecen algunas de estas arqueobacterias, como, por ejemplo, altas temperaturas, bajo pH o una elevada concentración de sal. ■

Los lípidos de membrana contienen una región hidrofílica y una región hidrofóbica

El repertorio de lípidos de membrana es amplio. Sin embargo, estos lípidos comparten una característica estructural decisiva: *los lípidos de membrana son moléculas anfipáticas* (moléculas anfifílicas) que contienen una región *hidrofílica* y una región *hidrofóbica*.

Observemos un modelo de un fosfoglicérido como la fosfatidilcolina. Su forma global es aproximadamente rectangular (Figura 11.9). Las dos cadenas hidrofóbicas de ácido graso se disponen de forma casi paralela, mientras que la parte hidrofílica de la fosforilcolina apunta en dirección opuesta. La esfingomielina tiene una conformación parecida, al igual que el lípido de arqueobacterias mostrado. Por tanto, se ha adoptado la siguiente representación esquemática para dibujar estos lípidos de

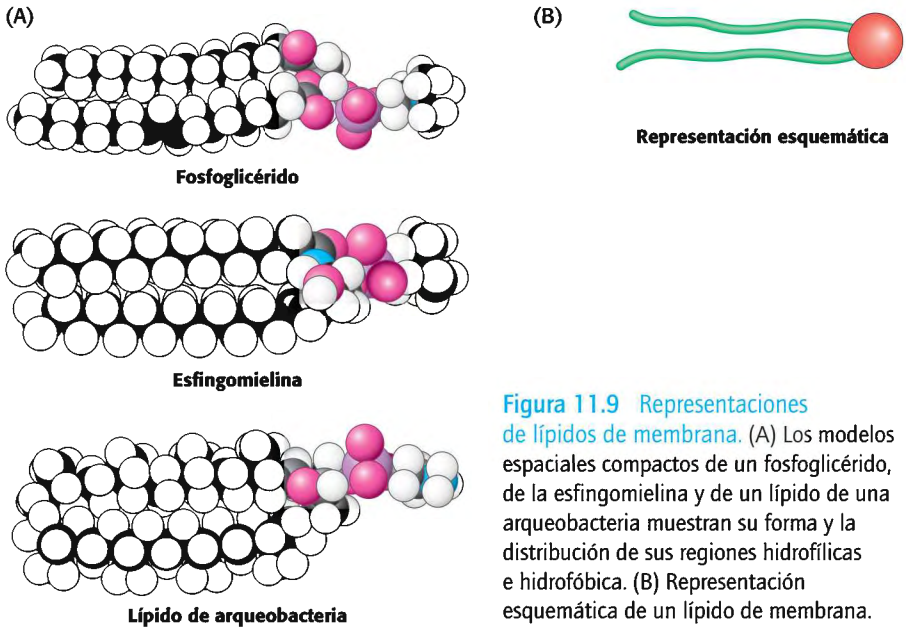


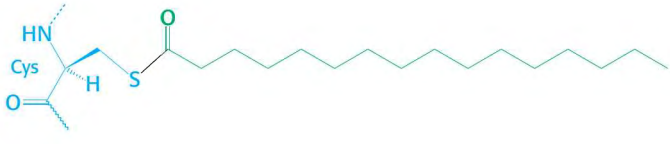
Figura 11.9 Representaciones de lípidos de membrana. (A) Los modelos espaciales compactos de un fosfoglicérido, de la esfingomielina y de un lípido de una arqueobacteria muestran su forma y la distribución de sus regiones hidrofílicas e hidrofóbica. (B) Representación esquemática de un lípido de membrana.

? **PREGUNTA RÁPIDA 2** ¿Cuáles son los tres tipos principales de lípidos de membrana?

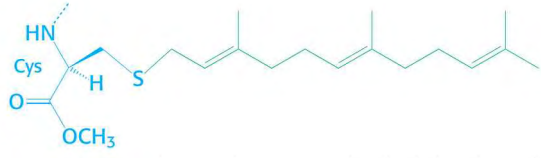
membrana: la región hidrofílica, también llamada *grupo o cabeza polar*, se representa mediante un círculo mientras que las colas hidrocarbonadas se representan mediante líneas rectas u onduladas (ver la Figura 11.9B).

Algunas proteínas se modifican por la unión covalente de grupos hidrofóbicos

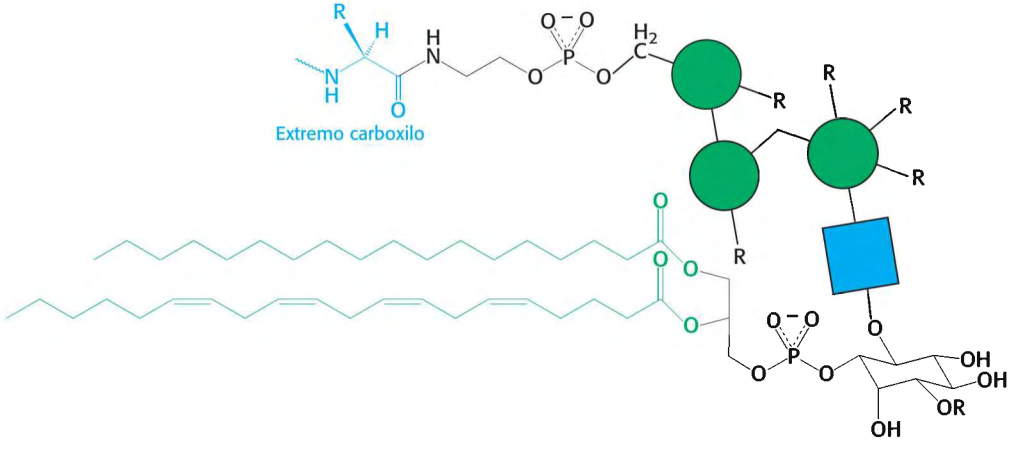
Del mismo modo en que los carbohidratos se unen a las proteínas para modificar las propiedades de las proteínas, los lípidos también se pueden unir a las proteínas para dotarlas de nuevas propiedades bioquímicas. A menudo, estas uniones son necesarias para que una proteína se asocie a un entorno hidrofóbico como puede ser una membrana. Estos componentes hidrofóbicos unidos se pueden insertar en el interior hidrofóbico de la membrana y, de este modo, fijar, o ubicar, la proteína sobre la superficie de la membrana. Esta localización es necesaria para la función de la proteína. En la **Figura 11.10** se muestran tres uniones de este tipo: (1) un grupo palmitilo unido mediante un enlace tioéster a un residuo de cisteína, (2) un grupo farnesilo unido a un residuo de cisteína en el extremo carboxilo de la proteína y (3) una estructura glicolipídica denominada anclaje de glicosilfosfatidilinositol (GPI) unida al extremo carboxilo de la proteína.



***S*-Palmitilcisteína**



Ester metílico en el extremo carboxilo de la *S*-farnesilcisteína



Anclaje de glicosilfosfatidilinositol (GPI)

Figura 11.10 Anclajes a la membrana. Los anclajes a la membrana son grupos hidrofóbicos que se encuentran unidos covalentemente a las proteínas (en color azul) y que mantienen las proteínas sujetas a la membrana. Los círculos de color verde y los cuadrados de color azul corresponden a la manosa y a la GlcNAc, respectivamente. Los grupos R representan puntos donde se producen otras modificaciones.

Aspecto clínico

El envejecimiento prematuro puede ser el resultado de la incorrecta unión de un grupo hidrofóbico a una proteína

El farnesilo es un grupo hidrofóbico que, con frecuencia, se encuentra unido a las proteínas de manera que la proteína suele ser capaz de asociarse con una membrana (ver la Figura 11.10). Se ha demostrado que una farnesilación inapropiada da lugar a la progeria o síndrome Hutchinson-Gilford (HGPS), una rara enfermedad que provoca un envejecimiento prematuro. El desarrollo postnatal temprano es normal pero los niños no consiguen crecer, desarrollan deformidades óseas y tienen una nariz pequeña y en forma de pico, mentón retraído y pérdida completa del cabello (**Figura 11.11**). Los niños afectados suelen morir, por término medio, a la edad de 13 años como consecuencia de una ateroesclerosis grave, una causa de muerte que suele ser más habitual en los ancianos.

La causa del HGPS parece ser una mutación en el gen de la proteína nuclear *lamina*, una proteína que forma un andamiaje para el núcleo y que puede intervenir en la regulación de la expresión génica. Antes de llegar a su estado maduro, el polipéptido plegado que acabará convirtiéndose en lamina se modifica y procesa muchas veces. Uno de los acontecimientos clave de la maduración es la eliminación de un grupo farnesilo que se había añadido a la proteína naciente en una etapa previa del procesamiento. En los pacientes con HGPS, no se elimina el grupo farnesilo debido a una mutación de la lamina. La lamina procesada de forma incorrecta da lugar a un núcleo deformado (ver la Figura 11.11) y a un funcionamiento aberrante del núcleo, lo que produce la HGPS. Todavía hay que investigar mucho para determinar con precisión cómo este fallo a la hora de eliminar el grupo farnesilo da lugar a tan dramáticas consecuencias. ■

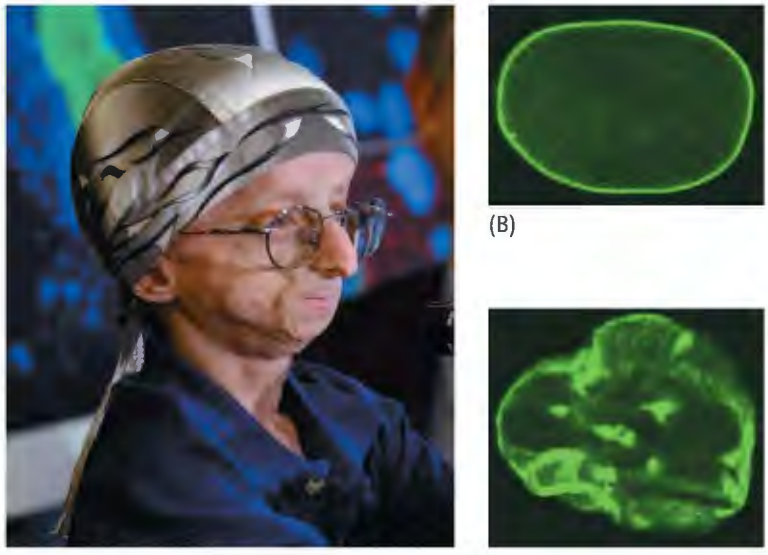


Figura 11.11 Progeria, o síndrome de Hutchinson-Gilford (HGPS). (A) Niño de 15 años que padece HGPS. (B) Un núcleo normal. (C) Núcleo de un paciente con HGPS. [(A) AP Photo/Gerald Herbert; (B y C) tomadas de P. Scaffidi, L. Gordon, y T. Misteli, *PLoS Biol.* 3(11):e395/doi:10.1371/journal.pbio.0030395, 2005.]

Resumen

11.1 Los ácidos grasos son una importante fuente de combustibles

Los lípidos se definen como moléculas insolubles en agua que son solubles en disolventes orgánicos. Los ácidos grasos son unos lípidos importantes en bioquímica. Los ácidos grasos son cadenas hidrocarbonadas que varían tanto en su longitud como en el grado de insaturación y que terminan con un grupo ácido carboxílico. En las membranas, las cadenas de ácido graso contienen normalmente entre 14 y 24 átomos de carbono; pueden estar saturadas o insaturadas. Las cadenas cortas e insaturadas aumentan la fluidez de los ácidos grasos y sus derivados, ya que disminuyen la temperatura de fusión.

11.2 Los triacilgliceroles constituyen la forma de almacenamiento de los ácidos grasos

En las células adiposas, los ácidos grasos se almacenan en forma de moléculas de triacilglicerol. Los triacilgliceroles están formados por tres ácidos grasos esterificados a un esqueleto de glicerol. Los triacilgliceroles se almacenan en forma anhidra.

11.3 Los lípidos de las membranas son de tres tipos

Las clases principales de lípidos de membrana son los fosfolípidos, los glicolípidos y el colesterol. Los fosfoglicéridos, un tipo de fosfolípidos, constan de un esqueleto de glicerol, dos cadenas de ácidos grasos y un alcohol fosforilado. La fosfatidilcolina, la fosfatidilserina y la fosfatidiletanolamina son los fosfoglicéridos mayoritarios. La esfingomielina, un tipo distinto de fosfolípido, contiene un esqueleto de esfingosina en vez de uno de glicerol. Los glicolípidos son

lípidos que contienen azúcar y son derivados de la esfingosina. El colesterol, que modula la fluidez de las membranas, se forma a partir de un núcleo esteroideo. Una característica común a estos lípidos de membrana es que son moléculas anfipáticas, que tienen un extremo hidrofóbico y un extremo hidrofílico.

Términos clave

ácido graso (p. 180)
triacilglicerol (p. 183)
fosfolípido (p. 184)
esfingosina (p.184)
fosfoglicérido (p. 184)
esfingomielina (p. 185)
glicolípido (p. 186)
cerebrósido (p. 186)
ganglиósido (p. 186)
colesterol (p. 186)
molécula anfipática (p. 187)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. La longitud de la cadena y el grado de insaturaciones *cis*.

2. Fosfolípidos, esfingolípidos (que incluyen la subclase de los glicolípidos) y colesterol.

Problemas

1. *Definición.* ¿Qué son los lípidos? ✓ 3

2. *Como la dama y el vagabundo.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 4

(a) Ácido graso _____
(b) Triacilglicerol _____
(c) Fosfolípido _____
(d) Esfingosina _____
(e) Fosfoglicérido _____
(f) Esfingomielina _____
(g) Glicolípido _____
(h) Cerebrósido _____
(i) Galactósido _____
(j) Colesterol _____

1. Lípidos de membrana con un esqueleto de glicerol
2. Fosfolípido especialmente abundante en las células nerviosas
3. El glicolípido más sencillo
4. Derivado de la esfingosina que se encuentra en todas las membranas
5. Cadenas de átomos de carbono unidos a hidrógeno
6. Glicolípidos complejos
7. Un alcohol complejo que sirve de esqueleto para lípidos de membrana
8. Una de las principales clases de lípidos de membrana
9. Lípido esteroide
10. Forma de almacenamiento de los ácidos grasos

3. *Estructura y nombre.* Dibuje la estructura de cada uno de los siguientes ácidos grasos y asigne a cada estructura su nombre común. ✓ 3

(a) *n*-Dodecanoato
(b) *cis*-Δ^9-Hexadecenoato
(c) *cis*, *cis*-Δ^9, Δ^{12}-Octadecadienoato

4. *La fluidez importa.* Los triacilgliceroles se utilizan como reserva de combustible tanto en animales como en plantas. A menudo, los triacilgliceroles de plantas son líquidos a temperatura ambiente, mientras que los de animales son sólidos. Sugiera algunas razones que expliquen esta diferencia. ✓ 3

5. *Contrastar.* ¿Qué diferencias hay entre fosfoglicéridos y triacilgliceroles? ✓ 4

6. *Comparar.* ¿Qué características estructurales diferencian a los esfingolípidos de los fosfoglicéridos? ✓ 4

7. *De cabeza.* ¿Qué tipo de moléculas suelen formar parte de la cabeza polar de los fosfolípidos? ✓ 4

8. *Dibujar un lípido.* Dibuje la estructura de un triacilglicerol compuesto, a partes iguales, de ácido palmítico, ácido esteárico y ácido oleico. ✓ 4

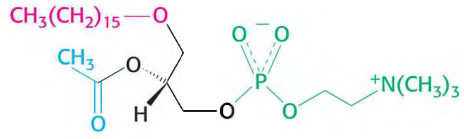
9. *Ellos se juntan.* ¿Qué características estructurales de los lípidos explican su solubilidad en disolventes orgánicos? ✓ 4

10. *Ellos se juntan, otra vez.* Suponga que se expone una pequeña cantidad de fosfolípidos a una disolución acuosa. ¿Qué estructura adoptarían las moléculas de fosfolípido? ¿Cuál sería la fuerza que impulsa la formación de esta estructura? ✓ 4

11. *Patrón repetitivo.* ¿En qué se diferencia la estructura de los esteroides de la de otros lípidos? ✓ 4

12. *Uniones.* El factor activador de las plaquetas (PAF) es un fosfolípido que interviene en las respuestas alérgica e inflamatoria, así como en el síndrome de shock tóxico. La estructura del

PAF se muestra en la figura inferior. ¿En qué se diferencia de las estructuras de los fosfolípidos estudiados en este capítulo? ✓ 4



Factor activador de las plaquetas (PAF)

13. *Salir limpio.* Dibuje la estructura de la sal sódica del ácido esteárico. ¿Cómo funcionaría para eliminar la grasa de la ropa o de las manos? ✓ 3

14. *Problemas con el agua dura.* Algunas sales metálicas de los ácidos grasos no son tan solubles como las sales de sodio o de potasio. Por ejemplo, las sales de magnesio o de calcio de los ácidos grasos son poco solubles. Si se da un baño en agua rica en magnesio o calcio, ¿qué efecto tendría sobre el tiempo que le haría falta para limpiar la bañera? ✓ 3

15. *La eficacia importa.* ¿Por qué los lípidos son una forma de almacenamiento más eficaz que el glucógeno? ✓ 4

16. *Una dieta sana.* Los pequeños mamíferos que hibernan pueden soportar temperaturas corporales de entre 0 y 5 °C sin sufrir daños. Sin embargo, la grasa corporal de la mayoría de los mamíferos tiene temperaturas de fusión de aproximadamente 25 °C. Pronostique en qué se podría diferenciar la composición de la grasa corporal de los hibernadores de la de sus primos que no hibernan. ✓ 3

Problemas para atrevidos

17. *Moleculas y puntos de fusión.* Asigne a cada ácido graso su punto de fusión correspondiente. ✓ 3

(a) $CH_3(CH_2)_{18}CO_2H$ _____
(b) $CH_3(CH_2)_{14}CO_2H$ _____
(c) $CH_3(CH_2)_{10}CO_2H$ _____
(d) $CH_3(CH_2)_7CHCH(CH_2)_7CO_2H$ _____
(e) $CH_3(CH_2)_5CHCH(CH_2)_7CO_2H$ _____
(f) $CH_3(CH_2)_4CHCHCH_2CHCH(CH_2)_7CO_2H$ _____
(g) $CH_3(CH_2)_4(CHCHCH_2)_4(CH_2)_2CO_2H$ _____

1. 63 °C
2. −5 °C
3. 13 °C
4. 76 °C
5. 45 °C
6. −49 °C
7. 0 °C

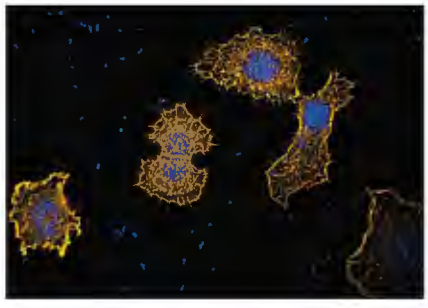
18. *Punto de fusión 1.* Explique por qué el ácido oleico (18 carbonos, un enlace *cis*) tiene un punto de fusión menor que el ácido esteárico, que tiene el mismo número de átomos de carbono pero que está saturado. ¿Cómo esperaría que fuese el punto de fusión del ácido *trans*-oleico en comparación con el del ácido *cis*-oleico? ✓ 3

19. *Punto de fusión 2.* Explique por qué el punto de fusión del ácido palmítico (C_{16}) es 6,5 grados menor que el del ácido esteárico (C_{18}). ✓ 3

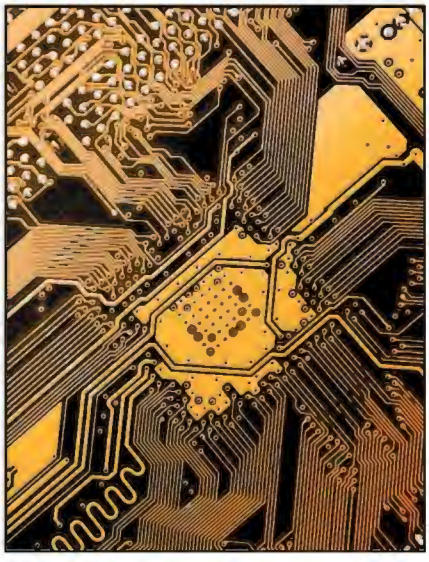
En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

SECCIÓN 5

Membranas celulares, canales, bombas y receptores



Capítulo 12:
Estructura y función de las membranas



Capítulo 13:
Rutas de transducción de señales

Los límites de las células están formados por membranas, las barreras que definen el interior y el exterior de una célula. Estas barreras son intrínsecamente impermeables, ya que impiden que las moléculas generadas dentro de la célula se filtren hacia fuera y que moléculas no deseadas entren por difusión; sin embargo, también contienen sistemas de transporte que permiten a la célula captar moléculas específicas y eliminar las no deseadas. Estos sistemas de transporte confieren a las membranas la importante propiedad de la *permeabilidad selectiva*.

La permeabilidad selectiva se adquiere mediante dos clases de proteínas de membrana: las *bombas* y los *canales*. Las bombas utilizan una fuente de energía libre para dirigir el transporte de iones y moléculas en condiciones desfavorables desde el punto de vista termodinámico. La acción de las bombas constituye un ejemplo de *transporte activo*. Los canales, por el contrario, permiten que las moléculas, a menudo iones, fluyan rápidamente a través de la membrana en una dirección favorable desde el punto de vista termodinámico. La acción de los canales es un ejemplo de *transporte pasivo* o *difusión facilitada*.

La membrana celular también es impermeable a la mayoría de las moléculas que portan información, como hormonas, factores de crecimiento y moléculas presentes en los alimentos o en las fragancias y que transmiten sabores o aromas. De nuevo, son las proteínas las que actúan para permitir que la célula reciba información del entorno. Las proteínas de membrana denominadas *receptores* detectan la información del entorno y transmiten o transducen la información a través de la membrana hacia el interior de la célula.

En primer lugar, estudiaremos la estructura básica de las membranas y de las proteínas que les confieren la propiedad de la permeabilidad selectiva. A continuación, estudiaremos un caso especial de transporte a través de membranas —cómo se transmite la información ambiental a través de la membrana para alterar el funcionamiento bioquímico de la célula.

✓ Al final de esta sección, usted debería ser capaz de:

- ✓ 1 Identificar la fuerza energética que impulsa la formación de membranas.
- ✓ 2 Explicar por qué las membranas son impermeables a la mayoría de las sustancias.
- ✓ 3 Describir el papel que juegan las proteínas en la permeabilidad selectiva de las membranas.
- ✓ 4 Identificar los componentes básicos de todas las rutas de transducción de señales.
- ✓ 5 Diferenciar los distintos tipos de receptores de membrana.

CAPÍTULO 12

Estructura y función de las membranas

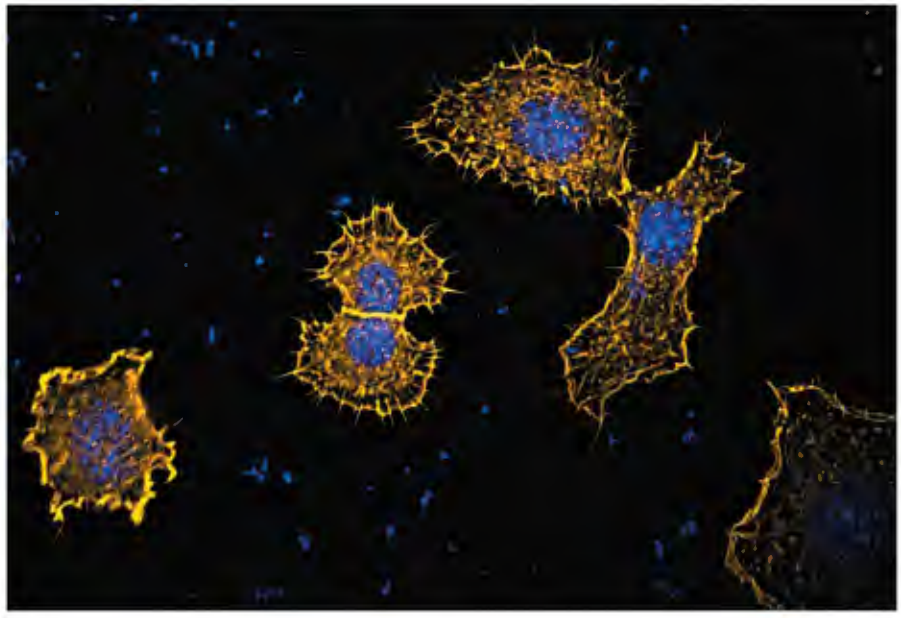
12.1 Los fosfolípidos y los glicolípidos forman bicapas

12.2 La fluidez de la membrana se controla mediante la composición de ácidos grasos y el contenido de colesterol

12.3 Las proteínas desempeñan la mayoría de los procesos que tienen lugar en la membrana

12.4 Los lípidos y muchas proteínas de membrana difunden lateralmente en el plano de la membrana

12.5 Una de las principales funciones de las proteínas es la de actuar como transportadores



Las membranas celulares no son estructuras estáticas. Las membranas de estos fibroblastos muestran unas irregularidades que se denominan ondulaciones y prolongaciones. Las ondulaciones y prolongaciones son necesarias para el movimiento y la fagocitosis. Los núcleos están teñidos de azul y la actina que forma parte del citoesqueleto está teñida de amarillo. [Alex Gray/Wellcome Images.]

Las membranas constituyen la interfaz entre dos ambientes: (1) el interior de la célula y el exterior, cuando se trata de la membrana plasmática y (2) los compartimentos celulares y el interior de las células, cuando se trata de membranas internas. Dado que cada interfaz es única, las membranas de las distintas células y estructuras son tan diversas en su estructura como lo son en su función. Sin embargo, tienen en común una serie de importantes características:

1. Las membranas son *estructuras laminares* con un espesor de tan solo dos moléculas, que forman una *superficie cerrada* que separa compartimentos diferentes. El espesor de la mayoría de las membranas está comprendido entre 60 Å (6 nm) y 100 Å (10 nm).
2. Las membranas están formadas principalmente por *lípidos* y *proteínas*. Las membranas también contienen *carbohidratos* que se encuentran unidos tanto a lípidos como a proteínas (p. 186).
3. Los lípidos de membrana son moléculas pequeñas que poseen una parte *hidrofílica* y una parte *hidrofóbica*. En medios acuosos, estos lípidos forman de manera espontánea *superficies bimoleculares cerradas*. Estas bicapas lipídicas representan una barrera para el flujo de moléculas polares.

4. Proteínas específicas intervienen en las funciones características de las membranas. Las proteínas pueden actuar como bombas, canales, receptores, transductores de energía y enzimas. Las proteínas de membranas están incorporadas en las bicapas lipídicas, que crean entornos adecuados para su funcionamiento.
5. Las membranas son *ensamblajes no covalentes*. Las moléculas de lípido y de proteína que forman parte de las membranas se mantienen unidas mediante interacciones no covalentes, que actúan de forma cooperativa.
6. Las membranas son *asimétricas*. Las dos caras de las membranas biológicas siempre son distintas entre sí.
7. Las membranas son *estructuras fluidas*. Las moléculas de lípido difunden rápidamente en el plano de la membrana, como las proteínas, a menos que se encuentren ancladas por medio de interacciones específicas. Por el contrario, las moléculas de lípido y de proteína no pueden rotar fácilmente de un lado a otro de la membrana.
8. La mayoría de las membranas celulares están *eléctricamente polarizadas* de modo que el interior es negativo. El potencial de membrana desempeña un papel crucial en el transporte, la conversión de la energía y la excitabilidad.

✓ 1 Identificar la fuerza energética que impulsa la formación de membranas.

12.1 Los fosfolípidos y los glicolípidos forman bicapas

Recordemos de nuestro estudio previo de los lípidos de membrana que, aunque el repertorio de lípidos es amplio, estos lípidos poseen elementos estructurales comunes: son moléculas anfipáticas con un grupo hidrofílico (polar) en la cabeza y una cola hidrocarbonada hidrofóbica (p. 187). *La formación de las membranas es consecuencia de la naturaleza anfipática de las moléculas*. Los grupos polares de sus cabezas favorecen el contacto con el agua mientras que sus colas hidrofóbicas prefieren interaccionar entre sí en vez de con el agua. ¿Cómo pueden organizarse en disoluciones acuosas las moléculas que presentan estas preferencias?

Para la mayoría de los fosfolípidos y glicolípidos, la estructura preferida en disoluciones acuosas es la de una bicapa lipídica, formada por dos láminas lipídicas. Las colas hidrofóbicas de una lámina interaccionan con las de la otra, formando un interior hidrofóbico que actúa como una barrera de permeabilidad. Los grupos hidrofílicos de la cabeza interaccionan con el medio acuoso a cada lado de la bicapa. Cada una de las láminas enfrentadas se denomina monocapa (Figura 12.1).

Las bicapas lipídicas se forman espontáneamente mediante un *proceso de autoensamblaje*. En otras palabras, la estructura de una bicapa es inherente a la estructura de las moléculas lipídicas constituyentes. En el agua, el crecimiento de las bicapas lipídicas a partir de fosfolípidos es rápido y espontáneo. *El efecto hidrofóbico es la principal fuerza que dirige la formación de las bicapas lipídicas*. Recordemos que el efecto hidrofóbico también desempeña un papel dominante en el plegamiento de las proteínas (p. 60). A medida que las colas hidrocarbonadas de los lípidos de membrana se recluyen en el interior no polar de la bicapa, se van liberando moléculas de agua de estas colas. Además, *entre las colas hidrocarbonadas se establecen fuerzas atractivas de van der Waals que propician el empaquetamiento compacto de las colas*. Por último, *entre los grupos polares de la cabeza y las moléculas de agua se establecen atracciones electrostáticas y puentes de hidrógeno*.

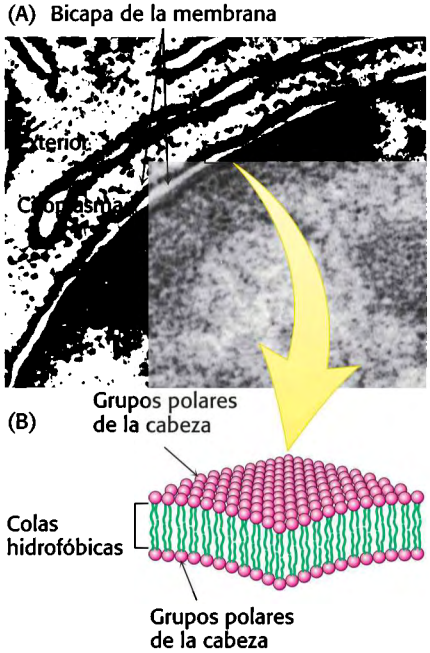


Figura 12.1 Sección de la bicapa de fosfolípidos de la membrana. (A) Micrografía electrónica. (B) Modelo espacial compacto de una estructura idealizada que muestra estructuras regulares. [Don W. Fawcett/Photo Researchers]

Aspecto clínico

Se pueden formar vesículas lipídicas a partir de fosfolípidos

La tendencia de los fosfolípidos a formar membranas se ha utilizado para crear una importante herramienta experimental y clínica. Las *vesículas lipídicas*, o *liposomas*, son compartimentos acuosos rodeados por una bicapa lipídica (Figura 12.2). Estas estructuras se pueden utilizar para estudiar la permeabilidad de la membrana o para suministrar compuestos químicos a las células. Los liposomas se forman a partir de una suspensión de lípidos de membrana en un medio acuoso que, a continuación, se *sonica* (es decir, se somete a agitación por medio de ondas sónicas de alta frecuencia) para dar lugar a una dispersión de vesículas cerradas con un tamaño bastante uniforme. Las vesículas formadas por este método tienen una forma prácticamente esférica y un diámetro en torno a 500 Å (50 nm). Iones o moléculas pueden quedar atrapados en el compartimento acuoso de las vesículas lipídicas si estas se han formado en presencia de dichas sustancias (Figura 12.3).

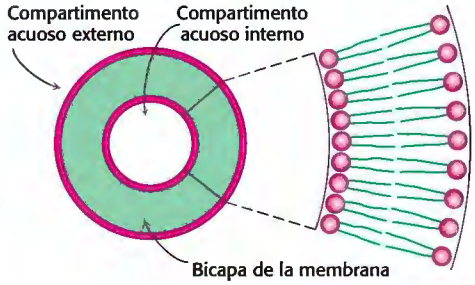


Figura 12.2 Un liposoma. Un liposoma, o vesícula lipídica, es un pequeño compartimento acuoso rodeado de una bicapa lipídica.

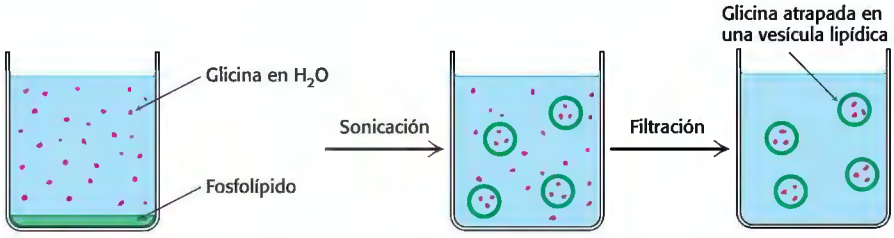
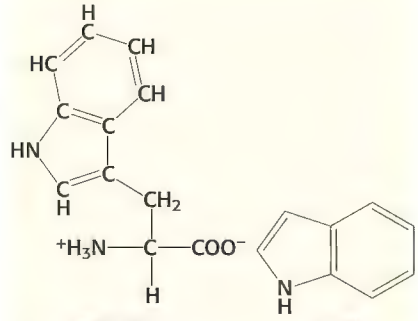


Figura 12.3 Preparación de liposomas que contienen glicina. Los liposomas que contienen glicina se forman sonicando fosfolípidos en presencia de glicina. La glicina libre se elimina por filtración.

Se están llevando a cabo experimentos para desarrollar aplicaciones clínicas para los liposomas. Por ejemplo, se puede inyectar a los pacientes liposomas que contengan fármacos o DNA para experimentos de terapia génica. Estos liposomas se fusionan con la membrana plasmática de muchos tipos de células, introduciendo en ellas las moléculas que contienen. La ventaja de la administración de fármacos mediante liposomas es que los medicamentos van dirigidos a su destino con más precisión que los medicamentos sistémicos, lo que significa que habrá menos regiones del organismo expuestas a fármacos potencialmente tóxicos. Los liposomas son especialmente útiles si hay que dirigirlos hacia tumores o lugares con inflamación, ya que en estos lugares la densidad de los vasos sanguíneos es elevada. Los liposomas se concentran en estas áreas donde la circulación sanguínea es más intensa, de modo que se reduce la cantidad de fármaco que reciben los tejidos sanos. Se pueden fabricar vesículas lipídicas que vayan dirigidas hacia determinados tipos celulares incorporando en la membrana de los liposomas proteínas que reconozcan a la célula diana. La fusión selectiva de estas vesículas con las células diana es un método muy prometedor a la hora de controlar la administración de fármacos a las células diana. ■



Las bicapas lipídicas son muy impermeables a los iones y a la mayoría de las moléculas polares

Los resultados de los estudios de permeabilidad de las bicapas lipídicas han demostrado que *las membranas formadas por bicapas lipídicas son muy poco permeables para los iones y la mayoría de las moléculas polares*. La capacidad de las moléculas para moverse a través de un entorno lipídico, como el de una membrana, es muy diversa (Figura 12.4). Por ejemplo, el Na^+ y el K^+ atraviesan estas membranas 10^9 veces más despacio que el H_2O.

✓ 2 Explicar por qué las membranas son impermeables a la mayoría de las sustancias.

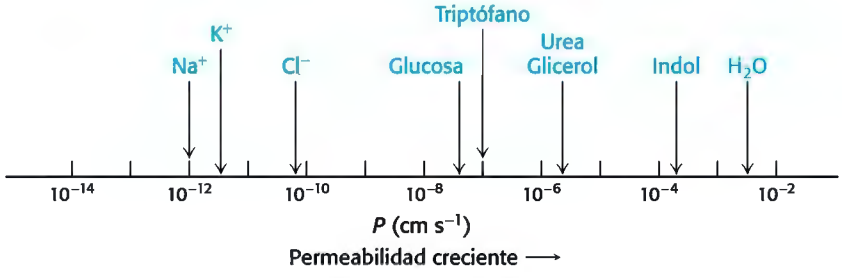


Figura 12.4 Coeficientes de permeabilidad de iones y moléculas en presencia de una bicapa lipídica. La capacidad de las moléculas para atravesar una bicapa lipídica abarca un amplio rango de valores. El coeficiente de permeabilidad (P), expresado en cm s^{-1}, proporciona una estimación cuantitativa de la velocidad con que una molécula atraviesa una membrana.



$Na(OH_2)_6^+$

Un ion sodio rodeado por su capa de solvatación

El triptófano, que a pH 7 es un zwitterión, atraviesa la membrana 10^3 veces más despacio que el indol, una molécula estructuralmente similar, pero carente de grupos iónicos. De hecho, los experimentos demuestran que *la permeabilidad de las moléculas pequeñas está correlacionada con sus solubilidades relativas en agua y en disolventes no polares*. Esta relación sugiere que una molécula pequeña podría atravesar una bicapa lipídica del siguiente modo: en primer lugar, se desprende del agua que lleva asociada, que se denomina capa de solvatación; después, se disuelve en el interior hidrocarbonado de la membrana; y, por último, difunde a través de su interior hacia el otro lado de la membrana, donde vuelve a solvatarse por el agua. Un ion como el Na^+ no puede atravesar la membrana porque la sustitución de su capa de moléculas de agua polares por interacciones no polares con el interior de la membrana es muy desfavorable desde el punto de vista energético.

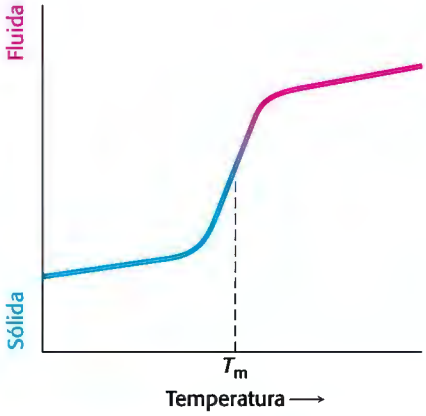


Figura 12.5 Temperatura de transición de fases, o de fusión (T_m), de una membrana fosfolipídica. A medida que aumenta la temperatura, la membrana fosfolipídica cambia de un estado empaquetado y ordenado a un estado más desordenado.

12.2 La fluidez de la membrana se controla mediante la composición de ácidos grasos y el contenido de colesterol

Muchos procesos de membrana, como el transporte o la transducción de señales, dependen de la fluidez de los lípidos de la membrana que, a su vez, depende de las propiedades de las cadenas de ácido graso. Recordemos que el punto de fusión de cada ácido graso depende de su longitud y del número de dobles enlaces *cis* (p. 181). Estas mismas propiedades químicas afectan a la fluidez de las membranas, ya que entre sus componentes se encuentran los ácidos grasos. En las bicapas de las membranas, las cadenas de ácido graso pueden encontrarse en un estado rígido y ordenado o en un estado relativamente desordenado o fluido. La transición del estado rígido al estado fluido se produce de forma más bien brusca a medida que la temperatura se eleva por encima de la T_m, la temperatura de fusión (**Figura 12.5**). Esta *temperatura de transición depende de la longitud de las cadenas de ácido graso y de su grado de insaturación*. Los ácidos grasos largos interaccionan entre sí con más fuerza que los cortos gracias a su mayor número de interacciones de van der Waals y, por tanto, prefieren el estado rígido. La presencia de cadenas de ácido graso saturadas favorece aún más el estado rígido, ya que sus rectas cadenas hidrocarbonadas interaccionan muy favorablemente entre sí (**Figura 12.6**). Por otra parte, *un doble enlace cis produce una desviación en la cadena hidrocarbonada. Esta desviación dificulta el empaquetamiento ordenado de las cadenas de ácido graso y, por tanto, disminuye la T_m*.

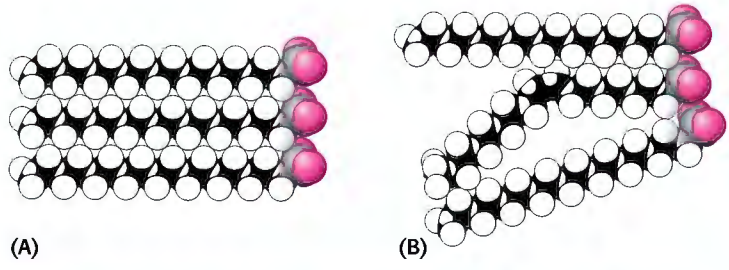


Figura 12.6 Empaquetamiento de las cadenas de ácido graso en una membrana. El empaquetamiento altamente ordenado de las cadenas de ácido graso se desbarata por la presencia de dobles enlaces *cis*. Los modelos espaciales compactos muestran el empaquetamiento (A) de tres moléculas de estearato (C_{18}, saturado) y (B) de una molécula de oleato (C_{18}, insaturado) entre dos moléculas de estearato.

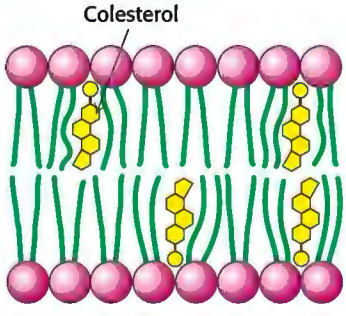


Figura 12.7 El colesterol desbarata el empaquetamiento compacto de las cadenas de ácido graso.
[Tomado de S. L. Wolfe, *Molecular and Cellular Biology* (Wadsworth, 1993).]

Las bacterias regulan la fluidez de sus membranas variando el número de dobles enlaces y la longitud de sus cadenas de ácido graso. En los animales, el colesterol es el modulador fundamental de la fluidez de la membrana. El colesterol consta de un núcleo esteroideo voluminoso con un grupo hidroxilo en uno de sus extremos y con una cola hidrocarbonada flexible en el otro. La molécula se inserta en las bicapas con su eje más largo perpendicular al plano de la membrana. El grupo hidroxilo del colesterol forma un puente de hidrógeno con un átomo de oxígeno de un grupo carbonilo de la cabeza hidrofílica de un fosfolípido, mientras que su cola hidrocarbonada se localiza en el interior hidrofóbico de la bicapa. La distinta forma del colesterol en comparación con la de los fosfolípidos desbarata las interacciones regulares que se establecen entre las cadenas de ácido graso y ayuda a mantener la fluidez de la membrana (**Figura 12.7**).

Además de sus efectos inespecíficos sobre la fluidez de la membrana, el colesterol puede formar complejos específicos tanto con los lípidos que poseen un esqueleto de esfingosina, entre los que se incluyen la esfingomielina y determinados glicolípidos, como con determinadas proteínas. Estos complejos se concentran en pequeñas regiones de la membrana (10-200 nm) que son muy dinámicas. Con frecuencia, las estructuras resultantes reciben el nombre de *balsas lipídicas* (*lipid rafts*). Uno de los resultados de estas interacciones es la *moderación de la fluidez de la membrana*, dando lugar a membranas menos fluidas pero que, al mismo tiempo, no están tan expuestas a las transiciones de fase. Aunque su pequeño tamaño y su naturaleza dinámica han hecho que su estudio resulte muy difícil, las balsas lipídicas pueden desempeñar un papel a la hora de concentrar las proteínas que intervienen en las rutas de transducción de señales y pueden servir para regular la curvatura de la membrana y los procesos de gemación.

? **PREGUNTA RÁPIDA 1** Pronostique el efecto que se producirá sobre la composición de los lípidos de membrana cuando se aumenta la temperatura de un cultivo bacteriano de 37 °C a 42 °C.

12.3 Las proteínas desempeñan la mayoría de los procesos que tienen lugar en la membrana

✓ 3 Describir el papel que juegan las proteínas en la permeabilidad selectiva de las membranas.

Ahora centraremos nuestra atención en las proteínas de membrana, que son las responsables de la mayoría de los procesos dinámicos que llevan a cabo las membranas. Los lípidos de membrana forman una barrera de permeabilidad y, de este modo, establecen compartimentos, mientras que *prácticamente el resto de las funciones de la membrana son desempeñadas por proteínas específicas*. Concretamente, las proteínas transportan sustancias químicas e información a través de una membrana.

Las membranas con funciones diferentes difieren en su contenido proteico. La mielina, una membrana que actúa como un aislante eléctrico que rodea determinadas fibras nerviosas, tiene un bajo contenido proteico (18%). Las membranas que están formadas casi exclusivamente por lípidos son aislantes adecuados porque los componentes hidrofóbicos no conducen bien la corriente. Por el contrario, las membranas plasmáticas, o membranas exteriores, de casi todas las demás células deben realizar el tráfico de moléculas hacia el interior y hacia el exterior de las células y, por tanto, contienen multitud de bombas, canales, receptores y enzimas. Normalmente, el contenido proteico de estas membranas plasmáticas es del 50%. Las membranas que intervienen en la transducción de energía, como las membranas internas de mitocondrias y cloroplastos, son las que presentan un contenido más alto de proteínas —típicamente, del 75%. En general, *las membranas que desempeñan distintas funciones contienen distintos tipos y distinta cantidad de proteínas.*

Las proteínas se asocian con la bicapa lipídica de varias formas

Las proteínas de membrana se pueden clasificar como *periféricas* o *integrales*, en función de la facilidad con que se pueden extraer de la membrana (**Figura 12.8**). Las *proteínas de membrana integrales* se encuentran inmersas entre las cadenas hidrocarbonadas de los lípidos de membrana y solo se pueden extraer descomponiendo físicamente la membrana. De hecho, la mayoría de las proteínas de membrana integrales atraviesan la bicapa lipídica. Por el contrario, las *proteínas de membrana periféricas* se unen principalmente a los grupos de la cabeza polar de los lípidos mediante interacciones electrostáticas y puentes de hidrógeno. Estas interacciones polares se pueden desbaratar añadiendo sales o cambiando el pH del entorno de la membrana. Muchas proteínas de membrana periféricas se unen a la superficie de proteínas integrales, tanto por la cara citoplasmática como por la cara extracelular de la membrana. Otras se encuentran ancladas a la bicapa lipídica por medio de una cadena hidrofóbica unida covalentemente, como, por ejemplo, un ácido graso (p. 188).

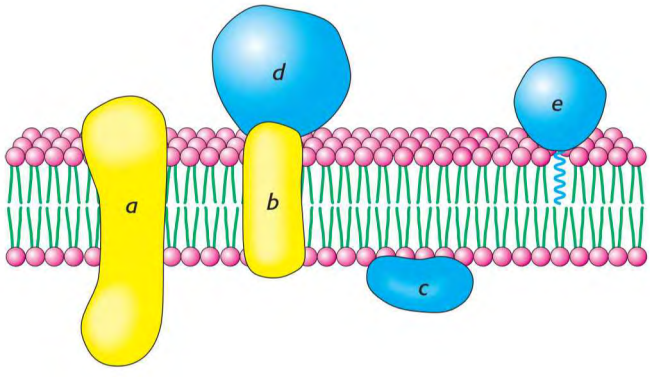


Figura 12.8 Proteínas de membrana integrales y periféricas. Las proteínas de membrana integrales (*a* y *b*) interaccionan extensamente con la región hidrocarbonada de la bicapa. La mayoría de las proteínas de membrana integrales que se conocen atraviesan la bicapa lipídica. Algunas proteínas de membrana periféricas (*c*) interaccionan con los grupos de la cabeza polar de los lípidos. Otras proteínas de membrana periféricas (*d*) se unen a las superficies de las proteínas integrales. Algunas proteínas (*e*) se encuentran firmemente ancladas a la membrana por medio de una molécula de lípido unida covalentemente.

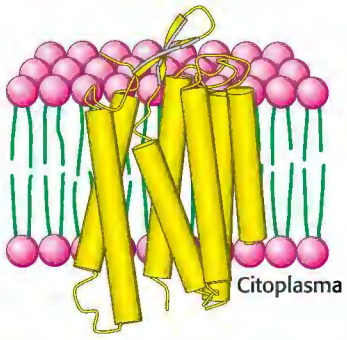


Figura 12.9 Estructura de la bacteriorrodopsina. *Observe* que la bacteriorrodopsina está formada mayoritariamente por hélices α que atraviesan la membrana (representadas mediante cilindros de color amarillo). El dibujo muestra cómo atraviesan la bicapa de la membrana. El interior de la membrana se muestra de color verde y los grupos de la cabeza polar de color rojo. [Elaborada a partir de 1 BRX.pdb.]

Las proteínas pueden atravesar la membrana mediante hélices α. Por ejemplo, consideremos la *bacteriorrodopsina*, que utiliza la energía de la luz para transportar protones desde el interior de la célula hacia el exterior, generando así un gradiente de protones que es utilizado para formar ATP (**Figura 12.9**). La bacteriorrodopsina está formada casi exclusivamente por hélices α; siete hélices α empaquetadas de forma compacta y dispuestas de forma prácticamente perpendicular al plano de la membrana celular la atraviesan de un lado a otro. Del mismo modo en que las regiones hidrocarbonadas no polares de los lípidos se asocian entre sí, las hélices α no polares de la bacteriorrodopsina se asocian con el interior hidrocarbonado de la bicapa lipídica. *En las proteínas de membrana, el motivo estructural más frecuente son las hélices α que atraviesan la membrana de un lado a otro.*

Las regiones de la proteína que atraviesan la membrana de un lado a otro también pueden ser hebras β. La porina, una proteína presente en las membrana externas de bacterias como *E. coli*, representa una clase de proteínas de membrana que está formada por hebras β y que prácticamente no contiene hélices α (Figure 12.10). La disposición de las hebras β es bastante sencilla: cada hebra está unida por puentes de hidrógeno a su vecina, con una orientación antiparalela, formando una única hoja β. La hoja β se curva sobre sí misma para formar un cilindro hueco que, como el propio nombre de la proteína sugiere, forma un poro, o canal, en la membrana. La superficie externa de la porina es, convenientemente, no polar, ya que interacciona con el interior hidrocarbonado de la membrana. Por el contrario, el interior del canal es bastante hidrofílico y está lleno de agua.

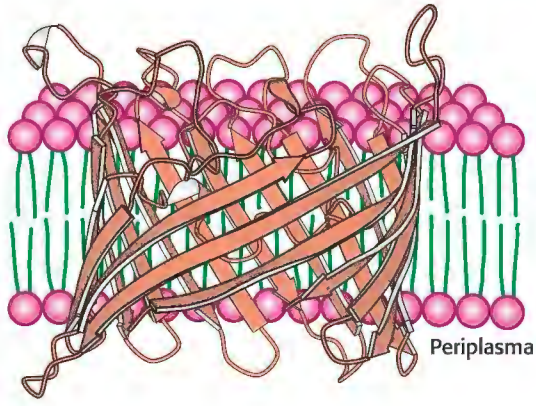


Figura 12.10 Estructura de una porina bacteriana (de *Rhodopseudomonas blastica*). *Observe* que esta proteína de membrana está formada íntegramente por hebras β. Solo se muestra un monómero de la proteína trimérica. [Elaborada a partir de 1 PRN.pdb.]

Otro método que permite a una proteína asociarse con una membrana consiste en insertar solo una parte de la proteína en la membrana. La estructura de la enzima prostaglandina H_2 sintasa-1, que se encuentra unida a la membrana del retículo endoplasmático, es un ejemplo de este tipo se asociación. La prostaglandina H_2 sintasa-1 se dispone a lo largo de la superficie externa de la membrana, pero está firmemente unida mediante una serie de hélices α con superficies hidrofóbicas que se proyectan desde la parte inferior de la proteína hacia la membrana (**Figura 12.11**).

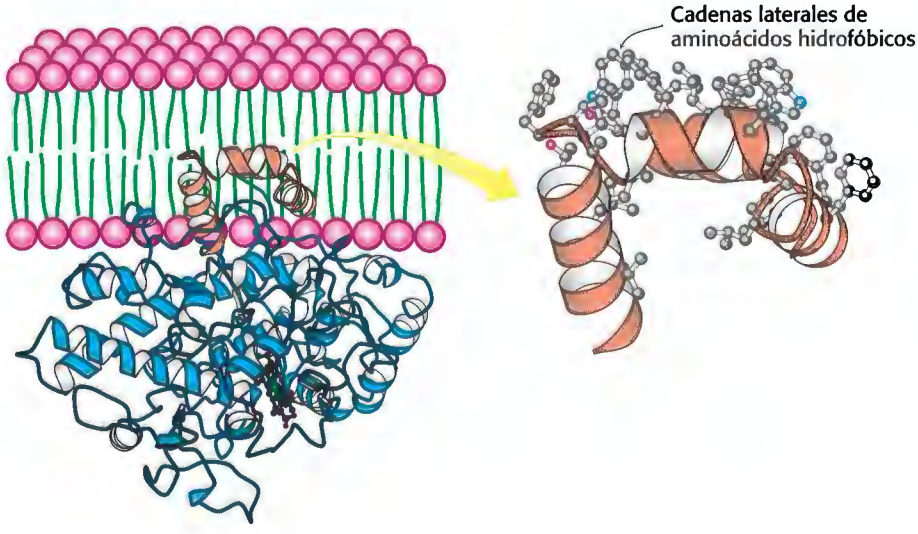


Figura 12.11 Unión de la prostaglandina H_2 sintasa-1 a la membrana. *Observe* que la prostaglandina H_2 sintasa-1 se mantiene unida a la membrana por medio de un conjunto de hélices α (en color naranja) recubiertas de cadenas laterales hidrofóbicas. Se muestra un monómero de la enzima dimérica. [Elaborada a partir de 1 PTH.pdb.]

Aspecto clínico

La asociación de la prostaglandina H_2-sintasa I con la membrana explica los efectos de la aspirina

La localización de la prostaglandina H_2 sintasa-1 en la membrana es crucial para su función. La prostaglandina H_2 sintasa-1 cataliza la conversión de ácido araquidónico en prostaglandina H_2, que promueve la inflamación y modula la secreción de ácido gástrico mediante un proceso que consta de dos etapas y que requiere una actividad ciclooxigenasa (COX) y una actividad peroxidasa. El ácido araquidónico es un ácido graso que se genera mediante la hidrólisis de lípidos de la membrana. El ácido araquidónico se desplaza desde el interior no polar de la bicapa lipídica, donde se genera, hacia el centro activo de la enzima atravesando un canal hidrofóbico de la proteína, sin tener que introducirse en un entorno acuoso (Figura 12.12). De hecho, casi todos nosotros hemos experimentado la importancia de este canal que conduce hacia la ciclooxigenasa: medicamentos como la aspirina y el ibuprofeno bloquean el canal e impiden la síntesis de prostaglandina, reduciendo así la respuesta inflamatoria. La aspirina cede un grupo acetilo a un residuo de serina (Ser 530) que está situado en la trayectoria que conduce al centro activo, bloqueando así el canal (Figura 12.13). Por ello, tanto la aspirina como otros fármacos similares reciben el nombre de inhibidores COX. ■

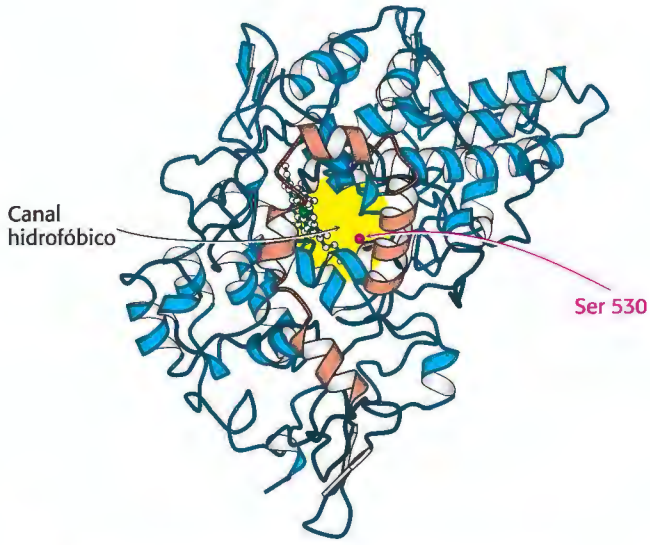
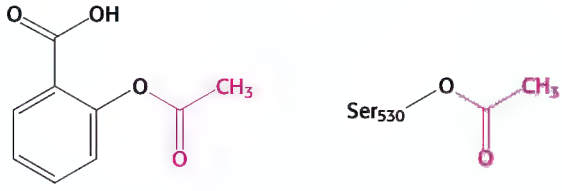


Figura 12.12 Canal hidrofóbico de la prostaglandina H_2 sintasa-1. Al observar la prostaglandina H_2 sintasa-1 desde la membrana se puede ver el canal hidrofóbico que conduce al centro activo. Las hélices que intervienen en el anclaje a la membrana se muestran de color naranja [Elaborada a partir de 1PTH.pdb.]

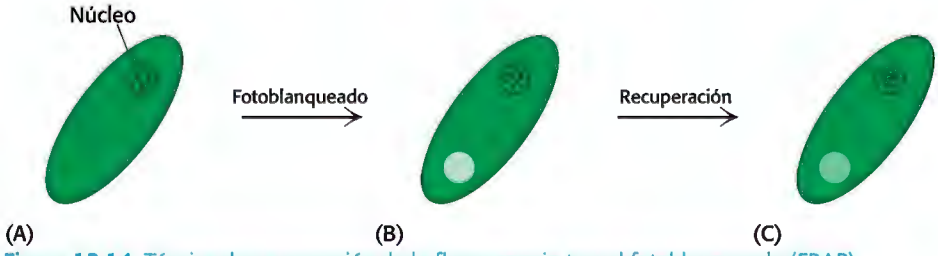


Aspirina
(Ácido acetilsalicílico)

Figura 12.13 Efectos de la aspirina sobre la prostaglandina H_2 sintasa-1. La aspirina actúa transfiriendo un grupo acetilo a un residuo de serina de la prostaglandina H_2 sintasa-1.

12.4 Los lípidos y muchas proteínas de membrana difunden lateralmente en el plano de la membrana

Las membranas no son estructuras rígidas, estáticas. Al contrario, los lípidos y muchas proteínas de membrana están en constante movimiento, un proceso denominado *difusión lateral*. El rápido movimiento lateral de las proteínas de membrana se ha visualizado utilizando la microscopía de fluorescencia y la técnica de la *recuperación de la fluorescencia tras el fotoblanqueado* (FRAP, *fluorescene recovery after photobleaching*; Figura 12.14). En primer lugar, uno de los componentes de la superficie celular, como,



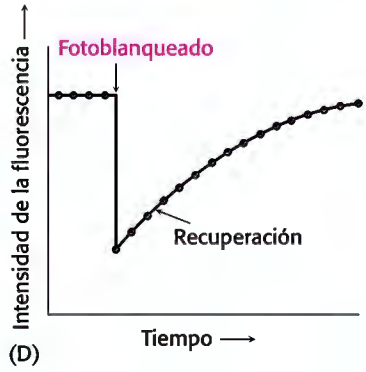


Figura 12.14 Técnica de recuperación de la fluorescencia tras el fotoblanqueado (FRAP). (A) La superficie de la célula emite fluorescencia gracias a un componente de la superficie que está marcado. (B) Las moléculas fluorescentes de una pequeña parte de la superficie se decoloran por medio de un intenso pulso de luz. (C) La intensidad de la fluorescencia se recupera a medida que las moléculas blanqueadas difunden hacia fuera de la región y las moléculas sin blanquear difunden hacia ella. (D) La velocidad de la recuperación depende del coeficiente de difusión.

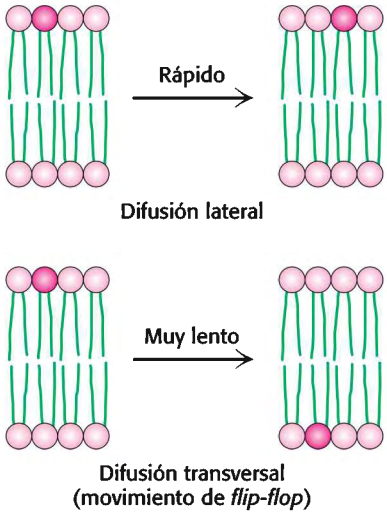


Figura 12.15 Movimiento de los lípidos en las membranas. La difusión lateral de los lípidos es mucho más rápida que la difusión transversal (movimiento de *flip-flop*).

por ejemplo, una proteína o la cabeza polar de un fosfolípido, se marca fluorescentemente. Mediante un microscopio de fluorescencia se observa una pequeña región de la superficie celular (~3 μm^2). A continuación, se destruyen las moléculas fluorescentes de esta región (fotoblanqueado) por medio de un intenso pulso de luz procedente de un láser. Posteriormente, se monitoriza la fluorescencia de esta región en función del tiempo. Si el componente marcado es móvil, las moléculas decoloradas abandonarán la región afectada y otras moléculas sin blanquear entrarán en ella, dando lugar a un aumento de la intensidad de la fluorescencia. La velocidad a la que se recupera la fluorescencia depende de la movilidad lateral del componente marcado fluorescentemente. Este tipo de experimentos muestra que una molécula de fosfolípido se mueve, por término medio, una distancia de 2 μm en 1 s. Esta velocidad significa que *una molécula de lípido puede desplazarse de un extremo a otro de una bacteria en un segundo*. Por el contrario, las proteínas difieren considerablemente en su movilidad lateral. *Algunas proteínas se mueven casi tanto como los lípidos, mientras que otras permanecen prácticamente inmóviles*. Las proteínas se inmovilizan mediante su unión al citoesqueleto o a componentes estructurales del exterior de la célula, la denominada matriz extracelular.

Basándose en la movilidad de las proteínas en las membranas, en 1972, S. Jonathan Singer y Garth Nicolson propusieron el *modelo del mosaico fluido* para describir la organización general de las membranas biológicas. Básicamente, su modelo propone que las membranas son *disoluciones bidimensionales de lípidos orientados y de proteínas globulares*. La bicapa lipídica tiene un papel doble: es a la vez un *disolvente* para las proteínas de membrana integrales y una *barrera de permeabilidad*. Las proteínas de membrana tienen libertad para difundir lateralmente en la matriz lipídica a menos que se encuentren restringidas por interacciones especiales.

Aunque la difusión lateral de los componentes de la membrana puede ser rápida, la rotación espontánea de los lípidos para pasar de una monocapa de la membrana a la otra es un proceso muy lento. La transición de una molécula de una superficie de la membrana a la otra se denomina *difusión transversal* o *movimiento de flip-flop*. Los resultados experimentales demuestran que *una molécula de fosfolípido realiza un movimiento de flip-flop una vez cada varias horas*. Por tanto, una molécula de fosfolípido tarda unas 10^9 veces más tiempo en pasar de una superficie de la membrana a la otra que en difundir una distancia de 50 Å por difusión lateral (Figura 12.15). Las barreras de energía libre para el movimiento de *flip-flop* son mayores para las moléculas de proteína que para los lípidos porque las proteínas poseen regiones polares más extensas. De hecho, todavía no se ha observado el movimiento de *flip-flop* en una molécula de proteína. Por tanto, *la asimetría de la membrana se puede mantener durante largos periodos de tiempo.*

12.5 Una de las principales funciones de las proteínas es la de actuar como transportadores

Las proteínas transportadoras son una clase específica de bombas o de canales que facilitan el movimiento de moléculas a través de una membrana. Cada tipo de célula expresa un conjunto específico de transportadores en su membrana plasmática. El conjunto de transportadores expresados es esencial porque estos transportadores determinan, en gran medida, la composición iónica del interior de una célula y los compuestos que se pueden obtener del entorno de la célula. En cierto modo, el conjunto de transportadores expresado por una célula determina las características celulares porque una célula solo puede llevar a cabo aquellas reacciones bioquímicas para las que ha obtenido los sustratos.

Dos son los factores que determinan si una molécula pequeña atravesará una membrana: (1) el gradiente de concentración de la molécula a través de la membrana y (2) la solubilidad de la molécula en el ambiente hidrofóbico de la membrana. Según la segunda ley de la Termodinámica, las moléculas se mueven espontáneamente desde una región de mayor concentración hacia una de menor concentración. En el caso de muchas moléculas, la membrana celular representa un obstáculo para este movimiento, pero, como se comentó anteriormente (p. 197), algunas moléculas pueden pasar a través de una membrana porque se disuelven en la bicapa lipídica. Este tipo de moléculas se denominan *moléculas lipofílicas*. Las hormonas esteroideas constituyen un ejemplo fisiológico. Estas parientes del colesterol pueden atravesar una membrana que se cruce en su camino mediante un proceso denominado *difusión simple*.

La cosa se complica más cuando la molécula es muy polar. Por ejemplo, en el caso de una célula típica, la concentración de iones sodio en el exterior es de 143 mM y en el interior es de 14 mM, pero, sin embargo, el sodio no entra libremente en la célula porque el ion cargado no puede atravesar el interior hidrofóbico de la membrana. En determinadas circunstancias, como en un impulso nervioso, los iones sodio tienen que entrar en la célula. ¿Cómo son capaces estos iones de atravesar el interior hidrofóbico de la membrana? Los iones sodio pasan a través de canales específicos presentes en la barrera hidrofóbica —canales formados por proteínas de membrana. Esta forma de atravesar la membrana se denomina *difusión facilitada* porque la difusión a través de la membrana es más fácil gracias al canal. También se denomina *transporte pasivo* porque la energía que dirige el movimiento de los iones se genera por el propio gradiente iónico, sin ninguna contribución por parte del sistema de transporte. Los canales, al igual que las enzimas, muestran especificidad hacia el sustrato, ya que facilitan el transporte de algunos iones pero no de otros, aunque sean muy parecidos.

Pero antes de nada, ¿cómo se establece el gradiente de sodio? En este caso, el sodio se tiene que mover, o ser bombeado, *en contra* de un gradiente de concentración. Como el movimiento de un ion de un compartimento donde la concentración es baja a otro donde la concentración es mayor da lugar a un descenso de la entropía, se necesita un aporte de energía libre. Las *bombas* proteicas integradas en la membrana son capaces de utilizar una fuente de energía para mover una molécula en contra de un gradiente de concentración mediante un proceso que se denomina *transporte activo*.

En muchas células, la ATPasa de Na^+-K^+ es un importante sistema de bombeo

El fluido extracelular de las células animales tiene una concentración de sal similar a la del agua de mar. Sin embargo, las células deben controlar sus concentraciones intracelulares de sal para evitar interacciones desfavorables con altas concentraciones de iones y para facilitar procesos específicos, como, por ejemplo, un impulso nervioso. Concretamente, la mayoría de las células animales contiene una elevada concentración de K^+ y una baja concentración de Na^+ en comparación con el fluido extracelular. Estos gradientes iónicos se generan por medio de un sistema de transporte específico, una enzima denominada *bomba de* Na^+-K^+ o *ATPasa de* Na^+-K^+. La hidrólisis de ATP por parte de la bomba proporciona la energía necesaria para el transporte activo de tres iones Na^+ hacia el exterior de la célula y dos iones K^+ hacia el interior, generando así los gradientes (**Figura 12.16**). En otras palabras, la ATPasa de Na^+-K^+ es una *bomba impulsada por el ATP*.

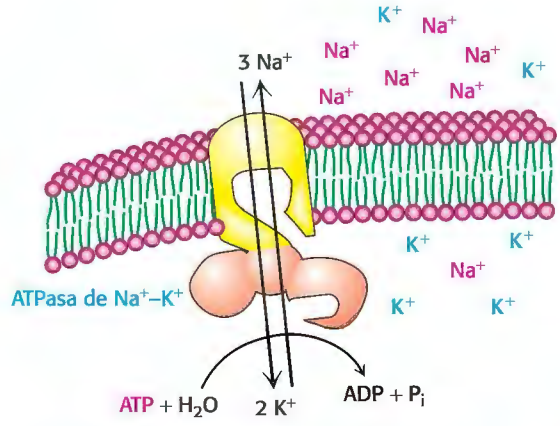
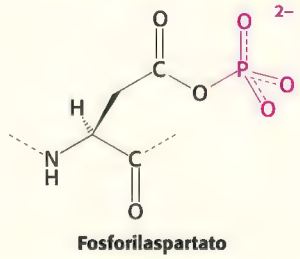


Figura 12.16 Transducción de energía mediada por proteínas de membrana. La ATPasa de Na^+-K^+ convierte la energía libre de la transferencia de fosforilos en la energía libre de un gradiente de iones Na^+.

El transporte activo de Na^+ y K^+ es de gran importancia fisiológica. De hecho, más de una tercera parte del ATP que consume un animal en reposo se utiliza para bombear estos iones. En las células animales, el gradiente de Na^+-K^+ controla el volumen celular, hace que las neuronas y las células musculares sean eléctricamente excitables y dirige el transporte activo de azúcares y aminoácidos. Este tercer fenómeno se denomina transporte activo secundario (p. 205) porque el gradiente de sodio generado por la ATPasa de Na^+-K^+ (el proceso de transporte activo principal) se puede utilizar para impulsar el transporte activo de otras moléculas (el proceso de transporte activo secundario) cuando el sodio fluye a favor de su gradiente.

La bomba se denomina ATPasa de Na^+-K^+ porque la hidrólisis del ATP solo tiene lugar cuando están presentes el Na^+ y el K^+. La ATPasa de Na^+-K^+ es una *ATPasa de tipo P*, ya que forma un intermediario fosforilado que es fundamental. Durante la formación de este intermediario, un grupo fosforilo procedente del ATP se une a la cadena lateral de un residuo específico de aspartato, un residuo de la bomba que está conservado, para formar fosforilaspartato. Otros ejemplos de ATPasas de tipo P son: la *ATPasa de* Ca^{2+}, que transporta iones calcio hacia fuera del citoplasma, bien hacia el fluido extracelular, bien hacia las mitocondrias o bien hacia el retículo sarcoplásmico de las células musculares, un proceso clave para la contracción del músculo; y la *ATPasa de* H^+-K^+ *gástrica*, que es responsable del bombeo de protones hacia el estómago para reducir su pH por debajo de 1,0. De hecho, las ATPasas de tipo P se encuentran en todos los reinos de la vida.



Fosforilaspartato



Figura 12.17 Dedalera. La dedalera *(Digitalis purpurea)* es una planta muy venenosa gracias a su elevada concentración de potentes esteroides cardiotónicos. La digital, uno de los medicamentos más utilizados, se obtiene a partir de la dedalera. [©Roger Hall/Shutterstock.]

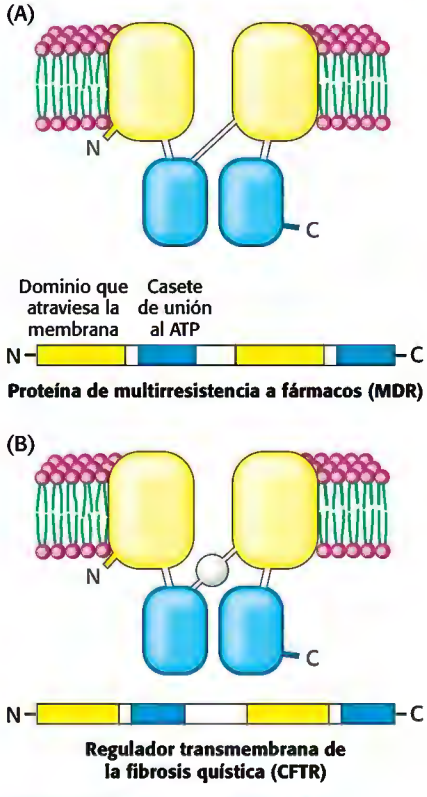


Figura 12.18 Transportadores ABC. La proteína de multirresistencia a fármacos (MDR) y el regulador transmembrana de la fibrosis quística (CFTR) son proteínas homólogas formadas por dos dominios transmembrana y dos dominios de unión al ATP, denominados dominios de unión a ATP de tipo casete (ABC).

Aspecto clínico

La digital inhibe la bomba de Na^+-K^+ bloqueando su desfosforilación

Si los músculos del corazón no son capaces de contraerse con fuerza suficiente para bombear la sangre eficazmente, el resultado puede ser una insuficiencia cardiaca. Ciertos esteroides procedentes de plantas, como la digital o la ouabaína, se denominan *esteroides cardiotónicos* debido a su capacidad para fortalecer las contracciones del corazón. Curiosamente, los esteroides cardiotónicos ejercen su efecto inhibiendo la bomba de Na^+–K^+. Esta inhibición tiene como resultado un incremento de la concentración de iones calcio en el corazón. Un incremento de la concentración de Ca^{2+} provoca la contracción del músculo, o el latido cardiaco. Los iones calcio son bombeados hacia el exterior del músculo por un intercambiador sodio-calcio. Cuando el Na^+ entra al músculo, el Ca^{2+} sale y la contracción termina.

La digital es una mezcla de esteroides cardiotónicos procedente de las hojas secas de la planta denominada dedalera (*Digitalis purpurea*) (**Figura 12.17**). El compuesto incrementa la fuerza de la contracción del músculo cardiaco y es, por tanto, un medicamento a tener en cuenta para tratar la insuficiencia cardiaca congestiva. La inhibición de la bomba de Na^+-K^+ por la digital implica que el Na^+ no es bombeado al exterior de la célula, lo que genera mayores niveles de Na^+ en el interior de la célula. El aumento en la concentración de Na^+, a su vez, afecta al intercambiador de sodio-calcio. Este intercambiador, un ejemplo de transporte activo secundario, depende de una baja concentración de Na^+ para hacer entrar el Na^+ al interior de la célula a la vez que aporta la energía necesaria para expulsar el Ca^{2+} de la célula. La disminución del gradiente de Na^+ da lugar a una expulsión más lenta del Ca^{2+} por parte del intercambiador sodio-calcio. El consiguiente aumento de los niveles intracelulares de Ca^{2+} aumenta la capacidad del músculo cardiaco para contraerse. Curiosamente, la digital se utilizaba de forma eficaz mucho antes del descubrimiento de la ATPasa de Na^+-K^+. En 1785, William Withering, un médico inglés, escuchó unas historias sobre una anciana, a la que se conocía como "la vieja de Shropshire", que curaba a la gente de hidropesía (edemas, que hoy en día serían diagnosticados como insuficiencia cardiaca congestiva) con un extracto de la dedalera. Withering realizó el primer estudio científico de los efectos de la dedalera sobre la insuficiencia cardiaca congestiva y aportó pruebas sobre su eficacia. ■

Aspecto clínico

La multirresistencia a fármacos pone de relieve la importancia de una familia de bombas de membrana con dominios de unión al ATP

Los estudios sobre enfermedades humanas han dado lugar al descubrimiento de otra gran familia de importantes proteínas de transporte activo, con estructuras y mecanismos bastante distintos de los de la familia de ATPasas de tipo P. Con frecuencia, las células tumorales en cultivo se vuelven resistentes a fármacos que, en un principio, resultaban bastante tóxicos para las células. Sorprendentemente, el desarrollo de la resistencia a un fármaco también hace que las células sean menos sensibles a otros compuestos. Este fenómeno se conoce con el nombre de *multirresistencia a fármacos*. Especialmente significativo fue el descubrimiento de que la aparición de la multirresistencia a fármacos estaba relacionada con la expresión de una proteína que funciona como una bomba dependiente de ATP que expulsa una amplia gama de pequeñas moléculas de las células que la expresan. La proteína se denomina *proteína multirresistente a fármacos* (MDR, *multidrug resistance protein*) o *glicoproteína P* ("glico" porque entre sus componentes se incluyen carbohidratos). Cuando las células se exponen a un fármaco, la MDR bombea el medicamento hacia el exterior de la célula antes de que el fármaco pueda ejercer sus efectos. La MDR está formada por cuatro dominios: dos dominios que atraviesan la membrana y dos dominios que se unen al ATP (**Figura 12.18**A). Los dominios de unión al ATP de estas proteínas se denominan dominios de unión a ATP de tipo casete (ABC, *ATP-binding cassetes*). Los transportadores que contienen estos dominios se denominan *transportadores ABC*. Los transportadores ABC son una de las superfamilias de proteínas más grandes y se encuentran en todas las formas de vida.

Otro ejemplo de un transportador ABC es el *regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística* (CFTR; Figura 12.18B). El CFTR actúa como un ca-

nal de cloro regulado por ATP en las membranas plasmáticas de las células epiteliales. Las mutaciones en el gen que codifica CFTR provocan una disminución de la secreción de fluidos y sales por parte de CFTR, lo que da lugar a la fibrosis quística. Como consecuencia del funcionamiento anómalo de CFTR, se bloquea la secreción en el páncreas y se acumula un moco deshidratado y espeso en los pulmones que da lugar a infecciones pulmonares crónicas. ■

Aspecto clínico

La ictiosis arlequín es una dramática consecuencia de una mutación en una proteína transportadora de tipo ABC

Además de la fibrosis quística, hay otras enfermedades humanas que surgen como consecuencia de la existencia de proteínas transportadoras ABC defectuosas. Una enfermedad particularmente asombrosa es la ictiosis arlequín, que se debe a la presencia de un transportador ABC para lípidos defectuoso en los queratinocitos, un tipo de células muy abundantes en la piel. Los niños que padecen esta rara enfermedad nacen recubiertos de una piel espesa que restringe sus movimientos. A medida que la piel se seca se forman unas placas duras con forma de rombo que distorsionan gravemente los rasgos faciales. Normalmente, los recién nacidos mueren al cabo de unos pocos días a causa de los problemas para alimentarse, dificultades respiratorias o las infecciones que, probablemente, se deben a las grietas que presentan en la piel. ■

Los transportadores secundarios utilizan un gradiente de concentración para impulsar la formación de otro gradiente

Muchos procesos de transporte activo no están impulsados directamente por la hidrólisis del ATP. En vez de ello, se acopla el flujo de un tipo de ion o molécula en contra de gradiente (algo desfavorable desde el punto de vista termodinámico) con el flujo a favor de gradiente de un ion o molécula distinto. Las proteínas de membrana que mueven iones o moléculas en contra de gradiente por este método se denominan *transportadores secundarios* o *cotransportadores*. Estas proteínas se pueden clasificar como *antiportes* o *simportes*. Las proteínas antiporte acoplan el flujo a favor de gradiente de una especie con el flujo en contra del gradiente de otra especie, que atraviesa la membrana de un lado a otro *en sentido opuesto*; las proteínas simporte utilizan el flujo de una especie para impulsar el flujo de una especie distinta de un lado a otro de la membrana *en la misma dirección* (Figura 12.19).

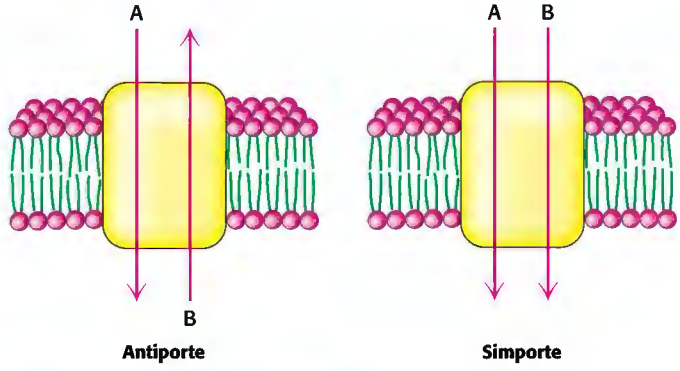


Figura 12.19 Antiportes y simportes. Los transportadores secundarios pueden transportar dos sustratos en direcciones opuestas (antiportes) o dos sustratos en la misma dirección (simportes).

En algunas células animales, la glucosa entra mediante una proteína simporte gracias a la entrada simultánea de Na^+. Este aporte de energía libre por parte del flujo de Na^+ a favor de su gradiente de concentración es suficiente como para generar un gradiente de concentración para una molécula sin carga como la glucosa en el que la concentración de glucosa en el interior es 66 veces mayor que en el exterior (Figura 12.20). Recordemos que el gradiente

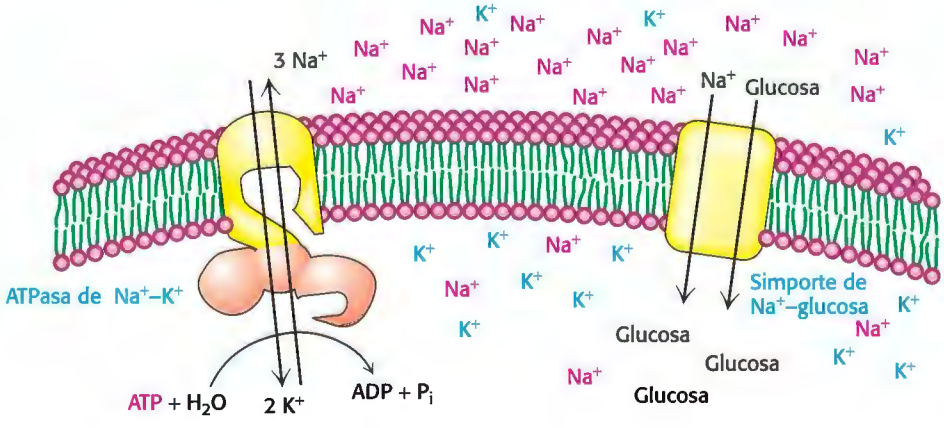


Figura 12.20 Transporte secundario. El gradiente de iones formado por la ATPasa de Na^+-K^+ puede ser utilizado para introducir materiales en la célula gracias a la acción de un transportador secundario como el simporte de Na^+-glucosa.

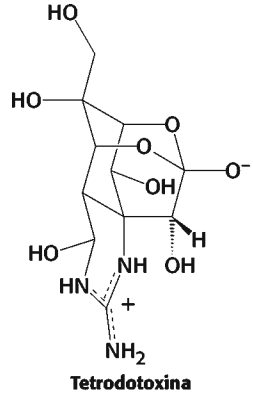
de concentración de iones sodio se generó previamente por la ATPasa de Na^+-K^+, lo que demuestra que la actividad del transportador activo secundario depende del transportador activo primario.

Los canales específicos pueden transportar iones rápidamente a través de las membranas

Las bombas pueden transportar iones a velocidades próximas a varios miles de iones por segundo. Otras proteínas de membrana, los sistemas de transporte pasivo denominados *canales iónicos*, son capaces de alcanzar velocidades de transporte de iones más de 1.000 veces mayores. Estas velocidades de transporte a través de canales iónicos se acercan mucho a las velocidades esperadas en el caso de iones que difunden libremente en una disolución acuosa. Sin embargo, los canales iónicos no son simples tubos que atraviesan las membranas y a través de los cuales pueden fluir los iones con rapidez. En vez de ello, son máquinas moleculares muy sofisticadas que responden a cambios químicos y físicos en su entorno y que experimentan cambios conformacionales controlados de forma muy precisa en el tiempo para regular cuándo pueden entrar o salir los iones de la célula. Los canales se pueden clasificar en base a las señales ambientales que los activan. Los *canales regulados por voltaje* se abren en respuesta a cambios en el potencial de membrana, mientras que los *canales regulados por ligando* se abren en respuesta a la unión de pequeñas moléculas (ligandos), como, por ejemplo, los neurotransmisores.

Una de las manifestaciones más importantes de la actividad de los canales iónicos es el impulso nervioso, que es la forma de *comunicación básica en el sistema nervioso. Un impulso nervioso, o* potencial de acción, es una señal eléctrica producida por el flujo de iones a través de la membrana plasmática de una neurona. Concretamente, el Na^+ fluye de forma transitoria hacia el interior de la célula y el K^+ fluye hacia el exterior. Este tráfico de iones se produce a través de canales proteicos que son específicos y rápidos. La importancia de los canales iónicos se pone de manifiesto por los efectos de la tetrodotoxina, producida por el pez globo (Figura 12.21). La tetrodotoxina inhibe el canal de Na^+, siendo la dosis letal para los seres humanos de tan solo 10 ng.





Tetrodotoxina

Figura 12.21 Pez globo. En Japón, el pez globo se considera una delicia gastronómica. El pez globo produce la tetrodotoxina. Cada año mueren varias personas en Japón por comer pez globo mal preparado. [Digital Vision/Alamy.]

Aspecto biológico

Las serpientes de cascabel venenosas utilizan canales iónicos para generar una imagen térmica

Una gran familia de canales catiónicos está formada por los canales TRP (del inglés, *t*ransient *r*eceptor *p*otential). En los vertebrados, estos canales desempeñan diversas funciones entre las que se incluyen la detección de sabores, del dolor y de la temperatura. Las serpientes venenosas de la subfamilia Crotalinae (o crótalos), como, por ejemplo, la serpiente de cascabel diamante (*Crotalus atrox*), posee canales TRP activados por radiación infrarroja (750 nm −1 mm), lo que permite a estas serpientes crear una imagen térmica que se puede superponer a su imagen visual. Esta visión dual permite a los crótalos localizar y seguir el rastro de sus presas con gran velocidad y precisión, para desolación de multitud de roedores. ■

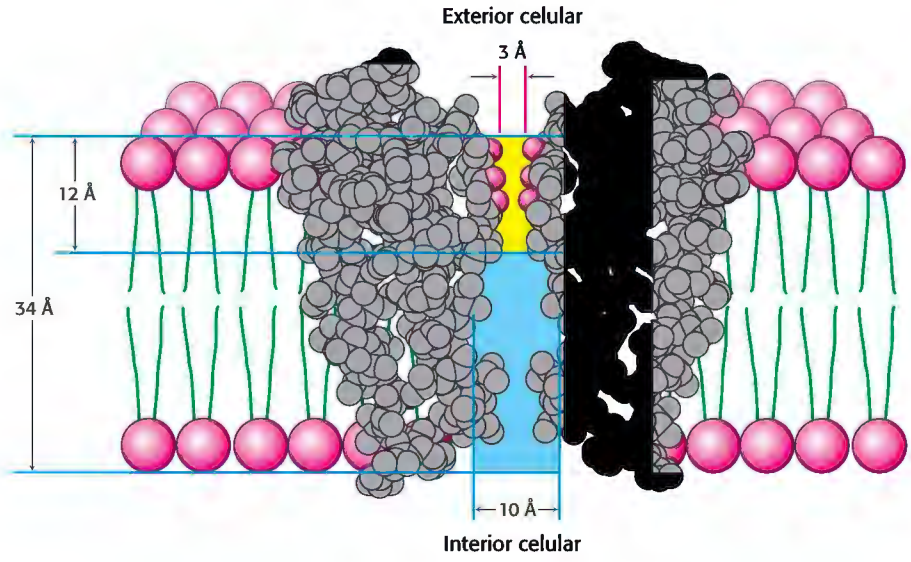


Figura 12.22 Recorrido a través de un canal. Un ion potasio que accede al canal de K^+ puede recorrer una distancia de 22 Å por el interior de la membrana mientras sigue estando solvatado por el agua (región de color azul). En este punto, el diámetro del poro se estrecha a 3 Å (región de color amarillo) y los iones potasio tienen que desprenderse de su agua e interaccionar con los grupos carbonilo (en rojo) de los aminoácidos del poro.

La estructura del canal de iones potasio desvela los fundamentos de la especificidad iónica

El canal de K^+ es uno de los canales iónicos más estudiados y, por tanto, nos proporciona un claro ejemplo de cómo el funcionamiento del canal puede ser, a la vez, rápido y específico. Al observarlo desde el interior de la célula, el poro empieza con un diámetro de aproximadamente 10 Å y después se estrecha creando una cavidad con un diámetro de 8 Å (**Figura 10.22**). Tanto la abertura por el lado interno como la cavidad central del poro están llenas de agua y un ion K^+ puede acceder al poro sin desprenderse de su capa de moléculas de agua unidas. Tras recorrer aproximadamente dos terceras partes del trayecto que atraviesa la membrana, el poro se hace más estrecho (3 Å de diámetro). En este punto, los iones K^+ tienen que desprenderse de sus moléculas de agua e interaccionar directamente con grupos de la proteína. En la práctica, al permitir que los iones solvatados penetren en la membrana antes de que tengan que interaccionar directamente con el canal, la estructura del canal reduce el espesor de la membrana de 34 Å a 12 Å.

La parte más estrecha del poro está formada por residuos que pertenecen a las dos hélices α transmembrana. Concretamente, un tramo de cinco aminoácidos de esta región actúa como *filtro de selectividad* que determina la preferencia por el K^+ sobre otros iones (**Figura 12.23**). Esta región de la cadena polipeptídica adopta una conformación extendida y está orientada de tal forma que los grupos carbonilo peptídicos apuntan hacia el canal, en una posición muy buena para interaccionar con los iones potasio. El ion potasio renuncia a sus moléculas de agua asociadas porque se puede unir a los átomos de oxígeno de los grupos carbonilo del filtro de selectividad.

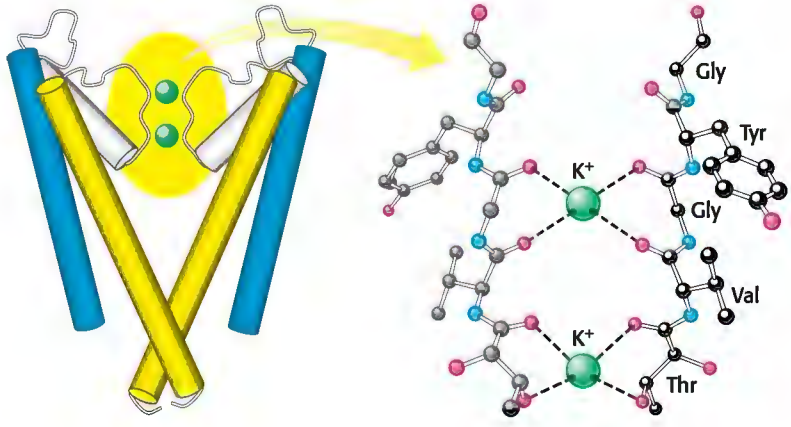


Figura 12.23 Filtro de selectividad del canal de iones potasio. Los iones potasio interaccionan con los grupos carbonilo del filtro de selectividad situados en el poro de 3 Å de diámetro del canal de K^+. Solo se muestran dos de las cuatro subunidades del canal.

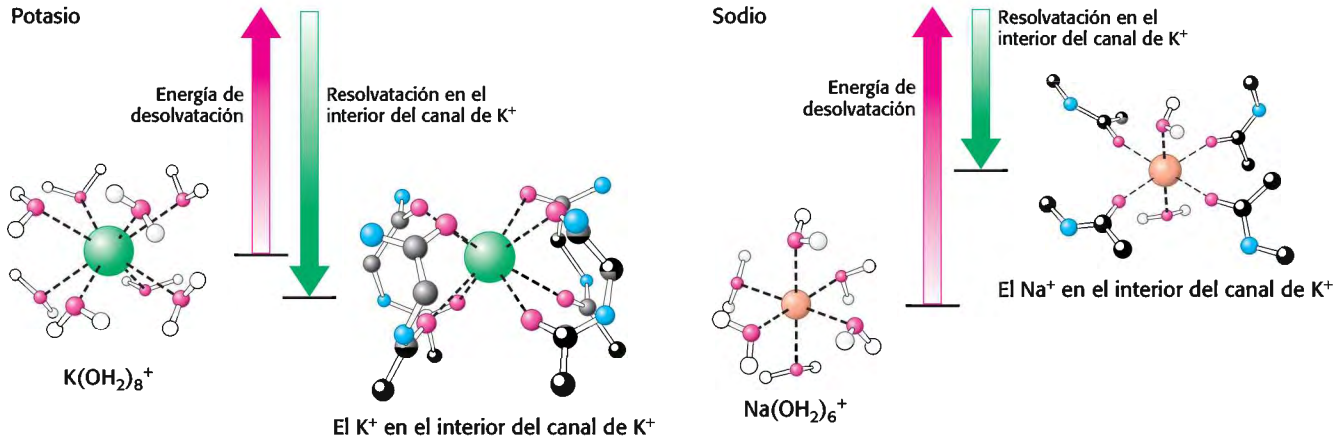


Figura 12.24 Fundamento energético de la selectividad iónica. El coste energético de la deshidratación de un ion potasio se compensa por medio de interacciones favorables con el filtro de selectividad. Como un ion sodio es demasiado pequeño como para interaccionar favorablemente con el filtro de selectividad, la energía libre de la desolvatación no se puede compensar y el ion sodio no pasa a través del canal.

Los canales de iones potasio son 100 veces más permeables al K^+ que al Na^+. ¿Cómo se consigue este grado de selectividad tan alto? Los iones que tengan un radio mayor de 1,5 Å no pueden cruzar el estrecho diámetro (3 Å) del filtro de selectividad del canal de K^+. Sin embargo, un ion de Na^+ desprovisto de su capa de agua es lo suficientemente pequeño como para atravesar el poro. De hecho, el radio iónico del Na^+ (0,95 Å) es sustancialmente más pequeño que el del K^+ (1,33 Å). Por tanto, ¿cómo se rechaza al Na^+?

Los iones sodio son demasiado pequeños para reaccionar con el filtro de selectividad. Para que los iones renuncien a sus moléculas de agua, otras interacciones polares —como las que tienen lugar entre el ion K^+ y los grupos carbonilo del filtro de selectividad— tienen que reemplazar a las interacciones con el agua. El punto clave es que el coste en energía libre de la deshidratación de estos iones es considerable. *El canal paga el coste de la deshidratación de los iones potasio aportando interacciones compensatorias con los átomos de oxígeno de los grupos carbonilo dispuestos a lo largo del filtro de selectividad* (**Figura 12.24**). Los iones Na^+ se rechazan porque no se recuperaría el alto coste de su deshidratación. El canal de K^+ no establece interacciones con los iones sodio, de modo que tienen que permanecer hidratados y, por tanto, no pueden atravesar el canal.

La estructura del canal de iones potasio explica su elevada velocidad de transporte

Los lugares de unión tan ajustados que se necesitan para la selectividad iónica deberían ralentizar el avance de los iones a través de un canal y, sin embargo, los canales iónicos consiguen transportar iones a gran velocidad. ¿Cómo se explica esta aparente paradoja? Un análisis estructural del canal de K^+ a alta resolución nos proporciona una interesante explicación. En la región más estrecha del canal de K^+ hay cuatro lugares de unión a K^+ que son cruciales para el flujo rápido de los iones. Consideremos el proceso de conductancia iónica comenzando desde el interior de la célula (**Figura 12.25**). Un ion de potasio hidratado se adentra en el canal y avanza por la parte relativamente libre de obstáculos del canal. A continuación, el ion abandona sus moléculas de agua coordinadas y se une a un lugar de la región del filtro de selectividad. El ion se puede unir a cualquiera de los cuatro lugares del filtro de selectividad porque tienen niveles de energía y, por tanto, de afinidad iónica, similares. Cuando un nuevo ion potasio accede al filtro de actividad, su carga positiva repelerá al ion potasio situado en el lugar más próximo, haciendo que se desplace hacia un sitio de unión situado más adentro en el canal y, al mismo tiempo, empujando hacia el interior a cualquier ion potasio que ya esté unido. Así, cada ion que se une de nuevo favorece la salida de un ion por el otro extremo del canal. Este mecanismo basado en múltiples lugares de unión resuelve la aparente paradoja de una elevada selectividad iónica y un flujo rápido.

? PREGUNTA RÁPIDA 2 ¿Qué es lo que determina la dirección del flujo a través de un canal iónico?

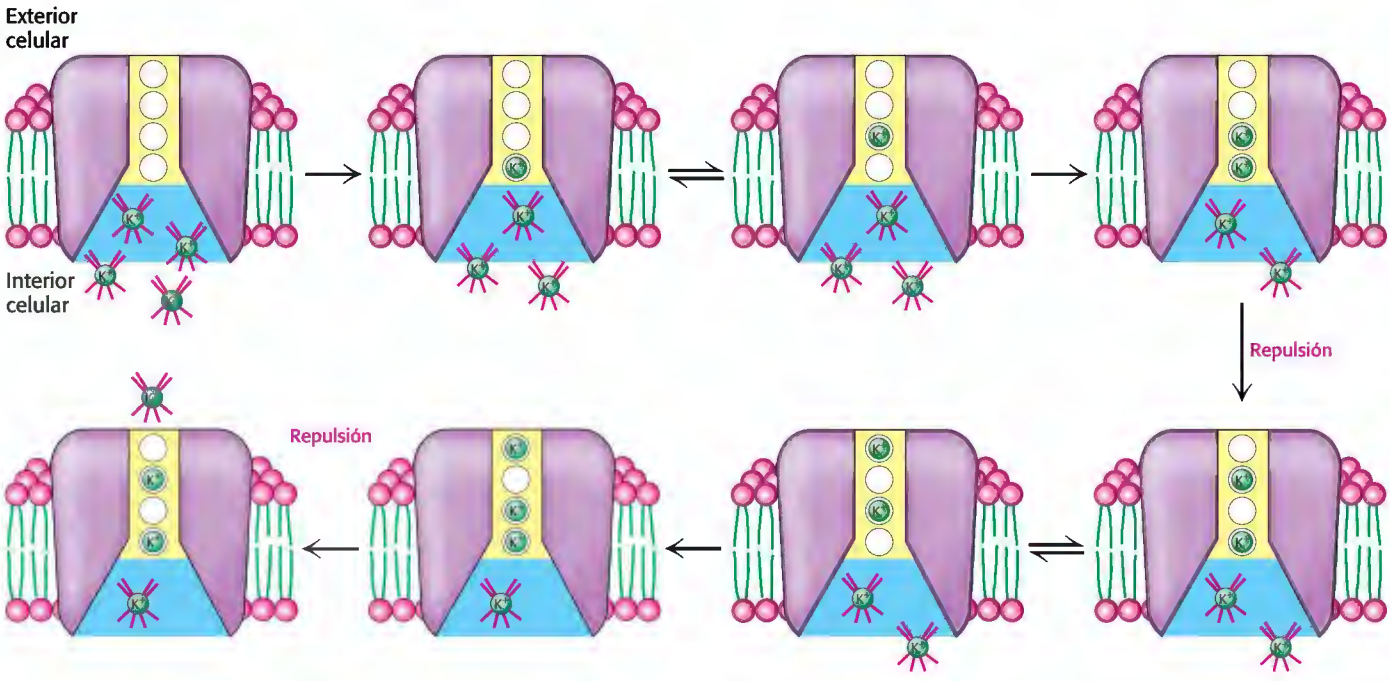


Figura 12.25 Modelo para el transporte a través del canal de K^+. El filtro de selectividad posee cuatro lugares de unión (círculos blancos). Los iones potasio hidratados pueden acceder a estos sitios de uno en uno, perdiendo sus capas de hidratación (líneas rojas). Cuando dos iones ocupan lugares adyacentes, la repulsión electrostática los separa. Así, a medida que los iones entran por un lado del canal otros iones son empujados hacia fuera por el otro lado.

Resumen

12.1 Los fosfolípidos y los glicolípidos forman bicapas

En disoluciones acuosas, los lípidos de membrana forman, de manera espontánea, extensas bicapas. La fuerza que impulsa la formación de membranas es el efecto hidrofóbico. Las colas hidrofóbicas interaccionan entre sí mediante interacciones de van der Waals. Los grupos hidrofílicos de la cabeza interaccionan con el medio acuoso. Las bicapas lipídicas son estructuras cooperativas, que se mantienen unidas por medio de enlaces débiles. Estas bicapas lipídicas son muy impermeables a los iones y a la mayoría de las moléculas polares aunque, sin embargo, son bastante fluidas, lo que les permite servir de disolvente para las proteínas de membrana.

12.2 La fluidez de la membrana se controla mediante la composición de ácidos grasos y el contenido de colesterol

El grado de fluidez de una membrana depende, en parte, de la longitud de cadena de sus lípidos y de hasta qué punto los ácidos grasos que forman parte de ellos se encuentran insaturados. En animales, el contenido en colesterol también regula la fluidez de la membrana.

12.3 Las proteínas desempeñan la mayoría de los procesos que tienen lugar en la membrana

Las funciones características de las membranas, como el transporte, la comunicación o la transducción de energía son llevadas a cabo por proteínas específicas. Muchas proteínas de membrana integrales atraviesan la bicapa lipídica, mientras que otras están solo parcialmente incorporadas en la membrana. Las proteínas de membrana periféricas se encuentran unidas a la superficie de la membrana mediante interacciones electrostáticas y puentes de hidrógeno. Las proteínas que atraviesan la membrana poseen estructuras regulares, incluyendo las hebras β, aunque en la mayoría de los casos la estructura que atraviesa la membrana es la hélice α.

12.4 Los lípidos y muchas proteínas de membrana difunden lateralmente en el plano de la membrana

Las membranas son estructuras dinámicas en las que proteínas y lípidos difunden rápidamente en el plano de la membrana (difusión lateral), a menos que se en-

cuentren restringidos por interacciones especiales. Por el contrario, la rotación de los lípidos de un lado a otro de la membrana (difusión transversal o movimiento de *flip-flop*) es, normalmente, muy lenta. Las proteínas no rotan de un lado a otro de las bicapas; por tanto, se puede mantener la asimetría de la membrana.

12.5 Una de las principales funciones de las proteínas es la de actuar como transportadores

Las moléculas polares o cargadas necesitan proteínas que formen un pasillo a través de la barrera hidrofóbica. El transporte pasivo, o difusión facilitada, tiene lugar cuando un ion o una molécula polar se mueve a favor de su gradiente de concentración. Si una molécula se mueve en contra de su gradiente de concentración, se necesita una fuente externa de energía; este movimiento se conoce con el nombre de transporte activo y da lugar a la generación de gradientes de concentración.

A menudo, el transporte activo se realiza a costa de la hidrólisis de ATP. Las ATPasas de tipo P bombean iones contra un gradiente de concentración y durante el proceso de transporte se fosforilan de forma transitoria. Las ATPasas de tipo P, como la ATPasa de Na^+-K^+, son proteínas de membrana integrales. Las proteínas de membrana que contienen dominios de unión a ATP de tipo casete constituyen otra familia de bombas dependientes del ATP. Las proteínas de multirresistencia a fármacos confieren resistencia a las células cancerosas bombeando fármacos quimioterapéuticos hacia el exterior de una célula cancerosa, antes de que los medicamentos puedan ejercer sus efectos.

Muchos sistemas de transporte activo acoplan el flujo en contra de gradiente de un ion o molécula con el flujo a favor de gradiente de otro. Estas proteínas de membrana, denominadas transportadores secundarios o cotransportadores, se pueden clasificar como antiportes o simportes. Las proteínas antiporte acoplan el flujo a favor de gradiente de un tipo de ion en una dirección con el flujo en contra de gradiente de otro, pero en la dirección opuesta. Las proteínas simporte mueven ambos iones en la misma dirección.

Los canales iónicos permiten el rápido movimiento de iones a través de la barrera hidrofóbica de la membrana. En relación con los canales de K^+, los iones de potasio hidratados tienen que perder de forma transitoria sus moléculas de agua coordinadas a medida que avanzan hacia la parte más estrecha del canal, que recibe el nombre de filtro de selectividad.

Términos clave

bicapa lipídica (p. 196)
liposoma (p. 197)
balsa lipídica (p. 199)
proteína de membrana integral (p. 199)
proteína de membrana periférica (p. 199)
difusión simple (p. 199)
difusión facilitada (transporte pasivo) (p. 202)
transporte activo (p. 203)
bomba de Na^+–K^+ (ATPasa de Na^+–K^+) (p. 203)
ATPasa de tipo P (p. 203)
proteína de multirresistencia a fármacos (MDR) (glicoproteína P) (p. 204)
dominio de unión a ATP tipo casete (ABC) (p. 204)
transportador secundario (cotransportador) (p. 205)
antiporte (p. 205)
simporte (p. 205)
canal iónico (p. 206)
filtro de selectividad (p. 207)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. El incremento de la temperatura aumentará la fluidez de la membrana. Para evitar que la membrana sea demasiado fluida, las bacterias incorporarán ácidos grasos de cadena más larga a los fosfolípidos de la membrana. Esta alteración incrementará las interacciones de van der Waals entre las cadenas y hará disminuir la fluidez.

2. Los canales iónicos permiten el flujo de iones en cualquier dirección. Según la segunda ley de la Termodinámica, los iones fluirán a favor de su gradiente de concentración.

Problemas

1. *Rasgos compartidos.* Cite algunas de las características comunes a todas las membranas. ✓ 1

2. *Difusión simple.* ¿Qué condiciones se necesitan para que una molécula pequeña atraviese espontáneamente una membrana? ✓ 2

3. *Pan y jamón.* Asigne a cada término la descripción correspondiente.

(a) Proteína de membrana integral _____
(b) Proteína de membrana periférica _____
(c) Canal _____
(d) Transporte pasivo _____
(e) Transporte activo _____
(f) ATPasa de Na^+–K^+ _____
(g) Transportador secundario _____
(h) Antiporte _____
(i) Simporte _____
(j) Canal iónico _____

1. Difusión facilitada
2. Utiliza la energía de un gradiente para crear otro
3. Interacciona fuertemente con el interior de la membrana
4. Moléculas que se mueven en direcciones opuestas
5. Interacciona con la superficie de una membrana
6. Permite el rápido movimiento de moléculas a través de una membrana a favor de un gradiente
7. Movimiento en contra de un gradiente de concentración
8. Moléculas que se mueven en la misma dirección
9. Puede estar regulado por voltaje o por ligando
10. Se inhibe por la digital

4. *La solubilidad importa.* Ordene las siguientes sustancias en orden de permeabilidad creciente a través de una bicapa lipídica: (a) glucosa; (b) glicerol; (c) Cl^-; (d) indol; (e) triptófano. ✓ 2

5. *Echando una mano.* ¿Qué diferencia hay entre difusión simple y difusión facilitada? ✓ 2

6. *Gradientes.* ¿Qué diferencia hay entre transporte pasivo y transporte activo? ✓ 3

7. *En su justa medida.* Una fluidez de membrana adecuada es esencial para la función de las proteínas de membrana. Sugiera cómo afectaría una pérdida de fluidez y demasiada fluidez a la función de las proteínas de membrana. ✓ 3

8. *El corazón late.* Explique brevemente la relación entre la ATPasa de Na^+-K^+ y la fuerza con que se contrae el corazón. Identifique los componentes más importantes del transporte activo primario y del transporte activo secundario. ¿Cómo afectan los esteroides cardiotónicos a la fuerza del latido cardiaco? ✓ 3

9. *Cazando hipopótamos.* Para cazar, los cazadores somalíes utilizan flechas que han sido sumergidas en concentraciones elevadas del glicósido cardiaco ouabaína. De hecho, hay evidencias de que se pueden matar animales del tamaño de un hipopótamo con las flechas tratadas con ouabaína. Sugiera un fundamento bioquímico para la acción letal de la ouabaína. ✓ 3

10. *Tanta energía.* Observe la Figura 12.20, que ilustra la relación entre el simporte de sodio-glucosa y la ATPasa de Na^+-K^+. Si se inhibiese el simporte, ¿tendría algún efecto esta inhibición sobre la ATPasa? ¿Cuál sería? ✓ 3

11. *Cosas en común.* ¿Cuáles son las dos propiedades fundamentales de todos los canales iónicos? ✓ 3

12. *Abriendo canales.* ¿Qué diferencias hay entre canales regulados por ligando y canales regulados por voltaje? ✓ 3

13. *Detrás de la escena.* ¿Es verdadero o falso el siguiente enunciado? Explique por qué. ✓ 3

> El cotransportador de sodio-glucosa no depende de la hidrólisis del ATP

14. *Impulsando el movimiento.* Cite dos formas de energía que puedan impulsar el transporte activo. ✓ 3

15. *Mancha de grasa.* Un segmento de 20 aminoácidos es suficiente para formar una hélice α lo suficientemente larga como para atravesar la bicapa lipídica de una membrana. ¿Cómo podría utilizarse esta información para buscar proteínas de membrana en una base de datos de secuencias de proteínas?

16. *Miedo al agua.* Las bicapas lipídicas son autosellantes. Si se hace un agujero, el orificio se rellena inmediatamente. ¿Cuál es el fundamento energético de este autosellado? ✓ 1

17. *Como extraer dientes.* ¿Qué diferencia hay entre proteínas periféricas y proteínas integrales en relación con la facilidad para extraerlas de la membrana?

18. *Amor al agua.* Todas las membranas biológicas son asimétricas. ¿Cuál es el fundamento energético de esta asimetría? ✓ 1

19. *Bombeando sodio.* Diseñe un experimento para demostrar que la actividad del cotransportador de Na^+-glucosa se puede invertir *in vitro* para que bombee sodio a través de una membrana. ✓ 3

20. *Direcciones diferentes.* El canal de K^+ y el canal de Na^+ tienen estructuras similares y adoptan la misma orientación en la membrana celular. Sin embargo, el canal de Na^+ permite que los iones sodio fluyan hacia el interior de la célula y el canal de K^+ permite que los iones potasio fluyan hacia el exterior de la célula. Explique por qué. ✓ 3

Problemas de integración de capítulos

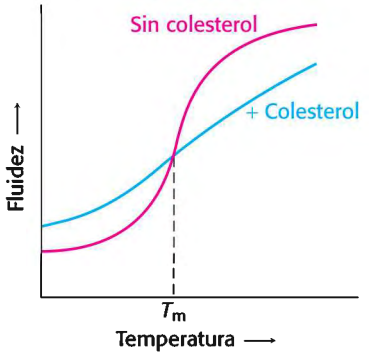
21. *Consideraciones energéticas.* Explique por qué una hélice α es particularmente apropiada para los segmentos transmembrana de las proteínas.

22. *La velocidad y la eficacia importan.* El neurotransmisor acetilcolina, que activa un canal iónico regulado por ligando, se destruye rápidamente por la enzima acetilcolinesterasa. Esta enzima, que tienen un número de recambio de 25.000 por segundo, ha alcanzado la perfección catalítica con un cociente k_{cat}/K_M de $2 \times 10^8\ M^{-1}\ s^{-1}$. ¿Por qué es tan decisiva, desde el punto de vista fisiológico, la eficacia de esta enzima?

23. *Alivio para articulaciones doloridas.* Tanto la aspirina como el ibuprofeno inhiben la prostaglandina H_2 sintasa-1 y alivian la inflamación. La aspirina actúa bloqueando un canal del interior de la enzima, con lo que evita el acceso del sustrato. El ibuprofeno no bloquea esta canal, pero, aún así, inhibe la sintasa. ¿Cómo podría actuar el ibuprofeno?

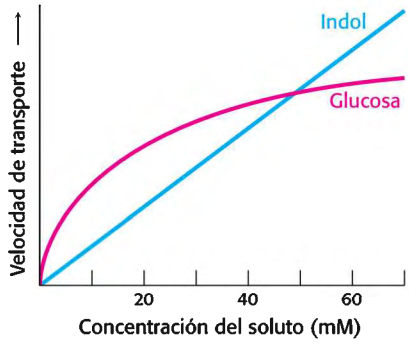
Problemas de interpretación de datos para atrevidos

24. *Efectos del colesterol.* En la siguiente gráfica, la curva roja muestra la fluidez de los ácidos grasos de una bicapa fosfolipídica en función de la temperatura. La curva azul muestra la fluidez en presencia de colesterol. ✓ 2



(a) ¿Qué efectos provoca el colesterol?
(b) ¿Por qué habría de ser importante este efecto desde el punto de vista biológico?

25. *Diferencias en el transporte.* En la siguiente ilustración se muestra la velocidad de transporte de dos moléculas, el indol y la glucosa, a través de una membrana celular. ¿Qué diferencias hay entre los mecanismos de transporte de las dos moléculas? Suponga que la ouabaína, un inhibidor específico de la ATPasa de Na^+-K^+, inhibe el transporte de glucosa. ¿Qué sugeriría esta inhibición sobre el mecanismo de transporte? ✓ 3

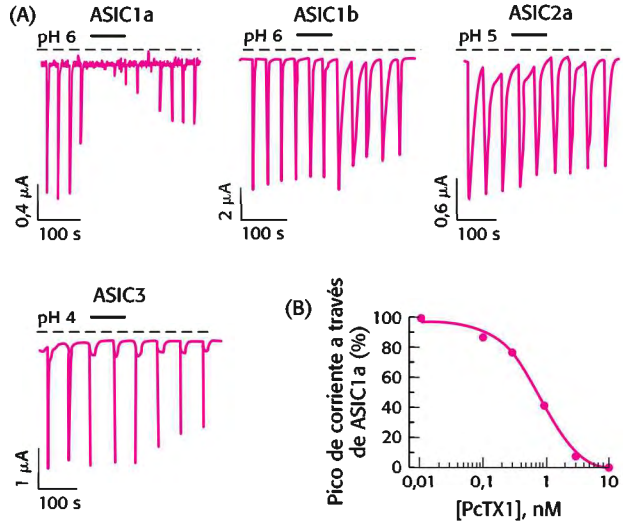


26. *Pez del desierto.* Ciertos peces que viven en los arroyos del desierto alteran la composición de los lípidos de membrana durante la transición del calor del día al frío de la noche. Pronostique la naturaleza de dichos cambios. ✓ 2

27. *Un dispositivo de protección muy útil.* La proteína de multirresistecia a fármacos, que puede dar lugar a la resistencia a fármacos en el cáncer o en otros estados patológicos, está presente en la mayoría de las células normales. ¿Cuál podría ser la función de esta proteína en las células normales? ✓ 3

28. *Estructuras especulares.* Los fosfolípidos forman bicapas lipídicas en agua. ¿Qué estructura se formaría si se añadiesen fosfolípidos a un disolvente orgánico? ✓ 1

29. *Toxina de tarántula.* La sensibilidad al ácido está asociada con el dolor, con la percepción de sabores y con otras actividades biológicas. La sensibilidad al ácido depende de un canal regulado por ligando que permite la entrada de Na^+ en respuesta a los H^+. Esta familia de canales iónicos sensibles al ácido (ASIC) está formada por varios miembros. La psalmotoxina 1 (PcTX1), un veneno producido por la tarántula, inhibe algunos miembros de esta familia. A continuaión, se muestran los registros electrofisiológicos de células que contienen varios miembros de la familia ASIC realizados en presencia de la toxina a una concentración de 10 nM. Los canales se abrieron al cambiar el pH de 7,4 a los valores indicados en cada caso. La PcTX1 estaba presente durante un corto periodo de tiempo (señalado mediante la barra negra que está por encima de los registros), tras el cual se eliminó rápidamente del sistema mediante un lavado. ✓ 3

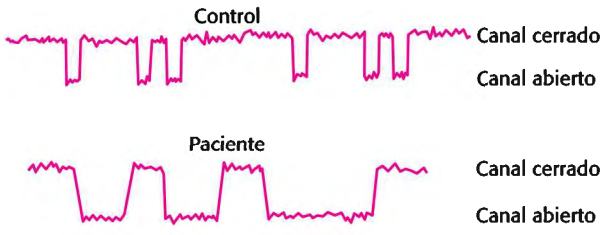


(A) Registros electrofisiológicos de células expuestas a la toxina de tarántula. (B) Gráfica que representa el pico de corriente observado en una célula que contiene la proteína ASIC1a en función de la concentración de toxina. [Tomado de P. Escoubas y col., *J. Biol. Chem.* 275: 25116-25121, 2000.]

(a) ¿Cuál de los miembros de la familia ASIC —ASIC1a, ASIC1b, ASIC2a o ASIC3— es más sensible a la toxina?
(b) ¿Es reversible el efecto de la toxina? Explique por qué.
(c) ¿Qué concentración de PcTX1 provoca una inhibición del 50% en el canal sensible?

30. *Problemas de canales 1.* Una serie de estados patológicos son consecuencia de mutaciones en el canal receptor de la acetilcolina, un canal iónico que se activa mediante la unión de acetilcolina. Una de estas mutaciones provoca debilidad muscular y fatiga rápida. Al investigar las corrientes generadas al paso de la acetilcolina a través del canal receptor de la acetilco-

lina en un paciente y en un sujeto control se obtuvieron los siguientes resultados. ¿Cuál es el efecto de la mutación sobre la función del canal? Sugiera algunas posibles explicaciones bioquímicas para ese efecto. ✓ 3



31. *Problemas de canales 2.* El canal receptor de la acetilcolina puede experimentar una mutación que provoque el síndrome del canal rápido (FCS), con manifestaciones clínicas similares a las del síndrome del canal lento (SCS). ¿Cómo serían los registros del movimiento de iones en este síndrome? Sugiera una explicación bioquímica. ✓ 3

Problemas para atrevidos

32. *Un caracol peligroso.* Los caracoles del género *Conus* son carnívoros que inyectan un potente conjunto de toxinas a su presa, lo que provoca una rápida parálisis. Se ha descubierto que muchas de estas toxinas se unen a determinados canales iónicos de naturaleza proteica. ¿Por qué son tan tóxicas estas moléculas? ¿Cómo podrían estas toxinas resultar útiles para la investigación bioquímica? ✓ 3

33. *Ajuste perfecto.* Ofrezca una explicación energética sobre cómo el canal de potasio permite el paso del ion potasio pero no el del ion sodio, que es más pequeño. ✓ 3

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 13

Rutas de transducción de señales

13.1 La transducción de señales depende de circuitos moleculares

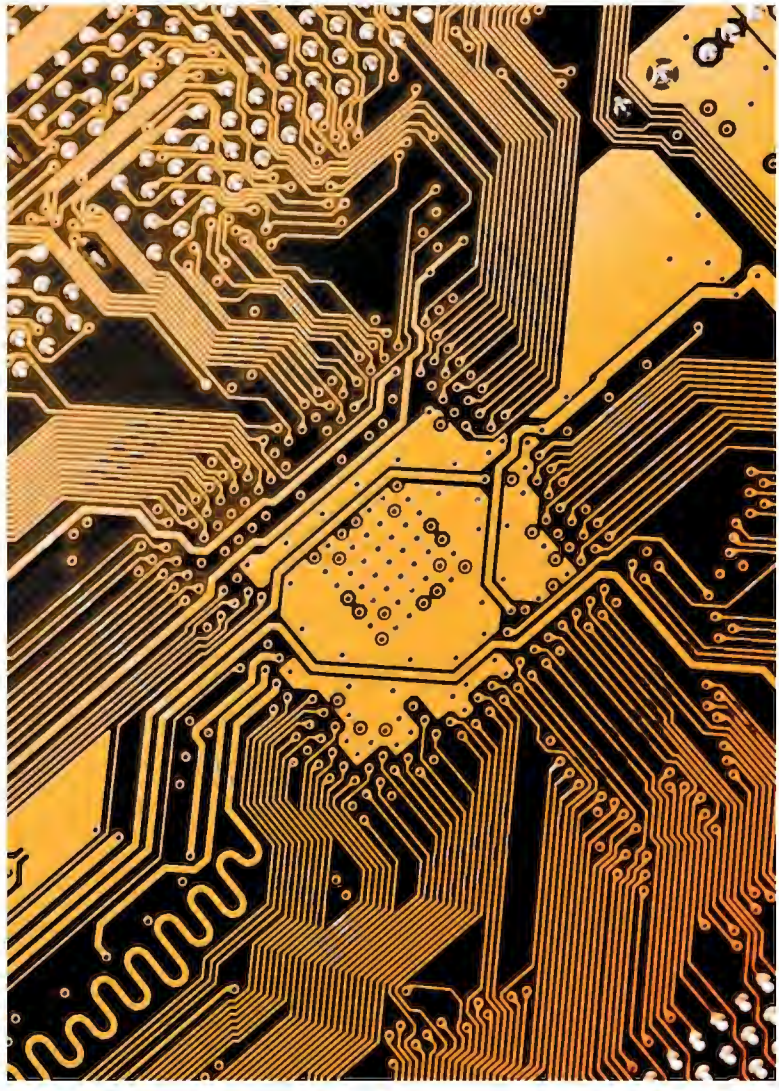
13.2 Proteínas receptoras transmiten información al interior de la célula

13.3 Algunos receptores dimerizan en respuesta a la unión de ligandos y reclutan a las tirosina quinasas

13.4 El metabolismo en su contexto: la señalización de la insulina regula el metabolismo

13.5 El ion calcio es un mensajero citoplasmático ubicuo

13.6 Defectos en las rutas de transducción de señales pueden provocar enfermedades



La transducción de señales es una capacidad importante para todas las formas de vida. Permiten a un organismo sentir su entorno y formular la respuesta bioquímica apropiada. Del mismo modo en que un chip de ordenador tiene interruptores "on-off" que permiten la transmisión de la información, las células poseen interruptores "on-off" moleculares que permiten la transmisión de la información tanto en el interior de una célula como entre células. [South West Images Scotland / Alamy.]

Este capítulo ofrece una panorámica sobre cómo las células reciben, procesan y responden a la información del entorno, independientemente de que la información esté en forma de luz, olores o niveles de glucosa en sangre. Las cascadas de *transducción de señales* intervienen en la detección y el procesamiento de estos estímulos. Estos circuitos moleculares detectan, amplifican e integran diversas señales externas para generar respuestas, como, por ejemplo, cambios en la actividad enzimática, en la

expresión génica o en la actividad de canales iónicos. Este capítulo introduce algunos de los principios básicos de la transducción de señales e importantes clases de biomoléculas que participan en las rutas de transducción de señales más frecuentes.

✓ 4 Identificar los componentes básicos de todas las rutas de transducción de señales.

13.1 La transducción de señales depende de circuitos moleculares

Todas las rutas de transducción de señales se ajustan a un esquema bastante parecido, que se puede considerar como un circuito molecular (Figura 13.1). Todos estos circuitos incluyen ciertos pasos clave:

1. *Liberación del mensajero primario.* Un estímulo, como, por ejemplo, una herida o una comida digerida, desencadena la liberación de la molécula señal, también denominada *mensajero primario.*
2. *Recepción del mensajero primario.* La mayoría de las moléculas señal son demasiado grandes y demasiado polares como para pasar a través de la membrana celular o a través de transportadores. Por tanto, la información que portan las moléculas señal tiene que ser transmitida a través de la membrana celular sin que las propias moléculas entren en la célula. *Los receptores de membrana transfieren información desde el entorno al interior de una célula.* Estos receptores son proteínas de membrana integrales, o intrínsecas, que poseen dominios extracelulares y dominios intracelulares. Un lugar de unión del dominio extracelular reconoce específicamente la molécula señal (que, a menudo, se conoce con el nombre de *ligando*). La formación del complejo receptor-ligando altera la estructura terciaria o cuaternaria del receptor, incluyendo el dominio intracelular. Sin embargo, los cambios estructurales en los pocos receptores que se encuentren unidos a los ligandos no son suficientes para provocar una respuesta por parte de la célula. La información transmitida por el receptor tiene que transformarse en otras formas de información que puedan alterar la bioquímica de la célula.
3. *Transmisión de la información mediante el segundo mensajero.* Los cambios estructurales de los receptores dan lugar a cambios en la concentración de pequeñas moléculas, denominadas *segundos mensajeros*, que se utilizan para transmitir la información procedente del complejo receptor-ligando. Entre los segundos mensajeros de especial importancia se incluyen el AMP cíclico (cAMP o adenosina monofosfato cíclico), el GMP cíclico (cGMP o guanosina monofosfato cíclico), el ion calcio, el inositol 1,4,5-trisfosfato (IP_3) y el diacilglicerol (DAG; Figura 13.2).

   El uso de segundos mensajeros conlleva varias consecuencias. La primera es que, a menudo, los segundos mensajeros tienen libertad para difundir hacia otros compartimentos de la célula, como el núcleo, donde pueden influir sobre la expresión génica y otros procesos. Otra consecuencia es que la señal se puede amplificar considerablemente durante la generación de segundos mensajeros.

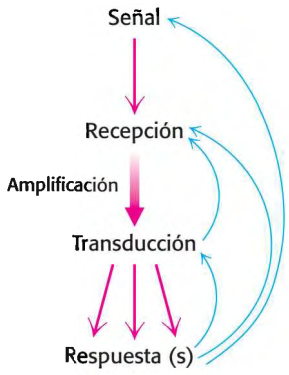


Figura 13.1 Principios de la transducción de señales. En primer lugar, se recibe una señal ambiental mediante la interacción con un componente celular que es, casi siempre, un receptor de la superficie de la célula. A continuación, la información de que la señal ha llegado se convierte, o *transduce*, en otras formas químicas. Con frecuencia, el proceso de transducción consta de muchas etapas. A menudo, la señal se amplifica antes de provocar una respuesta. Las rutas de retroinhibición regulan la totalidad del proceso de señalización.

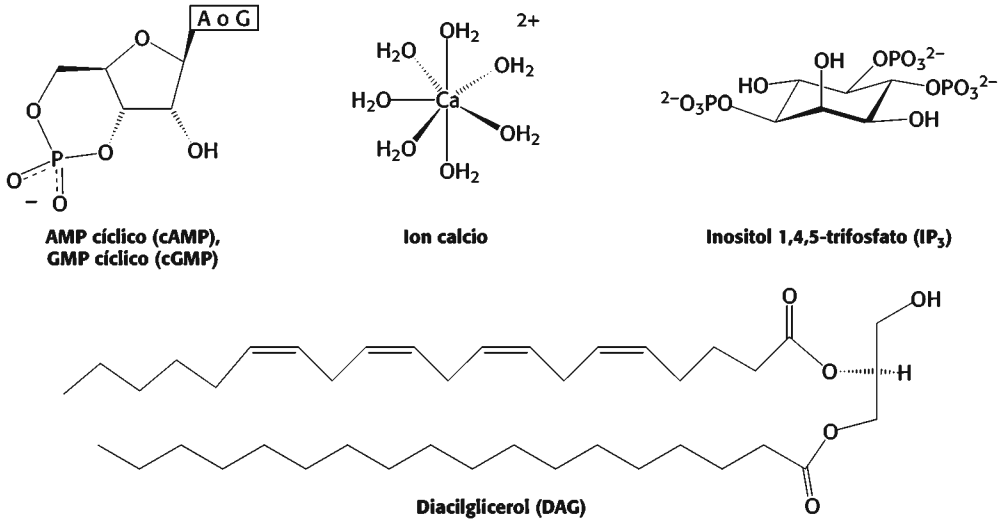


Figura 13.2 Segundos mensajeros más habituales. Los segundos mensajeros son moléculas intracelulares que cambian de concentración en respuesta a señales ambientales. Ese cambio de concentración transmite información al interior de la célula.

Cada complejo receptor-ligando activado puede dar lugar a la generación de muchos segundos mensajeros dentro de la célula. Así, *una baja concentración de la señal en el entorno, incluso tan pequeña como una única molécula, puede producir una gran señal intracelular y una respuesta intensa.*

4. *Activación de los efectores que alteran directamente la respuesta fisiológica.* El efecto final de la ruta de señalización consiste en activar (o inhibir) las bombas, enzimas o factores de transcripción génica que controlan directamente las rutas metabólicas, la activación de los genes o procesos como la transmisión del impulso nervioso.
5. *Terminación de la señal.* Tras haberse iniciado un proceso de señalización y haberse producido la transducción de la información para afectar a otros procesos celulares, el proceso de señalización debe finalizar. Sin esta terminación, las células perderían su capacidad de respuesta ante nuevas señales. Además, los procesos de señalización que no consiguen finalizar de manera adecuada pueden dar lugar a un crecimiento celular incontrolado y, posiblemente, al cáncer.

Básicamente, cada uno de los procesos bioquímicos que se verán en el resto de este libro o es un componente de una ruta de transducción de señales o se puede ver afectado por una de ellas.

13.2 Proteínas receptoras transmiten información al interior de la célula

✓ 5 Diferenciar los distintos tipos de receptores de membrana.

La mayoría de las proteínas receptoras que intervienen en la transferencia de información hacia el interior de la célula pertenece a una de estas tres clases: receptores con siete hélices transmembrana, receptores diméricos que reclutan proteína quinasas y receptores diméricos que son proteína quinasas. Empezaremos estudiando una de las clases de receptor más importante y la más extensa, los receptores con siete hélices transmembrana.

Los receptores con siete hélices transmembrana cambian de conformación en respuesta a la unión de ligandos y activan las proteínas G

Los *receptores con siete hélices transmembrana* (7TM) son los responsables de transmitir la información iniciada por señales tan diversas como los fotones, los olores, los sabores, hormonas y neurotransmisores (Tabla 13.1). Se conocen varios miles de estos receptores y la lista sigue creciendo. De hecho, aproximadamente el 50% de los

Tabla 13.1 Funciones biológicas mediadas por receptores 7TM

Acción hormonal
Secreción hormonal
Neurotransmisión
Quimiotaxis
Exocitosis
Control de la presión sanguínea
Embriogénesis
Crecimiento celular y diferenciación
Desarrollo
Olfato
Gusto
Visión
Infección vírica

Tomado de: J. S. Gutkind, *J. Biol. Chem.* 273: 1839-1842, 1998.

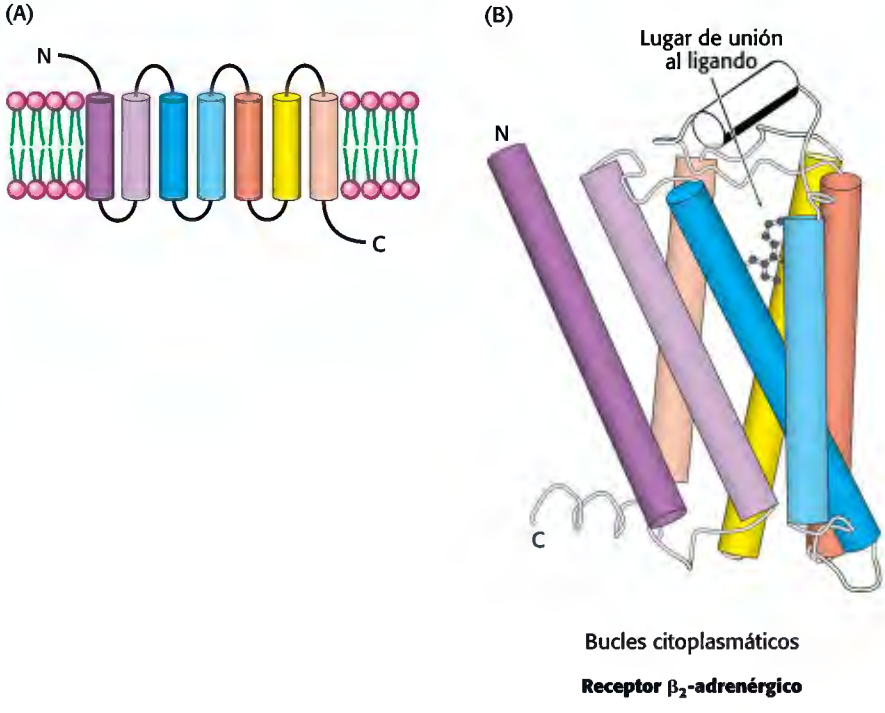
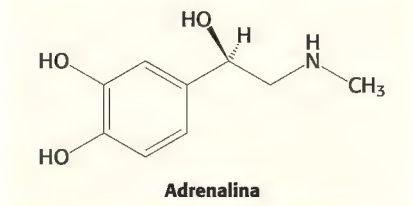


Figura 13.3 Estructura de receptores 7TM. (A) Representación esquemática de un receptor 7TM que muestra cómo atraviesa la membrana siete veces. (B) Estructura tridimensional de un subtipo (β_2) del receptor β-adrenérgico, un receptor 7TM que interviene en la movilización de los combustibles. *Observe* el lugar de unión al ligando situado cerca de la superficie extracelular. [Elaborada a partir de 2RH1.pdb.]



Adrenalina

medicamentos que utilizamos alteran a receptores de esta clase. Tal y como indica su nombre, estos receptores contienen siete hélices que atraviesan la bicapa de la membrana (**Figura 13.3**). Un ejemplo de receptor 7TM que responde a señales químicas es el *receptor β-adrenérgico*. Esta proteína se une a la *adrenalina*, una hormona responsable de la respuesta de "lucha o huída". Más adelante (Capítulos 16 y 24) estudiaremos las funciones bioquímicas de esta hormona con más detalle.

Diversas evidencias ponen de manifiesto que los receptores 7TM, concretamente sus dominios citoplasmáticos, cambian de conformación en respuesta a la unión al ligando. Por tanto, *la unión de un ligando en el exterior de la célula provoca un cambio de conformación en el receptor 7TM que puede ser detectado en el interior de la célula.* Como veremos más adelante, los receptores 7TM también tienen en común el siguiente paso de sus cascadas de transducción de señales.

La unión de ligandos a los receptores 7TM da lugar a la activación de proteínas G

Centremos nuestra atención en el receptor β-adrenérgico como modelo de receptor de la clase 7TM. Después de la unión de la adrenalina al receptor β-adrenérgico, ¿cuál es el siguiente paso de la ruta? El cambio conformacional que se produce en el dominio citoplasmático del receptor activa una proteína que se une al GTP. Esta proteína de acoplamiento de la señal se denomina *proteína G* (la G se refiere al nucleótido de guanina). La proteína G activada estimula la actividad de la *adenilato ciclasa*, una enzima que incrementa la concentración del segundo mensajero cAMP generándolo a partir de ATP (**Figura 13.4**).

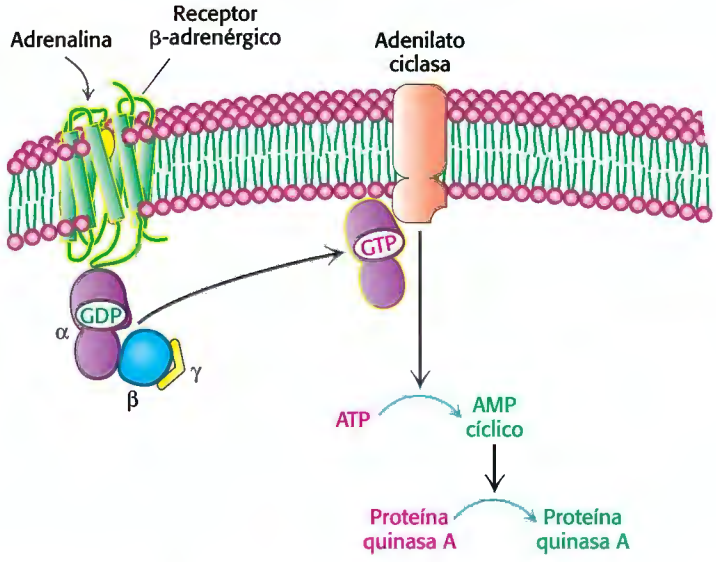


Figura 13.4 Activación de la proteína quinasa A por una ruta de proteínas G. La unión de una hormona a un receptor 7TM inicia una ruta de transducción de señales que actúa a través de una proteína G y del cAMP para activar una proteína quinasa A.

¿Cómo funcionan estas proteínas G? *En el estado no activado, el nucleótido de guanina que se encuentra unido a la proteína G es el GDP.* En este estado, la proteína G es un *heterotrímero* formado por las subunidades α, β y γ; la subunidad α (denominada G_α) es la que se une al nucleótido (**Figura 13.5**). Normalmente, las subunidades α y γ están ancladas a la membrana mediante ácidos grasos unidos covalentemente. *El intercambio del GDP unido por GTP está catalizado por el receptor unido a la hormona.* El complejo hormona-receptor interacciona con la proteína G heterotrimérica y abre el lugar de unión al nucleótido de manera que el GDP (guanosina difosfato) lo pueda abandonar y el GTP (guanosina trifosfato) presente en la disolución se pueda unir. Al mismo tiempo, la subunidad α se disocia del dímero βγ ($G_{\beta\gamma}$, ver la **Figura 13.4**). *La disociación del heterotrímero de la proteína G en las unidades G_α y $G_{\beta\gamma}$ transmite la señal de que el receptor se ha unido a su ligando.*

Un único complejo hormona-receptor puede estimular el intercambio de nucleótidos en multitud de heterotrímeros de la proteína G. Así, por cada molécula de hormona unida, cientos de moléculas de G_α pasan del estado unido a GDP al estado unido a GTP, lo que genera una *respuesta amplificada*. Todos los receptores 7TM parecen estar acoplados a proteínas G y, por ello, a veces los receptores 7TM también se denominan *receptores acoplados a proteínas G* o GPCR.

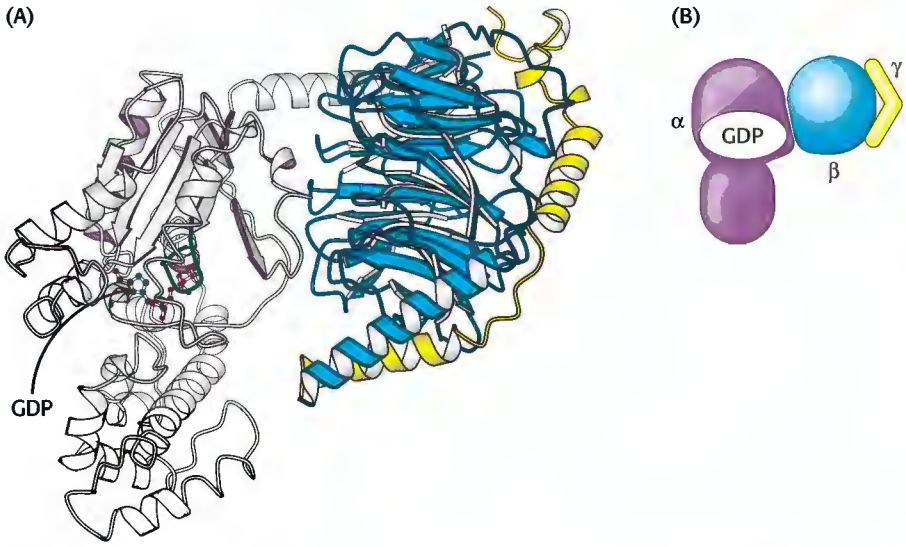


Figura 13.5 Una proteína G heterotrimérica. (A) Diagrama de cintas que muestra la relación entre las tres subunidades. En este complejo, la subunidad α (de color gris y púrpura) se encuentra unida al GDP. Observe que el GDP está unido en un bolsillo situado cerca de la superficie por donde la subunidad α interacciona con el dímero βγ. (B) Representación esquemática de la proteína G heterotrimérica. [Elaborada a partir de 1GOT.pdb].

Las proteínas G activadas transmiten señales uniéndose a otras proteínas

Como acabamos de ver, la formación del complejo hormona-receptor activa una proteína G. ¿Cómo propaga la proteína G el mensaje de que la hormona está presente? Lo hace de varias formas, dependiendo del tipo específico de proteína G. Empezaremos estudiando una de las dianas de una proteína G, la enzima *adenilato ciclasa* (**Figura 13.6**). La enzima adenilato ciclasa que resulta activada por la ruta de señalización β-adrenérgica es una proteína de membrana que contiene, presuntamente, 12 hélices que atraviesan la membrana. La proteína G_α se une a la adenilato ciclasa por la superficie de G_α que estaba unida al dímero $G_{\beta\gamma}$ cuando la proteína G_α se encontraba en la forma unida a GDP. La $G_{\alpha s}$ (la "s" significa "*stimulatory*", estimuladora) estimula la actividad de la adenilato ciclasa, incrementando así la producción de cAMP. *El resultado neto es que la unión de la adrenalina al receptor de la superficie celular incrementa la velocidad de producción de cAMP en el interior de la célula.*

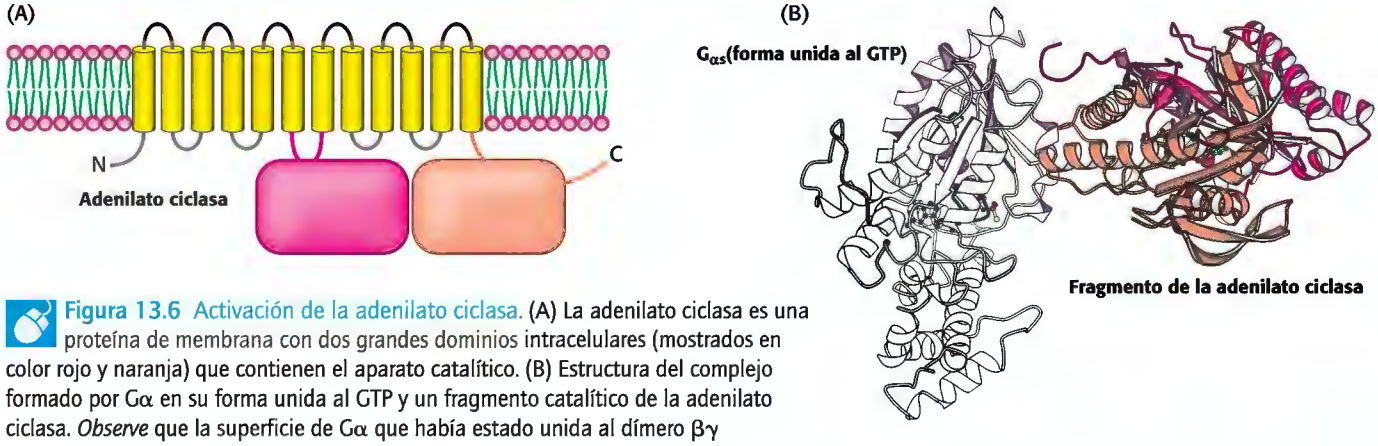


Figura 13.6 Activación de la adenilato ciclasa. (A) La adenilato ciclasa es una proteína de membrana con dos grandes dominios intracelulares (mostrados en color rojo y naranja) que contienen el aparato catalítico. (B) Estructura del complejo formado por Gα en su forma unida al GTP y un fragmento catalítico de la adenilato ciclasa. *Observe* que la superficie de Gα que había estado unida al dímero βγ (ver la Figura 13.5) se une ahora a la adenilato ciclasa. [Elaborada a partir de 1AZS.pdb.]

El AMP cíclico estimula la fosforilación de muchas proteínas diana mediante la activación de la proteína quinasa A

El aumento de la concentración de cAMP puede afectar a una amplia gama de procesos celulares, dependiendo del tipo de célula. Por ejemplo, intensifica la degradación de las reservas de combustible, en las células del estómago y de los intestinos incrementa la secreción de ácido por parte de la mucosa gástrica, en las células de la piel da lugar a la dispersión de los gránulos de melanina (un pigmento), en la sangre reduce la agregación plaquetaria y en el páncreas induce la apertura de los canales de cloro. ¿Cómo afecta el cAMP a tantos procesos celulares? ¿Hay un denominador común para todos estos efectos? De hecho, lo hay. *La mayoría de los efectos del AMP cíclico en*

las células eucarióticas están mediados por la activación de una única proteína quinasa. Esta enzima clave se denomina *proteína quinasa A* (PKA). Las quinasas son enzimas que fosforilan un sustrato a expensas de una molécula de ATP. La PKA consta de dos cadenas reguladores (R) y dos cadenas catalíticas (C). En ausencia de cAMP, el complejo R_2C_2 es catalíticamente inactivo (**Figura 13.7**). La unión del cAMP a las cadenas reguladoras libera las cadenas catalíticas, que cuentan, por sí mismas, con actividad enzimática. A continuación, la PKA activada fosforila residuos específicos de serina y treonina de muchas proteínas diana para modificar su actividad. Esta alteración de la actividad se debe a los cambios estructurales y de carga eléctrica que se producen como consecuenia de la introducción de un grupo funcional fosfato de gran tamaño y cargado negativamente. La cascada de cAMP se desactiva mediante la *fosfodiesterasa de cAMP*, enzima que convierte el cAMP en AMP, que no activa la PKA. Posteriormente, las subunidades C y R se vuelven a unir para formar la enzima inactiva.

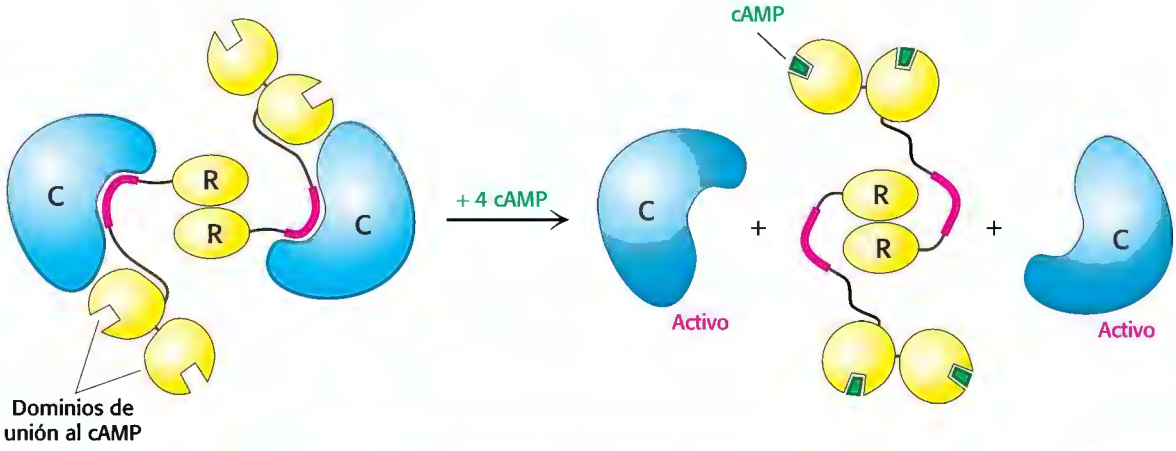


Figura 13.7 Regulación de la proteína quinasa A. La unión de cuatro moléculas de cAMP activa una proteína quinasa A disociando la holoenzima inhibida (R2C2) en una subunidad reguladora (R2) y dos subunidades catalíticamente activas (C).

Las proteínas G se reinician a sí mismas de forma espontánea mediante la hidrólisis de GTP

La capacidad para desactivar las rutas de transducción de señales es tan esencial como la capacidad para ponerlas en marcha. ¿Cómo se desactiva la señal iniciada por los receptores 7TM activados? *Las subunidades G_α tienen actividad GTPasa intrínseca*, de manera que al hidrolizar el GTP unido a GDP y P_i (ortofosfato inorgánico) se desactivan ellas mismas. Sin embargo, esta reacción de hidrólisis es lenta puesto que se produce en una escala de tiempo de segundos o minutos, permitiendo así a la G_α unida al GTP activar los siguientes componentes de la ruta de transducción de señales antes de que la hidrólisis del GTP desactive la subunidad. Básicamente, *el GTP unido actúa como un temporizador intrínseco que, al cabo de un corto periodo de tiempo, reinicia de manera espontánea la subunidad G_α*. Tras la hidrólisis del GTP y la liberación del P_i, la G_α unida al GDP se vuelve a asociar con $G_{\beta\gamma}$ para formar de nuevo la proteína heterotrimérica (**Figura 13.8**).

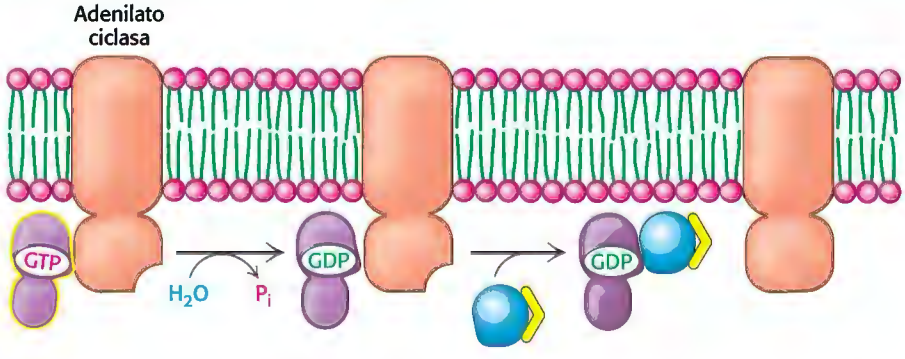


Figura 13.8 Reinicio de G_α. Al hidrolizarse el GTP unido mediante la actividad GTPasa intrínseca de Gα, la Gα se vuelve a asociar con el dímero βγ para formar la proteína G heterotrimérica, con lo que finaliza la activación de la adenilato ciclasa.

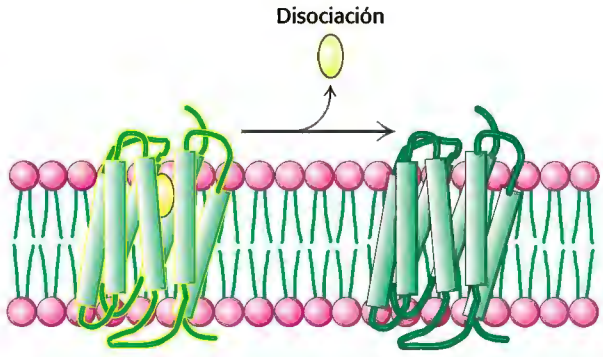


Figura 13.9 Finalización de la señal. La transducción de señales por el receptor 7TM se detiene, en parte, por la disociación de la molécula señal (en color amarillo) del receptor.

El complejo hormona-receptor activado también se tiene que reiniciar para evitar la activación continuada de las proteínas G. Un paso clave para la desactivación del receptor se basa en el hecho de que la interacción receptor-ligando es reversible (**Figura 13.9**). Cuando la hormona se disocia, el receptor vuelve a su estado desactivado inicial. La probabilidad de que el receptor se mantenga en su estado no unido depende de la concentración de hormona en el entorno.

? PREGUNTA RÁPIDA 1 Enumere los mecanismos que permiten poner fin a la ruta β-adrenérgica.

Aspecto clínico

El cólera y la tosferina se deben a una alteración de la actividad de las proteínas G

La alteración de las rutas de señalización dependientes de proteínas G puede dar lugar a estados patológicos. Consideremos en primer lugar el mecanismo de acción de la toxina del cólera, secretada por la bacteria intestinal *Vibrio cholerae*. El cólera es una enfermedad diarreica grave que puede causar la muerte. En las personas infectadas provoca una voluminosa secreción de electrolitos y fluidos por parte de los intestinos (**Figura 13.10**). La toxina del cólera, el *colerágeno*, es una proteína que consta de dos unidades funcionales —una subunidad B que se une a las células del epitelio intestinal y una subunidad catalítica A que accede al interior de la célula. La subunidad A cataliza la modificación covalente de una proteína $G_{\alpha s}$. Esta modificación estabiliza la $G_{\alpha s}$ unida al GTP, atrapando a la molécula en la conformación activa. A su vez, la forma activa de la proteína G estimula de forma continuada a la proteína quinasa A. La PKA abre un canal de cloro (un canal CFTR) e inhibe el intercambiador de Na^+-H^+ mediante fosforilación. El resultado neto de la fosforilación de estos canales es una pérdida excesiva de NaCl y la salida de gran cantidad de agua hacia el intestino. Las personas que padecen cólera durante un periodo de 4 a 6 días pueden perder hasta dos veces su propio peso corporal en forma de fluidos. El tratamiento consiste en la rehidratación con una disolución de glucosa y electrolitos.

Mientras que el cólera es el resultado de una proteína G atrapada en la conformación activa de modo que la ruta de transducción de señales está estimulada continuamente, la tosferina, es el resultado de la situación opuesta. La toxina también modifica una proteína G_α denominda $G_{\alpha i}$, que normalmente inhibe la adenilato ciclasa, cierra los canales de Ca^{2+} y abre los canales de K^+. El efecto de esta modificación consiste en la reducción de la afinidad de la proteína G hacia el GTP, con lo que, en la práctica, se queda atascada en la conformación inactiva. Los síntomas de la tosferina, como la tos prolongada que termina en un chillido estridente provocado por los violentos jadeos del paciente en busca de aire, todavía no se han relacionado con la inhibición de alguna diana concreta de la proteína $G_{\alpha i}$. La toxina que provoca esta enfermedad es secretada por *Bordetella pertussis*, la bacteria responsable de la tosferina, una de las causas más frecuentes de mortalidad infantil en todo el mundo. La tosferina se puede evitar en gran medida mediante vacunación. ■



Figura 13.10 El dispensario de la muerte. Caricatura de 1866 donde se muestra que, con frecuencia, el origen de la infección del cólera se encuentra en el agua contaminada. [The Granger Collection.]

La hidrólisis del fosfatidilinositol bisfosfato por parte de la fosfolipasa C genera dos mensajeros secundarios

El AMP cíclico no es el único segundo mensajero que utilizan los receptores 7TM y las proteínas G. Nos centraremos ahora en otra cascada provocada por un segundo mensajero ubicuo que utilizan muchas hormonas para provocar una serie de respuestas. La *cascada de los fosfoinosítidos*, al igual que la cascada de la adenilato ciclasa, convierte señales extracelulares en señales intracelulares. Los mensajeros intracelulares formados por la activación de esta ruta surgen de la escisión del *fosfatidilinositol 4,5,-bisfosfato* (PIP_2), un fosfolípido presente en las membranas celulares. La unión de una hormona como la vasopresina, que regula la retención de agua, a su receptor 7TM da lugar a la activación de la *fosfolipasa C*. La proteína G_α que activa la fosfolipasa C se denomina $G_{\alpha q}$. A continuación, la enzima activada hidroliza el enlace fosfodiéster que conecta la unidad de inositol fosforilado al acilglicerol. La escisión del PIP_2 produce dos mensajeros: el inositol 1,4,5-trisfosfato (IP_3), una molécula soluble que puede difundir y alejarse de la membrana y el diacilglicerol (DAG), que permanece en la membrana (Figura 13.11).

¿Cuáles son los efectos bioquímicos del segundo mensajero IP_3? A diferencia del cAMP, el IP_3 no provoca una cascada de fosforilación para conseguir una respuesta por parte de la célula. *El IP_3 provoca directamente la rápida liberación de Ca^{2+} de sus depósitos intracelulares —el retículo endoplasmático y, en las células musculares, el retículo sarcoplásmico*. El IP_3 se asocia con una proteína de membrana denominada *canal regulado por IP_3* o *receptor IP_3* para permitir el flujo de Ca^{2+} desde el retículo endoplasmático hacia el citoplasma de la célula. A continuación, el elevado nivel de Ca^{2+} en el citoplasma desencadena una serie de procesos bioquímicos como la contracción del músculo liso, la hidrólisis del glucógeno o la liberación de vesículas.

La vida media del IP_3 en la célula es muy corta —no llega a unos pocos segundos. Se convierte rápidamente en derivados que no ejercen ningún efecto sobre el canal regulado por IP_3. El ion litio, muy usado para tratar el trastorno afectivo bipolar, podría actuar inhibiendo el reciclaje del IP_3, aunque los detalles de la acción del litio están aún por determinar.

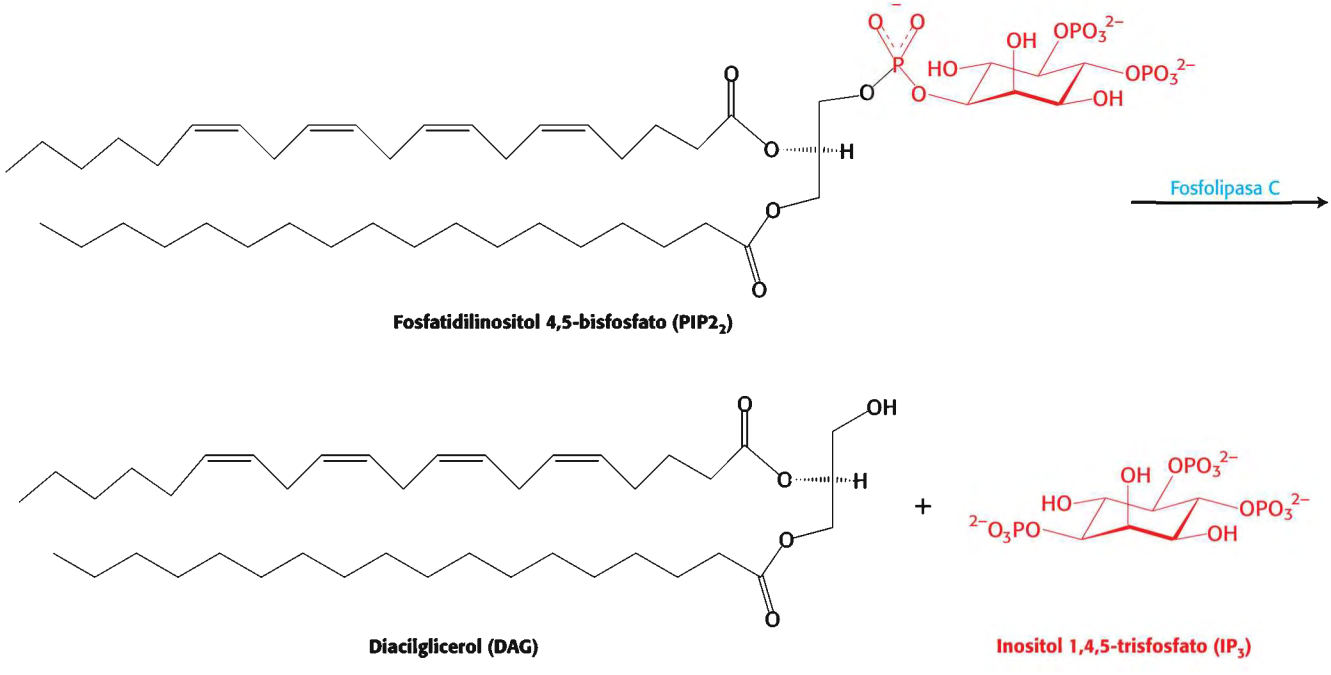


Figura 13.11 La reacción de la fosfolipasa C. La fosfolipasa C escinde el lípido de membrana fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato generando dos segundos mensajeros: el diacilglicerol, que permanece en la membrana, y el inositol 1,4,5-trisfosfato, que se aleja de la membrana por difusión.

El diacilglicerol, la otra molécula formada por la hidrólisis de PIP_2 desencadenada por el receptor, también es un segundo mensajero que, junto con el Ca^{2+}, activa la *proteína quinasa C* (PKC), una proteína quinasa que fosforila residuos de serina y de treonina en multitud de proteínas diana (Figura 13.12).

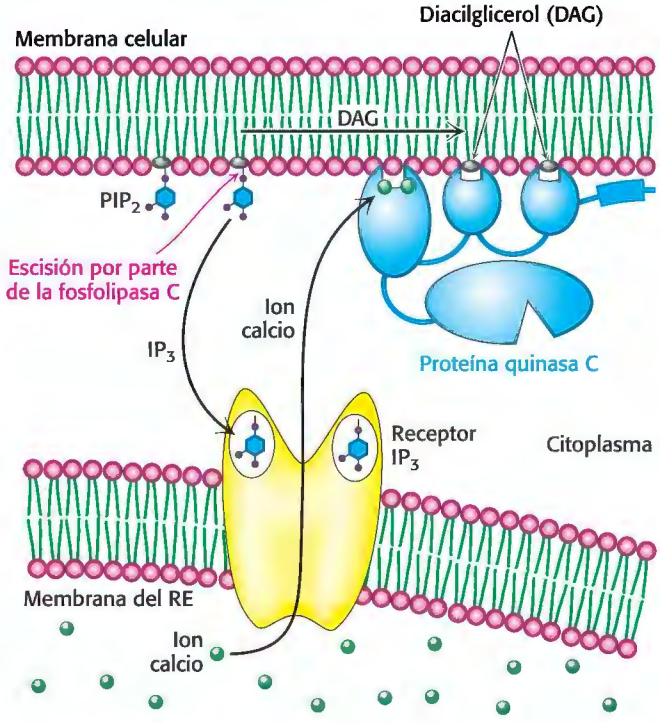


Figura 13.12 La cascada de fosfoinosítidos. La escisión del fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP_2) en diacilglicerol (DAG) e inositol 1,4,5-trisfosfato (IP_3) da lugar a la liberación de iones calcio (debido a la apertura de los canales iónicos del receptor IP_3) y a la activación de la proteína quinasa C (debido a la unión de la proteína quinasa C al DAG libre de la membrana). Los iones calcio se unen a la proteína quinasa C y facilitan su activación.

13.3 Algunos receptores dimerizan en respuesta a la unión de ligandos y reclutan a las tirosina quinasas

Los receptores 7TM inician las rutas de transducción de señales mediante cambios en la estructura terciaria inducidos por la unión del ligando. Otras clases de receptores utilizan un mecanismo fundamentalmente distinto. En estos receptores, la unión del ligando da lugar a cambios en las estructuras cuaternarias —concretamente, a la formación de dímeros de receptores.

La dimerización de receptores puede dar lugar al reclutamiento de la tirosina quinasa

El receptor de la hormona del crecimiento es un ejemplo muy bien estudiado de receptor que dimeriza tras la unión del factor de crecimiento y que, posteriormente, recluta a las tirosina quinasas para propagar la señal. La hormona del crecimiento es una proteína monomérica de 217 aminoácidos necesaria para la división celular y el crecimiento. Hay atletas que abusan de la hormona del crecimiento humana (HGH) porque creen que el tratamiento con la HGH mejorará su rendimiento, aunque hay pocas evidencias que apoyen esta hipótesis. El receptor de la hormona del crecimiento consta de un dominio extracelular, una única hélice que atraviesa la membrana y

La sobreestimulación de la ruta de transducción de señales de la hormona del crecimiento puede dar lugar a estados patológicos. La acromegalia es un raro trastorno hormonal causado por la superproducción de hormona del crecimiento en la edad madura. Una característica frecuente de la acromegalia es el agrandamiento de cara, manos y pies. En niños, la producción excesiva de la hormona del crecimiento provoca gigantismo. André el Gigante, que representó el papel del adorable gigante Fezzik en la clásica película de Rob Reiner *La princesa prometida*, padecía gigantismo.

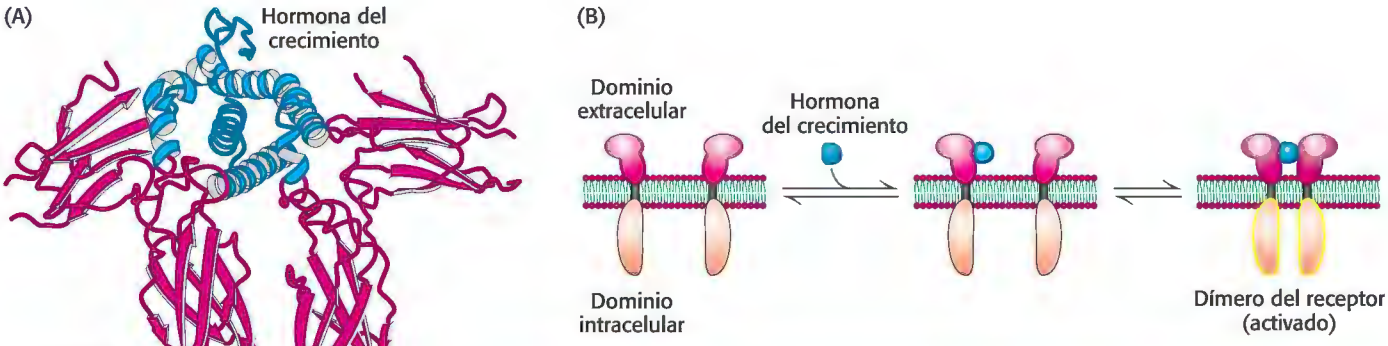


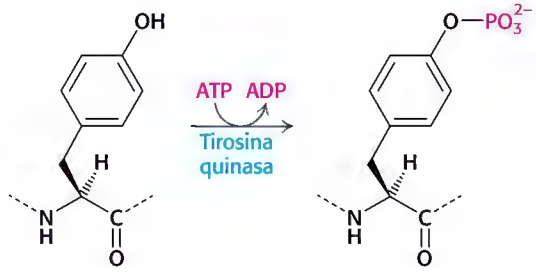
Figura 13.13 La unión de la hormona del crecimiento provoca la dimerización del receptor. (A) Una única molécula de la hormona del crecimiento (en color azul) interacciona con los dominios extracelulares de dos receptores (en rojo). (B) La unión de una molécula de hormona a dos receptores provoca la formación de un dímero del receptor. En esta ruta de transducción de señales, la dimerización es un paso esencial.

un dominio intracelular. En ausencia de hormona unida, el receptor está presente en forma de monómero. Cada hormona monomérica se une a los dominios extracelulares de dos moléculas de receptor, promoviendo así la formación de un dímero del receptor (**Figura 13.13**).

La dimerización de los dominios extracelulares del receptor también acerca los dominios intracelulares. Asociada a cada dominio intracelular se encuentra una molécula de proteína quinasa de tirosina, que se denomina *quinasa Jano 2* (JAK2), en una forma inactiva (**Figura 13.14**). Las quinasas de tirosina fosforilan proteínas en el grupo hidroxilo de residuos de tirosina. La dimerización de los receptores de la hormona del crecimiento acerca las proteínas JAK2 asociadas a cada dominio intracelular. Cada una de las quinasas fosforila a su compañera, lo que da lugar a la activación de las quinasas.



Las quinasas Jano deben su nombre a Jano, el dios romano de las dos caras. Es el dios de los principios, de los finales, de las verjas y de las puertas. Las quinasas Jano poseen dos centros activos casi idénticos, pero solo uno de ellos es catalíticamente funcional. [The Granger Collection.]



Cuando se activan mediante fosforilación cruzada, las JAK2 pueden fosforilar otros sustratos, como un regulador de la expresión génica denominado STAT5 (STAT es el acrónimo, en inglés, de *t*ransductores de la *s*eñal y *a*ctivadores de la *t*ranscripción). El STAT5 fosforilado se desplaza hacia el núcleo, donde se une a lugares de unión al DNA para regular la expresión génica. Una señal recibida por la parte exterior de la membrana celular es enviada al núcleo para que actúe allí.

Algunos receptores contienen dominios de la tirosina quinasa en sus estructuras covalentes

Algunos factores de crecimiento y hormonas —como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento procedente de las plaquetas y la insulina— se unen a los dominios extracelulares de receptores transmembrana que poseen dominios tirosina quinasa incluidos en sus dominios intracelulares. Estas *tirosina quinasas del receptor* (RTK) procesan la señal mediante mecanismos bastante similares a los descritos en la subsección precedente para la ruta iniciada por el receptor de la hor-

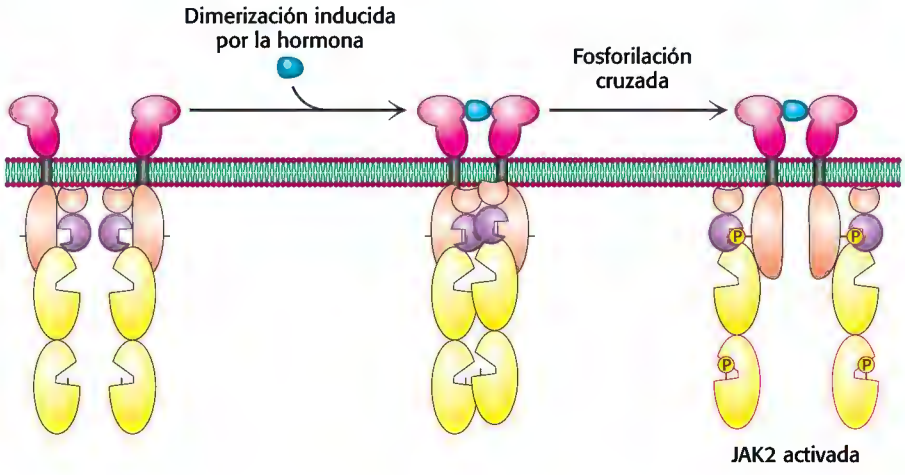


Figura 13.14 Fosforilación cruzada de dos moléculas de JAK2 inducida por la dimerización del receptor. La unión de la hormona del crecimiento (en color azul) provoca la dimerización del receptor de la hormona del crecimiento, acercando dos moléculas de la quinasa Jano 2 (JAK2, en amarillo) de forma que cada una de ellas fosforila residuos clave de la otra. Las moléculas de JAK2 activadas permanecen unidas al receptor.

mona del crecimiento. De los más de 500 genes para quinasas que hay en el genoma humano, menos de 100 codifican tirosina quinasas y todas estas tirosina quinasas parecen regular el control del crecimiento.

Consideremos, por ejemplo, el *factor de crecimiento epidérmico*, un polipéptido de 6 kDa que estimula el crecimiento de las células de la epidermis y de las células epiteliales uniéndose al *receptor del factor de crecimiento epidérmico*, una única cadena polipeptídica formada por 1.186 residuos (**Figura 13.15**). La tirosina quinasa del receptor es monomérica y no tiene actividad enzimática en ausencia del factor de crecimiento. *La unión del EGF a su dominio extracelular hace que el receptor dimerice y se produzca la fosforilación cruzada y la activación.*



Figura 13.15 Estructura modular del receptor del EGF. Esta representación esquemática de la secuencia de aminoácidos del receptor del EGF muestra el dominio de unión al EGF, que está localizado fuera de la célula, una región que corresponde a la única hélice transmembrana, el dominio tirosina quinasa intracelular y el dominio rico en tirosina del extremo carboxilo.

¿Cómo se transfiere la señal más allá de las tirosina quinasas del receptor? Una *proteína adaptadora* clave, denominada *Grb-2*, enlaza la fosforilación del receptor del EGF con la estimulación del crecimiento celular a través de una cadena de fosforilaciones de proteínas (**Figura 13.16**). Al fosforilarse el receptor, Grb-2 se une a los residuos de fosfotirosina de la tirosina quinasa del receptor. A continuación, Grb-2 recluta a una proteína denominada *Sos*. A su vez, Sos se une a la proteína *Ras* y la activa.

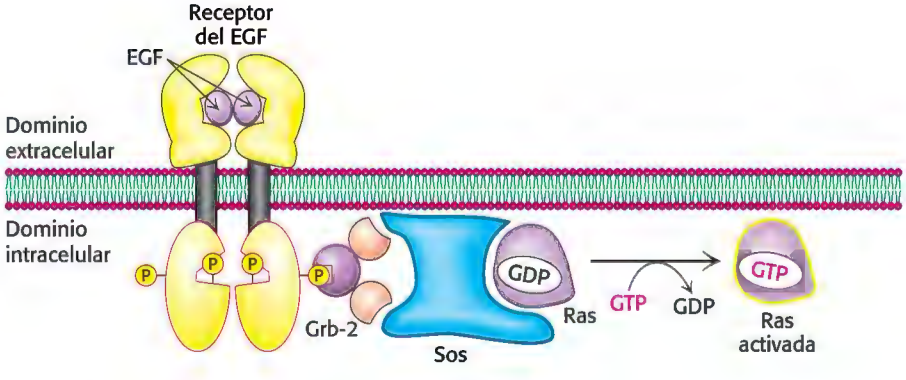


Figura 13.16 Ruta de señalización del EGF. La unión del factor de crecimiento epidérmico (EGF) a su receptor provoca la fosforilación cruzada del receptor. El receptor fosforilado se une a Grb-2 que, a su vez, se une a Sos. La proteína Sos estimula el intercambio de GTP por GDP en Ras. La proteína Ras activada se une a proteína quinasas y las estimula (no se muestra en la figura).

Tabla 13.2 La superfamilia Ras de GTPasas

Subfamilia	Función
Ras	Regula el crecimiento celular mediante proteína quinasas de serina o de treonina
Rho	Reorganiza el citoesqueleto mediante proteína quinasas de serina o de treonina
Arf	Activa la ADP-ribosiltransferasa de la subunidad A de la toxina del cólera; regula las rutas de transporte de vesículas; activa la fosfolipasa D
Rab	Desempeña un papel fundamental en las rutas de secreción y de endocitosis
Ran	Interviene en el transporte de RNA y proteínas hacia dentro o fuera del núcleo

La proteína Ras es un componente muy importante de la transducción de señales, tal y como se verá en breve. Por último, la proteína Ras, en su forma activada, se une a otros componentes del circuito molecular, dando lugar a la activación de proteína quinasas específicas que fosforilan determinadas dianas para promover el crecimiento celular. Vemos aquí otro ejemplo de cómo se construye una ruta de transducción de señales. Interacciones específicas proteína-proteína conectan el evento original de la unión del ligando con el resultado final —la estimulación del crecimiento celular.

Ras pertenece a otra clase de proteínas G señalizadoras

La proteína de transducción de señales Ras pertenece a una importante familia de proteínas señalizadoras —las *proteínas G pequeñas* o GTPasas pequeñas. Esta gran superfamilia de proteínas —agrupadas en subfamilias denominadas Ras, Rho, Arf, Rab y Ran— desempeña un papel fundamental en un gran número de funciones celulares entre las que se incluyen el crecimiento, la diferenciación, la motilidad celular, la citoquinesis y el transporte de materiales a través de la célula (Tabla 13.2). Al igual que sus parientes, las proteínas G heterotriméricas (p. 218), las proteínas G pequeñas alternan entre una forma activa unida al GTP y una forma inactiva unida al GDP. Se diferencian de las proteínas G heterotriméricas en que son más pequeñas (20-25 kDa, en vez de 30-35 kDa) y monoméricas.

En su forma activada, unida al GTP, las proteínas G pequeñas como Ras estimulan el crecimiento celular y la diferenciación. Recordemos que Sos es el eslabón que está inmediatamente antes que Ras en el circuito que transmite la señal del EGF. ¿Cómo activa Sos a Ras? Sos se une a Ras, llega al bolsillo de unión a nucleótidos y lo abre, permitiendo que salga el GDP y que entre el GTP para ocupar su lugar. A Sos se la conoce como *factor intercambiador de nucleótidos de guanina* (GEF).

Al igual que la proteína G_{α}, Ras posee actividad GTPasa intrínseca, que sirve para finalizar la señal y hacer que el sistema vuelva a su estado inactivo. Esta actividad es lenta pero puede aumentar gracias a proteínas ayudantes denominadas *proteínas activadoras de la GTPasa* (GAP). Los factores intercambiadores de nucleótidos de guanina y las proteínas activadoras de la GTPasa permiten que el ciclo de las proteínas G se lleve a cabo con la velocidad apropiada para que la propagación de la señal a lo largo de la ruta sea correcta.

13.4 El metabolismo en su contexto: la señalización de la insulina regula el metabolismo

La *insulina* es una de las principales hormonas que regulan el metabolismo; más adelante estudiaremos los efectos de esta hormona sobre multitud de rutas metabólicas. Esta sección ofrece un resumen de su ruta de transducción de señales. La insulina es la hormona que se libera tras ingerir una comida y es la señal bioquímica que indica que se ha comido. Si tenemos en cuenta todos los detalles, esta ruta presenta múltiples ramificaciones y es bastante compleja, de modo que nos centraremos únicamente en la ramificación principal. Esta ramificación provoca la movilización de los transportadores de glucosa hacia la superficie celular. Estos transportadores permiten a la célula captar la glucosa que, después de una comida, abunda en el torrente sanguíneo.

El receptor de la insulina es un dímero que se cierra en torno a una molécula de insulina unida

La insulina es una hormona peptídica que consta de dos cadenas unidas mediante dos puentes disulfuro (**Figura 13.17**). El *receptor de la insulina* es una proteína de membrana que se incluye en la categoría de tirosina quinasas del receptor. Al unirse la insulina, las subunidades idénticas forman dímeros y este cambio de la estructura cuaternaria da lugar a la fosforilación cruzada por parte de los dos dominios quinasa, con lo que se activa la actividad quinasa (**Figura 13.18**). Cada subunidad consta de una cadena α y una cadena β unidas entre sí mediante un único puente disulfuro. Cada subunidad α se sitúa completamente fuera de la célula mientras que cada subunidad β permanece fundamentalmente en el interior de la célula, atravesando la membrana por medio de un único segmento transmembrana. Las dos subunidades α se juntan para formar un lugar de unión para una única molécula de insulina.

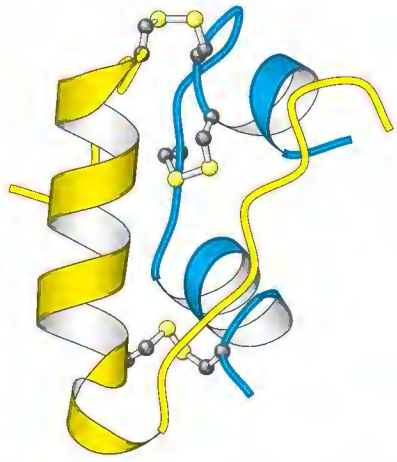


Figura 13.17 Estructura de la insulina. *Observe* que la insulina consta de dos cadenas (mostradas en color azul y amarillo) unidas mediante dos puentes disulfuro intercatenarios. La cadena α (en azul) también posee un puente disulfuro intracatenario. [Elaborada a partir de IB2F.pdb.]

Una vez activada, la quinasa del receptor de la insulina inicia una cascada de quinasas

Al fosforilarse, la tirosina quinasa del receptor de la insulina se activa. Como las dos subunidades del receptor se mantienen muy cerca la una de la otra, también se fosforilan otros lugares del receptor. Estos lugares fosforilados actúan como lugar de acoplamiento para otros sustratos entre los que se incluye una clase de moléculas denominadas *sustratos del receptor de la insulina* (IRS). A continuación, las proteínas IRS son fosforiladas por la actividad tirosina quinasa del receptor de la insulina. La señal se transmite al interior de la célula por medio de la proteína IRS a través de una serie de moléculas ancladas a la membrana hasta llegar a una proteína quinasa que, por fin, abandona le membrana (**Figura 13.19**).

En su forma fosforilada, las moléculas IRS actúan como *proteínas adaptadoras*. Los residuos de fosfotirosina de las proteínas IRS son reconocidos por otras proteínas, la más importante de las cuales es una lípido quinasa que fosforila el fosfatidilinositol

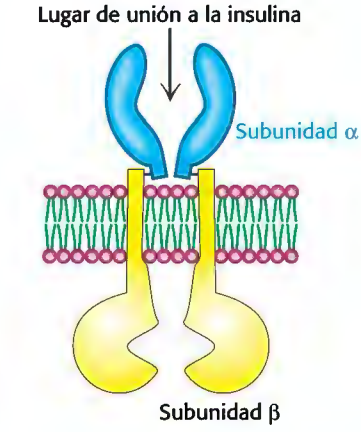


Figura 13.18 Receptor de la insulina. El receptor está formado por dos unidades y cada una de ellas consta de una subunidad α y una subunidad β unidas mediante un puente disulfuro. La subunidad α se sitúa en el exterior de la célula y dos subunidades α se juntan para formar un lugar de unión para la insulina. Cada subunidad β se sitúa mayoritariamente en el interior de la célula y contiene un dominio proteína quinasa.

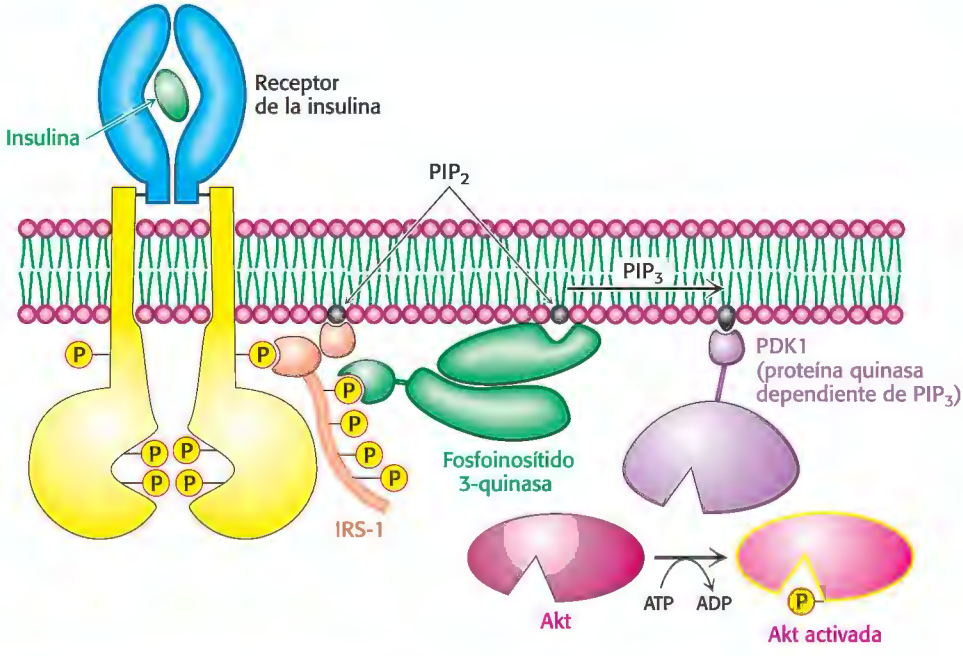


Figura 13.19 Señalización de la insulina. La unión de la insulina da lugar a la fosforilación cruzada y a la activación del receptor de la insulina. Los lugares fosforilados del receptor actúan como lugares de unión para los sustratos del receptor de la insulina, como, por ejemplo, IRS-1. La quinasa de lípidos fosfoinosítido 3-quinasa se une a los lugares fosforilados de IRS-1 por medio de su dominio regulador y, posteriormente, convierte el PIP_2 en PIP_3. La unión al PIP_3 activa la proteína quinasa dependiente de PIP_3 (PDK1), que fosforila y activa otras quinasas, como la Akt. A continuación, la proteína Akt activada puede difundir por la célula para continuar la ruta de transducción de señales.

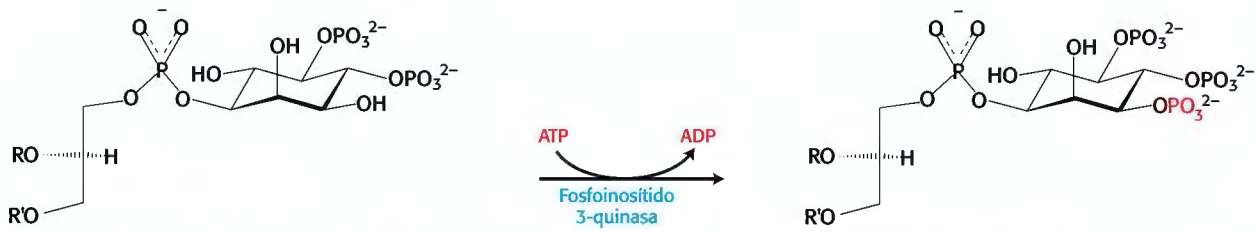


Figura 13.20 Acción de una lípido quinasa en la señalización de la insulina. Las proteínas IRS-1 e IRS-2 fosforiladas activan la enzima fosfoinosítido 3-quinasa, una enzima que convierte el PIP_2 en PIP_3.

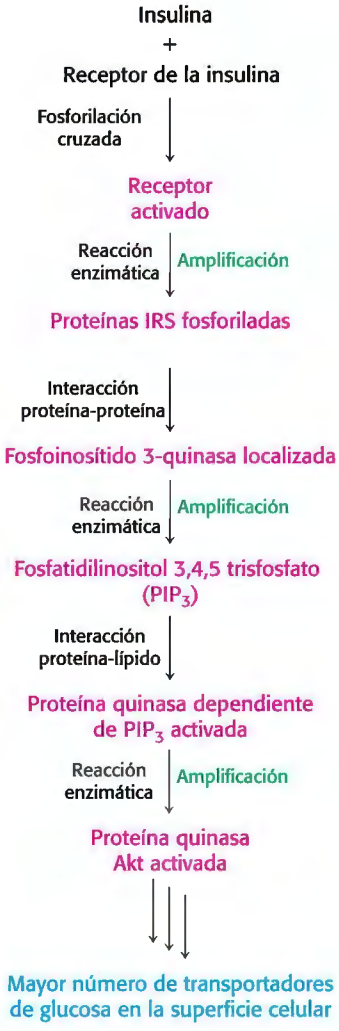


Figura 13.21 Ruta de señalización de la insulina. Etapas clave de la ruta de transducción de señales iniciada por la unión de la insulina al receptor de la insulina.

? PREGUNTA RÁPIDA 2 ¿Por qué es una buena idea, desde el punto de vista fisiológico, que la insulina aumente el número de transportadores de glucosa en la membrana celular?

4,5-bisfosfato (PIP_2) para formar fosfatidilinositol 3,4,5-trisfosfato (PIP_3), tal y como se indica en la **Figura 13.20**. A su vez, este producto lipídico activa una proteína quinasa dependiente de PIP_3 (PDK1). Esta proteína quinasa activa fosforila y activa a Akt, que también se denomina proteína quinasa B (PKB), otra proteína quinasa de serina o de treonina (ver la **Figura 13.19**). La proteína Akt no está anclada a la membrana y se mueve a través de la célula para fosforilar enzimas que estimulan la síntesis de glucógeno, así como a componentes que controlan el envío del transportador de glucosa GLUT4 a la superficie celular. Una vez en la superficie de la célula, GLUT4, uno de los miembros de una familia que incluye cinco transportadores de glucosa, permite la entrada de glucosa en la célula a favor de su gradiente de concentración y la extracción de glucosa de la sangre de una forma eficaz.

La cascada iniciada por la unión de la insulina al receptor de la insulina se resume en la **Figura 13.21**. La señal se amplifica en varias etapas de esta ruta. Como el propio receptor de insulina activado es una proteína quinasa, cada receptor activado puede fosforilar multitud de moléculas IRS. Las enzimas activadas amplifican aún más la señal en al menos dos de las etapas posteriores. Así, un pequeño incremento en la concentración de insulina circulante puede dar lugar a una intensa respuesta intracelular. Hay que señalar el hecho de que, a pesar de lo complicado que pueda parecer la ruta aquí descrita, es considerablemente menos compleja que el completo entramado de rutas iniciadas por la insulina.

La señalización de la insulina finaliza gracias a la acción de las fosfatasas

Hemos visto que la proteína G activada promueve su propia desactivación mediante la liberación de un grupo fosforilo procedente del GTP. Por el contrario, las proteínas fosforiladas en sus residuos de serina, treonina o tirosina, como los sustratos del receptor de la insulina, no se hidrolizan de manera espontánea; son extremadamente estables desde el punto de vista cinético. Se necesitan enzimas específicas, denominadas *proteína fosfatasas*, para hidrolizar estas proteínas fosforiladas y devolverlas al estado en que estaban antes del inicio de la señalización. Análogamente, se necesitan lípido fosfatasas para eliminar grupos fosforilo de los lípidos que contienen inositol que previamente habían sido fosforilados durante la cascada de señalización. En el caso de la señalización de la insulina hay tres tipos de enzimas que son particularmente importantes: las proteína fosfatasas de tirosina, que eliminan grupos fosforilo de los residuos de tirosina del receptor de la insulina, las lípido fosfatasas, que hidrolizan el PIP_3 a PIP_2, y las proteína fosfatasas de serina, que eliminan grupos fosforilo de las proteína quinasas activadas, como la proteína Akt. Muchas de estas fosfatasas se activan o son reclutadas como parte de la respuesta a la insulina. Por tanto, la unión de la señal inicial crea el marco para la eventual finalización de la respuesta.

13.5 El ion calcio es un mensajero citoplasmático ubicuo

Ya hemos visto que el Ca^{2+} es un componente importante de un circuito de transducción de señales, la cascada de fosfoinosítidos. De hecho, el Ca^{2+} es, por sí mismo, un mensajero intracelular de muchas de las rutas de transducción de señales eucarióticas.

La *calmodulina* (CaM), una proteína de 17 kDa con cuatro lugares de unión al calcio, actúa como un sensor de calcio en casi todas las células eucarióticas. *Cuando el nivel de calcio en el citoplasma aumenta, la calmodulina se activa uniéndose al Ca^{2+}.* La calmodulina es un miembro de la *familia de proteínas mano EF*. La *mano EF* es un motivo de unión al Ca^{2+} que consta de una hélice, un bucle y una segunda hélice. Este motivo, descubierto por primera vez en la proteína parvalbúmina, se denominó mano EF porque las hélices de la parvalbúmina designadas como E y F que forman el dominio de unión a calcio están colocadas como los dedos índice y pulgar de la mano derecha (**Figura 13.22**).

El complejo Ca^{2+}–calmodulina estimula una amplia gama de enzimas, bombas y otras proteínas diana. Dos dianas son especialmente dignas de mención: una que propaga la señal del Ca^{2+} y otra que la anula. La unión del complejo Ca^{2+}–calmodulina a la *proteína quinasa dependiente de calmodulina* (quinasa CaM) activa la quinasa y la habilita para fosforilar una gran variedad de proteínas diana. Las quinasas CaM regulan el metabolismo de los combustibles, la permeabilidad iónica, la síntesis de neurotransmisores y la liberación de neurotransmisores a través de la actividad el complejo Ca^{2+}–calmodulina. La bomba *ATPasa de Ca^{2+}* de la membrana plasmática es otra importante diana del complejo Ca^{2+}–calmodulina. La estimulación de la bomba por el complejo Ca^{2+}–calmodulina reduce el nivel de calcio para restablecer el nivel basal de calcio en la célula, que es bajo, ayudando así a finalizar la señal.

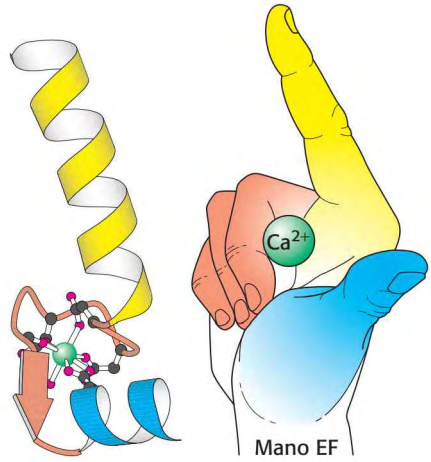


Figura 13.22 Mano EF. La mano EF es un lugar de unión al Ca^{2+} que está presente en muchas proteínas sensibles al calcio y que está formado por una unidad hélice-bucle-hélice. En la figura, la hélice E es amarilla, la hélice F es azul y el calcio se representa mediante una esfera de color verde. *Observe* que el ion calcio se encuentra unido a un bucle que conecta las dos hélices, que son casi perpendiculares. [Elaborada a partir de 1CLL.pdb.]

13.6 Defectos en las rutas de transducción de señales pueden provocar enfermedades

A la vista de su complejidad, no es de extrañar que las rutas de transducción de señales fallen de vez en cuando, dando lugar a estados patológicos o enfermedades. El cáncer, un conjunto de enfermedades que se caracteriza por un crecimiento celular descontrolado o inapropiado, está íntimamente relacionado con defectos en las proteínas que intervienen en la transducción de señales. De hecho, el estudio del cáncer ha contribuido enormemente a nuestros conocimientos sobre las proteínas y las rutas de transducción de señales.

Aspecto clínico

La conversión de proto-oncogenes en oncogenes desbarata la regulación del crecimiento celular

A menudo, los genes que, cuando mutan, provocan cáncer suelen regular el crecimiento celular. Las versiones no mutadas de estos genes que se expresan con normalidad se denominan *proto-oncogenes* y las proteínas que codifican son proteínas de transducción de señales que regulan el crecimiento celular. Si un proto-oncogén sufre una mutación que da lugar a un crecimiento celular desmedido, entonces el gen se denomina *oncogén* (del griego *onco* que significa "hinchazón", "masa" o "tumor").

El gen que codifica la proteína Ras, un componente de la ruta iniciada por el EGF, es uno de los genes que con más frecuencia sufre mutaciones en los tumores humanos. Las células de mamífero contienen tres proteínas Ras (H-, K-, y N-Ras), cada una de las cuales alterna entre las formas inactivas unidas a GDP y las formas activas unidas a GTP. En los tumores, las mutaciones más frecuentes dan lugar a una pérdida de la capacidad para hidrolizar GTP. De este modo, la proteína Ras se queda atrapada en la posición activa y continúa estimulando el crecimiento celular, incluso en ausencia de una señal continuada.

En los tumores también se observan con frecuencia tirosina quinasas del receptor mutadas o sobreexpresadas. Por ejemplo, en algunos cánceres epiteliales humanos, entre los que se incluyen el cáncer de mama, el de ovarios y el colorrectal, el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) se encuentra sobreexpresado. Dado que una pequeña cantidad del receptor puede dimerizar y activar la ruta de señalización incluso sin haberse unido al EGF, la sobreexpresión del receptor aumenta la posibilidad de que se envíe a la célula de manera inapropiada una señal del tipo

"crece y divídete". La comprensión de las rutas de transducción de señales relacionadas con el cáncer ha permitido diseñar una estrategia terapéutica dirigida contra el EGFR. Se han creado anticuerpos como cetuximab (comercializado con el nombre de Erbitux) que inhiben el EGFR compitiendo con el EGF por el lugar de unión del receptor. Como el anticuerpo bloquea estéricamente el cambio de conformación que da lugar a la dimerización, el propio anticuerpo es incapaz de inducir la dimerización. El resultado es que no se inicia la ruta controlada por el EGFR.

Otros genes pueden contribuir al desarrollo del cáncer solo cuando ambas copias del gen que normalmente están presentes en una célula se han eliminado o han resultado dañadas de alguna forma. Estos genes, denominados *genes supresores de tumores*, codifican proteínas que o bien inhiben el crecimiento celular desactivando las rutas que promueven el crecimiento o desencadenan la muerte de las células tumorales. Por ejemplo, los genes para algunas de las fosfatasas que intervienen en la finalización de la señalización por EGF son supresores de tumores. En ausencia de fosfatasas funcionales, la señalización por EGF persiste una vez iniciada, estimulando un crecimiento celular inapropiado. ■

Aspecto clínico

Los inhibidores de las proteína quinasas pueden ser eficaces fármacos anticancerosos

La presencia generalizada de proteína quinasas hiperactivas en las células cancerosas sugiere que las moléculas que inhiban estas enzimas podrían actuar como agentes antitumorales. Por ejemplo, más del 90% de los pacientes con leucemia mieloide crónica (CML) presentan un defecto cromosómico específico en las células afectadas (Figura 13.23). La translocación de material genético entre los cromosomas 9 y 22 hace que el gen *c-abl* ("*c*" significa celular), que codifica una tirosina quinasa, se inserte en el gen *bcr* del cromosoma 22. El resultado es la producción de una proteína de fusión denominada Bcr-Abl que está formada mayoritariamente por la secuencia de la quinasa c-Abl. Sin embargo, el gen *bcr-abl* se expresa a niveles muy superiores a los del gen que codifica la quinasa c-Abl normal, lo que da lugar a un exceso de señales para el crecimiento celular. Además, la proteína Bcr-Abl puede tener propiedades reguladoras que difieran ligeramente de las de la propia quinasa c-Abl. Por tanto, las células de la leucemia expresan una diana exclusiva hacia la que dirigir fármacos. Hoy en día se está utilizando mucho un inhibidor específico de la quinasa Bcr-Abl, el mesilato de iminatib (comercializado con el nombre de Gleevec) para tratar la leucemia; más del 90% de los pacientes respondieron bien al tratamiento. Por tanto, *nuestros conocimientos sobre las rutas de transducción de señales están permtiendo desarrollar tratamientos conceptualmente nuevos contra algunas enfermedades.* ■

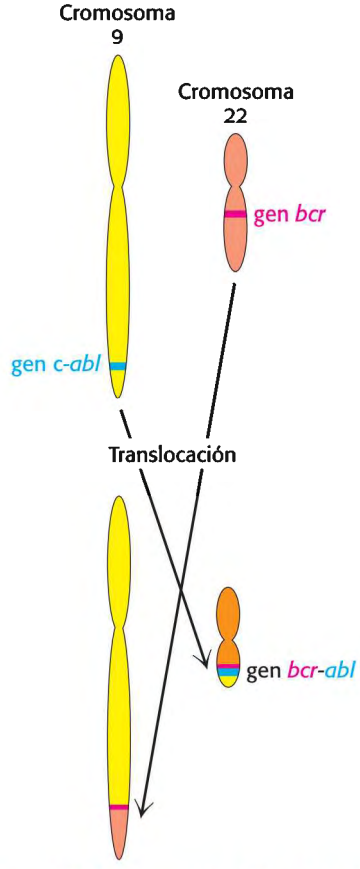


Figura 13.23 Formación del gen *bcr-abl* por translocación. En la leucemia mieloide crónica, regiones de los cromosomas 9 y 22 se intercambian recíprocamente, provocando la fusión de los genes *bcr* y *abl*. En las células que presentan esta translocación, el nivel de expresión de la proteína quinasa codificada por el gen *bcr-abl* es mayor que el de la proteína quinasa codificada por el gen *c-abl* en las células normales.

Resumen

13.1 La transducción de señales depende de circuitos moleculares

La mayoría de las rutas de transducción de señales consta de un conjunto similar de componentes. Un mensajero primario, como una hormona, se une a la región extracelular de un receptor unido a la membrana. El complejo mensajero-receptor genera un segundo mensajero en el interior de la célula que activa proteínas que alteran el entorno bioquímico en el interior de la célula. Por último, existen medios para finalizar la ruta de transducción de señales.

13.2 Proteínas receptoras transmiten información al interior de la célula

Los receptores que contienen siete hélices transmembrana operan de forma conjunta con las proteínas G heterotriméricas. La unión de una hormona a un receptor 7TM desencadena el intercambio del GDP unido a la subunidad α de la proteína G por GTP. Las proteínas G_α pueden transmitir información de varias formas. La proteína $G_{\alpha s}$-GTP activa la adenilato ciclasa, una proteína de membrana integral que cataliza la síntesis de cAMP. A continuación, el AMP cíclico activa la proteína quinasa A uniéndose a su subunidad reguladora, con lo que se liberan sus cadenas catalíticas. Los receptores 7TM activan las proteí-

nas $G_{\alpha q}$ y la ruta de los fosfoinosítidos. La activación de la fosfolipasa C desencadenada por el receptor genera dos mensajeros intracelulares por medio de la hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato. El inositol trisfosfato abre los canales de calcio de las membranas del retículo endoplasmático y del retículo sarcoplásmico. El diacilglicerol activa la proteína quinasa C.

13.3 Algunos receptores dimerizan en respuesta a la unión de ligandos y reclutan a las tirosina quinasas

Algunos ligandos inducen la dimerización de los receptores a los que se unen. Este tipo de receptores contiene un dominio extracelular que se une al ligando, una región transmembrana y un dominio citoplasmático que o se une a una proteína quinasa o es una proteína quinasa. Un ejemplo de este tipo de rutas de transducción de señales es aquella en la que interviene el receptor de la hormona del crecimiento. La dimerización del receptor activa la quinasa Jano 2, una proteína quinasa asociada a la región intracelular del receptor.

Las tirosina quinasas intrínsecas están incorporadas covalentemente en los dominios intracelulares de algunos receptores, como el receptor del factor de crecimiento epidérmico y el receptor de la insulina. Cuando estas tirosina quinasas del receptor dimerizan y se activan, tiene lugar la fosforilación cruzada. Las tirosinas fosforiladas de las tirosina quinasas del receptor activadas sirven como lugares de acoplamiento para proteínas de señalización y permiten que la señal se siga propagando. Un destacado componente de esta ruta es la GTPasa pequeña Ras. La proteína Ras, al igual que la subunidad G_{α}, alterna entre una forma inactiva unida al GDP y una forma activa unida al GTP.

13.4 El metabolismo en su contexto: la señalización de la insulina regula el metabolismo

La hormona insulina se secreta cuando los niveles de glucosa en la sangre son elevados. La insulina se une al receptor de la insulina que, a su vez, es una tirosina quinasa. A continuación, la tirosina quinasa activada fosforila los sustratos del receptor de la insulina. La ruta de señalización continúa, siendo el resultado clave un incremento de los transportadores de glucosa en la membrana celular.

13.5 El ion calcio es un mensajero citoplasmático ubicuo

Los iones calcio actúan uniéndose a la calmodulina y a otros sensores de calcio. La calmodulina contiene cuatro módulos de unión al calcio denominados manos EF, que también están presentes en otras proteínas. El complejo Ca^{2+}–calmodulina activa las proteínas diana uniéndose a ellas.

13.6 Defectos en las rutas de transducción de señales pueden provocar enfermedades

Si los genes que codifican componentes de las rutas de transducción de señales se alteran por medio de una mutación, pueden producirse estados patológicos, especialmente el cáncer. En su forma mutada, estos genes se denominan oncogenes. Cuando están en su estado normal se denominan proto-oncogenes y operan en rutas que controlan el crecimiento celular y la replicación. En los cánceres humanos se encuentran frecuentemente versiones mutadas de *ras*.

Términos clave

mensajero primario (p. 216)
ligando (p. 216)
segundo mensajero (p. 216)
receptor con siete hélices transmembrana (7TM) (p. 217)
proteína G (p. 218)
G_{α} (p. 218)
$G_{\beta\gamma}$ (p. 218)
receptor acoplado a una proteína G (GCPR) (p. 218)
adenilato ciclasa (p. 219)
proteína quinasa A (PKA) (p. 220)
cascada de fosfoinosítidos (p. 222)
fosfolipasa C (p. 222)
proteína quinasa C (PKC) (p. 223)
tirosina quinasa del receptor (RTK) (p. 225)
Ras (p. 225)
calmodulina (CaM) (p. 228)
mano EF (p. 229)
proteína quinasa dependiente de la calmodulina (quinasa CaM) (p. 229)
proto-oncogén (p. 229)
oncogén (p. 229)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Disociación de la adrenalina de su receptor. Conversión del cAMP en AMP por medio de la fosfodiesterasa y la consiguiente inhibición de la PKA. Conversión del GTP en GDP por parte de la Gα y la consiguiente formación de la proteína G heterotrimérica inactiva.

2. La insulina indica que se ha comido. Su presencia da lugar a la extracción de la glucosa de la sangre bien para su almacenamiento o bien para su metabolismo. El aumento del número de transportadores de glucosa disponibles hace que estos procesos bioquímicos sean más eficaces.

Problemas

1. *Sal y pimienta.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 4

(a) Mensajero primario _____
(b) Segundo mensajero _____
(c) Receptor acoplado a proteína G _____
(d) Proteína G heterotrimérica _____
(e) $G_{\alpha s}$ _____
(f) Proteína quinasa A _____
(g) Fosfodiesterasa de cAMP _____
(h) Actividad GTPasa _____
(i) Cólera _____
(j) Toxina de *Bordetella pertussis* _____
(k) Fosfolipasa C _____
(l) $G_{\alpha q}$ _____
(m) Inositol trifosfato _____
(n) Proteína quinasa C _____

1. Activada por un receptor 7TM
2. Estimulada por el cAMP
3. Da lugar a la reasociación de G_{α} y $G_{\beta\gamma}$
4. Genera dos segundos mensajeros
5. Activada por diacilglicerol
6. Compuesto por siete hélices transmembrana
7. Mensaje recibido por la célula
8. Es el resultado de la inhibición de $G_{\alpha i}$
9. Activa la fosfolipasa C
10. Activa la adenilato ciclasa
11. Activa un canal de Ca^{2+}
12. Se debe a la estimulación continua de $G_{\alpha s}$
13. Sustancia química intracelular que transmite el mensaje a partir del complejo ligando-receptor
14. Da lugar a la desactivación de la proteína quinasa A

2. *Diferencias de clase.* ¿Cuáles son las tres clases principales de receptores de membrana? ✓ 5

3. *Magnificación.* Explique cómo la unión de un pequeño número de hormonas a la superficie externa de una célula puede provocar un gran efecto bioquímico en el interior de esa célula. ✓ 4

4. *Propiedades comunes.* ¿Cuáles son algunas de las características estructurales comunes a todos los receptores unidos a membrana? ✓ 4 y 5

5. *On-off.* ¿Por qué la actividad GTPasa de las proteínas G es esencial para el funcionamiento adecuado de una célula? ✓ 4

6. *Especificidad.* Las hormonas afectan a la bioquímica de un conjunto de tejidos muy concreto. ¿Cómo se explica la especificidad de la acción hormonal? ✓ 4

7. *Mantequilla de cacahuete y mermelada.* Asigne a cada término la descripción correspondiente.

(a) Unión de la hormona del crecimiento _____
(b) Receptor de la hormona del crecimiento _____
(c) Tirosina quinasa del receptor _____
(d) Grb-2 _____
(e) Sos _____
(f) Ras _____
(g) IRS _____
(h) Fosfoinosítido quinasa _____
(i) Quinasa activada por PIP_3 _____
(j) Akt _____

1. La dimerización da lugar a la fosforilación cruzada
2. Activa Ras
3. Activa JAK
4. Proteína adaptadora en la ruta de señalización de la insulina
5. Activa Akt
6. Se une a IRS y forma IP_3
7. Provoca la dimerización del receptor
8. Promueve el movimiento de transportadores de glucosa hacia la membrana celular
9. Proteína G pequeña
10. Se une a la tirosina quinasa del receptor y a Sos

8. *Quimeras.* En un elegante experimento sobre la naturaleza de la señalización por medio de tirosina quinasas del receptor, se sintetizó un gen que codificaba un *receptor quimérico* —la parte extracelular procedía del receptor de la insulina y tanto la parte que atraviesa la membrana como la parte citoplasmática procedían del receptor de EGF. El sorprendente resultado fue que la unión de la insulina inducía la actividad tirosina quinasa, tal y como podía deducirse a partir de la rápida autofosforilación observada. ¿Qué indica este resultado sobre los mecanismos de señalización de los receptores de EGF y de la insulina? ✓ 5

9. *Anticuerpos que imitan a hormonas.* Un anticuerpo posee dos lugares idénticos para la unión a antígenos. Sorprendentemente, los anticuerpos dirigidos contra la región extracelular del receptor del factor de crecimiento provocan, a menudo, los mismos efectos celulares que la exposición a los factores de crecimiento. Explique esta observación. ✓ 5

10. *Iguales pero distintas.* ¿Qué diferencias hay entre las proteínas G heterotriméricas y las proteínas G pequeñas? ✓ 4

11. *Intercambio fácil.* Se ha identificado una forma mutada de la subunidad α de la proteína G heterotrimérica; esta forma intercambia nucleótidos con facilidad incluso en ausencia de un receptor activado. ¿Qué efectos se observarían en una ruta de señalización que contenga la subunidad α mutada?

12. *Velocidades de difusión.* Normalmente, las velocidades de difusión varían de forma inversamente proporcional a los pesos moleculares; de manera que las moléculas más pequeñas difunden más rápidamente que las más grandes. Sin embargo, en las células, el ion calcio difunde más lentamente que el cAMP. Proponga una posible explicación.

13. *Atiborrado de glucosa.* En el músculo, la glucosa se moviliza para generar ATP en respuesta a la adrenalina, que activa la $G_{\alpha s}$. La fosfodiesterasa de AMP cíclico es una enzima que convierte el cAMP en AMP. ¿Cómo afectarían los inhibidores de la fosfodiesterasa de cAMP a la movilización de glucosa en el músculo? ✓ 4

14. *Muchos defectos.* Se han hecho considerables esfuerzos para determinar los genes cuyas variaciones en su secuencia contribuyen al desarrollo de la diabetes de tipo 2, una enfermedad que surge como consecuencia de una pérdida de sensibilidad de las células hacia la insulina. Hay, aproximadamente, alrededor de 800 genes implicados. Explique esta observación.

15. *Señalización del factor de crecimiento.* La hormona del crecimiento humana se une a una proteína de membrana de la superficie celular que no es una tirosina quinasa del receptor. En el interior de la célula, el dominio intracelular del receptor se puede unir a otras proteínas. Además, las investigaciones indican que, en ausencia de hormona, el receptor es monomérico, pero que dimeriza al unirse la hormona. Proponga un posible mecanismo para la señalización de la hormona del crecimiento. ✓ 5

16. *Genes diferentes.* ¿Qué diferencias hay entre un proto-oncogén, un oncogén y un gen supresor de tumores?

17. *Acelerador y freno.* Sólo tiene que mutar una copia de un proto-oncogén para intensificar el desarrollo del cáncer, mientras que en el caso de un gen supresor de tumores tienen que estar mutadas las dos copias del gen para que contribuya al desarrollo del cáncer. Explique esta diferencia.

18. *Redundancia.* Debido al elevado grado de variabilidad genética en los tumores, lo normal es que no haya una única terapia anticancerígena que sea universalmente eficaz para todos los pacientes, incluso para un mismo tipo de tumor. Por tanto, a menudo es conveniente inhibir una ruta concreta en más de un punto de la cascada de señalización. Además del anticuerpo monoclonal cetuximab, dirigido contra el EGFR, proponga estrategias alternativas para el desarrollo de fármacos antitumorales dirigidos hacia la ruta de señalización del EGF.

Problemas de integración de capítulos

19. *Una reaparición.* Los canales regulados por ligando pueden considerarse como receptores. Explique por qué.

20. *Exposición molecular.* La unión del Ca^{2+} a la calmodulina induce cambios conformacionales considerables en sus manos EF, que exponen residuos hidrofóbicos sobre la superficie de la proteína. ¿Cómo podría este cambio estructural ayudar a propagar la señal del calcio?

Problemas de interpretación de datos para atrevidos

21. *Estableciendo conexiones.* Suponga que está investigando una ruta de transducción de señales del factor de crecimiento recién descubierta. Descubre que, si se añade un análogo del GTP en el que el fosfato terminal ha sido sustituido por sulfato, la duración de la respuesta hormonal aumenta. ¿Qué conclusiones puede sacar?

22. *Viva la diferencia.* ¿Por qué se considera sorprendente el hecho de que una hormona monomérica se una a dos moléculas idénticas de receptor para así promover la formación de un dímero del receptor? ✓ 5

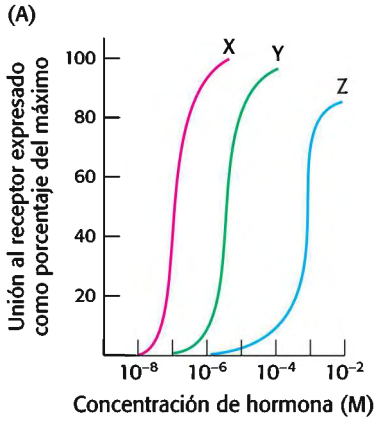
23. *Mutantes activos.* Algunas proteína quinasas son inactivas a no ser que se encuentren fosforiladas en residuos clave de serina o de treonina. En algunos casos, se pueden generar enzimas activas mutando esos residuos de serina o treonina a glutamato. ¿Cuál puede ser la explicación?

24. *Relación señal-ruido.* En el estado estacionario, los niveles intracelulares de Ca^{2+} se tienen que mantener bajos para evitar la precipitación de compuestos carboxilados y fosforilados que, con el Ca^{2+}, forman sales poco solubles. La concentración de Ca^{2+} en el citoplasma es, aproximadamente, de 100 nM, varios órdenes de magnitud menor que su concentración en el medio extracelular. ¿Cómo se aprovecha la célula de la diferencia entre las concentraciones intracelular y extracelular de Ca^{2+}?

25. *Receptor truncado.* Se prepara una línea celular que sobreexpresa una forma mutada del EGFR en la que se ha eliminado la totalidad de la región intracelular del receptor. Pronostique el efecto de la sobreexpresión de esta construcción sobre la señalización del EGF en esta línea celular. ✓ 5

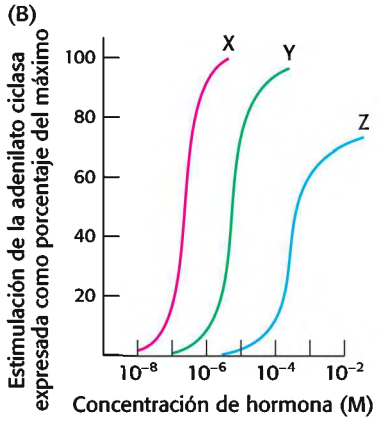
26. *Amplificación total.* Suponga que cada receptor β-adrenérgico unido a la adrenalina convierte 100 moléculas de $G_{\alpha s}$ a su forma unida al GTP y que cada molécula de adenilato ciclasa activada produce 1.000 moléculas de cAMP por segundo. Suponiendo que la respuesta es total, ¿cuántas moléculas de cAMP se producirán en 1 s después de la formación de un único complejo entre la adrenalina y el receptor β-adrenérgico? ✓ 4

27. *Estableciendo la especificidad.* Se desea determinar la especificidad para la unión a hormonas de un receptor de membrana recién identificado. En experimentos separados, se mezclan tres hormonas distintas, X, Y y Z con el receptor y se determina el porcentaje de capacidad de unión del receptor en función de la concentración de hormona, tal y como se muestra en la gráfica A.



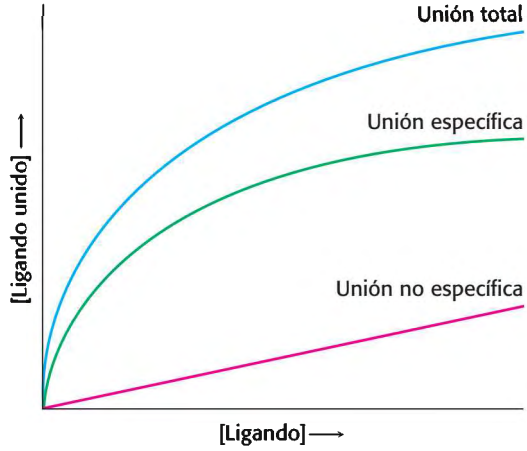
(a) Para cada hormona, ¿qué concentración produce el 50% de la unión máxima?
(b) ¿Qué hormona muestra la mayor afinidad de unión al receptor?

A continuación, se desea determinar si el complejo hormona-receptor estimula la cascada de la adenilato ciclasa. Para ello, se mide la actividad adenilato ciclasa en función de la concentración de hormona, tal y como se muestra en la gráfica B.



(c) ¿Qué relación hay entre la afinidad de la unión del complejo hormona-receptor y la capacidad de la hormona para intensificar la actividad de la adenilato ciclasa? ¿Qué conclusiones se pueden sacar sobre el mecanismo de acción del complejo hormona-receptor?
(d) Sugiera experimentos que permitan determinar si uno de los componentes de la ruta de transducción de señales es una proteína $G_{\alpha s}$.

28. *La unión importa.* Un científico desea determinar el número de receptores específicos para un ligando X, del que puede disponer tanto en forma radioactiva como en forma no radioactiva. En un experimento, añade cantidades crecientes de X radioactivo y mide cuánto se une a las células. El resultado se representa en el gráfico adjunto mediante la curva de unión total. A continuación, realiza el mismo experimento, pero esta vez incluye una cantidad de X no radioactivo varios cientos de veces mayor. Este resultado se representa mediante la curva de unión no específica. La diferencia entre las dos curvas es la unión específica.



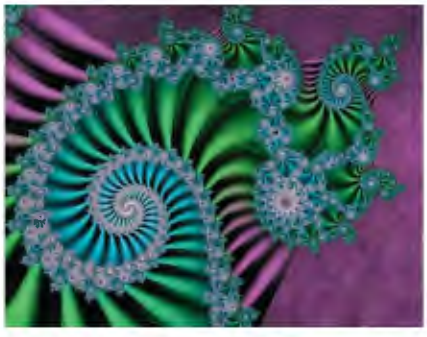
(a) ¿Por qué la unión total no es una representación precisa del número de receptores presentes en la superficie celular?
(b) ¿Con qué objeto se realiza el experimento en presencia de ligando no radioactivo en exceso?
(c) ¿Qué significado tiene el hecho de que la unión específica alcance un valor estable?

29. *Contando receptores.* Por medio de experimentos como los descritos en los problemas 27 y 28 se puede calcular el número de receptores presentes en la membrana de la célula. Supongamos que la actividad específica del ligando es 10^{12} cuentas por minuto (cpm) y por milimol, y que la máxima unión específica es 10^4 cpm por miligramo de proteína de membrana. Hay 10^{10} células por miligramo de proteína de membrana. Suponga que se une un ligando a cada receptor. Calcule el número de moléculas de receptor presentes por célula.

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.



Capítulo 14: Digestión: convertir una comida en compuestos bioquímicos celulares



Capítulo 15: Metabolismo: conceptos básicos y diseño

SECCIÓN 6

Conceptos básicos y diseño del metabolismo

Los conceptos de conformación y dinámica desarrollados desde la Sección 1 a la 5 –especialmente aquellos que tienen que ver con la especificidad y el poder catalítico de las enzimas, con la regulación de su actividad catalítica y con el transporte de iones y moléculas a través de membranas– nos permiten ahora plantearnos algunas cuestiones que son fundamentales en bioquímica:

1. ¿Cómo obtiene una célula energía y poder reductor de su entorno?
2. ¿Cómo sintetiza una célula los materiales de construcción para sus macromoléculas y, posteriormente, las propias macromoléculas?

Estos procesos son llevados a cabo mediante un conjunto muy integrado de reacciones químicas que constituyen el denominado *metabolismo* o *metabolismo intermediario*. El metabolismo se puede subdividir en dos categorías: *catabolismo* y *anabolismo*. El catabolismo es el conjunto de reacciones que obtienen energía biológicamente útil a partir de fuentes del entorno, como la comida. El anabolismo es el conjunto de reacciones que utilizan esta energía y pequeñas moléculas procedentes de la descomposición de los alimentos para la síntesis de nuevas moléculas, complejos supramoleculares y las propias células.

Incluso en un organismo tan sencillo como *Escherichia coli* tienen lugar más de un millar de reacciones químicas. A primera vista, el conjunto de reacciones puede parecer abrumador. Sin embargo, un estudio más minucioso revela que *el metabolismo presenta un patrón coherente que contiene muchos aspectos comunes*. Estos aspectos incluyen el uso de una moneda energética y la aparición recurrente de un limitado número de

intermediarios activados. De hecho, un grupo de aproximadamente 100 moléculas desempeñan funciones cruciales en todas las formas de vida y se procesan utilizando rutas similares en todos los seres vivos. Además, estas rutas metabólicas se regulan de la misma forma.

Antes de que una célula pueda comenzar el metabolismo de una molécula con fines anabólicos o catabólicos, la molécula tiene que ser accesible para la célula. En los organismos superiores, como los seres humanos, la conversión de los alimentos en biomoléculas accesibles comienza en el tracto digestivo con el proceso bioquímico de la digestión.

Comenzamos esta sección con un estudio de cómo los alimentos —la forma dietética en que se presentan los compuestos bioquímicos necesarios para la subsistencia— se convierten en compuestos bioquímicos que se incorporan a las rutas metabólicas. A continuación, estudiaremos algunos principios y elementos generales del metabolismo para sentar las bases de los estudios más detallados que vendrán después.

✓ Al final de esta sección, usted debería ser capaz de:

- ✓ 1 Describir cómo se digieren las proteínas, los carbohidratos y los lípidos que ingerimos.
- ✓ 2 Explicar cómo se coordina la liberación de enzimas pancreáticas con la digestión en el estómago.
- ✓ 3 Identificar los factores que hacen del ATP una molécula rica en energía.
- ✓ 4 Explicar cómo puede el ATP impulsar reacciones que, de otro modo, no se producirían.
- ✓ 5 Describir la relación entre el estado de oxidación de una molécula carbonada y su utilidad como combustible.

CAPÍTULO 14

Digestión: convertir una comida en compuestos bioquímicos celulares

14.1 La digestión prepara las biomoléculas grandes para ser utilizadas por el metabolismo

14.2 Las proteasas digieren las proteínas a aminoácidos y péptidos

14.3 Los carbohidratos de la dieta se digieren por la alfa-amilasa

14.4 La digestión de los lípidos se complica por su hidrofobicidad

14.5 El metabolismo en su contexto: la señalización celular facilita la homeostasis calórica



El crecimiento requiere gran cantidad de energía y de materiales de construcción bioquímicos. Estos requerimientos no desaparecen a medida que envejecemos sino que siguen siendo necesarios para librar a nuestros organismos del desgaste natural que supone el estar vivos. La energía y los materiales de construcción llegan en forma de alimento, que tiene que convertirse en compuestos bioquímicos por medio del proceso de la digestión. [Stuart Pearce/Agefotostock.]

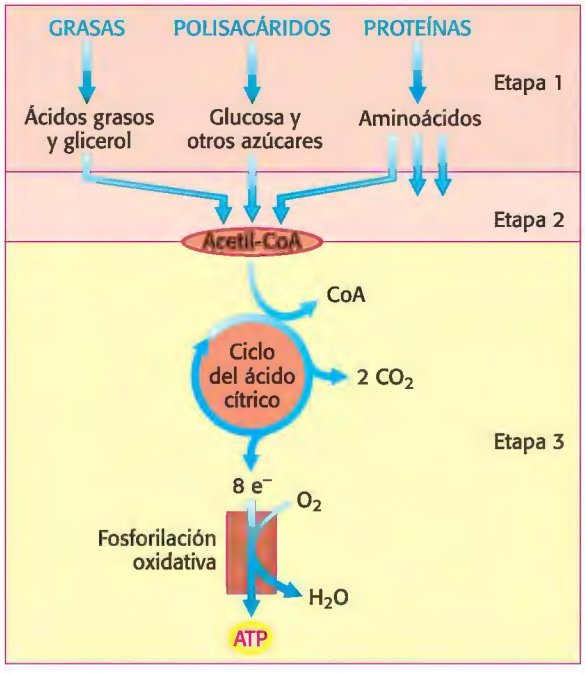


Figura 14.1 Las etapas del catabolismo. La extracción de energía a partir de los combustibles consta de tres etapas.

La generación de energía a partir de la oxidación de los alimentos tiene lugar en tres etapas (**Figura 14.1**). *En la primera etapa, las moléculas grandes de los alimentos se fragmentan en unidades más pequeñas.* Este proceso es la *digestión*. Las proteínas se hidrolizan a los 20 tipos de aminoácidos, los polisacáridos se hidrolizan a azúcares simples, como la glucosa, y las grasas se hidrolizan a ácidos grasos. Esta etapa es exclusivamente una etapa de preparación; en este punto no se consigue ningún tipo de energía útil.

En la segunda etapa, esta gran cantidad de moléculas pequeñas se degradan a unas pocas unidades sencillas que desempeñan un papel fundamental en el metabolismo. De hecho, la mayoría de ellas —azúcares, ácidos grasos, glicerol y varios aminoácidos— se convierten en acetil-CoA, la unidad activada de dos carbonos que es el combustible para las etapas finales del metabolismo aeróbico. En la segunda etapa, se genera algo de ATP pero la cantidad es muy pequeña en comparación con la que se obtiene en la tercera etapa.

En la tercera etapa, se produce ATP a partir de la oxidación completa del acetil-CoA. La tercera etapa consta del ciclo del ácido cítrico y la fosforilación oxidativa, que son las rutas finales comunes de la oxidación de las moléculas combustible. El acetil-CoA incorpora los productos de la degradación de proteínas, azúcares y ácidos grasos en el ciclo del ácido cítrico (también denominado ciclo de los ácidos tricarboxílicos, TCA o ciclo de Krebs), donde se oxidan completamente a CO_2. En este capítulo nos centraremos en la etapa 1 —la digestión— y dejaremos las etapas 2 y 3 para capítulos posteriores.

✓ 1 Describir cómo se digieren las proteínas, los carbohidratos y los lípidos que ingerimos.

14.1 La digestión prepara las biomoléculas grandes para ser utilizadas por el metabolismo

Comencemos nuestro estudio de la digestión examinando qué sucede tras haber pegado un mordisco a una pizza, una deliciosa combinación de lípidos, carbohidratos y proteínas (Figura 14.2). La *digestión* comienza en la boca, donde se utilizan los dientes, lengua y saliva para homogeneizar un pedazo de pizza, convirtiéndola en una especie de puré acuoso que resulta más fácil de atacar por parte de las enzimas digestivas que si fuese un trozo de comida apenas sin masticar. Tras la homogeneización, la comida pasa al estómago, donde tienen lugar dos actividades principales. En primer lugar, las proteínas se desnaturalizan por el ambiente ácido del estómago, donde el pH se mantiene en valores comprendidos entre 1 y 2 gracias a una bomba de protones dependiente del ATP similar a la ATPasa de Na^+-K^+ (p. 203). Esta desnaturalización, provocada por la ruptura de los enlaces iónicos y los puentes de hidrógeno que se produce a ese pH tan bajo, convierte la proteína en un mejor sustrato para la degradación que tendrá lugar más tarde. En segundo lugar, el proceso de degradación de las proteínas comienza en el estómago con la acción de la *pepsina*, una enzima proteolítica. La acción de la pepsina produce fragmentos proteicos que se degradarán aún más por las proteasas del intestino. Además, la degradación de las proteínas en el estómago estimula al páncreas para que libere un gran número de enzimas digestivas en el intestino, donde comienza la digestión en serio de proteínas, lípidos y carbohidratos. El páncreas también libera grandes cantidades de bicarbonato sódico ($NaHCO_3$) para neutralizar el pH de la comida a medida que abandona el entorno ácido del estómago. La vesícula biliar contribuye a la digestión secretando sales biliares que son necesarias para la digestión de los lípidos. En las próximas tres secciones estudiaremos detalladamente la digestión de las proteínas, carbohidratos y lípidos.



Figura 14.2 Pizza. Los alimentos representan una agradable manera de obtener energía y materiales de construcción para los sistemas biológicos. [Mode/Ian O'Leary/age fotostock.]

✓ 2 Explicar cómo se coordina la liberación de enzimas pancreáticas con la digestión en el estómago.

14.2 Las proteasas digieren las proteínas a aminoácidos y péptidos

Los seres humanos ingieren diariamente entre 70 y 100 g de proteína. En relación con nuestra pizza, la carne y el queso aportan la mayor parte de la proteína, que se tiene que degradar para que los aminoácidos individuales estén disponibles para ser utilizados en las rutas metabólicas. Además de las proteínas de los alimentos, entre 50 y 100 g de proteínas se desprenden a diario de las células del intestino a causa del desgaste natural que se produce durante la digestión; estas proteínas se degradan y los aminoácidos se recuperan.

Como ya hemos mencionado, el proceso de degradación de proteínas comienza en el estómago con la acción de la *pepsina*, una proteasa (enzima proteolítica). Las *proteasas*, o *enzimas proteolíticas*, son un tipo de enzimas que rompen los enlaces peptídicos que hay entre los aminoácidos mediante la adición de una molécula de agua (p. 94), digiriendo así las proteínas. La pepsina es una enzima extraordinaria, que muestra una actividad óptima en el intervalo de pH comprendido entre 1 y 2, condiciones tan ácidas que desnaturalizan a las demás proteínas (p. 127).

Posteriormente, las proteínas parcialmente digeridas, así como los carbohidratos y los lípidos, se desplazan desde el ambiente ácido del estómago hasta el comienzo del intestino delgado. El bajo pH de la comida estimula a las células del intestino delgado a secretar la hormona secretina (Figura 14.3). A su vez, la secretina estimula la liberación de bicarbonato sódico ($NaHCO_3$), que neutraliza el pH de la comida. Los polipéptidos producidos por la digestión de la pepsina también estimulan la liberación de la hormona *colecistoquinina* (CCK) por parte de las células intestinales. El páncreas responde a la CCK (ver la Figura 14.3) liberando un gran número de enzimas digestivas en el intestino, donde comienza la digestión de las proteínas, lípidos y carbohidratos.

Las enzimas digestivas del páncreas se secretan en forma de precursores inactivos, los *zimógenos* o *proenzimas* (Tabla 14.1). Antes de su secreción, los zimógenos se encuentran en unos grá-

Tabla 14.1 Zimógenos gástricos y pancreáticos

Lugar de síntesis	Zimógeno	Enzima activa
Estómago	Pepsinógeno	Pepsina
Páncreas	Quimotripsinógeno	Quimotripsina
Páncreas	Tripsinógeno	Tripsina
Páncreas	Procarboxipeptidasa	Carboxipeptidasa
Páncreas	Proelastasa	Elastasa

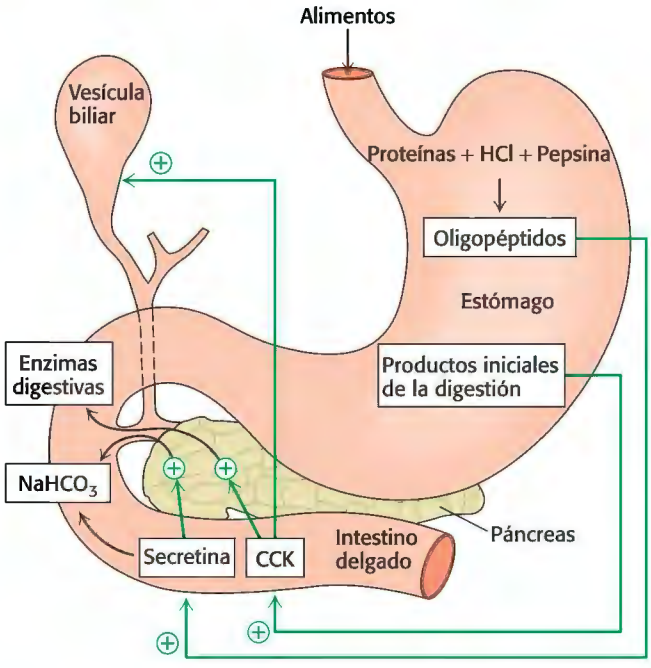


Figura 14.3 Control hormonal de la digestión. La colecistoquinina (CCK) es secretada por células especializadas del intestino y provoca la secreción de sales biliares en la vesícula biliar y de enzimas digestivas en el páncreas. La secretina estimula la secreción de bicarbonato sódico ($NaHCO_3$), que neutraliza el ácido del estómago. [Tomado de D. Randall, W. Burggren, y K. French, *Eckert Animal Physiology*, 5.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2002), p. 658.]

nulos situados cerca de la membrana celular. En respuesta a la CCK, los gránulos se fusionan con la membrana celular, expulsando su contenido en el *lumen* del intestino. Los zimógenos se activan cuando una parte del precursor inactivo se escinde proteolíticamente. De hecho, la propia enzima del estómago pepsina se secreta en forma de un zimógeno denominado *pepsinógeno*. El pepsinógeno posee una pequeña cantidad de actividad enzimática y en un entorno ácido puede autoactivarse hasta cierto punto. La pepsina autoactivada activa lo que queda de pepsinógeno. La enzima *enteropeptidasa* (también denominada enteroquinasa), secretada por las células epiteliales del intestino delgado, activa el zimógeno pancreático *tripsinógeno* para formar *tripsina* que, a su vez, activa los demás zimógenos pancreáticos (**Figura 14.4**).

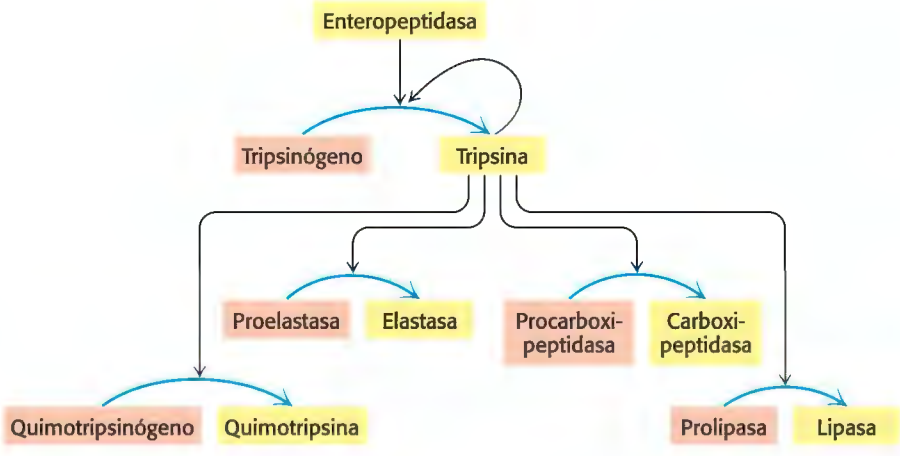


Figura 14.4 Activación de zimógenos mediante escisión proteolítica. La enteropeptidasa inicia la activación de los zimógenos pancreáticos activando el tripsinógeno para formar tripsina que, a continuación, activa el quimotripsinógeno y el resto de zimógenos. Las enzimas activas se muestran en color amarillo; los zimógenos se muestran en color naranja.

Las proteasas pancreáticas hidrolizan las proteínas generando pequeños fragmentos denominados oligopéptidos, pero la digestión se completa mediante enzimas denominadas peptidasas que se encuentran unidas a la superficie externa de las células intestinales. Estas enzimas rompen los oligopéptidos produciendo aminoácidos, dipéptidos y tripéptidos que pueden ser transportados al interior de una célula intestinal por medio de transportadores. Existen al menos siete transportadores distintos, cada uno específico para un grupo distinto de aminoácidos.

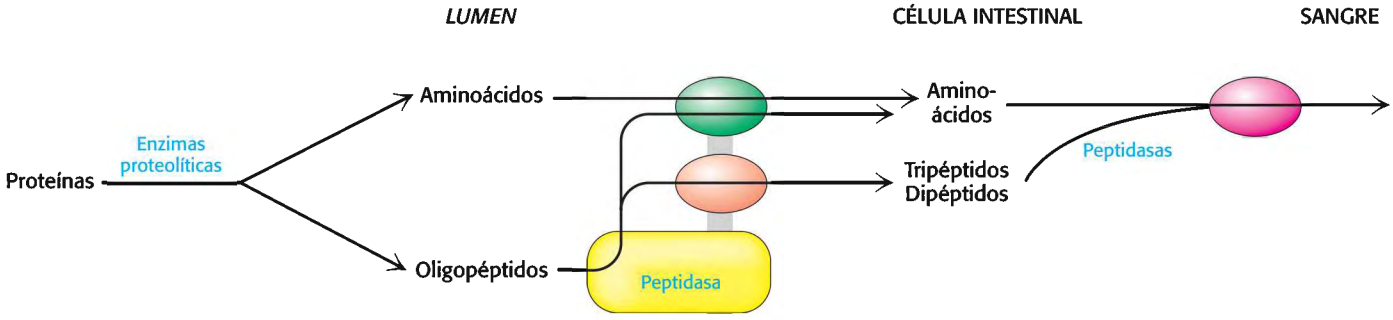


Figura 14.5 Digestión y absorción de proteínas. Básicamente, la digestión de proteínas es el resultado de la actividad de las enzimas secretadas por el páncreas. Las peptidasas asociadas con el epitelio intestinal digieren aún más las proteínas. Los aminoácidos, dipéptidos y tripéptidos son absorbidos por las células intestinales gracias a transportadores específicos. Posteriormente, los aminoácidos libres se liberan en la sangre para que sean utilizados por otros tejidos.

Posteriormente, los aminoácidos son liberados a la sangre para que sean utilizados por otros tejidos (Figura 14.5).

14.3 Los carbohidratos de la dieta se digieren por la alfa-amilasa

¿Cómo se convierten en compuestos bioquímicos la masa y las verduras que componen nuestra pizza? Estos ingredientes son una fuente de carbohidratos complejos, como el almidón y el glucógeno que pueda estar presente en la carne (p. 165), y de carbohidratos sencillos, como la sacarosa (p. 164).

Al igual que las proteínas, los carbohidratos de la dieta se digieren para generar moléculas que puedan ser fácilmente absorbidas por el intestino. Los productos finales más frecuentes son los monosacáridos glucosa, fructosa y galactosa. Nuestra principal fuente de carbohidratos son los carbohidratos complejos, como el almidón presente en la masa. Este homopolisacárido ramificado de glucosa se digiere principalmente por la enzima pancreática *α-amilasa*, que rompe los enlaces α-1,4 del almidón, pero no los enlaces α-1,6 (Figura 14.6). Los productos son la maltosa (un disacárido), la maltotriosa (un trisacárido) y la denominada *dextrina límite*, que es el material que no es digerido

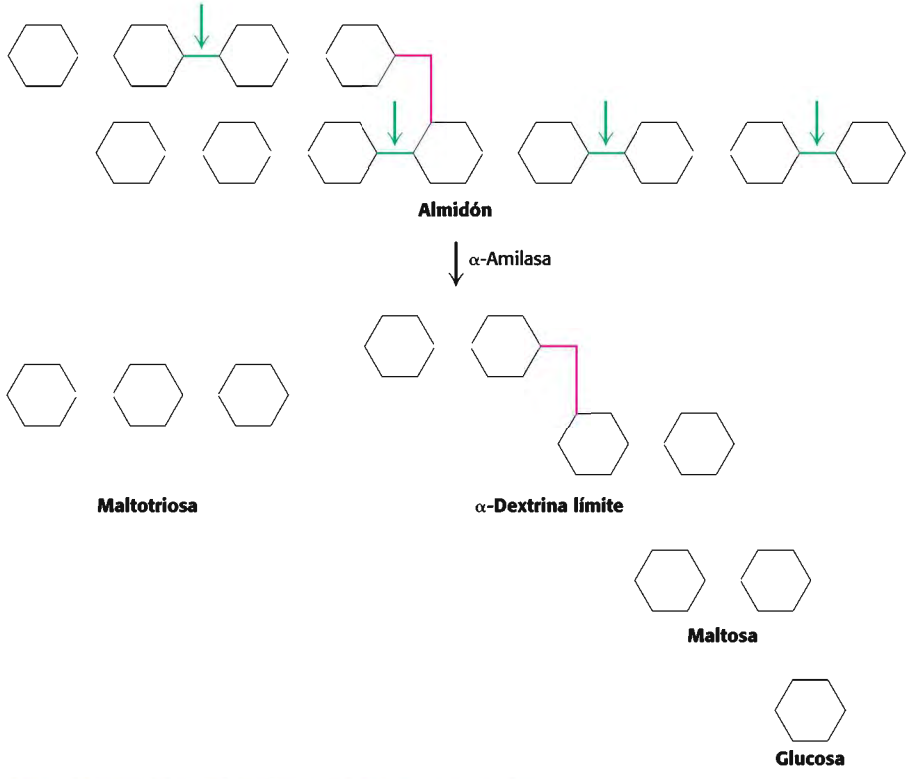


Figura 14.6 Digestión del almidón por la α-amilasa. La amilasa hidroliza el almidón hasta azúcares sencillos. Los enlaces α-1,4 se muestran de color verde. Los enlaces α-1,6 en rojo. Los lugares por donde digiere la α-amilasa se indican mediante pequeñas flechas de color verde.

por la α-amilasa debido a la presencia de enlaces α-1,6. La *maltasa* convierte la maltosa en glucosa y la α-*glucosidasa* digiere la maltotriosa y cualquier otro oligosacárido que se pueda haber librado de la digestión por parte de la amilasa. La α-dextrinasa digiere aún más la dextrina límite para producir azúcares sencillos. La maltasa y la α-glucosidasa se encuentran sobre la superficie de las células intestinales.

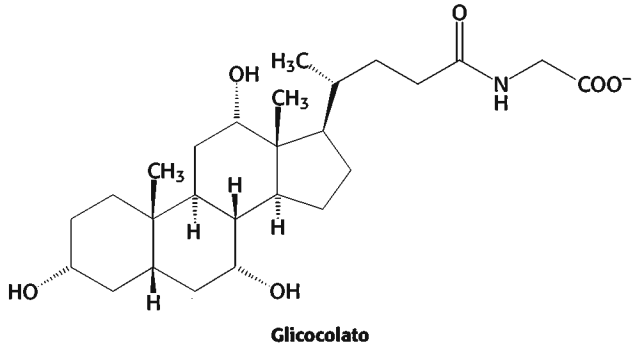
La digestión de los disacáridos es más sencilla que la digestión de los carbohidratos complejos. La sacarosa, un disacárido formado por glucosa y fructosa que está presente en las plantas, se digiere por la sacarasa. La lactasa degrada la lactosa de la leche en glucosa y galactosa. La sacarasa y la lactasa también se encuentran sobre la superficie de las células intestinales. A continuación, los monosacáridos son transportados al interior de la célula y, posteriormente, al torrente sanguíneo desde donde se pueden desplazar a otros tejidos para ser utilizados como combustible. Recordemos que el transporte de glucosa a través de las membranas de las células del epitelio intestinal es un proceso de transporte activo secundario que lleva a cabo el cotransportador de sodio-glucosa (p. 205).

Al hornear una pizza, la masa se convierte en corteza y, además, se resuelve un problema bioquímico: es difícil digerir el almidón sin que antes se haya hidratado y el calor permite que el almidón absorba agua.

14.4 La digestión de los lípidos se complica por su hidrofobicidad

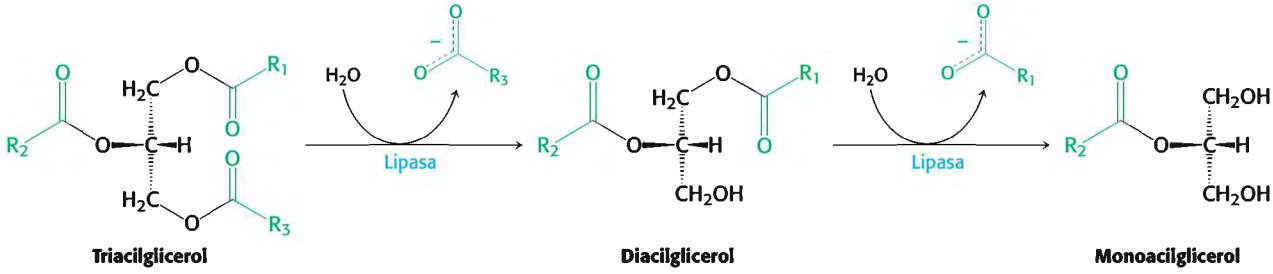
A medida que vamos consumiendo nuestra pizza, porción a porción, podremos notar que la caja presenta manchas grasientas. Estas manchas se deben a los lípidos de nuestra comida. En la pizza, las principales fuentes de lípidos son la carne y el queso que, como ya hemos comentado, también es una fuente de proteínas. La mayoría de los lípidos se ingieren en forma de triacilgliceroles y tienen que ser degradados a ácidos grasos para que sean absorbidos a través del epitelio intestinal. La digestión de los lípidos presenta un problema porque, a diferencia de carbohidratos y proteínas, no son solubles en agua. Recordemos que los lípidos son moléculas muy reducidas. Su elevado grado de reducción explica tanto su alto contenido energético como su poca solubilidad en agua (Capítulo 11). ¿Cómo se pueden degradar los lípidos a ácidos grasos si los lípidos no son solubles en el mismo medio en que se encuentran las enzimas que los degradan? Además, los productos de la digestión de lípidos —ácidos grasos— tampoco son solubles en agua; por tanto, cuando se ha producido la digestión, ¿cómo se lleva a cabo el transporte de los ácidos grasos?

Los lípidos se preparan para su digestión en el estómago. La trituración y mezcla que tiene lugar en el estómago los convierte en una *emulsión*, una mezcla de gotas de lípido y agua. Entre las emulsiones que nos resultan más familiares podemos citar la mayonesa y la mezcla que se obtiene al agitar aceite y vinagre para aliñar la ensalada. Cuando los lípidos salen del estómago, la emulsificación se intensifica con ayuda de las *sales biliares*, moléculas anfipáticas sintetizadas en el hígado a partir del colesterol y secretadas por la vesícula biliar (Figura 14.7). Estas moléculas se insertan en las gotas de lípido haciendo que la digestión de los triacilgliceroles resulte más fácil. Los triacilgliceroles se degradan a ácidos grasos libres y monoacilglicerol gracias a enzimas secretadas por el páncreas que se denominan *lipasas* (Figura 14.8) y que se unen a la superficie de la gota lipídica. Las lipasas pancreáticas también se liberan en



Glicocolato

Figura 14.7 Glicocolato. Las sales biliares, como el glicocolato, facilitan la digestión de lípidos en el intestino.



Triacilglicerol **Diacilglicerol** **Monoacilglicerol**

Figura 14.8 Acción de las lipasas pancreáticas. Las lipasas secretadas por el páncreas convierten los triacilgliceroles en ácidos grasos y monoacilglicerol para que sean absorbidos por el intestino.

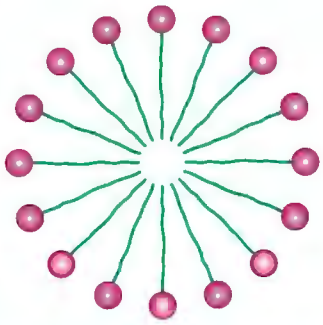


Figura 14.9 Diagrama de la sección transversal de una micela. Los ácidos grasos ionizados generados por la acción de las lipasas forman micelas con facilidad.

el intestino como proenzimas que, posteriormente, son activadas. Los productos finales de la digestión, ácidos grasos libres y monoacilglicerol son transportados en *micelas* hasta el epitelio intestinal donde son absorbidas a través de la membrana plasmática. Las micelas son estructuras globulares formadas por lípidos pequeños en disoluciones acuosas (**Figura 14.9**). En una micela, los grupos polares de la cabeza de los ácidos grasos y del monoacilglicerol se encuentran en contacto con la disolución acuosa, mientras que las cadenas hidrocarbonadas se encuentran recluidas en el interior de la micela. La formación de micelas también se ve favorecida por las sales biliares. Si, debido a una enfermedad hepática, la producción de sales biliares no es adecuada, se excreta gran cantidad de grasas (hasta 30 g diarios) por las heces. Esta enfermedad se denomina *esteatorrea*, palabra que deriva de esteárico, un ácido graso muy abundante.

En las células intestinales se vuelven a sintetizar los triacilgliceroles a partir de ácidos grasos y monoacilglicerol y, a continuación, pasan a formar parte de unas partículas de transporte de naturaleza lipoproteica denominadas *quilomicrones*, que son unas partículas estables que tienen un diámetro de aproximadamente 2.000 Å (200 nm). Estas partículas están formadas principalmente por triacilgliceroles, con algunas proteínas en la superficie. Los quilomicrones también intervienen en el trasporte de vitaminas liposolubles y del colesterol.

Los quilomicrones se liberan al sistema linfático y, posteriormente, a la sangre (**Figura 14.10**). Tras una comida rica en lípidos, la sangre tiene aspecto lechoso a causa de su alto contenido en quilomicrones. Estas partículas se unen a las lipoproteína lipasas unidas a la membrana, fundamentalmente en los tejidos adiposo y muscular, donde los triacilgliceroles se vuelven a degradar a ácidos grasos libres y monoacilglicerol para que sean transportados al tejido. Después, se vuelven a sintetizar los triacilgliceroles y se almacenan. En el músculo se pueden oxidar para suministrar energía, tal y como se comentará en el Capítulo 27.

? **PREGUNTA RÁPIDA** Explicar por qué una persona con insuficiencia de tripsinógeno padecerá más trastornos digestivos que una persona que carezca de casi todos los otros zimógenos.

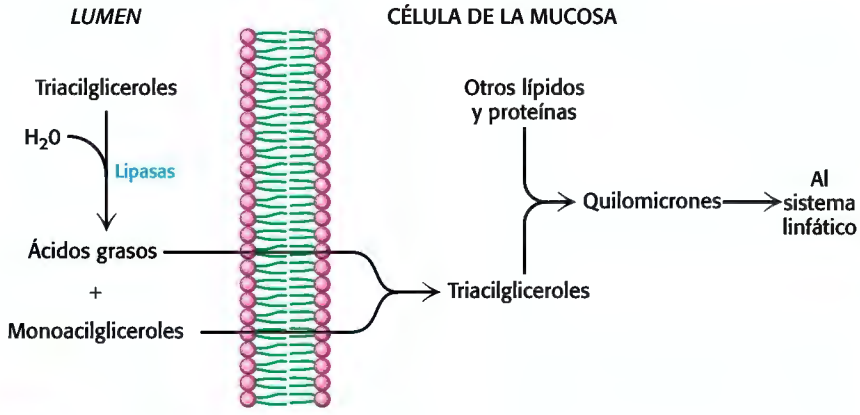


Figura 14.10 Formación de quilomicrones. Los ácidos grasos libres y los monoacilgliceroles son absorbidos por las células del epitelio intestinal. Los triacilgliceroles se vuelven a sintetizar y se agrupan con otros lípidos y proteínas para formar quilomicrones que, a continuación, son liberados al sistema linfático.



Figura 14.11 Una serpiente de cascabel preparada para atacar. Las serpientes de cascabel inyectan enzimas digestivas en su futura comida. [Steve Hamblin/Alamy.]

Aspecto biológico

Los venenos de serpiente digieren desde fuera hacia dentro

La mayoría de los animales ingiere alimentos y, en respuesta a esta ingesta, producen enzimas que digieren la comida. Por otra parte, muchas serpientes venenosas hacen lo contrario. Inyectan enzimas digestivas en su futura comida para comenzar el proceso de digestión desde fuera, antes incluso de ingerir la comida.

El veneno de la serpiente contiene entre 50 y 60 componentes proteicos o peptídicos distintos que difieren entre las especies de serpiente y, posiblemente, incluso entre serpientes individuales de la misma especie. Consideremos las serpientes de cascabel (**Figura 14.11**). El veneno de las serpientes de cascabel contiene un gran número de enzimas que digieren los tejidos de la víctima. Las fosfolipasas digieren las membranas celulares en el lugar donde ha mordido, provocando la pérdida de componentes celulares. Las fosfolipasas también desbaratan las membranas de los glóbulos rojos, destruyéndolos (un proceso denominado hemolisis). La colagenasa digiere la proteína colágeno, un componente mayoritario del tejido conectivo, mientras que la hialuronidasa digiere el hialurodinato, un glicosaminoglicano (p. 167) que forma

parte del tejido conectivo. La acción combinada de la colagenasa y la hialuronidasa destruye el tejido en el lugar del mordisco, permitiendo al veneno propagarse más fácilmente por el interior de la víctima.

Varias enzimas proteolíticas del veneno degradan las membranas basales (una fina lámina de proteínas fibrosas, entre las que se incluye el colágeno, que subyace a las células epiteliales) y los componentes de la matriz extracelular, lo que ocasiona graves daños en el tejido. Algunos venenos contienen enzimas proteolíticas que estimulan la formación de coágulos sanguíneos, así como enzimas que digieren los coágulos. El efecto neto de la acción conjunta de estas enzimas puede ser el de agotar los factores de coagulación de la sangre de manera que no se coagule.

Los venenos también contienen varios péptidos con actividad neurotóxica. Las neurotoxinas inmovilizan la presa, mientras que las enzimas digestivas reducen el tamaño de la presa para que sea más fácil tragarla. ■

14.5 El metabolismo en su contexto: la señalización celular facilita la homeostasis calórica

Habiendo examinado cómo digerimos una comida, consideremos ahora un asunto relacionado que resulta decisivo: ¿Cómo sabemos, a nivel bioquímico, cuándo hay que dejar de comer tras haber satisfecho nuestras necesidades calóricas y de materiales de construcción? La capacidad para mantener unas reservas energéticas adecuadas, pero no excesivas, se denomina *homeostasis calórica* o, también, *homeostasis energética*. Todos somos conscientes de que muchos de nosotros, especialmente en el mundo desarrollado, nos estamos volviendo obesos o ya hemos alcanzado ese estado. En los Estados Unidos, la obesidad se ha convertido en una epidemia, con casi un 30% de adultos diagnosticados como tal. La obesidad se considera un factor de riesgo en numerosos estados patológicos entre los que se incluyen la diabetes mellitus, la hipertensión y las enfermedades cardiovasculares (**Tabla 14.2**).

Tabla 14.2 Consecuencias para la salud de la obesidad o de tener sobrepeso

Cardiopatía coronaria
Diabetes de tipo 2
Cáncer (del endometrio, de mama, de colon)
Hipertensión (presión arterial elevada)
Dislipidemia (interrupción del metabolismo de lípidos, es decir, niveles elevados de colesterol y de triacilgliceroles)
Apoplejía
Enfermedades del hígado y de la vesícula biliar
Apnea del sueño y dificultades respiratorias
Osteoartritis (degeneración del cartílago y del hueso subyacente en las articulaciones)
Trastornos ginecológicos (menstruaciones anormales, esterilidad)

Tomada del sitio web del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de EE.UU. (www.cdc.gov).

En la mayoría de los casos, la causa de la obesidad es bastante sencilla: se consume más comida de la que se necesita y el exceso de calorías se almacena en forma de grasa. La epidemia de obesidad es inquietante, pero una observación igual de intrigante, casi increíble, es que muchas personas son capaces de mantener un peso prácticamente constante durante toda su vida adulta (ver los problemas 16 y 17).

El cerebro juega un papel fundamental en la homeostasis calórica

¿Qué hace posible este extraordinario equilibrio entre el aporte y el gasto de energía? Como se podrá imaginar, la respuesta es complicada, e implica multitud de señales bioquímicas, así como un gran número de factores relacionados con el comportamiento. Nos centraremos en unas pocas señales bioquímicas clave y dividiremos su estudio en dos partes: (1) señales a corto plazo que son activas durante una comida y (2) señales a largo plazo que informan sobre el estatus energético global del organismo.

Estas señales se originan en el tracto gastrointestinal, en las células β del páncreas y en las células adiposas. La principal diana de estas señales es el cerebro —concretamente, un grupo de neuronas de una región del hipotálamo denominada el núcleo arqueado.

Las señales del tracto gastrointestinal inducen la sensación de saciedad y facilitan la digestión

Las señales a corto plazo transmiten la sensación de saciedad desde el intestino a diversas regiones del cerebro y así reducen las ganas de comer (Figura 14.12). La señal a corto plazo mejor estudiada es la de la colecistoquinina (CKK). Ya hemos comentado el papel que desempeña la CCK a la hora de facilitar la digestión (p. 238). La CCK se une al receptor de CCK, un receptor acoplado a proteínas G (p. 217) situado en varias neuronas periféricas que transmiten señales al cerebro. Esta unión inicia una ruta de transducción de señales en el cerebro que genera una sensación de saciedad.

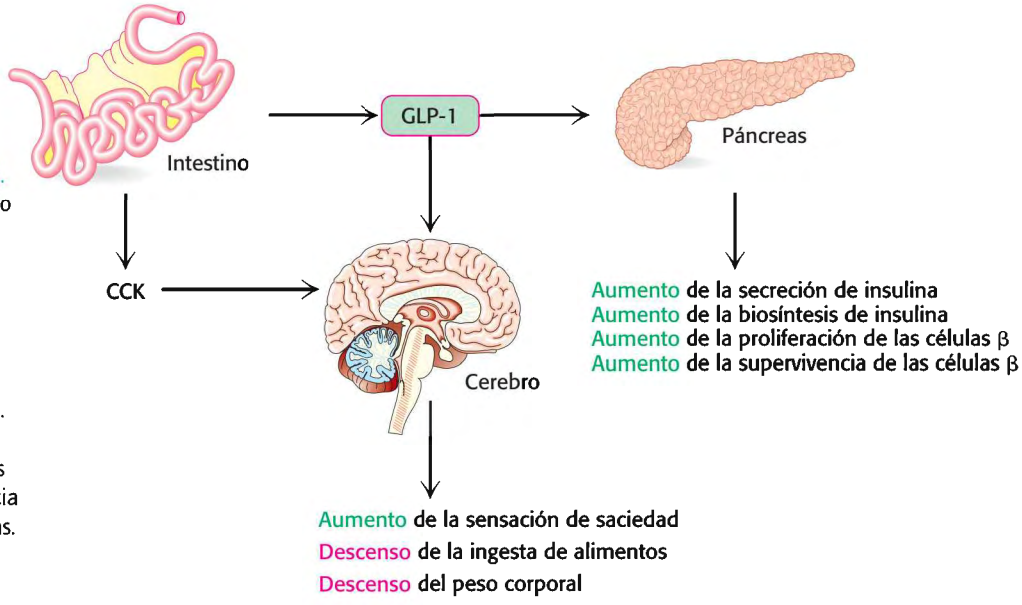


Figura 14.12 Señales de saciedad. La colecistoquinina (CCK) y el péptido 1 parecido al glucagón (GLP-1) son moléculas señal que inducen la sensación de saciedad en el cerebro. La CCK es secretada por células especializadas del intestino delgado en respuesta a una comida y activa las rutas de la saciedad en el cerebro. El GLP-1, secretado por las células L del intestino, también activa las rutas de la saciedad en el cerebro y potencia la acción de la insulina en el páncreas. [Tomado de S. C. Wood, *Cell Metab.* 9: 489–498, 2009, Fig. 1.]

Otra importante señal del intestino es el *péptido-1 parecido al glucagón* (GLP-1), una hormona con una longitud de aproximadamente 30 residuos de aminoácido. El GLP-1 es secretado por las células intestinales y tiene varios efectos, todos mediados, aparentemente, por la unión a un receptor de GLP-1, otro receptor acoplado a una proteína G. Al igual que CCK, GLP-1 induce la sensación de saciedad que inhibe las ganas de seguir comiendo. El GLP-1 también potencia la secreción de insulina inducida por la glucosa en las células β del páncreas (Capítulo 16). Aunque solo hemos citado dos señales a corto plazo, se cree que existen muchas más.

La leptina y la insulina regulan el control a largo plazo de la homeostasis calórica

Dos moléculas señal cruciales regulan la homeostasis energética durante horas o días: la *leptina*, que es secretada por los adipocitos (células adiposas) y la *insulina*, que es secretada por las células β del páncreas. La leptina informa sobre el estatus del triacilglicerol o reservas de grasa, mientras que la insulina informa sobre el estatus de la glucosa en la sangre —en otras palabras, de la disponibilidad de carbohidratos. Ya hemos abordado la acción de la insulina (p. 226) y lo haremos en varias ocasiones más.

Resumen

14.1 La digestión prepara las biomoléculas grandes para ser utilizadas por el metabolismo

La digestión comienza en la boca, donde la comida se homogeneiza en un espeso puré acuoso que puede ser sometido a digestión enzimática. A continuación, la comida homogeneizada pasa al estómago, un ambiente ácido. El bajo pH del estómago desnaturaliza las proteínas, preparándolas así para su degradación.

14.2 Las proteasas digieren las proteínas a aminoácidos y péptidos

La digestión de las proteínas comienza en el estómago, con la acción de la pepsina, una enzima proteolítica. Los productos de la digestión de la pepsina estimulan la liberación de la hormona colecistoquinina por parte de unas células especializadas del duodeno. La colecistoquinina estimula la liberación de sales biliares por parte de la vesícula biliar y de enzimas digestivas en forma de zimógenos o proenzimas por parte del páncreas. La enteropeptidasa convierte el tripsinógeno en tripsina que, a su vez, activa otros zimógenos.

14.3 Los carbohidratos de la dieta se digieren por la alfa-amilasa

Los carbohidratos complejos, como el almidón y el glucógeno, se degradan por medio de la α-amilasa, que rompe enlaces α-1,4 del almidón y del glucógeno. Los productos de la digestión por parte de la α-amilasa son el disacárido maltosa y la dextrina límite, un carbohidrato rico en enlaces α-1,6. La dextrina límite se digiere por medio de la α-dextrinasa. La sacarasa y la lactasa digieren los disacáridos sacarosa y lactosa, respectivamente.

14.4 La digestión de los lípidos se complica por su hidrofobicidad

Como los lípidos de la dieta, triacilgliceroles en su mayor parte, no son solubles en agua, tienen que ser convertidos en una emulsión, una mezcla de gotas de lípido y agua, para ser digeridos por las lipasas secretadas por el páncreas. Las sales biliares, secretadas por la vesícula biliar, facilitan la formación de la emulsión. Los productos de la digestión de la lipasa —ácidos grasos libres y monoacilglicerol— forman micelas para poder ser absorbidos por las células intestinales. En las células del intestino, se vuelven a formar los triacilgliceroles y se incorporan en unas partículas lipoproteicas denominadas quilomicrones para ser transportadas primero al sistema linfático y después a la sangre.

14.5 El metabolismo en su contexto: la señalización celular facilita la homeostasis calórica

Varias moléculas señal actúan sobre el cerebro para controlar el apetito. Las señales a corto plazo como la colecistoquinina y el péptido-1 parecido al glucagón transmiten señales de saciedad al cerebro mientras se está comiendo. Las señales a largo plazo incluyen la leptina y la insulina.

Términos clave

digestión (p. 237)
pepsina (p. 238)
enzimas proteolíticas (proteasas) (p. 238)
secretina (p. 238)
colecistoquinina (CCK) (p. 238)
zimógenos (proenzimas) (p. 238)
enteropeptidasa (p. 239)
tripsinógeno (p. 239)
tripsina (p. 239)
α-amilasa (p. 240)
emulsión (p. 241)
sal biliar (p.241)
lipasa (p. 241)
micela (p. 242)
quilomicrón (p. 242)
péptido-1 parecido al glucagón (GLP-1) (p. 244)
leptina (p. 244)

? Respuesta a la PREGUNTA RÁPIDA

Varias moléculas señal actúan sobre el cerebro para controlar el apetito. Las señales a corto plazo, como la colecistoquinina y el péptido-1 parecido al glucagón, transmiten señales de saciedad al cerebro mientras se está comiendo. Las señales a largo plazo incluyen la leptina y la insulina.

Problemas

1. *Rápido y furioso.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 1

(a) Digestión _____
(b) Colecistoquinina _____
(c) Zimógenos _____
(d) Enteropeptidasa _____
(e) α-Amilasa _____
(f) Emulsión _____
(g) Sales biliares _____
(h) Quilomicrón _____
(i) Homeostasis calórica _____
(j) GLP-1 _____
(k) Insulina _____
(l) Lipasa _____

1. Proenzimas
2. Digiere carbohidratos
3. Transporta los lípidos de la dieta desde las células intestinales a otros lugares del organismo
4. Provoca la secreción de enzimas digestivas y la sensación de saciedad
5. Se inserta en las emulsiones para facilitar la acción de la lipasa
6. La conversión del alimento en compuestos bioquímicos simples
7. Indica la presencia de carbohidratos en la sangre
8. Hidroliza lípidos
9. Activa la tripsina
10. Mezcla de agua y gotas de lípido
11. Induce la sensación de saciedad y facilita la secreción de insulina
12. Capacidad para mantener reservas energéticas adecuadas pero no excesivas

2. *Paso a paso.* ¿Cuáles son las tres etapas de la oxidación de los alimentos?

3. *Necesario pero no suficiente.* ¿Por qué es necesaria la digestión para el metabolismo de las moléculas combustible a pesar de que no se obtiene energía útil durante el proceso?

4. *Las madres sí que saben.* Cuando una madre le dice a su hijo que hay que masticar bien la comida, lo hace porque en el fondo sabe que es lo que más le conviene desde el punto de vista bioquímico. Explique por qué. ✓ 1

5. *La accesibilidad importa 1.* Las proteínas de la dieta se tienen que desnaturalizar para que se digieran de forma eficaz. ¿Por qué? ✓ 1

6. *Deconstrucción.* Explique brevemente cómo se digieren el almidón y el glucógeno. ✓ 1

7. *Garantías.* El inhibidor de la tripsina es una polipéptido pancreático que se une a la tripsina con gran afinidad, evitando que digiera proteínas. ¿Por qué la falta del inhibidor de la tripsina podría provocar pancreatitis (inflamación del páncreas)? ✓ 2

8. *No demasiado al dente.* La digestión de los macarrones es más eficaz tras haber calentado la pasta en agua. ¿Por qué? ✓ 1

9. *Problemas de fase.* ¿Qué propiedades de los lípidos hacen que su digestión sea más complicada que la de carbohidratos y proteínas? ¿Cómo se consigue que los lípidos estén accesibles para su digestión? ✓ 1

10. *La accesibilidad importa 2.* ¿Por qué se necesita la emulsificación para una eficaz digestión de los lípidos? ✓ 1

11. *Humores necesarios.* ¿Cómo afectaría la falta de sales biliares a la digestión?

12. *Precauciones.* ¿Por qué la mayoría de las enzimas digestivas se sintetizan en forma de zimógenos? ✓ 2

13. *Haciendo balance.* ¿Qué es la homeostasis calórica?

14. *Doble papel.* ¿Qué dos funciones bioquímicas desempeña la CCK? ¿Y el GLP-1? ✓ 2

Problemas para atrevidos

15. *Activación de zimógenos.* Cuando se añaden concentraciones muy bajas de pepsinógeno a un medio ácido, ¿cómo varía la vida media de la activación en función de la concentración de zimógeno? ✓ 2

16. *Bien, vale.* Mucha gente es capaz de mantener un peso prácticamente constante durante toda su vida adulta (vale, son solo unos pocos). Consideremos una mujer de 55 kg cuyo peso no ha cambiado de forma significativa entre los 25 y los 65 años. Supongamos que la mujer necesita 2.000 kcal día^{-1}.

(a) ¿Cuántas calorías habrá consumido durante esos 40 años?
(b) Para simplificar, supongamos que la dieta de la mujer se basa, mayoritariamente, en ácidos grasos procedentes de lípidos. La densidad energética de los ácidos grasos es de 9 kcal g^{-1}. ¿Cuánta comida ha consumido la mujer durante esos 40 años?

17. *Me conformaría con el 10%.* Seamos crueles, aunque no demasiado, con la hipotética mujer del problema 16 y digamos que durante esos 40 años su peso ha aumentado un 10%, un aumento que la mayoría de las personas de 65 años aceptaría con gusto. Por tanto, a los 65 años, la mujer pesa 60,5 kg.

(a) ¿Cuál tendría que ser el incremento en la ingesta diaria de alimento para que en 40 años su peso aumente 5,5 kg? De nuevo, solo tenga en cuenta las grasas.
(b) Cite algunos ejemplos de raciones de comida que, consumidas diariamente durante un periodo de tiempo de 40 años, den lugar a un aumento de peso de 5,5 kg.

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 15

Metabolismo: conceptos básicos y diseño

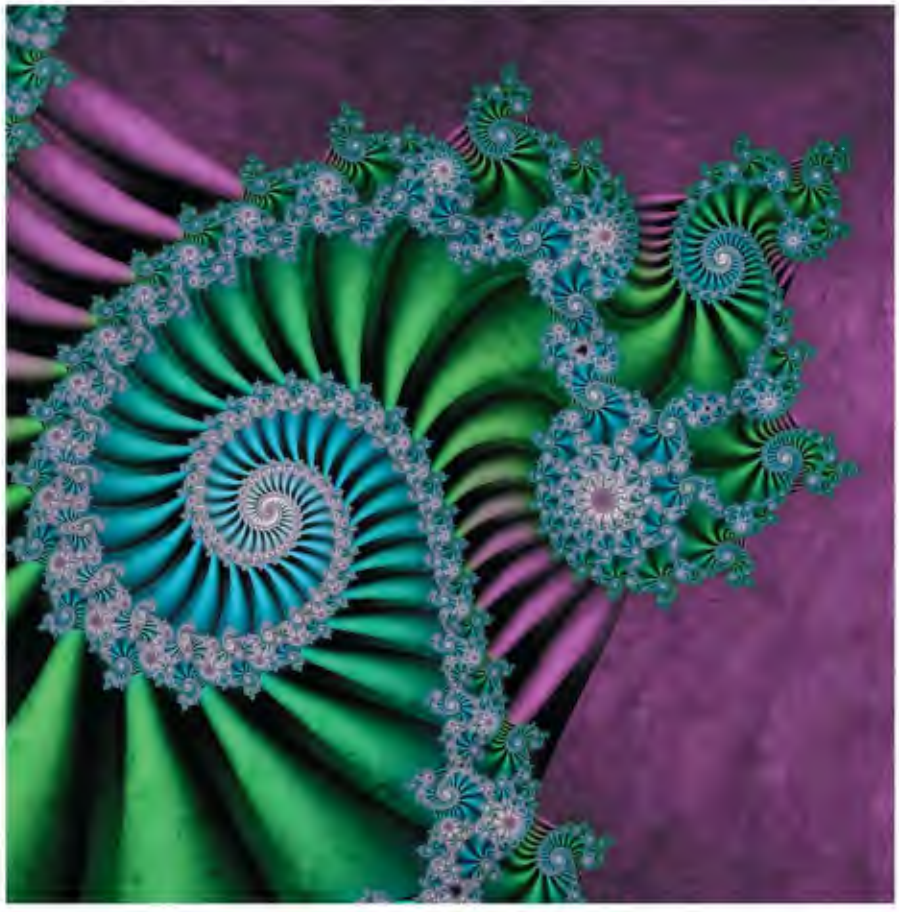
15.1 El metabolismo se compone de multitud de reacciones interconectadas

15.2 El ATP es la moneda universal de la energía libre

15.3 La oxidación de combustibles carbonados es una importante fuente de energía celular

15.4 Las rutas metabólicas presentan multitud de aspectos recurrentes

15.5 Los procesos metabólicos se regulan, principalmente, de tres maneras



Se pueden construir patrones complejos a partir de formas geométricas sencillas que se repiten a distintas escalas, como en los fractales. Análogamente, la compleja bioquímica de una célula —el metabolismo intermediario— se construye a partir de un reducido número de motivos, reacciones y moléculas recurrentes. [© Joan Kerrigan/Dreamstime.com.]

Los seres vivos necesitan un aporte continuo de energía libre con tres fines principales: (1) la realización de trabajo mecánico durante la contracción muscular y los movimientos celulares, (2) el transporte activo de iones y moléculas y (3) la síntesis de macromoléculas y otras biomoléculas a partir de precursores sencillos. La energía libre utilizada en estos procesos proviene del entorno. Los organismos fotosintéticos, o *fotótrofos*, obtienen esta energía captando la luz solar en forma química, mientras que los *quimiótrofos*, entre los que se incluyen los animales, obtienen energía mediante la oxidación de combustibles carbonados. Recordemos que estos combustibles carbonados se ingieren en forma de comida y que durante el proceso de digestión se preparan para ser utilizados por las células. En este capítulo estudiaremos algunos de

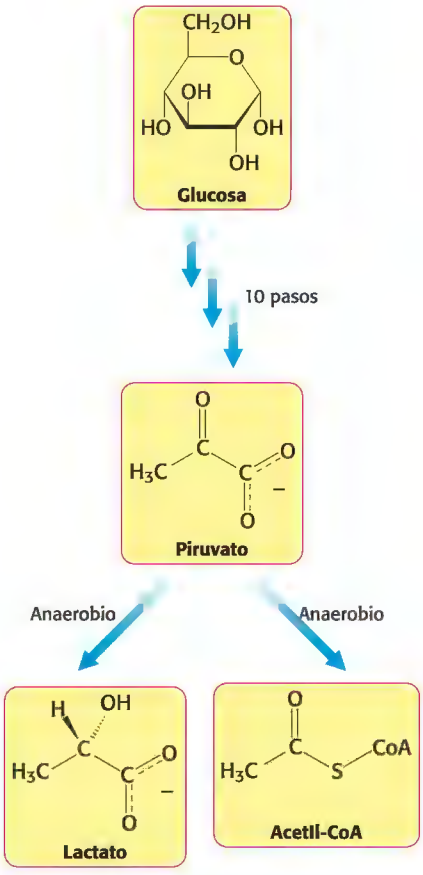


Figura 15.1 Metabolismo de la glucosa. La glucosa se metaboliza a piruvato mediante 10 reacciones encadenadas. En condiciones anaerobias, el piruvato se metaboliza a lactato y, en condiciones aeróbicas, a acetil-CoA. Posteriormente, los átomos de carbono del acetil-CoA que proceden de la glucosa se oxidan a CO_2.

los principios básicos que subyacen al flujo de energía en todos los sistemas vivos. Estos principios son los siguientes:

1. La degradación de los combustibles y la síntesis de moléculas grandes se llevan a cabo paso a paso mediante una serie de reacciones conectadas denominadas *rutas metabólicas*.
2. La adenosina trifosfato (ATP) es la moneda energética común a todas las formas de vida que conecta las rutas que liberan energía con las rutas que requieren energía.
3. La oxidación de combustibles carbonados impulsa la formación de ATP.
4. Aunque hay muchas rutas metabólicas, un reducido número de tipos de reacciones y de intermediarios concretos son comunes a muchas de ellas.
5. Las rutas metabólicas están muy reguladas para permitir el uso eficaz de los combustibles y para coordinar los procesos biosintéticos.

15.1 El metabolismo se compone de multitud de reacciones interconectadas

Básicamente, el *metabolismo* es una serie de reacciones químicas conectadas entre sí que comienza con una biomolécula concreta y, de forma cuidadosamente definida, la convierte en alguna otra biomolécula necesaria (**Figura 15.1**). Estas rutas metabólicas procesan una biomolécula desde un punto de partida (p. ej., la glucosa) hasta un punto final (en el caso de la glucosa hasta dióxido de carbono, agua y energía bioquímicamente útil) sin generar productos secundarios que no se puedan aprovechar o que resulten dañinos. En la célula hay muchas rutas que se ajustan a esta definición (**Figura 15.2**) que, en conjunto, constituyen el *metabolismo intermediario*; más adelante estudiaremos muchas de ellas con cierto detalle. Estas rutas son interdependientes —un ecosistema

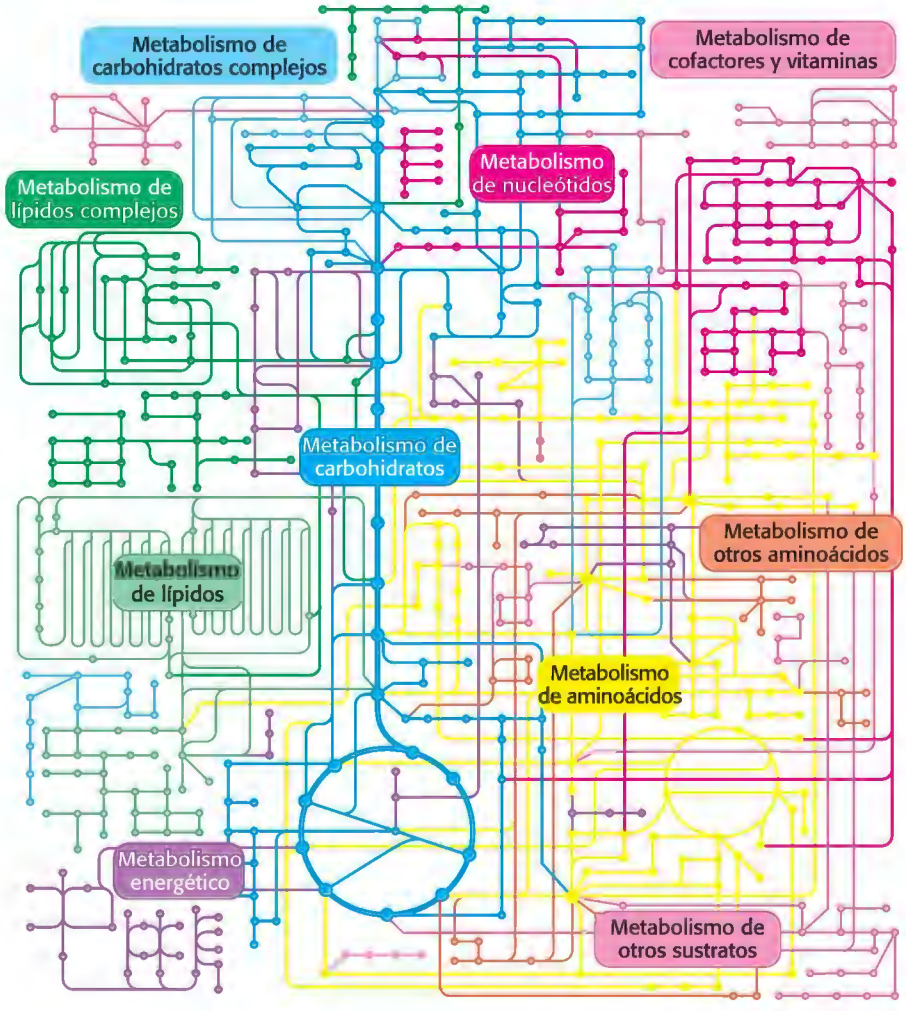


Figura 15.2 Rutas metabólicas. [Tomada de la Enciclopedia de Genes y Genomas de Kyoto (www.genome.ad.jp/kegg).]

bioquímico— y sus actividades están coordinadas mediante sistemas de comunicación sumamente sensibles en los que predominan las enzimas alostéricas. En el Capítulo 13 se estudiaron los principios de esta comunicación.

El metabolismo consta de reacciones que producen energía y de reacciones que requieren energía

Podemos dividir las rutas metabólicas en dos grandes clases: (1) las que convierten la energía obtenida a partir de los combustibles en formas biológicamente útiles, como el ATP o los gradientes de iones, y (2) las que requieren un aporte de energía para llevarse a cabo. Aunque en muchos casos esta división es imprecisa, no deja de ser una distinción útil a la hora de estudiar el metabolismo. Aquellas reacciones que transforman los combustibles en energía celular se denominan *reacciones catabólicas* o, de forma más general, *catabolismo*.

$$\text{Combustible (carbohidratos, grasas)} \xrightarrow{\text{Catabolismo}} CO_2 + H_2O + \text{energía útil}$$

Aquellas reacciones que necesitan energía —como la síntesis de glucosa, grasas o DNA— se denominan *reacciones anabólicas* o *anabolismo*. Las formas útiles de energía que se producen en el catabolismo se utilizan en el anabolismo para generar estructuras complejas a partir de otras más sencillas, o estados ricos en energía a partir de estados con poca energía.

$$\text{Energía útil} + \text{precursores sencillos} \xrightarrow{\text{Anabolismo}} \text{moléculas complejas}$$

Algunas rutas pueden ser anabólicas o catabólicas, en función de las condiciones energéticas de la célula. Son las denominadas *rutas anfibólicas*.

Un principio general importante del metabolismo es que *aunque, con frecuencia, las rutas biosintéticas y degradativas comparten algunas reacciones, las reacciones reguladas, no reversibles, de cada ruta son casi siempre distintas en un caso y en otro*. Esta separación es necesaria por razones de tipo energético, como se verá en los capítulos siguientes. También facilita el control del metabolismo.

Una reacción favorable desde el punto de vista termodinámico puede impulsar una reacción desfavorable

¿Cómo se construyen rutas específicas a partir de reacciones individuales? Una ruta debe satisfacer, por lo menos, dos criterios: (1) las reacciones individuales tienen que ser *específicas* y (2) el conjunto completo de reacciones que forman parte de la ruta tienen que ser *favorables desde el punto de vista termodinámico*. Una reacción que sea específica producirá únicamente un producto o conjunto de productos concreto a partir de sus reactantes. Por ejemplo, la glucosa puede experimentar una conversión paso a paso para producir dióxido de carbono y agua, así como energía útil. Esta conversión es extremadamente eficaz desde el punto de vista energético porque cada paso está facilitado por enzimas —catalizadores altamente específicos. La forma más sencilla de abordar la termodinámica del metabolismo es mediante la energía libre, tal y como se comentó en el Capítulo 6. Una reacción puede tener lugar de forma espontánea si ΔG, el incremento de energía libre, es negativo. Recordemos que el ΔG para la formación de los productos C y D a partir de los sustratos A y B viene dado por la expresión

$$\Delta G = \Delta G^{\circ\prime} + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

Por tanto, el ΔG de una reacción depende de la *naturaleza* de los reactantes y de los productos (expresada mediante el término $\Delta G^{\circ\prime}$, el incremento de la energía libre estándar) y de sus *concentraciones* (expresadas mediante el segundo término).

Un hecho importante desde el punto de vista termodinámico es que el incremento global de la energía libre para una serie de reacciones acopladas químicamente es igual a la suma de los cambios de energía libre que se producen en cada paso individual. Consideremos las siguientes reacciones:

$$\begin{array}{ll} A \rightleftharpoons B + C & \Delta G^{\circ\prime} = +21 \text{ kJ mol}^{-1} (+5 \text{ kcal mol}^{-1}) \\ B \rightleftharpoons D & \Delta G^{\circ\prime} = -34 \text{ kJ mol}^{-1} (-8 \text{ kcal mol}^{-1}) \\ \hline A \rightleftharpoons C + D & \Delta G^{\circ\prime} = -13 \text{ kJ mol}^{-1} (-3 \text{ kcal mol}^{-1}) \end{array}$$

En condiciones estándar, A no se puede convertir espontáneamente en B y C porque el $\Delta G°'$ es positivo. Sin embargo, la conversión de B en D en condiciones estándar es termodinámicamente posible. Como los cambios en la energía libre son aditivos, la conversión de A en C y D tiene un $\Delta G°'$ de -13 kJ mol^{-1} (-3 kcal mol^{-1}), lo que significa que se puede producir de manera espontánea en condiciones estándar. Por tanto, *una reacción termodinámicamente desfavorable puede ser impulsada por una reacción termodinámicamente favorable con la que esté acoplada*. En este ejemplo, las reacciones están acopladas mediante el intermediario químico común B. Las rutas metabólicas se forman gracias al acoplamiento de reacciones catalizadas por enzimas de manera que la energía libre global de la ruta sea negativa.

✓ 3 Identificar los factores que hacen del ATP una molécula rica en energía.

✓ 4 Explicar cómo puede el ATP impulsar reacciones que, de otro modo, no se producirían.

15.2 El ATP es la moneda universal de la energía libre

Del mismo modo en que el comercio resulta más sencillo utilizando una moneda común, el comercio de la célula —el metabolismo— resulta más sencillo utilizando una moneda energética común, la *adenosina trifosfato* (ATP). Parte de la energía libre procedente de la oxidación de los combustibles carbonados y de la luz se transforma en esta molécula fácilmente accesible, que actúa como donador de energía libre en la mayoría de los procesos que requieren energía, como, por ejemplo, el movimiento, el transporte activo o la biosíntesis. De hecho, la mayor parte del catabolismo consta de reacciones que extraen energía a partir de combustibles como los carbohidratos y las grasas y la convierten en ATP. Curiosamente, los otros nucleósidos trifosfato son tan ricos en energía como el ATP y, de hecho, a veces se utilizan como donadores de energía libre. La razón por la que el ATP, y no otro nucleósido trifosfato, sea la moneda energética de la célula se encuentra perdida en la historia evolutiva.

La hidrólisis del ATP es exergónica

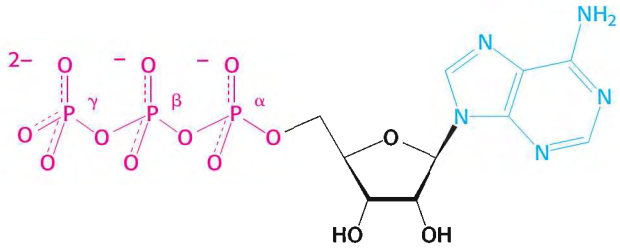
El ATP es un nucleótido formado por adenina, una ribosa y una unidad trifosfato (Figura 15.3). Al considerar el papel del ATP como portador de energía, podemos centrarnos en su unidad trifosfato. *El ATP es una molécula rica en energía porque su unidad trifosfato contiene dos enlaces fosfoanhídrido*. Los enlaces fosfoanhídrido se forman entre dos grupos fosforilo y van acompañados de la pérdida de una molécula de agua. Cuando el ATP se hidroliza a adenosina difosfato (ADP) y ortofosfato (P_i) o cuando el ATP se hidroliza a adenosina monofosfato (AMP) y pirofosfato (PP_i), se libera una gran cantidad de energía libre.

$$\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{ADP} + \text{P}_i \qquad \Delta G°' = -30{,}5 \text{ kJ mol}^{-1} (-7{,}3 \text{ kcal mol}^{-1})$$

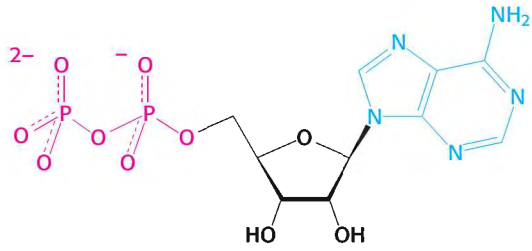
$$\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{AMP} + \text{PP}_i \qquad \Delta G°' = -45{,}6 \text{ kJ mol}^{-1} (-10{,}9 \text{ kcal mol}^{-1})$$

El $\Delta G°'$ exacto de estas reacciones depende de la fuerza iónica del medio y de las concentraciones de Mg^{2+} y otros iones metálicos en el medio. A las concentraciones celulares típicas, el $\Delta G°'$ real de estas hidrólisis es, aproximadamente, de -50 kJ mol^{-1} (-12 kcal mol^{-1}).

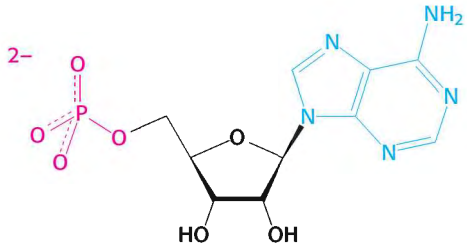
La energía libre liberada durante la hidrólisis del ATP se canaliza para impulsar reacciones que necesitan un aporte de energía libre, como, por ejemplo, la contracción muscular. A su vez, cuando los quimiótrofos oxidan moléculas combustible o cuando los fotótrofos captan la luz, se forma ATP a partir de ADP y P_i. *En los sistemas biológicos, este ciclo ATP-ADP es la manera fundamental de intercambiar energía*.



Adenosina trifosfato (ATP)



Adenosina monofosfato (AMP)



Adenosina difosfato (ADP)

Figura 15.3 Estructuras del ATP, ADP y AMP. Estos adenilatos están formados por adenina (en color azul), una ribosa (en color negro) y una unidad tri, di o monofosfato (en color rojo). El átomo de fósforo más interno del ATP se designa P_α, el del medio P_β, y el más externo P_γ.

La hidrólisis del ATP impulsa el metabolismo desplazando el equilibrio de las reacciones acopladas

Una reacción que en otras condiciones sería desfavorable puede hacerse posible acoplándola a la hidrólisis del ATP. Consideremos una reacción química que sea termodinámicamente desfavorable sin un aporte de energía libre, una situación común en muchas reacciones biosintéticas. Supongamos que la energía libre estándar de la conversión del compuesto A en el compuesto B sea de +16,7 kJ mol^{-1} (+4,0 kcal mol^{-1}):

$$A \rightleftharpoons B \quad \Delta G^{\circ\prime} = +16{,}7 \text{ kJ mol}^{-1} (+4{,}0 \text{ kcal mol}^{-1})$$

La constante de equilibrio K'_{eq} de esta reacción a 25 °C está relacionada con $\Delta G^{\circ\prime}$ (en unidades de kilojulios por mol) mediante la expresión

$$K'_{eq} = [B]_{eq}/[A]_{eq} = 10^{-\Delta G^{\circ\prime}/2{,}47} = 1{,}15 \times 10^{-3}$$

Así, la conversión neta de A en B no puede tener lugar cuando la relación molar B/A es igual o mayor que $1{,}15 \times 10^{-3}$. Sin embargo, A se puede convertir en B en estas condiciones si se acopla la reacción a la hidrólisis del ATP. En condiciones estándar, el $\Delta G^{\circ\prime}$ de la hidrólisis es de aproximadamente −30,5 kJ mol^{-1} (−7,3 kcal mol^{-1}). La nueva reacción global es

$$A + ATP + H_2O \rightleftharpoons B + ADP + P_i$$
$$\Delta G^{\circ\prime} = -13{,}8 \text{ kJ mol}^{-1} (-3{,}3 \text{ kcal mol}^{-1})$$

Su incremento de energía libre de −13,8 kJ mol^{-1} (−3,3 kcal mol^{-1}) es la suma del valor de $\Delta G^{\circ\prime}$ para la conversión de A en B [+16,7 kJ mol^{-1} (+4,0 kcal mol^{-1})] y del valor de $\Delta G^{\circ\prime}$ para la hidrólisis del ATP [−30,5 kJ mol^{-1} (−7,3 kcal mol^{-1})]. A pH 7, la constante de equilibrio de esta reacción acoplada es

$$K'_{eq} = \frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}} \times \frac{[ADP]_{eq}\,[P_i]_{eq}}{[ATP]_{eq}} = 10^{13{,}8/2{,}47} = 2{,}67 \times 10^2$$

En el equilibrio, el cociente entre [B] y [A] se expresa como

$$\frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}} = K'_{eq}\frac{[ATP]_{eq}}{[ADP]_{eq}[P_i]_{eq}}$$

lo que significa que la hidrólisis del ATP hace posible que el compuesto A se convierta en el compuesto B hasta que el conciente [B]/[A] alcance un valor de $2{,}67 \times 10^2$. Esta relación en el equilibrio es notablemente distinta del valor de $1{,}15 \times 10^{-3}$ correspondiente a la reacción A ⟶ B en ausencia de hidrólisis del ATP. En otras palabras, el acoplamiento de la hidrólisis del ATP a la conversión de A en B en condiciones estándar ha cambiado el cociente B/A en el equilibrio por un factor aproximado de 10^5. Si tuviésemos que utilizar en nuestros cálculos el ΔG de la hidrólisis del ATP en las condiciones celulares [$-50{,}2$ kJ mol^{-1} (-12 kcal mol^{-1})] en lugar del $\Delta G^{\circ\prime}$, el cambio en el cociente B/A en el equilibrio sería todavía más espectacular, del orden de 10^8.

Aquí se observa la esencia termodinámica de la acción del ATP como *agente acoplador de la energía*. En la célula, la hidrólisis de una molécula de ATP en una reacción acoplada cambia la proporción entre productos y reactantes en el equilibrio por un factor muy grande. Así, *una secuencia de reacciones desfavorable desde el punto de vista termodinámico se puede convertir en una secuencia de reacciones favorable acoplándola a la hidrólisis de moléculas de ATP en una nueva reacción.*

Hay que señalar que en la reacción acoplada considerada anteriormente, A y B se pueden interpretar de forma muy general, no solo como metabolitos distintos. Por ejemplo, A y B pueden representar conformaciones activadas y desactivadas de una proteína que se active mediante fosforilación mediada por ATP. Mediante este tipo de cambios en la conformación proteica, las proteínas del músculo convierten la energía química del ATP en la energía mecánica de la contracción muscular. Alternativamente, en el transporte activo de un nutriente, A y B pueden hacer referencia a las concentraciones de un ion o molécula en el exterior y en el interior de una célula.

El elevado potencial de transferencia de fosforilos del ATP da lugar a diferencias estructurales entre el ATP y los productos de su hidrólisis

¿Qué hace al ATP una moneda energética particularmente eficaz? Para contestar a esta cuestión necesitamos un método para comparar la tendencia de diversos compuestos orgánicos que contengan un grupo fosforilo a transferir el grupo fosforilo a una molécula aceptora. Un método habitual de comparación consiste en determinar la energía que se libera cuando el compuesto fosforilado transfiere el grupo fosforilo al agua en condiciones estándar. La energía liberada se denomina energía libre estándar de hidrólisis. Comparemos la energía libre estándar de la hidrólisis del ATP con la de un éster fosfato, como el glicerol 3-fosfato:

$$ATP + H_2O \rightleftharpoons ADP + P_i \qquad \Delta G^{\circ\prime} = -30{,}5 \text{ kJ mol}^{-1} (-7{,}3 \text{ kcal mol}^{-1})$$

$$\text{Glicerol 3-fosfato} + H_2O \rightleftharpoons \text{glicerol} + P_i \qquad \Delta G^{\circ\prime} = -9{,}2 \text{ kJ mol}^{-1} (-2{,}2 \text{ kcal mol}^{-1})$$

La magnitud del $\Delta G^{\circ\prime}$ para la hidrólisis del glicerol 3-fosfato es mucho menor que la del ATP, lo que significa que la tendencia del ATP a transferir su grupo fosforilo terminal al agua es más fuerte que la del glicerol 3-fosfato. En otras palabras, el ATP posee un mayor *potencial de transferencia de fosforilos* (potencial de transferencia de grupos fosforilo) que el glicerol 3-fosfato.

El elevado potencial de transferencia de fosforilos del ATP se puede explicar por las características de la estructura del ATP. Como el $\Delta G^{\circ\prime}$ depende de la *diferencia* entre la energía libre de los productos y de los reactantes, tenemos que estudiar las estructuras del ATP y de los productos de su hidrólisis, el ADP y el P_i, para comprender las bases de su elevado potencial de transferencia de fosforilos. Hay tres factores importantes: la *repulsión electrostática*, la *estabilización por resonancia* y la *estabilización debida a la hidratación*.

1. *Repulsión electrostática.* A pH 7, la unidad trifosfato del ATP es portadora de alrededor de cuatro cargas negativas (ver la **Figura 15.3**). Estas cargas se repelen

entre sí porque están muy cerca unas de otras. Cuando se hidroliza el ATP, la repulsión entre ellas se reduce.

2. *Estabilización por resonancia.* El ADP y, particularmente, el P_i poseen una mayor estabilización por resonancia que el ATP. El ortofosfato presenta varias formas resonantes de energía parecida (Figura 15.4), mientras que el grupo fosforilo γ del ATP presenta un número menor (Figura 15.5). Formas como las representadas a la derecha de la Figura 15.5 son desfavorables porque hay un átomo de oxígeno cargado positivamente adyacente a un átomo de fósforo cargado positivamente, una yuxtaposición desfavorable desde el punto de vista electrostático.
3. *Estabilización debida a la hidratación.* Se puede unir más agua y de forma más eficaz al ADP y al P_i que a la región de los fosfoanhídridos del ATP, lo que estabiliza el ADP y el P_i por hidratación.

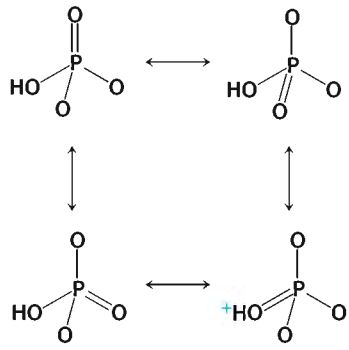


Figura 15.4 Estructuras resonantes del ortofosfato.

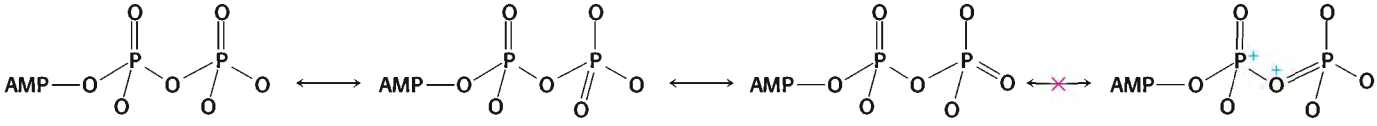


Figura 15.5 Estructuras resonantes poco probables. Hay menos estructuras resonantes disponibles para el γ-fosfato del ATP que para el ortofosfato libre.

El potencial de transferencia de fosforilos es una importante forma de transformación de energía celular

Las energías libres estándar de la hidrólisis nos proporcionan un método muy práctico para comparar el potencial de transferencia de fosforilos de compuestos fosforilados. Estas comparaciones ponen de manifiesto que el ATP no es el único compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos. De hecho, en los sistemas biológicos, algunos compuestos poseen un potencial de transferencia de fosforilos más elevado que el del ATP. Entre estos compuestos se incluyen el fosfoenolpiruvato (PEP), el 1,3-bisfosfoglicerato (1,3-BPG) y la creatina fosfato (Figura 15.6). Así, el PEP puede transferir su grupo fosforilo al ADP para formar ATP. De hecho, esta transferencia es una de las formas en que se genera ATP durante la descomposición de los azúcares (Capítulo 16). Es significativo el hecho de que, de entre las molécu-

? PREGUNTA RÁPIDA ¿Qué propiedades del ATP lo convierten en un compuesto con potencial de transferencia de fosforilos particularmente eficaz?

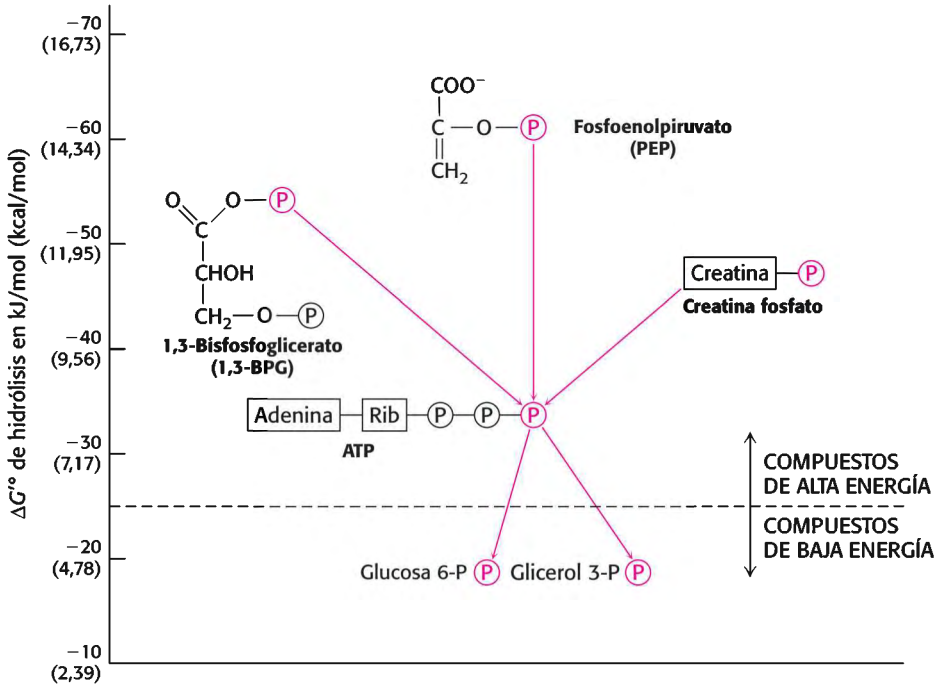


Figura 15.6 El ATP ocupa una posición central en las reacciones de transferencia de fosforilos. El papel del ATP como moneda energética celular se pone de manifiesto si se compara con el de otros compuestos fosforilados. Entre las moléculas biológicas fosforiladas importantes en biología, el ATP posee un potencial de transferencia de fosforilos intermedio. Los compuestos con un elevado potencial de transferencia de fosforilos generados a partir del metabolismo de moléculas combustible se utilizan para impulsar la síntesis de ATP. A su vez, el ATP dona un grupo fosforilo a otras biomoléculas para facilitar su metabolismo. [Tomado de D. L. Nelson y M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 5.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2009), Fig. 13-19.]

Tabla 15.1 Energía libre estándar de la hidrólisis de algunos compuestos fosforilados

Compuesto	kJ mol^{-1}	kcal mol^{-1}
Fosfoenolpiruvato (PEP)	− 61,9	− 14,8
1,3-Bisfosfoglicerato (1,3-BPG)	− 49,4	− 11,8
Creatina fosfato	− 43,1	− 10,3
ATP (a ADP)	− 30,5	− 7,3
Glucosa 1-fosfato	− 20,9	− 5,0
Pirofosfato (PP_i)	− 19,3	− 4,6
Glucosa 6-fosfato	− 13,8	− 3,3
Glicerol 3-fosfato	− 9,2	− 2,2

las fosforiladas importantes en biología, el potencial de transferencia de fosforilos del ATP presente un valor intermedio (**Tabla 15.1**). *Esta posición intermedia permite al ATP funcionar eficazmente como transportador de grupos fosforilo.*

Aspecto clínico

El ejercicio recurre a varios métodos para generar ATP

En reposo, el músculo solo tiene ATP suficiente para mantener la contracción durante menos de un segundo. La creatina fosfato, una molécula con un elevado potencial de transferencia de fosforilos presente en el músculo de los vertebrados, actúa como reservorio de grupos fosforilo con potencial elevado, capaces de transferirse fácilmente al ADP. Esta reacción está catalizada por la *cretina quinasa*.

$$\text{Creatina fosfato} + \text{ADP} \overset{\text{Creatina quinasa}}{\rightleftharpoons} \text{ATP} + \text{creatina}$$

En el músculo en reposo, las concentraciones típicas de estos metabolitos son [ATP] = 4 mM, [ADP] = 0,013 mM, [creatina fosfato] = 25 mM y [creatina] = 13 mM. Gracias a su abundancia y a su elevado potencial de transferencia de fosforilos en comparación con el ATP (ver la **Tabla 15.1**), la creatina fosfato es un amortiguador de grupos fosforilo muy eficaz. De hecho, la creatina fosfato es la principal fuente de grupos fosforilo para la regeneración del ATP en aquellas actividades que necesitan rápidos arranques de energía o *sprints* cortos e intensos (**Figura 15.7**). El hecho de



Figura 15.7 *Sprint* final. La creatina fosfato es una fuente de energía para *sprints* intensos. [AP Photo/Laurent Rebours.]

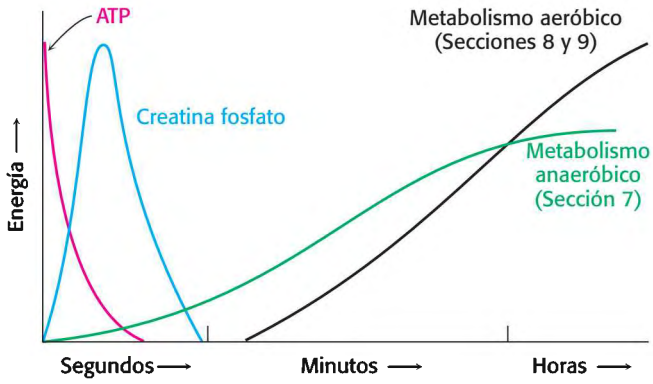


Figura 15.8 Fuentes de ATP durante el ejercicio. Al principio, el ejercicio utiliza la energía de compuestos con elevado potencial de transferencia de fosforilos ya existentes (el ATP y la creatina fosfato). Posteriormente, el ATP se tiene que regenerar por medio de las rutas metabólicas.

que la creatina fosfato pueda reponer los reservorios de ATP es la base del uso de la creatina como suplemento dietético por parte de los atletas en aquellos deportes que requieren de cortos pero intensos arranques de actividad. Una vez agotado el reservorio de creatina fosfato, el ATP se tiene que generar a partir del metabolismo (Figura 15.8). ■

15.3 La oxidación de combustibles carbonados es una importante fuente de energía celular

✓ 5 Describir la relación entre el estado de oxidación de una molécula carbonada y su utilidad como combustible.

En los sistemas biológicos, el ATP se utiliza como el principal *donador inmediato de energía libre*, no como una forma de almacenamiento de energía libre a largo plazo. En una célula típica, una molécula de ATP se consume en el primer minuto posterior a su formación. Aunque la cantidad total de ATP en el organismo está limitada a aproximadamente 100 g, *el recambio de esta pequeña cantidad de ATP es muy elevado*. Por ejemplo, un ser humano en reposo consume unos 40 kg de ATP en 24 horas. Durante un esfuerzo intenso, la velocidad de utilización del ATP puede llegar a ser de 0,5 kg por minuto. Durante una carrera de dos horas se utilizan 60 kg de ATP. Evidentemente, resulta esencial disponer de mecanismos para regenerar el ATP. El movimiento, el transporte activo, la amplificación de señales y la biosíntesis solo pueden realizarse si el ATP se regenera continuamente a partir del ADP (Figura 15.9). La generación de ATP es una de las funciones principales del catabolismo.

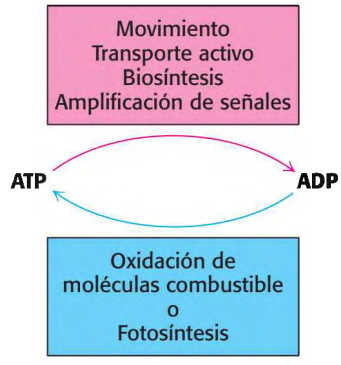
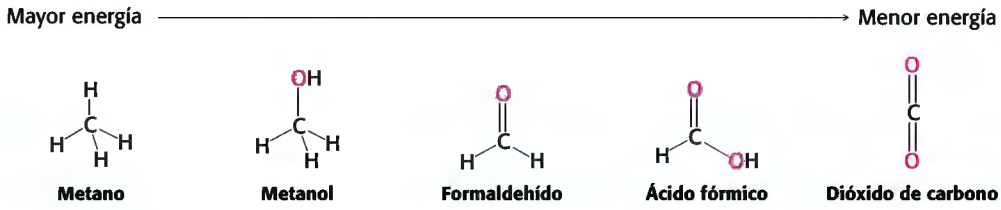


Figura 15.9 El ciclo ATP-ADP. En los sistemas biológicos, este ciclo es la principal forma de intercambio de energía.

La oxidación del carbono va acompañada de una reducción

En las moléculas combustible —como la glucosa y las grasas— el carbono se oxida a CO_2 y la energía liberada se utiliza para regenerar ATP a partir de ADP y P_i. Como ya se ha comentado anteriormente, el conjunto de reacciones que llevan a cabo esta transformación se denominan reacciones catabólicas o, sencillamente, catabolismo. Comprender la transición de la energía contenida en las moléculas orgánicas reducidas —combustibles biológicos— al ATP es un aspecto esencial del estudio de la bioquímica. Examinemos algunos de los principios básicos de la oxidación del carbono. Volveremos muchas veces sobre este asunto, especialmente en las secciones 8, 9 y 10.

Todas las reacciones de oxidación incluyen la pérdida de electrones por parte de la molécula que se está oxidando —en este caso, combustibles carbonados— y la adquisición de esos electrones por parte de otra molécula, un proceso denominado reducción. Este tipo de reacciones acopladas se denominan *reacciones de oxidación-reducción* o *reacciones redox*. En los organismos aerobios, el aceptor final de los electrones en la oxidación del carbono es el O_2 y el producto de la oxidación es el CO_2. En consecuencia, cuanto más reducido esté el carbono de partida, más energía libre se liberará durante su oxidación. La Figura 15.10 muestra el $\Delta G^{\circ\prime}$ de la oxidación de compuestos con un átomo de carbono.



	Metano	Metanol	Formaldehído	Ácido fórmico	Dióxido de carbono
$\Delta G^{\circ\prime}_{\text{oxidación}}$ (kJ mol^{-1})	−820	−703	−523	−285	0
$\Delta G^{\circ\prime}_{\text{oxidación}}$ (kcal mol^{-1})	−196	−168	−125	−68	0

Figura 15.10 Energía libre de la oxidación de compuestos con un único átomo de carbono.

Aunque las moléculas combustible son más complejas (**Figura 15.11**) que los compuestos con un solo átomo de carbono mostrados en la **Figura 15.10**, cuando se oxida un combustible, los átomos de carbono se oxidan de uno en uno. En algunos casos, la energía de la oxidación del carbono se utiliza para crear un compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos y, en otros casos, para crear un gradiente iónico (Sección 9). En cualquier caso, el punto final es la formación de ATP.

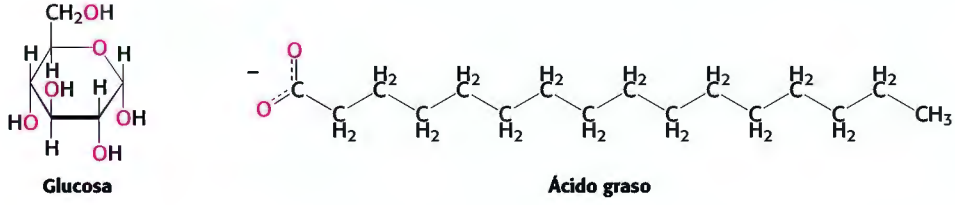
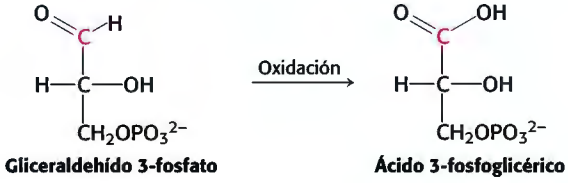


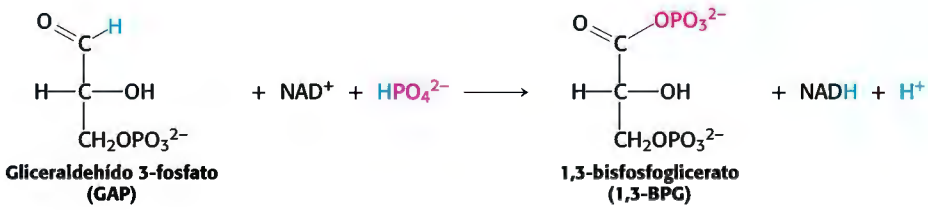
Figura 15.11 Combustibles relevantes. Las grasas son una fuente de combustible más eficaz que los carbohidratos, como la glucosa, ya que en las grasas el carbono está más reducido.

Los compuestos con un elevado potencial de transferencia de fosforilos pueden acoplar la oxidación del carbono a la síntesis de ATP

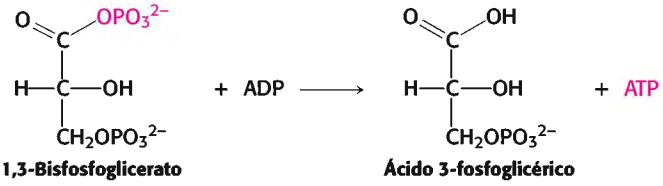
¿Cómo se convierte la energía liberada durante la oxidación de un compuesto carbonado en ATP? A modo de ejemplo, consideremos el gliceraldehído 3-fosfato, que es un metabolito de la glucosa que se forma durante la oxidación de ese azúcar. El átomo de carbono C-1 (mostrado en color rojo) se encuentra en el nivel de oxidación de los aldehídos y no en su estado más oxidado. La oxidación del aldehído a ácido liberará energía.



Sin embargo, la oxidación no se produce directamente. En vez de ello, la oxidación del carbono genera un acilfosfato, el 1,3-bisfosfoglicerato. Los electrones liberados son captados por el NAD^+, que se estudiará en breve.



Por razones similares a las comentadas en el caso del ATP, el 1,3-bisfosfoglicerato posee un elevado potencial de transferencia de fosforilos. Así, la escisión del 1,3-BPG se puede acoplar a la síntesis de ATP.



1,3-Bisfosfoglicerato **Ácido 3-fosfoglicérico**

Al principio, la energía de la oxidación queda atrapada en forma de un compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos y, posteriormente, se utiliza para formar ATP. La energía de oxidación de un átomo de carbono se transforma en potencial de transferencia de fosforilos —primero en forma de 1,3-bisfosfoglicerato y, en última instancia, en forma de ATP. En el Capítulo 16, estudiaremos detalladamente el mecanismo de estas reacciones.

15.4 Las rutas metabólicas presentan multitud de aspectos recurrentes

A primera vista, el metabolismo puede parecer enormemente complejo debido al gran número de reactantes y reacciones. No obstante, hay aspectos unificadores que facilitan su comprensión. Estos aspectos incluyen metabolitos y estrategias reguladoras comunes que proceden de una herencia evolutiva común.

Los transportadores activados son un ejemplo del diseño modular y de la economía del metabolismo

Hemos visto que la transferencia de fosforilos se puede utilizar para impulsar reacciones que, en caso contrario, resultarían desfavorables desde el punto de vista termodinámico, para alterar la energía o la conformación de una proteína o para actuar como señal que altere la actividad de una proteína. En todas estas reacciones, el donador de grupos fosforilo es el ATP. En otras palabras, *el ATP es un transportador activado de grupos fosforilo porque la transferencia de fosforilos a partir del ATP es un proceso energéticamente favorable o, lo que es lo mismo, exergónico.* El uso de *transportadores activados* es un aspecto recurrente en bioquímica y en este apartado vamos a considerar varios de ellos. Muchos de estos transportadores activados funcionan como coenzimas —pequeñas moléculas orgánicas que actúan como cofactores enzimáticos (p. 95):

1. *Transportadores activados de electrones para la oxidación de los combustibles.* En los organismos aerobios, el aceptor final de electrones durante la oxidación de moléculas combustibles es el O_2. Sin embargo, los electrones no se transfieren directamente al O_2. En vez de ello, las moléculas combustible reducen o transfieren electrones a transportadores especiales que son o bien *nucleótidos de piridina* o bien *flavinas*. A continuación, las formas reducidas de estos transportadores transfieren sus electrones de alto potencial al O_2. En otras palabras, estos transportadores poseen mayor afinidad hacia los electrones que los combustibles carbonados, pero menor afinidad hacia los electrones que el O_2; en consecuencia, los electrones fluyen desde una configuración inestable (de baja afinidad) hacia una estable (de alta afinidad). De hecho, la tendencia de estos electrones a fluir hacia una disposición más estable es el motivo por el que se dice que están activados. La energía que se libera se convierte en ATP por medio de mecanismos que se estudiarán en el Capítulo 21.

El dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+), un nucleótido de piridina, es uno de los principales transportadores de electrones durante la oxidación de moléculas combustible (Figura 15.12). La parte reactiva del NAD^+ es su anillo de nicotinamida, un derivado de la piridina que se sintetiza a partir de la vitamina niacina. *Durante la oxidación de un sustrato, el anillo de nicotinamida del NAD^+ acepta un ion hidrógeno y dos electrones, lo que equivale a un ion hidruro ($H:^-$).* La forma reducida de este transportador es el *NADH*. En su forma oxidada, el átomo de nitrógeno es portador de una carga positiva, y esto se indica en su acrónimo: NAD^+.

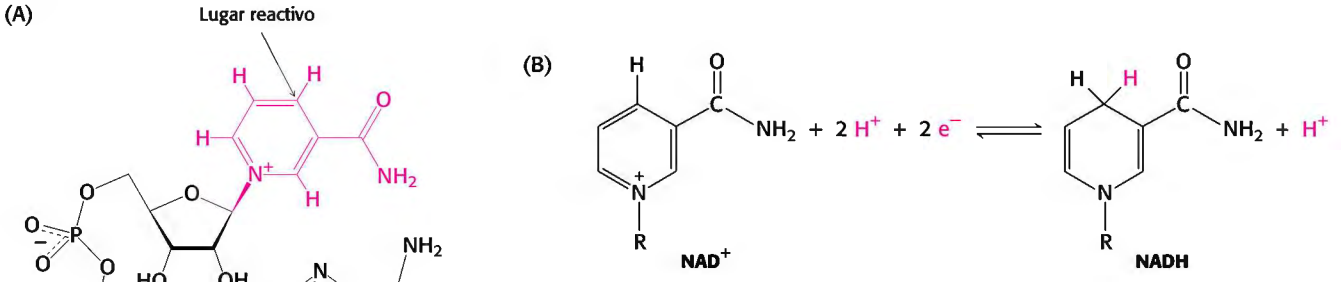
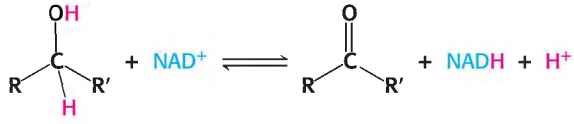


Figura 15.12 Transportador de electrones derivado de la nicotinamida. (A) El dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+) es un importante transportador de electrones de alta energía que se genera a partir de la vitamina niacina (nicotinamida), mostrada de color rojo. (B) El NAD^+ se reduce a NADH.

El dinucleótido de nicotinamida y adenina, o NAD^+, es el aceptor de electrones en multitud de reacciones del tipo:



Con frecuencia, a esta reacción redox se la denomina deshidrogenación porque los protones acompañan a los electrones. Un protón y dos electrones del sustrato se transfieren directamente al NAD^+, mientras que el otro protón se queda en el disolvente como tal.

El otro transportador de electrones importante durante la oxidación de las moléculas combustible es el *dinucleótido de flavina y adenina*, una coenzima (**Figura 15.13**).

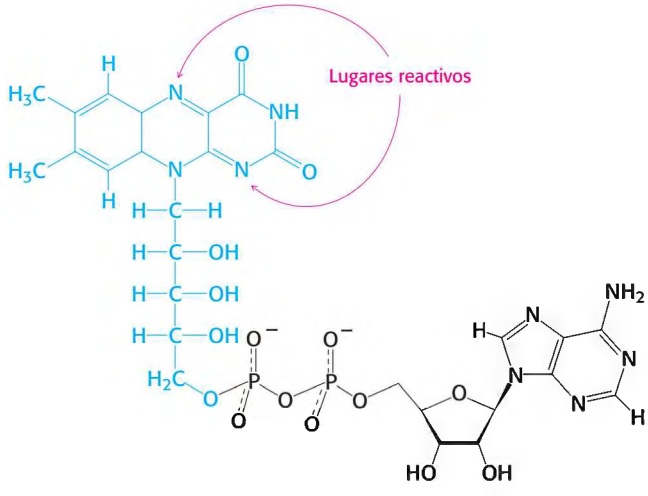
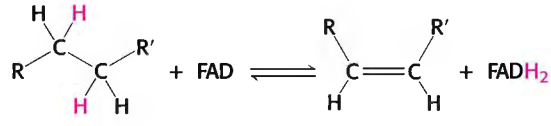


Figura 15.13 Estructura de la forma oxidada del dinucleótido de flavina y adenina (FAD). Este transportador de electrones está formado por la vitamina riboflavina (mostrada de color azul) y una unidad de ADP (mostrada de color negro).

Las abreviaturas de las formas oxidada y reducida de este transportador son FAD y $FADH_2$, respectivamente. El FAD es el aceptor de electrones en reacciones del tipo:



La parte reactiva del FAD es su anillo de isoaloxazina, un derivado de la vitamina riboflavina (Figura 15.14). El FAD, al igual que el NAD^+, puede aceptar dos electrones. Al hacerlo, el FAD, a diferencia del NAD^+, capta dos protones. Estos dos transportadores de electrones de alto potencial, así como el mononucleótido de flavina (FMN), un transportador de electrones relacionado con el FAD, se estudiarán con más detalle en los Capítulos 20 y 21.

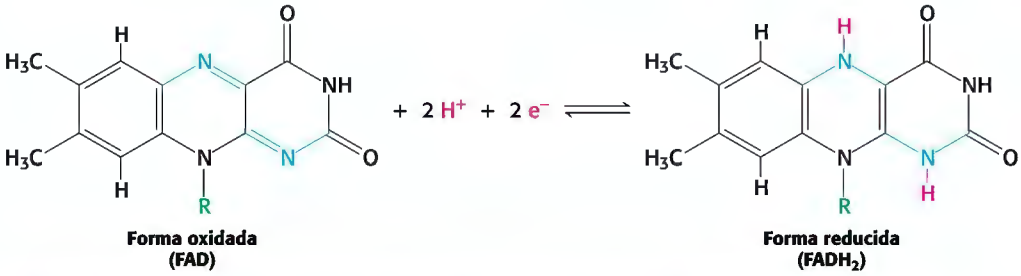
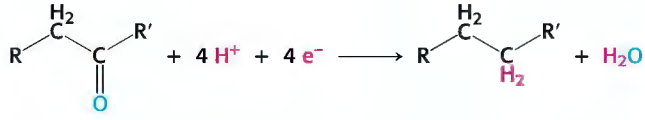


Figura 15.14 Estructuras de las partes reactivas del FAD y del $FADH_2$. Los electrones y protones son transportados por el anillo de isoaloxazina que forma parte del FAD y del $FADH_2$.

2. *Transportadores activados de electrones para la síntesis de biomoléculas.* Las reacciones anabólicas necesitan electrones de alto potencial. En la mayoría de las reacciones de biosíntesis, los precursores están más oxidados que los productos y, por tanto, además del ATP, se necesita poder reductor. Este proceso se denomina *biosíntesis reductora*. Por ejemplo, durante la biosíntesis de ácidos grasos, el grupo ceto de una unidad de dos átomos de carbono se reduce a un grupo metileno en varios pasos. Esta secuencia de reacciones necesita un aporte de cuatro electrones.



En la mayoría de las biosíntesis reductoras, el donador de electrones es el NADPH, la forma reducida del nicotinamida adenina dinucleótido fosfato ($NADP^+$). El NADPH se diferencia del NADH en que el grupo hidroxilo en posición 2′ del componente adenosina está esterificado con fosfato (Figura 15.15). El NADPH transporta electrones del mismo modo que el NADH. Sin embargo, *el NADPH se utiliza casi exclusivamente en las biosíntesis reductoras, mientras que el NADH se utiliza fundamentalmente para generar ATP*. El grupo fosforilo extra del NADPH es una marca que permite a las enzimas diferenciar entre electrones de alto potencial que van a ser utilizados en el anabolismo y aquellos que serán utilizados en el catabolismo.

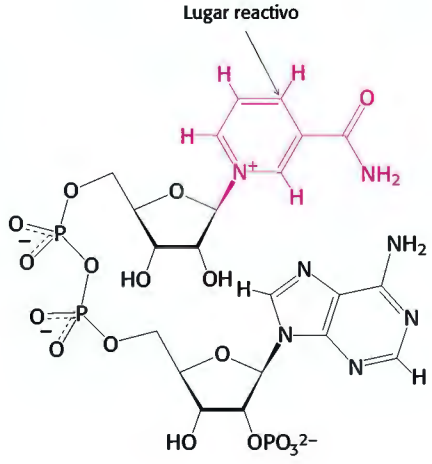


Figura 15.15 Estructura del nicotinamida adenina dinucleótido fosfato ($NADP^+$). El $NADP^+$ suministra electrones con fines biosintéticos. *Observe* que el lugar reactivo en el $NADP^+$ es el mismo que en el NAD^+.

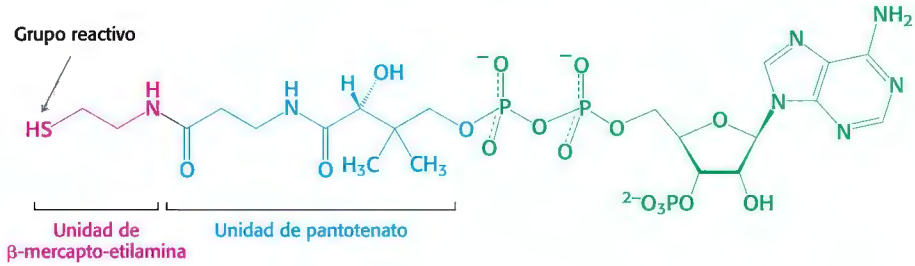
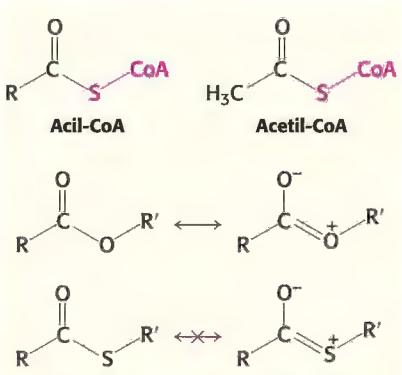


Figura 15.16 Estructura de la coenzima A (CoA-SH).



Los ésteres de oxígeno se estabilizan mediante estructuras resonantes que los tioésteres no pueden adoptar.

3. *Un transportador activado de fragmentos de dos átomos de carbono.* La coenzima A (también denominada CoA-SH), otra molécula esencial del metabolismo, es un transportador de grupos acilo (**Figura 15.16**). Un componente fundamental de la coenzima A es la vitamina pantotenato. Los grupos acilo son elementos importantes tanto del catabolismo (p. ej., en la oxidación de los ácidos grasos) como del anabolismo (p. ej., en la síntesis de los lípidos de membrana). La parte reactiva de la CoA es el grupo sulfhidrilo terminal. Los grupos acilo se unen al grupo sulfhidrilo de la CoA por medio de enlaces tioéster. El derivado resultante se denomina *acil-CoA*. Un grupo acilo que se une con frecuencia a la CoA es la unidad acetilo; este derivado se denomina *acetil-CoA*. El $\Delta G^{\circ\prime}$ para la hidrólisis de la acetil-CoA es un valor negativo y elevado:

$$\text{Acetil-CoA} + H_2O \rightleftharpoons \text{acetato} + \text{CoA} + H^+$$

$$\Delta G^{\circ\prime} = -31{,}4 \text{ kJ mol}^{-1} (-7{,}5 \text{ kcal mol}^{-1})$$

Desde el punto de vista termodinámico, la hidrólisis de un tioéster es más favorable que la de un éster del oxígeno, como los que están presentes en los ácidos grasos, porque los electrones del enlace C=O forman estructuras resonantes menos estables con el enlace C–S que con el enlace C–O. En consecuencia, *la acetil-CoA posee un elevado potencial de transferencia de grupos acetilo porque la transferencia del grupo acetilo es exergónica*. La acetil-CoA transporta un grupo acetilo activado, del mismo modo en que el ATP transporta un grupo fosforilo activado.



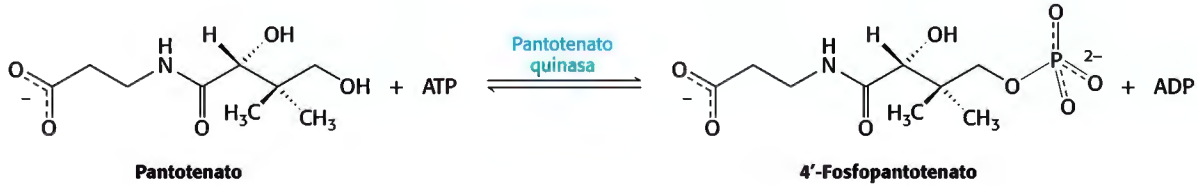
Pantotenato El pantotenato es un componente de la coenzima A y un cofactor necesario para la síntesis de ácidos grasos. Abunda en muchos alimentos, siendo la yema del huevo una de las fuentes más ricas. Nunca ha existido constancia de una insuficiencia de pantotenato. [Fotografía de la FoodCollection/AgeFotostock.]

Aspecto clínico

La falta de pantotenato activado da lugar a problemas neurológicos

La degeneración asociada a la pantotenato quinasa, anteriormente denominada síndrome de Hallervorden-Spatz, es un estado patológico que se caracteriza por la neurodegeneración y la acumulación de hierro en el cerebro. Concretamente, un paciente que sufra esta enfermedad adopta posturas anormales y se mueve de forma interrumpida (distonía), es incapaz de articular palabras (disartria), se retuerce de forma involuntaria (coreoatetosis) y padece rigidez muscular y temblores en estado de reposo (parkinsonismo). Todos los pacientes con la degeneración clásica asociada a la pantotenato quinasa carecen de la enzima pantotenato quinasa.

La pantotenato quinasa, una importante enzima reguladora en la ruta biosintética de la CoA, activa la vitamina pantotenato fosforilándola a costa del ATP.



En los pasos siguientes, el pantotenato fosfato se convierte en coenzima A. Presumiblemente, los síntomas de la degeneración asociada a la pantotenato quinasa son predominantemente neurológicos porque el sistema nervioso depende por completo del metabolismo aerobio de los combustibles y la coenzima A es un protagonista esencial en el metabolismo aerobio de todos los combustibles (como veremos en las Secciones 8 y 9). ■

Otras características de los transportadores activados son responsables de dos aspectos clave del metabolismo. En primer lugar, el NADH, el NADPH y el $FADH_2$ reaccionan lentamente con el O_2 en ausencia de catalizador. Análogamente, el ATP y la acetil-CoA se hidrolizan lentamente (al cabo de muchas horas o incluso días) en ausencia de catalizador. Estas moléculas son bastante estables desde el punto de vista cinético a pesar de la gran tendencia termodinámica que les impulsa a reaccionar con el O_2 (en el caso de los transportadores de electrones) y con el H_2O (en el caso del ATP y de la acetil-CoA). *La estabilidad cinética de estas moléculas en ausencia de catalizadores específicos es esencial para su función biológica porque permite a las enzimas controlar el flujo de energía libre y de poder reductor.*

En segundo lugar, *en el metabolismo, la mayoría de los intercambios de grupos activados se lleva a cabo mediante un pequeño conjunto de transportadores* (**Tabla 15.2**). La existencia de un conjunto recurrente de transportadores activados en todos los organismos es uno de los aspectos unificadores de la bioquímica.

Tabla 15.2 Algunos transportadores activados del metabolismo

Molécula transportadora en forma activada	Grupo transportado	Vitamina precursora
ATP	Fosforilo	
NADH y NADPH	Electrones	Nicotinato (niacina)
$FADH_2$	Electrones	Riboflavina (vitamina B_2)
$FMNH_2$	Electrones	Riboflavina (vitamina B_2)
Coenzima A	Acilo	Pantotenato
Lipoamida	Acilo	
Tiamina pirofosfato	Aldehído	Tiamina (vitamina B_1)
Biotina	CO_2	Biotina
Tetrahidrofolato	Unidades monocarbonadas	Folato
S-Adenosilmetionina	Metilo	
Uridina difosfato glucosa	Glucosa	
Citidina difosfato diacilglicerol	Fosfatidato	
Nucleósidos trifosfato	Nucleótidos	

Nota: muchos de los transportadores activados son coenzimas que se generan a partir de vitaminas hidrosolubles.

Muchos transportadores activados se generan a partir de vitaminas

Casi todos los transportadores activados que funcionan como coenzimas se generan a partir de *vitaminas* —moléculas orgánicas necesarias en pequeñas cantidades en la dieta de muchos animales superiores. En la **Tabla 15.3** se incluyen las vitaminas que funcionan como coenzimas. El conjunto de vitaminas conocido como vitaminas del grupo B se muestra en la **Figura 15.17**. Hay que señalar que, en todos los casos, la vitamina tiene que ser modificada antes de que pueda llevar a cabo su función. Ya hemos comentado la función de la niacina, la riboflavina y el pantotenato. Estas tres vitaminas y el resto de vitaminas del grupo B aparecerán muchas veces a lo largo de nuestro estudio de la bioquímica.

Las vitaminas desempeñan las mismas importantes funciones en casi todas las formas de vida, pero durante el transcurso de la evolución, los animales superiores han perdido la capacidad para sintetizarlas. Por ejemplo, mientras que *E. coli* puede crecer perfectamente a partir de glucosa y sales orgánicas, los seres humanos necesitan por lo menos 12 vitaminas en su dieta. Las rutas biosintéticas de las vitaminas pueden ser complejas; así, es biológicamente más eficaz ingerir las vitaminas que sin-

Tabla 15.3 Vitaminas del grupo B

Vitamina	Coenzima	Tipo de reacción típica	Consecuencias de su insuficiencia
Tiamina (B_1)	Tiamina pirofosfato	Transferencia de aldehído	Beriberi (pérdida de peso, problemas cardíacos, disfunción neurológica)
Riboflavina (B_2)	Dinucleótido de flavina y adenina (FAD)	Oxidación-reducción	Queilosis y estomatitis angular (lesiones de la boca), dermatitis
Piridoxina (B_6)	Piridoxal fosfato	Transferencia de grupos desde/hacia aminoácidos	Depresión, confusión, convulsiones
Ácido nicotínico (niacina, B_3)	Dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+)	Oxidación-reducción	Pelagra (dermatitis, depresión, diarrea)
Ácido pantoténico (B_5)	Coenzima A	Transferencia de grupos acilo	Hipertensión
Biotina (B_7)	Aductos biotina-lisina (biocitinas)	Carboxilación dependiente de ATP y transferencia de grupos carboxilo	Erupciones en torno a las cejas, dolor muscular, fatiga (raramente)
Ácido fólico (B_9)	Tetrahidrofolato	Transferencia de componentes monocarbonados; síntesis de timina	Anemia, defectos en el tubo neural durante el desarrollo
Cobalamina (B_{12})	5′-desoxiadenosilcobalamina	Transferencia de grupos metilo; reorganizaciones intramoleculares	Anemia, anemia perniciosa, acidosis metilmalónica

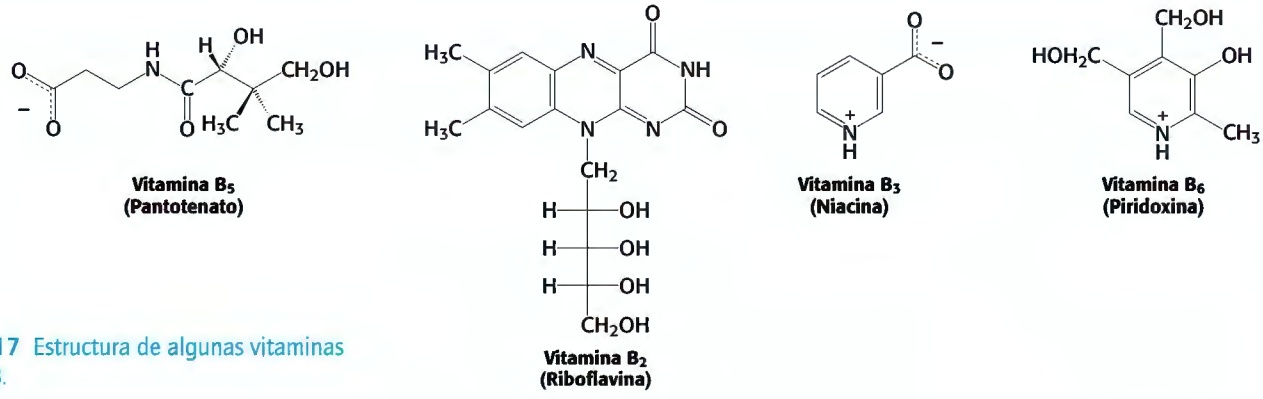


Figura 15.17 Estructura de algunas vitaminas del grupo B.

tetizar las enzimas que se necesitan para construirlas a partir de moléculas sencillas. Esta eficacia se consigue a costa de depender de otros organismos para conseguir compuestos químicos esenciales para la vida. De hecho, la insuficiencia de vitaminas puede generar enfermedades en todos los organismos que necesiten estas moléculas (Tabla 15.4; ver también la Tabla 15.3).

No todas las vitaminas funcionan como coenzimas. Las vitaminas designadas mediante las letras A, C, D, E y K (Figura 15.18; ver también la Tabla 15.4) poseen diversas funciones. La vitamina A (retinol), es el precursor del retinal, el grupo sensible a la luz de la rodopsina y de otros pigmentos visuales, y del ácido retinoico, una importante molécula señalizadora. Una insuficiencia de esta vitamina provoca la ceguera nocturna. Además, los animales jóvenes necesitan vitamina A para el crecimiento. La vitamina C,

Tabla15.4 Vitaminas que no actúan como coenzimas

Vitamina	Función	Insuficiencia
A	Interviene en la visión, crecimiento y reproducción	Ceguera nocturna, daños en la córnea, daños en los tractos respiratorio y gastrointestinal
C (ácido ascórbico)	Antioxidante	Escorbuto (encías inflamadas y sangrantes, hemorragias subcutáneas)
D	Regulación del metabolismo del calcio y del fosfato	Raquitismo (en niños): deformidades esqueléticas, crecimiento retardado Osteomalacia (en adultos): huesos blandos que se doblan
E	Antioxidante	Inhibición de la producción de esperma; lesiones en músculos y nervios (raramente)
K	Coagulación de la sangre	Hemorragias subcutáneas

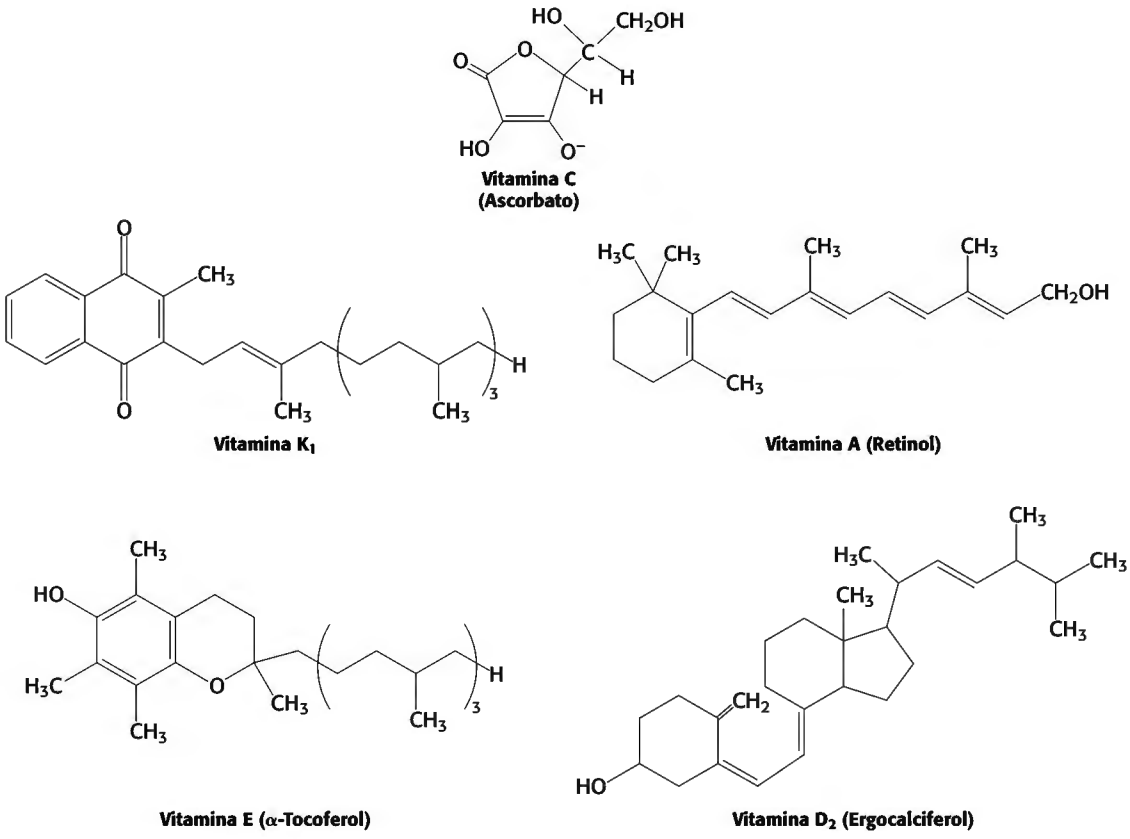


Figura 15.18 Estructura de algunas vitaminas que no actúan como coenzimas.

o ascorbato, funciona como antioxidante. Una insuficiencia de vitamina C puede dar lugar al escorbuto, una enfermedad que se caracteriza por lesiones de la piel y fragilidad de los vasos sanguíneos provocada por defectos en la formación del colágeno (p. 54). Un metabolito de la vitamina D es una hormona que regula el metabolismo del calcio y del fósforo. Una insuficiencia de vitamina D impide la formación del hueso en los animales en crecimiento. En ratas, la esterilidad es consecuencia de una insuficiencia de vitamina E (α-tocoferol). Esta vitamina reacciona con las especies reactivas del oxígeno, como, por ejemplo, los radicales hidroxilo, y las desactiva antes de que puedan oxidar lípidos de membrana insaturados y provoquen daños en las estructuras celulares. La vitamina K es necesaria para la normal coagulación de la sangre.

15.5 Los procesos metabólicos se regulan, principalmente, de tres maneras

Resulta evidente que la compleja trama de reacciones metabólicas tiene que estar rigurosamente regulada. Al mismo tiempo, el control metabólico tiene que ser lo suficientemente flexible como para ajustar la actividad metabólica a los constantes cambios que se producen en el medio externo de la célula. *El metabolismo se regula mediante el control de (1) las cantidades de enzima, (2) sus actividades catalíticas y (3) la accesibilidad de los sustratos.*

Se controla la cantidad de enzima

La cantidad de una enzima concreta depende tanto de su velocidad de síntesis como de su velocidad de degradación. El nivel de muchas enzimas se ajusta principalmente por medio de un cambio en la *velocidad de transcripción* de los genes que las codifican (Sección 15). Por ejemplo, en *E. coli*, la presencia de lactosa multiplica, en cuestión de minutos, por más de 50 la velocidad de síntesis de la β-galactosidasa, una enzima necesaria para la descomposición de este disacárido.

Se regula la actividad catalítica

La actividad catalítica de las enzimas se controla de varias formas. Especialmente importante es el *control alostérico reversible*. Por ejemplo, en muchas rutas biosintéticas, la primera reacción se inhibe de forma alostérica por medio del producto final de la ruta, un ejemplo de *retroinhibición*. Este tipo de control puede ser casi instantáneo. Otro mecanismo recurrente es la activación y desactivación de enzimas mediante *modificación covalente reversible*. A menudo, la modificación reversible es el punto final de las cascadas de transducción de señales comentadas en el Capítulo 13. Por ejemplo, la glucógeno fosforilasa es la enzima que cataliza la descomposición del glucógeno, una forma de almacenamiento de la glucosa, y cuando esta escasea, se activa mediante la fosforilación de un residuo particular de serina.

Las hormonas coordinan las relaciones metabólicas entre distintos tejidos, a menudo regulando la modificación reversible de enzimas clave. Por ejemplo, la hormona adrenalina desencadena una cascada de transducción de señales en el músculo, que da lugar a la fosforilación y activación de enzimas clave y provoca la rápida degradación del glucógeno a glucosa que, posteriormente, es utilizada para suministrar ATP para la contracción muscular. El glucagón ejerce el mismo efecto en el hígado, pero, en este caso, la glucosa se libera a la sangre para que la utilicen otros tejidos. Tal y como se comentó en el Capítulo 13, muchas hormonas funcionan por medio de segundos mensajeros, como el AMP cíclico o los iones calcio, que coordinan la actividad de muchas proteínas diana.

En el metabolismo, muchas reacciones se controlan mediante el *estatus energético* de la célula. Un indicador del estatus energético es la *carga energética*, que es el cociente entre la suma de todos los nucleótidos de adenina que se encuentran en forma de ATP más la mitad de los nucleótidos de adenina que se encuentran en forma de ADP (ya que el ATP contiene dos enlaces fosfoanhídrido y el ADP solo tiene uno) y la suma de todas las moléculas de nucleótidos de adenina. Por tanto, la carga energética se define como

$$\text{Carga energética} = \frac{[\text{ATP}] + 1/2[\text{ADP}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]}$$

La carga energética puede tener un valor comprendido entre 0 (todo en forma de AMP) y 1 (todo en forma de ATP). Una carga energética elevada inhibe las rutas que generan ATP (catabólicas) porque la célula tiene suficiente ATP. Por otra parte, las rutas que utilizan ATP (anabólicas) se estimulan por una carga energética elevada porque hay ATP disponible. Al representar las velocidades de reacción de estos dos tipos de ruta en función de la carga energética, las curvas son más pronunciadas cuando el valor de la carga energética se aproxima a 0,9, donde suelen cruzarse (Figura 15.19). Evidentemente, el control de estas rutas ha evolucionado para mantener la carga energética entre unos límites más bien estrechos. En otras palabras, *la carga energética, al igual que el pH de una célula, se encuentra amortiguada*. En la mayoría de las células, el valor de la carga energética se encuentra comprendido entre 0,80 y 0,95.

Otro indicador del estatus energético es el *potencial de fosforilación*, que está directamente relacionado con las reservas de energía libre disponibles en forma de ATP. El potencial de fosforilación se define como

$$\text{Potencial de fosforilación} = \frac{[\text{ATP}]}{[\text{ADP}] + [\text{P}_i]}$$

El potencial de fosforilación, a diferencia de la carga energética, depende de la concentración de ortofosfato inorgánico (P_i).

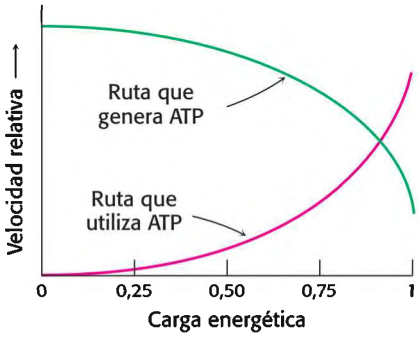


Figura 15.19 La carga energética regula el metabolismo. Concentraciones elevadas de ATP inhiben las velocidades relativas de una típica ruta que genera ATP (catabólica) y estimulan la típica ruta que genera ATP (anabólica).

Se controla la accesibilidad de los sustratos

En eucariotas, la regulación y la flexibilidad del metabolismo se intensifican gracias a la compartimentación. Por ejemplo, la oxidación de los ácidos grasos tiene lugar en las mitocondrias, mientras que la síntesis de ácidos grasos tiene lugar en el citoplasma. *La compartimentación mantiene separadas reacciones opuestas.*

Otra forma de regular el metabolismo consiste en controlar *el flujo de sustratos* entre los compartimentos. Por ejemplo, en muchas células, la descomposición de la glucosa solo se puede producir si hay insulina presente para promover la entrada de glucosa en la célula. La transferencia de sustratos de un compartimento de la célula a otro también puede funcionar como punto de control, como, por ejemplo, cuando se llevan los ácidos grasos desde el citoplasma a las mitocondrias para su oxidación.

Resumen

15.1 El metabolismo se compone de multitud de reacciones interconectadas

El proceso de transducción de energía tiene lugar a través del metabolismo, un entramado de reacciones químicas muy interrelacionado. El metabolismo se puede dividir en catabolismo (reacciones que se utilizan para extraer energía a partir de los combustibles) y anabolismo (reacciones que utilizan esta energía para la biosíntesis). El concepto termodinámico más útil para comprender la bioenergética es la energía libre. Una reacción solo se puede producir de forma espontánea si el incremento de la energía libre (ΔG) es negativo. Una reacción desfavorable desde el punto de vista termodinámico puede ser impulsada por una reacción termodinámicamente favorable que, en la mayoría de los casos, es la hidrólisis del ATP.

15.2 El ATP es la moneda universal de la energía libre

La energía procedente del catabolismo se transforma en adenosina trifosfato. La hidrólisis del ATP es exergónica y la energía liberada se puede utilizar para impulsar procesos celulares, entre los que se incluyen el movimiento, el transporte activo y la biosíntesis. En las condiciones celulares, la hidrólisis del ATP desplaza el equilibrio de una reacción acoplada por un factor de 10^8. El ATP, la moneda energética universal de los sistemas biológicos, es una molécula rica en energía porque contiene dos enlaces fosfoanhídrido.

15.3 La oxidación de combustibles carbonados es una importante fuente de energía celular

La formación de ATP está acoplada a la oxidación de combustibles carbonados. Mediante una serie de reacciones de oxidación-reducción se extraen electrones de los átomos de carbono y se transfieren al O_2. Los electrones fluyen a favor de un gradiente de estabilidad, un proceso que libera energía. La energía de la oxidación del carbono puede quedar atrapada en forma de compuestos con un elevado potencial de transferencia de fosforilos que, posteriormente, se puedan utilizar para impulsar la síntesis de ATP.

15.4 Las rutas metabólicas presentan multitud de aspectos recurrentes

El metabolismo se caracteriza por aspectos comunes. En muchas rutas metabólicas, un pequeño número de transportadores activados recurrentes, como el ATP, el NADH y la acetil-CoA, transfieren grupos activados. El NADPH, que transporta dos electrones de alto potencial, proporciona poder reductor durante la biosíntesis de componentes celulares a partir de precursores más oxidados. Muchos transportadores activados se generan a partir de vitaminas, pequeñas moléculas orgánicas necesarias en la dieta de muchos animales.

15.5 Los procesos metabólicos se regulan, principalmente, de tres maneras

El metabolismo se regula de varias formas, y las principales formas de hacerlo son las siguientes. En primer lugar, se controla la cantidad de algunas enzimas esenciales regulando la velocidad de su síntesis y degradación. En segundo lugar, la actividad catalítica de muchas enzimas se regula mediante interacciones alostéricas (como en el caso de la retroinhibición) y por medio de modificaciones covalentes. En tercer lugar, el movimiento de muchos sustratos al interior de la célula o de compartimentos subcelulares también está controlado.

La carga energética, que depende de las cantidades relativas de ATP, ADP y AMP, desempeña un papel en la regulación metabólica. Una carga energética elevada inhibe las rutas que generan ATP (catabólicas) al tiempo que estimula las rutas que utilizan el ATP (anabólicas).

Términos clave

fotótrofo (p. 247)
quimiótrofo (p. 247)
metabolismo (p. 248)
metabolismo intermediario (p. 248)
catabolismo (p. 249)
anabolismo (p. 249)
ruta anfibólica (p. 249)
adenosina trifosfato (ATP) (p. 250)
potencial de transferencia de fosforilos (p. 252)
transportador activado (p. 257)
vitamina (p. 261)
carga energética (p. 264)
potencial de fosforilación (p. 264)

? Respuesta a la PREGUNTA RÁPIDA

Cuando se extrae un grupo fosforilo del ATP, se reduce la repulsión entre las cargas. Los productos de la hidrólisis del ATP presentan más formas resonantes que el propio ATP. Los productos de la hidrólisis del ATP se estabilizan más eficazmente mediante su asociación con el agua que el ATP.

Problemas

1. *Patrones complejos.* ¿Qué significa *metabolismo intermediario*?

2. *Opuestos.* ¿Qué diferencia hay entre anabolismo y catabolismo?

3. *¿Por qué molestarse en comer?* ¿Cuáles son los tres principales usos de la energía celular?

4. *Marco Antonio y Cleopatra.* Empareje los términos de las dos columnas.

(a) Moneda de la energía celular _____
(b) Transportador de electrones anabólico _____
(c) Fotótrofo _____
(d) Transportador de electrones catabólico _____
(e) Reacción de oxidación-reducción _____
(f) Transportador activado de fragmentos de dos átomos de carbono _____
(g) Vitamina _____
(h) Anabolismo _____
(i) Reacción anfibólica _____
(j) Catabolismo _____

1. NAD^+
2. Coenzima A
3. Precursor de coenzimas
4. Proporciona energía
5. Necesita energía
6. ATP
7. Transfiere electrones
8. $NADP^+$
9. Convierte la energía de la luz en energía química
10. Se utiliza en el anabolismo y en el catabolismo

5. *Energía para quemar.* ¿Qué factores explican el elevado potencial de transferencia de fosforilos de los nucleósidos trifosfato? ✓ 3

6. *La moneda importa.* ¿Por qué es una buena idea tener un único nucleótido, el ATP, que funcione como moneda para la energía celular? ✓ 3

7. *Íntimos amigos.* ¿Por qué el ATP suele estar asociado con iones magnesio o manganeso? ✓ 3

8. *Condiciones ambientales.* La energía libre estándar para la hidrólisis del ATP es de $-30{,}5$ kJ mol^{-1} ($-7{,}3$ kcal mol^{-1}).

$$ATP + H_2O \rightleftharpoons ADP + P_i$$

¿Qué condiciones tendrían que cambiar para modificar la energía libre de la hidrólisis? ✓ 3

9. *Flujo de energía.* ¿En qué dirección se producirá cada una de las siguientes reacciones cuando los reactantes están presentes inicialmente en cantidades equimolares? Utilice los datos mostrados en la Tabla 15.1. ✓ 4

(a) ATP + creatina $\rightleftharpoons$ creatina fosfato + ADP
(b) ATP + glicerol $\rightleftharpoons$ glicerol 3-fosfato + ADP
(c) ATP + piruvato $\rightleftharpoons$ fosfoenolpiruvato + ADP
(d) ATP + glucosa $\rightleftharpoons$ glucosa 6-fosfato + ADP

10. *Una conclusión apropiada.* ¿Qué información aportan los datos de $\Delta G^{\circ\prime}$ mostrados en la Tabla 15.1 sobre las velocidades relativas de la hidrólisis del pirofosfato y del acetilfosfato?

11. *Un donador potente.* Considere la siguiente reacción. ✓ 4

$$ATP + \text{piruvato} \rightleftharpoons \text{fosfoenolpiruvato} + ADP$$

(a) Calcule el $\Delta G^{\circ\prime}$ y la K'_{eq} de esta reacción a 25 °C utilizando los datos mostrados en la Tabla 15.1.
(b) ¿Cuál es la relación entre las concentraciones de piruvato y fosfoenolpiruvato en el equilibrio si la relación ATP/ADP es de 10?

12. *Equilibrio isomérico.* Calcule el $\Delta G^{\circ\prime}$ de la isomerización de la glucosa 6-fosfato a glucosa 1-fosfato. ¿Cuál es la relación entre las concentraciones de glucosa 6-fosfato y glucosa 1-fosfato en el equilibrio a 25 °C?

13. *Acetato activado.* La formación de acetil-CoA a partir de acetato es una reacción impulsada por el ATP:

$$\text{Acetato} + ATP + CoA \rightleftharpoons \text{acetil CoA} + AMP + PP_i$$

(a) Calcule el $\Delta G^{\circ\prime}$ de esta reacción utilizando los datos suministrados en este capítulo.
(b) El PP_i formado en la reacción anterior se hidroliza rápidamente *in vivo* gracias a la ubicuidad de la pirofosfatasa inorgánica. El $\Delta G^{\circ\prime}$ para la hidrólisis del PP_i es de $-19{,}2$ kJ mol^{-1} ($-4{,}6$ kcal mol^{-1}). Calcule el $\Delta G^{\circ\prime}$ de la reacción global,

incluyendo la hidrólisis del pirofosfato. ¿Qué efecto tiene la hidrólisis del PP_i en la formación de la acetil-CoA?

14. *¿Fuerza bruta?* A menudo, las rutas metabólicas contienen reacciones con valores positivos de energía libre estándar y, sin embargo, las reacciones tienen lugar. ¿Cómo es esto posible? ✓ 4

15. *Aspecto recurrente.* ¿Cuál es la característica estructural común del ATP, FAD, NAD^+ y CoA? ✓ 5

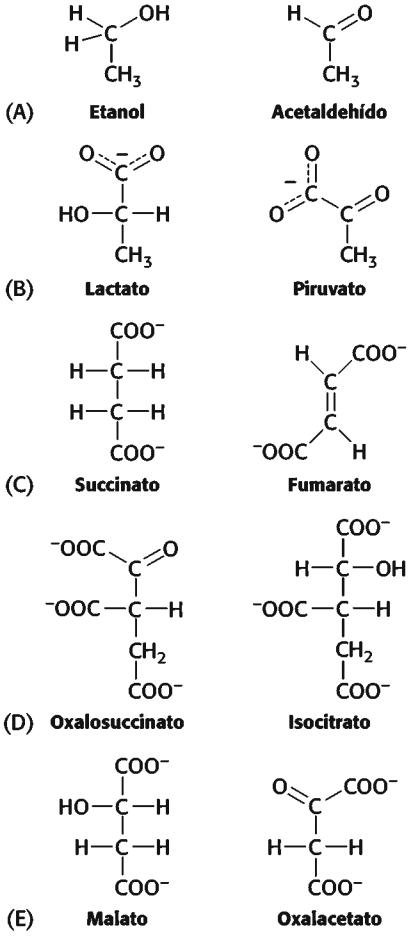
16. *Electrones de alta energía.* ¿Cuáles son los transportadores de electrones activados en el catabolismo? ¿Y en el anabolismo?

17. *Menos reverberación.* Los tioésteres, muy frecuentes en bioquímica, son más inestables (ricos en energía) que los ésteres de oxígeno. ¿Cuál puede ser la explicación?

18. *Manteniendo el control.* ¿Cuáles son las tres principales formas de controlar las reacciones metabólicas?

19. *Corriendo cuesta abajo.* La glucólisis es un conjunto de 10 reacciones encadenadas que convierten una molécula de glucosa en dos moléculas de piruvato con la síntesis simultánea de dos moléculas de ATP (Capítulo 16). El $\Delta G^{\circ\prime}$ de este conjunto de reacciones es de $-35{,}6$ kJ mol^{-1} ($-8{,}5$ kcal mol^{-1}), mientras que el ΔG es de $-76{,}6$ kJ mol^{-1} ($-18{,}3$ kcal mol^{-1}). Explique por qué la liberación de energía libre es mucho mayor en las condiciones intracelulares que en condiciones estándar.

20. *La oxidación importa.* Examine las parejas de moléculas e identifique la molécula más reducida en cada pareja. ✓ 5



Problemas de integración de capítulos

21. *Productos de la descomposición.* La digestión es la primera etapa a la hora de extraer energía de los alimentos, pero en esta etapa no se obtiene energía útil. ¿Por qué se considera que la digestión es una etapa de la extracción de energía?

22. *Cinética frente a termodinámica.* La reacción del NADH con el oxígeno para producir NAD^+ y H_2O es muy exergónica y, sin embargo, la reacción entre el NADH y el oxígeno se produce muy lentamente. ¿Por qué una reacción favorable desde el punto de vista termodinámico no tiene lugar de forma rápida?

Problemas de integración de capítulos para atrevidos

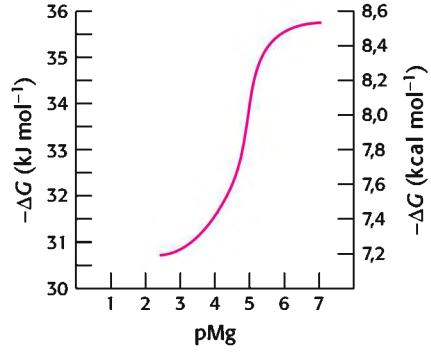
23. *Fuerza ácida.* El pK_a de un ácido es una medida de su potencial de transferencia de protones.

(a) Establezca una relación entre $\Delta G^{\circ\prime}$ y pK_a.
(b) ¿Cuál es el $\Delta G^{\circ\prime}$ para la ionización del ácido acético, cuyo pK_a es de 4,8?

24. *Sulfato activado.* El fibrinógeno es un precursor de la fibrina, la proteína de los coágulos sanguíneos, y contiene tirosina-*O*-sulfato. Proponga una forma activada del sulfato que pueda reaccionar *in vivo* con el grupo hidroxilo del anillo aromático de un residuo de tirosina en una proteína para formar tirosina-*O*-sulfato.

Problema de interpretación de datos para atrevidos

25. *Los polos opuestos se atraen.* La gráfica adjunta muestra cómo varía el ΔG para la hidrólisis del ATP en función de la concentración de Mg^{2+} (pMg = $-\log [Mg^{2+}]$). ✓ 3



(a) ¿Cómo afecta una disminución de la $[Mg^{2+}]$ al ΔG para la hidrólisis del ATP?
(b) Explique este efecto.

Problemas para atrevidos

26. *Razón de ser.* Los músculos de algunos invertebrados son ricos en *arginina fosfato* (fosfoarginina). Proponga una función para este derivado de un aminoácido.



27. *¿Ayuda ergogénica o impedimento?* La creatina es un suplemento dietético muy popular cuyos efectos no han sido analizados.

(a) ¿Cuál es el fundamento bioquímico para la utilización de la creatina?
(b) ¿Qué tipo de ejercicio se beneficiaría más de la ingesta suplementaria de creatina?

28. *Condiciones estándar frente a la vida real 1.* La enzima aldolasa cataliza la siguiente reacción de la ruta glicolítica:

$$\text{Fructosa 1,6 bisfosfato} \xrightleftharpoons{\text{Aldolasa}} \text{dihidroxiacetona fosfato} + \text{gliceraldehído 3-fosfato}$$

El $\Delta G^{\circ\prime}$ para la reacción es de $+23{,}8$ kJ mol^{-1} ($+5{,}7$ kcal mol^{-1}), mientras que el ΔG en la célula es de $-1{,}3$ kJ mol^{-1} ($-0{,}3$ kcal mol^{-1}). Calcule la proporción entre reactantes y productos en el equilibrio y en las condiciones intracelulares. Utilizando sus resultados, explique cómo esta reacción puede ser endergónica en condiciones estándar y exergónica en las condiciones intracelulares.

29. *Condiciones estándar frente a la vida real 2.* En la página 251 se demuestra que una reacción, A $\rightleftharpoons$ B con un $\Delta G^{\circ\prime}$ de $+16{,}7$ kJ mol^{-1} ($+4{,}0$ kcal mol^{-1}) tiene una K_{eq} de $1{,}15 \times 10^{-3}$. Si la reacción se acopla, en condiciones estándar, a la hidrólisis de ATP, la K_{eq} aumenta a $2{,}67 \times 10^{2}$. El sistema generador de ATP de las células mantiene la proporción [ATP]/[ADP][P_i] en un nivel elevado, típicamente del orden de 500 M^{-1}. Calcular la proporción B/A en las condiciones celulares. ✓ 4

30. *No son todos iguales.* Las concentraciones de ATP, ADP y P_i difieren según el tipo de célula. En consecuencia, la liberación de energía libre con la hidrólisis de ATP variará con el tipo celular. Utilice la siguiente tabla para calcular el ΔG para la hidrólisis de ATP en células de hígado, de músculo y de cerebro. ¿En qué tipo celular es más negativa la energía libre para la hidrólisis del ATP? ✓ 3

	ATP (mM)	ADP (mM)	P_i (mM)
Hígado	3,5	1,8	5,0
Músculo	8,0	0,9	8,0
Cerebro	2,6	0,7	2,7

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.



Capítulo 16:
Glucólisis



Capítulo 17:
Gluconeogénesis

SECCIÓN 7

Glucólisis y Gluconeogénesis

Comenzamos nuestro estudio del metabolismo centrándonos en el procesamiento de la glucosa, una molécula combustible fundamental para prácticamente todas las formas de vida. La primera ruta metabólica que nos encontramos es la glucólisis, una ruta ancestral utilizada por un gran número de organismos. La glucólisis es la secuencia de reacciones que convierte una molécula de glucosa en dos moléculas de piruvato al tiempo que genera ATP. La glucólisis cumple dos funciones importantes en la célula. En primer lugar, este conjunto de reacciones genera ATP. De hecho, algunos tejidos, como el cerebro y los glóbulos rojos de la sangre, utilizan exclusivamente la glucosa como combustible; en consecuencia, la glucólisis es especialmente importante en estos tejidos. La segunda función importante de la glucólisis consiste en proporcionar materiales de construcción para la biosíntesis. Por ejemplo, las moléculas que se forman durante el metabolismo de la glucosa a través de la glucólisis se utilizan como precursores para la síntesis de aminoácidos y de ácidos grasos.

Como la glucosa es un combustible tan importante, los productos finales de las rutas bioquímicas se recuperan para sintetizar glucosa mediante el proceso de *gluconeogénesis*. La gluconeogénesis es esencial para asegurar que el cerebro y los glóbulos rojos dispongan de un suministro de glucosa adecuado incluso durante periodos de ayuno, como, por ejemplo, durante el sueño nocturno. Aunque la glucólisis y la gluconeogénesis comparten algunas enzimas, las dos rutas no son, sencillamente, una la inversa de la otra. Concretamente, los pasos muy exergónicos e irreversibles de la glucólisis son evitados en la gluconeogénesis mediante reacciones que hacen que la gluconeogénesis sea exergónica en las condiciones celulares. Las dos rutas están reguladas de forma recíproca, de modo que la glucólisis y la gluconeogénesis no se producen en la misma célula y al mismo tiempo de forma significativa, evitando así el

despilfarro de energía que tendría lugar si la glucosa se estuviese descomponiendo en el mismo momento en que se está sintetizando.

Comenzamos esta sección con la glucólisis, prestando especial atención a la regulación de esta ruta. Seguimos con la gluconeogénesis, centrándonos de nuevo en la regulación. La sección termina con una discusión sobre la regulación de la glucólisis y de la gluconeogénesis tanto en el interior de una célula como entre tejidos distintos.

✓ Al final de esta sección, usted debería ser capaz de:

- ✓ 1 Describir cómo se genera ATP durante la glucólisis.
- ✓ 2 Explicar por qué la regeneración del NAD^+ resulta crucial para las fermentaciones.
- ✓ 3 Describir cómo se impulsa la gluconeogénesis en la célula.
- ✓ 4 Describir la regulación coordinada de la glucólisis y la gluconeogénesis.

CAPÍTULO 16

Glucólisis

16.1 La glucólisis es una ruta de conversión de la energía

16.2 El metabolismo del piruvato regenera el NAD^+

16.3 La fructosa y la galactosa se convierten en intermediarios de la glucólisis

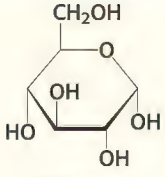
16.4 La ruta glucolítica está sometida a un control muy riguroso

16.5 El metabolismo en su contexto: la glucólisis ayuda a las células beta del páncreas a detectar la glucosa



Usain Bolt lucha por conseguir un récord mundial en la final de los 200 metros lisos de los Juegos Olímpicos de 2008 en Pekín. El metabolismo de la glucosa puede generar el ATP necesario para impulsar la contracción muscular. Durante un *sprint*, cuando las necesidades de ATP superan al suministro de oxígeno, como ocurriría en el caso de Bolt, la glucosa se metaboliza a lactato. Cuando el suministro de oxígeno es el adecuado, la glucosa se metaboliza más eficazmente a dióxido de carbono y agua. [Reix-Liews/For Photo/Corbis.]

Anteriormente vimos cómo se digieren los carbohidratos a moléculas útiles desde el punto de vista bioquímico, como, por ejemplo, la glucosa (Capítulo 14). En los sistemas vivos, la glucosa es el principal carbohidrato y un combustible importante. En mamíferos, es el único combustible que utiliza el cerebro cuando no se dan condiciones de inanición y es el único combustible que pueden utilizar los glóbulos rojos. De hecho, casi todos los organismos utilizan la glucosa y la mayoría de ellos la procesan de forma parecida. Recordemos del Capítulo 10 que hay muchos carbohidratos. ¿Por qué es la glucosa un combustible tan destacado en lugar de cualquier otro monosacárido? Podemos especular sobre las razones. En primer lugar, la glucosa es una de los diversos monosacáridos que se formaron a partir del formaldehído en condiciones prebióticas y, por tanto, puede haber estado disponible como combustible para los sistemas bioquímicos primitivos. En segundo lugar, la glucosa es la hexosa más estable porque todos los grupos hidroxilo y el grupo hidroximetilo ocupan posiciones ecuatoriales, minimizando así los impedimentos estéricos (p. 160). En tercer lugar, la glucosa tiene una tendencia reducida, en comparación con otros monosacáridos, a glicosilar proteínas de forma no enzimática. En sus formas de cadena abierta, los monosacáridos contienen grupos carbonilo que pueden modificar covalentemente los grupos amino de las proteínas. A menudo, estas proteínas modificadas de forma inespecífica no funcionan eficazmente (p. 161). La glucosa muestra una acusada tendencia a adoptar la conformación en forma de anillo y, en consecuencia, su predisposición para modificar proteínas es relativamente pequeña.



Glucosa

En este capítulo, examinaremos primero cómo se genera ATP durante la glucólisis y cómo se puede generar ATP en ausencia de oxígeno. Posteriormente, veremos cómo otros azúcares distintos de la glucosa se convierten en intermediarios de la glucólisis. El capítulo termina con una discusión sobre la regulación de la glucólisis.

✓ 1 Describir cómo se genera ATP durante la glucólisis.

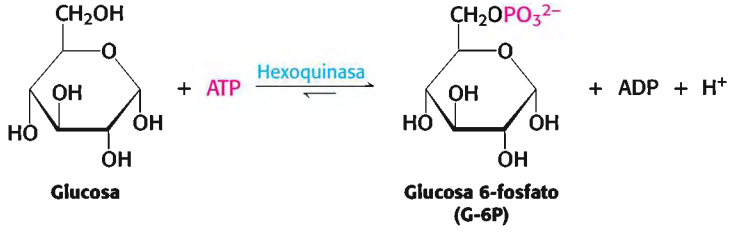
16.1 La glucólisis es una ruta de conversión de la energía

Comienza ahora nuestro estudio de la ruta glucolítica. Esta ruta es común a prácticamente todas las células, tanto procarióticas como eucarióticas. En las células eucarióticas, la glucólisis tiene lugar en el citoplasma. La glucosa se convierte en dos moléculas de piruvato al mismo tiempo que se generan dos moléculas de ATP.

Podemos considerar que la *glucólisis* consta de dos etapas (Figura 16.1). La etapa 1 es la fase de captación y preparación. En esta etapa no se genera ATP. La etapa 1 comienza con la conversión de glucosa en fructosa 1,6-bisfosfato, que se realiza en tres pasos: una fosforilación, una isomerización y una segunda reacción de fosforilación. *La estrategia de estos pasos iniciales de la glucólisis consiste en atrapar la glucosa en el interior de la célula y formar un compuesto que se pueda escindir fácilmente en unidades fosforiladas de tres átomos de carbono.* La etapa 1 se completa con la escisión de la fructosa 1,6-bisfosfato en dos fragmentos de tres átomos de carbono. Estas dos unidades de tres átomos de carbono son fácilmente interconvertibles. En la etapa 2 se produce ATP cuando los fragmentos de tres átomos de carbono se oxidan a piruvato.

La hexoquinasa atrapa la glucosa en la célula e inicia la glucólisis

La glucosa entra en las células por medio de proteínas transportadoras específicas (p. 291) y, una vez en el interior de la célula, su principal destino es el de ser *fosforilada por el ATP para formar glucosa 6-fosfato*. Este paso es relevante por dos razones: (1) la glucosa 6-fosfato no puede atravesar la membrana para salir al medio extracelular porque no es un sustrato para los transportadores de glucosa y (2) la adición del grupo fosforilo facilita el metabolismo de la glucosa a compuestos fosforilados de tres átomos de carbono con un elevado potencial de transferencia de fosforilos. La transferencia del grupo fosforilo del ATP al grupo hidroxilo del carbono 6 de la glucosa está catalizada por la *hexoquinasa*.



Glucosa — **Glucosa 6-fosfato (G-6P)**

La transferencia de fosforilos es una reacción fundamental en bioquímica. *Las quinasas son enzimas que catalizan la transferencia de un grupo fosforilo desde el ATP a un aceptor.* Por tanto, la hexoquinasa cataliza la transferencia de un grupo fosforilo desde el ATP a un conjunto de azúcares de seis átomos de carbono (*hexosas*), como la glucosa y la manosa. *La hexoquinasa, como el resto de las quinasas, necesita Mg^{2+} (u otro ion metálico divalente como el Mn^{2+}) para ser activa.* El ion metálico divalente forma un complejo con el ATP.

Los estudios de cristalografía de rayos X de la hexoquinasa de levadura han demostrado que la unión de la glucosa induce un gran cambio conformacional en la enzima. La hexoquinasa consta de dos lóbulos que se acercan el uno al otro cuando se une la glucosa (Figura 16.2). La hendidura situada entre los dos lóbulos se cierra y la molécula de glucosa unida se encuentra rodeada por la proteína, a excepción del átomo de carbono que aceptará el grupo fosforilo del ATP. El cierre de la hendidura de la hexoquinasa es un sorprendente ejemplo del papel del *ajuste inducido* en la acción enzimática (p. 101).

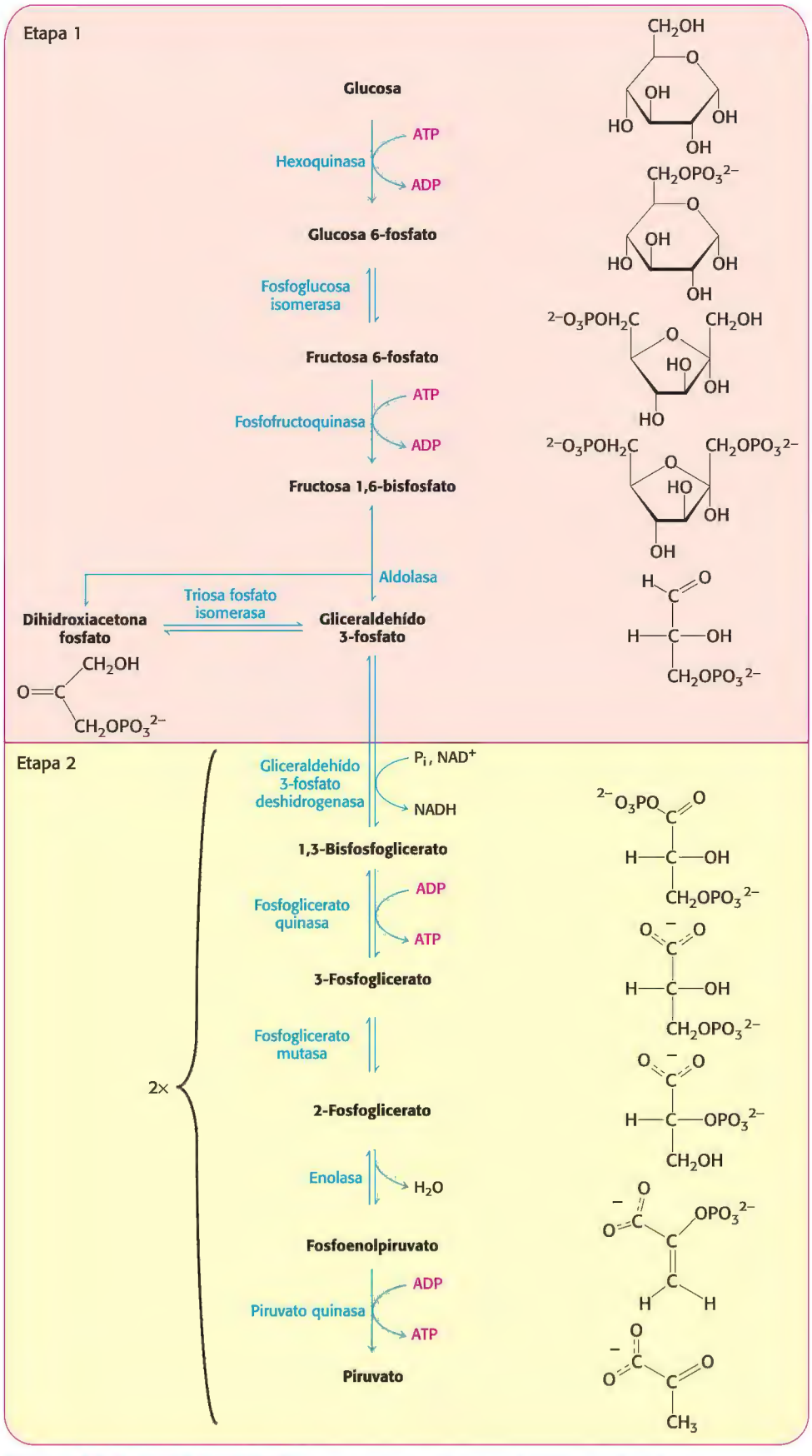


Figura 16.1 Etapas de la glucólisis. La ruta glucolítica se puede dividir en dos etapas: (1) se atrapa la glucosa, se desestabiliza y se escinde en dos moléculas interconvertibles de tres átomos de carbono que se generan mediante la escisión de la fructosa, de seis átomos de carbono; y (2) las unidades de tres átomos de carbono se oxidan a piruvato, generando ATP.

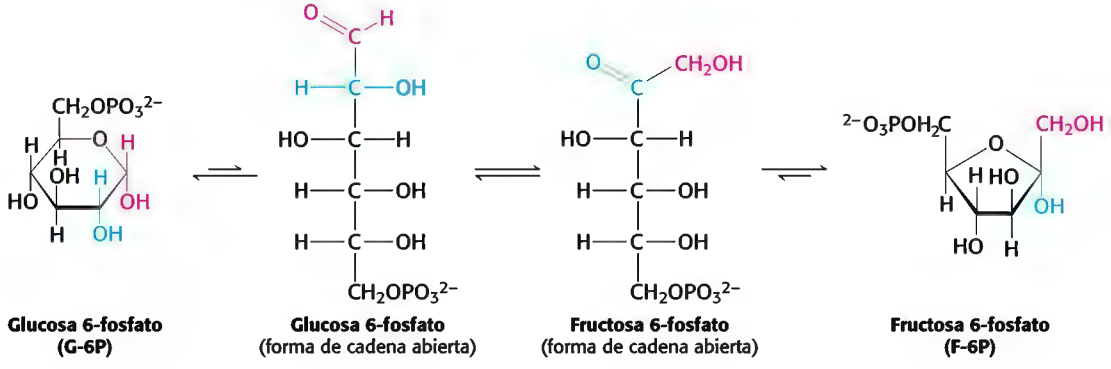


Figura 16.2 Ajuste inducido en la hexoquinasa. En ausencia de glucosa, los dos lóbulos de la hexoquinasa están separados (izquierda). Al unirse a la glucosa, la conformación de la hexoquinasa cambia considerablemente (derecha). *Observe* que los dos lóbulos de la enzima se acercan entre sí, creando el ambiente necesario para la catálisis. [Tomada del RSCB Protein Data Bank; elaborada por Adam Steinberg a partir de los registros del PDB yhx y 1hkg.pdb.]

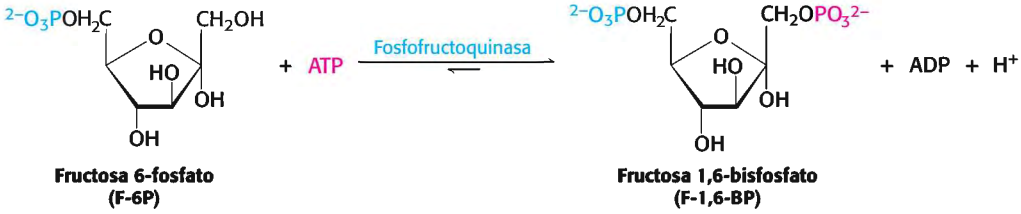
¿Por qué son bioquímicamente importantes los cambios estructurales de la hexoquinasa? El entorno que rodea a la glucosa se vuelve más apolar a medida que se expulsa el agua y los grupos hidrofóbicos R de la proteína rodean a la molécula de glucosa, favoreciendo así la donación del grupo fosforilo terminal del ATP. La eliminación del agua del centro activo intensifica la especificidad de la enzima. Si la hexoquinasa fuese rígida, una molécula de H_2O que ocupe, por casualidad, el lugar de unión al grupo $-CH_2OH$ de la glucosa podría atacar al grupo fosforilo γ del ATP, formando ADP y P_i. En otras palabras, es probable que una quinasa rígida fuese también una ATPasa. *El cierre de la hendidura inducido por el sustrato es una característica general de las quinasas.*

La fructosa 1,6-bisfosfato se genera a partir de la glucosa 6-fosfato

El siguiente paso de la glucólisis consiste en la isomerización de la glucosa 6-fosfato a fructosa 6-fosfato. Recordemos que la forma de cadena abierta de la glucosa tiene un grupo aldehído en el carbono 1, mientras que la forma de cadena abierta de la fructosa tiene un grupo ceto en el carbono 2. Por tanto, *la isomerización de la glucosa 6-fosfato a fructosa 6-fosfato es una conversión de una aldosa en una cetosa*. La reacción está catalizada por la *fosfoglucosa isomerasa*.



Esta isomerización es crucial porque en las etapas siguientes de la glucólisis solo se metabolizan moléculas de tres átomos de carbono. A diferencia de la fructosa 6-fosfato, la glucosa 6-fosfato no se escinde fácilmente en dos fragmentos de tres átomos de carbono. Tras la isomerización se produce una segunda reacción de fosforilación que atrapa al azúcar en la forma isomérica correspondiente a la fructosa. *El ATP fosforila a la fructosa 6-fosfato para producir fructosa 1,6-bisfosfato (F-1,6-BP).*



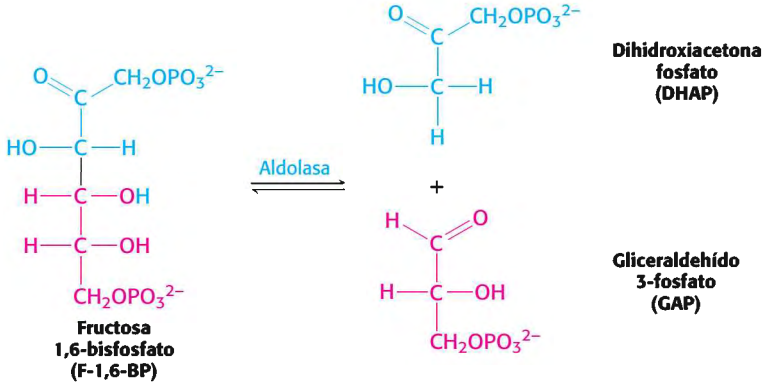
Fructosa 6-fosfato (F-6P) — **Fructosa 1,6-bisfosfato (F-1,6-BP)**

Esta reacción, que en las condiciones celulares es irreversible, está catalizada por la *fosfofructoquinasa* (PFK), una enzima alostérica que es la enzima reguladora clave de la glucólisis (p. 287).

En "bisfosfato", el prefijo *bis-* significa que hay dos grupos monofosforilo distintos mientras que en "difosfato" (como en adenosina difosfato), el prefijo *di-* significa que hay dos grupos fosforilo y que están unidos mediante un enlace anhídrido.

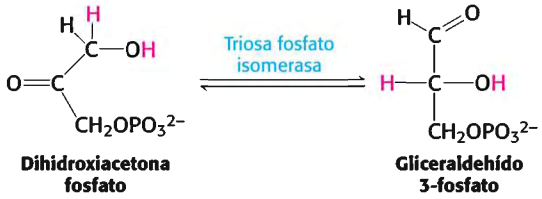
El azúcar de seis átomos de carbono se rompe en dos fragmentos de tres átomos de carbono

La segunda etapa de la glucólisis comienza tras la escisión de la fructosa 1,6-bisfosfato en dos triosas fosfato, el *gliceraldehído 3-fosfato* (GAP) y la *dihidroxiacetona fosfato* (DHAP). Los productos de los pasos restantes de la glucólisis son unidades de tres átomos de carbono en lugar de unidades de seis carbonos. Esta reacción, que es fácilmente reversible, está catalizada por la *aldolasa*.



Fructosa 1,6-bisfosfato (F-1,6-BP) — **Dihidroxiacetona fosfato (DHAP)** — **Gliceraldehído 3-fosfato (GAP)**

El gliceraldehído 3-fosfato se encuentra en la ruta directa de la glucólisis pero la dihidroxiacetona no. Estos compuestos son isómeros que se pueden interconvertir fácilmente de manera que no se malgaste un valioso fragmento de tres átomos de carbono, que se desperdiciaría si la dihidroxiacetona permaneciese en su forma no aprovechable. La isomerización de estos azúcares fosforilados de tres átomos de carbono está catalizada por la *triosa fosfato isomerasa* (TPI, aunque a veces también se utiliza la abreviatura TIM).



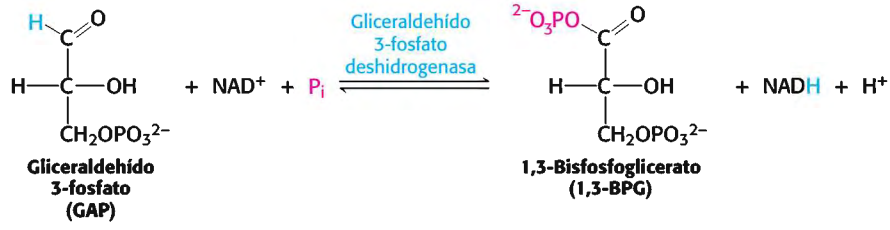
Dihidroxiacetona fosfato — **Gliceraldehído 3-fosfato**

Esta reacción es rápida y reversible. En el equilibrio, el 96% de la triosa fosfato se encuentra en forma de dihidroxiacetona fosfato. Sin embargo, no hay problema para

que la reacción convierta la dihidroxiacetona fosfato en gliceraldehído 3-fosfato, ya que las reacciones posteriores de la glucólisis van haciendo desaparecer este producto. Hay que señalar que la reacción catalizada por la fosfofructoquinasa mostrada anteriormente no solo estabiliza el isómero fructosa sino que también va allanando el camino para la generación de dos fragmentos fosforilados de tres átomos de carbono, los verdaderos sustratos de la fase de la glucólisis que genera ATP.

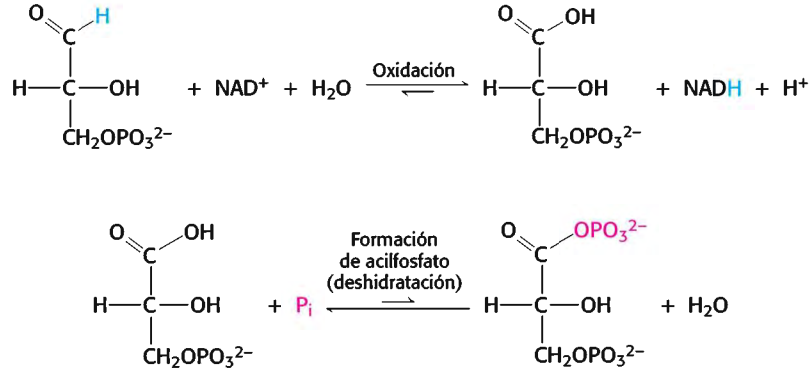
La oxidación de un aldehído impulsa la formación de un compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos

Los pasos anteriores de la glucólisis han transformado una molécula de glucosa en dos moléculas de gliceraldehído 3-fosfato, pero todavía no se ha extraído energía. Al contrario, hasta ahora, se han invertido dos moléculas de ATP. Llegamos ahora a la etapa final de la glucólisis, una serie de pasos que recogen en forma de ATP parte de la energía contenida en el gliceraldehído 3-fosfato. La reacción inicial de esta secuencia consiste en la *conversión del gliceraldehído 3-fosfato en 1,3-bisfosfoglicerato* (1,3-BPG), una reacción de oxidación-reducción catalizada por la *gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa*. Las deshidrogenasas son enzimas que catalizan reacciones de oxidación-reducción, a menudo transfiriendo un ion hidruro desde una molécula donadora hasta el NAD^+, o transfiriendo un ion hidruro desde el NADH hasta una molécula aceptora.



El 1,3-bisfosfoglicerato es un acilfosfato, que es un anhídrido mixto formado por el ácido fosfórico y un ácido carboxílico. Este tipo de compuestos posee un elevado potencial de transferencia de fosforilos (p. 254); en el siguiente paso de la glucólisis, uno de sus grupos fosforilo se transfiere al ADP.

Pero examinemos antes la reacción de la deshidrogenasa con cierto detalle porque ilustra la esencia de la transformación de la energía y del propio metabolismo: la energía de la oxidación del carbono queda atrapada en forma de un elevado potencial de transferencia de fosforilos. La reacción catalizada por la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa se puede considerar como la suma de dos procesos: la *oxidación* del aldehído (en este caso, el gliceraldehído 3-fosfato) a un ácido carboxílico por parte del NAD^+ y la *unión* del ácido carboxílico (3-fosfoglicerato) y el ortofosfato para formar el producto acilfosfato, el 1,3-bisfosfoglicerato.



La primera reacción es bastante favorable desde el punto de vista termodinámico, con un incremento de la energía libre estándar, $\Delta G^{\circ\prime}$, de aproximadamente -50 kJ mol^{-1} (-12 kcal mol^{-1}), mientras que la segunda reacción es bastante desfavorable, con un incremento de la energía libre estándar de igual magnitud pero de distinto signo. Si estas dos reacciones se produjesen simplemente una después de la otra, la segunda reacción no tendría lugar a una velocidad biológicamente significativa, debido a su muy elevada energía de activación (Figura 16.3). Estos dos procesos tienen que estar acoplados de modo que la favorable oxidación del aldehído se pueda utilizar para impulsar la formación del acilfosfato. ¿Cómo se acoplan estas reacciones? *La clave consiste en un intermediario que, tras la oxidación del aldehído, permanece unido a la enzima por medio de un enlace tioéster.* Este intermediario reacciona con el ortofosfato para formar el compuesto de alta energía 1,3-bisfosfoglicerato. *El intermediario tioéster tiene una energía libre intermedia entre el aldehído y el ácido carboxílico libre.* La reacción favorable de oxidación y la reacción desfavorable de fosforilación están acopladas mediante el intermediario tioéster, que conserva gran parte de la energía libre liberada durante la reacción de oxidación (ver la Figura 16.3B).

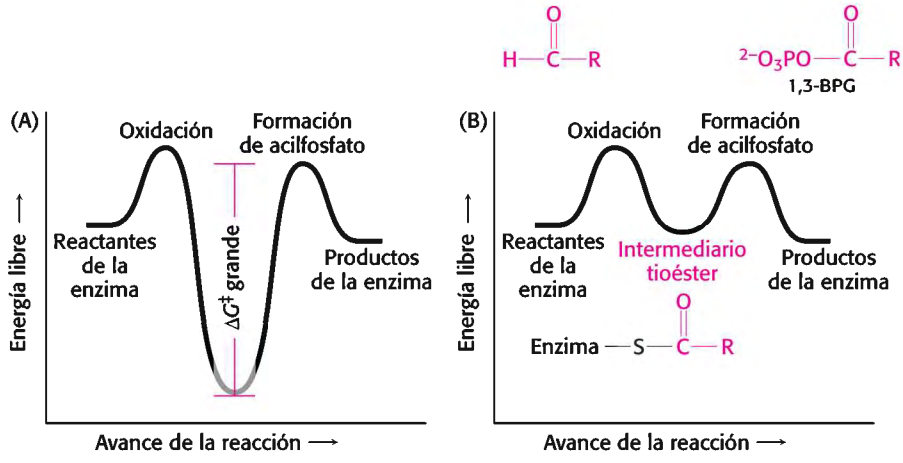
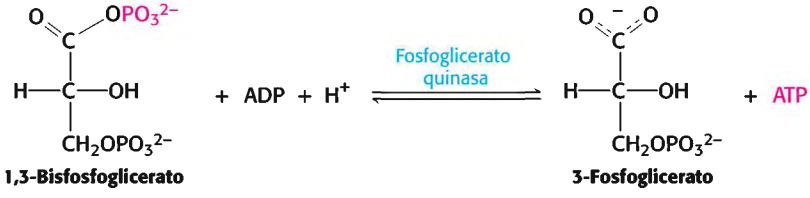


Figura 16.3 Perfiles de energía libre de la oxidación del gliceraldehído seguida de la formación del acilfosfato. (A) En un caso hipotético, en el que los dos procesos no están acoplados. El segundo paso debe tener una gran barrera de activación, lo que hace que la reacción sea muy lenta. (B) En el caso real, en el que las dos reacciones están acopladas mediante un intermediario tioéster. El intermediario tioéster es más estable que el reactante y, por tanto, su formación es espontánea. Sin embargo, el intermediario es menos estable que el producto, que se forma de manera espontánea. De este modo, se elimina la barrera que separa la oxidación de la formación del acilfosfato.

Se forma ATP mediante la transferencia de fosforilos a partir del 1,3-bisfosfoglicerato

El 1,3-bisfosfoglicerato es una molécula rica en energía con un potencial de transferencia de fosforilos mayor que el del ATP (p. 253). Por tanto, se puede utilizar el 1,3-BPG para impulsar la síntesis de ATP a partir de ADP y ortofosfato. La *fosfoglicerato quinasa* cataliza la transferencia del grupo fosforilo desde el acilfosfato del 1,3-bisfosfoglicerato al ADP. Los productos son ATP y 3-fosfoglicerato.



Cuando se forma ATP de esta manera se dice que ha habido una *fosforilación a nivel de sustrato* porque el donador de fosfato, el 1,3-BPG, es un sustrato de la quinasa con un elevado potencial de transferencia de fosforilos. En los Capítulos 20 y 21, compararemos esta manera de generar ATP con la formación de ATP a partir de gradientes iónicos.

Por tanto, ahora empezamos a ver un retorno de nuestra inversión inicial de dos moléculas de ATP en la etapa 1. Si retrocedemos un paso en la ruta hasta el

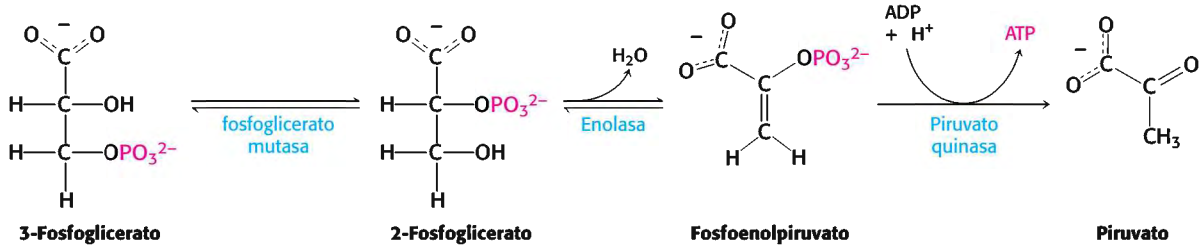
gliceraldehído 3-fosfato, descubrimos que el resultado de las reacciones catalizadas por la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa y la fosfoglicerato quinasa es el siguiente:

1. El gliceraldehído 3-fosfato, un aldehído, se oxida a 3-fosfoglicerato, un ácido carboxílico.
2. Al mismo tiempo, el NAD^+ se reduce a NADH.
3. Se forma ATP a partir de ADP y P_i, a costa de la energía de la oxidación del carbono.

En esencia, la energía liberada durante la oxidación del gliceraldehído 3-fosfato a 3-fosfoglicerato queda retenida temporalmente en forma de 1,3-bisfosfoglicerato. Esta energía impulsa la transferencia de un grupo fosforilo desde el 1,3-bisfosfoglicerato al ADP para producir ATP. No olvidemos que, gracias a la acción de la aldolasa y de la triosa fosfato isomerasa sobre la fructosa 1,6-bisfosfato al final de la etapa 1, se formaron dos moléculas de gliceraldehído 3-fosfato y, por tanto, se han generado dos moléculas de ATP. Estas moléculas de ATP compensan las dos moléculas de ATP consumidas en la primera etapa de la glucólisis.

Se genera otro ATP durante la formación del piruvato

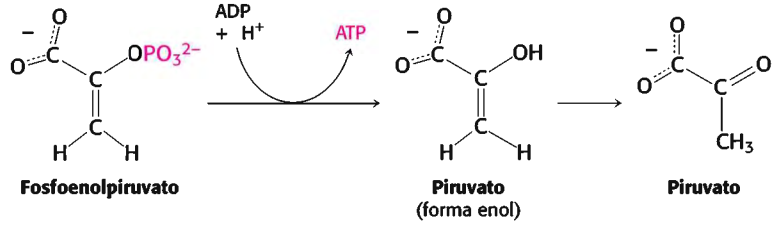
En los pasos restantes de la glucólisis, el 3-fosfoglicerato se convierte en piruvato y se genera una segunda molécula de ATP a partir del ADP.



La primera reacción es una reorganización. *El 3-fosfoglicerato se convierte en 2-fosfoglicerato* por la *fosfoglicerato mutasa*, que cambia la posición del grupo fosforilo. En general, una *mutasa* es una enzima que cataliza el desplazamiento intramolecular de un grupo químico, como, por ejemplo, un grupo fosforilo.

En la siguiente reacción, la deshidratación del 2-fosfoglicerato catalizada por la enolasa introduce un doble enlace, creando un *enolfosfato*, un tipo de molécula inestable en comparación con el 2-fosfoglicerato. La *enolasa* cataliza la formación del enolfosfato *fosfoenolpiruvato* (PEP). Esta deshidratación eleva notablemente el potencial de transferencia del grupo fosforilo.

¿Por qué tiene el fosfoenolpiruvato un potencial de transferencia de fosforilos tan elevado? El grupo fosforilo obliga a la molécula a adoptar la forma enol, inestable. Cuando el grupo fosforilo se transfiere al ADP para formar ATP, el enol se puede convertir en una cetona, más estable —concretamente, en piruvato.



Por tanto, se forma piruvato y, al mismo tiempo, se genera ATP. La transferencia prácticamente irreversible de un grupo fosforilo del fosfoenolpiruvato al ADP está

catalizada por la *piruvato quinasa*. Como las dos moléculas de ATP utilizadas durante la formación de fructosa 1,6-bisfosfato se regeneraron durante la creación de dos moléculas de 3-fosfoglicerato, las dos moléculas de ATP generadas a partir de las dos moléculas de fosfoenolpiruvato son "ganancia neta".

¿Cuál es la fuente de energía para la formación del fosfoenolpiruvato? La respuesta a esta pregunta es evidente si comparamos las estructuras del 2-fosfoglicerato y del piruvato. La formación de piruvato a partir de 2-fosfoglicerato es, básicamente, una reacción interna de oxidación-reducción; cuando el 2-fosfoglicerato se convierte en piruvato, el carbono 3 acepta electrones del carbono 2. En comparación con el 2-fosfoglicerato, el C-3 del piruvato está más reducido mientras que el C-2 se encuentra más oxidado. De nuevo, la oxidación del carbono impulsa la síntesis de un compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos —el fosfoenolpiruvato en este caso y el 1,3-bisfosfoglicerato anteriormente—, lo que permite la síntesis de ATP.

Durante la conversión de glucosa en piruvato se forman dos moléculas de ATP

La reacción neta de la transformación de glucosa en piruvato es

$$\text{Glucosa} + 2\ P_i + 2\ ADP + 2\ NAD^+ \longrightarrow$$
$$2\ \text{piruvato} + 2\ ATP + 2\ NADH + 2\ H^+ + 2\ H_2O$$

Por tanto, *durante la conversión de glucosa en dos moléculas de piruvato se generan dos moléculas de ATP*. Las reacciones de la glucólisis se resumen en la **Tabla 16.1** de las páginas 279 y 280.

Hay que señalar que la energía liberada durante la conversión anaeróbica de glucosa en dos moléculas de piruvato es de unos -90 kJ mol^{-1} (-22 kcal mol^{-1}). En los Capítulos 20 y 21, veremos que, en presencia de oxígeno, se puede liberar mucha más energía a partir de la glucosa.

? PREGUNTA RÁPIDA 1 En el metabolismo de la glucosa a dos moléculas de piruvato, el rendimiento bruto de ATP es de cuatro moléculas de ATP. Sin embargo, el rendimiento neto es de tan solo dos moléculas de ATP. ¿Por qué son distintos los valores bruto y neto?



Niacina La niacina, también denominada vitamina B_3, es un componente de las coenzimas NAD^+ y $NADP^+$ (pp. 257-259), que se utilizan en las reacciones de transferencia de electrones. Hay muchas fuentes de niacina, entre las que se incluye la pechuga de pollo. La insuficiencia de niacina da lugar a la pelagra, una enfermedad que provoca dermatitis, demencia y diarrea, y que puede llegar a ser mortal.

16.2 El metabolismo del piruvato regenera el NAD^+

La conversión de glucosa en dos moléculas de piruvato da como resultado la síntesis neta de ATP. Sin embargo, una ruta de conversión de energía que se detenga en el piruvato no podría funcionar durante mucho tiempo porque no se mantendría el balance redox. Este desequilibrio se debe a la actividad de la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa que, al oxidar el gliceraldehído 3-fosfato, provoca necesariamente la reducción del NAD^+ a NADH. En la célula hay una cantidad limitada de NAD^+, que procede de la vitamina niacina, un requerimiento nutricional para los seres humanos. En consecuencia, para que la glucólisis prosiga se tiene que regenerar el NAD^+. Por tanto, el proceso final de la ruta consiste en la regeneración del NAD^+ mediante el metabolismo del piruvato.

✓ 2 Explicar por qué la regeneración del NAD^+ resulta crucial para las fermentaciones.

Las fermentaciones son una forma de oxidar el NADH

En la mayoría de los organismos y en casi todos los tipos celulares, la secuencia de reacciones desde la glucosa hasta el piruvato es parecida. Por el contrario, el destino del piruvato varía. De especial importancia son tres reacciones del piruvato: su conversión en etanol, en lactato, o en dióxido de carbono y agua (**Figura 16.4**). Las primeras dos reacciones son fermentaciones que tienen lugar en ausencia de oxígeno. *Las fermentaciones son procesos generadores de ATP en el que los compuestos orgánicos actúan como donadores y como aceptores de electrones.* En presencia de oxígeno, la situación más frecuente en los organismos pluricelulares y en muchos unicelulares, el piruvato se metaboliza a dióxido de carbono y agua a través del ciclo del ácido cítrico y la cadena transportadora de electrones. En estas circunstancias, el oxígeno acepta

Tabla 16.1 Reacciones de la glucólisis

Paso	Reacción
1	Glucosa + ATP ⟶ glucosa 6-fosfato + ADP + H^+
2	Glucosa 6-fosfato ⇌ fructosa 6-fosfato
3	Fructosa 6-fosfato + ATP ⟶ fructosa 1,6-bisfosfato + ADP + H^+
4	Fructosa 1,6-bisfosfato ⇌ dihidroxiacetona fosfato + gliceraldehído 3-fosfato
5	Dihidroxiacetona fosfato ⇌ gliceraldehído 3-fosfato
6	Gliceraldehído 3-fosfato + Pi + NAD^+ ⇌ 1,3-bisfosfoglicerato + NADH + H^+
7	1,3-Bisfosfoglicerato + ADP ⇌ 3-fosfoglicerato + ATP
8	3-Fosfoglicerato ⇌ 2-fosfoglicerato
9	2-Fosfoglicerato ⇌ fosfoenolpiruvato + H_2O
10	Fosfoenolpiruvato + ADP + H+ ⟶ piruvato + ATP

Nota: ΔG, el incremento real de energía libre, se ha calculado a partir del $\Delta G°'$ y de las concentraciones conocidas de los reactantes en condiciones fisiológicas normales. La glucólisis solo puede producirse si los valores de ΔG de todas las reacciones son negativos. Los valores pequeños y positivos de ΔG en tres de las reacciones mostradas más arriba indican que las concentraciones de los metabolitos *in vivo* en las células donde se está produciendo la glucólisis no se conocen con exactitud.

electrones y protones para formar agua. A continuación, vamos a examinar más detenidamente estos tres posibles destinos del piruvato.

1. En levaduras y en algunos otros microorganismos se forma *etanol* a partir de piruvato. El primer paso consiste en la descarboxilación del piruvato. Esta reacción está catalizada por la *piruvato descarboxilasa*, que necesita la coenzima tiamina pirofosfato. Esta coenzima procede de la vitamina tiamina (B_1). El segundo paso es la reducción del acetaldehído a etanol por parte del NADH, en una reacción catalizada por la *alcohol deshidrogenasa*. Por tanto, en esta fermentación el compuesto orgánico que acepta los electrones es el acetaldehído. Esta reacción regenera el NAD^+.

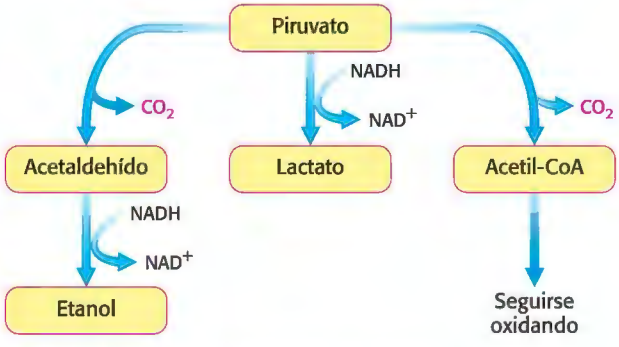
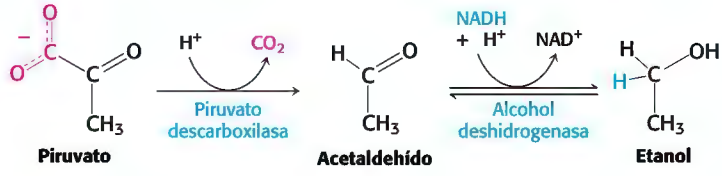


Figura 16.4 Diversos destinos del piruvato. El etanol y el lactato se pueden formar mediante reacciones que incluyen al NADH. Alternativamente, se puede acoplar una unidad de dos átomos de carbono procedente del piruvato a la coenzima A para formar acetil-CoA (ver el Capítulo 18).

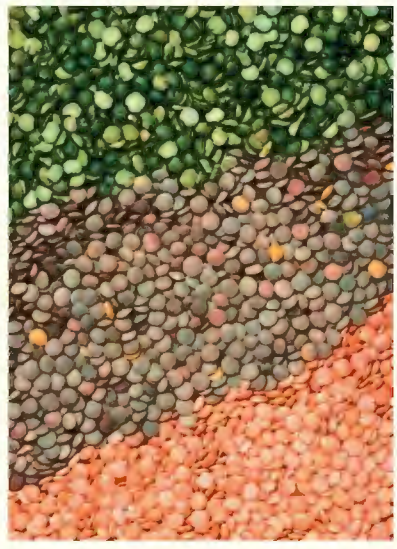


La conversión de glucosa en etanol es un ejemplo de *fermentación alcohólica*. El resultado neto de este proceso anaeróbico es

$$\text{Glucosa} + 2\,P_i + 2\,\text{ADP} + 2\,H^+ \longrightarrow 2\,\text{etanol} + 2\,CO_2 + 2\text{ATP} + 2\,H_2O$$

Hay que señalar que el NAD^+ y el NADH no aparecen es esta ecuación, a pesar de que son esenciales para el proceso global. El NADH que se genera durante la oxidación del gliceraldehído 3-fosfato se consume en la reducción del acetaldehído a etanol. Así, *durante la conversión de glucosa en etanol no hay una oxidación-reducción neta* (**Figura 16.5**). El etanol que se forma en la fermentación

Enzima	Tipo de reacción	$\Delta G°'$ en kJ mol^{-1} (kcal mol^{-1})	ΔG en kJ mol^{-1} (kcal mol^{-1})
Hexoquinasa	Transferencia de fosforilos	−16,7 (− 4,0)	−33,5 (− 8,0)
Fosfoglucosa isomerasa	Isomerización	+1,7 (+ 0,4)	−2,5 (− 0,6)
Fosfofructoquinasa	Transferencia de fosforilos	−14,2 (−3,4)	−22,2 (− 5,3)
Aldolasa	Escisión aldólica	+23,8 (+5,7)	−1,3 (− 0,3)
Triosa fosfato isomerasa	Isomerización	+7,5 (+1,8)	+2,5 (+ 0,6)
Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa	Fosforilación acoplada a una oxidación	+ 6,3 (+1,5)	−1,7 (− 0,4)
Fosfoglicerato quinasa	Transferencia de fosforilos	−18,8 (− 4,5)	+1,3 (+ 0,3)
Fosfoglicerato mutasa	Desplazamiento de fosforilos	+ 4,6 (+1,1)	+0,8 (+ 0,2)
Enolasa	Deshidratación	+1,7 (+ 0,4)	−3,3 (− 0,8)
Piruvato quinasa	Transferencia de fosforilos	−31,4 (−7,5)	−16,7 (− 4,0)



Tiamina La tiamina, también denominada vitamina B_1, es un componente de la coenzima tiamina pirofosfato (TPP), que se utiliza en reacciones de descarboxilación. El cerdo y las legumbres son buenas fuentes de tiamina. Una insuficiencia de tiamina da lugar al beriberi, cuyos síntomas incluyen debilidad muscular, anorexia y agrandamiento del corazón.

alcohólica es un ingrediente clave en la elaboración de cerveza y vino, y el dióxido de carbono que se forma es responsable, en parte, de la efervescencia de la cerveza y del champán.

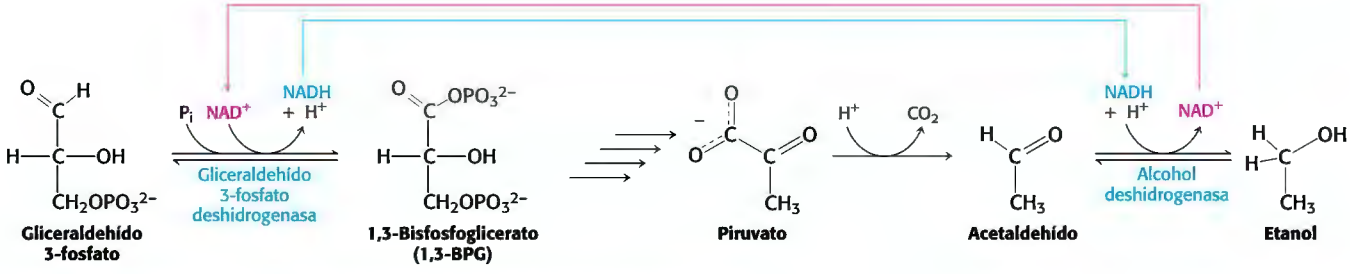
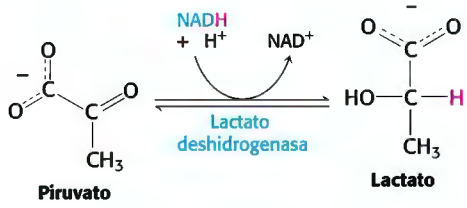


Figura 16.5 Mantenimiento del balance redox en la fermentación alcohólica. El NADH producido por la reacción de la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa se tiene que volver a oxidar a NAD^+ para que continúe la ruta glucolítica. En la fermentación alcohólica, la alcohol deshidrogenasa oxida el NADH y genera etanol.

2. Diversos microorganismos forman *lactato* a partir de piruvato mediante un proceso denominado *fermentación láctica*. Cuando la cantidad de oxígeno disponible es limitada, como, por ejemplo, cuando la actividad de las células del músculo esquelético es intensa, esta reacción también se produce en las células de los organismos superiores. El piruvato acepta los electrones del NADH para formar lactato en una reacción catalizada por la *lactato deshidrogenasa*.



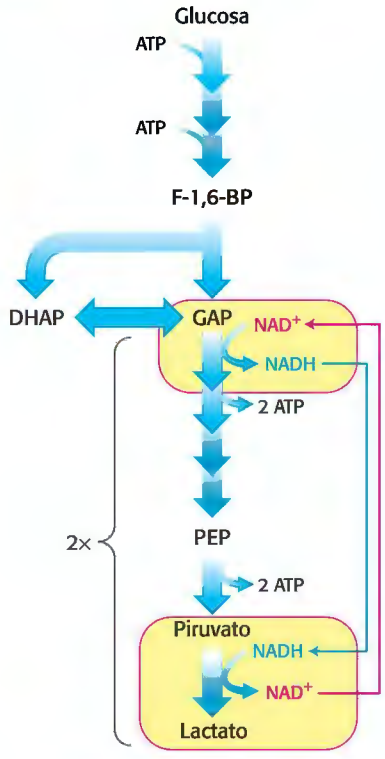


Figura 16.6 Mantenimiento del balance redox en la fermentación láctica. En la fermentación láctica, la lactato deshidrogenasa oxida el NADH para producir ácido láctico y regenerar el NAD^+.

? PREGUNTA RÁPIDA 2 La fermentación láctica y la fermentación alcohólica son reacciones de oxidación-reducción. Identifique el donador final y el aceptor final de los electrones.

La reacción global de la conversión de glucosa en lactato es

$$\text{Glucosa} + 2\,P_i + 2\,\text{ADP} \longrightarrow 2\,\text{lactato} + 2\,\text{ATP} + 2\,H_2O$$

Al igual que en la fermentación alcohólica, no hay una oxidación-reducción neta. El NADH que se forma durante la oxidación del gliceraldehído 3-fosfato se consume durante la reducción del piruvato (**Figura 16.6**). *La regeneración del NAD^+ que se produce durante la reducción del piruvato a lactato o a etanol permite el funcionamiento continuado del proceso de la glucólisis en condiciones anaeróbicas.*

3. En la conversión anaeróbica de la glucosa a etanol o a lactato solo se libera una parte de su energía. Se puede extraer mucha más energía en condiciones aerobias por medio del ciclo del ácido cítrico y de la cadena transportadora de electrones, que queman, u oxidan, completamente la glucosa hasta CO_2 y H_2O. El punto de entrada a esta ruta oxidativa es la *acetil-coenzima A* (acetil-CoA), que se forma a partir del piruvato en el interior de las mitocondrias.

$$\text{Piruvato} + NAD^+ + \text{CoA} \longrightarrow \text{acetil-CoA} + CO_2 + \text{NADH}$$

Esta reacción se analizará detalladamente en el Capítulo 18. El NAD^+ necesario para esta reacción y para la oxidación del gliceraldehído 3-fosfato se regenera en la cadena transportadora de electrones de las mitocondrias (Capítulo 20).

En ausencia de oxígeno, las fermentaciones proporcionan energía útil

Las fermentaciones solo obtienen una parte de la energía disponible a partir de la combustión completa de la glucosa. ¿Por qué se utiliza tanto una ruta metabólica relativamente poco eficaz? La razón fundamental es que las fermentaciones no necesitan oxígeno. La capacidad para sobrevivir en ausencia de oxígeno permite vivir en un gran número de lugares, como, por ejemplo, suelos, aguas profundas o los poros de la piel. Algunos organismos, los denominados *anaerobios obligados*, no pueden sobrevivir en presencia de O_2, que es un compuesto muy reactivo. La bacteria *Clostridium perfringens*, que es la causante de la gangrena, es un ejemplo de un anaerobio obligado. En la **Tabla 16.2** se citan otros anaerobios obligados patogénicos.

En la mayoría de los animales, los músculos esqueléticos pueden funcionar de forma anaerobia durante un corto periodo de tiempo. Por ejemplo, cuando los animales tienen un arranque de ejercicio intenso, sus requerimientos de ATP aumentan más rápidamente que la capacidad del organismo para suministrar oxígeno al músculo. El músculo funciona de forma anaerobia hasta que le vence la fatiga, causada, en parte, por la acumulación de lactato. El ardor que se siente en los músculos durante un episodio de ejercicio intenso se debe a la acumulación de ácido láctico.

Muchos productos alimenticios, incluyendo la crema agria, el yogur, diversos quesos, la cerveza, el vino y la col fermentada son resultado de fermentaciones. El yogur se produce por la fermentación de la lactosa de la leche a lactato en un cultivo mixto de *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus thermophilus*. La crema agria se prepara a partir de una nata ligera pasteurizada que es fermentada a lactato por

Tabla 16.2 Ejemplos de patógenos anaerobios obligados

Bacteria	Resultado de la infección
Clostridium tetani	Tétanos
Clostridium botulinum	Botulismo (un tipo de intoxicación alimentaria especialmente grave)
Clostridium perfringens	Gangrena gaseosa (el gas se produce como producto final de la fermentación, lo que deforma y destruye el tejido)
Bartonella hensela	Fiebre por arañazo de gato (síntomas parecidos a los de la gripe)
Bacteroides fragilis	Infecciones abdominales, pélvicas, pulmonares y de la sangre

Streptococcus lactis. El lactato se sigue fermentando a cetonas y aldehídos por parte de *Leuconostoc citrovorum*. La segunda fermentación contribuye al sabor y al aroma de la crema agria. La levadura *Saccharomyces cerevisiae* fermenta carbohidratos a etanol y dióxido de carbono, aportando algunos de los ingredientes necesarios para fabricar diversas bebidas alcohólicas. Aunque solo hemos considerado la fermentación láctica y la fermentación alcohólica, los microorganismos son capaces de generar una amplia gama de moléculas, como productos finales de procesos de fermentación.

La fermentación es un proceso generador de ATP en el que los compuestos orgánicos actúan como donadores y como aceptores de electrones. La fermentación puede tener lugar en ausencia de O_2. Louis Pasteur, el descubridor de la fermentación, la describió como *la vie sans l'air* ("vida en ausencia de aire").

16.3 La fructosa y la galactosa se convierten en intermediarios de la glucólisis

Aunque la glucosa es el monosacárido que se utiliza con más frecuencia como fuente de energía, otros monosacáridos también son combustibles importantes. Veamos cómo se pueden canalizar dos azúcares abundantes —la fructosa y la galactosa— hacia la ruta glucolítica (**Figura 16.7**). La fructosa es uno de los componentes de la sacarosa o azúcar de mesa (p. 164) y del sirope de maíz con alto contenido en fructosa, que se utiliza como edulcorante de muchos alimentos y bebidas. La galactosa es uno de los componentes de la lactosa, el azúcar de la leche. No hay rutas catabólicas dedicadas a metabolizar la fructosa o la galactosa, como ocurre en el caso de la glucosa, de modo que la estrategia consiste en convertir estos azúcares en un intermediario de la glucólisis.

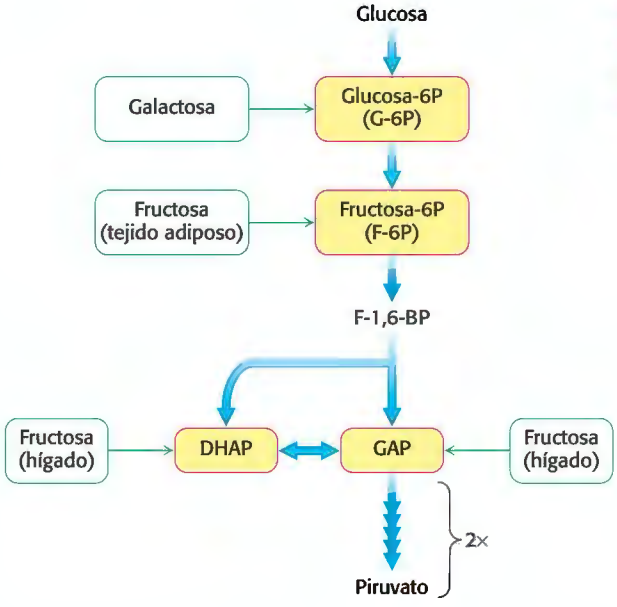


Figura 16.7 Puntos de entrada de la galactosa y de la fructosa en la glucólisis.

La fructosa puede entrar en la ruta glucolítica de dos maneras. Gran parte de la fructosa ingerida se metaboliza en el hígado por medio de la *ruta de la fructosa 1-fosfato* (**Figura 16.8**). El primer paso consiste en la fosforilación de la *fructosa* a *fructosa 1-fosfato* por parte de la *fructoquinasa*. A continuación, la fructosa 1-fosfato se escinde en *gliceraldehído* y *dihidroxiacetona fosfato*, un intermediario de la glucólisis. Esta escisión aldólica está catalizada por una *fructosa 1-fosfato aldolasa* específica. La dihidroxiacetona fosfato se incorpora a la etapa 2 de la glucólisis, mientras que el gliceraldehído es fosforilado a *gliceraldehído 3-fosfato*, un intermediario de la glucólisis, por la *triosa quinasa*. En otros tejidos, *la hexoquinasa puede fosforilar la fructosa para generar fructosa 6-fosfato, un intermediario de la glucólisis.*

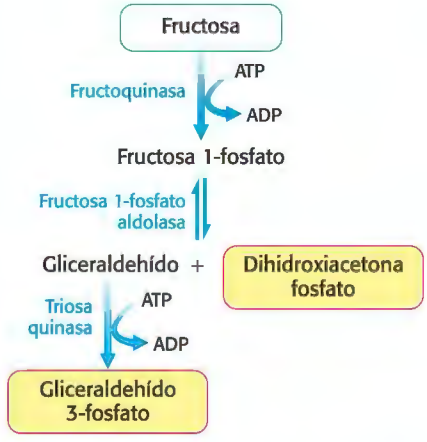
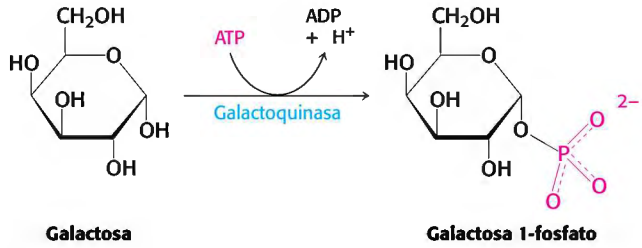


Figura 16.8 Metabolismo de la fructosa. En el hígado, la fructosa se incorpora a la ruta glucolítica a través de la ruta de la fructosa 1-fosfato.

La *galactosa* se convierte en *glucosa 6-fosfato* en cuatro pasos. La primera reacción de la *ruta de interconversión galactosa-glucosa* es la fosforilación de la galactosa a galactosa 1-fosfato por parte de la *galactoquinasa*.



A continuación, la galactosa 1-fosfato adquiere un grupo uridilo procedente de la uridina difosfato glucosa (UDP-glucosa), que activa el azúcar fosfato de forma que se pueda convertir en glucosa (**Figura 16.9**).

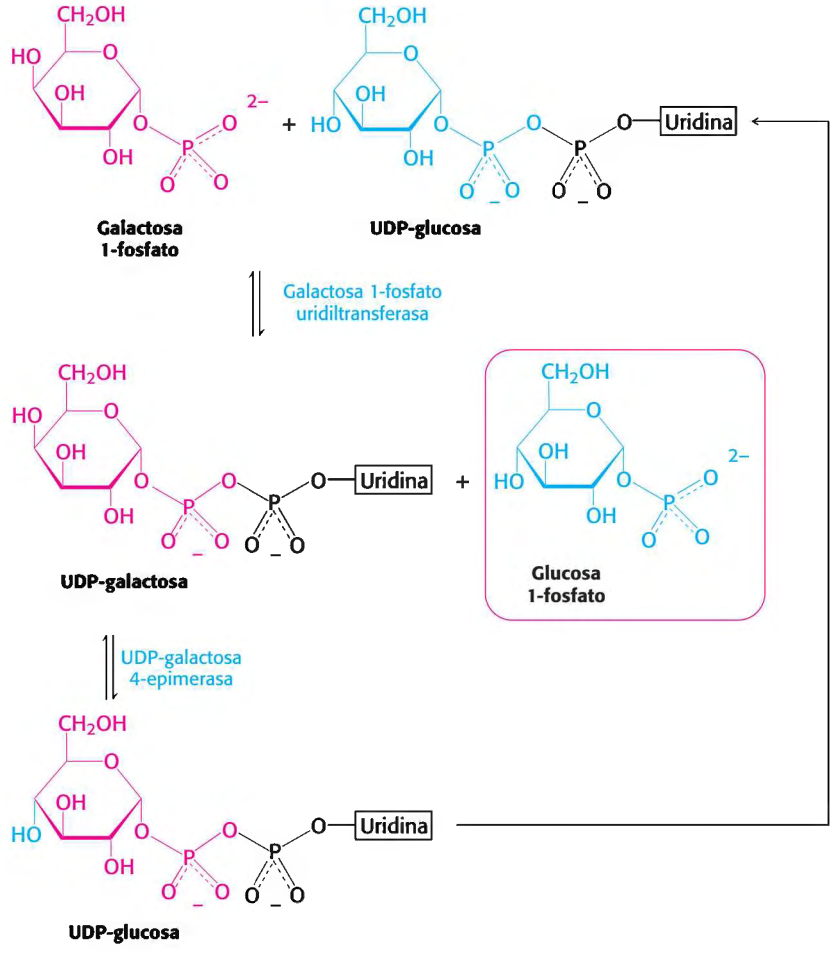


Figura 16.9 Metabolismo de la galactosa. La galactosa 1-fosfato reacciona con la glucosa activada (UDP-glucosa) para formar UDP-galactosa, que posteriormente se convierte en UDP-glucosa.

Los UDP-monosacáridos son otro ejemplo de intermediarios activados (p. 257) y aparecen como intermediarios en la síntesis de enlaces glicosídicos, los enlaces que se establecen entre los monosacáridos. Los productos de esta reacción, que está catalizada por la *galactosa 1-fosfato uridil transferasa*, son la UDP-galactosa y la glucosa 1-fosfato. A continuación, la unidad de galactosa de la UDP-galactosa epimeriza a glucosa gracias a la UDP-galactosa 4-epimerasa. Para generar glucosa, la epimerasa invierte la configuración del grupo hidroxilo del carbono 4.

La suma de las reacciones catalizadas por la galactoquinasa, la transferasa y la epimerasa es

$$\text{Galactosa} + \text{ATP} \longrightarrow \text{glucosa 1-fosfato} + \text{ADP} + \text{H}^+$$

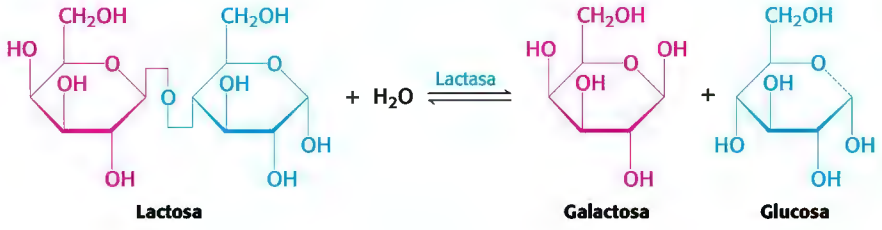
Hay que señalar que durante la conversión de galactosa en glucosa no se consume UDP-glucosa, ya que es regenerada a partir de la UDP-galactosa por la epimerasa. Esta reacción es reversible y el producto de la reacción en sentido inverso también es importante. La conversión de UDP-glucosa en UDP-galactosa es esencial para la síntesis de polisacáridos complejos y glicoproteínas (Capítulo 10). Normalmente, se utiliza la galactosa con este fin, pero si la cantidad de galactosa en la dieta es insuficiente para satisfacer estas necesidades, se utiliza la UDP-galactosa.

Por último, la glucosa 1-fosfato formada a partir de la galactosa es isomerizada a glucosa 6-fosfato por la *fosfoglucomutasa*. En los Capítulos 24 y 25, volveremos sobre esta reacción, cuando se considere la síntesis y la degradación del glucógeno, que tiene lugar a través de la glucosa 1-fosfato.

Aspecto clínico

Muchos adultos sufren intolerancia a la leche por una insuficiencia de lactasa

Muchos adultos son incapaces de metabolizar la lactosa, el azúcar de la leche, y sufren molestias gastrointestinales si beben leche. La causa más frecuente de la *intolerancia a la lactosa* o hipolactasia, es la insuficiencia de la enzima lactasa, que escinde la lactosa en glucosa y galactosa.



El término "insuficiencia" no es el más apropiado, ya que en el transcurso del desarrollo de todos lo mamíferos la disminución de la lactasa es normal. A medida que los niños se destetan y la leche se hace menos importante en sus dietas, la actividad de la lactosa disminuye normalmente hasta el 5% o el 10% de su nivel al nacer. En algunos grupos de personas, este descenso no es tan pronunciado, especialmente en el norte de Europa, y estas personas pueden seguir ingiriendo leche sin padecer trastornos gastrointestinales (**Figura 16.10**). Con la aparición de los animales domésticos pro-

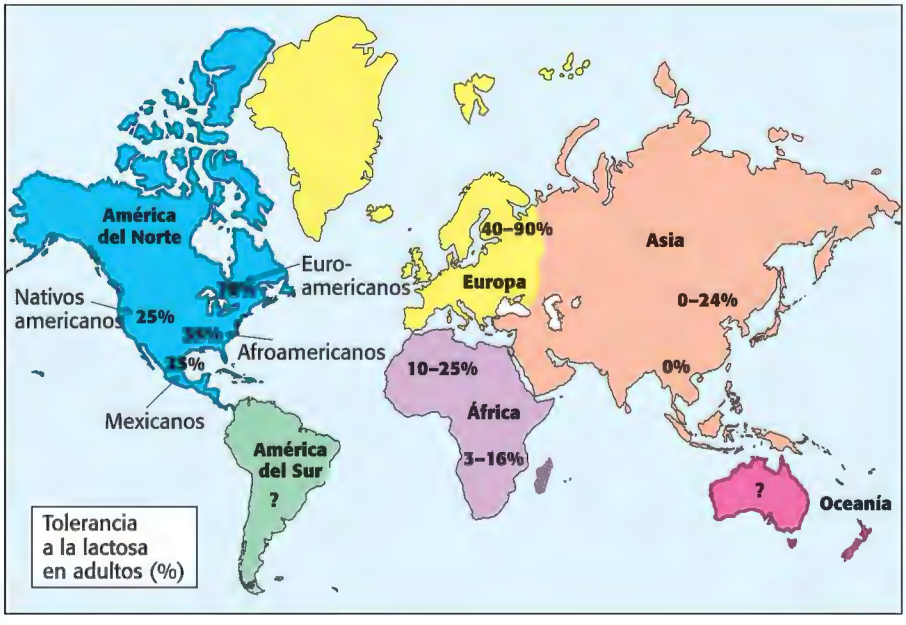


Figura 16.10 La tolerancia a la lactosa es más frecuente en Europa. Apareció una mutación que impedía la disminución de la actividad de la lactasa en adultos. Esta mutación resultó beneficiosa gracias a la disponibilidad de leche procedente de las explotaciones lecheras. Los signos de interrogación del mapa indican los lugares de donde no se dispone de datos suficientes. [Tomado de J. W. Kalat, *Introduction to Psychology*, 8.ª ed. (Wadsworth, 2007), Fig. 10.11.]

ductores de leche, un adulto con lactasa activa tendría, en teoría, una ventaja selectiva al ser capaz de consumir calorías procedentes de la leche, fácilmente asequible. Como las explotaciones lecheras se originaron hace tan solo 10.000 años, la presión selectiva de la evolución a favor de la persistencia de la lactasa tiene que haber sido considerable, lo que acredita el interés bioquímico de ser capaz de utilizar la leche como fuente de energía en la etapa adulta.

¿Qué le ocurre a la lactosa en el intestino de una persona con insuficiencia de lactasa? La lactosa es una buena fuente de energía para los microorganismos del colon y la fermentan a ácido láctico pero, al mismo tiempo, también generan metano (CH_4) e hidrógeno gaseoso (H_2). El gas crea la desagradable sensación de tener el vientre hinchado y el molesto problema de la flatulencia. El lactato producido por los microorganismos atrae agua hacia el intestino, al igual que la lactosa sin digerir, lo que provoca diarrea. Si es lo suficientemente grave, el gas y la diarrea impiden la absorción de otros nutrientes como grasas y proteínas. El tratamiento más sencillo consiste en evitar el consumo de productos que contengan mucha lactosa. Alternativamente, se puede ingerir la enzima lactasa junto con los productos lácteos. ■

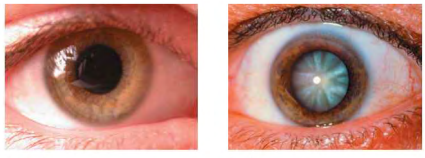
Aspecto clínico

La galactosa es muy tóxica si falta la transferasa

Menos frecuentes que la intolerancia a la lactosa son los trastornos que interfieren con el metabolismo de la galactosa. La interrupción del metabolismo de la galactosa se conoce con el nombre de *galactosemia*. La forma más frecuente, la denominada galactosemia clásica, es una insuficiencia hereditaria de la actividad de la galactosa 1-fosfato uridiltransferasa. Los niños afectados no se desarrollan bien. Tras consumir leche, vomitan o sufren diarrea, y es frecuente que se les agrande el hígado y sufran una ictericia que, en ocasiones, puede derivar en cirrosis. Se formarán cataratas y también es frecuente que padezcan letargo y retraso mental. El nivel de galactosa en sangre es muy elevado y aparece galactosa en la orina. La ausencia de la transferasa en los glóbulos rojos es el criterio definitivo para el diagnóstico.

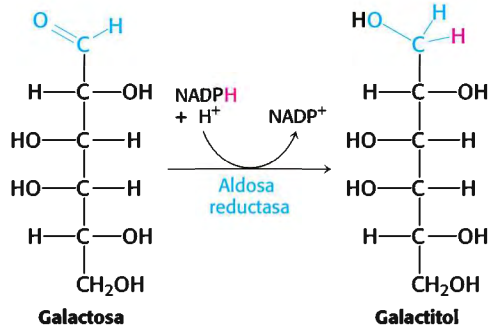
El tratamiento más frecuente consiste en eliminar la galactosa (y la lactosa) de la dieta. Uno de los enigmas de la galactosemia es que, aunque la eliminación de la galactosa de la dieta evita las enfermedades hepáticas y el desarrollo de cataratas, la mayoría de los pacientes siguen sufriendo trastornos en el funcionamiento del sistema nervioso central, siendo el más frecuente un retraso en el desarrollo del lenguaje. Las mujeres también muestran disfunción ovárica.

La formación de cataratas se entiende mejor. Una catarata es el enturbiamiento del cristalino del ojo, que normalmente es transparente (**Figura 16.11**). Si la transferasa no es activa en el cristalino del ojo, la presencia de la aldosa reductasa hace que la galactosa que se va acumulando se reduzca a galactitol.



(A) (B)

Figura 16.11 Las cataratas se detectan por el enturbiamiento del cristalino. (A) Un ojo sano. (B) Un ojo con cataratas. [(A) © Imageafter; (B) SPL/Photo Researchers.]



El galactitol es osmóticamente activo y el agua difundirá hacia el cristalino, provocando la formación de cataratas. De hecho, en las poblaciones que consumen cantidades considerables de leche en la etapa adulta hay una alta incidencia de formación de cataratas, incluso entre quienes no sufren galactosemia. ■

16.4 La ruta glucolítica está sometida a un control muy riguroso

La ruta glucolítica tiene una doble función: degrada la glucosa para generar ATP y proporciona materiales de construcción para las reacciones sintéticas, como, por ejemplo, la formación de ácidos grasos y aminoácidos. La velocidad de conversión de la glucosa en piruvato está regulada para satisfacer estos dos principales requerimientos celulares. *En las rutas metabólicas, los posibles puntos de control son las enzimas que catalizan reacciones prácticamente irreversibles.* En la glucólisis, las reacciones catalizadas por la hexoquinasa, la fosfofructoquinasa y la piruvato quinasa son prácticamente irreversibles y se encuentran muy lejos del equilibrio; por tanto, sería de esperar que estas enzimas tengan un papel regulador, además del catalítico. De hecho, todas ellas se utilizan como puntos de control. Estas enzimas se vuelven más o menos activas en respuesta a la unión reversible de efectores alostéricos o a modificaciones covalentes. Examinaremos el control de la glucólisis en dos tejidos distintos —el músculo esquelético y el hígado.

En el músculo, la glucólisis se regula mediante retroinhibición para satisfacer las necesidades de ATP

En el músculo esquelético, la glucólisis proporciona ATP fundamentalmente para impulsar la contracción. En consecuencia, el control primario de la glucólisis muscular es la carga energética de la célula —la proporción ATP/AMP. A medida que la carga energética disminuye, se estimula la glucólisis— una señal de que la célula necesita más ATP. Veamos cómo responde cada una de las enzimas reguladoras clave a los cambios en la concentración celular de ATP y de AMP.

Fosfofructoquinasa. *En mamíferos, la fosfofructoquinasa es el punto de control más importante de la ruta glucolítica.* Niveles elevados de ATP inhiben alostéricamente la enzima (un tetrámero de 340 kDa). El ATP se une a un lugar regulador específico distinto del centro catalítico. La unión del ATP reduce la afinidad de la enzima hacia la fructosa 6-fosfato. El AMP invierte el efecto inhibidor del ATP. El AMP compite con el ATP por el lugar de unión pero, una vez unido, no inhibe la enzima. En consecuencia, *cuando el cociente ATP/AMP disminuye, aumenta la actividad de la enzima* (**Figura 16.12**). Una disminución del pH también inhibe la actividad de la fosfofructoquinasa, ya que aumenta el efecto inhibidor del ATP. El pH puede bajar cuando el músculo está funcionando de forma anaerobia, produciendo una cantidad excesiva de ácido láctico. La inhibición de la glucólisis y, por tanto, de la fermentación láctica, protege el músculo de los daños que podrían producirse por la acumulación de demasiado ácido.

¿Por qué es el AMP y no el ADP el que estimula la actividad de la fosfofructoquinasa? Cuando el ATP se utiliza rápidamente, la enzima *adenilato quinasa* puede formar ATP a partir del ADP mediante la siguiente reacción:

$$\text{ADP} + \text{ADP} \rightleftharpoons \text{ATP} + \text{AMP}$$

Por tanto, se recupera algo de ATP a partir del ADP, y el AMP se convierte en la señal de que el nivel energético es bajo.

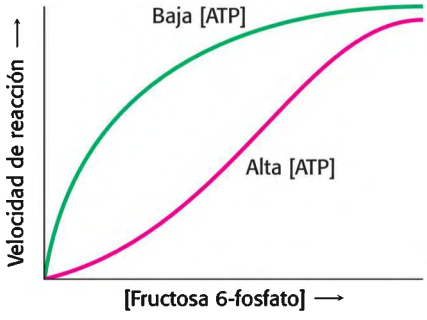


Figura 16.12 Regulación alostérica de la fosfofructoquinasa. Un nivel elevado de ATP inhibe la enzima disminuyendo su afinidad hacia la fructosa 6-fosfato. El AMP reduce el efecto inhibidor del ATP.

Hexoquinasa. En la glucólisis, la enzima reguladora más importante es la fosfofructoquinasa, pero no es la única. La hexoquinasa, la enzima que cataliza el primer paso de la glucólisis, se inhibe por su producto, la glucosa 6-fosfato. Las concentraciones elevadas de glucosa 6-fosfato son una señal de que la célula ya no necesita glucosa para obtener energía, de modo que no hay necesidad de descomponer más glucosa. Entonces, la glucosa permanecerá en la sangre. Un aumento en la concentración de glucosa 6-fosfato es el medio que tiene la fosfofructoquinasa para comunicarse con la hexoquinasa. Cuando la fosfofructoquinasa está inactiva, la concentración de fructosa 6-fosfato aumenta. A su vez, aumentará el nivel de glucosa 6-fosfato, ya que se encuentra en equilibrio con la fructosa 6-fosfato. Por tanto, *la inhibición de la fosfofructoquinasa provoca la inhibición de la hexoquinasa.*

¿Por qué es la fosfofructoquinasa y no la hexoquinasa la que marca el ritmo de la glucólisis? La razón resulta evidente cuando se cae en la cuenta de que la glucosa 6-fosfato no es solamente un intermediario de la glucólisis. Por ejemplo, en el músculo, la glucosa 6-fosfato también se puede convertir en glucógeno. La primera reacción irreversible exclusiva de la ruta glucolítica, el *paso comprometido* (p. 112), es la fosforilación de la fructosa 6-fosfato a fructosa 1,6-bisfosfato. Por tanto, resulta muy conveniente que, en la glucólisis, el principal punto de control sea la fosfofructoquinasa. En general, *el elemento de control más importante de una ruta es la enzima que cataliza el paso comprometido de una secuencia metabólica.*

Piruvato quinasa. La piruvato quinasa, la enzima que cataliza el tercer paso irreversible de la glucólisis, controla el flujo de salida de esta ruta. Este último paso produce ATP y piruvato, un intermediario metabólico esencial que se puede seguir oxidando aún más o se puede utilizar como material de construcción. El ATP inhibe alostéricamente la piruvato quinasa para reducir la velocidad de glucólisis cuando la carga energética de la célula es alta. Por último, la alanina (que se sintetiza a partir del piruvato en un solo paso, Capítulo 31) también inhibe alostéricamente la piruvato quinasa —en este caso, para indicar que abundan los materiales de construcción, como ocurriría en el caso de que se tuviese que sintetizar más proteína muscular. Cuando el ritmo de la glucólisis aumenta, la fructosa 1,6-bisfosfato, el producto del anterior paso irreversible de la glucólisis, activa la quinasa para que pueda seguir el ritmo cuando le llegue una gran cantidad de intermediarios. En la Figura 16.13 se muestra un resumen de la regulación de la glucólisis tanto en el músculo activo como en reposo.

En el hígado, su versatilidad bioquímica se encarga de regular la glucólisis

El hígado tiene una mayor variedad de funciones bioquímicas que el músculo. El hecho de que el hígado mantenga los niveles de glucosa en la sangre es significativo: cuando hay mucha glucosa, la almacena en forma de glucógeno, y libera glucosa caundo esta escasea. También utiliza glucosa para generar poder reductor para la biosíntesis (Capítulo 26) así como para sintetizar un gran número de materiales de construcción para otras biomoléculas. Por tanto, aunque el hígado presenta muchas de las características reguladoras de la glucólisis muscular, la regulación de la glucólisis en el hígado es más compleja.

Fosfofructoquinasa. Aunque, en lo que respecta al ATP, la regulación de la fosfofructoquinasa en el hígado es igual que en el músculo, en el hígado no resulta tan mportante, ya que los niveles de ATP en el hígado no fluctúan como lo hacen en el músculo esquelético. Un pH bajo no es una señal metabólica para las enzimas hepáticas porque, normalmente, no se produce lactato en el hígado. De hecho, como ya se verá, en el hígado el lactato se convierte en glucosa.

La glucólisis también proporciona esqueletos carbonados para la biosíntesis y, por tanto, la fosfofructoquinasa también debería regularse por medio de una señal que indique si los materiales de construcción abundan o escasean. En el hígado, *la fosfofructoquinasa se inhibe por citrato*, uno de los primeros intermediarios del ciclo del ácido cítrico (Capítulo 19). Un nivel alto de citrato en el citoplasma significa

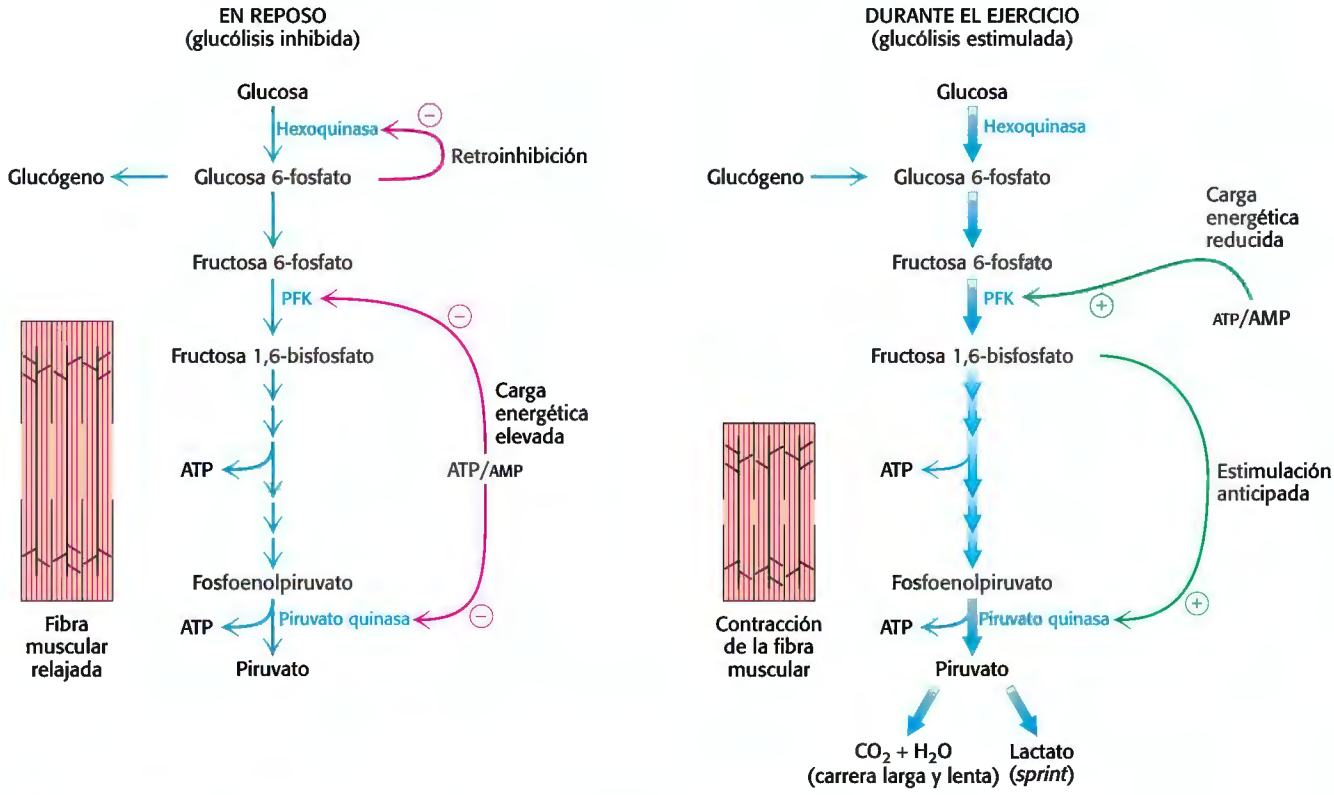
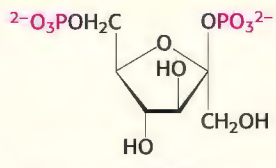


Figura 16.13 Regulación de la glucólisis en el músculo. En reposo (izquierda), la glucólisis no es muy activa (flechas finas). La elevada concentración de ATP inhibe la fosfofructoquinasa (PFK), la piruvato quinasa y la hexoquinasa. La glucosa 6-fosfato se convierte en glucógeno (Capítulo 25). Durante el ejercicio (derecha), la contracción muscular hace que disminuya la proporción ATP/AMP, lo que activa la fosfofructoquinasa y, por tanto, la glucólisis. El incremento del flujo a lo largo de la ruta se representa por medio de flechas gruesas.

que abundan los precursores de la biosíntesis y que, por tanto, no hay necesidad de degradar más glucosa con este propósito. De esta forma, el citrato intensifica el efecto inhibidor del ATP sobre la fosfofructoquinasa.

En el hígado, la glucólisis puede responder a cambios en los niveles de glucosa en la sangre por medio de la molécula señal *fructosa 2,6-bisfosfato* (F-2,6-BP), un potente activador de la fosfofructoquinasa. Tras una comida rica en carbohidratos, el nivel de glucosa en la sangre aumenta (p. 293). En el hígado, cuando la concentración de glucosa en sangre es elevada, la concentración de fructosa 6-fosfato aumenta gracias a la acción de la hexoquinasa y de la fosfoglucosa isomerasa, y la abundancia de fructosa 6-fosfato acelera la síntesis de F-2,6-BP (**Figura 16.14**). Por tanto, *la abundancia de fructosa 6-fosfato da lugar a una mayor concentración de F-2,6-BP*. La fructosa 2,6-bisfosfato estimula la glucólisis incrementando la afinidad de la fosfofructoquinasa por



Fructosa 2,6-bisfosfato (F-2,6-BP)

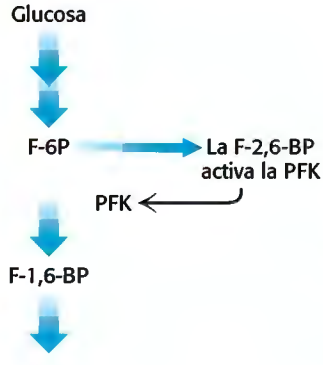


Figura 16.14 Regulación de la fosfofructoquinasa por parte de la fructosa 2,6-bisfosfato. Cuando su concentración es elevada, la fructosa 6-fosfato (F-6P) activa la enzima fosfofructoquinasa (PFK) a través de un intermediario, la fructosa 2,6-bisfosfato (F-2,6-BP).

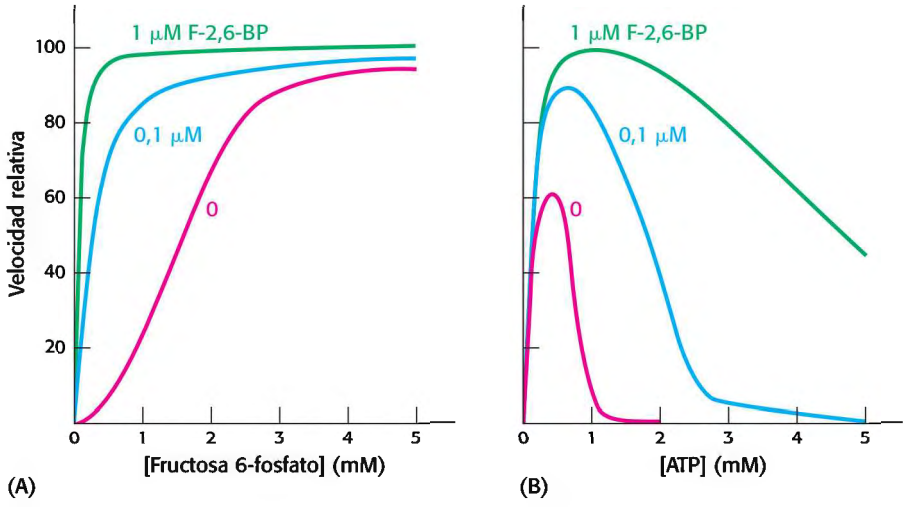


Figura 16.15 Activación de la fosfofructoquinasa por parte de la fructosa 2,6-bisfosfato. (A) La dependencia sigmoidal de la velocidad en función de la concentración de sustrato se vuelve hiperbólica en presencia de fructosa 2,6-bisfosfato 1 μM, lo que indica que, a menores concentraciones de sustrato, en presencia de fructosa 2,6-bisfosfato hay más enzimas activas. (B) El ATP, actuando como sustrato, estimula la reacción si su concentración es baja. A medida que la concentración de ATP aumenta, este actúa como un inhibidor alostérico. El efecto del ATP se reduce por la fructosa 2,6-bisfosfato, que hace que la enzima sea menos sensible a la inhibición por ATP. [Tomado de E. Van Schaftingen, M. F. Jett, L. Hue, y H. G. Hers. *Proc Natl. Acad Sci. U. S. A.* 78: 3483–3486, 1981.]

la fructosa 6-fosfato y reduce el efecto inhibidor del ATP (Figura 16.15). De este modo, cuando abunda la glucosa se acelera la glucólisis. Este tipo de proceso se denomina *estimulación anticipada*. Cuando se haya estudiado la gluconeogénesis (Capítulo 17), analizaremos con más detalle la síntesis y degradación de esta importante molécula reguladora.

Hexoquinasa. En el hígado, al igual que en el músculo, la hexoquinasa es una importante molécula reguladora. La reacción de la hexoquinasa se controla en el hígado igual que en el músculo. Sin embargo, la principal enzima responsable de fosforilar la glucosa en el hígado no es la hexoquinasa sino la *glucoquinasa* (hexoquinasa IV), una isoenzima de la hexoquinasa. Las *isozimas*, o *isoenzimas*, son enzimas codificadas por genes distintos con distinta secuencia de aminoácidos que, sin embargo, catalizan la misma reacción. Normalmente, las isozimas difieren en sus propiedades cinéticas o reguladoras. La glucoquinasa fosforila la glucosa solo si abunda, como sería el caso tras una comida. La razón es que la afinidad de la glucoquinasa hacia la glucosa es unas 50 veces menor que la de la hexoquinasa, lo que significa que la glucoquinasa solo se unirá a las moléculas de glucosa que sobrepasen la capacidad de unión de la hexoquinasa. Además, la glucoquinasa no se inhibe por su producto, la glucosa 6-fosfato, como ocurre en el caso de la hexoquinasa. El papel de la glucoquinasa consiste en proporcionar glucosa 6-fosfato para la síntesis de glucógeno y para la formación de ácidos grasos. En el hígado, la baja afinidad de la glucoquinasa hacia la glucosa da prioridad al cerebro y a los músculos para que utilicen la glucosa cuando su disponibilidad es reducida y, por otro lado, garantiza que no se desperdicie la glucosa cuando esta abunda. Se están realizando grandes esfuerzos por desarrollar fármacos que estimulen la actividad de la glucoquinasa para tratar el exceso de glucosa en sangre que se observa en pacientes con diabetes de tipo 2.

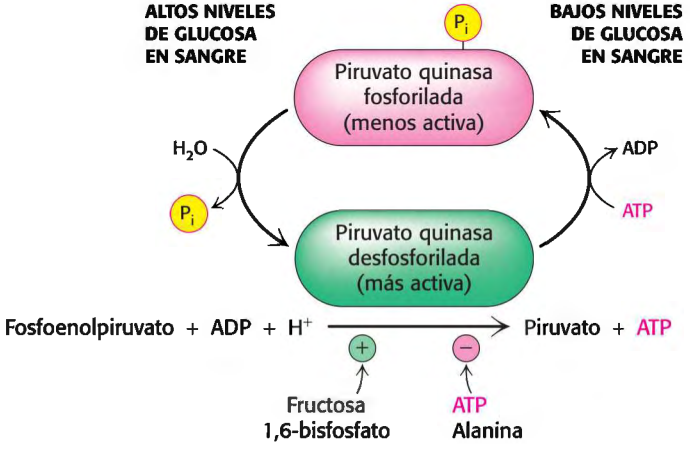


Figura 16.16 Control de la actividad catalítica de la piruvato quinasa. La piruvato quinasa se regula mediante efectores alostéricos y modificación covalente.

Piruvato quinasa. En mamíferos hay varias isoenzimas de la piruvato quinasa (un tetrámero de subunidades de 57 kDa) codificadas por distintos genes: la forma L predomina en el hígado y la forma M en el músculo y en el cerebro. Las formas L y M de la piruvato quinasa tienen muchas propiedades en común. De hecho, en lo referente a la regulación alostérica, la enzima hepática y la enzima muscular se comportan de modo muy parecido. Sin embargo, las isoenzimas difieren en su susceptibilidad ante las modificaciones covalentes, como, por ejemplo, la fosforilación. Las propiedades catalíticas de la forma L —no así las de la forma M— también se controlan por medio de una fosforilación reversible (Figura 16.16). Cuando el nivel de glucosa en sangre es bajo, la cas-

cada de AMP cíclico desencadenada por el glucagón (p. 219) da lugar a la fosforilación de la piruvato quinasa, lo que reduce su actividad. Esta fosforilación inducida por hormonas evita que el hígado consuma glucosa cuando se necesita con más urgencia en el cerebro y en el músculo. Vemos aquí un claro ejemplo de cómo contribuyen las isoenzimas a la diversidad metabólica de los distintos órganos. Tras considerar la gluconeogénesis volveremos al control de la glucólisis.

Una familia de transportadores permite a la glucosa entrar y salir de las células animales

Varios transportadores de glucosa intervienen en el movimiento de la glucosa a favor de gradiente a través de las membranas plasmáticas de las células animales. Los miembros de esta familia de proteínas, cuyos nombres van desde GLUT1 a GLUT5, están formados por una única cadena polipeptídica de unos 500 residuos de longitud (Tabla 16.3).

Tabla 16.3 Familia de transportadores de glucosa

Nombre	Localización tisular	K_M	Comentarios
GLUT1	Todos los tejidos de mamíferos	1 mM	Entrada normal de la glucosa
GLUT2	Hígado y células β del páncreas	15-20 mM	En el páncreas, interviene en la regulación de la insulina. En el hígado, extrae de la sangre el exceso de glucosa
GLUT3	Todos los tejidos de mamíferos	1 mM	Entrada normal de la glucosa
GLUT4	Músculo y células adiposas	5 mM	La cantidad presente en la membrana plasmática del músculo aumenta con entrenamiento de resistencia
GLUT5	Intestino delgado	–	Básicamente, es un transportador de fructosa

Cada miembro de esta familia posee una función característica:

1. GLUT1 y GLUT3, presentes en casi todas las células de mamífero, se responsabilizan de transportar la glucosa hasta el interior de la célula en condiciones normales. Al igual que las enzimas, los transportadores tienen valores de K_M, pero, en el caso de los transportadores, la K_M es la concentración del compuesto químico transportado que da lugar a una velocidad de transporte mitad de la máxima. Para GLUT1 y GLUT3, el valor de la K_M para la glucosa es aproximadamente de 1 mM, considerablemente más bajo que el nivel normal de glucosa en sangre, que normalmente está comprendido entre 4 mM y 8 mM. Por tanto, GLUT1 y GLUT3 transportan glucosa continuamente al interior de las células y a una velocidad prácticamente constante.

2. GLUT2, presente en el hígado y en las células β del páncreas, se caracteriza por tener un valor de K_M para la glucosa muy elevado (15-20 mM). Por tanto, la glucosa solo entra en estos tejidos a una velocidad biológicamente significativa cuando hay mucha glucosa en la sangre. De esta forma, el páncreas puede detectar los niveles de glucosa y ajustar la velocidad de secreción de insulina como corresponda. La insulina es una señal de que hay que extraer glucosa de la sangre para almacenarla en forma de glucógeno o para convertirla en grasa (Capítulos 25 y 28). El elevado valor de K_M de GLUT2 también garantiza que la glucosa solo entrará rápidamente en las células hepáticas en periodos de abundancia.

3. GLUT4, cuya K_M es de 5 mM, transporta la glucosa al músculo y a las células adiposas. El número de transportadores GLUT4 presentes en la membrana plasmática aumenta rápidamente en presencia de insulina, que es una señal de que hay glucosa en la sangre. Por tanto, la insulina promueve la captación de la glucosa por parte del músculo y del tejido adiposo. Los ejercicios de entrenamiento de resistencia incrementan la cantidad de GLUT4 presente en las membranas del músculo.

4. GLUT5, presente en las células del intestino delgado, funciona fundamentalmente como un transportador de fructosa.

Aspecto clínico

El cáncer y el ejercicio afectan a la glucólisis de forma similar

Hace décadas que se sabe que los tumores muestran una mayor velocidad de captación de glucosa y de glucólisis. De hecho, las células tumorales que crecen rápidamente metabolizarán la glucosa a lactato incluso en presencia de oxígeno, un proceso denominada *glucólisis aerobia* o "efecto Warburg", en honor a Otto Warburg, el primer bioquímico que observó esta característica de las células cancerosas en la década de 1920. De hecho, los tumores con una alta tasa de captación de glucosa son particularmente agresivos y será probable que el cáncer tenga una mala prognosis. El 2,-^{18}F-2-D-desoxiglucosa, un análogo de la glucosa que no se metaboliza y que se puede detectar por medio de una combinación de tomografía por emisión de positrones (TEP) y tomografía computarizada (TC), permite visualizar fácilmente los tumores (**Figura 16.17**).

¿Qué ventaja selectiva ofrece la glucólisis aerobia al tumor en comparación con la fosforilación oxidativa, que es más eficaz desde el punto de vista energético? Aunque se está investigando activamente para contestar a esta pregunta, podemos especular sobre las ventajas. En primer lugar, la glucólisis aerobia genera ácido láctico que, posteriormente, es secretado. Se ha demostrado que la acidificación del entorno tumoral facilita la invasión del tumor e inhibe el ataque del sistema inmunitario al tumor. En segundo lugar, la mayor captación de glucosa y la formación de glucosa 6-fosfato proporciona sustratos para otra ruta metabólica, la de las pentosas fosfato (Capítulo 26), que genera poder reductor para la biosíntesis. Además, la ruta de las pentosas fosfato, junto con la glucólisis, produce precursores para las biomoléculas necesarias para el

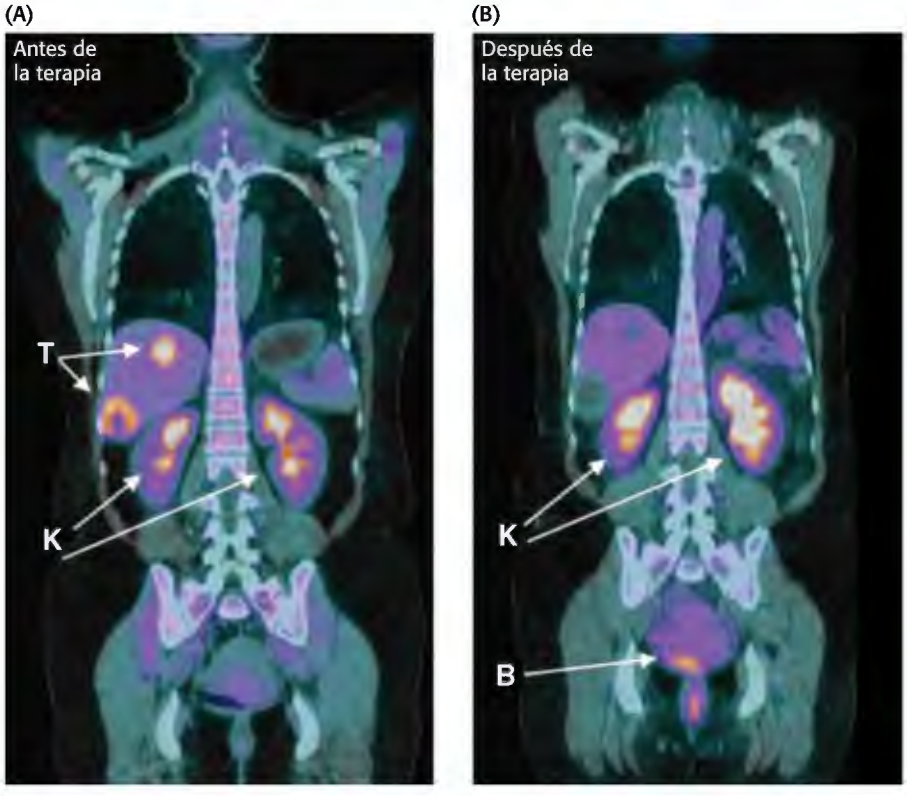


Figura 16.17 Los tumores se pueden visualizar con 2-^{18}F-2-D-desoxiglucosa (FDG) y tomografía de emisión de positrones. (A) Al inyectar un análogo de la glucosa que no se metaboliza (FDG) en un paciente y detectarlo mediante una combinación de tomografía de emisión de positrones y tomografía computarizada se pone de manifiesto la presencia de un tumor maligno (T). (B) Tras 4 semanas de tratamiento con un inhibidor de la tirosina quinasa (p. 230), el tumor no capta el FDG, lo que indica una disminución de su metabolismo. El exceso de FDG, que se secreta a través de la orina, también permite visualizar el riñón (K) y la vejiga urinaria (B). [Imagen cortesía de A. D. Van den Abbeele, Instituto Dana-Faber del Cáncer, Boston. Tomada de M. G. Vander Heiden, L. C. Cantley y C. B. Thompson, *Science* 324: 1029–1033, 2009.]

crecimiento, como, por ejemplo, los nucleótidos. Por último, las células cancerosas crecen más rápidamente que los vasos sanguíneos que les suministran alimentos; por tanto, a medida que crecen los tumores sólidos, la concentración de oxígeno de su entorno disminuye. En otras palabras, empiezan a experimentar *hipoxia*, una insuficiencia de oxígeno. El uso de la glucólisis aerobia hace que el crecimiento celular dependa menos del oxígeno.

La propia hipoxia intensifica el crecimiento del tumor activando un factor de transcripción, el *factor de transcripción inducible por hipoxia* (HIF-1). El HIF-1 incrementa la expresión de la mayoría de las enzimas glucolíticas y de los transportadores de glucosa GLUT1 y GLUT3 (Tabla 16.4). Estas adaptaciones de las células cancerosas permiten al tumor sobrevivir hasta que puedan crecer los vasos sanguíneos. El HIF-1 también incrementa la expresión de moléculas señal, como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), que facilita el crecimiento de los vasos sanguíneos que suministrarán nutrientes a las células (Figura 16.18). Sin los nuevos vasos sanguíneos, un tumor dejaría de crecer y entones o bien moriría o bien mantendría un tamaño pequeño que le haría inofensivo. Se están haciendo esfuerzos para desarrollar fármacos que inhiban el crecimiento de los vasos sanguíneos en los tumores.

¿Qué alteraciones bioquímicas facilitan el cambio hacia la glucólisis aerobia? De nuevo, las respuestas no son completas pero hay varios factores que parecen estar implicados. El lactato intensifica la actividad de HIF-1, estimulando la síntesis de más cantidad de enzimas glucolíticas. Además, los cambios en la expresión génica de las isoenzimas de dos enzimas glucolíticas pueden resultar decisivos. Las células tumorales expresan una isoenzima de la hexoquinasa que se une a las mitocondrias. Allí, la enzima tiene fácil acceso a todo el ATP generado por la fosforilación oxidativa, de modo que deja de ser susceptible a la retroinhibición por parte de su producto, la glucosa 6-fosfato. También se expresa una isoenzima embrionaria de la piruvato quinasa; esta isoenzima facilita el uso de los intermediarios de la glucólisis en las reacciones biosintéticas y es sensible a la regulación por el factor de crecimiento.

Curiosamente, el entrenamiento físico activa el HIF-1, provocando los mismos efectos que se han observado en los tumores: una mayor capacidad para generar ATP de forma anaerobia y una estimulación del crecimiento de los vasos sanguíneos. Estos efectos bioquímicos explican el mejor rendimiento deportivo que se logra con el entrenamiento y demuestran cómo la bioquímica puede verse afectada por el comportamiento. ■

Tabla 16.4 Proteínas del metabolismo de la glucosa codificadas por genes regulados por el factor inducible por hipoxia.

GLUT1
GLUT3
Hexoquinasa
Fosfofructoquinasa
Aldolasa
Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa
Fosfoglicerato quinasa
Enolasa
Piruvato quinasa

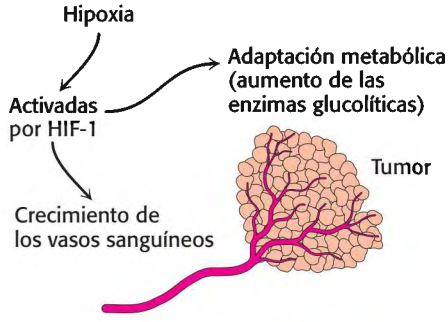


Figura 16.18 Alteración de la expresión génica en los tumores provocada por la hipoxia. Las condiciones de hipoxia en el interior de una masa tumoral dan lugar a la activación del factor de transcripción inducible por hipoxia (HIF-1), que induce la adaptación metabólica (un incremento de las enzimas glucolíticas) y activa factores angiogénicos que estimulan el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos. [Tomado de C. V. Dang y G. L. Semenza, *Trends Biochem. Sci.* 24: 68–72, 1999.]

16.5 El metabolismo en su contexto: la glucólisis ayuda a las células beta del páncreas a detectar la glucosa

La insulina es una hormona polipeptídica secretada por las células β del páncreas en respuesta a un incremento de los niveles de glucosa en sangre, como el que se produce tras una comida. La función de la insulina consiste en estimular la captación de glucosa por parte de los tejidos, particularmente en el músculo y en el tejido adiposo. Aunque quedan por esclarecer muchos de los detalles sobre cómo estimula la glucosa la secreción de insulina, los investigadores están empezando a entender el esquema general del proceso.

La glucosa entra en las células β del páncreas mediante el transportador de glucosa GLUT2. Como ya se ha comentado, GLUT2 permitirá la entrada de la glucosa solo cuando hay mucha glucosa en la sangre. La célula β metaboliza la glucosa mediante glucólisis para producir piruvato, que posteriormente es procesado por la respiración celular hasta CO_2 y H_2O (Secciones 8 y 9). Este metabolismo genera ATP, como ya hemos visto en el caso de la glucólisis (Figura 16.19). El incremento resultante de la relación ATP/ADP cierra un canal de K^+ sensible al ATP que, cuando está abierto, permite al potasio salir de la célula β. El resultado es una alteración del ambiente iónico celular que da lugar a la apertura de un canal de Ca^{2+}. La entrada de Ca^{2+} hace que las vesículas de secreción que contienen insulina se fusionen con la membrana celular y liberen insulina a la sangre. Así, el incremento de la carga energética generado por el metabolismo de la glucosa se ha traducido, mediante proteínas de membrana, en una respuesta fisiológica —la secreción de insulina y la consiguiente extracción de glucosa de la sangre.

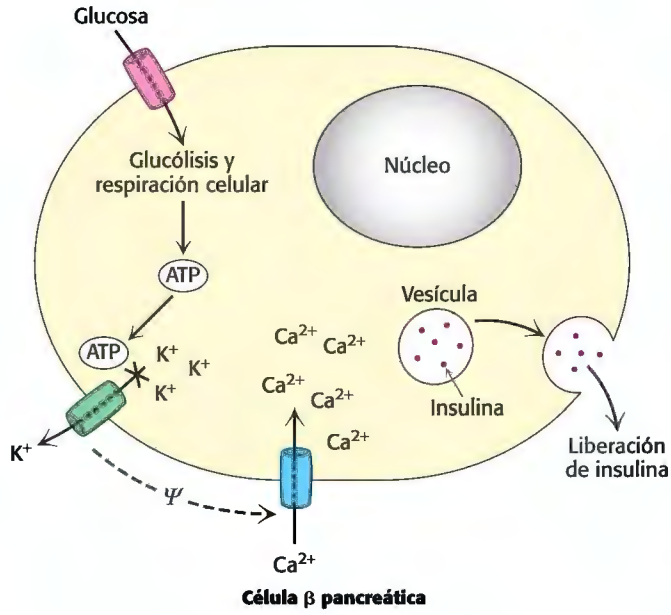


Figura 16.19 La liberación de insulina está regulada por el ATP. El metabolismo de la glucosa a través de la glucólisis aumenta la concentración de ATP, lo que hace que se cierre un canal de potasio sensible al ATP. El cierre de este canal altera la carga a través de la membrana (ψ) y hace que se abra un canal de calcio. La entrada de calcio hace que los gránulos que contienen insulina se fusionen con la membrana plasmática, liberando la insulina en la sangre.

Evidencias recientes sugieren que la relación entre la glucólisis y la secreción de insulina puede ser más estrecha de lo que sugiere la descripción anterior. Algunas enzimas glucolíticas, entre las que se incluye la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa y la piruvato quinasa, pueden estar físicamente asociadas con el canal de K^+, lo que permitiría una rápida detección de la presencia de glucosa.

Resumen

16.1 La glucólisis es una ruta de conversión de la energía

La glucólisis es el conjunto de reacciones que convierte la glucosa en piruvato. Las 10 reacciones de la glucólisis tienen lugar en el citoplasma. En la primera etapa, la glucosa se convierte en fructosa 1,6-bisfosfato mediante una fosforilación, una isomerización y una segunda reacción de fosforilación. En estas reacciones se consumen dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa, lo que constituye el preludio de la síntesis neta de ATP. A continuación, la aldolasa escinde la fructosa 1,6-bisfosfato en dihidroxiacetona fosfato y gliceraldehído 3-fosfato, que son fácilmente interconvertibles. En la segunda etapa se genera ATP. El gliceraldehído 3-fosfato se oxida y se fosforila para formar 1,3-bisfosfoglicerato, un acilfosfato con un elevado potencial de transferencia de fosforilos. Esta molécula transfiere un grupo fosforilo al ADP para formar ATP y 3-fosfoglicerato. El desplazamiento de un grupo fosforilo y una deshidratación dan lugar al fosfoenolpiruvato, el segundo intermediario con un elevado potencial de transferencia de fosforilos. Cuando el fosfoenolpiruvato se convierte en piruvato se genera otra molécula de ATP. La formación de dos moléculas de piruvato a partir de una molécula de glucosa da lugar a una ganancia neta de dos moléculas de ATP.

16.2 El metabolismo del piruvato regenera el NAD^+

En la oxidación del gliceraldehído 3-fosfato, el aceptor de electrones es el NAD^+, que se tiene que regenerar para que continúe la glucólisis. En los organismos aerobios, el NADH que se forma en la glucólisis transfiere sus electrones al O_2 a través de la cadena transportadora de electrones, regenerando así el NAD^+. En condiciones anaerobias y en algunos microorganismos, el NAD^+ se regenera mediante la reducción de piruvato a lactato. En otos microorganismos, el NAD^+ se regenera mediante la reducción de piruvato a etanol. Estos dos procesos son ejemplos de fermentaciones.

16.3 La fructosa y la galactosa se convierten en intermediarios de la glucólisis
Aunque la glucosa es el monosacárido utilizado con más frecuencia como molécula combustible, es frecuente que también estén disponibles la fructosa y la galactosa. Para que se puedan utilizar como combustible, estos monosacáridos tienen que convertirse en intermediarios de la ruta glucolítica. En la mayoría de los tejidos, la fructosa se fosforila a fructosa 6-fosfato. En el hígado, se forma fructosa 1-fosfato, que después se escinde para generar dihidroxiacetona fosfato y gliceraldehído que, a continuación, se fosforila a gliceraldehído 3-fosfato. La galactosa se convierte en glucosa 1-fosfato mediante un proceso de cuatro pasos en el que interviene la UDP-glucosa, la forma activada de la glucosa. La fosfoglucomutasa convierte la glucosa 1-fosfato en glucosa 6-fosfato.

16.4 La ruta glucolítica está sometida a un control muy riguroso
La ruta glucolítica tiene un doble papel: (1) degrada la glucosa para generar ATP y (2) proporciona materiales de construcción para la síntesis de componentes celulares. Para satisfacer estos dos importantes requerimientos celulares, la velocidad de conversión de la glucosa en piruvato está regulada. En condiciones fisiológicas, las reacciones de la glucólisis son fácilmente reversibles, excepto aquellas catalizadas por la hexoquinasa, la fosfofructoquinasa y la piruvato quinasa. La fosfofructoquinasa, el elemento de control más importante de la glucólisis, se inhibe por niveles elevados de ATP y citrato, y se activa por el AMP y por la fructosa 2,6-bisfosfato. En el hígado, este bisfosfato es una señal de abundancia de glucosa. Por tanto, la fosfofructoquinasa está activa cuando se necesita energía o cuando hacen falta materiales de construcción. La hexoquinasa se inhibe por la glucosa 6-fosfato, que se acumula cuando la fosfofructoquinasa está inactiva. El ATP y la alanina inhiben alostéricamente la piruvato quinasa, el otro punto de control, y la fructosa 1,6-bisfosfato activa la enzima. En consecuencia, la piruvato quinasa muestra su máxima actividad cuando la carga energética es baja y los intermediarios de la glucólisis se acumulan.

16.5 El metabolismo en su contexto: la glucólisis ayuda a las células beta del páncreas a detectar la glucosa
El incremento en la proporción ATP/ADP que resulta del metabolismo de la glucosa a piruvato cierra canales de K^+ en las membranas de las células β del páncreas. El cambio que se produce en el ambiente iónico celular provoca una entrada de Ca^{2+} que, a su vez, da lugar a la secreción de insulina. La insulina estimula la captación de glucosa por parte del músculo y del tejido adiposo.

Términos clave

glucólisis (p. 272)
hexoquinasa (p. 272)
quinasa (p. 272)
fosfofructoquinasa (PFK) (p. 275)
intermediario tioéster (p. 277)
fosforilación a nivel de sustrato (p. 277)
mutasa (p. 278)
enolfosfato (p. 278)
piruvato quinasa (p. 279)
fermentación alcohólica (p. 280)
fermentación láctica (p. 281)
anaerobio obligado (p. 282)
paso comprometido (p. 290)
estimulación anticipada (p. 290)
isozima (p. 290)

Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Se producen dos moléculas de ATP por cada molécula de gliceraldehído 3-fosfato y, como se producen dos GAP por cada molécula de glucosa, el rendimiento total es de cuatro ATP. Sin embargo, se necesitan dos moléculas de ATP para convertir la glucosa en fructosa 1,6-bisfosfato. Por tanto, el rendimiento neto es de tan solo dos moléculas de ATP.

2. En ambos casos, el donador de electrones es el gliceraldehído 3-fosfato. En la fermentación láctica, el aceptor de electrones es el piruvato, que se convierte en lactato. En la fermentación alcohólica, el aceptor de electrones es el acetaldehído, que se convierte en etanol.

Problemas

1. *El búho y la gatita.* Asigne a cada término la descripción correspondiente.

(a) Hexoquinasa _____
(b) Fosfoglucosa isomerasa _____
(c) Fosfofructoquinasa _____
(d) Aldolasa _____
(e) Triosa fosfato isomerasa _____
(f) Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa _____
(g) Fosfoglicerato quinasa _____
(h) Fosfoglicerato mutasa _____
(i) Enolasa _____
(j) Piruvato quinasa _____

1. Forma fructosa 1,6-bisfosfato
2. Genera el primer compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos que no es el ATP
3. Convierte la glucosa 6-fosfato en fructosa 6-fosfato
4. Fosforila la glucosa
5. Genera la segunda molécula de ATP
6. Escinde la fructosa 1,6-bisfosfato
7. Genera el segundo compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos que no es el ATP
8. Cataliza la interconversión de isómeros de tres átomos de carbono
9. Convierte el 3-fosfoglicerato en 2-fosfoglicerato
10. Genera la primera molécula de ATP

2. *¿Quién da? ¿Quién acepta?* La fermentación láctica y la fermentación alcohólica son reacciones de oxidación-reducción. Identifique en cada una de ellas el donador final y el aceptor final de electrones.

3. *Rendimiento de ATP.* Cada una de las siguientes moléculas se procesa a través de la glucólisis para generar lactato. ¿Cuánto ATP se genera a partir de cada molécula?

(a) Glucosa 6-fosfato
(b) Dihidroxiacetona fosfato
(c) Gliceraldehído 3-fosfato
(d) Fructosa
(e) Sacarosa

4. *¿Enzimas redundantes?* ¿Por qué supone una ventaja para el hígado tener dos enzimas, la hexoquinasa y la glucoquinasa, para fosforilar la glucosa?

5. *Propiedades enzimáticas.* En el hígado y en el páncreas, la hexoquinasa y la glucoquinasa fosforilan la glucosa. La glucoquinasa solo es activa cuando los niveles de glucosa en sangre son elevados. ¿En qué se podrían diferenciar, desde el punto de vista cinético, la glucoquinasa y la hexoquinasa para que la glucoquinasa solo funcione cuando los niveles de glucosa son elevados?

6. *Isomerización necesaria.* ¿Por qué es la isomerización de glucosa 6-fosfato a fructosa 6-fosfato un paso importante de la glucólisis? ¿Cómo se evita que el isómero fructosa se vuelva a convertir en el isómero glucosa?

7. *¿Magia?* En el equilibrio, la interconversión de DHAP y GAP favorece enormemente la formación de DHAP. Sin embargo, la triosa fosfato isomerasa convierte la DHAP en GAP sin ningún problema. ¿Qué explicación tiene? ✓ 1

8. *Entre los dos extremos.* ¿Cuál es la función de un tioéster durante la formación de ATP en la glucólisis?

9. *Patrocinadores corporativos.* Parte de la investigación inicial sobre la glucólisis fue financiada por la industria cervecera. ¿Por qué estaría la industria cervecera interesada en la glucólisis? ✓ 2

10. *Cantidad diaria recomendada.* La cantidad diaria recomendada de la vitamina niacina es de 15 mg por día. ¿Cómo afectaría a la glucólisis una insuficiencia de niacina? ✓ 2

11. *¿Quién va primero?* Tanto la hexoquinasa como la fosfofructoquinasa catalizan pasos irreversibles de la glucólisis y, a pesar de que el paso que cataliza la hexoquinasa es el primero, es la fosfofructoquinasa la que marca el ritmo de la glucólisis. ¿Qué nos indica esta información sobre el destino de la glucosa 6-fosfato formada por la hexoquinasa?

12. *La tortuga y la liebre.* ¿Por qué la regulación de la fosfofructoquinasa por la carga energética no es tan importante en el hígado como lo es en el músculo? ✓ 1

13. *Operación de rescate.* Como veremos en el Capítulo 17, cuando los lípidos se utilizan como combustible se libera glicerol. En el hígado, el glicerol liberado se puede recuperar y convertir en piruvato. Indique las reacciones que se necesitan para llevar a cabo esta conversión.

14. *Marcha atrás.* ¿Por qué las reacciones de la ruta glucolítica no pueden simplemente realizarse en sentido opuesto para sintetizar glucosa?

15. *Destino.* ¿Cuáles son los principales destinos del piruvato que se genera mediante la glucólisis?

16. *Cortes de carretera.* ¿Qué reacciones de la glucólisis no son fácilmente reversibles en las condiciones intracelulares?

17. *No se macera.* ¿Por qué le interesa tanto al músculo exportar el ácido láctico a la sangre durante un ejercicio intenso?

18. *Preparación adecuada.* Describa las rutas que preparan a la fructosa para su incorporación en la glucólisis.

19. *Problema a la vista.* Suponga que un anaerobio obligado ha sufrido una mutación que ha dado lugar a la pérdida de la actividad triosa fosfato isomerasa. ¿Cómo afectaría esta pérdida al rendimiento de ATP de la fermentación? ¿Podría sobrevivir un organismo así?

20. *Alto potencial.* En condiciones estándar, ¿cuál es la proporción en el equilibrio entre fosfoenolpiruvato y el piruvato si [ATP]/[ADP] = 10?

21. *Equilibrio hexosa-triosa.* ¿Cuáles son las concentraciones en el equilibrio de la fructosa 1,6-bisfosfato, la dihidroxiacetona fosfato y el gliceraldehído 3-fosfato cuando se incuba fructosa 1,6-bisfosfato 1 mM con la aldolasa en condiciones estándar?

22. *Azúcares peculiares.* La administración intravenosa de fructosa a voluntarios sanos hace que el nivel de lactato en sangre se multiplique por un factor que oscila entre dos y cinco, un incremento mucho mayor del observado tras administrar la misma cantidad de glucosa.

(a) ¿Por qué es más rápida la glucólisis tras la administración de fructosa?
(b) Se ha utilizado fructosa en lugar de glucosa para la alimentación intravenosa. ¿Por qué no es una buena idea utilizar de este modo la fructosa?

23. *Envenenamiento por arseniato.* La estructura y la reactividad del arseniato (AsO_4^{3-}) se parecen mucho a las del P_i. En la reacción catalizada por la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa, el arseniato puede sustituir al fosfato a la hora de atacar al intermediario tioéster rico en energía. El producto de esta reacción, el 1-arseno-3-fosfoglicerato, es inestable. Este compuesto, al igual que otros acilarseniatos se hidroliza rápida y espontáneamente. En una célula, ¿cuál es el efecto del arseniato sobre la generación de energía?

24. *Reducir, reutilizar, reciclar.* Durante la conversión de glucosa en dos moléculas de lactato, el NADH generado anteriormente en la ruta se oxida a NAD^+. ¿Por qué no le conviene a la célula sencillamente fabricar más NAD^+ de modo que no sea necesario regenerarlo? Después de todo, la célula ahorraría mucha energía, ya que no tendría que sintetizar lactato deshidrogenasa. ✓ 2

25. *Batman y Robin.* Empareje los apartados a-j con los números 1-10.

(a) Glucosa 6-fosfato _____
(b) ATP/AMP _____
(c) Citrato _____
(d) Bajo pH _____
(e) Fructosa 1,6-bisfosfato _____
(f) Fructosa 2,6-bisfosfato _____
(g) Insulina _____
(h) Tiene una baja K_M para la glucosa_____
(i) Transportador específico del hígado y páncreas _____
(j) ATP/AMP _____

1. En el hígado, inhibe la fosfofructoquinasa
2. Glucoquinasa
3. GLUT2
4. Inhibe la hexoquinasa
5. En el músculo, inhibe la fosfofructoquinasa
6. Inhibe la fosfofructoquinasa
7. Estimula la piruvato quinasa
8. En el hígado, estimula la fosfofructoquinasa
9. Hace que GLUT4 se inserte en las membranas celulares
10. Estimula la fosfofructoquinasa

Problemas de integración de capítulos

26. *Función de estado.* La fructosa 2,6-bisfosfato es un potente estimulador de la fosfofructoquinasa. Explique cómo podría funcionar la fructosa 2,6-bisfosfato según el modelo concertado descrito para las enzimas alostéricas.

27. *No solo por la energía.* Las personas con galactosemia muestran anomalías en el sistema nervioso central incluso tras haber eliminado la galactosa de su dieta. Las razones concretas de este hecho no se conocen. Sugiera una posible explicación.

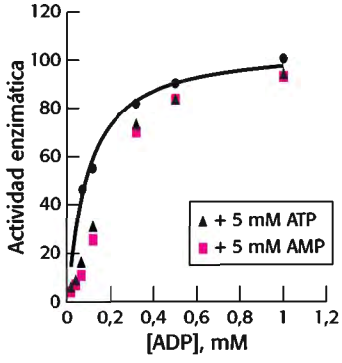
28. *No es la MTV.* En la secreción de insulina por parte del páncreas, un canal iónico controlado por ligando y un canal iónico controlado por voltaje desempeñan papeles fundamentales. ¿De qué canales se trata y cuál es su función en la secreción de insulina? ✓ 2

Problemas de interpretación de datos para atrevidos

29. *Eso no es normal.* Se ha aislado la fosfofructoquinasa de la arqueobacteria hipertermofílica *Pyrococcus furiosus*. Se sometió la quinasa a un análisis bioquímico estándar para determinar sus parámetros catalíticos básicos. Los procesos que se estudiaban eran del tipo

$$\text{Fructosa 6-fosfato} + (x - P_i) \longrightarrow \text{fructosa 1,6 bisfosfato} + (x)$$

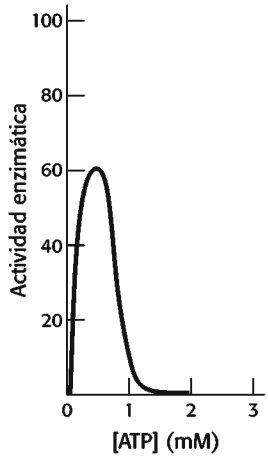
El ensayo medía el incremento de la fructosa 1,6 bisfosfato. En el gráfico adjunto se muestran algunos resultados seleccionados.



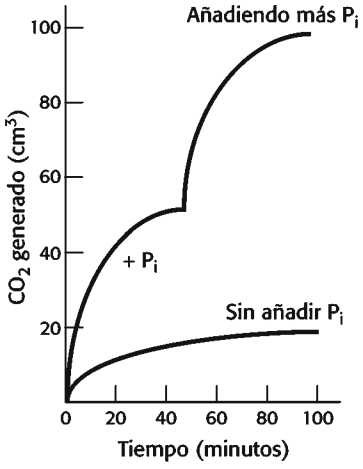
[Datos obtenidos de J. E. Tuininga y col., *J. Biol. Chem.* 274: 21023-21028, 1999.]

(a) ¿Cómo se diferencia la fosfofructoquinasa de *P. furiosus* de la fosfofructoquinasa estudiada en este capítulo?
(b) ¿Qué efectos tienen el AMP y el ATP sobre la reacción con el ADP?

30. *¿Confundido?* El gráfico adjunto muestra la actividad de la fosfofructoquinasa del músculo en función de la concentración de ATP en presencia de una concentración constante de fructosa 6-fosfato. Explique estos resultados y comente cómo se relacionan con el papel de la fosfofructoquinasa en la glucólisis. ✓ 1



31. *Fabricando cerveza.* El gráfico adjunto muestra los resultados de experimentos sobre fermentación alcohólica de la glucosa realizados con extractos de levadura. El gráfico muestra el volumen de dióxido de carbono liberado (eje *y*) en función del tiempo (eje *x*). ✓ 2



(a) ¿Es la medida de la velocidad de liberación de dióxido de carbono una manera fiable de cuantificar la fermentación alcohólica? Explique por qué.

(b) ¿Por qué depende la fermentación de la glucosa del fosfato?

(c) ¿Por qué se genera más dióxido de carbono si se añade fosfato al extracto?

(d) Durante la fermentación, ¿cómo se esperaría que fuese la proporción entre el dióxido de carbono generado y el fosfato consumido?

(e) Cuando la fermentación se hacía más lenta, se acumulaba una hexosa bisfosfato. ¿De qué compuesto se trata y por qué tendría que acumularse?

Problemas para atrevidos

32. *Química en la cocina.* Con frecuencia, se utiliza la sacarosa para conservar la fruta. ¿Por qué la glucosa no es adecuada para preservar alimentos? ✓ 1

33. *Siguiendo el rastro de los átomos de carbono.* Se incuba glucosa marcada con ^{14}C en el C-1 con enzimas glucolíticas y los cofactores necesarios.

(a) ¿Cómo se distribuye el ^{14}C en el piruvato formado? (Suponga que la interconversión entre el gliceraldehído 3-fosfato y la dihidroxiacetona fosfato es muy rápida en comparación con el siguiente paso.)

(b) Si la actividad específica del sustrato glucosa es de 10 mCi $mmol^{-1}$, ¿cuál es la actividad específica del piruvato que se forma?

34. *Fermentación láctica.* ✓ 2

(a) Escriba una ecuación ajustada para la conversión de glucosa en lactato.

(b) Calcule el incremento de energía libre estándar para la formación de lactato a partir de glucosa utilizando los datos mostrados en la Tabla 16.1 y el hecho de que el $\Delta G^{\circ\prime}$ para la siguiente reacción es de -25 kJ mol^{-1} (-6 kcal mol^{-1}).

$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{lactato} + \text{NAD}^+$$

(c) ¿Cuál es el incremento de energía libre (ΔG, no $\Delta G^{\circ\prime}$) de esta reacción cuando las concentraciones de los reactantes son: glucosa, 5 mM; lactato, 0,05 mM; ATP, 2mM; ADP, 0,2 mM y P_i, 1 mM?

35. *Después de usted.* ¿Por qué, desde el punto de vista fisiológico, es una ventaja para el páncreas utilizar GLUT2, cuyo valor de K_M es elevado, como transportador que permita la entrada de glucosa a las células β?

36. *Rodeo.* En el hígado, la fructosa se puede convertir en gliceraldehído 3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato sin pasar por la reacción regulada por la fosfofructoquinasa. Indique las reacciones que hacen posible esta conversión. ¿Por qué la ingestión de grandes cantidades de fructosa podría tener efectos fisiológicos perjudiciales? ✓ 1

37. *Un análogo que nos da información.* La xilosa tiene la misma estructura que la glucosa excepto en el C-5, que en la xilosa se encuentra unido a un átomo de hidrógeno en lugar de a un grupo hidroximetilo. La velocidad de hidrólisis de ATP por parte de la hexoquinasa aumenta notablemente al añadir xilosa. ¿Por qué? ✓ 1

38. *Transformista.* La adenilato quinasa es la responsable de interconvertir el reservorio de nucleótidos de adenina:

$$\text{ADP} + \text{ADP} \rightleftharpoons \text{ATP} + \text{AMP}$$

La constante de equilibrio de esta reacción es de aproximadamente 1, dado que el número de enlaces fosfoanhídrido es el mismo a cada lado de la ecuación. Utilice la ecuación de la constante de equilibrio de esta reacción para demostrar por qué los cambios en la [AMP] son un indicador del reservorio de adenilatos más efectivo que los cambios en la [ATP]. ✓ 1

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 17 Gluconeogénesis



El ayuno forma parte de muchas culturas y religiones, incluida la de los Sioux de la rama Teton. Se cree que el ayuno purifica el cuerpo y el alma y que propicia el despertar espiritual. La gluconeogénesis es una ruta metabólica importante durante periodos de ayuno porque proporciona glucosa al cerebro y a los glóbulos rojos, tejidos que dependen de este combustible esencial. [Library of Congress, Prints & Photographs Division, Edward S. Curtis Collection, LC-USZ62-99611.]

17.1 **Se puede sintetizar glucosa a partir de precursores distintos de los carbohidratos**

17.2 **La gluconeogénesis y la glucólisis se regulan de forma recíproca**

17.3 **El metabolismo en su contexto: los precursores formados por el músculo son utilizados por otros órganos**

Centraremos ahora nuestra atención en *la síntesis de glucosa a partir de precursores distintos de los carbohidratos, un proceso denominado gluconeogénesis*. Mantener los niveles de glucosa es importante porque, como ya se ha comentado anteriormente, la glucosa es el principal combustible del cerebro y, en el caso de los glóbulos rojos, es el único combustible que utilizan. En un ser humano adulto normal, la cantidad de glucosa

diaria que necesita el cerebro es de unos 120 g, una cifra que representa la mayor parte de los 160 g de glucosa que necesita el organismo completo cada día. La cantidad de glucosa presente en los fluidos corporales es de unos 20 g y la que está fácilmente disponible en forma de glucógeno, la forma de almacenamiento de la glucosa, es de aproximadamente 190 g. Por tanto, las reservas directas de glucosa son suficientes para satisfacer las necesidades de glucosa durante un día, aproximadamente. La gluconeogénesis es especialmente importante durante periodos de ayuno más largos o en condiciones de inanición.

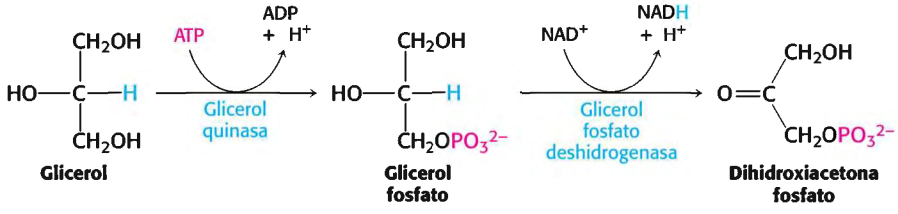
El lugar donde se produce mayoritariamente la gluconeogénesis es el hígado y una pequeña parte también se lleva a cabo en los riñones. En el cerebro, en el músculo esquelético o en el músculo cardiaco apenas hay gluconeogénesis. No hace falta, ya que *la gluconeogénesis del hígado y de los riñones ayuda a mantener los niveles de glucosa en la sangre, de donde puede ser extraída por el cerebro y el músculo para satisfacer sus demandas metabólicas*.

En este capítulo, empezamos estudiando las reacciones que constituyen la ruta gluconeogénica. Después investigamos la regulación recíproca de la gluconeogénesis y la glucólisis. El capítulo acaba con una mirada a cómo se coordinan la gluconeogénesis y la glucólisis entre tejidos.

✓ 3 Describir cómo se impulsa la gluconeogénesis en la célula.

17.1 Se puede sintetizar glucosa a partir de precursores distintos de los carbohidratos

Aunque normalmente la glucosa está disponible en el entorno de la mayoría de los organismos, esta molécula es tan importante desde el punto de vista bioquímico que en prácticamente todas las formas de vida existe una ruta para sintetizarla a partir de precursores sencillos. *La ruta gluconeogénica convierte el piruvato en glucosa.* Los precursores de la glucosa distintos de los carbohidratos se convierten primero en piruvato o se incorporan en la ruta como intermediarios más tardíos (**Figura 17.1**). Los principales precursores que no son carbohidratos son el *lactato*, *aminoácidos* y *glicerol*. El lactato lo forma el músculo esquelético activo mediante fermentación láctica cuando la velocidad de la glucólisis excede la velocidad a la que el músculo es capaz de procesar el piruvato de forma aerobia (p. 281). En el hígado, el lactato se convierte fácilmente en piruvato gracias a la acción de la lactato deshidrogenasa. Los aminoácidos proceden de las proteínas de la dieta y, en periodos de inanición, de la descomposición de las proteínas del músculo esquelético (Capítulo 32). La hidrólisis de los triacilgliceroles (Capítulo 27) en las células adiposas produce glicerol y ácidos grasos. El glicerol es un precursor de la glucosa, pero los animales no pueden convertir los ácidos grasos en glucosa por razones que se verán más adelante (Capítulo 27). A diferencia del lactato y de los aminoácidos, el glicerol se puede metabolizar por la glucólisis y se puede convertir en glucosa mediante gluconeogénesis. El glicerol puede incorporarse bien a la ruta gluconeogénica o bien a la ruta glucolítica en forma de dihidroxiacetona fosfato.



La gluconeogénesis no es exactamente la inversa de la glucólisis

En la glucólisis, la glucosa se convierte en piruvato; en la gluconeogénesis, el piruvato se convierte en glucosa. Sin embargo, *la gluconeogénesis no es exactamente la inversa de la glucólisis*. Estos procesos comparten muchas enzimas que catalizan las reacciones en sentido opuesto. Sin embargo, algunas reacciones tienen que ser diferentes porque el equilibrio de la glucólisis favorece la formación de piruvato. En las condiciones

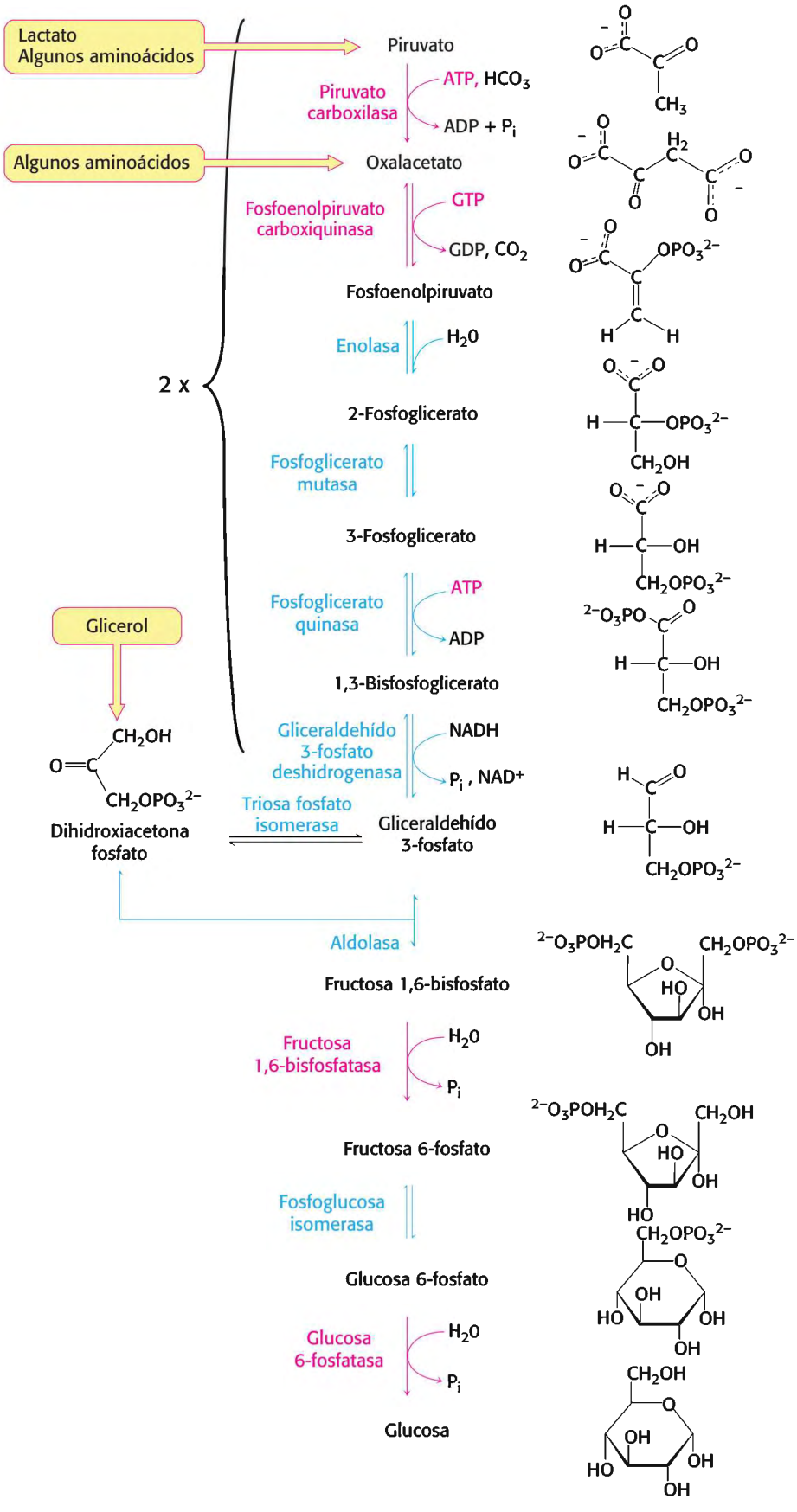


Figura 17.1 Ruta de la gluconeogénesis. Las reacciones y enzimas características de esta ruta se muestran en color rojo. Las otras reacciones son iguales a las de la glucólisis. Las enzimas de la gluconeogénesis se localizan en el citoplasma, excepto la piruvato carboxilasa (en las mitocondrias) y la glucosa 6-fosfatasa (unida a la membrana del retículo endoplasmático). Se indican los puntos de entrada para el lactato, el glicerol y aminoácidos.

celulares típicas, el ΔG real para la formación de piruvato a partir de glucosa es aproximadamente de -84 kJ mol^{-1} (-20 kcal mol^{-1}). En la glucólisis, la mayor parte de la disminución de la energía libre se produce en tres pasos prácticamente irreversibles catalizados por la hexoquinasa, la fosfofructoquinasa y la piruvato quinasa.

$$\text{Glucosa} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Hexoquinasa}} \text{glucosa 6-fosfato} + \text{ADP}$$
$$\Delta G = -33 \text{ kJ mol}^{-1} (-8{,}0 \text{ kcal mol}^{-1})$$

$$\text{Fructosa 6-fosfato} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Fosfofructoquinasa}} \text{fructosa 1,6-bisfosfato} + \text{ADP}$$
$$\Delta G = -22 \text{ kJ mol}^{-1} (-5{,}3 \text{ kcal mol}^{-1})$$

$$\text{Fosfoenolpiruvato} + \text{ADP} \xrightarrow{\text{Piruvato quinasa}} \text{piruvato} + \text{ATP}$$
$$\Delta G = -17 \text{ kJ mol}^{-1} (-4{,}0 \text{ kcal mol}^{-1})$$

En la gluconeogénesis, los siguientes pasos eluden estas reacciones prácticamente irreversibles de la glucólisis:

1. *El fosfoenolpiruvato se forma a partir del piruvato vía oxalacetato* gracias a la acción de la piruvato carboxilasa y de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa.

$$\text{Piruvato} + CO_2 + \text{ATP} + H_2O \xrightarrow{\text{Piruvato carboxilasa}} \text{oxalacetato} + \text{ADP} + P_i$$

$$\text{Oxalacetato} + \text{GTP} \xrightarrow{\text{Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa}} \text{fosfoenolpiruvato} + \text{GDP} + CO_2$$

2. *La fructosa 6-fosfato se forma a partir de la fructosa 1,6-bisfosfato mediante la hidrólisis del fosfato.* La fructosa 1,6-bisfosfatasa cataliza esta reacción exergónica.

$$\text{Fructosa 1,6-bisfosfato} + H_2O \longrightarrow \text{fructosa 6-fosfato} + P_i$$

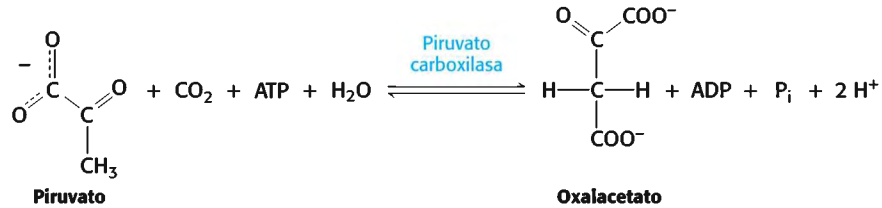
3. *La glucosa se forma por la hidrólisis de la glucosa 6-fosfato* en una reacción catalizada por la glucosa 6-fosfatasa.

$$\text{Glucosa 6-fosfato} + H_2O \longrightarrow \text{glucosa} + P_i$$

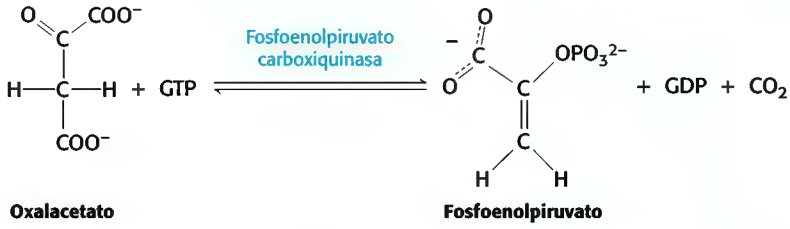
Vamos a estudiar cada una de estas reacciones en detalle.

La conversión de piruvato en fosfoenolpiruvato comienza con la formación de oxalacetato

El primer paso de la gluconeogénesis tiene lugar en el interior de las mitocondrias. En esta reacción, el piruvato es carboxilado por la *piruvato carboxilasa* para formar oxalacetato a costa de una molécula de ATP.



A continuación, el oxalacetato es descarboxilado y fosforilado por la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa para producir fosfoenolpiruvato, gracias al elevado potencial de transferencia de fosforilos del GTP.



La suma de estas reacciones es

$$\text{Piruvato} + \text{ATP} + \text{GTP} + H_2O \longrightarrow \text{fosfoenolpiruvato} + \text{ADP} + \text{GDP} + P_i + 2H^+$$

La piruvato carboxilasa requiere *el cofactor vitamínico biotina, un grupo prostético unido covalentemente que actúa como un transportador de CO_2 activado*, ya que dona fácilmente el CO_2 a otras moléculas. El grupo carboxilato de la biotina está unido a la cadena lateral de un residuo específico de lisina por medio de un enlace amida (**Figura 17.2**). Hay que señalar que la biotina *se encuentra unida a la piruvato carboxilasa mediante una cadena larga y flexible.*

La carboxilación del piruvato tiene lugar en tres etapas:

$$HCO_3^- + \text{ATP} \rightleftharpoons HOCO_2\text{-}PO_3^{2-} + \text{ADP}$$

$$\text{Biotina-enzima} + HOCO_2\text{-}PO_3^{2-} \rightleftharpoons CO_2\text{-biotina-enzima} + P_i$$

$$CO_2\text{-biotina-enzima} + \text{piruvato} \rightleftharpoons \text{biotina-enzima} + \text{oxalacetato}$$

En disoluciones acuosas, el CO_2 se encuentra fundamentalmente en forma de HCO_3^-, que es activado a carboxifosfato por la adición de un grupo fosfato procedente del ATP. Posteriormente, este CO_2 activado se enlaza al anillo de biotina unido a la piruvato carboxilasa para formar el intermediario carboxibiotina-enzima (ver la **Figura 17.2**). Sin embargo, este paso solo puede producirse en presencia de acetil-CoA. *La biotina no se carboxila a menos que la acetil-CoA esté unida a la enzima.* La activación alostérica de la piruvato carboxilasa por la acetil-CoA es un mecanismo de

Biotina También denominada vitamina B_7, la biotina se utiliza en las reacciones de transferencia de CO_2 y de carboxilación. La insuficiencia de biotina se caracteriza por dolor muscular, letargo, anorexia y depresión. Esta vitamina se sintetiza por la microflora del tracto intestinal y se puede obtener en la dieta a partir de hígado, soja, nueces y otras muchas fuentes. [Fotografía de Charles Brutlag/FeaturesPics.]



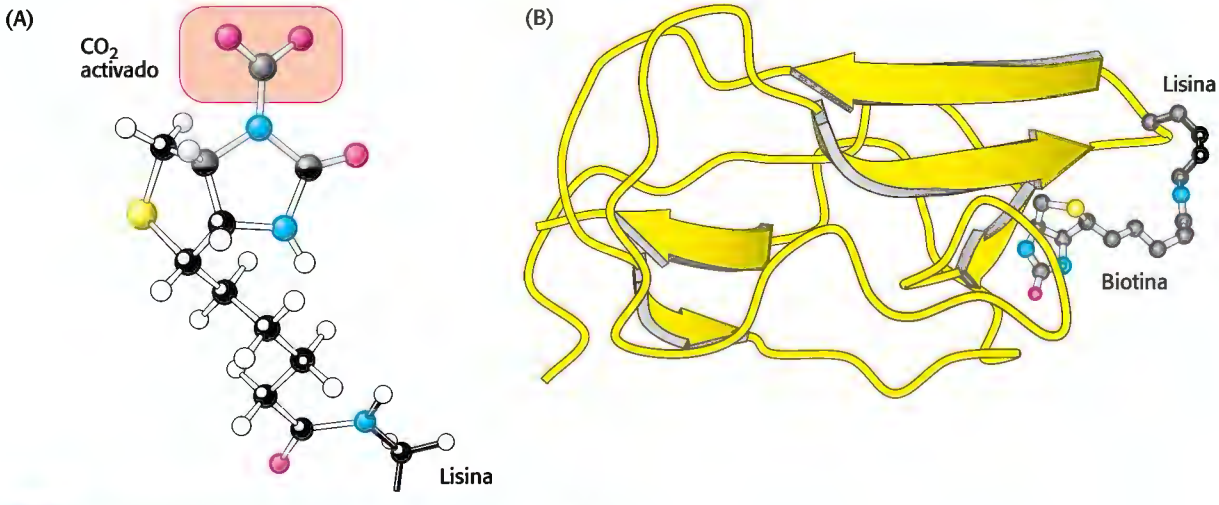


Figura 17.2 Estructura de la carboxibiotina. (A) Se muestra la biotina unida al CO_2. (B) El dominio de unión a la biotina de la piruvato carboxilasa muestra que la biotina se encuentra en un brazo flexible que le permite desplazarse entre el lugar del ATP-bicarbonato y el lugar del piruvato. [(B) Elaborada a partir de 1BDO.pdb.]

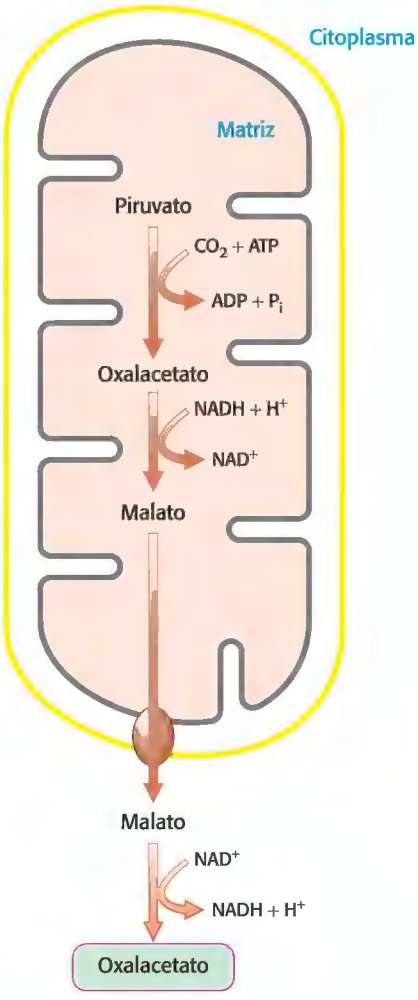


Figura 17.3 Cooperación entre compartimentos. El oxalacetato utilizado en el citoplasma para la gluconeogénesis se forma en la matriz mitocondrial mediante la carboxilación del piruvato. El oxalacetato abandona la mitocondria en forma de malato a través de un sistema de transporte específico y, una vez en el citoplasma, se vuelve a oxidar a oxalacetato.

control fisiológico importante que se estudiará en el Capítulo 19. El CO_2 unido a la biotina está activado. El $\Delta G^{\circ\prime}$ de su escisión

$$CO_2\text{-biotina-enzima} + H^+ \longrightarrow CO_2 + \text{biotina-enzima}$$

es de -20 kJ mol^{-1} ($-4{,}7$ kcal mol^{-1}). Este $\Delta G^{\circ\prime}$ negativo indica que la carboxibiotina es capaz de transferir CO_2 a los aceptores sin aporte adicional de energía libre.

La conexión larga y flexible entre la biotina y la enzima permite a la carboxibiotina rotar de un centro activo de la enzima (el centro para el ATP-bicarbonato) al otro (el centro del piruvato). Posteriormente, el grupo carboxilo activado es transferido desde la carboxibiotina al piruvato para formar oxalacetato.

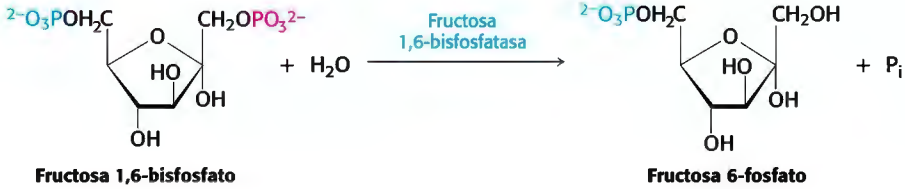
El oxalacetato es enviado al citoplasma y se convierte en fosfoenolpiruvato

La piruvato carboxilasa es una enzima mitocondrial, mientras que el resto de las enzimas de la gluconeogénesis están presentes mayoritariamente en el citoplasma. Por tanto, el oxalacetato, el producto de la reacción de la piruvato carboxilasa, tiene que ser transportado al citoplasma para completar la ruta. El oxalacetato se transporta desde la mitocondria en forma de malato: el oxalacetato se reduce a malato en el interior de la mitocondria por medio de de una malato deshidrogenasa unida a NADH. Una vez atravesada la membrana mitocondrial, el malato se vuelve a oxidar a oxalacetato por medio de una malato deshidrogenasa unida a NAD^+ del citoplasma (**Figura 17.3**). De este modo, la oxidación citoplasmática de malato a oxalacetato genera NADH en el citoplasma para que sea utilizado en las siguientes etapas de la gluconeogénesis. Por último, el oxalacetato se *descarboxila* y se *fosforila* de forma simultánea por medio de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa para generar fosfoenolpiruvato. El donador del grupo fosforilo es el GTP. En este paso se desprende el CO_2 que se añadió al piruvato por medio de la piruvato carboxilasa.

¿Por qué se necesitan una carboxilación y una descarboxilación para formar fosfoenolpiruvato a partir de piruvato? Recordemos que, en la glucólisis, la presencia de un grupo fosforilo atrapa el isómero enol inestable del piruvato en forma de fosfoenolpiruvato (p. 278). Sin embargo, la adición de un grupo fosforilo al piruvato es una reacción muy desfavorable: el $\Delta G^{\circ\prime}$ de la reacción glucolítica catalizada por la piruvato quinasa operando en sentido opuesto es de $+31$ kJ mol^{-1} ($+7{,}5$ kcal mol^{-1}). En la gluconeogénesis, los pasos de carboxilación y descarboxilación dan como resultado un $\Delta G^{\circ\prime}$ mucho más favorable. En la ruta gluconeogénica, la formación de fosfoenolpiruvato a partir de piruvato tiene un $\Delta G^{\circ\prime}$ de $+0{,}8$ kJ mol^{-1} ($+0{,}2$ kcal mol^{-1}). En este caso, en el paso de carboxilación se utiliza una molécula de ATP para impulsar la adición de una molécula de CO_2 al piruvato. Posteriormente, en el paso de descarboxilación, se le quita la molécula de CO_2 al oxalacetato para impulsar la formación de fosfoenolpiruvato. *A menudo, las descarboxilaciones impulsan reacciones que, en caso contrario, serían muy endergónicas.*

La conversión de fructosa 1,6-bisfosfato en fructosa 6-fosfato y ortofosfato es una reacción irreversible

Una vez formado, el fosfoenolpiruvato es metabolizado por las enzimas de la glucólisis, pero en sentido opuesto. En las condiciones intracelulares, estas reacciones están muy cercanas al equilibrio; de manera que, cuando las condiciones favorecen la gluconeogénesis, se producirán las reacciones opuestas hasta alcanzar el siguiente paso irreversible. Esta reacción es la hidrólisis de la fructosa 1,6-bisfosfato a fructosa 6-fosfato y P_i.



Fructosa 1,6-bisfosfato **Fructosa 6-fosfato**

La fructosa 1,6-bisfosfatasa es la enzima responsable de este paso y, al igual que su homólogo glucolítico, es una enzima alostérica que interviene en la regulación —en este caso, de la gluconeogénesis. Más adelante, en este mismo capítulo, volveremos sobre sus propiedades reguladoras.

La generación de glucosa libre es un punto de control importante

La fructosa 6-fosfato generada por la fructosa 1,6-bisfosfatasa se convierte fácilmente en glucosa 6-fosfato. En la mayoría de los tejidos, la gluconeogénesis termina aquí. No se genera glucosa libre; en vez de ello, lo más habitual es que la glucosa 6-fosfato se convierta en glucógeno, la forma de almacenamiento de la glucosa. El paso final de la generación de glucosa libre tiene lugar fundamentalmente en el hígado, un tejido cuya función metabólica consiste en mantener los niveles adecuados de glucosa en la sangre para que sea utilizada por otros tejidos. La glucosa libre no se forma en el citoplasma. En vez de ello, la glucosa 6-fosfato se transporta al *lumen* del retículo endoplasmático, donde es hidrolizada a glucosa por medio de la *glucosa 6-fosfatasa*, que se encuentra unida a la membrana del RE (**Figura 17.4**). Posteriormente, la glucosa y el P_i son transportados de vuelta al citoplasma mediante una pareja de transportadores.

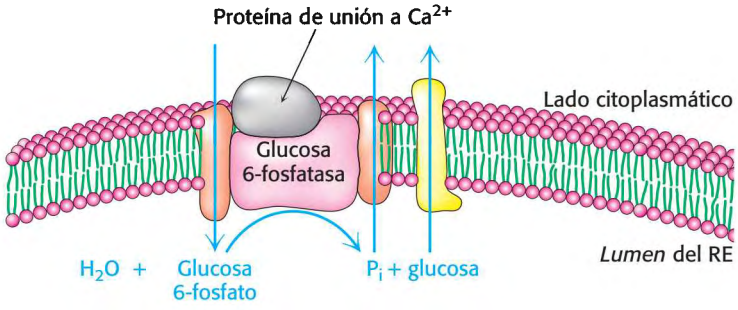


Figura 17.4 Generación de glucosa a partir de glucosa 6-fosfato. Varias proteínas del retículo endoplasmático (RE) intervienen en la generación de glucosa a partir de glucosa 6-fosfato. Un transportador lleva la glucosa 6-fosfato al *lumen* del RE, mientras que otros transportadores distintos llevan el P_i y la glucosa de vuelta al citoplasma. La glucosa 6-fosfatasa se estabiliza por medio de una proteína de unión a Ca^{2+}. [Tomada de A. Buchell y I. D. Waddel. *Biochem. Biophys. Acta* 1092: 129-137, 1991.]

Para sintetizar glucosa a partir de piruvato se consumen seis grupos fosforilo con un elevado potencial de transferencia

Como ya se ha visto en los anteriores conjuntos de reacciones, la formación de glucosa a partir de piruvato es energéticamente desfavorable, a menos que esté acoplada a reacciones que sean favorables. Comparemos la estequiometría de la gluconeogénesis con la de la reacción inversa de la glucólisis. La estequiometría de la gluconeogénesis es

$$2\ \text{Piruvato} + 4\ \text{ATP} + 2\ \text{GTP} + 2\ \text{NADH} + 2\ \text{H}^+ + 6\ \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{glucosa} + 4\ \text{ADP} + 2\ \text{GDP} + 6\ \text{P}_i + 2\ \text{NAD}^+$$
$$\Delta G^{\circ\prime} = -38\ \text{kJ mol}^{-1}\ (-9\ \text{kcal mol}^{-1})$$

Por otra parte, la estequiometría de la reacción inversa de la glucólisis sería

$$\text{Piruvato} + 2\ \text{ATP} + 2\ \text{NADH} + 2\ \text{H}^+ + 2\ \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{glucosa} + 2\ \text{ADP} + 2\ \text{P}_i + 2\ \text{NAD}^+$$
$$\Delta G^{\circ\prime} = -90\ \text{kJ mol}^{-1}\ (-22\ \text{kcal mol}^{-1})$$

Hay que señalar que en la gluconeogénesis, para sintetizar glucosa a partir de piruvato se hidrolizan *seis* moléculas de nucleósido trifosfato, mientras que en la glucólisis,

durante la conversión de glucosa en piruvato se generan solo *dos* moléculas de ATP. Por tanto, el coste extra de la gluconeogénesis es de cuatro moléculas con un elevado potencial de transferencia de fosforilos por cada molécula de glucosa que se sintetice a partir de piruvato. Las cuatro moléculas adicionales con un elevado potencial de transferencia de fosforilos son necesarias para convertir un proceso desfavorable desde el punto de vista energético (la reacción inversa de la glucólisis) en uno favorable (la gluconeogénesis). Estamos, por tanto, ante un claro ejemplo de acoplamiento de reacciones: se utiliza la hidrólisis de los nucleósidos trifosfato (NTP) para impulsar una reacción energéticamente desfavorable.

? PREGUNTA RÁPIDA 1 ¿Qué barrera evita que se sintetice glucosa sencillamente mediante la reacción inversa de la glucólisis? ¿Cómo se supera esta barrera en la gluconeogénesis?

✓ 4 Describir la regulación coordinada de la glucólisis y la gluconeogénesis.

17.2 La gluconeogénesis y la glucólisis se regulan de forma recíproca

La gluconeogénesis y la glucólisis están coordinadas de manera que, en el interior de una célula, una de las rutas permanece relativamente inactiva mientras la otra está muy activa. Si ambos conjuntos de reacciones estuviesen muy activos al mismo tiempo, el resultado neto sería la hidrólisis de cuatro nucleósidos trifosfato (dos moléculas de ATP más dos moléculas de GTP) por cada ciclo de reacciones. En las condiciones celulares, tanto la glucólisis como la gluconeogénesis son muy exergónicas y, por tanto, no existe una barrera termodinámica para este tipo de actividad simultánea. Sin embargo, las actividades de las enzimas características de cada ruta están controladas de forma que ambas rutas no estén muy activas al mismo tiempo. La velocidad de la glucólisis también está determinada por la concentración de glucosa, y la velocidad de la gluconeogénesis está controlada por la concentración de lactato y de otros precursores de la glucosa. *La premisa básica de la regulación recíproca es que, cuando la glucosa se encuentra en abundancia, predomina la glucólisis. Cuando la glucosa escasea, se impone la gluconeogénesis.*

La carga energética determina qué ruta es más activa, la glucólisis o la gluconeogénesis

El primer punto de regulación importante de la ruta de la gluconeogénesis es la interconversión entre fructosa 6-fosfato y fructosa 1,6-bisfosfato (**Figura 17.5**). Consideremos primero una situación en la que se necesite energía. En este caso, la concentración de AMP es alta. En esta situación, el AMP estimula la fosfofructoquinasa pero inhibe la fructosa 1,6-bisfosfatasa. Por tanto, se activa la glucólisis y se inhibe la gluconeogénesis. Por el contrario, niveles elevados de ATP y de citrato indican que la carga energética es alta y que abundan los intermediarios biosintéticos. El ATP y el citrato inhiben la fosfofructoquinasa, mientras que el citrato activa la fructosa 1,6-bisfosfatasa. En estas condiciones, la glucólisis está casi desactivada y se fomenta la gluconeogénesis. ¿Por qué interviene el citrato en este esquema regulador? Como veremos en el Capítulo 19, el citrato aporta información sobre el estatus del ciclo del ácido cítrico, la principal ruta para la oxidación de combustibles en presencia de oxígeno. Niveles elevados de citrato indican una situación de mucha energía y la presencia de precursores para la biosíntesis, especialmente para la síntesis de ácidos grasos (Capítulo 28).

En el hígado, la glucólisis y la gluconeogénesis también están reguladas recíprocamente en el punto de la interconversión entre fosfoenolpiruvato y piruvato. La enzima glucolítica piruvato quinasa se inhibe por los efectores alostéricos ATP y alanina, que son señales de que la carga energética es alta y de que abundan los materiales de construcción. Por el contrario, la piruvato carboxilasa, que cataliza el primer paso de la gluconeogénesis a partir del piruvato, se inhibe por el ADP. Análogamente, el ADP inhibe la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa. La piruvato carboxilasa se activa por la acetil-CoA que, al igual que el citrato, es una señal de que el ciclo del ácido cítrico está produciendo energía e intermediarios para la biosíntesis (Capítulo 19). Por tanto, cuando la célula es rica en precursores biosintéticos y en ATP se favorecen las rutas anabólicas. En el hígado, la gluconeogénesis puede producir glucosa para

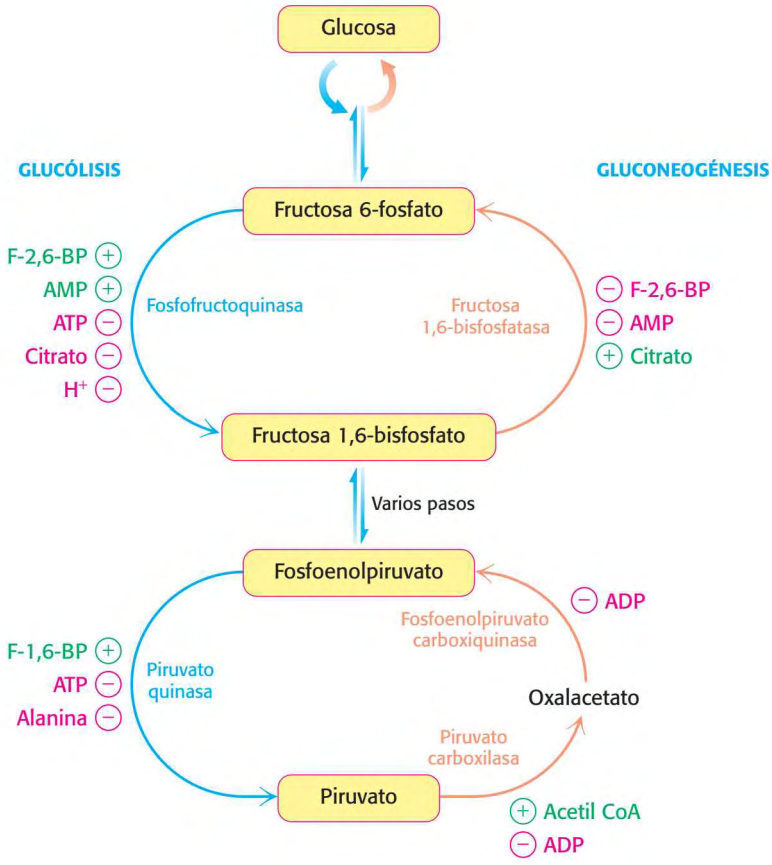


Figura 17.5 Regulación recíproca de la gluconeogénesis y la glucólisis en el hígado. El nivel de fructosa 2,6-bisfosfato (F-2,6-BP) es alto en el estado saciado y bajo en condiciones de inanición. Otro punto de control importante es la inhibición de la piruvato quinasa mediante fosforilación en condiciones de inanición.

reponer las reservas de glucógeno (Capítulo 25) y puede llevarse a cabo la síntesis de ácidos grasos.

En el hígado, el equilibrio entre la glucólisis y la gluconeogénesis es sensible a la concentración de glucosa en la sangre

En el hígado, las velocidades de la glucólisis y de la gluconeogénesis se ajustan para mantener los niveles de glucosa en sangre. Recordemos que la fructosa 2,6-bisfosfato es un potente activador de la fosfofructoquinasa (PFK), el principal paso regulador de la glucólisis (p. 289). La fructosa 2,6-bisfosfato también es un inhibidor de la *fructosa 1,6-bisfosfatasa*. Cuando el nivel de glucosa en sangre es bajo, la fructosa 2,6-bisfosfato pierde un grupo fosforilo para formar fructosa 6-fosfato, que ya no se une a la PFK. ¿Cómo se controla la concentración de fructosa 2,6-bisfosfato para que aumente o disminuya con los niveles de glucosa en sangre? Dos enzimas regulan la concentración de esta molécula: una fosforila la fructosa 6-fosfato y la otra desfosforila la fructosa 2,6-bisfosfato. La fructosa 2,6-bisfosfato se forma a partir de la fructosa 6-fosfato mediante una reacción catalizada por la *fosfofructoquinasa 2* (PFK2), una enzima distinta de la fosfofructoquinasa. En el sentido opuesto, la fructosa 6-fosfato se forma mediante la hidrólisis de la fructosa 2,6-bisfosfato por medio de una fosfatasa específica, la *fructosa bisfosfatasa 2* (FBPasa2). Un hallazgo sorprendente es que *tanto la PFK2 como la FBPasa2 se encuentran en una única cadena polipeptídica de 55 kDa* (**Figura 17.6**). Esta *enzima bifuncional* contiene un *dominio regulador* en el extremo N-terminal seguido de un *dominio quinasa* y de un *dominio fosfatasa*.

¿Qué es lo que determina que en el hígado predomine la actividad PFK2 o la actividad FBPasa2 de esta enzima bifuncional? Las actividades de la PFK2 y de la FBPasa2 están recíprocamente controladas por medio de *la fosforilación de un único residuo de serina*. Cuando escasea la glucosa, como ocurre durante el ayuno nocturno, un aumento del nivel de la hormona glucagón en la sangre desencadena la cascada de señales del AMP cíclico (p. 218), lo que da lugar a la fosforilación de esta enzima

? PREGUNTA RÁPIDA 2 ¿Cuáles son los mecanismos reguladores que evitan que se produzcan al mismo tiempo niveles elevados de actividad de la glucólisis y de la gluconeogénesis? Si ambas rutas funcionasen rápidamente al mismo tiempo, ¿cuál sería el resultado?

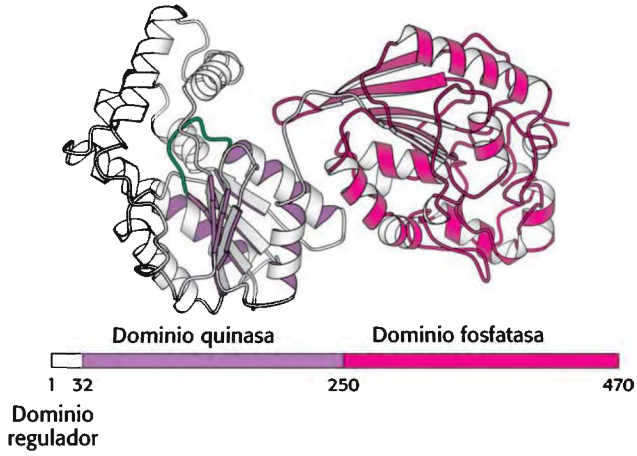


Figura 17.6 Dominios presentes en la estructura de la enzima reguladora bifuncional fosfofructoquinasa 2 / fructosa 2,6-bisfosfatasa. El dominio quinasa (en color púrpura) está fusionado al dominio fosfatasa (en rojo). La barra representa la secuencia de aminoácidos de la enzima. [Elaborada a partir de 1BIF.pdb.]

bifuncional por medio de la proteína quinasa A (Figura 17.7). Esta modificación covalente activa la FBPasa2 e inhibe la PFK2, con lo que disminuye el nivel de F-2,6-BP. Predomina la gluconeogénesis. La glucosa formada en el hígado en estas condiciones es esencial para la viabilidad del cerebro. En el hígado, la estimulación de la proteína quinasa A por el glucagón también desactiva la piruvato quinasa (p. 290).

Por el contrario, cuando la glucosa en sangre es abundante, como ocurre después de una comida, la concentración de glucagón en la sangre disminuye y los niveles de insulina en sangre aumentan. Ahora no se necesita la gluconeogénesis y se elimina el grupo fosforilo de la enzima funcional. Esta modificación covalente activa la PFK2 e inhibe la FBPasa2. El resultado es un incremento del nivel de F-2,6-BP que acelera la glucólisis. El control coordinado de la glucólisis y de la gluconeogénesis se ve favorecido por el hecho de que los dominios quinasa y fosfatasa estén localizados en la misma cadena polipeptídica que el dominio regulador.

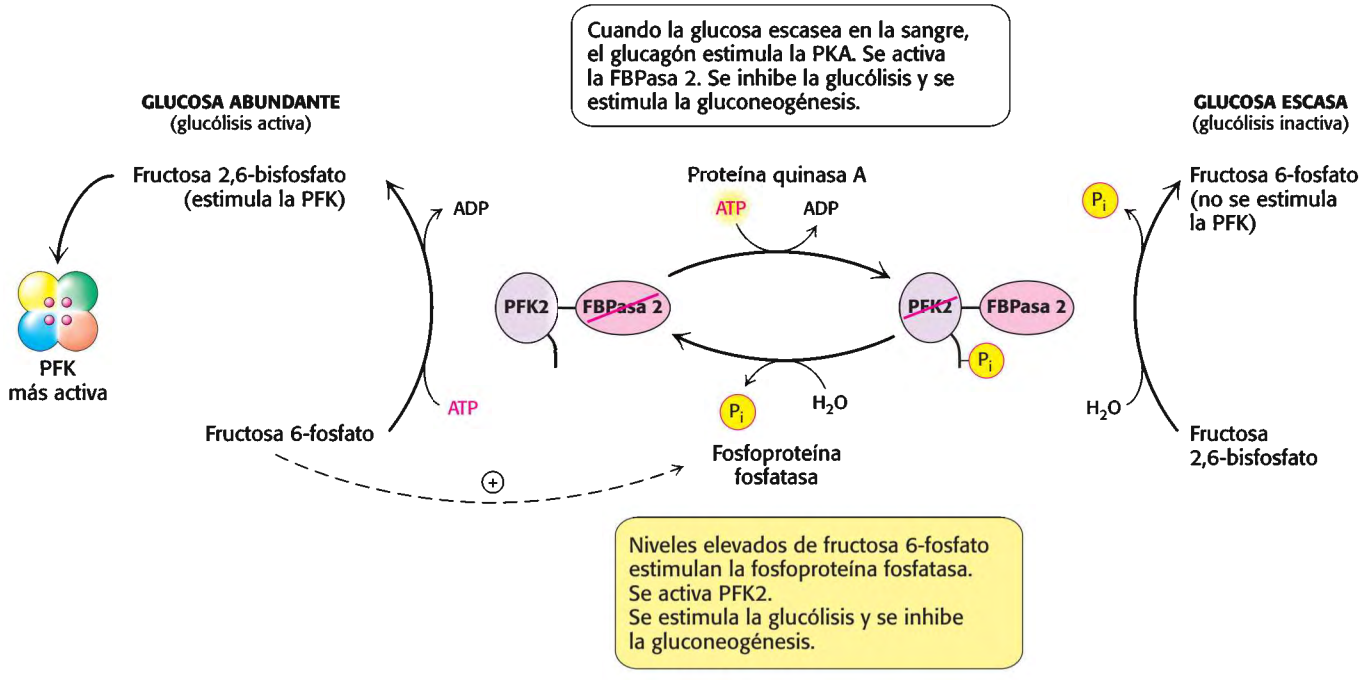


Figura 17.7 Control de la síntesis y degradación de la fructosa 2,6-bisfosfato. Un bajo nivel de glucosa en sangre, que es lo que indica el glucagón, da lugar a la fosforilación de la enzima bifuncional y, por tanto, a niveles más reducidos de fructosa 2,6-bisfosfato, lo que ralentiza la glucólisis. Niveles elevados de fructosa 6-fosfato aceleran la formación de fructosa 2,6-bisfosfato facilitando la desfosforilación de la enzima bifuncional.

Aspecto clínico

En la diabetes de tipo 2, la insulina no consigue inhibir la gluconeogénesis

Normalmente, la insulina, la hormona que indica la presencia de combustible en la sangre, o el estado saciado, inhibe la gluconeogénesis. Cuando la glucosa está presente en la sangre después de una comida, que es lo que indica la aparición de insulina, no hay necesidad de sintetizar glucosa. Recordemos del Capítulo 13 que la insulina, normalmente, inicia una cascada de señalización que aumenta la expresión de los genes que codifican las proteínas de la glucólisis. La insulina también desactiva el gen que codifica la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK), inhibiendo así la gluconeogénesis. Sin embargo, en la diabetes de tipo 2 (una diabetes que no depende de la insulina), la insulina, aunque está presente, no consigue inhibir la expresión del gen que codifica PEPCK y los otros genes de la gluconeogénesis. Esta circunstancia metabólica se denomina *resistencia a la insulina* y es la característica distintiva de la diabetes de tipo 2. La concentración más alta de lo normal de PEPCK da lugar a un incremento en la producción de glucosa por parte del hígado a pesar de que ya hay glucosa procedente de la dieta. El nivel de glucosa en sangre aumenta hasta niveles anormalmente altos (hiperglucemia). Niveles elevados de glucosa en sangre dan lugar a una sed excesiva, micciones frecuentes, visión borrosa, fatiga e infecciones frecuentes y de lenta curación. Se desconoce la causa de la diabetes de tipo 2, la enfermedad metabólica más frecuente del mundo, aunque la obesidad puede ser un factor de riesgo. Si no se trata, la diabetes de tipo 2 puede progresar hasta una diabetes dependiente de la insulina. El tratamiento de la diabetes de tipo 2 incluye pérdida de peso, una dieta saludable, ejercicio y la administración de fármacos que incrementen la sensibilidad hacia la insulina (Figura 17.8). ■



Figura 17.8 La dieta puede ayudar a evitar el desarrollo de la diabetes de tipo 2. Una dieta saludable, rica en frutas y verduras, es un paso importante a la hora de prevenir o tratar la diabetes de tipo 2. [Photodisc/Getty Images.]

Los ciclos del sustrato amplifican las señales metabólicas

Una pareja de reacciones como la fosforilación de la fructosa 6-fosfato a fructosa 1,6-bisfosfato en la ruta glucolítica y su hidrólisis para volver a formar fructosa 6-fosfato en la ruta gluconeogénica se denomina *ciclo del sustrato*. Como ya se ha comentado, en la mayoría de las células ambas reacciones no están completamente activas a la vez, debido a controles alostéricos recíprocos. Sin embargo, los resultados de estudios realizados con marcaje isotópico han demostrado que, incluso en la gluconeogénesis, parte de la fructosa 6-fosfato se fosforila a fructosa 1,6-bisfosfato. En otras parejas de reacciones irreversibles opuestas también se ha detectado este tipo de procesos cíclicos, aunque en menor grado. Estos procesos cíclicos se consideraban una imperfección del control metabólico y, por tanto, en algunas ocasiones los ciclos del sustrato han sido denominados *ciclos fútiles*. De hecho, hay estados patológicos, como, por ejemplo, la hipertermia maligna, en los que se ha perdido el control y ambas rutas se llevan a cabo rápidamente. En la hipertermia maligna hay una rápida e incontrolada hidrólisis de ATP, que genera calor y puede hacer subir la temperatura corporal hasta los 44 °C. Los músculos se vuelven rígidos y, además, se destruyen.

A pesar de estas extraordinarias circunstancias, hoy en día parece probable que los ciclos del sustrato sean biológicamente importantes. Una posibilidad es que *los ciclos del sustrato amplifiquen las señales metabólicas*. Supongamos que la velocidad de conversión de A en B es 100 y la de B en A es 90, originando un flujo neto inicial de 10. Supongamos también que un efector alostérico aumenta la velocidad de A ⟶ B en un 20%, hasta 120 y disminuye recíprocamente la velocidad de B ⟶ A en un 20%, hasta 72. El nuevo flujo neto es de 48 y, por tanto, un cambio del 20% en la velocidad de dos reacciones opuestas ha dado lugar a un incremento del 380% en el flujo neto. En el ejemplo mostrado en la Figura 17.9, esta amplificación se hace posible por la rápida hidrólisis del ATP. Se ha sugerido que el flujo de cada paso de la ruta glucolítica se

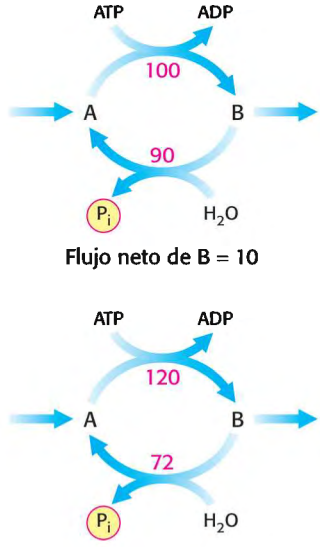


Figura 17.9 Ciclo del sustrato. Este ciclo impulsado por el ATP opera a dos velocidades distintas. Un pequeño cambio en las velocidades de las dos reacciones opuestas da lugar a un gran cambio en el flujo *neto* del producto B.

puede llegar a multiplicar por 1.000 al inicio de un ejercicio intenso, cuando hace falta gran cantidad de ATP. Como parece poco probable que la activación alostérica de las enzimas pueda explicar por sí sola este incremento del flujo, la existencia de ciclos del sustrato puede explicar, en parte, el rápido aumento de la velocidad de glucólisis.

17.3 El metabolismo en su contexto: los precursores formados por el músculo son utilizados por otros órganos

El lactato producido por el músculo esquelético activo y los glóbulos rojos es una fuente de energía para otros órganos. Los glóbulos rojos carecen de mitocondrias y nunca podrán oxidar la glucosa por completo. Recordemos que, al contraerse el músculo esquelético durante un ejercicio intenso, la velocidad a la que la glucólisis produce piruvato supera a la velocidad a la que el ciclo del ácido cítrico lo oxida. En estas células, la lactato deshidrogenasa reduce el piruvato en exceso a lactato para restablecer así el balance redox (p. 281). Sin embargo, el lactato es un punto muerto en el metabolismo. Se tiene que volver a convertir en piruvato para poder ser metabolizado. El lactato puede salir de estas células a través de transportadores y difundir a la sangre. *Durante la contracción del músculo esquelético, la formación y la liberación del lactato permiten al músculo generar ATP en ausencia de oxígeno y traslada la responsabilidad de metabolizar el lactato desde el músculo a otros órganos.* En el torrente sanguíneo, el lactato tiene dos posibles destinos. En uno de ellos, las membranas plasmáticas de algunas células, especialmente las células del músculo cardiaco, contienen transportadores que hacen a las células muy permeables al lactato. La molécula difunde desde la sangre hacia estas células permeables. En el interior de estas células bien oxigenadas, el lactato se puede volver a convertir en piruvato y ser metabolizado por medio del ciclo del ácido cítrico y la fosforilación oxidativa para generar ATP. El uso del lactato en vez de la glucosa por parte de estas células hace que haya más glucosa disponible en circulación para las células activas del músculo. En el otro destino, el exceso de lactato entra en el hígado y se convierte primero en piruvato y, posteriormente, en glucosa a través de la ruta gluconeogénica. De este modo, *el hígado restablece el nivel de glucosa necesario para las células activas del músculo, que obtienen ATP a partir de la conversión glucolítica de la glucosa en lactato*. Estas reacciones constituyen el *ciclo de Cori* (**Figura 17.10**).

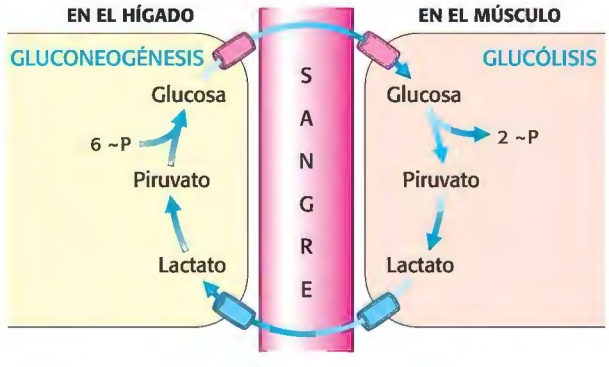


Figura 17.10 Ciclo de Cori. En el hígado, el lactato formado por el músculo activo se convierte en glucosa. Este ciclo transfiere al hígado parte de la carga metabólica del músculo activo. El símbolo ~P indica nucleósidos trifosfato.

Las investigaciones han demostrado que, en el hígado, la alanina, al igual que el lactato, es uno de los principales precursores de la glucosa. La alanina se genera en el músculo cuando los esqueletos carbonados de algunos aminoácidos se utilizan como combustible. Los átomos de nitrógeno procedentes de estos aminoácidos se transfieren al piruvato para formar alanina (Capítulo 30); en el hígado tiene lugar la reacción inversa. Este proceso también ayuda a mantener el balance del nitrógeno. La interacción entre la glucólisis y la gluconeogénesis se resume en la **Figura 17.10**, que muestra cómo estas rutas ayudan a satisfacer las necesidades energéticas de diversos tipos celulares.

Resumen

17.1 Se puede sintetizar glucosa a partir de precursores distintos de los carbohidratos

La gluconeogénesis es la síntesis de glucosa a partir de compuestos distintos de los carbohidratos, como, por ejemplo, lactato, aminoácidos y glicerol. Algunas de las reacciones que convierten el piruvato en glucosa son comunes a la glucólisis. Sin embargo, la gluconeogénesis requiere cuatro nuevas reacciones para eludir las tres reacciones de la glucólisis que son prácticamente irreversibles. En dos de las nuevas reacciones, el piruvato se carboxila en las mitocondrias a oxalacetato que, a su vez, es descarboxilado y fosforilado a fosfoenolpiruvato en el citoplasma. En estas reacciones, que son catalizadas por la piruvato carboxilasa y por la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, se consumen dos moléculas con un elevado potencial de transferencia de fosforilos. La piruvato carboxilasa contiene un grupo prostético, la biotina. Las otras reacciones características de la gluconeogénesis son la hidrólisis de la fructosa 1,6-bisfosfato y de la glucosa 6-fosfato, que están catalizadas por fosfatasas específicas. Las principales materias primas para la gluconeogénesis en el hígado son el lactato y la alanina producidos por el músculo esquelético activo. Durante una actividad muscular intensa, la formación de lactato permite ganar tiempo y desplaza parte de la responsabilidad metabólica desde el músculo hasta el hígado.

17.2 La gluconeogénesis y la glucólisis se regulan de forma recíproca

La gluconeogénesis y la glucólisis están reguladas recíprocamente de modo que una ruta permanece relativamente inactiva mientras la otra es muy activa. La fosfofructoquinasa y la fructosa 1,6-bisfosfatasa son los puntos de control clave. La fructosa 2,6-bisfosfato, una molécula señal intracelular que está presente en mayor cantidad cuando abunda la glucosa, activa la glucólisis e inhibe la gluconeogénesis regulando estas enzimas. La piruvato quinasa y la piruvato carboxilasa se regulan mediante otros efectores de modo que no muestren su actividad máxima al mismo tiempo. La regulación alostérica y la fosforilación reversible, que son rápidas, se complementan mediante el control transcripcional, que tiene lugar en horas o en días.

17.3 El metabolismo en su contexto: los precursores formados por el músculo son utilizados por otros órganos

El lactato que se genera durante la glucólisis en la contracción muscular se libera al torrente sanguíneo. Este lactato es extraído de la sangre por el hígado y se convierte en glucosa a través de la gluconeogénesis. Esta cooperación metabólica entre el músculo y el hígado se denomina ciclo de Cori. La alanina es utilizada para transportar nitrógeno y esqueletos carbonados desde el músculo hasta el hígado.

Términos clave

gluconeogénesis (p. 299)
piruvato carboxilasa (p. 302)
biotina (p. 303)
glucosa 6-fosfatasa (p. 305)
enzima bifuncional (p. 307)
ciclo del sustrato (p. 309)
ciclo de Cori (p. 310)

Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. En condiciones celulares, la reacción inversa de la glucólisis es muy endergónica. El consumo de seis moléculas de NTP en la gluconeogénesis hace que esta sea exergónica.

2. La regulación recíproca de las enzimas alostéricas clave de las dos rutas. Por ejemplo, la PFK es estimulada por la fructosa 2,6-bisfosfato y el AMP. El efecto de estas señales es el opuesto al de la fructosa 1,6-bisfosfato. Si ambas rutas estuviesen operando simultáneamente, el resultado sería un ciclo fútil. Se hidrolizaría el ATP y solo se produciría calor.

Problemas

1. *No es difícil hacer frente a los gastos. Están en todas partes.* ¿Qué barrera energética evita que la glucólisis sencillamente opere en sentido contrario para sintetizar glucosa? ¿Cuál es el coste energético de superar esta barrera? ✓ 3

2. *Como Minneapolis y Saint Paul.* Asigne a cada término la descripción correspondiente.

(a) Lactato _____
(b) Piruvato carboxilasa _____
(c) Acetil CoA _____
(d) Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa _____
(e) Glicerol _____
(f) Fructosa 1,6-bisfosfatasa _____
(g) Glucosa 6-fosfatasa _____

1. Genera oxalacetato
2. Se convierte fácilmente en DHAP
3. Genera un compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos
4. Se encuentra predominantemente en el hígado
5. La homóloga de la PFK en la gluconeogénesis
6. Se convierte fácilmente en piruvato
7. Necesaria para la actividad de la piruvato carboxilasa

3. *Cortes de carretera.* ¿Qué reacciones de la glucólisis no son fácilmente reversibles en las condiciones celulares? ¿Cómo se eluden estas reacciones en la gluconeogénesis? ✓ 3

4. *Ladrón de biotina.* La avidina, una proteína de 70 kDa de la clara de huevo, presenta una afinidad muy elevada hacia la biotina. De hecho, es un inhibidor muy específico de las enzimas que utilizan biotina. ¿Cuál de las siguientes conversiones se bloquearía por la adición de avidina a un homogenado celular?

(a) Glucosa → piruvato
(b) Piruvato → glucosa
(c) Oxalacetato → glucosa
(d) Malato → oxalacetato
(e) Piruvato → oxalacetato
(f) Gliceraldehído 3-fosfato → fructosa 1,6-bisfosfato

5. *¿Trabajando con objetivos contrapuestos?* Durante un ejercicio intenso tiene lugar la gluconeogénesis, lo que parece un contrasentido. ¿Por qué un organismo sintetiza glucosa y, al mismo tiempo, la utiliza para generar energía? ✓ 3

6. *Distintas necesidades.* El hígado es fundamentalmente un tejido gluconeogénico. ¿Por qué es una buena idea, desde el punto de vista fisiológico, esta división del trabajo? ✓ 3

7. *Mutantes metabólicos.* Si una mutación inutilizase la glucosa 6-fosfatasa del hígado, ¿cuál sería el efecto sobre la capacidad del organismo para utilizar la glucosa como fuente de energía?

8. *Nunca dejes que me vaya.* ¿Por qué es una buena idea, desde el punto de vista fisiológico, la falta de actividad glucosa 6-fosfatasa en el cerebro y en el músculo?

9. *¿Por dónde se va?* Compare las funciones de la lactato deshidrogenasa en la gluconeogénesis y en la fermentación láctica. ✓ 3

10. *Emparejamientos 1.* La siguiente secuencia de reacciones es una parte de la ruta de la gluconeogénesis.

$$\text{Piruvato} \xrightarrow[A]{} \text{oxalacetato} \xrightarrow[B]{} \text{malato} \xrightarrow[C]{}$$
$$\text{oxalacetato} \xrightarrow[D]{} \text{fosfoenolpiruvato}$$

Asigne a cada una de las letras mayúsculas que representan una reacción de la ruta gluconeogénica el enunciado o enunciados correspondientes.

(a) tiene lugar en las mitocondrias
(b) tiene lugar en el citoplasma
(c) produce CO_2
(d) consume CO_2
(e) requiere NADH
(f) produce NADH
(g) requiere ATP
(h) requiere GTP
(i) requiere tiamina
(j) requiere biotina
(k) está regulada por la acetil-CoA

11. *Rescatando recursos.* En condiciones de inanición se produce la degradación de proteínas en el músculo. Explique cómo podría esta degradación afectar a la gluconeogénesis en el hígado.

12. *Contando compuestos de alta energía 1.* ¿Cuántas moléculas de NTP se necesitan para la síntesis de una molécula de glucosa a partir de dos moléculas de piruvato? ¿Y cuántas moléculas de NADH? ✓ 3

13. *Contando compuestos de alta energía 2.* ¿Cuántas moléculas de ATP se necesitan para sintetizar glucosa a partir de cada uno de los siguientes compuestos? ✓ 3

(a) Glucosa 6-fosfato
(b) Fructosa 1,6-bisfosfato
(c) Dos moléculas de oxalacetato
(d) Dos moléculas de dihidroxiacetona fosfato

14. *Dos ciclos.* ¿Cuáles son los dos posibles ciclos del sustrato en la ruta glucolítica y en la ruta gluconeogénica? ✓ 4

15. *Ciclos útiles.* ¿Cuáles son las dos posibles funciones de los ciclos del sustrato en la glucólisis y en la gluconeogénesis? ✓ 4

16. *No estemos en desacuerdo.* Describa la regulación recíproca de la glucólisis y la gluconeogénesis. ✓ 4

Problemas de integración de capítulos

17. *Emparejamientos 2.* Indique cuál o cuáles de las condiciones enumeradas en la columna de la derecha aumenta la actividad de las rutas glucolítica y gluconeogénica. ✓ 4

(a) glucólisis
(b) gluconeogénesis

1. aumento de ATP
2. aumento de AMP
3. aumento de fructosa 2,6-bisfosfato
4. aumento de citrato
5. aumento de acetil-CoA
6. aumento de insulina
7. aumento de glucagón
8. ayuno
9. saciedad

18. *Echando una mano.* ¿Cómo podrían contribuir a la gluconeogénesis las enzimas que extraen grupos amino de la alanina y del aspartato?

19. *Más mutantes metabólicos.* Pronostique el efecto de cada una de las siguientes mutaciones en el ritmo de la glucólisis en células hepáticas. ✓ 4

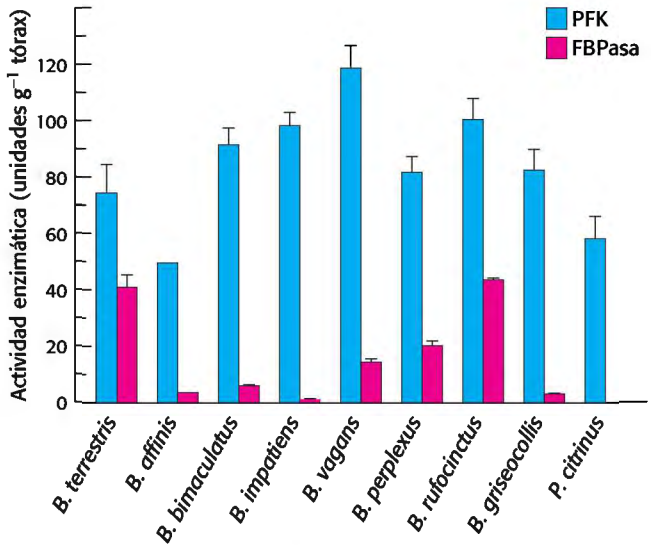
(a) Pérdida del lugar alostérico para el ATP en la fosfofructoquinasa
(b) Pérdida del lugar de unión para el citrato en la fosfofructoquinasa
(c) Pérdida del dominio fosfatasa de la enzima bifuncional que controla el nivel de fructosa 2,6-bisfosfato
(d) Pérdida del lugar de unión para la fructosa 2,6-bisfosfato en la piruvato quinasa

Problema de interpretación de datos

20. *Abejas con frío.* En principio, se podría utilizar un ciclo fútil que incluya la fosfofructoquinasa y la fructosa 2,6-bisfosfato para producir calor. El calor podría utilizarse para calentar los tejidos. Por ejemplo, se ha publicado que ciertos abejorros utilizan este tipo de ciclo fútil para calentar sus músculos del vuelo en las mañanas frías.

Los científicos llevaron a cabo una serie de experimentos para determinar si cierto número de especies de abejorro utilizan este ciclo fútil. Su estrategia consistía en medir la actividad de la PFK y de la F-1,6-BP en el músculo del vuelo. ✓ 3

(a) ¿Cuál es la razón por la que comparan las actividades de estas dos enzimas?
(b) Los siguientes datos muestran la actividad de ambas enzimas en diversas especies de abejorro (de los géneros *Bombus* y *Psithyrus*). ¿Respaldan estos resultados la idea de que los abejorros utilizan ciclos fútiles para generar calor? Explique por qué.



[Tomado de J. F. Staples, E. L. Koen y T. M. Laverty, *J. Exp. Biol.* 207: 749–754, 2004, p. 751.]

(c) ¿En qué especies podría haber ciclos fútiles? Razone su respuesta.
(d) ¿Prueban estos resultados que los ciclos fútiles no intervienen en la generación de calor?

Problemas para atrevidos

21. *Quien guarda, halla.* ¿Por qué resulta de lo más interesante para un organismo convertir el ácido láctico de la sangre en glucosa en el hígado?

22. *Aún más mutantes metabólicos.* ¿Cuáles son las probables consecuencias de un trastorno genético que haga que la fructosa 1,6-bisfosfatasa del hígado sea menos sensible a la regulación por medio de fructosa 2,6-bisfosfato? ✓ 4

23. *Siguiendo el rastro de los átomos de carbono.* Si las células que están sintetizando glucosa a partir de lactato se exponen a CO_2 marcado con ^{14}C, ¿cómo se distribuiría el marcaje en la glucosa recién sintetizada?

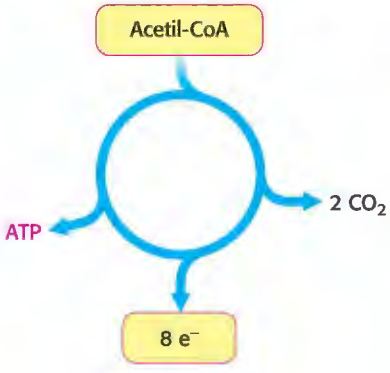
24. *Impulsando rutas.* Compare las estequiometrías de la glucólisis y de la gluconeogénesis. Recuerde que el aporte de un equivalente de ATP cambia la constante de equilibrio de una reacción por un factor de aproximadamente 10^8 (p. 251). ¿Por qué factor alteran la constante de equilibrio de la gluconeogénesis los compuestos con un elevado potencial de transferencia de fosforilos adicionales? ✓ 3

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.



Capítulo 18:
Preparación del ciclo





Capítulo 19:
Extracción de electrones mediante el ciclo

SECCIÓN 8

El ciclo del ácido cítrico

En el Capítulo 16 se vio que la glucosa, a través de la glucólisis, se puede metabolizar a piruvato generando algo de ATP. Sin embargo, el proceso de la glucólisis no es eficaz, ya que solo recoge parte de la energía contenida en una molécula de glucosa en forma de ATP. Se puede extraer más energía si se oxida completamente el piruvato a dióxido de carbono y agua. La oxidación de los combustibles a dióxido de carbono y agua para generar ATP se denomina respiración celular y es la fuente de más del 90% del ATP que necesitan los seres humanos. La *respiración celular*, a diferencia de la glucólisis, es un proceso aeróbico que necesita oxígeno molecular (O_2). En eucariotas, la respiración celular tiene lugar en el interior de las mitocondrias, que están rodeadas por una doble membrana, mientras que la glucólisis es un proceso citoplasmático.

La respiración celular se puede dividir en dos partes. En primer lugar, los combustibles carbonados se oxidan completamente al tiempo que se generan electrones con un elevado potencial de transferencia por medio de una serie de reacciones que se ha denominado de varias formas: ciclo del *ácido cítrico* (CAC), ciclo de los *ácidos tricarboxílicos* (TCA) o ciclo de Krebs. En la segunda parte de la respiración celular, la denominada *fosforilación oxidativa*, los electrones con un elevado potencial de transferencia se transfieren al oxígeno para formar agua mediante una serie de reacciones de oxidación-reducción. Esta transferencia es muy exergónica y la energía liberada se utiliza para sintetizar ATP. En esta sección nos centraremos en el ciclo del ácido cítrico, dejando la fosforilación oxidativa para la Sección 10.

El ciclo del ácido cítrico es la principal centralita metabólica de la célula. Es la puerta de acceso al metabolismo aeróbico de todas las moléculas combustible. El ciclo también resulta crucial para el anabolismo, ya que actúa como una importante fuente de precursores para los materiales de construcción de muchas otras moléculas, como,

por ejemplo, aminoácidos, bases nucleotídicas y porfirina (el componente orgánico del grupo hemo). El oxalacetato, un intermediario del ciclo del ácido cítrico, también es un importante precursor de la glucosa (p. 302).

Comenzamos esta sección estudiando una de las reacciones más importantes de los sistemas vivos: la conversión del piruvato procedente de la glucosa en acetil-CoA, una unidad acetilo activada y el sustrato real para el ciclo del ácido cítrico. Esta reacción conecta la glucólisis con la respiración celular, permitiendo así la combustión completa de la glucosa, un combustible fundamental para todos los sistemas vivos. A continuación, estudiaremos el propio ciclo del ácido cítrico, la ruta final común a todas las moléculas combustible, carbohidratos, grasas y aminoácidos.

✓ Al final de esta sección, usted debería ser capaz de:

- ✓ 1 Explicar por qué la reacción catalizada por el complejo piruvato deshidrogenasa es un punto crítico del metabolismo.
- ✓ 2 Identificar los mecanismos de regulación del complejo piruvato deshidrogenasa.
- ✓ 3 Identificar el principal objetivo catabólico del ciclo del ácido cítrico.
- ✓ 4 Explicar la ventaja de oxidar la acetil-CoA a través del ciclo del ácido cítrico.
- ✓ 5 Describir cómo se regula el ciclo del ácido cítrico.
- ✓ 6 Describir el papel del ciclo del ácido cítrico en el anabolismo.

CAPÍTULO 18

Preparación del ciclo

18.1 La piruvato deshidrogenasa forma acetil-coenzima A a partir de piruvato

18.2 El complejo piruvato deshidrogenasa se regula por medio de dos mecanismos



En la ciudad de Nueva York, el majestuoso Puente de Brooklyn conecta Brooklyn con Manhattan. La piruvato deshidrogenasa conecta la glucólisis con la respiración celular convirtiendo el piruvato en acetil-CoA. Sin embargo, a diferencia del tráfico que discurre sobre el Puente de Brooklyn, el tráfico molecular fluye en un único sentido. [Ron Chapple Stock/Alamy.]

Tal y como se vio en el Capítulo 16, el piruvato producido por la glucólisis puede tener muchos destinos. En ausencia de oxígeno (condiciones anaeróbicas), el piruvato se convierte en ácido láctico o en etanol, según el tipo de organismo. En presencia de oxígeno (condiciones aeróbicas), se convierte en una molécula denominada *acetil coenzima A* (acetil-CoA; **Figura 18.1**), que es capaz de incorporarse al *ciclo del ácido cítrico*. La ruta que tome el piruvato depende de las necesidades energéticas de la célula y de la disponibilidad de oxígeno. En la mayoría de los tejidos, el piruvato se procesa de forma aerobia porque hay una buena disponibilidad de oxígeno. Por ejemplo, en el músculo humano en reposo, la mayoría del piruvato se procesa de forma aeróbica, convirtiéndolo primero en acetil-CoA. Sin embargo, en el músculo

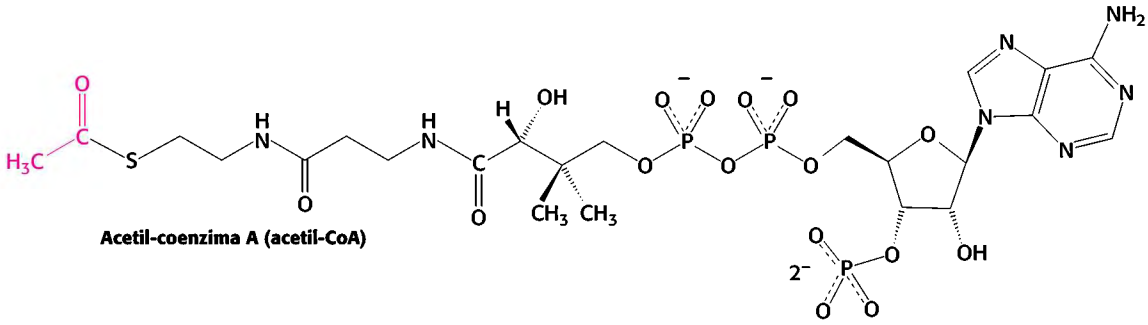


Figura 18.1 Coenzima A. La coenzima A es el transportador activado de grupos acilo. La acetil-CoA, el combustible del ciclo del ácido cítrico, se forma gracias al complejo piruvato deshidrogenasa.

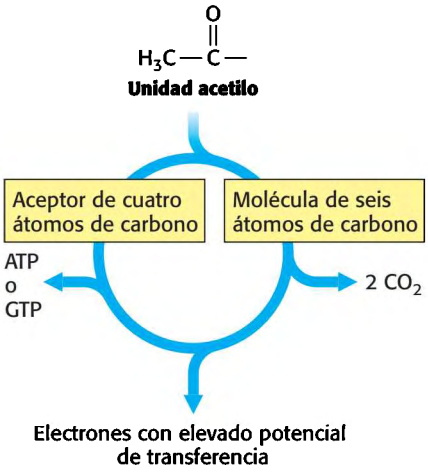


Figura 18.2 Esquema general del ciclo del ácido cítrico. El ciclo del ácido cítrico oxida unidades de dos átomos de carbono, generando dos moléculas de CO_2, una molécula de ATP o GTP y electrones con un elevado potencial de transferencia.

muy activo gran parte del piruvato se procesa a lactato porque el suministro de oxígeno no puede satisfacer la demanda de oxígeno.

La Figura 18.2 muestra una representación esquemática del ciclo del ácido cítrico. El ciclo del ácido cítrico acepta dos unidades acetilo de dos átomos de carbono en forma de acetil-CoA. Estas unidades acetilo de dos carbonos se incorporan al ciclo uniéndose a una molécula aceptora de cuatro átomos de carbono. Las unidades de dos átomos de carbono se oxidan a CO_2, dando como resultado la extracción de electrones con un elevado potencial de transferencia. La molécula aceptora se regenera para que pueda procesar otra unidad de dos carbonos. La naturaleza cíclica de estas reacciones incrementa su eficacia.

En este capítulo examinaremos el complejo enzimático que cataliza la formación de acetil-CoA a partir de piruvato, cómo se regula este complejo enzimático y algunas patologías que aparecen cuando el complejo enzimático deja de funcionar. Sin embargo, el complejo piruvato deshidrogenasa no es la única fuente de acetil-CoA. Concretamente, la degradación de los ácidos grasos produce gran cantidad de acetil-CoA.

✓ 1 Explicar por qué la reacción catalizada por el complejo piruvato deshidrogenasa es un punto crítico del metabolismo.

18.1 La piruvato deshidrogenasa forma acetil-coenzima A a partir de piruvato

La glucólisis tiene lugar en el citoplasma de la célula, pero el ciclo del ácido cítrico se produce en las mitocondrias (Figura 18.3). Por lo tanto, el piruvato tiene que ser transportado a las mitocondrias para ser metabolizado de forma aeróbica. Este transporte se lleva a cabo por medio de un transportador especial (Capítulo 21). En la matriz mitocondrial, el *complejo piruvato deshidrogenasa* descarboxila oxidativamente el piruvato para formar acetil-CoA.

$$\text{Piruvato} + \text{CoA} + \text{NAD}^+ \longrightarrow \text{acetil-CoA} + CO_2 + \text{NADH} + H^+$$

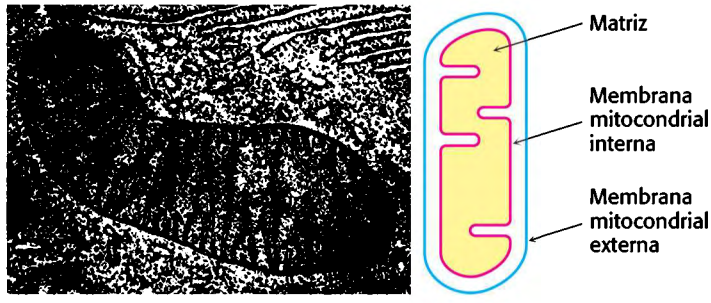


Figura 18.3 Mitocondria. En esta micrografía electrónica se aprecia la doble membrana de la mitocondria. La descarboxilación oxidativa del piruvato y la secuencia de reacciones del ciclo del ácido cítrico tienen lugar en el interior de la matriz. [(Izquierda) Omikron/Photo Researchers.]

Tabla 18.1 Complejo piruvato deshidrogenasa de *E. coli*

Enzima	Abreviatura	Número de cadenas	Grupo prostético	Reacción catalizada
Componente piruvato deshidrogenasa	E_1	24	TPP	Descarboxilación oxidativa del piruvato
Dihidrolipoilo transacetilasa	E_2	24	Lipoamida	Transferencia de un grupo acetilo a la CoA
Dihidrolipoilo deshidrogenasa	E_3	12	FAD	Regeneración de la forma oxidada de la lipoamida

Abreviaturas: TPP, tiamina pirofosfato; FAD, dinucleótido de flavina y adenina.

Recordemos que la glucólisis genera dos moléculas de piruvato por cada molécula de glucosa que se metaboliza. *La conversión irreversible de piruvato en acetil-CoA es la conexión entre la glucólisis y el ciclo del ácido cítrico* (**Figura 18.4**). En el metabolismo, esta reacción es decisiva, ya que determina si los átomos de carbono de los carbohidratos van a ser oxidados por el ciclo del ácido cítrico o van a ser destinados a la síntesis de lípidos (Capítulo 29). Hay que señalar que el complejo piruvato deshidrogenasa produce CO_2 y extrae electrones con un elevado potencial de transferencia en forma de NADH, augurando así las características clave de las reacciones del ciclo del ácido cítrico.

El complejo piruvato deshidrogenasa es un complejo de gran tamaño formado por tres enzimas distintas muy interrelacionadas entre sí (**Tabla 18.1**), cada una con su propio centro activo. Es miembro de una familia de complejos similares, extraordinariamente grandes, con unas masas moleculares comprendidas entre 4 y 10 millones de daltons (**Figura 18.5**). Como ya se verá, sus complicadas estructuras permiten a los sustratos desplazarse eficazmente de un centro activo a otro sin dejar de estar unidos físicamente al núcleo interno del complejo.

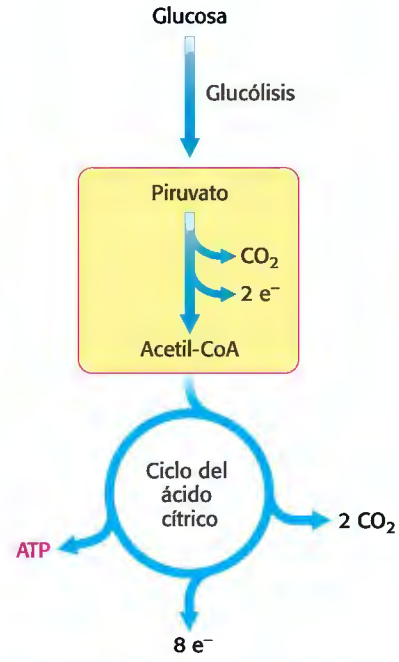


Figura 18.4 Conexión entre la glucólisis y el ciclo del ácido cítrico. El piruvato producido por la glucólisis se convierte en acetil-CoA, el combustible del ciclo del ácido cítrico. La degradación de los ácidos grasos también es una fuente importante de acetil-CoA para el ciclo del ácido cítrico (Capítulo 27).

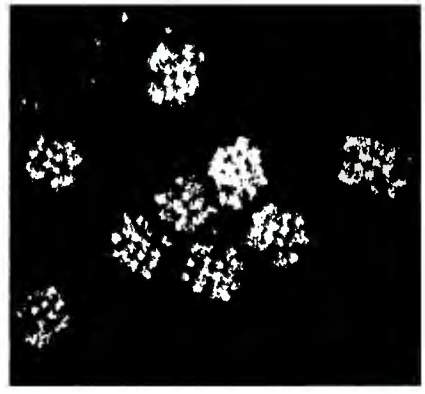
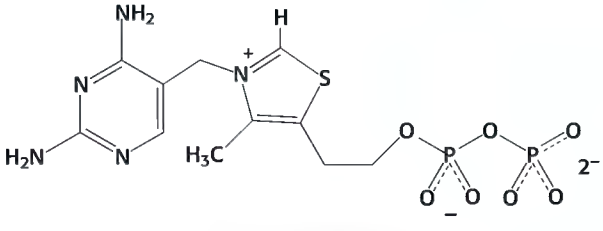


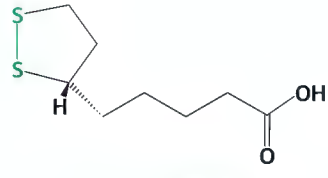
Figura 18.5 Micrografía electrónica del complejo piruvato deshidrogenasa de *E. coli*. [Cortesía del Dr. Lester Reed.]

La síntesis de acetil-coenzima A a partir de piruvato requiere tres enzimas y cinco coenzimas

Estudiaremos el mecanismo de acción del complejo piruvato deshidrogenasa con cierto detalle porque cataliza un punto crítico del metabolismo —la conexión entre la glucólisis y el ciclo del ácido cítrico, que permite la oxidación completa de la glucosa. El mecanismo de la reacción de la piruvato deshidrogenasa es maravillosamente complejo, mucho más de lo que sugiere su sencilla estequiometría. La reacción requiere la participación de las tres enzimas del complejo piruvato deshidrogenasa y la de cinco coenzimas. Las coenzimas *tiamina pirofosfato* (TPP), *ácido lipoico* y el *dinucleótido de flavina y adenina* (FAD) funcionan como coenzimas catalíticas, mientras que la CoA y el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+) son coenzimas estequiométricas. Las coenzimas catalíticas, al igual que las enzimas, no se alteran de forma permanente al participar en la reacción. Las coenzimas estequiométricas funcionan como sustratos.

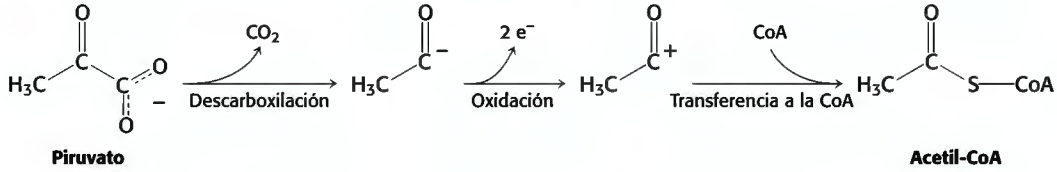


Tiamina pirofosfato (TPP)

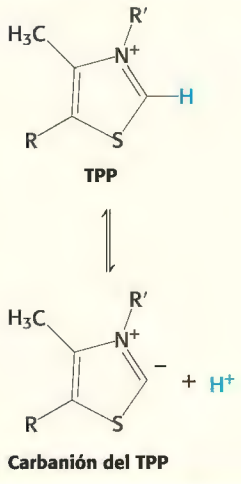


Ácido lipoico

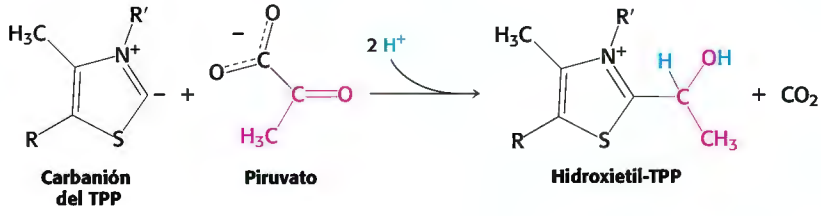
La conversión de piruvato en acetil-CoA consta de tres pasos: descarboxilación, oxidación y transferencia del grupo acetilo resultante a la CoA.



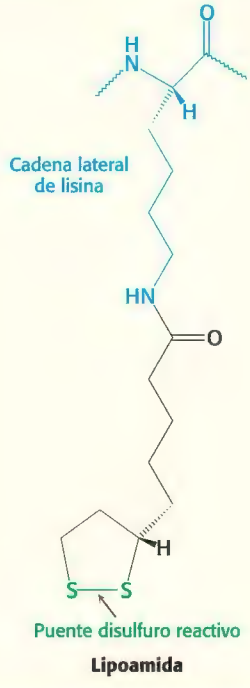
Estas etapas tienen que estar acopladas para conservar la energía libre procedente del paso de descarboxilación para que impulse la formación de NADH y de acetil-CoA.



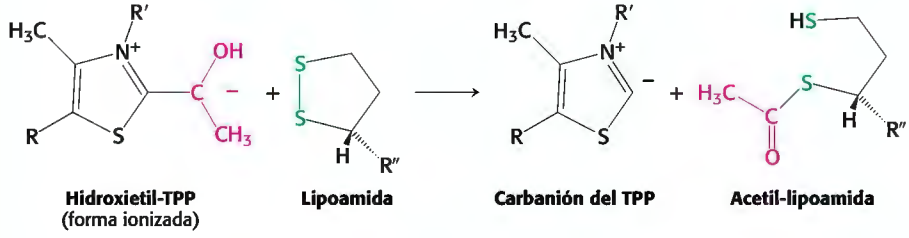
1. *Descarboxilación.* El piruvato se combina con la forma ionizada (carbanión) del TPP y, a continuación, se descarboxila para formar hidroxietil-TPP.



Esta reacción está catalizada por el *componente piruvato deshidrogenasa* (E_1) del complejo multienzimático. La coenzima del componente piruvato deshidrogenasa es el TPP.

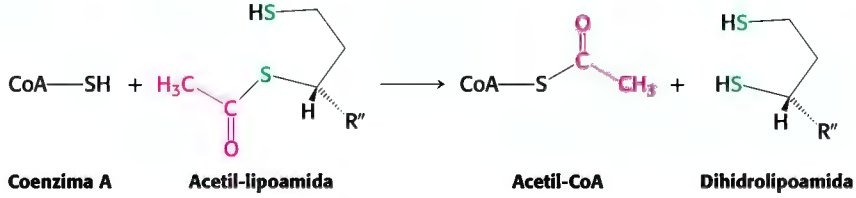


2. *Oxidación.* El grupo hidroxietilo unido al TPP *se oxida* para formar un grupo acetilo a la vez que se transfiere a la lipoamida, un derivado del ácido lipoico. Hay que señalar que esta transferencia da lugar a la formación de un enlace tioéster rico en energía.

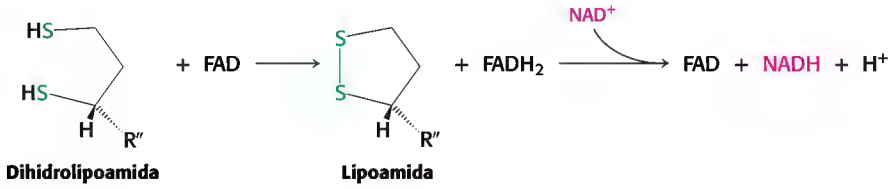


En esta reacción, el grupo disulfuro de la lipoamida se reduce a su forma disulfhidrilo. La reacción, que también está catalizada por el componente piruvato deshidrogenasa E_1, genera *acetil-lipoamida.*

3. *Formación de acetil-CoA.* El grupo acetilo se transfiere desde la acetil-lipoamida a la CoA para formar acetil-CoA. Esta reacción está catalizada por la *dihidrolipoilo transacetilasa* (E_2). El enlace tioéster rico en energía se conserva durante la transferencia del grupo acetilo a la CoA. En este paso se ha generado acetil-CoA, el combustible para el ciclo del ácido cítrico, a partir del piruvato.



El complejo piruvato deshidrogenasa tiene que "reiniciar" la lipoamida para que el complejo pueda catalizar otro conjunto de reacciones. El complejo no puede completar otro ciclo catalítico hasta que la dihidrolipoamida se oxide a lipoamida. En un cuarto paso, *se regenera la forma oxidada de la lipoamida gracias a la dihidrolipoilo deshidrogenasa* (E_3). Se transfieren dos electrones a un grupo prostético FAD de la enzima y, posteriormente, al NAD^+.



Esta transferencia de electrones desde el FAD al NAD^+ es atípica, ya que el papel habitual del FAD consiste en recibir electrones del NADH. Al asociarse a la enzima, el potencial de transferencia de electrones del FAD aumenta, lo que le permite transferir electrones al NAD^+. Las proteínas estrechamente asociadas al FAD se denominan *flavoproteínas*.

Conectores flexibles permiten que la lipoamida se mueva entre centros activos distintos

Se conocen las estructuras de todas las enzimas que componen el complejo piruvato deshidrogenasa, aunque se trata de estructuras de distintos complejos y de distintas especies. Por tanto, hoy en día es posible construir un modelo atómico del complejo que nos permita comprender su actividad.

El núcleo interno del complejo está formado por el componente transacetilasa E_2. La transacetilasa consta de ocho trímeros catalíticos ensamblados en forma de un cubo hueco. Cada una de las tres subunidades que componen el trímero posee tres dominios principales (**Figura 18.6**). En el extremo amino hay un pequeño dominio que contiene un cofactor lipoamida flexible unido covalentemente a la cadena lateral de una lisina. Después del dominio lipoamida hay un pequeño dominio que interac-

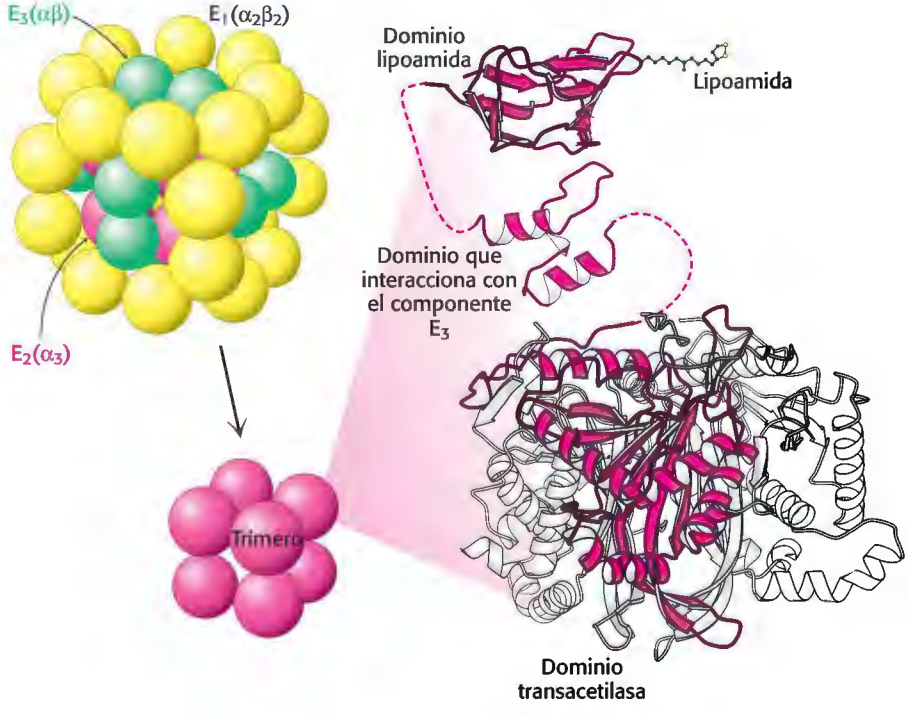


Figura 18.6 Representación esquemática del complejo piruvato deshidrogenasa. El núcleo interno transacetilasa (E_2) se representa de color rojo, el componente piruvato deshidrogenasa (E_1) de color amarillo y la dihidrolipoilo deshidrogenasa (E_3) de color verde. El número y tipo de subunidades de cada enzima se indica entre paréntesis. Cada esfera roja representa un trímero de tres subunidades E_2. *Observe* que cada subunidad consta de tres dominios: un dominio de unión a la lipoamida, un pequeño dominio que interacciona con E_3 y un gran dominio catalítico transacetilasa. El dominio transacetilasa tiene tres subunidades, y en la representación de cintas una de ellas se representa de color rojo y las otras dos de color blanco.

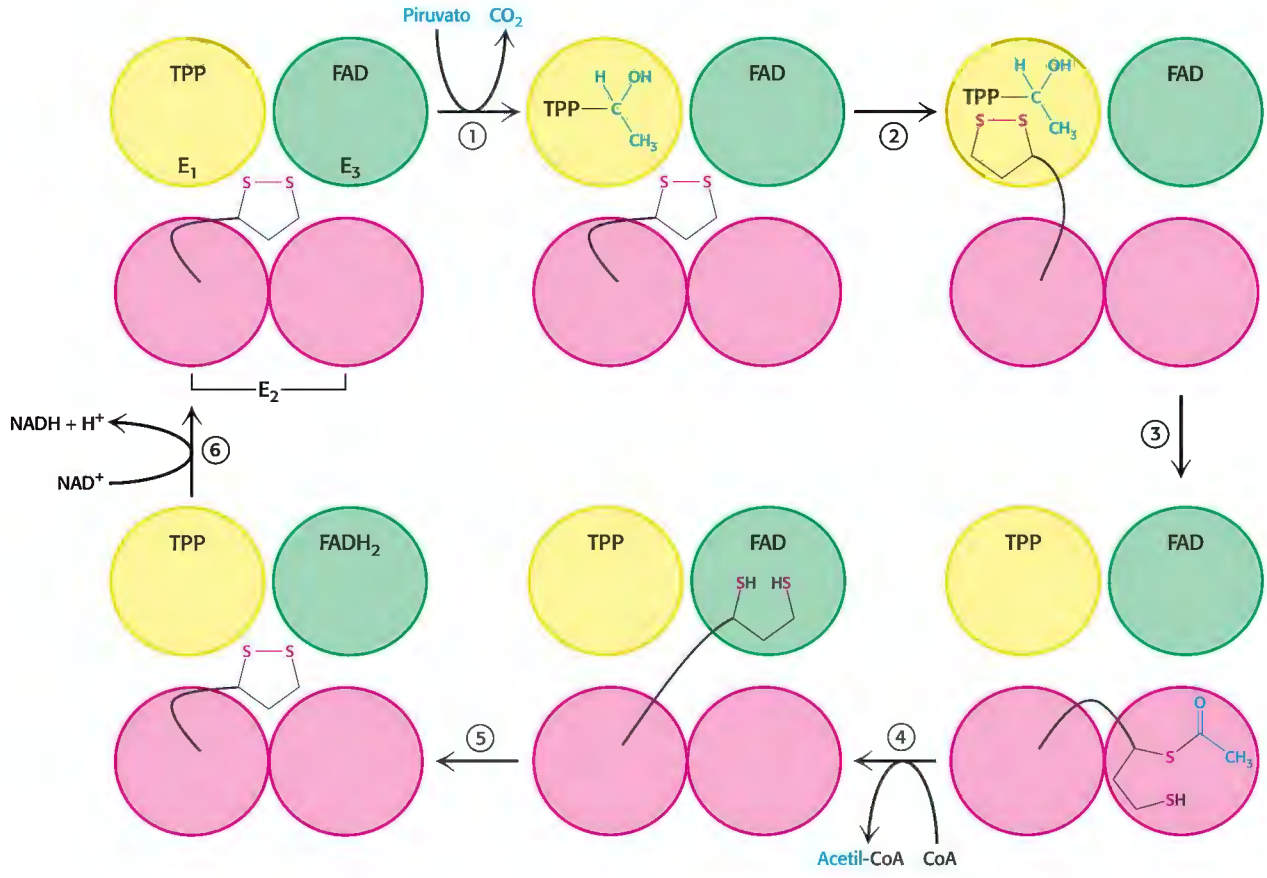


Figura 18.7 Reacciones del complejo piruvato deshidrogenasa. En la parte superior (a la izquierda), la enzima (representada mediante círculos: uno de color amarillo, uno de color verde y dos de color rojo) no está modificada y se encuentra lista para un ciclo catalítico. (1) El piruvato se descarboxila para formar hidroxietil-TPP. (2) El brazo de lipoamida de E_2 se desplaza hacia el centro activo de E_1. (3) E_1 cataliza la transferencia del grupo de dos átomos de carbono al grupo lipoamida para formar el complejo acetil-lipoamida. (4) E_2 cataliza la transferencia de la porción acetilo a la CoA para formar el producto acetil-CoA. A continuación, el brazo de dihidrolipoamida oscila hacia el centro activo de E_3, que cataliza (5) la oxidación del brazo dihidrolipoamida y (6) la transferencia de protones y electrones al NAD^+ para completar el ciclo de reacciones.

ciona con E_3 dentro del complejo. Cada subunidad E_2 se completa con un dominio transacetilasa, más grande. Los ocho trímeros E_2 constituyen el núcleo interno del complejo y están rodeados por 24 copias de E_1 (un tetrámero $\alpha_2\beta_2$) y 12 copias de E_3 (un dímero $\alpha\beta$). ¿Cómo funcionan los tres centros activos distintos de forma concertada? La clave está en el largo brazo flexible de lipoamida de la subunidad E_2, que transporta el sustrato de un centro activo a otro (**Figura 18.7**).

1. El piruvato se descarboxila en el centro activo de E_1, formando el intermediario hidroxietil-TPP y se desprende el primero de los productos, que es el CO_2. Este centro activo está situado en una región profunda del complejo E_1 y está conectado con la superficie de la enzima mediante un canal hidrofóbico de 20 Å de longitud.
2. E_2 inserta el brazo de lipoamida del dominio lipoamida en el profundo canal de E_1 que conduce hasta el centro activo.
3. E_1 cataliza la transferencia del grupo acetilo a la lipoamida. A continuación, el brazo acetilado abandona E_1 y se adentra en el cubo de E_2 para acceder al centro activo de E_2, situado en una zona profunda del cubo, en la interfaz entre subunidades.
4. Posteriormente, el componente acetilo es transferido a la CoA y el segundo producto, la acetil-CoA, abandona el cubo. Después, el brazo de lipoamida reducido oscila para introducirse en el centro activo de la flavoproteína E_3.

5. En el centro activo de E_3, la lipoamida es oxidada por la coenzima FAD. La lipoamida reactivada está lista para iniciar otro ciclo de reacción.

6. El producto final, el NADH, se produce durante la reoxidación del $FADH_2$ a FAD.

La integración estructural de tres tipos de enzimas y el largo y flexible brazo de lipoamida hacen posible la catálisis coordinada de una reacción compleja. La proximidad de una enzima a la otra *incrementa la velocidad global de la reacción y minimiza las reacciones secundarias.* Todos los intermediarios de la descarboxilación oxidativa del piruvato permanecen unidos al complejo durante toda la secuencia de reacciones y son transferidos inmediatamente a medida que el brazo flexible de E_2 va visitando cada centro activo por turno.

18.2 El complejo piruvato deshidrogenasa se regula por medio de dos mecanismos

✓ 2 Identificar los mecanismos de regulación del complejo piruvato deshidrogenasa.

El complejo piruvato deshidrogenasa está estrictamente controlado por medio de múltiples interacciones alostéricas y modificaciones covalentes. Como ya se ha indicado, se puede formar glucosa a partir de piruvato a través de la ruta gluconeogénica (p. 302). Sin embargo, *en animales, la formación de acetil-CoA a partir de piruvato es un paso irreversible y, por tanto, son incapaces de volver a convertir la acetil-CoA en glucosa.* La descarboxilación oxidativa del piruvato en acetil-CoA obliga a los átomos de carbono de la glucosa a escoger uno de sus dos principales destinos: (1) su oxidación a CO_2 por medio del ciclo del ácido cítrico con la correspondiente generación de energía o (2) su incorporación a lípidos, ya que la acetil-CoA es un precursor clave de la síntesis de lípidos (Capítulo 28 y **Figura 18.8**). Concentraciones elevadas de los productos de la reacción inhiben la reacción: la acetil-CoA inhibe el componente transacetilasa (E_2) uniéndose directamente a él, mientras que el NADH inhibe la dihidrolipoilo deshidrogenasa (E_3). Concentraciones elevadas de NADH y de acetil-CoA informan a la enzima de que los requerimientos energéticos de la célula se han satisfecho o de que se ha producido suficiente acetil-CoA y NADH a partir de la degradación de los ácidos grasos (Capítulo 27). En cualquier caso, no hay necesidad de metabolizar piruvato a acetil-CoA. El efecto de esta inhibición es el de ahorrar glucosa, porque la mayor parte del piruvato procede de la glucosa a través de la glucólisis.

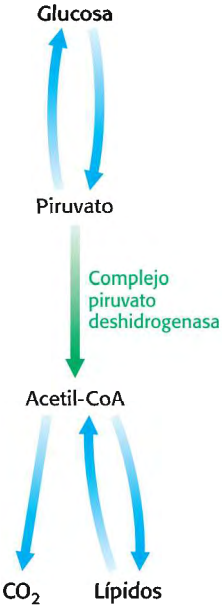


Figura 18.8 De la glucosa a la acetil-CoA. La síntesis de acetil-CoA por medio del complejo piruvato deshidrogenasa es un paso clave irreversible del metabolismo de la glucosa.

En eucariotas, el principal método de regulación del complejo es la modificación covalente —en este caso, la fosforilación (**Figura 18.9**). *La fosforilación del componente piruvato deshidrogenasa (E_1) por una piruvato deshidrogenasa (PDH) quinasa desconecta la actividad del complejo. La desactivación se revierte por la acción de una PDH fosfatasa.* Tanto la quinasa como la fosfatasa se encuentran físicamente asociadas al componente transacetilasa (E_2), resaltando una vez más la importancia de este componente, tanto para la estructura como para el mecanismo. Además, tanto la quinasa como la fosfatasa están, a su vez, reguladas.

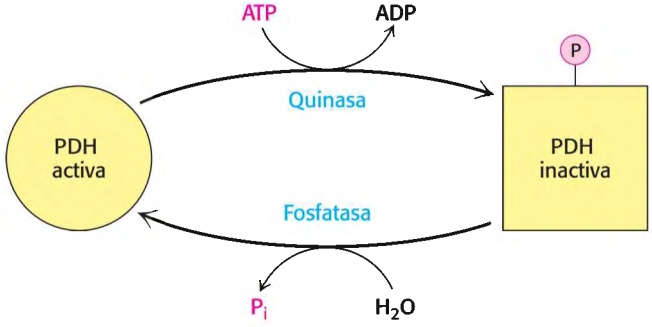


Figura 18.9 Regulación del complejo piruvato deshidrogenasa. La PDH quinasa fosforila e inactiva la piruvato deshidrogenasa (PDH) y la PDH fosfatasa activa la deshidrogenasa retirando el grupo fosforilo. La quinasa y la fosfatasa son enzimas que están muy reguladas.

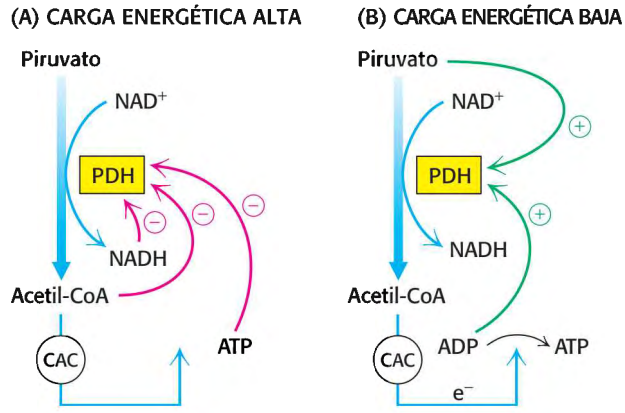


Figura 18.10 Respuesta del complejo piruvato deshidrogenasa a la carga energética. El complejo piruvato deshidrogenasa está regulado para responder a la carga energética de la célula. (A) El complejo se inhibe por sus productos inmediatos, el NADH y la acetil-CoA, así como por el producto final de la respiración celular, el ATP. (B) El complejo se activa por el piruvato y por el ADP, que inhibe la quinasa que fosforila la PDH.

Para ver cómo funciona esta regulación en condiciones biológicas, consideremos un músculo que está volviendo a la actividad tras un periodo de reposo (**Figura 18.10**). En reposo, el músculo no tendrá una demanda de energía significativa. En consecuencia, las proporciones NADH/NAD^+, acetil-CoA/CoA y ATP/ADP serán altas. Estas proporciones elevadas estimulan la PDH quinasa, promoviendo la fosforilación y, por tanto, la desactivación del complejo piruvato deshidrogenasa. En otras palabras, concentraciones elevadas de los productos inmediatos (acetil-CoA y NADH) y finales (ATP) del complejo piruvato deshidrogenasa inhiben su actividad. Por tanto, *la piruvato deshidrogenasa se desconecta cuando la carga energética es elevada.*

Al comenzar el ejercicio, las concentraciones de ADP y piruvato aumentarán a medida que la contracción muscular consume ATP y la glucosa se convierte en piruvato para satisfacer la demanda energética. Tanto el ADP como el piruvato activan la deshidrogenasa inhibiendo la PDH quinasa. Además, se estimula la fosfatasa por medio de Ca^{2+}, una señal que también da inicio a la contracción muscular. Un aumento de los niveles de Ca^{2+} citoplasmático para estimular la contracción muscular eleva el nivel de Ca^{2+} mitocondrial. El aumento del Ca^{2+} mitocondrial activa la fosfatasa, intensificando así la actividad piruvato deshidrogenasa.

En algunos tejidos, la fosfatasa está regulada por hormonas. En el hígado, la adrenalina se une al receptor α-adrenérgico para iniciar la ruta del fosfatidilinositol (p. 222), provocando un aumento de la concentración de Ca^{2+} que activa la fosfatasa. En los tejidos capaces de sintetizar ácidos grasos (como el hígado y el tejido adiposo), la insulina (la hormona que indica el estado de saciedad) estimula la fosfatasa, aumentando la conversión de piruvato en acetil-CoA. En estos tejidos, el complejo piruvato deshidrogenasa se activa para canalizar la glucosa a piruvato y, posteriormente, a acetil-CoA, que se acabará convirtiendo en ácidos grasos.

Aspecto clínico

Una regulación defectuosa de la piruvato deshidrogenasa da lugar a la acidosis láctica

En personas con insuficiencia de fosfatasa, la piruvato deshidrogenasa siempre está fosforilada y, por tanto, inactiva. En consecuencia, la glucosa siempre tiene que seguir la ruta anaeróbica y se convierte en lactato en vez de en acetil-CoA. Esta situación da lugar a una acidosis láctica permanente –elevados niveles de ácido láctico en la sangre. En este entorno ácido, muchos tejidos funcionan mal, especialmente el sistema nervioso central. Uno de los tratamientos para esta enfermedad consiste en someter al paciente a una dieta cetogénica (muchas grasas, las proteínas adecuadas y pocos carbohidratos) para minimizar la necesidad de metabolizar glucosa. ■

Aspecto clínico

La intensificación de la actividad de la piruvato deshidrogenasa quinasa facilita el desarrollo del cáncer

Recordemos que las células cancerosas metabolizan la glucosa a lactato incluso en presencia de oxígeno, un fenómeno denominado glucólisis aeróbica o efecto Warburg (p. 292). En estas condiciones, el factor de transcripción inducible por hipoxia (HIF-1) incrementa la cantidad de proteínas utilizadas en la glucólisis. Además, HIF-1 estimula la producción de la piruvato deshidrogenasa quinasa. La quinasa inhibe el complejo piruvato deshidrogenasa, evitando la conversión de piruvato en acetil-CoA. El piruvato permanece en el citoplasma, aumentando todavía más la velocidad de la glucólisis aeróbica. Además, aunque no haya un incremento en la síntesis de PDH quinasa, se han identificado mutaciones en la PDH quinasa que intensifican su actividad, contribuyendo así a aumentar la glucólisis aeróbica y el posterior desarrollo del cáncer, tal y como se ha comentado. El incremento de la producción de lactato que resulta de la glucólisis aeróbica intensifica aún más la actividad de HIF-1. ■

? PREGUNTA RÁPIDA Enumere algunas de las ventajas de organizar las enzimas que catalizan la formación de acetil-CoA a partir de piruvato en un único complejo de gran tamaño.

Aspecto clínico

La interrupción del metabolismo del piruvato es la causa del beriberi

La importancia de la actividad coordinada del complejo piruvato deshidrogenasa se refleja en los trastornos que resultan de la ausencia de una coenzima esencial. Recordemos que la tiamina pirofosfato es una coenzima para la actividad piruvato deshidrogenasa del complejo piruvato deshidrogenasa. El *beriberi*, una enfermedad neurológica y cardiovascular, se debe a una insuficiencia de tiamina (también denominada *vitamina* B_1) en la dieta. La insuficiencia de tiamina da lugar a una exigua actividad piruvato deshidrogenasa porque no se puede formar tiamina pirofosfato. La enfermedad ha sido, y sigue siendo, un grave problema de salud en el Extremo Oriente porque el arroz, un alimento que allí es muy importante, tiene un contenido más bien bajo de tiamina. Esta insuficiencia se remedia parcialmente si se sumerge el grano de arroz completo en agua antes de molerlo; ya que parte de la tiamina de la cáscara se transfiere al grano de arroz (**Figura 18.11**). El problema se agrava si se pule el arroz, una práctica que evita su deterioro y aumenta el periodo de almacenamiento del arroz, porque solo la capa más externa contiene una cantidad significativa de tiamina. El beriberi también se observa ocasionalmente en alcohólicos que están gravemente desnutridos y presentan, por tanto, una insuficiencia de tiamina. La enfermedad se caracteriza por síntomas neurológicos y cardiacos. Los daños en el sistema nervioso periférico se manifiestan en forma de dolor en las extremidades, de debilidad muscular y sensibilidad de la piel alterada. El corazón puede estar agrandado y el gasto cardiaco ser inadecuado.

La tiamina pirofosfato no solo es esencial para la conversión de piruvato en acetil-CoA. De hecho, *esta coenzima es el grupo prostético de tres importantes enzimas: piruvato deshidrogenasa,* α*-cetoglutarato deshidrogenasa* (una enzima del ciclo del ácido cítrico, Capítulo 19) *y transcetolasa*. La transcetolasa funciona en la ruta de las pentosas fosfato, que se verá en el Capítulo 26. *La característica común de las reacciones enzimáticas que utilizan TPP es la transferencia de una unidad de aldehído activada.* Como es de esperar en un organismo deficiente en TPP, los niveles de piruvato y α-cetoglutarato en la sangre de los pacientes con beriberi, son más altos de lo normal. El incremento en el nivel de piruvato en la sangre es especialmente notable tras la ingestión de glucosa. Un hallazgo relacionado es que la actividad *in vivo* del complejo piruvato deshidrogenasa y del complejo α-cetoglutarato deshidrogenasa es anormalmente baja. La reducida actividad transcetolasa de los glóbulos rojos de los pacientes con beriberi es un indicador fiable que se puede medir fácilmente y que permite diagnosticar la enfermedad.

¿Por qué la insuficiencia de TPP da lugar a trastornos neurológicos? El sistema nervioso central depende esencialmente de la glucosa como su único combustible. El producto de la glucólisis —el piruvato— solo se puede incorporar al ciclo del ácido cítrico a través del complejo piruvato deshidrogenasa. Con la enzima desactivada, el

"Una afección ciertamente muy molesta, que ataca a los hombres, se denomina aquí *Beriberi* (que significa oveja). Creo que aquellos a quienes ataca esta enfermedad caminan como las ovejas, alzando las piernas y con las rodillas temblando. Es una forma de parálisis o, más bien, de temblor, ya que afecta al movimiento y a la sensibilidad de manos, pies y, a veces, incluso de todo el cuerpo".

Jacob Bonitus, un médico que trabajaba en Java en 1630.



Figura 18.11 Arroz molido y pulido. El arroz marrón se muele para eliminar la cáscara externa. Un molido adicional (el pulido) elimina también la cáscara interna, dando lugar al arroz blanco. [Image Source/Age Fotostock.]

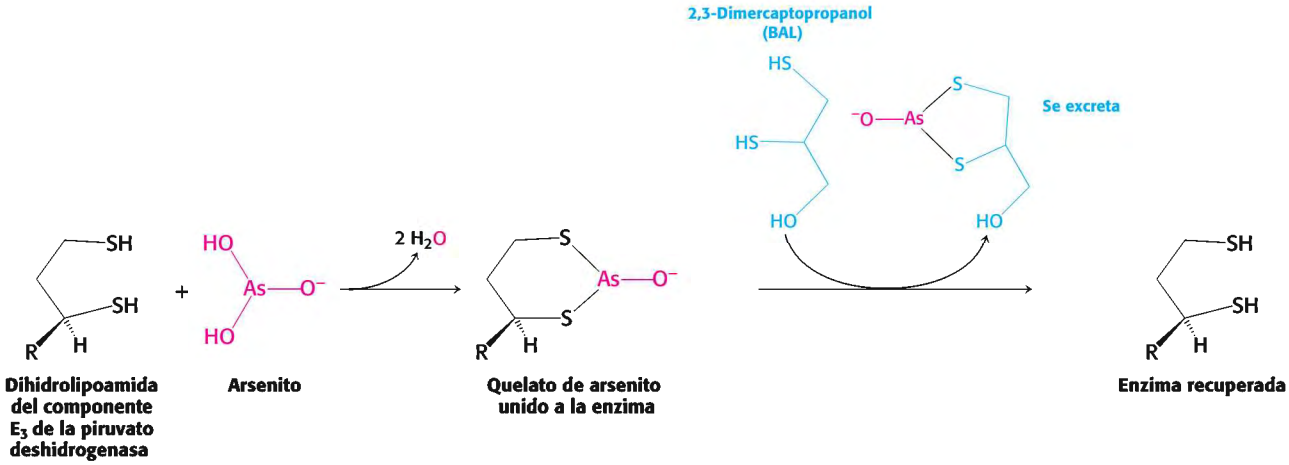


Figura 18.12 Envenenamiento por arsenito. El arsenito inhibe el complejo piruvato deshidrogenasa desactivando el componente dihidrolipoamida de la transacetilasa. Algunos reactivos con grupos sulfhidrilo, como el 2,3-dimercaptopropanol, atenúan la inhibición formando un complejo con el arsenito que puede ser excretado.



Figura 18.13 El Sombrerero Loco. El Sombrerero Loco es uno de los personajes que se encuentra Alicia cuando la invitan a tomar té durante su viaje por el País de las Maravillas. Los auténticos sombrereros trabajaban con mercurio, que inhibía la enzima responsable de suministrar energía al cerebro. La falta de energía daría lugar a comportamientos peculiares, descritos frecuentemente como "locos". [The Granger Collection.]

sistema nervioso no tiene una fuente de combustible. Por el contrario, la mayoría de los restantes tejidos pueden utilizar grasas como fuente de combustible para el ciclo del ácido cítrico.

En los organismos expuestos al mercurio o al ion arsenito (AsO_3^{3-}) se observan síntomas parecidos a los del beriberi. Ambas sustancias tienen una elevada afinidad hacia grupos sulfhidrilo que estén muy cerca el uno del otro, como los que se encuentran en los grupos dihidrolipoilo reducidos del componente E_3 del complejo piruvato deshidrogenasa (Figura 18.12). La unión del mercurio o del arsenito a los grupos dihidrolipoilo inhibe el complejo y da lugar a las patologías del sistema nervioso central. La frase proverbial "loco como un sombrerero" hace referencia al extraño comportamiento de los fabricantes de sombreros, envenenados por utilizar nitrato de mercurio para suavizar y dar forma a las pieles de animales (Figura 18.13). Esta forma de mercurio se absorbe a través de la piel. Los primeros fotógrafos mostraban síntomas similares, ya que utilizaban mercurio vaporizado para crear daguerrotipos.

El tratamiento para estos venenos consiste en la administración de reactivos con grupos sulfhidrilo adyacentes para que compitan con los residuos dihidrolipoilo a la hora de unirse al ion metálico. Posteriormente, el complejo reactivo-metal se excreta por la orina. De hecho, tras la Primera Guerra Mundial se desarrolló el 2,3-dimercaptopropanol (ver la Figura 18.12) como antídoto contra la lewisita, un arma química basada en el arsénico. En un principio, a este compuesto se le denominó anti-lewisita británica (BAL, *British anti-lewisite*). ■

Resumen

18.1 La piruvato deshidrogenasa forma acetil-coenzima A a partir de piruvato

La mayoría de las moléculas combustible se incorporan al ciclo del ácido cítrico en forma de acetil-CoA. La conexión entre la glucólisis y el ciclo del ácido cítrico es la descarboxilación oxidativa del piruvato para formar acetil-CoA. En eucariotas, esta reacción y las del ciclo tienen lugar en el interior de las mitocondrias, a diferencia de la glucólisis, que tiene lugar en el citoplasma. El complejo enzimático que cataliza esta reacción, el complejo piruvato deshidrogenasa, consta de tres actividades enzimáticas distintas. La piruvato deshidrogenasa cataliza la descarboxilación del piruvato y la formación de acetil-lipoamida. La dihidrolipoilo transacetilasa forma acetil-CoA y la dihidrolipoilo deshidrogenasa regenera la transacetilasa activa. El complejo necesita cinco cofactores: tiamina pirofosfato, ácido lipoico, coenzima A, NAD^+ y FAD.

18.2 El complejo piruvato deshidrogenasa se regula por medio de dos mecanismos

La formación irreversible de acetil-CoA a partir de piruvato es un punto de regulación importante para la incorporación del piruvato que procede de la glucosa al ciclo del ácido cítrico. El complejo piruvato deshidrogenasa está regulado, mediante retroinhibición, por la acetil-CoA y el NADH. La actividad del complejo piruvato deshidrogenasa está rigurosamente controlada mediante la fosforilación reversible por parte de una quinasa y una fosfatasa asociadas a él. Concentraciones elevadas de ATP y de NADH estimulan la quinasa, que fosforila el complejo y lo desactiva. El ADP y el piruvato inhiben la quinasa, mientras que el Ca^{2+} estimula la fosfatasa, que desfosforila el complejo y, con ello, lo activa.

La importancia del complejo piruvato deshidrogenasa para el metabolismo, especialmente para el catabolismo del sistema nervioso central, se pone de manifiesto en el caso del beriberi. El beriberi es un trastorno neurológico que se produce como consecuencia de una insuficiencia de tiamina, la vitamina precursora de la tiamina pirofosfato. La falta de TPP impide la actividad del componente piruvato deshidrogenasa del complejo piruvato deshidrogenasa. El arsenito y el mercurio son tóxicos por sus efectos sobre el complejo. Estos compuestos químicos se unen a la coenzima ácido lipoico de la dihidrolipoilo deshidrogenasa, inhibiendo la actividad de esta enzima.

Términos clave

acetil-coenzima A (acetil-CoA) (p. 317)
ciclo del ácido cítrico (p. 317)
complejo piruvato deshidrogenasa (p. 317)
tiamina pirofosfato (TPP) (p. 319)
ácido lipoico (p. 319)
dinucleótido de flavina y adenina (FAD) (p. 319)
piruvato deshidrogenasa (E_1) (p. 320)
acetil-lipoamida (p. 320)
dihidrolipoilo transacetilasa (E_2) (p. 320)
dihidrolipoilo deshidrogenasa (E_3) (p. 321)
flavoproteína (p. 321)
beriberi (p. 325)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

Las ventajas son las siguientes:

1. La reacción es más fácil al tener los centros activos próximos.

2. Los reactantes no abandonan la enzima hasta que se forma el producto final. Al tener sujetos a los reactantes se minimizan las pérdidas debidas a la difusión y a las reacciones secundarias.

3. Todas las enzimas están presentes en la cantidad adecuada.

4. La regulación es más eficaz porque las enzimas reguladoras —la quinasa y la fosfatasa— forman parte del complejo.

Problemas

1. *Conexión en un solo sentido.* ¿Qué reacción sirve de conexión entre la glucólisis y el ciclo del ácido cítrico y qué enzima cataliza la reacción? ✓ 1

2. *Poniendo nombres.* ¿Cuáles son las cinco enzimas (incluyendo las reguladoras) que forman el complejo piruvato deshidrogenasa? ¿Qué reacciones catalizan? ✓ 1

3. *¿Fraude y malversación?* La Figura 18.7 muestra los pasos del ciclo de reacciones del complejo piruvato deshidrogenasa. Un producto clave, la acetil-CoA, se libera tras el cuarto paso. ¿Cuál es la finalidad de los demás pasos? ✓ 1

4. *Dos pasos más uno.* La conversión de piruvato en acetil-CoA se realiza en tres pasos. ¿Cuáles son estos tres pasos? ✓ 1

5. *Sucesos predeterminados.* La conversión de piruvato en acetil-CoA obliga a los átomos de carbono a seguir uno de los dos destinos principales. ¿De qué destinos se trata? ✓ 1

6. *Coenzimas.* ¿Qué coenzimas necesita el complejo piruvato deshidrogenasa y cuáles son sus funciones?

7. *Más coenzimas.* En el complejo piruvato deshidrogenasa, ¿qué diferencia hay entre las coenzimas catalíticas y las coenzimas estequiométricas?

8. *¿Rodando cuesta arriba?* Cuando la lipoamida se vuelve a oxidar, ¿cuál es el aceptor de electrones inmediato y cuál es el aceptor final de electrones de la reacción? ¿Por qué es atípica la transferencia de electrones observada?

9. *Watson y Holmes.* Asigne a cada término la descripción correspondiente.

(a) Acetil-CoA _____
(b) Ciclo del ácido cítrico _____
(c) Complejo piruvato deshidrogenasa _____
(d) Tiamina pirofosfato _____
(e) Ácido lipoico _____
(f) Piruvato deshidrogenasa _____
(g) Acetil-lipoamida _____
(h) Dihidrolipoilo transacetilasa _____
(i) Dihidrolipoilo transacetilasa _____
(j) Beriberi _____

1. Cataliza la conexión entre la glucólisis y el ciclo del ácido cítrico
2. Coenzima necesaria para la transacetilasa
3. Producto final de la piruvato deshidrogenasa
4. Cataliza la formación de acetil-CoA
5. Regenera la actividad transacetilasa
6. Combustible para el ciclo del ácido cítrico
7. Coenzima necesaria para la piruvato deshidrogenasa
8. Cataliza la descarboxilación oxidativa del piruvato
9. Se debe a una insuficiencia de tiamina
10. Centralita del metabolismo

10. *Destinos alternativos.* Compare la regulación del complejo piruvato deshidrogenasa en el músculo y en el hígado. ✓ 2

11. *Mutaciones.* (a) Pronostique el efecto de una mutación que intensifique la actividad de la quinasa asociada al complejo PDH. (b) Pronostique el efecto de una mutación que reduzca la actividad de la fosfatasa asociada al complejo PDH. ✓ 2

12. *Se desconcha la pintura y el papel pintado es de color verde.* Claire Boothe Luce, embajadora de Italia en la década de 1950 (y congresista por Connecticut, dramaturga, editora de la revista *Vanity Fair* y esposa de Henry Luce, fundador de las revistas *Time* y *Sports Illustrated*) se puso enferma cuando vivía en la residencia de la embajada de Roma. La pintura del techo del comedor, que contenía arsénico, se estaba desconchando; el papel pintado de su dormitorio era de un color verde claro debido a la presencia de arsenito cúprico en el pigmento. Sugiera una posible causa para la enfermedad de la embajadora Luce. ✓ 2

13. *Ricos en energía.* ¿Cuáles son los tioésteres en la reacción catalizada por el complejo PDH?

Problemas de integración de capítulos

14. *Combustibles alternativos.* Como veremos (Capítulo 27), la descomposición de los ácidos grasos genera una gran cantidad de acetil-CoA. ¿Cuál será el efecto de la descomposición de los ácidos grasos sobre la actividad del complejo piruvato deshidrogenasa? ¿Y sobre la glucólisis? ✓ 1

15. *Intermediarios esenciales.* Los tioésteres no solo son importantes en la reacción catalizada por el complejo piruvato deshidrogenasa, sino que también son esenciales para la generación del propio piruvato. ¿Cuál es el tioéster que, en la glucólisis, ayuda a generar piruvato?

Problemas para atrevidos

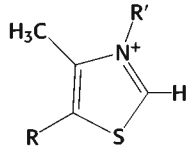
16. *Acidosis láctica.* A menudo, los pacientes en estado de *shock* muestran una acidosis láctica provocada por una insuficiencia de O_2. ✓ 2

(a) ¿Por qué una carencia de O_2 provoca la acumulación de ácido láctico?

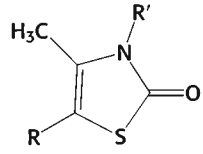
(b) Un tratamiento para el *shock* consiste en administrar dicloroacetato, que inhibe la quinasa asociada al complejo piruvato deshidrogenasa. ¿Cuál es el fundamento bioquímico de este tratamiento?

17. *Alimentación forzada.* Los inhibidores de la piruvato deshidrogenasa quinasa han sido propuestos como posible tratamiento para la diabetes de tipo 2, que se caracteriza por elevados niveles de glucosa en sangre provocados por una resistencia a la insulina (p. 309). Sugiera un fundamento bioquímico para esta propuesta. ✓ 2

18. *Un potente inhibidor.* Un análogo de la tiamina pirofosfato que contiene un grupo tiazolona se une a la piruvato deshidrogenasa 20.000 veces más intensamente que la tiamina pirofosfato y es un inhibidor competitivo de la enzima. ¿Por qué?



TPP



Análogo tiazolona del TPP

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 19

Extracción de electrones mediante el ciclo

19.1 El ciclo del ácido cítrico consta de dos etapas

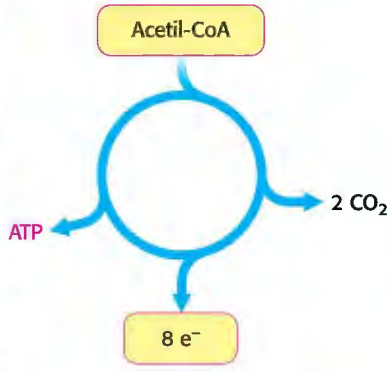
19.2 La primera etapa oxida dos átomos de carbono para conseguir electrones de alta energía

19.3 La segunda etapa regenera el oxalacetato y recoge los electrones de alta energía

19.4 El ciclo del ácido cítrico está regulado

19.5 El ciclo del glioxilato permite a plantas y bacterias convertir las grasas en carbohidratos





Las rotondas funcionan como centralitas que facilitan el tráfico. El ciclo del ácido cítrico es la centralita metabólica de la célula que oxida los combustibles carbonados, normalmente en forma de acetil-CoA, y funciona como una fuente de precursores para la biosíntesis. [(Izquierda) Lynn Saville/Getty Images.]

En el Capítulo 18 vimos que la glucosa se metaboliza a acetil-CoA. Esta reacción, catalizada por el *complejo piruvato deshidrogenasa*, es la conexión irreversible entre la glucólisis y el ciclo del ácido cítrico. Aquí, descubriremos cuál es el destino más habitual de la acetil-CoA cuando se necesita energía en presencia de oxígeno: la combustión completa del grupo acetilo por medio del ciclo del ácido cítrico.

¿Cuál es la función del ciclo del ácido cítrico en la transformación de las moléculas combustible en ATP? Recordemos que las moléculas combustible son compuestos carbonados capaces de oxidarse —de perder electrones (Capítulo 15). En primer lugar, estas moléculas combustible se convierten en acetil-CoA, el combustible real para el ciclo del ácido cítrico. El *ciclo del ácido cítrico* incluye una serie de reacciones de oxidación-reducción que, en última instancia, dan lugar a la oxidación del grupo acetilo a dos moléculas de dióxido de carbono. Estas oxidaciones generan electrones con un elevado potencial de transferencia, o de alta energía, que serán utilizados para impulsar la síntesis de ATP. *La función del ciclo del ácido cítrico consiste en extraer electrones de alta energía a partir de combustibles carbonados.*

Comenzaremos estudiando el propio ciclo, destacando que consta de dos partes: en una se oxidan los átomos de carbono a CO_2 y en la otra se regenera el oxalacetato. Posteriormente, veremos cómo se regula esta centralita del metabolismo y terminaremos con el estudio del ciclo del glioxilato, un ciclo exclusivo de plantas y de algunos microorganismos que utilizan las reacciones del ciclo del ácido cítrico.

19.1 El ciclo del ácido cítrico consta de dos etapas

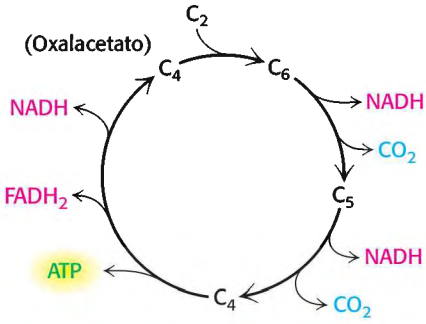


Figura 19.1 Esquema general del ciclo del ácido cítrico. El ciclo del ácido cítrico oxida unidades de dos átomos de carbono, generando dos moléculas de CO_2, una molécula de ATP y electrones de alta energía en forma de NADH y $FADH_2$.

La **Figura 19.1** muestra el esquema global del ciclo del ácido cítrico. La unidad acetilo, de dos átomos de carbono, se condensa con un componente del ciclo del ácido cítrico con cuatro átomos de carbono (el oxalacetato) para formar un ácido tricarboxílico de seis átomos de carbono. El compuesto de seis carbonos libera CO_2 en dos ocasiones, generando así electrones de alta energía. Queda un compuesto con cuatro átomos de carbono. Este compuesto con cuatro carbonos se oxida aún más para regenerar el oxalacetato, que puede iniciar otra ronda del ciclo. Dos átomos de carbono se incorporan al ciclo en forma de una unidad acetilo y dos átomos de carbono abandonan el ciclo en forma de dos moléculas de CO_2.

Hay que señalar que el propio ciclo del ácido cítrico ni genera una gran cantidad de ATP ni incluye al oxígeno entre sus reactantes (ver la Figura 19.1). En vez de ello, el ciclo del ácido cítrico extrae electrones del citrato y utiliza estos electrones para formar NADH y $FADH_2$. Estos transportadores de electrones producen nueve moléculas de ATP cuando son oxidados por el O_2 en la *fosforilación oxidativa* (Sección 9). Los electrones liberados durante la reoxidación del NADH y del $FADH_2$ fluyen a través de una serie de proteínas de membrana (la denominada *cadena transportadora de electrones*) para generar un gradiente de protones a través de la membrana. Este gradiente de protones se utiliza para generar ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico, tal y como veremos en la Sección 9 (**Figura 19.2**).

Podemos considerar que el ciclo del ácido cítrico consta de dos etapas. En la primera etapa, dos átomos de carbono se incorporan al ciclo uniéndose al oxalacetato para formar citrato y, cuando el citrato se metaboliza a una molécula de cuatro carbonos, se liberan dos átomos de carbono en forma de CO_2. En la segunda etapa del ciclo, la molécula de cuatro carbonos resultante se metaboliza para regenerar el oxalacetato, permitiendo así el funcionamiento continuado del ciclo.

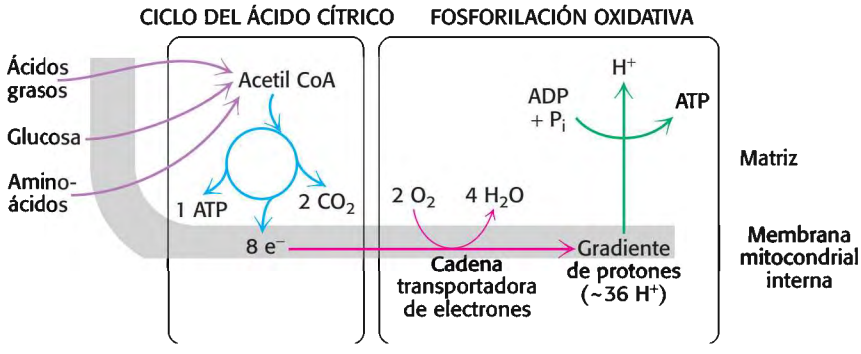


Figura 19.2 Respiración celular. El ciclo del ácido cítrico constituye la primera etapa de la respiración celular, la extracción de electrones de alta energía de los combustibles carbonados (a la izquierda). Estos electrones reducen el O_2 para generar un gradiente de protones (ruta marcada en rojo), que es utilizado para sintetizar ATP (ruta marcada en verde). La reducción del O_2 y la síntesis de ATP constituyen la fosforilación oxidativa.

✓ 3 Identificar el principal objetivo catabólico del ciclo del ácido cítrico.

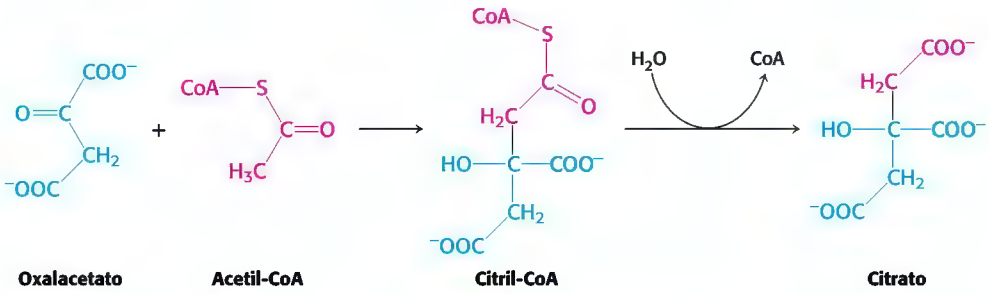
✓ 4 Explicar la ventaja de oxidar la acetil-CoA a través del ciclo del ácido cítrico.

19.2 La primera etapa oxida dos átomos de carbono para conseguir electrones de alta energía

En la primera etapa del ciclo del ácido cítrico, el oxalacetato, una molécula con cuatro carbonos, se condensa con una unidad acetilo de dos carbonos para generar citrato, un ácido tricarboxílico de seis carbonos. A medida que el citrato se mueve a través de la primera parte del ciclo se pierden dos átomos de carbono en forma de CO_2, en un proceso denominado *descarboxilación oxidativa*. Esta descarboxilación genera una molécula de cuatro carbonos y electrones con un elevado potencial de transferencia que quedan retenidos en dos moléculas de NADH.

La citrato sintasa forma citrato a partir de oxalacetato y acetil-coenzima A

El ciclo del ácido cítrico comienza con la condensación de una unidad de cuatro carbonos, el oxalacetato, y una unidad de dos carbonos, el grupo acetilo de la acetil-CoA. El oxalacetato reacciona con la acetil-CoA y H_2O para producir citrato y CoA.



Esta reacción está catalizada por la *citrato sintasa*. En primer lugar, el oxalacetato se condensa con la acetil-CoA para formar *citril-CoA*, una molécula que es rica en energía porque contiene el enlace tioéster que se creó al formarse la acetil-CoA. La hidrólisis del tioéster citril-CoA a citrato y CoA obliga a que la reacción global se lleve a cabo en el sentido de la síntesis de citrato. Básicamente, *la hidrólisis del tioéster impulsa la síntesis de una nueva molécula a partir de dos precursores.*

Una sintasa es una enzima que cataliza una reacción de síntesis en la que se enlazan dos unidades, normalmente, sin la intervención directa del ATP (ni ningún otro nucleósido trifosfato).

El mecanismo de la citrato sintasa evita reacciones no deseadas

Como la condensación de la acetil-CoA y el oxalacetato inicia el ciclo del ácido cítrico, resulta muy importante minimizar reacciones secundarias, como, por ejemplo, la hidrólisis de la acetil-CoA. Consideremos brevemente cómo la citrato sintasa evita este tipo de reacciones, que suponen un despilfarro.

La citrato sintasa de mamíferos es un dímero de subunidades idénticas de 49 kDa. Cada centro activo está situado en una hendidura situada entre el dominio grande y el dominio pequeño de una subunidad, muy cerca de la interfaz entre las dos subunidades. Los estudios de cristalografía de rayos X han puesto de manifiesto que la enzima experimenta grandes cambios conformacionales durante el transcurso de la catálisis. La citrato sintasa se une al sustrato de forma secuencial y ordenada: primero se une el oxalacetato y, después, la acetil-CoA. La razón de esta unión ordenada es que *el oxalacetato induce una reorganización estructural importante que da lugar a la generación de un lugar de unión para la acetil-CoA*. La unión del oxalacetato convierte la forma abierta de la enzima en una forma cerrada (**Figura 19.3**). Estos cambios estructurales crean un centro de unión para la acetil-CoA.

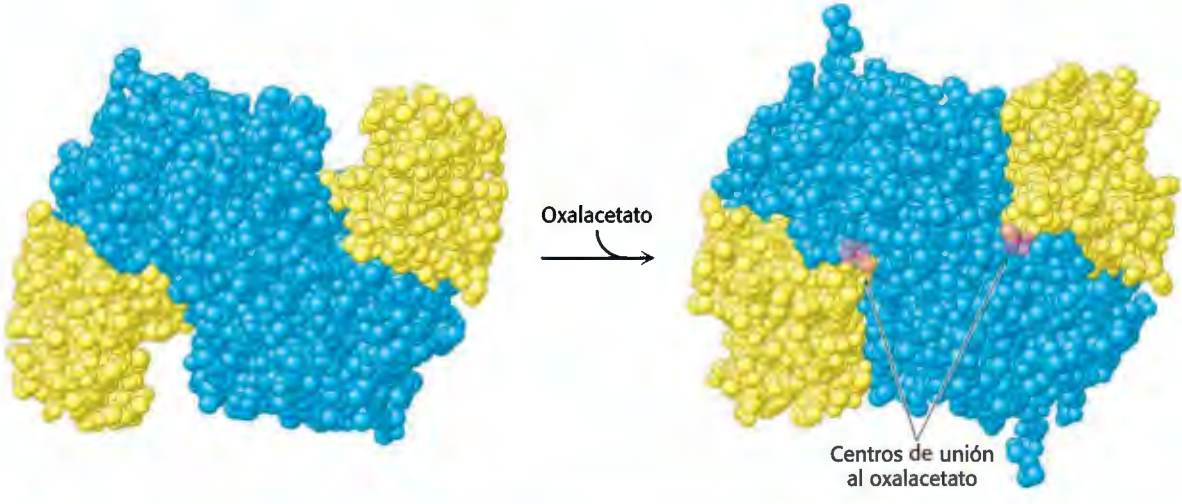
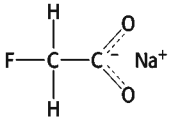


Figura 19.3 Cambios conformacionales en la citrato sintasa producidos por la unión del oxalacetato. El dominio pequeño de cada subunidad del homodímero se muestra de color amarillo; los dominios grandes se muestran en azul. (Izquierda) Forma abierta de la enzima sola. (Derecha) Forma cerrada de la enzima unida al ligando. [Elaborada a partir de 5CSC.pdb y 4CTS.pdb.]

En los frutos cítricos, el ácido cítrico se almacena en vacuolas donde, a veces, puede alcanzar una concentración de 0,3 M. Tiene un sabor ácido y aporta parte del sabor a las bebidas cítricas.



Fluoroacetato



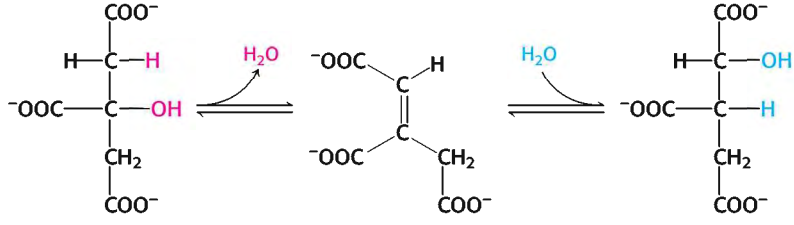
Figura 19.4 La aconitasa se inhibe por un metabolito del fluoroacetato. El fluoroacetato, una toxina, se activa a fluoroacetil-CoA, que reacciona con el citrato para formar fluorocitrato, un inhibidor suicida (p. 132) de la aconitasa. Tras haber sido inhibida irreversiblemente, la aconitasa desconecta el ciclo del ácido cítrico y la respiración celular, con lo que cumple su función como pesticida. En Australia, los miembros del género *Gastroblonium* contienen fluoroacetato. [©KrystynaSzulecka/ Alamy Images.]

La citrato sintasa cataliza en primer lugar la condensación del citrato y la acetil-CoA para formar citril-CoA. Entonces, la citril-CoA recién formada induce cambios estructurales adicionales en la enzima, haciendo que el centro activo quede completamente cerrado. A continuación, la enzima escinde el tioéster de la citril-CoA mediante hidrólisis. La CoA abandona la enzima, seguida del citrato y la enzima retorna a su conformación abierta inicial.

Ahora podemos comprender cómo se evita el despilfarro que supondría la hidrólisis de la acetil-CoA. La citrato sintasa está bien adaptada para la hidrólisis de la *citril*-CoA, no de la *acetil*-CoA. ¿Cómo se consigue esta diferenciación? En primer lugar, la acetil-CoA no se une a la enzima hasta que el oxalacetato esté unido y listo para la condensación. En segundo lugar, los residuos catalíticos esenciales para la hidrólisis del enlace tioéster se colocan en la posición adecuada solo después de haberse formado la citril-CoA. *El ajuste inducido evita una reacción secundaria no deseada.*

El citrato se isomeriza a isocitrato

No olvidemos que uno de los principales objetivos del ciclo del ácido cítrico es la oxidación de los átomos de carbono que permita extraer electrones con un elevado potencial de transferencia. La molécula de citrato recién formada no tiene la estructura óptima para las reacciones de oxidación necesarias. Concretamente, en la molécula de citrato, el grupo hidroxilo no está colocado de forma apropiada para las posteriores descarboxilaciones oxidativas. Por tanto, el citrato se isomeriza a isocitrato para que la unidad de seis carbonos sea capaz de ser sometida a descarboxilación oxidativa. La isomerización del citrato se lleva a cabo mediante un paso de *deshidratación* seguido de un paso de *hidratación*. El resultado es el intercambio de un H por un OH. La enzima que cataliza ambos pasos se llama *aconitasa* porque el *cis-aconitato* es un intermediario (Figura 19.4).



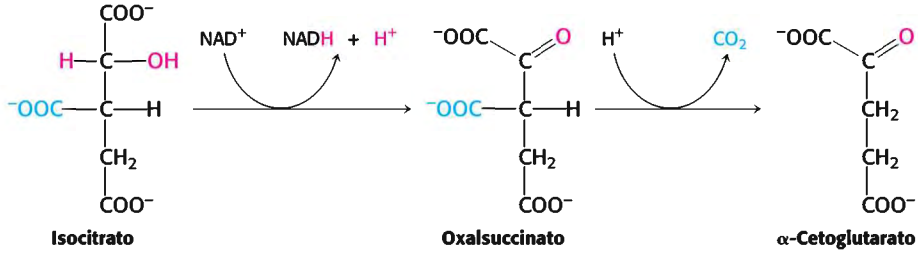
Citrato ***cis*-Aconitato** **Isocitrato**

El isocitrato se oxida y se descarboxila a alfa-cetoglutarato

Llegamos ahora a la primera de las cuatro reacciones de oxidación-reducción del ciclo del ácido cítrico. La descarboxilación oxidativa del isocitrato a α-cetoglutarato está catalizada por la *isocitrato deshidrogenasa*.

$$\text{Isocitrato} + \text{NAD}^+ \longrightarrow \alpha\text{-cetoglutarato} + \text{CO}_2 + \text{NADH}$$

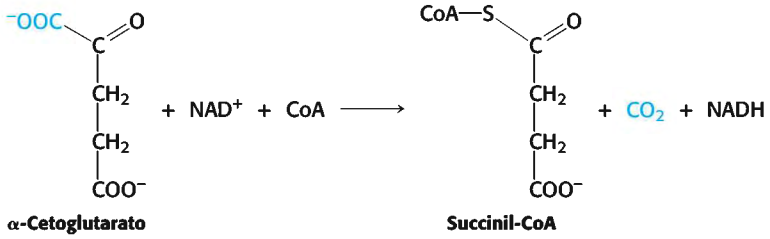
El intermediario en esta reacción es el oxalsuccinato, un α-cetoácido inestable. Mientras se encuentra unido a la enzima, pierde CO_2 para formar α-cetoglutarato. En esta oxidación se genera el primer transportador de electrones con un elevado potencial de transferencia del ciclo, el NADH.



Isocitrato **Oxalsuccinato** **α-Cetoglutarato**

La descarboxilación oxidativa del alfa-cetoglutarato forma succinil-coenzima A

A la conversión de isocitrato en α-cetoglutarato le sigue una segunda reacción de descarboxilación oxidativa que extrae CO_2 del α-cetoglutarato (de cinco átomos de carbono) para formar succinil-CoA (de cuatro átomos de carbono).



α-Cetoglutarato **Succinil-CoA**

Esta reacción está catalizada por el *complejo α-cetoglutarato deshidrogenasa*, un ensamblaje organizado de tres tipos de enzima que estructuralmente es muy parecido al complejo piruvato deshidrogenasa. De hecho, la descarboxilación oxidativa del α-cetoglutarato es muy parecida a la del piruvato, que también es un cetoácido.

$$\text{Piruvato} + \text{CoA} + \text{NAD}^+ \xrightarrow{\text{Complejo piruvato deshidrogenasa}} \text{acetil-CoA} + CO_2 + \text{NADH} + H^+$$

$$\alpha\text{-Cetoglutarato} + \text{CoA} + \text{NAD}^+ \xrightarrow{\text{Complejo α-cetoglutarato deshidrogenasa}} \text{succinil-CoA} + CO_2 + \text{NADH}$$

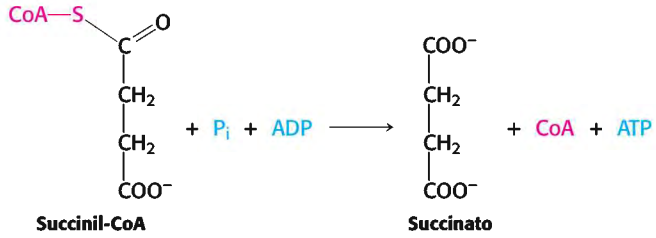
Ambas reacciones incluyen la descarboxilación de un α-cetoácido y la posterior formación de un enlace tioéster con la CoA que tiene un elevado potencial de transferencia. Los mecanismos de reacción son totalmente análogos puesto que utilizan las mismas coenzimas y se siguen los mismos pasos en la reacción (p. 319). Llegados a este punto del ciclo del ácido cítrico, se han incorporado dos átomos de carbono al ciclo y dos átomos de carbono se han oxidado a CO_2. Los electrones procedentes de las oxidaciones quedan retenidos en dos moléculas de NADH.

19.3 La segunda etapa regenera el oxalacetato y recoge los electrones de alta energía

La segunda etapa del ciclo del ácido cítrico consiste en la regeneración del material de partida, el oxalacetato. Esta regeneración se lleva a cabo mediante una serie de reacciones que comienza con una molécula de cuatro carbonos y finaliza con una molécula de cuatro carbonos. Sin embargo, las reorganizaciones producidas por este conjunto de reacciones extraen energía en forma de transportadores de electrones de alta energía y de una molécula de ATP.

A partir de la succinil-coenzima A se genera un compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos

La succinil-CoA producida por la α-cetoglutarato deshidrogenasa en el paso anterior es un compuesto con un enlace tioéster rico en energía. El $\Delta G^{\circ\prime}$ para la hidrólisis de la succinil-CoA es de aproximadamente $-33{,}5$ kJ mol^{-1} ($-8{,}0$ kcal mol^{-1}), que es comparable al del ATP ($-30{,}5$ kJ mol^{-1}, o $-7{,}3$ kcal mol^{-1}). ¿Cómo se utiliza esta energía en el ciclo del ácido cítrico? Recordemos que, en la reacción de la citrato sintasa, la ruptura de un enlace tioéster impulsa la síntesis de citrato (con seis carbonos) a partir de oxalacetato (de cuatro carbonos) y el fragmento de dos carbonos. Análogamente, *la escisión del enlace tioéster de la succinil-CoA está acoplada a la fosforilación de un nucleósido de purina difosfato, normalmente el ADP*. Esta reacción está catalizada por la *succinil-CoA sintetasa* (succinato tioquinasa).



Esta reacción es el único paso del ciclo del ácido cítrico que produce directamente un compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos. En mamíferos hay dos formas de esta enzima, una específica para el ADP y otra para el GDP. En los tejidos donde hay abundante respiración celular, como en el músculo esquelético o en el músculo cardiaco, predomina la enzima que necesita ADP. En los tejidos donde se llevan a cabo muchas reacciones anabólicas, como el hígado, abunda la enzima que necesita GDP. Se cree que la enzima que necesita GDP opera en sentido contrario al observado en el ciclo del ácido cítrico, es decir, se utiliza GTP para impulsar la síntesis de succinil-CoA, que es un precursor de la síntesis del grupo hemo. La enzima de *E. coli* utiliza GDP o ADP como aceptor de grupos fosforilo.

La succinil-coenzima A sintetasa transforma un tipo de energía bioquímica en otro

El mecanismo de esta reacción es un claro ejemplo de transformación de la energía: la energía contenida en la molécula con un enlace tioéster se transforma en potencial de transferencia de grupos fosforilo (Figura 19.5). En el primer paso, la coenzima A de la succinil-CoA es desplazada por el ortofosfato. Este desplazamiento genera otro compuesto rico en energía, el succinilfosfato, que es un anhídrido mixto. A continuación, un residuo de histidina de la enzima actúa como un brazo móvil que extrae el grupo fosforilo del succinilfosfato, después oscila hacia un nucleósido difosfato unido a la enzima y le transfiere el grupo fosforilo para formar el nucleósido trifosfato. La participación de compuestos de alta energía en todos los pasos resulta evidente por el hecho de que la reacción es fácilmente reversible: $\Delta G^{\circ\prime} = -3{,}4$ kJ mol^{-1} ($-0{,}8$ kcal mol^{-1}).

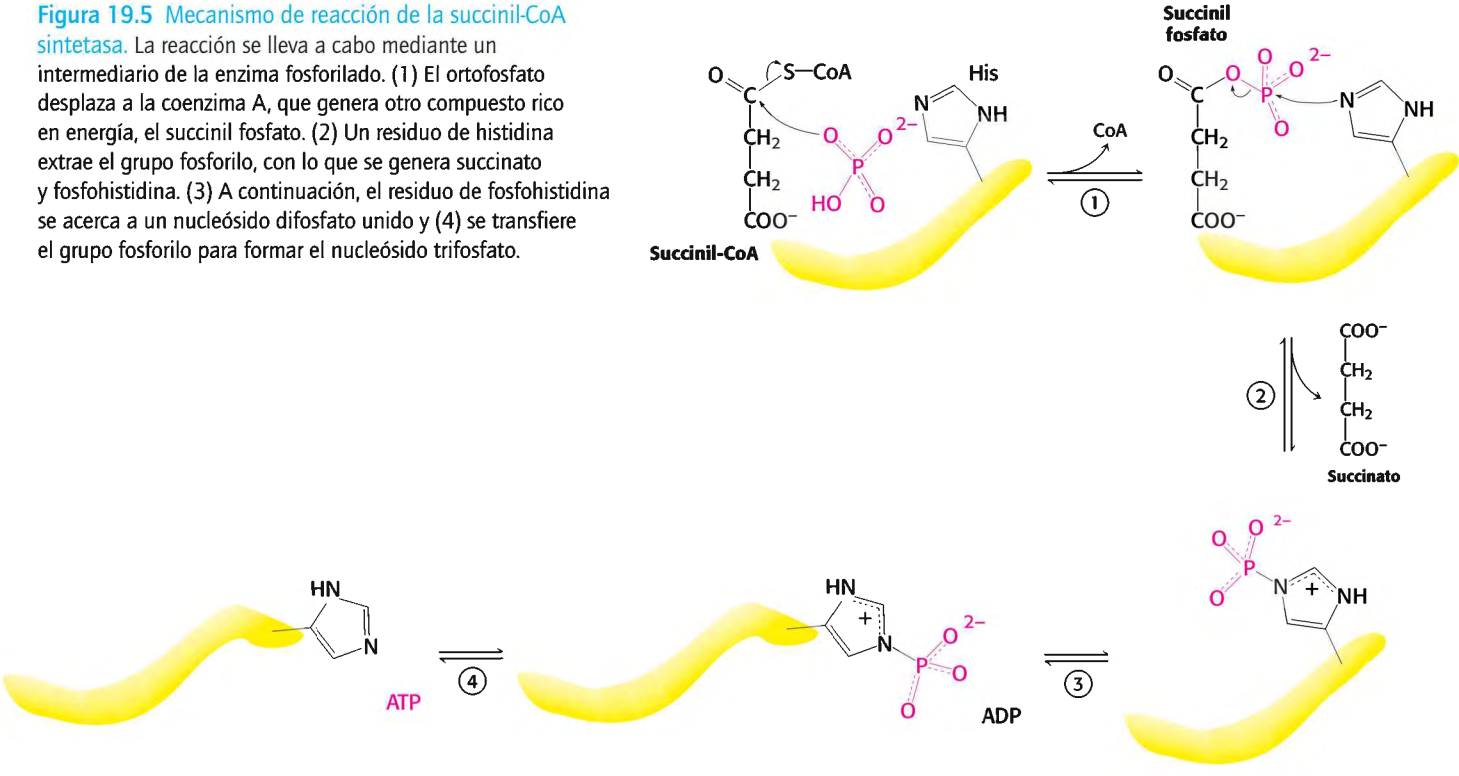
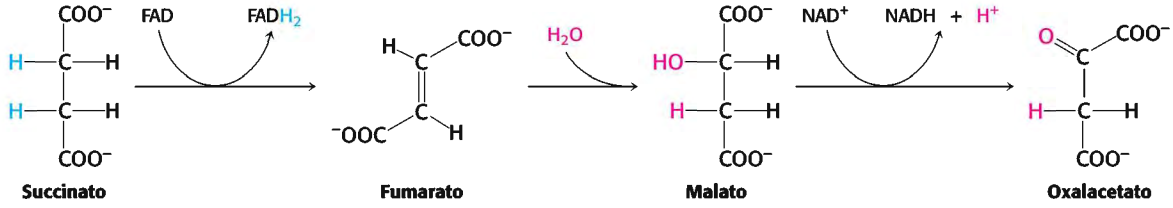


Figura 19.5 Mecanismo de reacción de la succinil-CoA sintetasa. La reacción se lleva a cabo mediante un intermediario de la enzima fosforilado. (1) El ortofosfato desplaza a la coenzima A, que genera otro compuesto rico en energía, el succinil fosfato. (2) Un residuo de histidina extrae el grupo fosforilo, con lo que se genera succinato y fosfohistidina. (3) A continuación, el residuo de fosfohistidina se acerca a un nucleósido difosfato unido y (4) se transfiere el grupo fosforilo para formar el nucleósido trifosfato.

La generación de ATP en una reacción en la que un compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos (el succinilfosfato) transfiere el fosfato al ADP para formar ATP se denomina *fosforilación a nivel de sustrato*. Recordemos que la glucólisis genera ATP mediante reacciones de fosforilación a nivel de sustrato (Capítulo 16). En la Sección 9, estudiaremos cómo se pueden utilizar gradientes iónicos para impulsar la formación de ATP.

La oxidación del succinato regenera el oxalacetato

Posteriormente, el succinato se oxida para regenerar el oxalacetato.



Estas reacciones constituyen un patrón metabólico que encontraremos de nuevo en la síntesis y degradación de los ácidos grasos. Un grupo metileno (CH_2) se convierte en un grupo carbonilo (C═O) en tres pasos: una oxidación, una hidratación y una segunda reacción de oxidación. Con ello se regenera el oxalacetato para otra ronda del ciclo y se extrae más energía en forma de $FADH_2$ y NADH.

El primer paso de este conjunto de reacciones, la oxidación del succinato a fumarato, está catalizado por la *succinato deshidrogenasa*. El aceptor de hidrógeno es el FAD en lugar del NAD^+, que es el que se utiliza en las otras tres reacciones de oxidación del ciclo. El aceptor de hidrógeno en esta reacción es el FAD porque el incremento de la energía libre no es suficiente como para reducir el NAD^+.

La succinato deshidrogenasa se diferencia de las demás enzimas del ciclo del ácido cítrico porque está integrada en la membrana mitocondrial interna. Esta ubicación hace que la succinato deshidrogenasa esté directamente asociada a la cadena transportadora de electrones, que también está integrada en la membrana mitocondrial interna. La cadena transportadora de electrones es la conexión entre el ciclo del ácido cítrico y la formación de ATP (Sección 9). El $FADH_2$ producido durante la oxidación del succinato no se disocia de la enzima, a diferencia del NADH producido en las otras reacciones de oxidación-reducción. En vez de ello, la succinato deshidrogenasa transfiere dos electrones directamente desde el $FADH_2$ a la coenzima Q (CoQ). La CoQ, un importante miembro de la cadena transportadora de electrones, cede los electrones al aceptor final, el oxígeno molecular, tal y como veremos en la Sección 9.

Después de la oxidación del succinato a fumarato, el siguiente paso consiste en la hidratación del fumarato para formar L-malato, reacción catalizada por la *fumarasa*. Por último, el malato se oxida para formar oxalacetato. Esta reacción está catalizada por la *malato deshidrogenasa* y, de nuevo, el aceptor de hidrógeno es el NAD^+.

$$\text{Malato} + NAD^+ \rightleftharpoons \text{oxalacetato} + NADH + H^+$$

A diferencia de lo que ocurre en los demás pasos del ciclo del ácido cítrico, la energía libre estándar para esta reacción es bastante positiva ($\Delta G^{\circ\prime} = +29{,}7$ kJ mol^{-1}, o $+7{,}1$ kcal mol^{-1}). La oxidación de malato está impulsada por la utilización de los productos —el oxalacetato por la citrato sintasa y el NADH por la cadena transportadora de electrones.

El ciclo del ácido cítrico produce electrones con un elevado potencial de transferencia, un nucleósido trifosfato y dióxido de carbono

La reacción global del ciclo del ácido cítrico es

$$\text{Acetil CoA} + 3\,NAD^+ + FAD + ADP + P_i + 2\,H_2O \longrightarrow 2\,CO_2 + 3\,NADH + FADH_2 + ATP + 2\,H^+ + CoA$$

Vamos a repasar las reacciones que dan lugar a esta estequiometría (**Figura 19.6** y **Tabla 19.1**):

1. En la condensación de una unidad acetilo (de la acetil-CoA) con el oxalacetato se incorporan dos átomos de carbono al ciclo. En las descarboxilaciones sucesivas catalizadas por la isocitrato deshidrogenasa y por la α-cetoglutarato deshidrogenasa dos átomos de carbono abandonan el ciclo en forma de CO_2.
2. En las cuatro reacciones de oxidación cuatro pares de átomos de hidrógeno abandonan el ciclo. Durante las descarboxilaciones oxidativas del isocitrato y del α-cetoglutarato se reducen dos moléculas de NAD^+, en la oxidación del succinato se reduce una molécula de FAD y en la oxidación del malato se reduce una molécula de NAD^+. Recordemos también que en la descarboxilación oxidativa del piruvato para formar acetil-CoA se reduce una molécula de NAD^+.
3. La escisión del enlace tioéster de la succinil-CoA genera un compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos.
4. Se consumen dos moléculas de agua: una para la hidrólisis de la citril-CoA que tiene lugar durante la síntesis de citrato y la otra durante la hidratación del fumarato.

Los estudios de marcaje isotópico pusieron de manifiesto que los dos átomos de carbono que se incorporaron al ciclo no son los mismos que lo abandonan. Los dos átomos de carbono que se incorporaron al ciclo en forma de grupo acetilo se quedan retenidos en el ciclo tras las dos reacciones iniciales de descarboxilación (ver la **Figura 19.6**) y, posteriormente, permanecen formando parte de los ácidos de cuatro

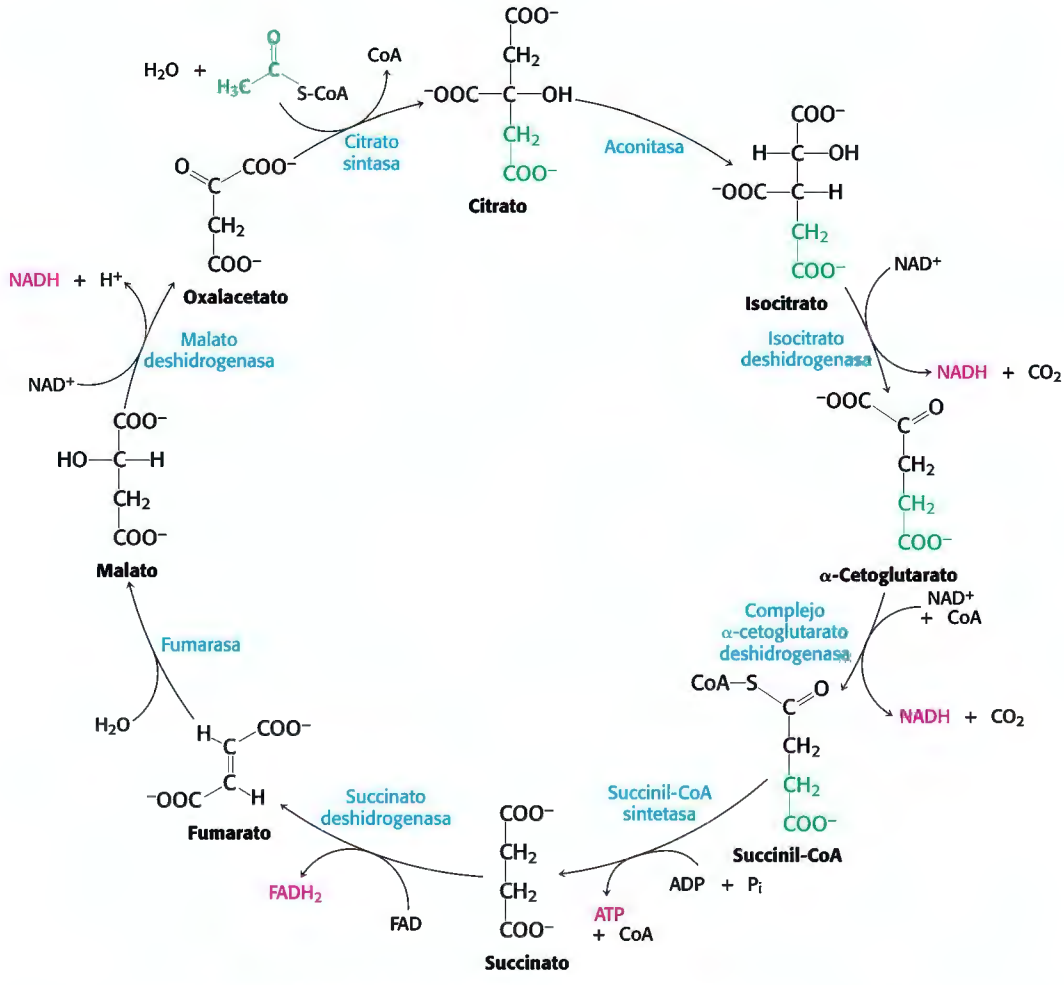


Figura 19.6 El ciclo del ácido cítrico. *Observe* que, como el succinato es una molécula simétrica, se pierde la identidad de los átomos de carbono de la unidad acetilo.

Tabla 19.1 Ciclo del ácido cítrico

Paso	Reacción	Enzima	Grupo prostético	Tipo*	$\Delta G°'$ kJ mol^{-1}	$\Delta G°'$ kJ mol^{-1}
1	Acetil CoA + oxalacetato + H_2O ⟶ citrato + CoA + H^+	Citrato sintasa		a	−31,4	−7,5
2a	Citrato ⇌ *cis*-aconitato + H_2O	Aconitasa	Fe-S	b	+8,4	+2,0
2b	*cis*-Aconitato + H_2O ⇌ isocitrato	Aconitasa	Fe-S	c	−2,1	−0,5
3	Isocitrato + NAD^+ ⇌ α-cetoglutarato + CO_2 + NADH	Isocitrato deshidrogenasa		d + e	−8,4	−2,0
4	α-Cetoglutarato + NAD^+ + CoA ⇌ succinil-CoA + CO_2 + NADH	Complejo α-cetoglutarato deshidrogenasa	Ácido lipoico, FAD, TPP	d + e	−30,1	−7,2
5	Succinil-CoA + P_i + ADP ⇌ succinato + ATP + CoA	Succinil-CoA sintetasa		f	−3,3	−0,8
6	Succinato + FAD (unido a la enzima) ⇌ fumarato + $FADH_2$ (unido a la enzima)	Succinato deshidrogenasa	FAD, Fe-S	e	0	0
7	Fumarato + H_2O ⇌ L-malato	Fumarasa		e	−3,8	−0,9
8	L-Malato + NAD^+ ⇌ oxalacetato + NADH + H^+	Malato deshidrogenasa		e	+29,7	+7,1

*Tipo de reacción: a, condensación; b, deshidratación; c, hidratación; d, descarboxilación; e, oxidación; f, fosforilación a nivel de sustrato.

átomos de carbono del ciclo. Hay que señalar que el succinato es una molécula simétrica. En consecuencia, los dos átomos de carbono que se incorporan al ciclo pueden ocupar cualquiera de las posiciones del carbono durante el metabolismo posterior de los ácidos de cuatro carbonos. Los dos átomos de carbono que se incorporan al ciclo en forma de un grupo acetilo se liberarán en forma de CO_2 en *posteriores* rondas del ciclo. Para comprender por qué el citrato no se procesa como una molécula simétrica, se debe echar un vistazo a los problemas 19 y 20 del final del capítulo.

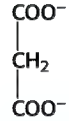
Cada vez hay más evidencias de que las enzimas del ciclo del ácido cítrico se encuentran físicamente asociadas entre sí. La cercanía entre las enzimas intensifica la eficacia del ciclo del ácido cítrico porque un producto de una reacción puede pasar directamente de un centro activo al siguiente a través de canales de conexión, un proceso denominado *canalización del sustrato*. Se ha propuesto el término *metabolón* para hacer referencia a este tipo de complejos multienzimáticos. Esto convierte al ciclo del ácido cítrico en otro ejemplo de cómo la organización celular de los complejos enzimáticos formados por muchas subunidades puede estar localizada según su función. Volveremos a ver esta organización y localización cuando estudiemos la fosforilación oxidativa.

La función catabólica fundamental del ciclo del ácido cítrico es la producción de electrones de alta energía en forma de NADH y $FADH_2$. Como veremos en la Sección 9, la cadena transportadora de electrones oxida el NADH y el $FADH_2$ formados en el ciclo del ácido cítrico y, en última instancia, da lugar a la generación de 2,5 moléculas de ATP por cada NADH y 1,5 moléculas de ATP por cada $FADH_2$. Una vuelta completa del ciclo del ácido cítrico genera 3 moléculas de NADH, 1 molécula de $FADH_2$ y 1 molécula de ATP, lo que hace un total de 10 moléculas de ATP. A modo de dramática comparación, la glucólisis anaeróbica de 1 molécula de glucosa genera tan solo 2 moléculas de ATP (y 2 moléculas de lactato).

Recordemos que el oxígeno molecular no interviene directamente en el ciclo del ácido cítrico. Sin embargo, el ciclo opera únicamente en condiciones aeróbicas porque el NAD^+ y el FAD solo se pueden regenerar en las mitocondrias mediante la transferencia de electrones al oxígeno molecular. *La glucólisis presenta una modalidad aeróbica y otra anaeróbica, mientras que el ciclo del ácido cítrico es exclusivamente aeróbico.* Como se comentó en el Capítulo 16, la glucólisis se puede llevar a cabo en condiciones anaeróbicas porque el NAD^+ se regenera durante la conversión del piruvato a lactato o a etanol.

Las manzanas son una fuente abundante de ácido málico, al que se le solía denominar "el ácido de las manzanas". De hecho, la palabra málico procede del Latín *malum*, que significa "manzana".

? PREGUNTA RÁPIDA 1 El malonato es un inhibidor competitivo de la succinato deshidrogenasa. ¿Cómo cambiarán las concentraciones de los intermediarios del ciclo del ácido cítrico inmediatamente después de la adición de malonato? ¿Por qué el malonato no es un sustrato para la succinato deshidrogenasa?



Malonato

✓ 5 Describir cómo se regula el ciclo del ácido cítrico.

✓ 6 Describir el papel del ciclo del ácido cítrico en el anabolismo.

19.4 El ciclo del ácido cítrico está regulado

El ciclo del ácido cítrico es la ruta final común de la oxidación aeróbica de las moléculas combustible. Además, como veremos en breve (p.339) y en repetidas ocasiones a lo largo de nuestro estudio de la bioquímica, el ciclo es una importante fuente de materiales de construcción para un gran número de biomoléculas. Como corresponde a su papel de centralita metabólica de la célula, la incorporación al ciclo y la velocidad del propio ciclo están controladas en diversas etapas. Hemos visto (p. 323) que el complejo piruvato deshidrogenasa, la conexión entre la glucólisis y el ciclo del ácido cítrico, es un punto de regulación importante que controla el metabolismo del piruvato a través del ciclo del ácido cítrico.

El ciclo del ácido cítrico se controla en varios puntos

La regulación de la piruvato deshidrogenasa es un importante punto de control que modula la conversión del piruvato procedente de la glucosa en acetil-CoA. Sin embargo, el piruvato no es la única fuente de acetil-CoA. De hecho, el acetil-CoA procedente de la descomposición de las grasas se incorpora directamente al ciclo (Capítulo 27). En consecuencia, la velocidad del propio ciclo del ácido cítrico también tiene que estar controlada de forma precisa para satisfacer las necesidades de ATP de una célula animal (Figura 19.7). Los puntos de control primario son las enzimas alostéricas *isocitrato deshidrogenasa* y *α-cetoglutarato deshidrogenasa*.

Para muchos tejidos, como el hígado, las necesidades de ATP son prácticamente constantes en una escala de tiempo de minutos o de horas. Por tanto, para estos tejidos, el ciclo del ácido cítrico opera a una velocidad constante. Pero, igual que cuando se conduce a una velocidad constante es normal que se tenga que pisar el acelerador o el freno de forma ocasional, la velocidad del ciclo del ácido cítrico se tiene que "ajustar" mediante aumentos y disminuciones. ¿Qué señales regulan la velocidad del ciclo? *La isocitrato deshidrogenasa se estimula alostéricamente por el ADP, que es una señal de que se necesita más energía*. Por el contrario, el NADH, que es una señal de la presencia de electrones con un elevado potencial de transferencia, inhibe la isocitrato deshidrogenasa. Análogamente, el ATP, el producto final del catabolismo de los combustibles, es un inhibidor.

Un segundo punto de control en el ciclo del ácido cítrico es la α-cetoglutarato deshidrogenasa. Algunos aspectos del control de esta enzima son como los del complejo piruvato deshidrogenasa, como cabría esperar, dada la similitud que hay entre las dos enzimas. La α-cetoglutarato deshidrogenasa se inhibe por los productos de la reacción que cataliza, la succinil-CoA y el NADH. Además, la α-cetoglutarato deshidrogenasa se inhibe por niveles elevados de ATP. Así, *la velocidad del ciclo se reduce cuando la célula tiene niveles elevados de ATP y de NADH*. Es importante destacar que otras enzimas del ciclo requieren NAD^+ o FAD. Estas enzimas solo funcionarán cuando la carga energética sea baja porque solo entonces habrá NAD^+ y FAD disponible.

En el músculo esquelético cabría esperar distintos mecanismos de regulación, ya que las necesidades energéticas pueden variar enormemente y de manera rápida. Después de todo, la glucólisis y la gluconeogénesis se regulan de distinto modo en tejidos diferentes. De hecho, algunos estudios indican que la velocidad del ciclo del ácido cítrico aumentará 100 veces durante un ejercicio intenso. Sin embargo, incluso en el músculo, la velocidad del ciclo se encuentra sometida al control de las mismas dos enzimas.

El uso de la isocitrato deshidrogenasa y de la α-cetoglutarato deshidrogenasa como puntos de control integra el ciclo del ácido cítrico con otras rutas y resalta el papel central del ciclo del ácido cítrico en el metabolismo. Por ejemplo, la inhibición de la isocitrato deshidrogenasa da lugar a una acumulación de citrato porque la interconversión de citrato e isocitrato es fácilmente reversible en las condiciones intracelulares. El citrato se puede transportar al citoplasma, donde es una señal para que la fosfofructoquinasa detenga la glucólisis (p. 288) y donde puede servir de fuente de acetil-CoA para la síntesis de ácidos grasos (Capítulo 28). El α-cetoglutarato que se acumula cuando la α-cetoglutarato deshidrogenasa se inhibe puede ser utilizado como precursor de varios aminoácidos y de bases púricas (Capítulo 30).

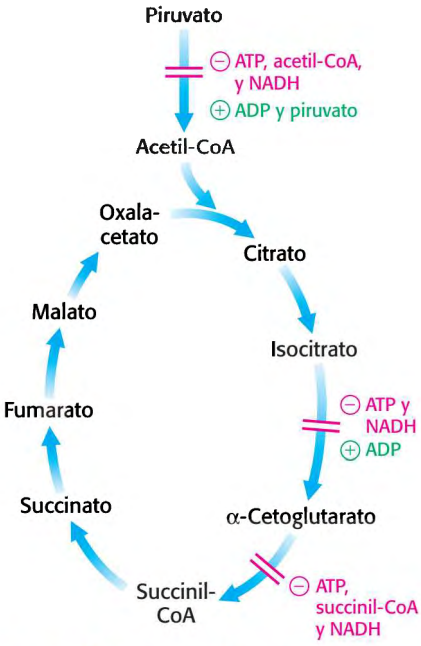


Figura 19.7 Control del ciclo del ácido cítrico. El ciclo del ácido cítrico se regula principalmente mediante las concentraciones de ATP y NADH. Los puntos de control clave son las enzimas isocitrato deshidrogenasa y α-cetoglutarato deshidrogenasa.

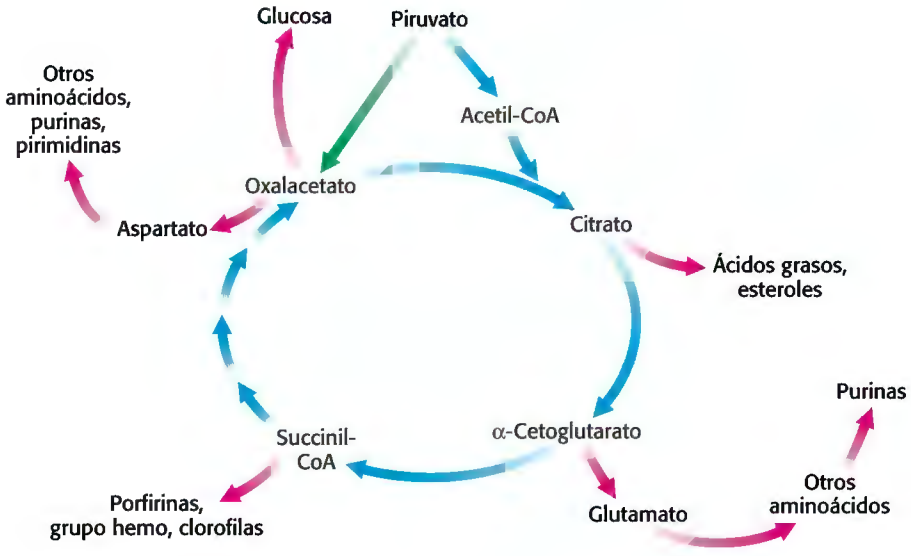


Figura 19.8 Funciones biosintéticas del ciclo del ácido cítrico. Cuando las necesidades energéticas de la célula están satisfechas se extraen intermediarios para la biosíntesis (mostrado mediante flechas rojas). Los intermediarios se reponen mediante la formación de oxalacetato a partir de piruvato (flecha verde).

En muchas bacterias, la canalización de los fragmentos de dos carbonos hacia el ciclo también está controlada. *En estos organismos, la síntesis de citrato a partir de oxalacetato y acetil-CoA es un punto de control importante.* El ATP es un inhibidor alostérico de la citrato sintasa. El efecto del ATP consiste en incrementar el valor de la K_M para la acetil-CoA. Así, a medida que aumenta el nivel de ATP, menos enzima reacciona con la acetil-CoA, con lo que se forma menos citrato.

El ciclo del ácido cítrico es una fuente de precursores biosintéticos

Hasta ahora nos hemos centrado en el ciclo del ácido cítrico como la *principal ruta degradativa para la generación de ATP*. Al ser una de las principales centralitas metabólicas de la célula, el ciclo del ácido cítrico también *suministra intermediarios para la biosíntesis* (**Figura 19.8**). Por ejemplo, la mayoría de los átomos de carbono de las porfirinas, los precursores del grupo hemo de la hemoglobina y de la mioglobina, provienen de la *succinil-CoA*. Muchos de los aminoácidos derivan del *α-cetoglutarato* y del *oxalacetato*. Estos procesos biosintéticos se considerarán en capítulos posteriores.

El ciclo del ácido cítrico tiene que ser capaz de reponerse rápidamente

El ciclo del ácido cítrico es esencial para la generación de energía biológica y es una fuente de materiales de construcción para las reacciones biosintéticas. Este uso dual plantea un problema. Supongamos que se convierte mucho oxalacetato en glucosa y, posteriormente, aumentan las necesidades energéticas de la célula. El ciclo del ácido cítrico operará a un ritmo reducido a menos que se forme más oxalacetato, ya que la acetil-CoA no puede incorporarse al ciclo a menos que se condense con el oxalacetato. Aunque el oxalacetato se recicla, hay que mantener un nivel mínimo para permitir que el ciclo funcione. *Si se utiliza alguno de los intermediarios del ciclo del ácido cítrico para la biosíntesis, hay que reponerlo.*

¿Cómo se repone el oxalacetato? Los mamíferos carecen de enzimas para la conversión neta de acetil-CoA en oxalacetato o en cualquier otro intermediario del ciclo del ácido cítrico. Por ello, el oxalacetato se forma por la descarboxilación del piruvato, en una reacción catalizada por la enzima *piruvato carboxilasa*, que depende de la biotina (**Figura 19.9**).

$$\text{Piruvato} + CO_2 + \text{ATP} + H_2O \longrightarrow \text{oxalacetato} + \text{ADP} + P_i + 2\,H^+$$

Recordemos que esta enzima desempeña un papel esencial en la gluconeogénesis (p. 302). Solo es activa en presencia de acetil-CoA, que es una señal de que se necesita más oxalacetato. Si la carga energética es elevada, el oxalacetato se convierte en glucosa. Si la carga energética es reducida, el oxalacetato repone el ciclo del ácido cítrico. La síntesis de oxalacetato por medio de la descarboxilación oxidativa es un ejemplo de *reacción anaplerótica* (palabra de origen griego que quiere decir "llenar"), una re-



Figura 19.9 La piruvato carboxilasa repone el ciclo del ácido cítrico. La velocidad del ciclo del ácido cítrico aumenta durante el ejercicio, con lo que es necesario reponer el oxalacetato y la acetil-CoA. El oxalacetato se repone mediante su formación a partir de piruvato. La acetil-CoA se puede producir tanto a partir del metabolismo del piruvato como a partir del metabolismo de los ácidos grasos.

? PREGUNTA RÁPIDA 2 ¿Por qué la acetil-CoA es un activador especialmente apropiado para la piruvato carboxilasa?

El manuscrito que proponía el ciclo del ácido cítrico fue enviado a la revista *Nature* para su publicación, pero fue rechazado. Durante toda su carrera, el Dr. Hans Krebs ha mostrado con orgullo la carta de rechazo fechada en junio de 1937 para animar a los jóvenes científicos. Después de aquello, su trabajo se publicó en la revista *Enzymologia*.

acción que da lugar a la síntesis neta, o reposición, de los componentes de la ruta. Hay que señalar que, como el ciclo del ácido cítrico es, como su nombre indica, un ciclo, se puede reponer mediante la formación de cualquiera de sus intermediarios. Por ejemplo, la eliminación de grupos nitrógeno del glutamato y del aspartato produce α-cetoglutarato y oxalacetato, respectivamente.

Aspecto clínico

Defectos en el ciclo del ácido cítrico contribuyen al desarrollo del cáncer

Se sabe que hay tres enzimas esenciales para la respiración celular que contribuyen al desarrollo del cáncer: la succinato deshidrogenasa, la fumarasa y la piruvato deshidrogenasa quinasa. Las mutaciones que alteran la actividad de estas tres enzimas intensifican la glucólisis aeróbica (p. 292). En la glucólisis aeróbica, las células cancerosas prefieren metabolizar la glucosa a lactato, incluso en presencia de oxígeno. Los defectos en estas tres enzimas tienen un mismo nexo bioquímico: el factor de transcripción *factor-1 inducible por hipoxia* (HIF-1).

Normalmente, HIF-1 solo hace aumentar la concentración intracelular de enzimas y transportadores que intensifican la glucólisis cuando disminuye la concentración de oxígeno, una condición que se denomina hipoxia. En condiciones normales, HIF-1 es hidroxilado por la prolilhidroxilasa 2 y, posteriormente, es destruido por un gran complejo de enzimas proteolíticas. La degradación de HIF-1 evita la estimulación de la glucólisis. La prolilhidroxilasa 2 necesita para su actividad α-cetoglutarato, ascorbato (vitamina C) y oxígeno. Por tanto, si la concentración de oxígeno disminuye, la prolilhidroxilasa 2 es inactiva, HIF-1 no se hidroxila y no se degrada, con lo que se estimula la síntesis de las proteínas necesarias para la glucólisis. El resultado es que aumenta la velocidad de glucólisis.

Los defectos en las enzimas del ciclo del ácido cítrico pueden afectar de forma significativa a la regulación de la prolilhidroxilasa 2. Cuando la succinato deshidrogenasa o la fumarasa son defectuosas, el succinato y el fumarato se acumulan en las mitocondrias y se vierten al citoplasma. Tanto el succinato como el fumarato son inhibidores competitivos de la prolilhidroxilasa 2. La inhibición de la prolilhidroxilasa 2 da lugar a la estabilización de HIF-1 porque HIF-1 ya no se hidroxila. Parece ser que el lactato, el producto final de la glucólisis, también inhibe la prolilhidroxilasa 2 interfiriendo con la acción del ascorbato. Además de aumentar la cantidad de proteínas necesarias para la glucólisis, HIF-1 estimula la producción de la piruvato deshidrogenasa quinasa (PDH quinasa), como ya se ha comentado anteriormente (p. 323).

Estas observaciones que relacionan las enzimas del ciclo del ácido cítrico con el cáncer sugieren que el cáncer también es una enfermedad metabólica, no simplemente una enfermedad provocada por la mutación de factores de crecimiento o de las proteínas que controlan el ciclo celular. La constatación de que hay un componente metabólico en el cáncer abre el camino para nuevas ideas sobre el control de la enfermedad. De hecho, experimentos preliminares sugieren que, si se obliga a las células cancerosas que están llevando a cabo la glucólisis aeróbica a utilizar la fosforilación oxidativa mediante manipulación farmacológica, las células cancerosas pierden sus propiedades malignas. También es interesante destacar que el ciclo del ácido cítrico, que se ha estudiado durante décadas, todavía oculta secretos que aguardan para ser desvelados por los futuros bioquímicos. ■

19.5 El ciclo del glioxilato permite a plantas y bacterias convertir las grasas en carbohidratos

El destino de la acetil-CoA que se incorpora al ciclo del ácido cítrico es único: su oxidación a CO_2 y H_2O. Por tanto, la mayoría de los organismos no pueden convertir la acetil-CoA en glucosa porque, aunque durante el ciclo del ácido cítrico se forma oxalacetato, que es un precursor clave de la glucosa, las dos descarboxilaciones que tienen lugar antes de la regeneración del oxalacetato impiden la conversión *neta* de acetil-CoA en glucosa. Es una pena que no se pueda sintetizar oxalacetato a partir de

acetil-CoA, ya que, en animales, hay una gran disponibilidad de acetil-CoA puesto que es un producto de la descomposición de las grasas.

Sin embargo, en plantas y en algunos microorganismos, existe una ruta metabólica que, de hecho, permite la conversión de la acetil-CoA generada a partir de las reservas de grasa en glucosa. Esta secuencia de reacciones, denominada *ciclo del glioxilato*, es similar al ciclo del ácido cítrico pero elude los dos pasos de descarboxilación del ciclo. Otra diferencia importante es que en cada vuelta del ciclo del glioxilato se incorporan dos moléculas de acetil-CoA, y no una, como ocurre en el ciclo del ácido cítrico.

El ciclo del glioxilato (**Figura 19.10**), al igual que el ciclo del ácido cítrico, comienza con la condensación de la acetil-CoA y el oxalacetato para formar citrato, que posteriormente se isomeriza a isocitrato. En vez de descarborxilarse, como en el ciclo del ácido cítrico, el isocitrato es escindido por la *isocitrato liasa* para formar succinato y glioxilato. Los pasos siguientes regeneran el oxalacetato a partir del glioxilato. En primer lugar, la acetil-CoA se condensa con el glioxilato para formar malato en una reacción catalizada por la *malato sintasa* y, después, el malato se oxida a oxalacetato, como en el ciclo del ácido cítrico. La suma de estas reacciones es

$$2\ \text{Acetil-CoA} + \text{NAD}^+ + 2\ \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{succinato} + 2\ \text{CoASH} + \text{NADH} + 2\ \text{H}^+$$

En plantas, estas reacciones tienen lugar en unos orgánulos denominados *glioxisomas*. Este ciclo es especialmente importante en las semillas con alto contenido en aceites, como las de girasol, pepino y ricino (**Figura 19.11**). El succinato, que se libera a mitad

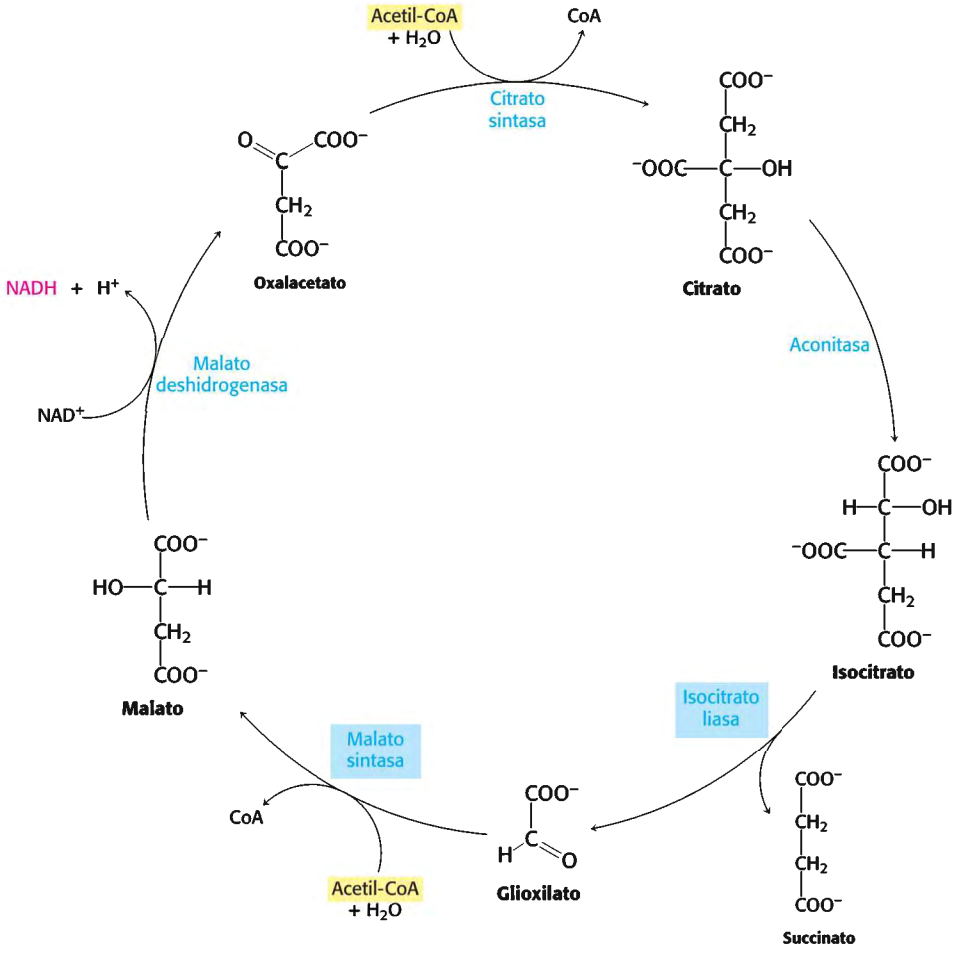


Figura 19.10 El ciclo del glioxilato. El ciclo del glioxilato permite a las plantas y a algunos microorganismos crecer a partir de acetato porque el ciclo elude los pasos de descarboxilación del ciclo del ácido cítrico. Las reacciones de este ciclo son las mismas que las del ciclo del ácido cítrico, a excepción de las catalizadas por la isocitrato liasa y por la malato sintasa, que se han sombreado en color azul.



Figura 19.11 Los girasoles pueden convertir la acetil-CoA en glucosa. Ciclistas del Tour de Francia atraviesan un campo de girasoles. El ciclo del glioxilato es especialmente importante en los girasoles. [Javier Soriano/AFP/Getty.]

del ciclo, se puede convertir en carbohidratos mediante una combinación del ciclo del ácido cítrico y la gluconeogénesis. Los carbohidratos impulsan el crecimiento de la plántula hasta que la planta pueda empezar la fotosíntesis. Por tanto, los organismos con ciclo del glioxilato ganan versatilidad metabólica porque pueden utilizar la acetil-CoA como precursor de la glucosa y de otras biomoléculas.

Resumen

19.1 El ciclo del ácido cítrico consta de dos etapas

La primera etapa del ciclo del ácido cítrico consiste en la condensación de la acetil-CoA con el oxalacetato, seguida de dos descarboxilaciones oxidativas. En la segunda etapa del ciclo, que está acoplada a la formación de electrones con un elevado potencial de transferencia y a la formación de una molécula de ATP o de GTP, se regenera el oxalacetato.

19.2 La primera etapa oxida dos átomos de carbono para conseguir electrones de alta energía

El ciclo comienza con la condensación del oxalacetato (que tiene cuatro átomos de carbono, representado como C_4) y acetil-CoA (C_2) para generar citrato (C_6), que se isomeriza a isocitrato (C_6). La descarboxilación oxidativa de este intermediario produce α-cetoglutarato (C_5). La segunda molécula de dióxido de carbono se libera en la siguiente reacción, en la que el α-cetoglutarato se descarboxila de forma oxidativa a succinil-CoA (C_5).

19.3 La segunda etapa regenera el oxalacetato y recoge los electrones de alta energía

El ortofosfato rompe el enlace tioéster de la succinil-CoA para producir succinato y generar, al mismo tiempo, un compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos en forma de ATP o de GTP. El succinato se oxida a fumarato (C_4) que, posteriormente, se hidrata para formar malato (C_4). Por último, el malato se oxida para regenerar el oxalacetato (C_4). Así, los dos átomos de carbono de la acetil-CoA se incorporan al ciclo y en las descarboxilaciones sucesivas catalizadas por la isocitrato deshidrogenasa y la α-cetoglutarato deshidrogenasa dos átomos de carbono abandonan el ciclo en forma de CO_2. En las cuatro reacciones de oxidación-reducción del ciclo, se transfieren tres pares de electrones al NAD^+ y un par al FAD. Estos transportadores de electrones reducidos se oxidan posteriormente por la cadena transportadora de electrones

para generar, aproximadamente, nueve moléculas de ATP. Además, en el ciclo del ácido cítrico se forma una molécula de ATP directamente. Por tanto, por cada fragmento de dos carbonos que se oxida por completo a CO_2 y H_2O, se generan un total de 10 moléculas de compuestos con un elevado potencial de transferencia de fosforilos.

19.4 El ciclo del ácido cítrico está regulado

El ciclo del ácido cítrico solo opera en condiciones aeróbicas porque requiere un suministro de NAD^+ y FAD. La formación irreversible de acetil-CoA a partir de piruvato es un punto de regulación importante para la incorporación del piruvato procedente de la glucosa al ciclo del ácido cítrico. Los aceptores de electrones se regeneran cuando el NADH y el $FADH_2$ transfieren sus electrones al O_2 por medio de la cadena transportadora de electrones, con la producción concomitante de ATP. En consecuencia, la velocidad del ciclo del ácido cítrico depende de las necesidades de ATP. En eucariotas, la regulación de dos enzimas del ciclo también es importante para su control. Una carga energética elevada disminuye la actividad de la isocitrato deshidrogenasa y de la α-cetoglutarato deshidrogenasa. Estos mecanismos se complementan entre sí a la hora de reducir la velocidad de formación de acetil-CoA cuando la carga energética de la célula es elevada y cuando abundan los intermediarios para la biosíntesis.

Cuando la célula dispone de la energía adecuada, el ciclo del ácido cítrico puede proporcionar una fuente de materiales de construcción para un gran número de biomoléculas importantes, como, por ejemplo, las bases de los nucleótidos, las proteínas y los grupos hemo. Este uso consume los intermediarios del ciclo. Cuando el ciclo necesita metabolizar de nuevo el combustible, las reacciones anapleróticas reponen los intermediarios del ciclo.

19.5 El ciclo del glioxilato permite a plantas y bacterias convertir las grasas en carbohidratos

El ciclo del glioxilato intensifica la versatilidad metabólica de muchas plantas y bacterias. Este ciclo, que utiliza algunas de las reacciones del ciclo del ácido cítrico, permite a estos organismos convertir las grasas en glucosa. Dos moléculas de acetil-CoA se convierten en succinato, que puede ser utilizado para sintetizar glucosa.

Términos clave

complejo piruvato deshidrogenasa (p. 329)
ciclo del ácido cítrico (CAC), ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA), ciclo de Krebs (p. 330)
citrato sintasa (p. 330)
isocitrato deshidrogenasa (p. 332)
α-cetoglutarato deshidrogenasa (p. 332)
metabolón (p. 337)
reacción anaplerótica (p. 340)
ciclo del glioxilato (p. 341)
isocitrato liasa (p. 341)
malato sintasa (p. 341)
glioxisoma (p. 341)

Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Aumentará la concentración de succinato, seguida de la del α-cetoglutarato y los demás intermediarios anteriores al lugar de inhibición. El succinato posee dos grupos metileno que son necesarios para la deshidrogenación, mientras que el malonato solo tiene uno.

2. La piruvato carboxilasa debería estar activa solo cuando la concentración de acetil-CoA es elevada. Si no se satisfacen las necesidades energéticas de la célula a causa de una insuficiencia de oxalacetato, se debería acumular acetil-CoA. En estas condiciones, la piruvato carboxilasa cataliza una reacción anaplerótica. Alternativamente, la acetil-CoA se podría acumular porque se han satisfecho las necesidades energéticas de la célula. En este caso, el piruvato se volverá a convertir en glucosa y la primera etapa de esta conversión es la formación de oxalacetato.

Problemas

1. *Balance.* ¿Cuál es la ecuación neta del ciclo del ácido cítrico? ✓ 3

2. *¿No será una broma?* El ciclo del ácido cítrico forma parte de la respiración aeróbica, pero el ciclo no necesita O_2. Explique esta paradoja. ✓ 3

3. *Cosa 1 y cosa 2.* Se puede considerar que el ciclo del ácido cítrico tiene lugar en dos etapas. ¿Cuáles son esas dos etapas? ✓ 3

4. *Jack y su gemela.* Asigne a cada enzima su descripción correspondiente.

(a) Complejo piruvato deshidrogenasa _____
(b) Citrato sintasa _____
(c) Aconitasa _____
(d) Isocitrato deshidrogenasa _____
(e) α-Cetoglutarato deshidrogenasa _____
(f) Succinil-CoA sintetasa _____
(g) Succinato deshidrogenasa _____
(h) Fumarasa _____
(i) Malato deshidrogenasa _____
(j) Piruvato carboxilasa _____

1. Cataliza la formación de isocitrato
2. Sintetiza succinil-CoA
3. Genera malato
4. Genera ATP
5. Convierte piruvato en acetil-CoA
6. Convierte piruvato en oxalacetato
7. Condensa el oxalacetato y la acetil-CoA
8. Cataliza la formación de oxalacetato
9. Sintetiza fumarato
10. Cataliza la formación de α-cetoglutarato

5. *Una de dos.* La síntesis de citrato a partir de acetil-CoA y oxalacetato es una reacción biosintética. ¿Cuál es la fuente de energía que impulsa la formación de citrato? ✓ 3

6. *Tacita a tacita...* ¿Cómo evita la citrato sintasa el despilfarro que supone la hidrólisis de la acetil-CoA? ✓ 3

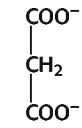
7. $C_2 + C_2 \longrightarrow C_4$.

(a) ¿Qué enzimas se necesitan para conseguir la *síntesis neta* de oxalacetato a partir de acetil-CoA? ✓ 6
(b) Escriba la reacción ajustada para la síntesis neta.
(c) ¿Tienen las células de mamífero las enzimas necesarias?

8. *Fuerza impulsora.* ¿Cuál es el valor del $\Delta G^{\circ\prime}$ para la oxidación completa de la unidad acetilo de la acetil-CoA a través del ciclo del ácido cítrico? ✓ 4

9. *Actuando de forma catalítica.* Se puede considerar que, en esencia, el propio ciclo del ácido cítrico, que consta de varias reacciones catalizadas enzimáticamente, es una enzima supramolecular. ¿Qué significa esto? ✓ 4

10. *El corte de carreteras de las siete en punto.* El malonato es un inhibidor competitivo de la succinato deshidrogenasa. ¿Cómo cambiará la concentración de los intermediarios del ciclo del ácido cítrico inmediatamente después de la adición de malonato? ¿Por qué el malonato no es un sustrato para la succinato deshidrogenasa? ✓ 4



Malonato

11. *Único en su especie.* ¿En qué aspecto se puede considerar única a la malato deshidrogenasa cuando la comparamos con las demás enzimas del ciclo del ácido cítrico?

12. *Se necesita fosfato.* ¿Qué paso del ciclo del ácido cítrico necesita una molécula de fosfato inorgánico? ✓ 3

13. *Primos no tan lejanos.* ¿En qué se parece la descarboxilación del α-cetoglutarato a la descarboxilación del piruvato?

14. *Bonificación extra.* ¿Qué reacción del ciclo del ácido cítrico da lugar a la formación directa de una molécula de ATP? ✓ 3

15. *Reguladores.* ¿Qué enzimas son las enzimas reguladoras clave del propio ciclo del ácido cítrico? ✓ 5

16. *Versatilidad.* ¿Cuál es el principal beneficio de ser capaz de llevar a cabo el ciclo del glioxilato?

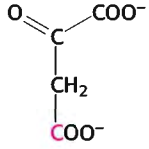
Problemas de integración de capítulos

17. *¿Grasas en glucosa?* Normalmente, las grasas se metabolizan a acetil-CoA y, posteriormente, se siguen procesando a través del ciclo del ácido cítrico. En el Capítulo 18 se vio que se podía sintetizar glucosa a partir de oxalacetato, un intermediario del ciclo del ácido cítrico. ¿Por qué, entonces, después de una larga sesión de ejercicio que agote nuestras reservas de carbohidratos tenemos que reponerlas ingiriendo carbohidratos? ¿Por qué no las reponemos sencillamente convirtiendo grasas en carbohidratos?

18. *Sin señal, no hay actividad.* ¿Por qué la acetil-CoA es un activador especialmente apropiado para la piruvato carboxilasa? ✓ 5

Problemas de mecanismos

19. *Problemas de simetría.* En unos experimentos realizados en 1941 para investigar el ciclo del ácido cítrico, se introdujo en una preparación de mitocondrias activas oxalacetato marcado con ^{14}C en el átomo de carbono del grupo carboxilo más alejado del grupo ceto.



Oxalacetato

El análisis del α-cetoglutarato formado mostró que no se había producido ninguna pérdida del marcaje radiactiva. Posteriormente, la descarboxilación del α-cetoglutarato produjo succinato carente de radiactividad. Todo el marcaje se encontraba en el CO_2 liberado. ¿Por qué fue una sorpresa para los primeros investigadores del ciclo del ácido cítrico que *toda* la radiactividad apareciese en forma de CO_2?

20. *Moléculas simétricas que reaccionan de forma asimétrica.* La interpretación de los experimentos descritos en el problema 19 fue que el citrato (o cualquier otro compuesto simétrico) no puede ser un intermediario en la formación del α-cetoglutarato debido al destino asimétrico del marcaje radiactivo. Esta opinión parecía convincente hasta que Alexander Ongston señalase en 1948 con cierta ironía que "es posible que *una enzima asimétrica que ataca a un compuesto simétrico pueda distinguir entre sus grupos idénticos*". Para simplificar, consideremos una molécula en la que dos átomos de hidrógeno, un grupo X y un grupo distinto Y se encuentren unidos a un átomo de carbono tetraédrico y que esa molécula represente al citrato. Explique cómo una molécula simétrica puede reaccionar de forma asimétrica con una enzima.

Problemas para atrevidos, de interpretación de datos y de integración de capítulos

21. *Con un poco ya es suficiente.* Como veremos en la Sección 9, la actividad del ciclo del ácido cítrico se puede monitorizar midiendo la cantidad de O_2 consumido. Cuanto más rápido se consume el O_2, mayor es la velocidad del ciclo. En 1937, Hans Krebs utilizó este ensayo para investigar el ciclo. Utilizó como sistema experimental el músculo pectoral de paloma triturado, que es rico en mitocondrias. En un conjunto de experimentos, Krebs midió el consumo de O_2 únicamente en presencia de carbohidratos y en presencia de carbohidratos y citrato. Los resultados se muestran en la siguiente tabla. ✓ 4

Efecto del citrato en el consumo de oxígeno del músculo pectoral de paloma triturado

	Micromoles de oxígeno consumidos	
Tiempo (min)	Solo carbohidratos	Carbohidratos más 3 μmol de citrato
10	26	28
60	43	62
90	46	77
150	49	85

(a) ¿Cuánto O_2 se consumiría si el citrato añadido se oxidase completamente a CO_2 y H_2O?
(b) Basándose en su repuesta al apartado *a*, ¿qué sugieren los resultados mostrados en la tabla?

22. *Envenenamiento por arsenito.* A continuación, se estudió el efecto del arsenito sobre el sistema experimental del problema 21. Los datos experimentales (que no se muestran aquí) demostraron que, en ausencia de arsenito, la cantidad de citrato presente permanecía constante durante el transcurso del experimento. Sin embargo, al añadir arsenito al sistema se obtuvieron resultados diferentes, tal y como se muestra en la siguiente tabla. ✓ 4

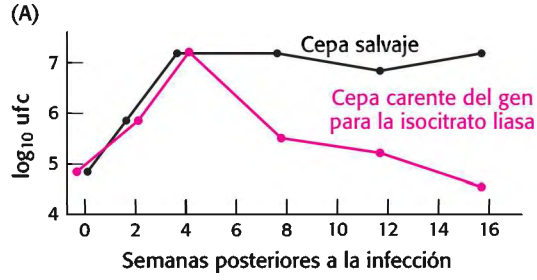
Desaparición del ácido cítrico del músculo pectoral de paloma en presencia de arsenito

Micromoles de citrato añadidos	Micromoles de citrato detectados al cabo de 40 minutos	Micromoles de citrato utilizados
22	00,6	21
44	20,0	24
90	56,0	34

(a) ¿Cuál es el efecto del arsenito en la desaparición del citrato?
(b) ¿Cómo se altera la acción del arsenito al añadir más citrato?
(c) ¿Qué sugieren estos datos sobre el lugar donde actúa el arsenito?

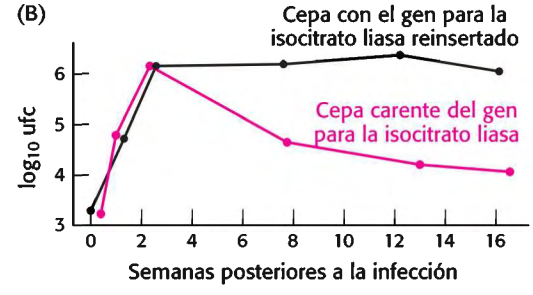
23. *Isocitrato liasa y tuberculosis.* La bacteria *Mycobacterium tuberculosis*, causante de la tuberculosis, puede invadir los pulmones y permanecer en estado latente durante años. En ese tiempo, la bacteria reside en granulomas —nódulos formados por un núcleo central que contiene bacterias y restos celulares del huésped y que está rodeado de células inmunitarias. Los granulomas son entornos ricos en lípidos y con poco oxígeno. Cómo se las arreglan estas bacterias para sobrevivir en esas condiciones es un misterio. Las evidencias experimentales sugieren que la supervivencia requiere el ciclo del glioxilato. Los siguientes datos muestran la cantidad de bacterias (expresada como unidades formadoras de colonias, o ufc) presentes en los pulmones de ratones durante las semanas posteriores a la infección.

En la gráfica A, los círculos negros representan los resultados obtenidos con una cepa bacteriana salvaje y los círculos rojos representan los resultados obtenidos con una cepa bacteriana a la que se ha eliminado el gen de la isocitrato liasa.



(a) ¿Cuál es el efecto de la ausencia de isocitrato liasa?

Se volvió a insertar el gen que codifica la isocitrato liasa en aquellas bacterias a las que previamente se les había eliminado ese gen (ver el Capítulo 41 para consultar la técnica de reinserción). En la gráfica B, los círculos negros representan las bacterias a las que se les ha reinsertado el gen y los círculos rojos representan las bacterias que todavía carecen del gen.



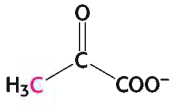
[Los datos de las gráficas A y B se han tomado de McKinney, J. D., Höner zu Bentrup, K., Muñoz-Elias, E. J., y col., *Nature* 406: 735–738, 2000.]

(b) ¿Respaldan estos resultados los obtenidos en el apartado *a*?
(c) ¿Cuál es la finalidad del experimento del apartado *b*?
(d) ¿Por qué mueren estas bacterias en ausencia del ciclo del glioxilato?

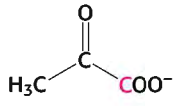
Problemas para atrevidos

24. *Flujo de los átomos de carbono.* ¿Cuál es el destino del marcaje radiactivo cuando se añade cada uno de los siguientes compuestos a un extracto celular que contiene las enzimas y los cofactores de la ruta glucolítica, del ciclo del ácido cítrico y del complejo piruvato deshidrogenasa? (El ^{14}C radiactivo se muestra de color rojo). ✓ 3

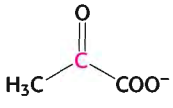
(a)



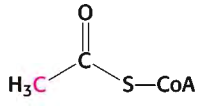
(b)



(c)



(d)



(e) Glucosa 6-fosfato marcada en el C-1.

25. *Acoplando reacciones.* En condiciones estándar, la oxidación del malato por el NAD^+ para formar oxalacetato es una reacción muy endergónica ($\Delta G^{\circ\prime} = 29$ kJ mol^{-1}, o 7 kcal mol^{-1}). En condiciones fisiológicas, la reacción transcurre con facilidad.

(a) ¿Por qué?

(b) Suponga que la proporción $[NAD^+]/[NADH]$ vale 8 y que el pH es 7. Calcule la proporción [malato]/[oxalacetato] más baja a la que se podrá formar oxalacetato a partir de malato.

26. *Distinto poder.* Como veremos en el siguiente capítulo, cuando el NADH reacciona con el oxígeno se generan 2,5 ATP. Cuando el $FADH_2$ reduce al oxígeno solo se generan 1,5 ATP. Entonces, ¿por qué la succinato deshidrogenasa produce $FADH_2$ y no NADH cuando reduce el succinato a fumarato?

27. *Algo de química orgánica.* En el ciclo del ácido cítrico, antes de que puedan tener lugar las reacciones de oxidación, el citrato se tiene que isomerizar a isocitrato. ¿Por qué?

28. *Sintetizando α-cetoglutarato.* Utilizando las reacciones y las enzimas estudiadas en este capítulo y en el Capítulo 18, el piruvato se puede convertir en α-cetoglutarato sin agotar ninguno de los componentes del ciclo del ácido cítrico. Dibuje un esquema de esta conversión en el que las reacciones estén ajustadas y en el que se indiquen los cofactores y las enzimas que se necesitan. ✓ 6

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.



Capítulo 20:
La cadena transportadora de electrones



Capítulo 21:
La fuerza protón-motriz

SECCIÓN 9

Fosforilación oxidativa

La cantidad de ATP que necesitan los seres humanos para seguir vivos es asombrosa. Un varón sedentario de 70 kg necesita alrededor de 8.400 kJ (2.000 kcal) para la actividad de un día. Para suministrar esta cantidad de energía se necesitan 83 kg de ATP. Sin embargo, los seres humanos solo tienen unos 250 g de ATP, menos del 1% de la cantidad que necesitan diariamente. La disparidad entre la cantidad de ATP que tenemos y la que necesitamos se resuelve reciclando el ATP usado en ATP que se pueda volver a utilizar. Cada molécula de ATP se recicla a partir del ADP alrededor de 300 veces al día. Este reciclaje tiene lugar, fundamentalmente, por medio de la fosforilación oxidativa, en la que se forma ATP como resultado de la transferencia de electrones desde el NADH o el $FADH_2$ hasta el O_2 a través de una serie de transportadores de electrones. Este proceso, que tiene lugar en las mitocondrias, es la mayor fuente de ATP en los organismos aerobios. Por ejemplo, la fosforilación oxidativa genera 26 de las 30 moléculas de ATP que se forman cuando una molécula de glucosa se oxida por completo a CO_2 y H_2O.

La fosforilación oxidativa es la culminación de la serie de transformaciones energéticas presentadas en la Sección 8, que, en conjunto, recibe el nombre de *respiración celular* o, sencillamente, respiración. Los combustibles carbonados se oxidan primero por medio del ciclo del ácido cítrico para generar electrones con un elevado potencial de transferencia. En la fosforilación oxidativa, los electrones con un elevado potencial de transferencia fluyen a través de una serie de complejos proteicos de gran tamaño integrados en la membrana mitocondrial interna, denominada *cadena respiratoria*, para reducir el oxígeno a agua. El flujo de electrones a través de estos complejos da lugar a un conjunto de reacciones de oxidación-reducción muy exergónicas que impulsan el bombeo de protones desde el interior de las mitocondrias hacia el exterior, estableciendo un gradiente de protones que

se denomina *fuerza protón-motriz*. La fase final de la fosforilación oxidativa la lleva a cabo un ensamblaje que sintetiza ATP y que está impulsado por el flujo de vuelta de los protones hacia la matriz mitocondrial. La fosforilación oxidativa constituye una clara muestra de que, en los sistemas vivos, los gradientes de protones son una moneda interconvertible de energía libre.

Comenzamos esta sección con un estudio de cómo la cadena transportadora de electrones canaliza la energía que se libera cuando los electrones fluyen desde el NADH o el $FADH_2$ hasta el oxígeno para generar un gradiente de protones. Después veremos cómo la energía inherente al gradiente de protones se convierte en ATP. Por último, veremos cómo se regula el proceso de la fosforilación oxidativa y cómo los transportadores facilitan el movimiento de compuestos bioquímicos entre las mitocondrias y el citoplasma.

✓ Al final de esta sección, usted debería ser capaz de:

✓ 1 Describir los componentes clave de la cadena transportadora de electrones y cómo están dispuestos.

✓ 2 Explicar las ventajas de tener la cadena transportadora de electrones localizada en una membrana.

✓ 3 Describir cómo se convierte la fuerza protón-motriz en ATP.

✓ 4 Identificar qué es lo que determina, en última instancia, la velocidad de la respiración celular.

CAPÍTULO 20

La cadena transportadora de electrones

20.1 En eucariotas, la fosforilación oxidativa tiene lugar en las mitocondrias

20.2 La fosforilación oxidativa depende de la transferencia de electrones

20.3 **La cadena respiratoria consta de bombas de protones y una conexión física con el ciclo del ácido cítrico**



La cadena de una bicicleta convierte la energía de las piernas del ciclista en movimiento hacia adelante, tanto del ciclista como de la bicicleta. Análogamente, la cadena transportadora de electrones transfiere la energía de la oxidación de los combustibles carbonados a la energía de un gradiente de protones. [© Dattatreya/Alamy.]

Nuestro estudio de la *fosforilación oxidativa* comienza con las reacciones de oxidación-reducción que permiten el flujo de electrones desde el NADH y el $FADH_2$ al oxígeno. El flujo de electrones, que desde el punto de vista energético es muy favorable, tiene lugar gracias a cuatro grandes complejos proteicos que están integrados en la membrana mitocondrial interna y que, en conjunto, reciben el nombre de *cadena respiratoria* o *cadena transportadora de electrones*. Es importante destacar que tres de estos complejos utilizan la energía liberada por el transporte de electrones para bombear protones desde la matriz mitocondrial hacia al espacio situado entre las membranas mitocondriales interna y externa. Posteriormente, el gradiente de

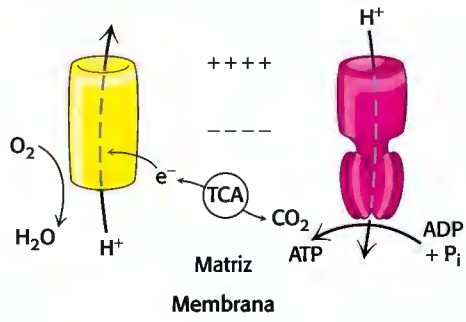


Figura 20.1 Esquema general de la fosforilación oxidativa. La oxidación y la síntesis de ATP están acopladas mediante flujos transmembrana de protones. La cadena respiratoria (estructura de color amarillo) transfiere electrones desde el NADH y el $NADH_2$ hasta el oxígeno y, al mismo tiempo, genera un gradiente de protones. La ATP sintasa (estructura de color rojo) convierte la energía del gradiente de protones en ATP.

La respiración es un proceso generador de ATP en el que un compuesto inorgánico (como el oxígeno molecular) actúa como aceptor final de electrones. El donador de electrones puede ser o bien un compuesto orgánico o bien un compuesto inorgánico.

protones se utiliza para impulsar la síntesis de ATP mediante un proceso que estudiaremos en el Capítulo 21 (**Figura 20.1**). En conjunto, la generación de electrones con un elevado potencial de transferencia en el ciclo del ácido cítrico, su flujo a través de la cadena respiratoria y la síntesis de ATP resultante reciben el nombre de *respiración* o *respiración celular*.

20.1 En eucariotas, la fosforilación oxidativa tiene lugar en las mitocondrias

Al igual que el ciclo del ácido cítrico, la cadena respiratoria y la síntesis de ATP tienen lugar en las mitocondrias. Mientras que el ciclo del ácido cítrico tiene lugar en la matriz mitocondrial, el flujo de electrones a través de la cadena respiratoria y el proceso de síntesis de ATP tienen lugar en la membrana mitocondrial interna, una ubicación que, como ya se verá, resulta decisiva para el proceso de la fosforilación oxidativa.

Las mitocondrias están rodeadas por una doble membrana

Los estudios de microscopía electrónica ponen de manifiesto que las mitocondrias poseen dos sistemas de membrana: una *membrana externa* y una *membrana interna* extensa y muy plegada. La membrana interna se encuentra plegada formando una serie de invaginaciones internas denominadas *crestas*. Por lo tanto, en las mitocondrias hay dos compartimentos: (1) el *espacio intermembrana* entre las membranas interna y externa y (2) la *matriz*, que está rodeada por la membrana interna (**Figura 20.2**). La matriz mitocondrial es el lugar donde se llevan a cabo la mayoría de las reacciones del

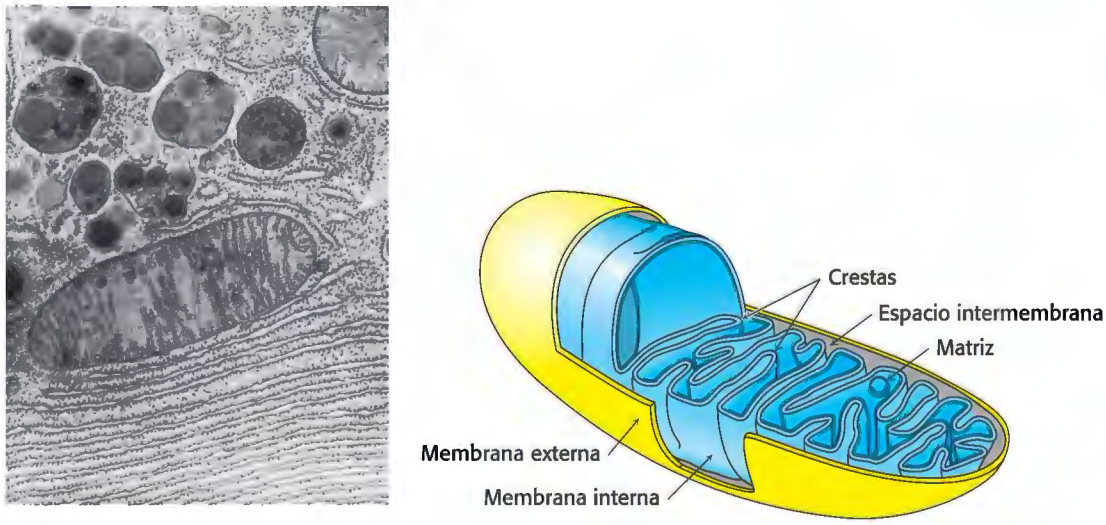


Figura 20.2 Micrografía electrónica (A) y esquema (B) de una mitocondria. [(A) ©Keith R. Porter/Science Source/Science Source. (B) Tomada de *Biology of the Cell* de Stephen L. Wolfe. © 1972 por Wadsworth Publishing Company, Inc., Belmont, California 94002. Adaptada con permiso del editor.]

ciclo del ácido cítrico y de la oxidación de los ácidos grasos. Por el contrario, la fosforilación oxidativa tiene lugar en la membrana mitocondrial interna. El incremento en el área superficial de la membrana mitocondrial interna debido a las crestas crea más lugares para la fosforilación oxidativa de los que habría en el caso de una membrana sencilla que no estuviese plegada. Se estima que los seres humanos contienen alrededor de 14.000 m^2 de membrana mitocondrial interna, lo que equivale aproximadamente a tres campos de fútbol americano.

La membrana externa es bastante permeable a la mayoría de las moléculas pequeñas e iones porque contiene muchas copias de la *porina mitocondrial*, una proteína formadora de poros de entre 30 y 35 kDa que también se denomina VDAC, acrónimo inglés de *c*anal *a*niónico *d*ependiente del *v*oltaje. El VDAC interviene en el flujo regulado a través de la membrana externa de moléculas que son esenciales para el funcionamiento de la respiración celular —normalmente especies aniónicas como el fosfato, componentes del ciclo del ácido ciclo y nucleótidos de adenina. Por el contrario, la membrana interna es intrínsecamente impermeable a casi todos los iones y moléculas polares. Una gran familia de transportadores traslada metabolitos como el ATP, el piruvato y el citrato a través de la membrana mitocondrial interna. Las dos caras de esta membrana se denominarán *cara de la matriz* y *cara citoplasmática* (esta última se llama así porque resulta totalmente accesible para la mayoría de las moléculas pequeñas del citoplasma). También se denominan lado N y lado P, respectivamente, porque el potencial de membrana es negativo por el lado de la matriz y positivo por el lado citoplasmático. En procariotas, las bombas de protones impulsadas por electrones y el complejo que sintetiza el ATP se localizan en la membrana plasmática.

Aspecto biológico

Las mitocondrias son el resultado de un proceso endosimbiótico

Las mitocondrias son orgánulos semiautónomos que viven en una relación endosimbiótica con la célula huésped. Estos orgánulos contienen su propio DNA, que codifica diversos RNA y proteínas. Sin embargo, las mitocondrias también contienen muchas proteínas codificadas por el DNA nuclear. Las células que contienen mitocondrias dependen de estos orgánulos para la fosforilación oxidativa y, a su vez, las mitocondrias dependen de la célula para su propia existencia. ¿Cómo llegó a producirse esta íntima relación simbiótica?

Se cree que se produjo un *evento endosimbiótico* mediante el cual un organismo de vida libre capaz de llevar a cabo la fosforilación oxidativa fue engullido por otra célula. La doble membrana, el DNA circular y las maquinarias de transcripción y traducción específicas de las mitocondrias apuntan en este sentido. Hoy en día, gracias a la rápida acumulación de datos de secuencias de genomas mitocondriales y bacterianos, es posible especular con cierta autoridad sobre el origen de la "mitocondria primigenia". El genoma bacteriano más parecido al de las mitocondrias es el de *Rickettsia prowazekii*, el agente causante del tifus transmitido por los piojos. Los datos de secuencias sugieren que todas las mitocondrias que existen en la actualidad proceden de un ancestro de *R. prowazekii* como resultado de un único evento endosimbiótico.

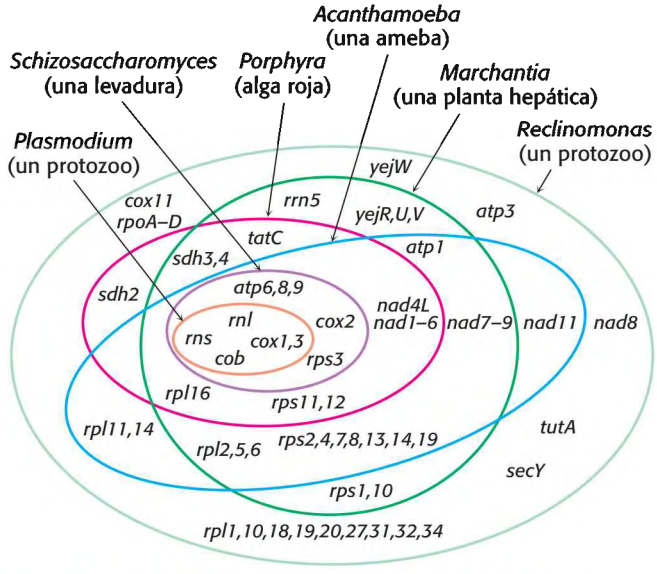


Figura 20.3 Solapamiento de las dotaciones génicas de las mitocondrias. Los genes contenidos en cada óvalo son los que están presentes en el organismo al que representa el óvalo. El genoma de *Reclinomonas* contiene todos los genes que codifican proteínas que se encuentran en todos los genomas mitocondriales secuenciados. [Tomado de M. W. Gray, G. Burger y B. F. Lang. *Science* 283: 1476–1481, 1999.]

La evidencia de que las mitocondrias modernas son el resultado de un único evento procede del estudio del genoma mitocondrial que más se parece al de las bacterias, el del protozoo *Reclinomonas americana*. Su genoma contiene 97 genes, de los cuales 62 codifican proteínas. Los genes que codifican estas proteínas incluyen a todos los genes que codifican proteínas descubiertos en todos los genomas mitocondriales secuenciados (Figura 20.3). Parece poco probable que los genomas mitocondriales resultantes de varios acontecimientos endosimbióticos pudieran haberse reducido, de manera independiente, al mismo conjunto de genes presente en *R. americana*.

Hay que tener en cuenta que en el mundo microbiano no es nada raro que las células grandes engullan de forma transitoria a las células procarióticas. En lo que respecta a las mitocondrias, esta relación transitoria se convirtió en permanente cuando la célula bacteriana perdió la mayor parte de su DNA, de modo que ya no era capaz de vivir de forma independiente, y la célula huésped empezó a depender del ATP generado por su inquilino. ■

✓ 1 Describir los componentes clave de la cadena transportadora de electrones y cómo están dispuestos.

20.2 La fosforilación oxidativa depende de la transferencia de electrones

En la Sección 8, se establece que la principal función catabólica del ciclo del ácido cítrico es la generación de NADH y $FADH_2$ por medio de la oxidación de acetil-CoA. En la fosforilación oxidativa, se utilizan los electrones del NADH y del $FADH_2$ para reducir el oxígeno molecular a agua. La reducción del oxígeno molecular por el NADH y el $FADH_2$ es un proceso muy exergónico y se lleva a cabo mediante una serie de reacciones de transferencia de electrones entre un conjunto de proteínas de membrana que se conoce con el nombre de *cadena transportadora de electrones*. Los electrones del NADH y del $FADH_2$ fluyen a través de los componentes de la cadena transportadora de electrones para acabar reduciendo al oxígeno.

El potencial redox es una medida del potencial de transferencia electrónica de un electrón

En la fosforilación oxidativa, el *potencial de transferencia de electrones* del NADH o del $FADH_2$ se convierte en el *potencial de transferencia de fosforilos* del ATP. Necesitamos expresiones cuantitativas para estas formas de energía libre. La medida del potencial de transferencia de fosforilos ya nos resulta familiar: se define como el $\Delta G°'$ para la hidrólisis del compuesto fosforilado. La expresión correspondiente para el potencial de transferencia de electrones es E'_0, *el potencial de reducción* (también denominada *potencial redox* o *potencial de oxidación-reducción*).

El potencial de reducción es un concepto electroquímico. Consideremos una sustancia que puede existir en forma oxidada, X, y en forma reducida X^-. Esta pareja es lo que se denomina un *par redox*. El potencial de reducción de este par se puede determinar midiendo la fuerza electrón-motriz generada por una *semipila problema* conectada a una *semipila estándar de referencia* (Figura 20.4). La semipila problema consta de un electrodo sumergido en una disolución 1 M de oxidante (X) y 1 M de reductor (X^-). La semipila estándar de referencia consta de un electrodo sumergido en una disolución 1 M de H^+ que se encuentra en equilibrio con H_2 gaseoso a 1 atmósfera (1 atm) de presión. Los electrodos se encuentran conectados a un voltímetro y un puente de agar-agar permite el flujo de iones entre las dos semipilas. Los electrones pueden desplazarse de una semipila a otra a través de un cable que conecta ambas células. Si la reacción se produce en la dirección

$$X^- + H^+ \longrightarrow X + \tfrac{1}{2}\, H_2$$

las reacciones que tienen en lugar en las semipilas (las denominadas *semirreacciones* o *parejas de reacciones*) deben ser

$$X^- \longrightarrow X + e^-$$
$$H^+ + e^- \longrightarrow \tfrac{1}{2}\, H_2$$

Por tanto, los electrones se desplazan desde la semipila problema a la semipila estándar de referencia y se considera que el electrodo de la semipila problema es negativo en relación con el electrodo de la semipila estándar. *El potencial de reducción del par X: X^2 es el potencial medido al comienzo del experimento* (cuando las concentraciones de X, X^- y H^+ son 1 M a 1 atm de H_2). *Por definición, el potencial de reducción del par H^+:H_2 es de 0 voltios.*

El significado del potencial de reducción resulta ahora evidente. Un potencial de reducción negativo significa que la forma oxidada de una sustancia tiene menos afinidad hacia los electrones que el H_2, como en el ejemplo anterior. Un potencial de reducción positivo significa que la forma oxidada de una sustancia tiene más afinidad hacia los electrones que el H_2. Estas comparaciones se refieren a las condiciones

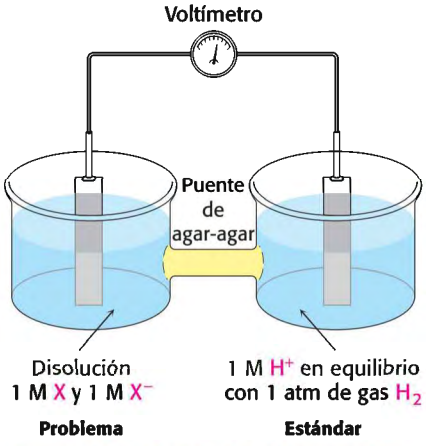


Figura 20.4 Medida del potencial redox. Aparato para medir el potencial de oxidación-reducción estándar de un par redox. Los electrones fluyen a través del cable que conecta ambas células mientras que los iones fluyen a través del puente de agar-agar.

Tabla 20.1 Potenciales de reducción estándar de algunas reacciones

Oxidante	Reductor	n	E_0' (V)
Succinato + CO_2	α-Cetoglutarato	2	−0,67
Acetato	Acetaldehído	2	−0,60
Ferredoxina (oxidada)	Ferredoxina (reducida)	1	−0,43
2 H^+	H_2	2	−0,42
NAD^+	NADH + H^+	2	−0,32
$NADP^+$	NADPH + H^+	2	−0,32
Lipoato (oxidado)	Lipoato (reducido)	2	−0,29
Glutatión (oxidado)	Glutatión (reducido)	2	−0,23
FAD	$FADH_2$	2	−0,22
Acetaldehído	Etanol	2	−0,20
Piruvato	Lactato	2	−0,19
2 H^+	H_2	2	0,00[1]
Citocromo *b* (+3)	Citocromo *b* (+2)	1	+0,07
Deshidroascorbato	Ascorbato	2	+0,08
Ubiquinona (oxidada)	Ubiquinona (reducida)	2	+0,10
Citocromo *c* (+3)	Citocromo *c* (+2)	1	+0,22
Fe (+3)	Fe (+2)	1	+0,77
½ O_2 + 2 H^+	H_2O	2	+0,82

Nota: E_0' es el potencial de oxidación-reducción estándar (a pH 7 y 25 °C, salvo que se indique lo contrario) y n es el número de electrones transferidos. E_0' hace referencia a la reacción parcial escrita como

$$\text{Oxidante} + e^- \longrightarrow \text{reductor}$$

[1] Potencial de oxidación-reducción estándar a pH = 0.

estándar —es decir, 1 M de oxidante, 1 M de reductor, 1 M de H^+ y 1 atm de H_2. Por tanto, *un agente fuertemente reductor (como el NADH) está obligado a ceder electrones y tiene un potencial de reducción negativo, mientras que un agente fuertemente oxidante (como el O_2) está dispuesto a aceptar electrones y tiene un potencial de reducción positivo*. Se conocen los potenciales de reducción de muchos pares redox importantes desde el punto de vista biológico (**Tabla 20.1**). La Tabla 20.1 es parecida a la que se suele presentar en los libros de texto de química y solo se diferencia por el hecho de que en las condiciones estándar adoptadas por los bioquímicos la concentración de iones hidrógeno es 10^{-7} M (pH 7) en vez de 1 M. Esta diferencia se indica mediante el apóstrofo en E_0'. Recordemos que en $\Delta G^{\circ\prime}$, el apóstrofo indica el incremento de energía libre estándar a pH 7.

En una reacción de oxidación-reducción, un oxidante (agente oxidante) es el aceptor de electrones. En una reacción de oxidación-reducción, un reductor (agente reductor) es el donador de electrones.

El incremento de energía libre estándar $\Delta G^{\circ\prime}$ está relacionado con el incremento del potencial de reducción, $\Delta E_0'$, mediante la expresión

$$\Delta G^{\circ\prime} = -nF\Delta E_0'$$

donde n es el número de electrones transferidos, F es una constante de proporcionalidad denominada *constante de Faraday* (96,48 kJ mol^{-1} V^{-1}, ó 23,06 kcal mol^{-1} V^{-1}), $\Delta E_0'$ se expresa en voltios e $\Delta G^{\circ\prime}$ en kilojulios por mol o en kilocalorías por mol.

El flujo de electrones a través de la cadena transportadora de electrones crea un gradiente de protones

La fuerza impulsora de la fosforilación oxidativa es el potencial de transferencia de electrones del NADH o del $FADH_2$ en comparación con el del O_2. Recordemos que el NADH y el $FADH_2$ transportan electrones con un elevado potencial de transferencia generados durante el ciclo del ácido cítrico y en otros puntos del metabolismo. ¿Cuánta energía se libera durante la reducción del O_2 por el NADH? Calculemos el $\Delta G^{\circ\prime}$ para esta reacción. La semirreacciones correspondientes son

$$\tfrac{1}{2}\,O_2 + 2\,H^+ + 2\,e^- \longrightarrow H_2O \qquad E_0' = +0{,}82\ \text{V} \qquad \text{(A)}$$

$$NAD^+ + H^+ + 2e^- \longrightarrow NADH \qquad E_0' = -0{,}32\ \text{V} \qquad \text{(B)}$$

Si restamos la reacción B de la reacción A, se obtiene

$$\tfrac{1}{2}\,O_2 + NADH + H^+ \longrightarrow H_2O + NAD^+ \qquad \Delta E'_0 = 1{,}14\ V \qquad (C)$$

Hay que tener en cuenta que cuando el NADH cede electrones cambia el signo del E'_0 para la semireacción NAD^+/NADH. La energía libre estándar para esta reacción viene dada por la siguiente ecuación

$$\Delta G^{\circ\prime} = -nF\Delta E'_0$$

Introduciendo los valores correspondientes, se tiene:

$$\begin{aligned}\Delta G^{\circ\prime} &= -2 \times 96{,}48\ kJ\ mol^{-1}\ V^{-1} \times 0{,}82\ V \\ &\quad - (-2 \times 96{,}48\ kJ\ mol^{-1}\ V^{-1} \times -0{,}32\ V) \\ &= -158{,}2\ kJ\ mol^{-1} - 61{,}9\ kJ\ mol^{-1} \\ &= -220{,}1\ kJ\ mol^{-1}\ (-52{,}6\ kcal\ mol^{-1})\end{aligned}$$

Esta liberación de energía libre es considerable. Recordemos que el $\Delta G^{\circ\prime}$ para la hidrólisis del ATP es de $-30{,}5\ kJ\ mol^{-1}$ ($-7{,}3\ kcal\ mol^{-1}$). La energía liberada por la reducción de cada transportador de electrones genera un gradiente de protones que, posteriormente, es utilizado para la síntesis de ATP y para el transporte de metabolitos a través de la membrana mitocondrial. De hecho, cada protón transportado desde la matriz al lado citoplasmático representa una energía libre de $21{,}8\ kJ\ mol^{-1}$ ($5{,}2\ kcal\ mol^{-1}$).

La cadena transportadora de electrones es un conjunto de reacciones de oxidación-reducción acopladas

El flujo de electrones desde el NADH al O_2 se lleva a cabo mediante un conjunto de transportadores de electrones que actúan como intermediarios —una cadena de transportadores de electrones— y que se encuentran acoplados para formar parte de una secuencia de reacciones redox. Como veremos, el NADH se oxida transfiriendo electrones al *mononucleótido de flavina* (FMN), un transportador de electrones parecido al dinucléotido de flavina y adenina (FAD) pero que carece del componente nucleotídico (**Figura 20.5**). A continuación, el FMN reducido es oxidado por el siguiente transportador de electrones de la cadena y el proceso se va repitiendo a medida que los electrones fluyen a través de la cadena transportadora de electrones hasta que por fin reducen al O_2. Los miembros de la cadena transportadora de electrones están dispuestos de manera que los electrones siempre se transfieren a componentes con potenciales de reducción más positivos (con más afinidad hacia los electrones).

Antes de considerar cómo el NADH y el $FADH_2$ reducen al O_2, merece la pena destacar varias características de la cadena transportadora de electrones que afectan

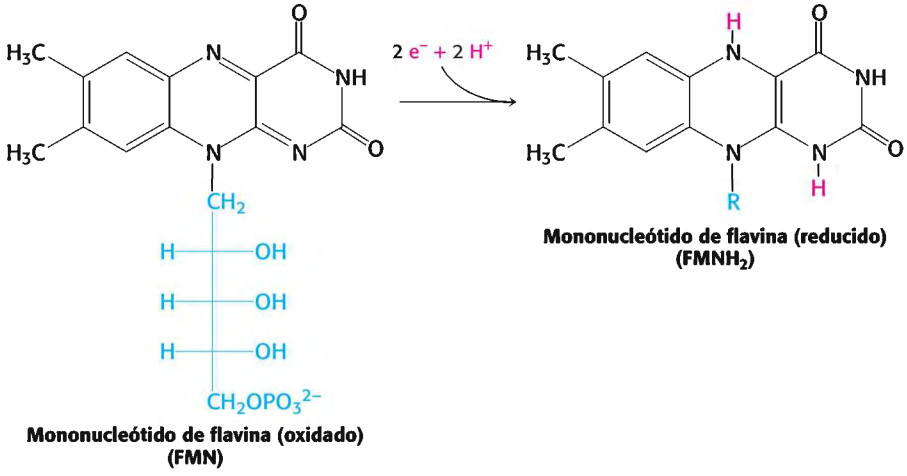


Figura 20.5 Estados de oxidación del mononucleótido de flavina. El componente transportador de electrones es el mismo, tanto en el mononucleótido de flavina como en el dinucleótido de flavina (FAD).

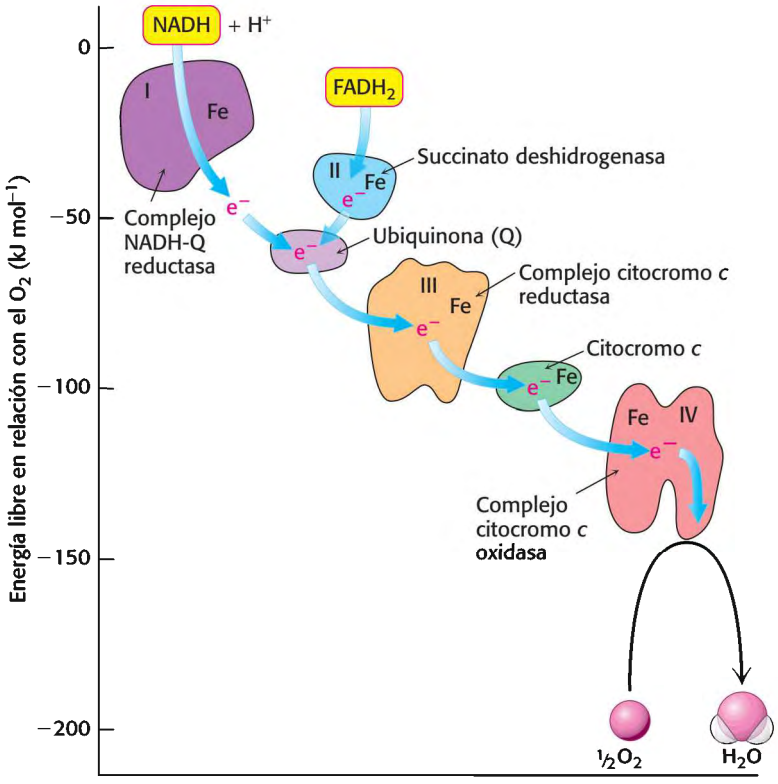


Figura 20.6 Componentes de la cadena transportadora de electrones. Los electrones fluyen desde el NADH al O_2. a favor de un gradiente de energía. El flujo está catalizado por cuatro complejos proteicos. El hierro es un componente de todos los complejos, así como del citocromo *c*. [Tomado de D. Sadava y col., *Life*, 8.ª ed. (Sinauer, 2008), p. 150.]

al rendimiento energético de los electrones con un elevado potencial de transferencia y que propician el flujo eficaz de los electrones (Figura 20.6). En primer lugar, los electrones del $FADH_2$ se incorporan a la cadena en un punto situado "corriente abajo" del lugar por donde se incorporan los electrones del NADH porque los electrones del $FADH_2$ tienen un potencial de reducción menor (ver la Tabla 20.1). Como resultado, los electrones procedentes del $FADH_2$ bombean menos protones y, por tanto, producen menos moléculas de ATP. En segundo lugar, hay que señalar que el hierro es un destacado transportador de electrones, que aparece en varios sitios. En la cadena transportadora de electrones, el hierro se presenta de dos formas básicas: asociado al azufre en forma de complejos ferrosulfurados localizados en las *proteínas ferrosulfuradas* (también llamadas *proteínas con hierro no hemínico*, Figura 20.7) o formando parte del grupo prostético hemo, que está integrado en una clase especial de proteínas denominadas *citocromos* (Figura 20.8).

El hecho de que el hierro sea un transportador de electrones en varios lugares de la cadena transportadora de electrones plantea una cuestión intrigante. Si el flujo de electrones del NADH al O_2 es exergónico y el hierro tiene un potencial de reducción de +0,77 V (ver la Tabla 20.1), ¿cómo puede el hierro intervenir en varios lugares de la cadena transportadora de electrones si cada paso es exergónico? En otras palabras, ¿cómo puede el hierro tener varios potenciales de reducción distintos?

La respuesta al enigma es que el potencial de oxidación-reducción de los átomos de hierro se puede modificar por el entorno. En relación con la cadena transporta-

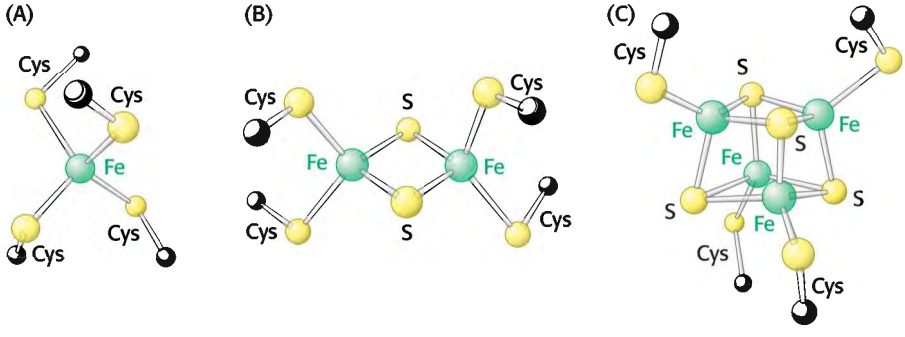


Figura 20.7 Complejos ferrosulfurados. (A) Un único ion hierro unido a cuatro residuos de cisteína. (B) Complejo 2Fe-2S en el que los iones hierro están conectados por medio de iones sulfuro. (C) Complejo 4Fe-4S. Cada uno de estos complejos es capaz de participar en reacciones de oxidación-reducción.

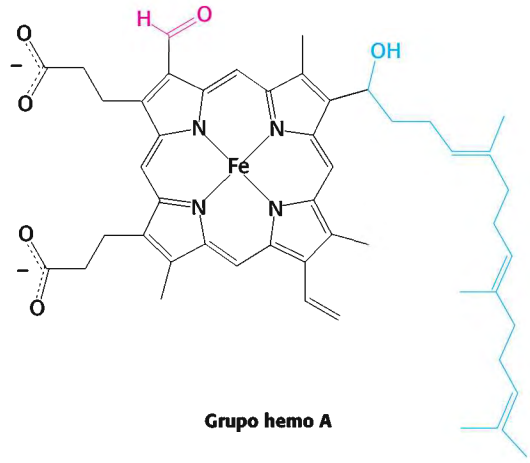


Figura 20.8 Componente hemo de la citocromo *c* oxidasa.

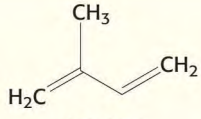
dora de electrones, el átomo de hierro no se encuentra libre sino que está integrado en distintas proteínas, lo que permite al hierro tener varios potenciales de reducción e intervenir en distintos lugares de la cadena. Tanto en las proteínas ferrosulfuradas como en los citocromos, el hierro alterna entre su estado férrico oxidado (Fe^{3+}) y su estado ferroso reducido (Fe^{2+}).

$$Fe^{2+} \rightleftharpoons Fe^{3+} + e^-$$

El cobre metálico también aparece formando parte del último componente de la cadena transportadora de electrones, donde alterna entre sus estados oxidado y reducido.

$$Cu^{+} \rightleftharpoons Cu^{2+} + e^-$$

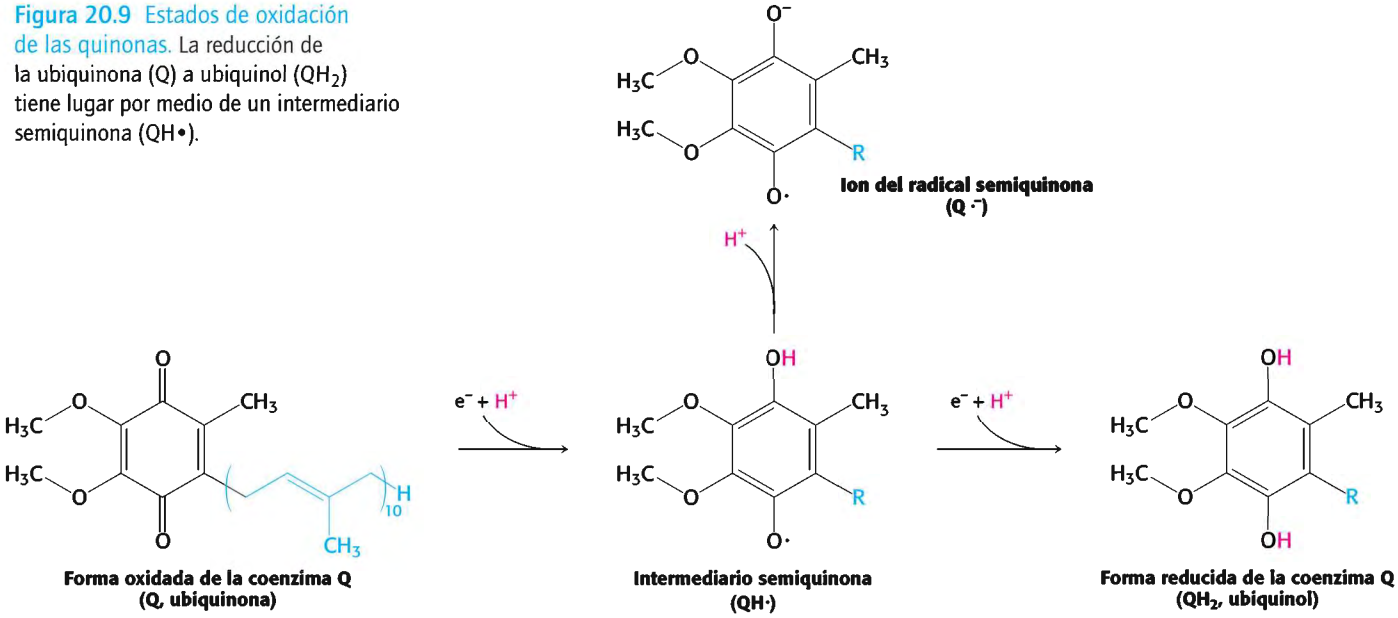
Otra característica clave de la cadena transportadora de electrones es la importancia del papel que desempeña la coenzima Q (Q) como transportador de electrones. La *coenzima Q*, también conocida como *ubiquinona* porque es una *quinona ubicua* en los sistemas biológicos, es un derivado de la *p*-benzoquinona con una larga cadena isoprenoide que hace que la molécula sea hidrofóbica y le permite difundir rápidamente en el seno de la membrana mitocondrial interna, donde se encarga de transportar protones y electrones de un lado a otro.



Isopreno

La coenzima Q está formada por varias unidades de isopreno, de cinco átomos de carbono. El número exacto depende de la especie donde se encuentre. En mamíferos, la forma más abundante contiene 10 unidades de isopreno (coenzima Q_{10}). Para simplificar, se omitirá el subíndice de la abreviatura porque todas las variedades funcionan de la misma forma. Las quinonas pueden encontrarse en tres estados de oxidación distintos (**Figura 20.9**). En el estado totalmente oxidado (Q), la coenzima

Figura 20.9 Estados de oxidación de las quinonas. La reducción de la ubiquinona (Q) a ubiquinol (QH_2) tiene lugar por medio de un intermediario semiquinona (QH•).



Q tiene dos grupos ceto. La adición de un electrón genera un radical semiquinona aniónico ($Q^{\bullet -}$), mientras que la adición de un electrón y un protón genera la forma semiquinona ($QH^{\bullet}$). La adición de un segundo electrón y un segundo protón genera el ubiquinol (QH_2), la forma totalmente reducida de la coenzima Q. Por tanto, *en el caso de las quinonas, las reacciones de transferencia de electrones están acopladas a la unión y liberación de protones*, una propiedad que es fundamental para el transporte de protones a través de la membrana. Se cree que en la membrana mitocondrial interna hay un reservorio de Q y de QH_2 —el *reservorio Q*. Como la ubiquinona es soluble en el interior hidrofóbico de la membrana, los componentes del reservorio Q pueden trasladarse fácilmente de un lado a otro de la membrana moviéndose entre los otros transportadores de electrones, que son más grandes.

20.3 La cadena respiratoria consta de bombas de protones y una conexión física con el ciclo del ácido cítrico

✓ 2 Explicar las ventajas de tener la cadena transportadora de electrones localizada en una membrana.

¿Cómo se disponen los diversos transportadores de electrones para llevar a cabo una reacción exergónica que en última instancia dé lugar a la generación de un gradiente de protones? Los electrones se transfieren del NADH al O_2 a través de una cadena de tres grandes complejos proteicos denominados NADH-Q oxidorreductasa, Q-citocromo *c* oxidorreductasa y citocromo *c* oxidasa (**Figura 20.10** y **Tabla 20.2**). *El flujo de electrones entre estos complejos transmembrana da lugar al transporte de protones a través de la membrana mitocondrial interna.* Parece ser que estos complejos se encuentran asociados formando un complejo supramolecular denominado *respirosoma*. Al igual que en el ciclo del ácido cítrico, este tipo de complejos supramoleculares facilitan la rápida transferencia del sustrato y evitan la liberación de intermediarios de reacción. Un cuarto complejo proteico, denominado succinato-Q reductasa, contiene la succinato deshidrogenasa que genera $FADH_2$ en el ciclo del ácido cítrico (p. 335). Los electrones procedentes de este $FADH_2$ se incorporan a la cadena transportadora de electrones a través de la Q-citocromo *c* oxidorreductasa. La succinato-Q reductasa, a diferencia de los demás complejos, no bombea protones.

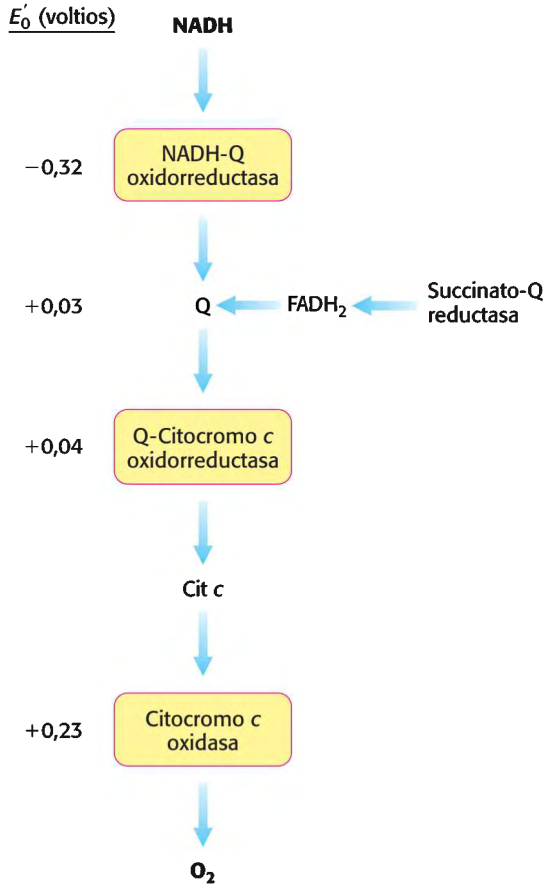


Figura 20.10 Los componentes de la cadena transportadora de electrones se organizan formando complejos. *Observe* que la afinidad hacia los electrones de los componentes aumenta a medida que los electrones avanzan por la cadena. Los complejos mostrados en un recuadro amarillo son bombas de protones. Cit *c* es la abreviatura de citocromo *c*.

Los electrones de alto potencial del NADH se incorporan a la cadena respiratoria a través de la NADH-Q oxidorreductasa

Los electrones del NADH se incorporan a la cadena a través de la *NADH-Q oxidorreductasa* (también denominada *Complejo I* o *NADH deshidrogenasa*), una enzima con un tamaño enorme (>900 kDa) formada por aproximadamente 46 cadenas polipeptídicas y dos tipos de grupos prostéticos: FMN y complejos ferrosulfurados. Esta bomba de protones tiene forma de L, con un brazo horizontal hidrofóbico integrado en la membrana y un brazo vertical hidrofílico que se proyecta hacia la matriz. Los electrones se transfieren desde el NADH al FMN y, posteriormente, a través de un conjunto de siete complejos ferrosulfurados, a Q. Hay que señalar que todas las reacciones redox tienen lugar en la región de la NADH-Q oxidorreductasa que no está integrada en la membrana. Aunque la estequiometría precisa de la reacción catalizada por esta enzima no se ha esclarecido por completo, parece ser:

$$NADH + Q + 5\,H^+_{matriz} \longrightarrow NAD^+ + QH_2 + 4\,H^+_{espacio\ intermembrana}$$

Recientes estudios han sugerido cómo bombea protones el Complejo I. La parte del complejo integrada en la membrana posee tres canales de protones que están formados, en parte, por tres hélices verticales que, en un principio, están expuestas a la matriz (**Figura 20.11**A). Un glutamato cargado negativamente de cada hélice atrae protones de la matriz. En esta conformación, los protones no pueden atravesar el canal. Las hélices verticales están conectadas por medio de una larga hélice horizontal que actúa como un émbolo.

Tabla 20.2 Componentes de la cadena transportadora de electrones mitocondrial

Complejo enzimático	Masa (kDa)	Sub-unidades	Grupo prostético	Oxidante o reductor		
				Lado de la matriz	Interior de la membrana	Lado citoplasmático
NADH-Q oxidorreductasa	>900	46	FMN Fe-S	NADH	Q	
Succinato-Q reductasa	140	4	FAD Fe-S	Succinato	Q	
Q-citocromo *c* oxidorreductasa	250	11	Hemo b_H Hemo b_L Hemo c_1 Fe-S		Q	Citocromo *c*
Citocromo *c* oxidasa	160	13	Hemo *a* Hemo a_3 Cu_A y Cu_B			Citocromo *c*

Fuentes: J. W. DePierre y L. Ernster, *Annu. Rev. Biochem.* 46: 215, 1977; Y. Hatefi, *Annu. Rev. Biochem.* 54: 1015, 1985; y J. E. Walker, *Q. Rev. Biophys.* 25: 253, 1992.

Cuando los electrones fluyen desde el NADH a Q en el componente hidrofílico del Complejo I, se bombea un protón desde la matriz hacia el lado citoplasmático de la membrana mitocondrial interna por la región donde confluyen los componentes hidrofílico e hidrofóbico. El flujo de electrones desde el NADH a Q también provoca un cambio conformacional que impulsa a la larga hélice horizontal como si fuese un pistón, produciendo cambios en la estructura de las hélices verticales conectadas a ella que exponen los protones unidos a la cara citoplasmática de la membrana mitocondrial interna (**Figura 20.11**B). Así, *el flujo de dos electrones desde el NADH a la coenzima Q a través de la NADH-Q oxidorreductasa da lugar al bombeo de cuatro iones hidrógeno hacia el exterior de la matriz de la mitocondria*. Al aceptar dos electrones, Q capta dos protones de la matriz y se reduce a QH_2. La QH_2 abandona la enzima y se incorpora al reservorio Q del interior hidrofóbico de la membrana.

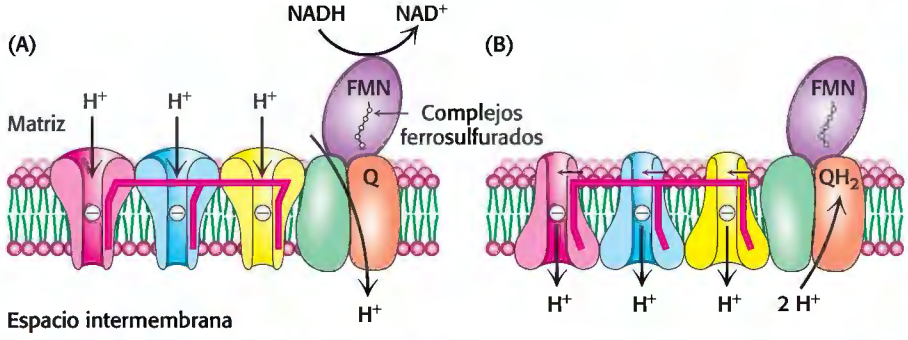


Figura 20.11 Reacciones de transferencia de electrones y de protones acopladas que tienen lugar en la NADH-Q oxidorreductasa. (A). En el Complejo I, los electrones fluyen desde el NADH a través del FMN y de una serie de complejos ferrosulfurados hasta la ubiquinona (Q), dando lugar al bombeo de un protón y a la captura de dos protones de la matriz mitocondrial. (B) El flujo de electrones impulsa el movimiento de una larga hélice horizontal. Este movimiento da lugar al bombeo de otros tres protones por medio de las hélices verticales conectadas a una hélice horizontal. [Tomado de T. Ohnishi, *Nature* 465: 428-429, 2010.]

El ubiquinol es el punto de entrada de los electrones procedentes del $FADH_2$ de las flavoproteínas

Recordemos que el $FADH_2$ se forma en el ciclo del ácido cítrico durante la oxidación del succinato a fumarato por la succinato deshidrogenasa (p. 335). Esta enzima forma parte del *complejo succinato-Q reductasa* (*Complejo II*), una proteína integral de la membrana mitocondrial interna. En este complejo, los transportadores de electrones son el FAD, proteínas ferrosulfuradas y Q. El $FADH_2$ no se separa del complejo. En vez de ello, trans-

fiere sus electrones a los complejos Fe-S y, posteriormente, a Q para que se incorporen a la cadena transportadora de electrones. A diferencia de la NADH-Q oxidorreductasa, el complejo succinato-Q reductasa no transporta protones. En consecuencia, a partir de la oxidación del $FADH_2$ se forma menos ATP que a partir del NADH.

Los electrones fluyen desde el ubiquinol al citocromo *c* a través de la Q-citocromo *c* oxidorreductasa

La segunda de las tres bombas de protones de la cadena respiratoria es la *Q-citocromo c oxidorreductasa* (también conocida como *Complejo III* o *citocromo c reductasa*). La función de la Q-citocromo *c* oxidorreductasa consiste en catalizar la transferencia de electrones desde el QH_2 producido por la NADH-Q oxidorreductasa y por el complejo succinato-Q reductasa hasta el *citocromo c* oxidado (Cit *c*), una proteína soluble en agua, al tiempo que bombea protones hacia el exterior de la matriz mitocondrial. El flujo de un par de electrones a través de este complejo da lugar al transporte neto efectivo de 2 H^+ al lado citoplasmático, un rendimiento que es la mitad del obtenido con la NADH-Q oxidorreductasa porque la fuerza impulsora termodinámica es menor.

$$QH_2 + 2\ \text{Cit}\ c_{ox} + 2\ H^+_{\text{matriz}} \longrightarrow Q + 2\ \text{Cit}\ c_{red} + 4\ H^+_{\text{espacio intermembrana}}$$

La Q-citocromo *c* oxidorreductasa, un complejo proteico formado por 22 subunidades, contiene un total de tres grupos hemo que están ubicados en dos subunidades de citocromo: dos grupos hemo, los denominados b_L (de baja afinidad) y b_H (de alta afinidad) se encuentran en el citocromo *b* y un tercer grupo hemo en el citocromo c_1. Debido a la presencia de estos grupos, a esta enzima también se la conoce como citocromo bc_1. Además de los grupos hemo, la enzima también contiene una proteína ferrosulfurada con un complejo 2Fe-2S. Este complejo, denominado *centro de Rieske*, es atípico porque uno de los átomos de hierro está coordinado con dos residuos de histidina en vez de con dos residuos de cisteína.

El ciclo Q canaliza los electrones desde un transportador de dos electrones hacia un transportador de un electrón y bombea protones

La QH_2 cede dos electrones a la Q-citocromo *c* oxidorreductasa, pero el aceptor de electrones de este complejo, el citocromo *c*, solo puede aceptar un electrón. ¿Cómo se lleva a cabo la transición entre un transportador de dos electrones (el ubiquinol) y un transportador de un electrón (el citocromo *c*)? El mecanismo que acopla la transferencia de electrones desde Q al citocromo *c* con el transporte de protones a través de la membrana se denomina *ciclo Q* (Figura 20.12). Dos moléculas de QH_2 se unen al complejo de forma consecutiva y cada una cede dos electrones y dos protones. Estos protones se liberan por el lado citoplasmático de la membrana. La QH_2 se une al primer lugar de unión para Q (Q_o) y los dos electrones de desplazan a través del complejo hacia destinos distintos. Un electrón fluye primero hacia el centro de Rieske 2Fe-2S, después al citocromo c_1 y, por último, a una molécula de citocromo *c* oxidado, convirtiéndolo en su forma reducida. La molécula de citocromo *c* reducido tiene libertad para separarse de la enzima y moverse hacia el último complejo de la cadena respiratoria.

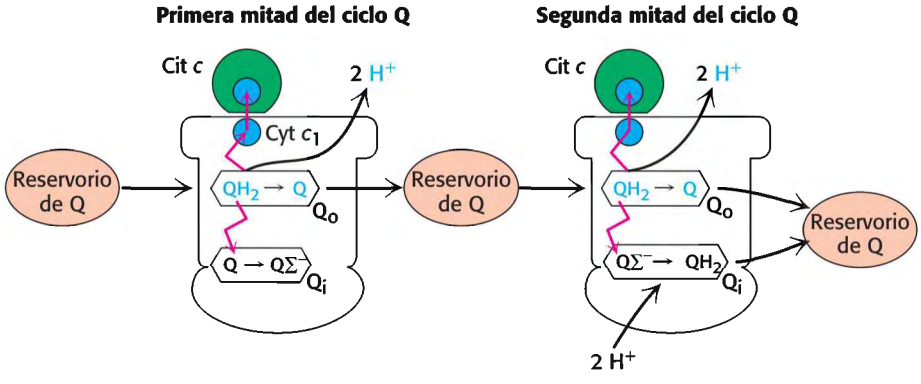


Figura 20.12 El ciclo Q. En la primera mitad del ciclo, se transfieren dos electrones de una QH_2, uno al citocromo *c* y el otro a una Q unida a un segundo lugar de unión para formar el radical aniónico de la semiquinona $Q^{\bullet -}$. La Q recién formada se disocia y pasa a formar parte del reservorio Q. En la segunda mitad del ciclo, una segunda QH_2 también cede sus electrones, uno a una segunda molécula de citocromo *c* y el otro se utiliza para reducir $Q^{\bullet -}$ a QH_2. Esta segunda transferencia de electrones da lugar a la extracción de dos protones de la matriz. La trayectoria que sigue la transferencia de electrones se muestra en rojo.

Es frecuente que la coenzima Q se comercialice como un suplemento dietético que se suele denominar CoQ10. Sus partidarios afirman que aumenta la energía, refuerza el sistema inmunitario y actúa como antioxidante. Obviamente, las personas que no son capaces de sintetizar CoQ y, por consiguiente, padecen trastornos neuromusculares provocados por las mitocondrias defectuosas se benefician del aporte suplementario de CoQ. Además, se están empezando a reunir *algunas* evidencias que indican que el aporte suplementario de CoQ *podría* beneficiar a las personas que padecen un estrés fisiológico agudo –por ejemplo, a causa de cardiopatías o cáncer. Sin embargo, ningún estudio ha demostrado que el aporte suplementario de CoQ ayude en nada a una persona bien nutrida. De hecho, debido a sus efectos antioxidantes, el aporte suplementario de CoQ podría, de hecho, anular los efectos beneficiosos del ejercicio (ver el problema 16).

El segundo electrón atraviesa los dos grupos hemo del citocromo *b* hasta una ubiquinona oxidada situada en el segundo lugar de unión a Q (Q_i). La Q del segundo lugar de unión se reduce a un radical semiquinona aniónico ($Q^{\bullet -}$) por el electrón procedente de la primera QH_2. La Q, que ahora está completamente oxidada, abandona el primer lugar de unión a Q y está libre para reincorporarse al reservorio Q.

Una segunda molécula de QH_2 se une a la Q-citocromo *c* oxidorreductasa y reacciona del mismo modo que la primera. Uno de los electrones se transfiere al citocromo *c*. El segundo electrón atraviesa los dos grupos hemo del citocromo *b* hasta la ubiquinona parcialmente reducida unida al segundo lugar de unión. Al recibir el electrón procedente de la segunda molécula de QH_2, este radical quinona aniónico capta dos protones del lado de la matriz para formar QH_2. *La extracción de estos dos protones de la matriz contribuye a la formación del gradiente de protones.* Esta compleja serie de reacciones se puede resumir del siguiente modo: se liberan cuatro protones en el espacio intermembrana y se extraen dos protones de la matriz mitocondrial.

$$2\,QH_2 + Q + 2\,\text{Cit}\,c_{ox} + 2\,H^+_{\text{matriz}} \longrightarrow 2\,Q + QH_2 + 2\,\text{Cit}\,c_{red} + 4\,H^+_{\text{espacio intermembrana}}$$

En un ciclo Q, se oxidan dos moléculas de QH_2 para formar dos moléculas de Q y, posteriormente, una molécula de Q se reduce a QH_2. El problema de cómo canalizar de forma eficaz los electrones desde un transportador de dos electrones (QH_2) a un transportador de un electrón (citocromo *c*) se resuelve mediante el ciclo Q. Básicamente, el componente citocromo *b* de la reductasa es un dispositivo de reciclaje que permite que los dos electrones de la QH_2 se utilicen de forma eficiente.

? PREGUNTA RÁPIDA 1 ¿Por qué los electrones transportados por el $FADH_2$ no son tan ricos en energía como los transportados por el NADH? ¿Cuál es la consecuencia de esta diferencia?

La citocromo *c* oxidasa cataliza la reducción del oxígeno molecular a agua

El último de los tres ensamblajes que bombean protones en la cadena respiratoria es la *citocromo c oxidasa* (*Complejo IV*). La citocromo *c* oxidasa cataliza la transferencia de electrones desde la forma reducida del citocromo *c* al aceptor final, el oxígeno molecular.

$$4\,\text{Cit}\,c_{red} + 8\,H^+_{\text{matriz}} + O_2 \longrightarrow 4\,\text{Cit}\,c_{ox} + 2\,H_2O + 4\,H^+_{\text{espacio intermembrana}}$$

La necesidad de oxígeno para esta reacción es lo que hace "aerobios" a los organismos aerobios. La razón primordial por la que los seres humanos necesitan respirar es obtener oxígeno para esta reacción. Se envían cuatro electrones hacia el O_2 para reducirlo por completo a dos moléculas de H_2O y, al mismo tiempo, bombear protones desde la matriz hacia el lado citoplasmático de la membrana mitocondrial interna. Esta reacción es bastante favorable desde el punto de vista termodinámico. A partir de los potenciales de reducción de la Tabla 20.1, se ha calculado que el incremento de energía libre estándar para esta reacción es $\Delta G^{\circ\prime} = -231{,}8$ kJ mol^{-1} ($-55{,}4$ kcal mol^{-1}). La mayor cantidad posible de esta energía se tiene que retener en forma de un gradiente de protones para su posterior utilización en la síntesis de ATP.

La citocromo *c* oxidasa, que consta de 13 subunidades, contiene dos grupos hemo (el *hemo a* y el *hemo* a_3) y tres iones cobre dispuestos en dos centros de cobre (denominados Cu_A y Cu_B) de modo que dos de los iones cobre se encuentran en Cu_A. Cuatro moléculas de citocromo *c* reducido generadas por la Q-citocromo *c* oxidorreductasa se unen de forma consecutiva a la citocromo *c* oxidasa y transfieren un electrón cada una para reducir una molécula de O_2 a H_2O (**Figura 20.13**).

1. Los electrones de dos moléculas de citocromo *c* reducido fluyen gracias a las reacciones de oxidación-reducción, uno se detiene en Cu_B y el otro en el grupo hemo a_3. Cuando ambos centros se encuentran en el estado reducido pueden unirse, de forma conjunta, a una molécula de oxígeno.

2. Al unirse, el oxígeno molecular extrae un electrón de cada uno de los iones que se encuentran en el centro activo, muy próximos a él, y forma un puente peróxido (O_2^{2-}) entre ellos.

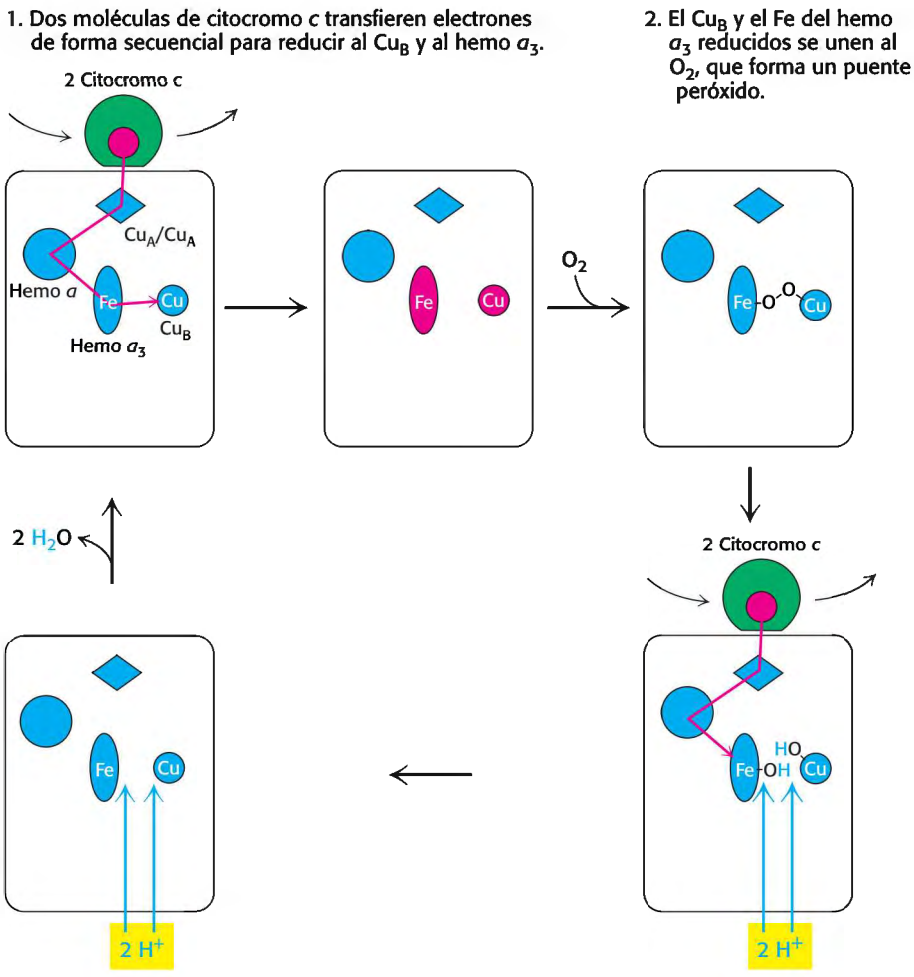


Figura 20.13 Mecanismo de la citocromo *c* oxidasa. El ciclo empieza y termina con todos los grupos prostéticos en su forma oxidada (mostrada en color azul). Las formas reducidas se muestran en rojo. Cuatro moléculas de citocromo *c* ceden cuatro electrones que, al permitir la unión y escisión de una molécula de O_2, también hacen posible la captura de cuatro H^+ de la matriz para formar dos moléculas de H_2O, que son liberadas por la enzima para volver a su estado inicial.

3. Se unen otras dos moléculas de citocromo *c* y liberan electrones que se desplazan hasta el centro activo. La adición de un electrón, así como de un H^+, a cada átomo de oxígeno reduce los dos grupos ion-oxígeno a $Cu_B^{2+}-OH$ y $Fe^{3+}-OH$.

4. La reacción con otros dos iones H^+ permite la liberación de dos moléculas de H_2O y devuelve la enzima a su estado inicial, completamente oxidada.

$$4\ \text{Cit}\ c_{red} + 4\ H^+_{matriz} + O_2 \longrightarrow 4\ \text{Cit}\ c_{ox} + 2\ H_2O$$

Los cuatro protones de esta reacción proceden exclusivamente de la matriz. Así, el consumo de estos cuatro protones contribuye directamente al gradiente de protones. El consumo de estos cuatro protones requiere 87,2 kJ mol^{-1} (19,8 kcal mol^{-1}), una cantidad sustancialmente menor que la energía libre liberada por la reducción del oxígeno a agua. ¿Cuál es el destino de esta energía perdida? Curiosamente, *la citocromo c oxidasa utiliza esta energía para bombear, en cada ciclo de reacciones, otros cuatro protones desde la matriz hacia el lado citoplasmático de la membrana, de manera que se extraen un total de ocho protones de la matriz* (**Figura 20.14**). Todavía se están investigando los detalles sobre cómo se transportan estos protones a través de la proteína. Por tanto, el proceso global catalizado por la citocromo *c* oxidasa es

$$4\ \text{Cit}\ c_{red} + 8\ H^+_{matriz} + O_2 \longrightarrow 4\ \text{Cit}\ c_{ox} + 2\ H_2O + 4\ H^+_{\text{espacio intermembrana}}$$

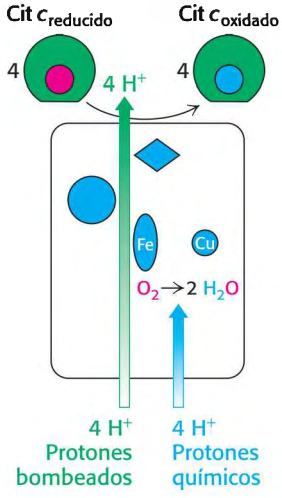


Figura 20.14 Transporte de protones por parte de la citocromo *c* oxidasa. Se extraen cuatro protones del lado de la matriz para reducir una molécula de O_2 a dos moléculas de H_2O. Estos protones se denominan "protones químicos" porque participan en una reacción con el O_2. claramente definida. Durante el transcurso de la reacción, se transportan otros cuatro "protones bombeados" hacia el exterior de la matriz, que se liberan en el lado citoplasmático. Los protones bombeados duplican la eficacia del almacenamiento de energía libre, en forma de un gradiente de protones, de este último paso de la cadena transportadora de electrones.

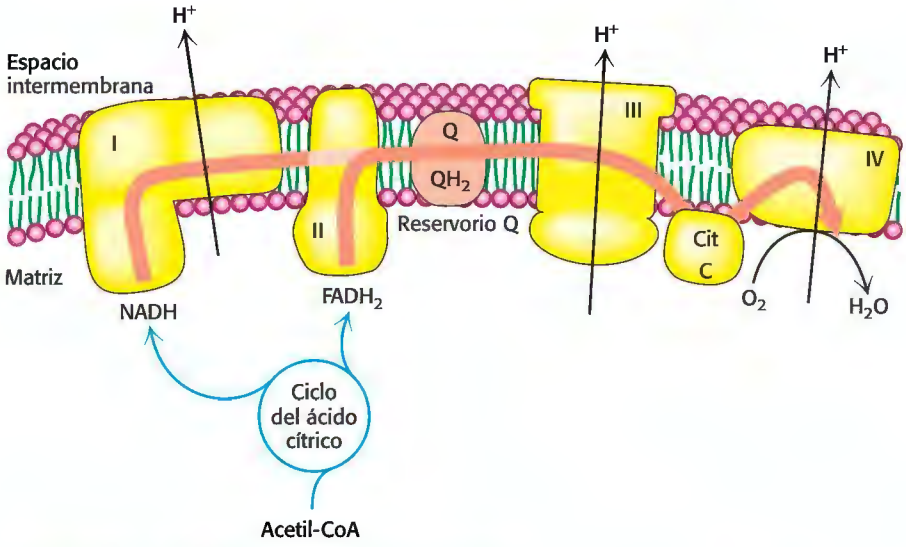


Figura 20.15 La cadena transportadora de electrones. El ciclo del ácido cítrico genera electrones de alta energía en forma de NADH y $FADH_2$. Estos electrones fluyen a través de la cadena respiratoria, que impulsa el bombeo de protones y da lugar a la reducción del O_2.

? PREGUNTA RÁPIDA 2 El amital es un barbitúrico sedante que inhibe el flujo de electrones a través del Complejo I. Si se añade amital a mitocondrias que están respirando activamente, ¿qué efectos produciría en el estado relativo redox de los distintos componentes de la cadena transportadora de electrones? ¿Y en los del ciclo del ácido cítrico?

La Figura 20.15 resume el flujo de electrones desde el NADH y el $FADH_2$ a través de la cadena respiratoria. Esta serie de reacciones exergónicas está acoplada al bombeo de protones desde la matriz. Como veremos dentro de poco, la energía inherente al gradiente de protones será utilizada para sintetizar ATP.

Aspecto biológico

La zona muerta: demasiada respiración

Algunos organismos marinos requieren una velocidad tan grande de respiración celular y, por ello, tanto oxígeno molecular, que la concentración de oxígeno en el agua disminuye a un nivel que resulta demasiado bajo para sustentar a otros organismos. Una de estas zonas hipóxicas (con bajo contenido en oxígeno) se encuentra en el norte del Golfo de México, frente a la costa de Louisiana donde el río Mississippi desemboca en el golfo (Figura 20.16). El Mississippi es extremadamente rico en nutrientes debido a los vertidos agrícolas; de modo que los microorganismos vegetales, denominados fitoplancton, proliferan con tanta intensidad que superan la cantidad que puede ser consumida por otros miembros de la cadena alimenticia. Cuando el fitoplancton muere, sus componentes se hunden en el fondo y son consumidos por bacterias aerobias. Las bacterias aerobias proliferan hasta tal punto que los demás organismos que habitan en el fondo, como las gambas y los cangrejos, no pueden conseguir suficiente O_2 para sobrevivir. El término "zona muerta" hace referencia a la incapacidad de esta zona para mantener la industria pesquera. ■

En la respiración anaeróbica de ciertos organismos, se utilizan compuestos químicos distintos del oxígeno como aceptor final de electrones en una cadena transportadora de electrones. Como ninguno de estos aceptores de electrones es tan electropositivo como el O_2, no se libera tanta energía y, en consecuencia, no se genera tanto ATP.

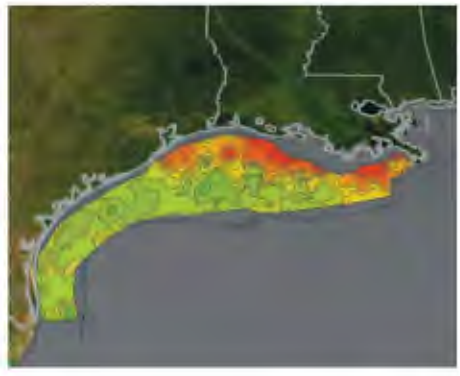


Figura 20.16 La zona muerta del Golfo de México. El tamaño de la zona muerta del Golfo de México frente a la costa de Louisiana varía cada año, pero puede llegar a extenderse desde las costas de Louisiana y Alabama hasta la costa más occidental de Texas. Los colores rojo y naranja indican elevadas concentraciones de fitoplancton y sedimentos fluviales. [NASA/Goddard Space Flight Center/Scientific Visualization Center.]

Los derivados tóxicos del oxígeno molecular como el radical superóxido se neutralizan por medio de enzimas protectoras

El oxígeno molecular es un aceptor final de electrones ideal debido a que su elevada afinidad hacia los electrones proporciona una gran fuerza impulsora termodinámica. Sin embargo, *la reducción del O_2 puede dar lugar a peligrosas reacciones secundarias*. La transferencia de cuatro electrones genera productos seguros (2 moléculas de H_2O), pero la reducción parcial produce compuestos peligrosos. Concretamente, *la transferencia de un único electrón al O_2 forma el ion superóxido, mientras que la transferencia de dos electrones produce peróxido*.

$$O_2 \xrightarrow{e^-} O_2^{\bullet -} \xrightarrow{e^-} O_2^{2-}$$

Ion superóxido — Peróxido

Entre un 2% y un 4% de las moléculas de oxígeno consumidas por las mitocondrias se convierten en ion superóxido, fundamentalmente en los Complejos I y III. El superóxido, el peróxido y las especies que se pueden generar a partir de ellos, como el radical hidroxilo, se incluyen bajo la denominación colectiva de *especies reactivas del oxígeno* (ROS, *reactive oxygen species*). Las especies reactivas del oxígeno reaccionan con prácticamente todas las macromoléculas de la célula, incluyendo proteínas, bases de los nucleótidos y membranas. El daño oxidativo causado por las ROS se ha relacionado con el proceso de envejecimiento, así como con una creciente lista de enfermedades (**Tabla 20.3**).

En mamíferos, la velocidad de mutación del DNA mitocondrial es entre 10 y 20 veces mayor que la del DNA nuclear. Se cree que esta velocidad más elevada se debe, en parte, a la inevitable generación de especies reactivas del oxígeno durante la fosforilación oxidativa en las mitocondrias.

¿Qué estrategias defensivas adopta la célula para evitar el daño oxidativo causado por las ROS? La más importante es la enzima *superóxido dismutasa*. Esta enzima neutraliza los radicales superóxido catalizando la conversión de dos de estos radicales en peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular.

$$2\,O_2^{\bullet -} + 2\,H^+ \xrightleftharpoons{\text{Superóxido dismutasa}} O_2 + H_2O_2$$

Las dismutación es una reacción en la que un único reactante se convierte en dos productos distintos.

Esta reacción se lleva a cabo en dos pasos. La forma oxidada de la enzima es reducida por el superóxido para formar oxígeno (**Figura 20.17**). A continuación, la forma reducida de la enzima, que se ha formado en esta reacción, reacciona con un segundo ion superóxido para formar peróxido, que durante el transcurso de la reacción capta dos protones para generar peróxido de hidrógeno.

El peróxido de hidrógeno formado por la superóxido dismutasa y por otros procesos es neutralizado por la *catalasa*, una proteína ubicua que tiene un grupo hemo y que cataliza la dismutación del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno molecular.

$$2\,H_2O_2 \xrightleftharpoons{\text{Catalasa}} O_2 + 2\,H_2O$$

La superóxido dismutasa y la catalasa son extraordinariamente eficientes y llevan a cabo sus reacciones a una velocidad igual o muy cercana a la velocidad que permite el proceso de difusión. Otras defensas celulares contra el daño oxidativo incluyen las

Tabla 20.3 Estados patológicos y otros tipos de trastorno que pueden deberse a los daños provocados por los radicales libres

Aterogénesis	Fallo renal agudo
Enfisema, bronquitis	Síndrome de Down
Enfermedad de Parkinson	Fibroplasia retrolental (conversión de la retina en una masa fibrosa en recién nacidos prematuros)
Distrofia muscular de Duchenne	Trastornos cerebrovasculares
Cáncer del cuello del útero	Isquemia, lesiones por reperfusión
Enfermedad alcohólica del hígado	
Diabetes	

Fuente: D. B. Marks, A. D. Marks y C. M. Smith, *Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach* (Williams & Wilkins, 1996), p. 331.

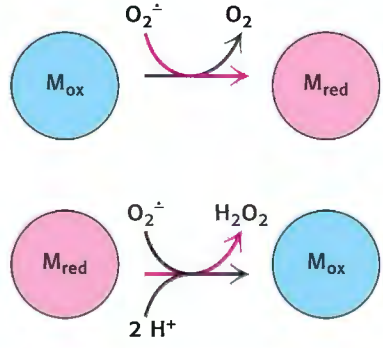


Figura 20.17 Mecanismo de la superóxido dismutasa. La forma oxidada de la superóxido dismutasa (M_{ox}) reacciona con un ion superóxido para formar O_2 y generar la forma reducida de la enzima (M_{red}). A continuación, la forma reducida reacciona con un segundo ion superóxido y dos protones para formar peróxido de hidrógeno y regenerar la forma oxidada de la enzima.

vitaminas antioxidantes —las vitaminas E y C, así como el ubiquinol. Al ser lipofílica, la vitamina E es especialmente útil a la hora de proteger las membranas de la peroxidación de los lípidos. El ubiquinol es el único antioxidante liposoluble sintetizado por los seres humanos.

Uno de los beneficios a largo plazo del ejercicio puede ser el aumento de la cantidad de superóxido dismutasa en la célula. Durante el ejercicio, el elevado metabolismo aeróbico hace que se generen más ROS. Como respuesta, la célula sintetiza más enzimas protectoras. El efecto neto es de protección porque el aumento de la superóxido dismutasa protege la célula con más eficacia durante los periodos de reposo.

A pesar del hecho de que las especies reactivas del oxígeno constituyen un peligro conocido, recientes evidencias sugieren que la formación controlada de estas moléculas puede ser un componente importante de las rutas de transducción de señales. Por ejemplo, se ha demostrado que los factores de crecimiento incrementan las ROS durante su ruta de señalización y que las ROS regulan canales y factores de transcripción. Las ROS están implicadas incluso en los ritmos circadianos. El papel dual de las ROS es un excelente ejemplo de la maravillosa complejidad de la bioquímica de los sistemas vivos: incluso sustancias potencialmente nocivas pueden ser aprovechadas para que desempeñen una función útil.

Resumen

20.1 En eucariotas, la fosforilación oxidativa tiene lugar en las mitocondrias

Las mitocondrias generan la mayor parte del ATP que necesitan las células aerobias gracias a la acción conjunta de las reacciones del ciclo del ácido cítrico, que tienen lugar en la matriz mitocondrial, y la fosforilación oxidativa, que tiene lugar en la membrana mitocondrial interna.

20.2 La fosforilación oxidativa depende de la transferencia de electrones

En la fosforilación oxidativa, la síntesis de ATP está acoplada al flujo de electrones desde el NADH o el $FADH_2$ al O_2 mediante un gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial interna. El flujo de electrones a través de tres complejos transmembrana orientados de forma asimétrica da lugar al bombeo de protones hacia el exterior de la matriz mitocondrial y a la generación de un potencial de membrana. Cuando los protones regresan a la matriz se sintetiza ATP.

20.3 La cadena respiratoria consta de bombas de protones y una conexión física con el ciclo del ácido cítrico

Los transportadores de electrones del ensamblaje respiratorio de la membrana mitocondrial interna son quinonas, flavinas, complejos ferrosulfurados, grupos hemo de los citocromos e iones cobre. Los electrones del NADH se transfieren al grupo prostético FMN de la NADH-Q oxidorreductasa (Complejo I), el primero de los cuatro complejos. Esta oxidorreductasa también contiene complejos ferrosulfurados. Los electrones van a parar a la QH_2, la forma reducida de la ubiquinona (Q). La enzima del ciclo del ácido cítrico succinato deshidrogenasa forma parte del complejo succinato-Q reductasa (Complejo II), que transfiere electrones desde el $FADH_2$ a Q para formar QH_2. Este transportador hidrofóbico de gran movilidad transfiere sus electrones a la Q-citocromo *c* oxidorreductasa (Complejo III), un complejo que contiene citocromos *b* y c_1, así como un complejo Fe-S. Este complejo reduce el citocromo *c*, una proteína periférica de la membrana y soluble en agua. El citocromo *c*, al igual que Q, es un transportador de electrones móvil (puesto que no está anclado a la membrana) que, posteriormente, los transfiere a la citocromo *c* oxidasa (Complejo IV). Este complejo contiene citocromos *a* y a_3, así como tres iones cobre. En esta oxidasa, un ion hierro de un grupo hemo y un ion cobre transfieren electrones al O_2, el aceptor final, para formar H_2O.

Términos clave

fosforilación oxidativa (p. 349)
cadena transportadora de electrones (p. 349)
respiración celular (p. 349)
potencial de reducción (redox, de oxidación-reducción, E'_0) (p. 352)
mononucleótido de flavina (FMN) (p. 354)
proteína ferrosulfurada (con hierro no hemínico) (p. 355)
coenzima Q (Q, ubiquinona) (p. 356)
reservorio Q (p. 357)
NADH-Q oxidorreductasa (Complejo I) (p. 357)
succinato-Q reductasa (Complejo II) (p. 358)
Q-citocromo *c* oxidorreductasa (Complejo III))(p. 359)
citocromo *c* (Cit *c*) (p. 359)
ciclo Q (p. 359)
citocromo *c* oxidasa (Complejo IV) (p. 360)
superóxido dismutasa (p. 363)
catalasa (p. 363)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. El potencial de reducción del $FADH_2$ es menor que el del NADH (ver la Tabla 20.1). Como resultado, cuando estos electrones se transfieren al oxígeno se libera menos energía. La consecuencia de esta diferencia es que el flujo de electrones desde el $FADH_2$ al O_2 bombea menos protones que el flujo de electrones procedentes del NADH.

2. El Complejo I estaría reducido, mientras que los complejos II, III y IV estarían oxidados. El ciclo del ácido cítrico se encontraría en estado reducido porque no hay manera de oxidar el NADH.

Problemas

1. *Dar y recibir.* ¿Qué diferencia hay entre un agente oxidante y un agente reductor? ✓ 1

2. *Mac con queso.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 1

(a) Respiración _____
(b) Potencial redox _____
(c) Cadena transportadora de electrones _____
(d) Mononucleótido de flavina (FMN) _____
(e) Proteína ferrosulfurada _____
(f) Coenzima Q _____
(g) Citocromo *c* _____
(h) Ciclo Q _____
(i) Superóxido dismutasa _____
(j) Catalasa _____

1. Convierte las especies reactivas del oxígeno en peróxido de hidrógeno
2. Flujo de electrones desde el NADH y $FADH_2$ al O_2
3. Facilita el flujo de electrones desde el FMN a la coenzima Q
4. Proceso generador de ATP en el que un compuesto inorgánico actúa como aceptor final de electrones
5. Medida de la tendencia a aceptar o donar electrones
6. Convierte el peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua
7. Canaliza electrones desde un transportador de dos electrones a un transportador de un electrón
8. Transportador de electrones liposoluble
9. Transfiere electrones al Complejo IV
10. En el Complejo I, acepta electrones del NADH

3. *Estados de referencia.* En la Tabla 20.1, al potencial redox estándar para la reducción del O_2 a H_2O se le asigna un valor de 0,82 V. Sin embargo, el valor que aparece en los libros de texto de química es de 1,23 V. Explique esta diferencia. ✓ 1

4. *Restricción termodinámica.* Compare los valores de $\Delta G^{\circ\prime}$ para la oxidación del succinato por el NAD^+ y por el FAD. Utilice los datos mostrados en la Tabla 20.1 y suponga que el E'_0 para el par redox FAD-$FADH_2$ es de prácticamente 0 V. ¿Por qué es el FAD y no el NAD^+ el aceptor de electrones en la reacción catalizada por la succinato deshidrogenasa? ✓ 1

5. *¿Me puedes llevar?* ¿Qué evidencias hay de que las mitocondrias modernas surgieron a partir de un único evento endosimbiótico?

6. *Benefactor y beneficiario.* Identifique el oxidante y el reductor en la siguiente reacción.

$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{lactato} + \text{NAD}^+$$

7. *Ubicación, ubicación, ubicación.* El hierro forma parte de muchos de los transportadores de electrones de la cadena transportadora de electrones. ¿Cómo puede ser capaz de participar en una serie de reacciones redox acopladas si el valor de $\Delta E'_0$ es de + 0,77 V, tal y como se muestra en la Tabla 20.1? ✓ 1 y 2

8. *Seis de uno y media docena del otro.* ¿Cómo se relacionan el potencial redox ($\Delta E'_0$) y el incremento de energía libre de una reacción ($\Delta G^{\circ\prime}$)? ✓ 1

9. *Consideraciones estructurales.* Explique por qué la coenzima Q es un eficaz transportador de electrones móvil en la cadena transportadora de electrones. ✓ 1

10. *A la cola.* Coloque los siguientes componentes de la cadena transportadora de electrones en el orden correcto: (a) citocromo *c*; (b) Q-citocromo *c* oxidorreductasa; (c) NADH-Q oxidorreductasa; (d) citocromo *c* oxidasa; (e) ubiquinona. ✓ 1 y 2

11. *Dolce y Gabbana.* Empareje los términos de la columna izquierda con los términos de la columna derecha.

(a) Complejo I _____	1. Q-citocromo *c* oxidorreductasa
(b) Complejo II _____	2. Coenzima Q
(c) Complejo III _____	3. Succinato-Q reductasa
(d) Complejo IV _____	4. NADH-Q oxidorreductasa
(e) Ubiquinona _____	5. Citocromo *c* oxidasa

12. *ROS, no ROUS.* ¿Cuáles son las especies reactivas del oxígeno? ¿Por qué son especialmente peligrosas para las células?

13. *Inhibidores.* La rotenona inhibe el flujo de electrones a través de la NADH-Q oxidorreductasa. La antimicina A bloquea el flujo de electrones entre los citocromos *b* y c_1. El cianuro bloquea el flujo de electrones a través de la citocromo *c* oxidasa hasta el O_2. Pronostique el estado relativo de oxidación-reducción de cada uno de los siguientes componentes de la cadena respiratoria en mitocondrias que han sido tratadas con cada uno de los inhibidores citados: NAD^+; NADH-Q oxidorreductasa; coenzima Q; citocromo c_1; citocromo *c*; citocromo *a*. ✓ 1

14. *Eficacia.* ¿Cuál es la ventaja de que los Complejos I, III y IV se asocien entre sí formando un respirosoma? ✓ 2

Problemas de integración de capítulos

15. *Dispositivo de reciclaje.* El componente citocromo *b* de la Q-citocromo *c* oxidorreductasa permite que los dos electrones de la QH_2 se utilicen eficazmente en la generación de una fuerza protón-motriz. Cite otro dispositivo de reciclaje del metabolismo que hace que un producto de reacción que podría acabar en una vía muerta vuelva a la vía principal.

16. *Quizás no debas tomar tus vitaminas.* Se sabe que el ejercicio incrementa la sensibilidad a la insulina y alivia la diabetes de tipo 2 (p. 309). Investigaciones recientes sugieren que tomar vitaminas antioxidantes podría reducir los efectos beneficiosos del ejercicio en relación con la protección frente a las ROS.
(a) ¿Qué son las vitaminas antioxidantes?
(b) ¿Cómo protege el ejercicio contra las ROS?
(c) Explique por qué las vitaminas podrían contrarrestar los efectos del ejercicio.

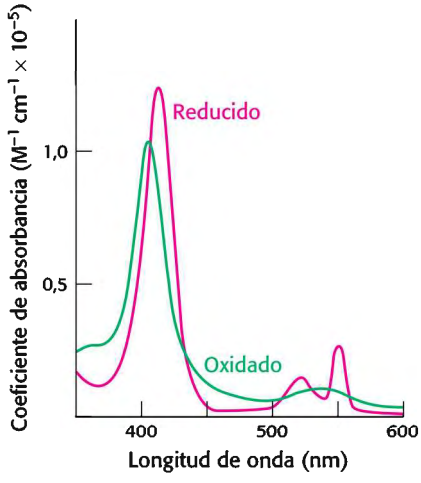
17. *Conectada.* ¿Qué enzima del ciclo del ácido cítrico también forma parte de la cadena transportadora de electrones?

18. *¿Respirar o fermentar?* Compare la fermentación y la respiración en relación con los donadores y aceptores de electrones.

Problemas para atrevidos

19. *Electrones más débiles.* Los electrones procedentes del NADH bombean más protones como consecuencia de su reacción con el oxígeno que los electrones procedentes del $FADH_2$. Calcule la energía liberada por la reducción del O_2 por el $FADH_2$. ✓ 2

20. *Cruce de caminos.* Se puede determinar el lugar exacto donde actúa un inhibidor de la cadena respiratoria por medio de la *técnica del punto de corte*. Britton Chance diseñó elegantes métodos espectroscópicos para determinar la proporción entre las formas oxidada y reducida de cada transportador. Esta determinación es posible porque cada forma tiene un espectro de absorción distinto, tal y como se refleja en la figura adjunta para el caso del citocromo *c*. Si al analizar un nuevo inhibidor descubrimos que su adición a mitocondrias que están respirando hace que todos los transportadores entre el NADH y la QH_2 estén más reducidos y los transportadores entre el citocromo *c* y el O_2 estén más oxidados, ¿en qué punto actúa el inhibidor? ✓ 2



En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 21

La fuerza protón-motriz

21.1 Un gradiente de protones impulsa la síntesis de ATP

21.2 Las lanzaderas permiten el movimiento a través de las membranas mitocondriales

21.3 La respiración celular está regulada por la necesidad de ATP



Itaipu Binacional, en la frontera entre Brasil y Paraguay, es una de las centrales hidroeléctricas más grandes del mundo. La presa transforma la energía del agua que cae en energía eléctrica. Análogamente, la enzima ATP sintasa mitocondrial transforma la energía de los protones que caen a favor de un gradiente en ATP. [Christian Heeb/AgeFotostock.]

En el Capítulo 20, consideramos el flujo de electrones desde el NADH al O_2, un proceso exergónico.

$$NADH + \tfrac{1}{2}\,O_2 + H^+ \rightleftharpoons H_2O + NAD^+$$

$$\Delta G^{\circ\prime} = -220{,}1\ \text{kJ mol}^{-1}\ (-52{,}6\ \text{kcal mol}^{-1})$$

Durante el flujo de electrones se bombean protones desde la matriz mitocondrial hacia el exterior de la membrana mitocondrial interna, creando un gradiente de protones. Básicamente, la energía se transforma. Esta situación es rica en energía porque la entropía de los protones se reduce. A continuación, veremos cómo la energía del gradiente de protones impulsa la síntesis de ATP.

$$ADP + P_i + H^+ \rightleftharpoons ATP + H_2O$$

$$\Delta G^{\circ\prime} = +30{,}5\ \text{kJ mol}^{-1}\ (+7{,}3\ \text{kcal mol}^{-1})$$

✓ 3 Describir cómo se convierte la fuerza protón-motriz en ATP.

Hay quien piensa que, junto con la determinación de la estructura del DNA, el descubrimiento de que la síntesis de ATP está impulsada por un gradiente de protones es uno de los dos mayores avances de la biología en el siglo XX. Sin embargo, el postulado inicial de la teoría quimiosmótica de Mitchell no tuvo un caluroso recibimiento, ni mucho menos. Efraim Racker, uno de los primeros investigadores de la ATP sintasa, recuerda que algunos consideraban a Mitchell como un bufón de la corte cuyo trabajo era intranscendente. En 1978, Peter Mitchell fue galardonado con el Premio Nobel de Química por sus contribuciones al conocimiento de la fosforilación oxidativa.

21.1 Un gradiente de protones impulsa la síntesis de ATP

La síntesis de ATP se lleva a cabo mediante un ensamblaje molecular localizado en la membrana mitocondrial interna. En un principio, a este complejo enzimático se le denominó *ATPasa mitocondrial* o F_1F_0*ATPasa* porque se descubrió gracias a su catálisis de la reacción inversa, la hidrólisis de ATP. Es mejor denominarla *ATP sintasa*, ya que este nombre pone de relieve su función real en la mitocondria. También se la denomina *Complejo V*.

¿Cómo se acopla la oxidación del NADH a la fosforilación del ADP? Primero se sugirió que la transferencia de electrones daba lugar a la formación de un intermediario covalente rico en energía que actuaba como un compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos. Este compuesto podría, de forma análoga a la fosforilación a nivel de sustrato que tiene lugar en la glucólisis (p. 277), transferir un grupo fosforilo al ADP para formar ATP. Una propuesta alternativa establecía que la transferencia de electrones ayuda a la formación de una conformación proteica activada que, posteriormente, impulsaría la síntesis de ATP. Durante décadas, la búsqueda de este tipo de intermediarios resultó infructuosa.

En 1961, Peter Mitchell sugirió un mecanismo radicalmente distinto, la *hipótesis quimiosmótica*. Propuso que *el transporte de electrones y la síntesis de ATP están acoplados por medio de un gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial interna*. En su modelo, la transferencia de electrones a través de la cadena respiratoria provoca el bombeo de protones desde la matriz al lado citoplasmático de la membrana mitocondrial interna. La concentración de H^+ en la matriz disminuye y se genera un campo eléctrico que es negativo en el lado de la matriz (Figura 21.1). Posteriormente, los protones retornan a la matriz para igualar la distribución. La idea de Mitchell era que este flujo de protones es el que impulsa la síntesis de ATP por parte de la ATP sintasa. La desigual distribución de los protones, rica en energía, se denomina *fuerza protón-motriz* y se puede considerar que consta de dos componentes: un gradiente químico y un gradiente de carga. El gradiente químico de protones se puede representar en forma de un gradiente de pH. El gradiente de carga se crea gracias a las cargas positivas de los protones desigualmente distribuidos que forman el gradiente químico. Mitchell propuso que ambos componentes impulsan la síntesis de ATP.

$$\text{Fuerza protón-motriz } (\Delta p) = \text{gradiente químico } (\Delta \text{H}) + \text{gradiente de carga } (\Delta \psi)$$

Hoy en día, numerosas evidencias respaldan la muy innovadora hipótesis de Mitchell de que la oxidación y la fosforilación están acopladas por medio de un gradiente de protones, entre las que se incluye una muy importante: para que exista este acoplamiento se necesita una membrana intacta e impermeable a los protones. De hecho, el transporte de electrones genera un gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial interna. El pH en el exterior es 1,4 unidades más bajo que en el interior y la diferencia de voltaje, o potencial de membrana, es de 0,14 V, positivo en el exterior. Este potencial de membrana equivale a una energía libre de 20,89 kJ (5,2 kcal) por mol de protones.

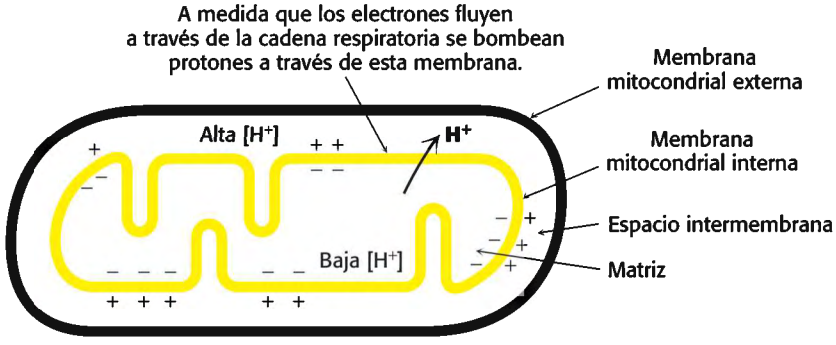


Figura 21.1 Hipótesis quimiosmótica. La transferencia de electrones a través de la cadena respiratoria da lugar al bombeo de protones desde la matriz al lado citoplasmático de la membrana mitocondrial interna. El gradiente de pH y el potencial de membrana constituyen una fuerza protón-motriz que se utiliza para impulsar la síntesis de ATP.

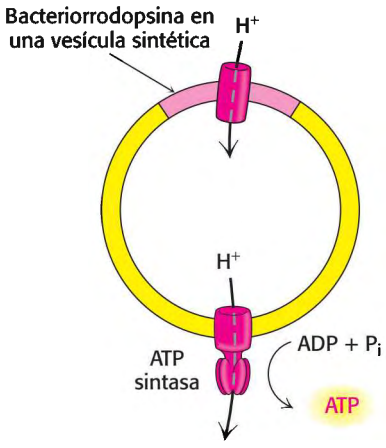


Figura 21.2 Comprobación de la hipótesis quimiosmótica. Cuando se iluminan vesículas de membrana reconstituidas que contienen bacteriorrodopsina (una bomba de protones impulsada por la luz) y ATP sintasa, se sintetiza ATP. En estas membranas reconstituidas, la orientación de la ATP sintasa es la opuesta a la que se observa en las mitocondrias.

Para demostrar de forma elegante el principio básico de la hipótesis quimiosmótica se creó un sistema artificial que representaba el sistema de respiración celular. El papel de la *cadena transportadora de electrones* lo desempeñaba la bacteriorrodopsina, una proteína de la membrana púrpura de halobacterias que bombea protones cuando se la ilumina. Se prepararon vesículas sintéticas que contenían bacteriorrodopsina y ATP sintasa purificada a partir de corazón de buey (Figura 21.2). Cuando se iluminaron las vesículas se formó ATP. Este experimento clave demostraba claramente que *la cadena respiratoria y la ATP sintasa son sistemas bioquímicamente distintos, conectados únicamente por una fuerza protón-motriz.*

La ATP sintasa está formada por una unidad que canaliza los protones y por una unidad catalítica

Dos aspectos del misterio de cómo se acoplan la oxidación del NADH y la síntesis de ATP quedan ahora claros: (1) el transporte de electrones genera una fuerza protón-motriz; (2) la síntesis de ATP por parte de la ATP sintasa se puede impulsar mediante una fuerza protón-motriz. ¿Cómo se convierte la fuerza protón-motriz en el elevado potencial de transferencia de fosforilos del ATP?

La ATP sintasa es un complejo enzimático de gran tamaño ubicado en la membrana mitocondrial interna que parece una bola colocada sobre un palo (Figura 21.3). Gran parte de la parte que corresponde al "palo", la denominada subunidad F_0, está integrada en la membrana mitocondrial interna. La bola de 85 Å de diámetro, denominada subunidad F_1, se proyecta hacia la matriz mitocondrial. La subunidad F_1 contiene la actividad catalítica de la sintasa. De hecho, las subunidades F_1 aisladas presentan actividad ATPasa.

La subunidad F_1 consta de cinco tipos de cadenas polipeptídicas (α_3, β_3, γ, δ y ε). Las tres subunidades α y las tres subunidades β, que constituyen el grueso de F_1, se disponen de forma alternada formando un anillo hexamérico. Los centros activos se encuentran en las subunidades β. Justo por encima de las subunidades α y β, hay un tallo central que está formado por las proteínas γ y ε. La subunidad γ contiene un largo helicoide enrollado que ocupa el centro del hexámero $\alpha_3\beta_3$. *Cada una de las subunidades β es distinta porque cada una interacciona con una cara distinta de la subunidad γ.* Para comprender el mecanismo de la síntesis de ATP es esencial poder distinguir cada una de las tres subunidades β.

La subunidad F_0 es un segmento hidrofóbico que atraviesa la membrana mitocondrial interna. *F_0 contiene el canal de protones del complejo.* Este canal consta de un anillo que está formado por entre 8 y 15 subunidades **c**, según el organismo donde se encuentre la enzima, que están integradas en la membrana. Una única subunidad **a** se une a la parte externa del anillo. La subunidades F_0 y F_1 están conectadas de dos formas: mediante el tallo central $\gamma\varepsilon$ y mediante una columna externa. La columna externa consta de una subunidad **a**, dos subunidades **b** y la subunidad δ.

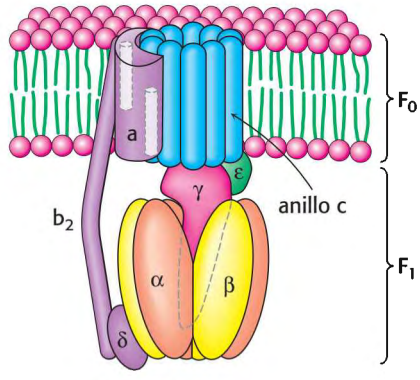


Figura 21.3 Estructura de la ATP sintasa. Se muestra la estructura esquemática de la ATP sintasa. *Observe* que parte del complejo enzimático (la subunidad F_0) está integrada en la membrana mitocondrial interna, mientras que el resto (la subunidad F_1) reside en la matriz. [Elaborada a partir de 1E79.pdb and 1COV.pdb.]

El flujo de protones a través de la ATP sintasa da lugar a la liberación del ATP fuertemente unido

La ATP sintasa cataliza la formación de ATP a partir de ADP y ortofosfato.

$$ADP^{3-} + HPO_4^{2-} + H^+ \rightleftharpoons ATP^{4-} + H_2O$$

Hay tres centros activos en la enzima y, en todo momento, cada uno está llevando a cabo una de las tres funciones distintas. La fuerza protón-motriz hace que los tres centros activos cambien de función de manera secuencial, a medida que los protones fluyen a través del componente de la enzima que está integrado en la membrana. De hecho, se puede considerar que la enzima está formada por una parte móvil y una parte estacionaria: (1) la parte móvil, también llamada *rotor*, está formada por el anillo c y el tallo γε y (2) la parte estacionaria, también llamada *estátor*, está formada por el resto de la molécula.

? **PREGUNTA RÁPIDA 1** ¿Por qué las subunidades F_1 de la ATP sintasa aisladas catalizan la hidrólisis de ATP?

¿Cómo responde cada uno de los tres centros activos de la ATP sintasa al flujo de protones? Una serie de observaciones experimentales sugirieron un *mecanismo de cambio de unión* para la síntesis de ATP impulsada por los protones. Esta propuesta establece que, mediante un cambio de conformación, una subunidad β puede realizar cada uno de los tres pasos secuenciales del proceso de síntesis de ATP. Estos pasos son (1) la captura del ADP y del P_i, (2) la síntesis de ATP y (3) la liberación del ATP y la unión del ADP y del P_i. Como ya se ha comentado, las interacciones con la subunidad γ hacen que las tres subunidades β no sean equivalentes (Figura 21.4). En un momento dado, habrá una subunidad β que estará en la conformación L, relajada. Esta conformación se une al ADP y al P_i. Una segunda subunidad β estará en la conformación T, tensa. Esta conformación se une al ATP con gran avidez, hasta tal punto que convertirá al ADP y al P_i unidos en ATP. Tanto la conformación L como la T se encuentran lo suficientemente constreñidas como para no ser capaces de liberar los nucleótidos unidos. La última subunidad β estará en la forma O, abierta. Esta forma adopta una conformación más abierta y se puede unir a nucleótidos de adenina o liberarlos.

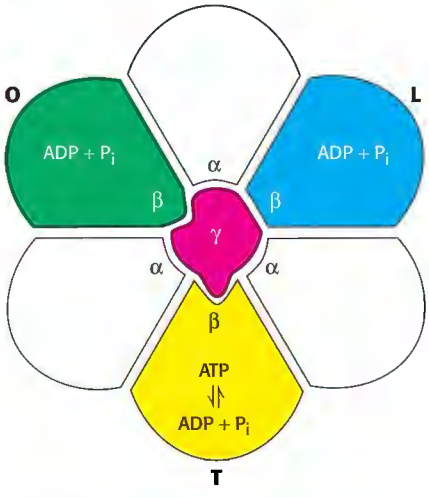


Figura 21.4 Los lugares de unión a nucleótidos de la ATP sintasa no son equivalentes. La subunidad γ ocupa el centro del hexámero $\alpha_3\beta_3$ y hace que los lugares de unión a nucleótidos de las subunidades β sean distintos entre sí.

La rotación de la subunidad γ impulsa la interconversión de estas tres formas (Figura 21.5). El ADP y el P_i unidos a la subunidad β en la forma T se combinan para formar ATP. Supongamos que la subunidad γ gira 120 grados en sentido contrario a las agujas del reloj (si miramos desde la matriz). Esta rotación convierte al centro activo de la forma T en un centro activo de la forma O con el nucleótido unido en forma de ATP. Al mismo tiempo, el centro activo de la forma L se convierte en un centro activo de la forma T, lo que permite la transformación de otro ADP y otro P_i en ATP. El ATP que se encuentra en el centro activo de la forma O puede ahora abandonar la enzima para ser sustituido por ADP y P_i. Una nueva rotación de 120 grados convierte este centro activo de la forma O en un centro activo de la forma L, con lo que estos sustratos quedan atrapados. Cada subunidad pasa de la forma T a la forma O y, posteriormente, a la forma L sin que en ningún momento haya dos subunidades que estén en la misma conformación. Este mecanismo sugiere que el ATP se puede sintetizar y liberar impulsando la rotación de la subunidad γ en el sentido correcto. Hay que

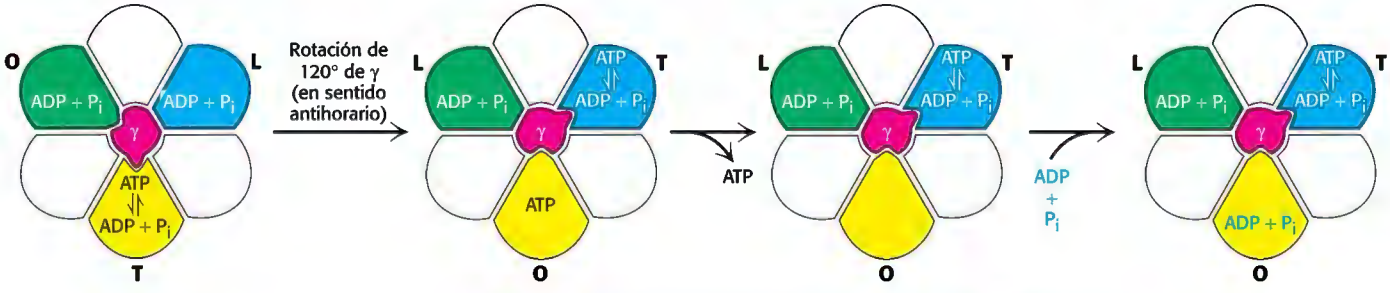


Figura 21.5 Mecanismo de cambio de unión para la ATP sintasa. La rotación de la subunidad γ interconvierte las tres subunidades β. La subunidad en la forma T (tensa) convierte el ADP y el P_i en ATP, pero no permite que se libere el ATP. Cuando la subunidad γ rota 120° en sentido antihorario, la subunidad en forma T se convierte en la forma O, lo que permite la liberación del ATP. A continuación, nuevas moléculas de ADP y de Pi pueden unirse a la subunidad en forma O. Otra rotación de 120° (que no se muestra en la figura) atrapa estos sustratos en una subunidad en forma L.

señalar que el papel del gradiente de protones no consiste en participar directamente en la formación de ATP sino en impulsar la disociación del ATP del enzima.

La catálisis rotativa es el motor molecular más pequeño del mundo

¿Es posible observar directamente la rotación propuesta? Mediante ingeniosos experimentos se ha demostrado la rotación utilizando un sencillo sistema experimental formado únicamente por las subunidades $\alpha_3\beta_3\gamma$ clonadas (Figura 21.6). Las subunidades β se modificaron por ingeniería genética para que presenten colas de polihistidina en su extremo amino, que tienen una elevada afinidad hacia los iones níquel. Gracias a esta propiedad de las colas de polihistidina, se pudo inmovilizar el complejo $\alpha_3\beta_3$ sobre una superficie de vidrio recubierta de iones níquel. La subunidad γ estaba unida a un filamento de actina marcado fluorescentemente para proporcionar un largo segmento que pudiese ser observado mediante un microscopio de fluorescencia. Curiosamente, la adición de ATP hacía que el filamento de actina rotase en una dirección contraria a las agujas del reloj. *La subunidad γ estaba girando, impulsada por la hidrólisis del ATP.* De este modo, se podía observar la actividad catalítica de una molécula individual. La rotación en sentido antihorario es consistente con la dirección que cabría esperar para la hidrólisis porque la molécula se estaba observando desde abajo si tomamos como referencia la perspectiva mostrada en la Figura 21.5.

Un análisis más detallado en presencia de concentraciones menores de ATP puso de manifiesto que la subunidad γ gira en incrementos de 120 grados. Cada incremento corresponde a la hidrólisis de una única molécula de ATP. Además, a partir de los resultados obtenidos con filamentos de actina de distinta longitud (lo que contribuye a incrementar la resistencia al giro) y midiendo la velocidad de rotación, parece ser que la enzima funciona con una eficacia cercana al 100%; es decir, prácticamente toda le energía liberada por la hidrólisis del ATP se convierte en movimiento rotacional.

Cambios secuenciales de las formas que adoptan los tres centros activos de la ATP sintasa

Subunidad 1	L→T→O→L→T→O···
Subunidad 2	O→L→T→O→L→T···
Subunidad 3	T→O→L→T→O→L···

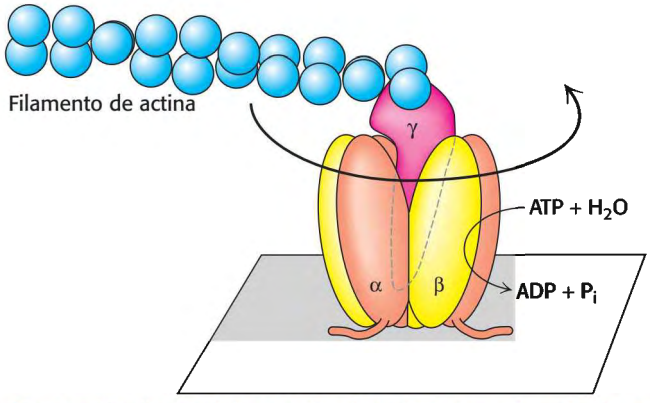


Figura 21.6 Observación directa de la rotación de la ATP sintasa impulsada por el ATP. Se fija el hexámero $\alpha_3\beta_3$ de la ATP sintasa sobre una superficie, con la subunidad γ proyectándose hacia arriba y unida a un filamento de actina marcado fluorescentemente. La adición y posterior hidrólisis de ATP da lugar a la rotación de la subunidad γ en sentido antihorario, que puede observarse directamente a través de un microscopio de fluorescencia.

El flujo de protones en torno al anillo c impulsa la síntesis de ATP

La observación directa del movimiento rotatorio de la subunidad γ constituye una sólida evidencia a favor del mecanismo rotacional para la síntesis de ATP. La última pregunta que queda por responder es: ¿cómo impulsa el flujo de protones a través de F_0 la rotación de la subunidad γ? Howard Berg y George Oster propusieron un elegante mecanismo que ofrece una clara respuesta a esta cuestión. El mecanismo depende de la estructura de las subunidades **a** y **c** de F_0 (Figura 21.7). La subunidad **a** se apoya directamente en el anillo formado por entre 8 y 15 subunidades **c** que atraviesa la membrana. Las evidencias experimentales relacionadas con la estructura de la subunidad **a** son consistentes con un modelo que presenta dos semicanales hidrofílicos que no atraviesan por completo la membrana (ver la Figura 21.7). Por tanto, los protones son capaces de introducirse en cualquiera de estos dos canales pero no pueden atravesar completamente la membrana. La subunidad **a** está colocada de forma que cada semicanal interacciona directamente con una subunidad **c**.

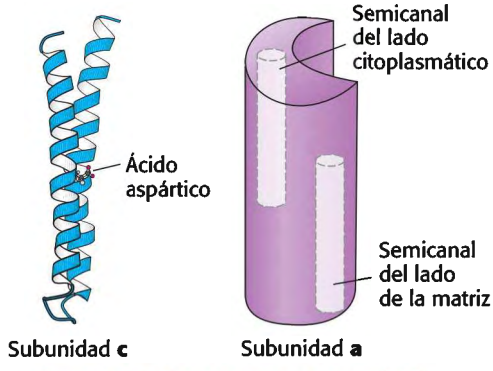


Figura 21.7 Componentes de la unidad transportadora de protones de la ATP sintasa. La subunidad **c** está formada por dos hélices que atraviesan la membrana. En una de las hélices hay un residuo de ácido aspártico situado en el centro de la membrana. La estructura de la subunidad **a** parece incluir dos semicanales que permiten la entrada de los protones, que solo pueden atravesar parte de la membrana, no toda.

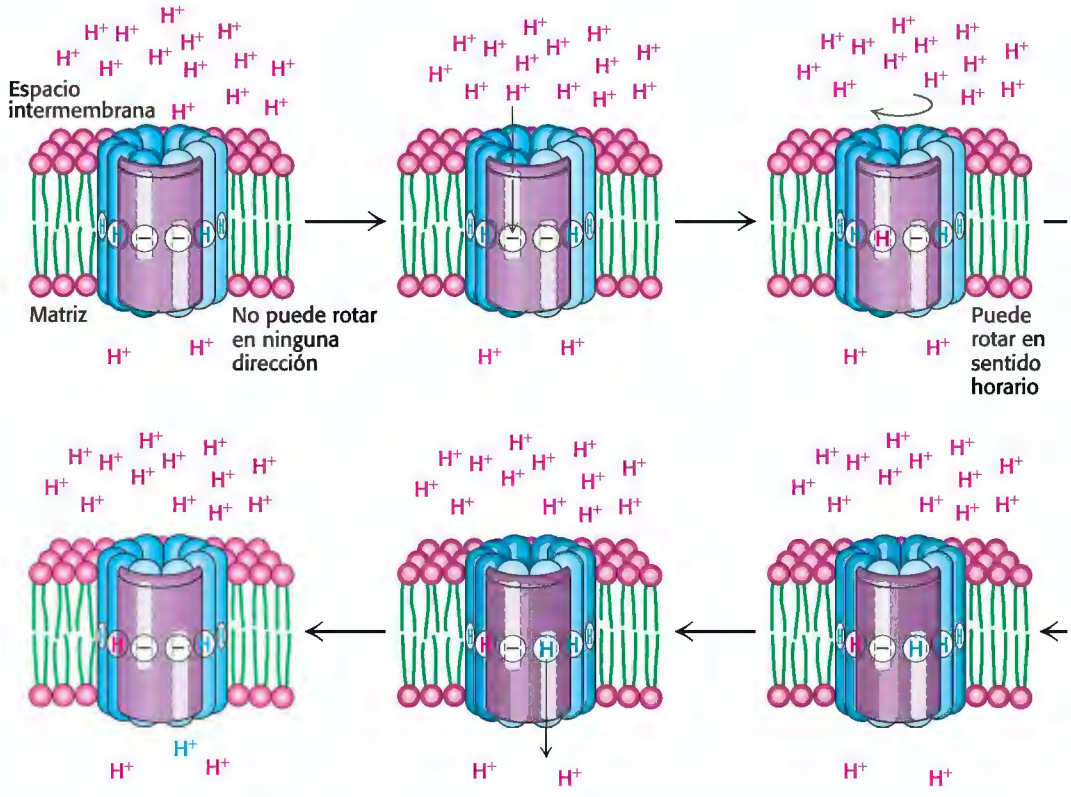


Figura 21.8 El movimiento de los protones a través de la membrana impulsa la rotación del anillo c. Un protón del espacio intermembrana se introduce en el semicanal del lado citoplasmático para neutralizar la carga de un residuo de aspartato de una subunidad **c**. Cuando esta carga está neutralizada, el anillo c puede girar en sentido horario el sector equivalente a una subunidad **c**, permitiendo que un residuo de ácido aspártico abandone la membrana para alojarse en el semicanal que comunica con la matriz. Este protón puede desplazarse hacia la matriz, con lo que el sistema vuelve a su estado inicial.

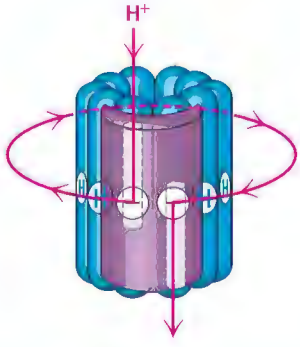


Figura 21.9 Trayectoria de los protones a través de la membrana. Cada protón se introduce en el semicanal del lado citoplasmático, da una vuelta completa al anillo **c** y sale hacia la matriz a través del otro semicanal.

Cada cadena polipeptídica de la subunidad c forma un par de hélices α que atraviesan la membrana. Un residuo de ácido aspártico (Asp 61) se encuentra en mitad de una de las hélices. En un ambiente rico en protones, como el lado citoplasmático de la membrana mitocondrial, es probable que un protón se introduzca en el semicanal y se una al residuo de aspartato, neutralizando su carga. A continuación, la subunidad con el protón unido gira en el interior de la membrana hasta que el ácido aspártico se encuentre con el ambiente pobre en protones del otro semicanal, y es aquí donde se libera el protón (**Figura 21.8**). *El movimiento de protones a través de los semicanales desde el espacio intermembrana, donde la concentración de protones es alta, hacia la matriz, donde la concentración de protones es baja, impulsa la rotación del anillo c.* Su rotación está favorecida por interacciones hidrofóbicas. Cuando un residuo de ácido aspártico se neutraliza con un protón, puede interaccionar con el entorno hidrofóbico de la membrana. Por tanto, la subunidad c con el ácido aspártico recién protonado se mueve, con lo que deja de estar en contacto con el semicanal del lado citoplasmático y se adentra en el interior de la membrana, al tiempo que las demás subunidades c se mueven al unísono. Cada protón que entra en el semicanal citoplasmático atraviesa la membrana dejándose llevar por el giro del anillo c hasta encontrar la salida por el semicanal de la matriz, que le conecta con el ambiente pobre en protones de la matriz (**Figura 21.9**). La velocidad de giro del anillo c es extraordinaria, de casi 100 revoluciones por segundo.

¿Cómo induce la rotación del anillo c la síntesis de ATP? El anillo c está íntimamente asociado a las subunidades γ y ε. Por tanto, a medida que el anillo c gira, las subunidades γ y ε dan vueltas en el interior del hexámero $\alpha_3\beta_3$ de F_1. A su vez, la rotación de la subunidad γ promueve la síntesis de ATP por medio del mecanismo de cambio de unión. La columna exterior formada por las dos cadenas **b** y la subunidad δ evita la rotación del hexámero $\alpha_3\beta_3$. Cada rotación de 360° de la subunidad γ da

lugar a la síntesis y liberación de 3 moléculas de ATP. El número de subunidades **c** determina la eficiencia con la que el gradiente de protones se convierte en síntesis de ATP. Por ejemplo, si hay 10 subunidades **c** en el anillo (tal y como se ha observado en una estructura cristalina de la ATP sintasa de mitocondrias de levadura), cada molécula de ATP generada requiere el transporte de 10/3 = 3,33 protones. Evidencias recientes demuestran que los anillos **c** de todos los vertebrados están formados por 8 subunidades, lo que convierte a la ATP sintasa de vertebrados en la ATP sintasa más eficiente conocida, ya que solo requiere el transporte de 2,7 protones para la síntesis de ATP. Para simplificar, asumiremos que se tienen que desplazar 3 protones hacia la matriz por cada molécula de ATP formada. Como veremos más adelante, los electrones del NADH bombean protones suficientes como para generar 2,5 moléculas de ATP, mientras que los procedentes del $FADH_2$ generan 1,5 moléculas de ATP.

Volvamos por un momento al ejemplo con el que empezamos esta sección. Si un ser humano en reposo necesita 85 kg de ATP diarios para desempeñar las funciones del organismo, $3{,}3 \times 12^{25}$ protones tendrán que atravesar la ATP sintasa cada día, lo que equivale a $3{,}3 \times 12^{21}$ protones por segundo. La Figura 21.10 resume el proceso de la fosforilación oxidativa.

Sorprendentemente, un ser humano en reposo consume poca potencia. Aproximadamente 116 vatios, el consumo energético de una típica bombilla incandescente, proporcionan la energía suficiente para sustentar a una persona en reposo.

? **PREGUNTA RÁPIDA 2** A menudo, las ATP sintasas purificadas a partir de distintas fuentes presentan distinto número de subunidades **c**. ¿Qué efecto tendría una modificación en el número de subunidades **c** sobre el rendimiento de ATP en función del flujo de protones?

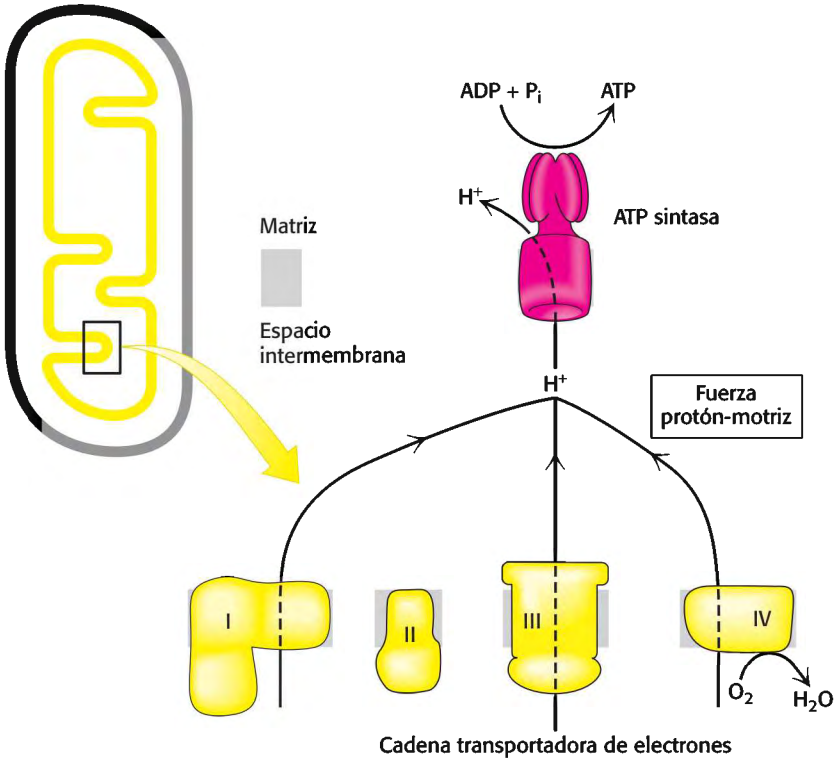


Figura 21.10 Esquema general de la fosforilación oxidativa. La cadena transportadora de electrones genera un gradiente de protones que se utiliza para sintetizar ATP.

21.2 Las lanzaderas permiten el movimiento a través de las membranas mitocondriales

La membrana mitocondrial interna tiene que ser impermeable a la mayoría de las moléculas, a pesar de que tienen que producirse numerosos intercambios entre el citoplasma y las mitocondrias. Estos intercambios están mediados por una serie de proteínas transportadoras que atraviesan la membrana (p. 205).

Los electrones del NADH citoplasmático entran en las mitocondrias gracias a lanzaderas

Una de las funciones de la cadena respiratoria consiste en regenerar el NAD^+ para que se utilice en la glucólisis. ¿Cómo se reoxida el NADH citoplasmático a NAD^+ en condiciones aeróbicas? El NADH no puede sencillamente entrar en las mitocondrias para ser

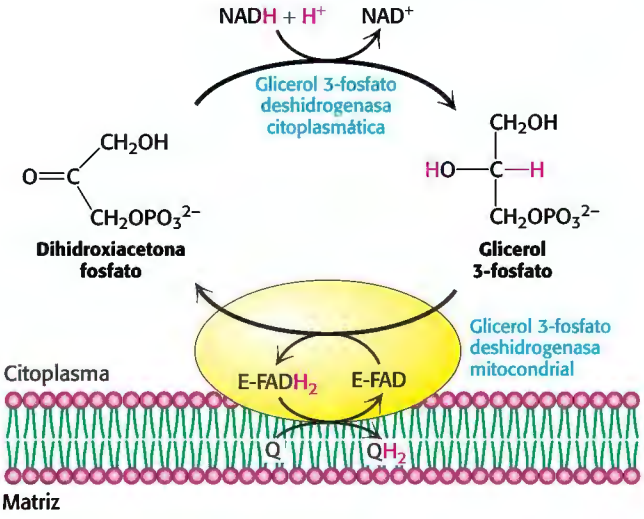
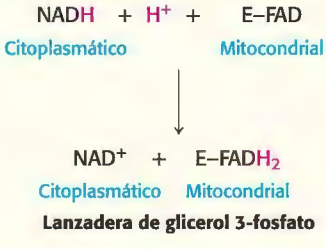


Figura 21.11 Lanzadera de glicerol 3-fosfato. Los electrones procedentes del NADH pueden incorporarse a la cadena transportadora de electrones mitocondrial reduciendo la dihidroxiacetona fosfato a glicerol 3-fosfato. La transferencia de electrones a un grupo prostético FAD de una glicerol 3-fosfato deshidrogenasa unida a membrana vuelve a oxidar el glicerol 3-fosfato. La posterior transferencia de electrones a Q para formar QH_2 permite a estos electrones incorporarse a la cadena transportadora de electrones.



oxidado por la cadena respiratoria porque la membrana mitocondrial interna es impermeable tanto al NADH como al NAD^+. La solución consiste en *que sean los electrones del NADH, en vez del propio NADH, los que sean transportados a través de la membrana mitocondrial.* Una de las diversas formas de incorporar los electrones del NADH a la cadena transportadora de electrones es la *lanzadera de glicerol 3-fosfato* (**Figura 21.11**). El primer paso de esta lanzadera consiste en la transferencia de un par de electrones desde el NADH a la dihidroxiacetona fosfato, un intermediario de la glucólisis, para formar glicerol 3-fosfato. Esta reacción está catalizada por una glicerol 3-fosfato deshidrogenasa del citoplasma. El glicerol 3-fosfato se reoxida a dihidroxiacetona fosfato en la superficie externa de la membrana mitocondrial interna por medio de una isozima de la glicerol 3-fosfato deshidrogenasa que se encuentra unida a la membrana. Se transfiere una pareja de electrones del glicerol 3-fosfato a un grupo prostético FAD de esta enzima para formar $FADH_2$. Esta reacción también regenera la dihidroxiacetona fosfato.

La flavina reducida transfiere sus electrones al transportador de electrones Q que, a continuación, se incorpora a la cadena respiratoria en forma de QH_2. *Cuando el NADH citoplasmático transportado por la glicerol 3-fosfato deshidrogenasa se oxida por medio de la cadena transportadora, en vez 2,5 moléculas de ATP se forman 1,5.* El rendimiento es menor porque los electrones del NADH citoplasmático se incorporan a la cadena transportadora de electrones por medio del FAD. El uso del FAD permite que se transporten los electrones del NADH citoplasmático a las mitocondrias en contra de un gradiente de concentración de NADH, que se forma porque cuando la demanda de oxígeno es elevada los cofactores reducidos se van acumulando en las mitocondrias. El precio de este transporte es de una molécula de ATP por cada dos electrones. Esta lanzadera de glicerol 3-fosfato es especialmente importante en el músculo y le permite mantener una velocidad de fosforilación oxidativa muy alta. De hecho, algunos insectos carecen de la lactato deshidrogenasa y dependen por completo de la lanzadera de glicerol 3-fosfato para la regeneración del NAD^+ citoplasmático.

En el corazón y en el hígado, los electrones del NADH citoplasmático son transportados a las mitocondrias por medio de la *lanzadera malato-aspartato*, en la que participan dos transportadores de membrana y cuatro enzimas (**Figura 21.12**). Los electrones se transfieren desde el NADH del citoplasma al oxalacetato, formando malato, que atraviesa la membrana mitocondrial interna a cambio de α-cetoglutarato por medio de un antiporte (p. 205). A continuación, el malato se vuelve a oxidar a

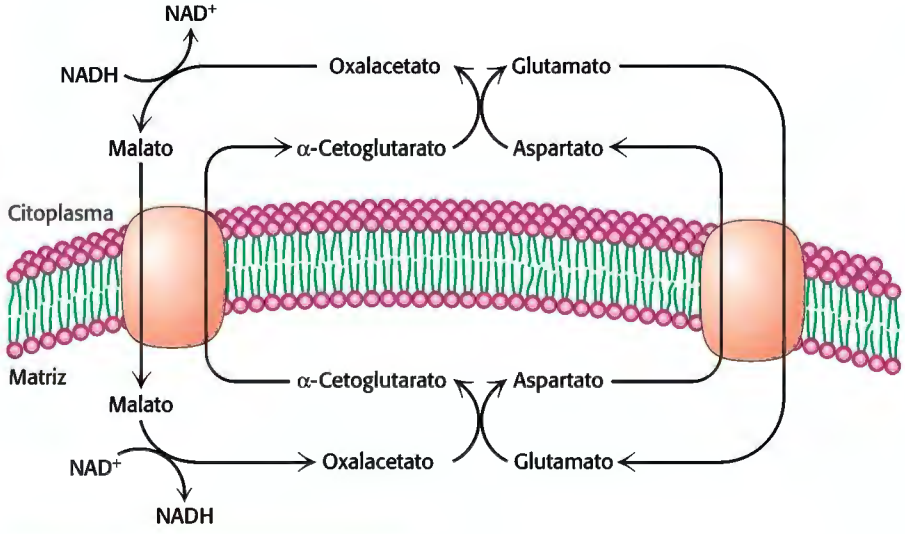
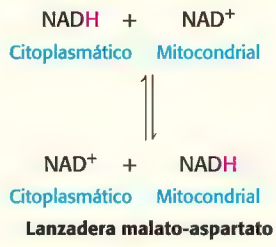


Figura 21.12 Lanzadera malato-aspartato.

oxalacetato por el NAD^+ de la matriz para formar NADH, en una reacción catalizada por la malato deshidrogenasa, una de las enzimas del ciclo del ácido cítrico. El oxalacetato resultante no atraviesa fácilmente la membrana mitocondrial interna, de manera que hace falta una reacción de transaminación (Capítulo 30) para formar aspartato, que se puede transportar al citoplasma por medio de otro antiporte, a cambio de glutamato. El glutamato cede un grupo amino al oxalacetato para formar aspartato y α-cetoglutarato. En el citoplasma, el aspartato pierde su grupo amino para formar oxalacetato, con lo que se vuelve a iniciar el ciclo.



Lanzadera malato-aspartato

La entrada del ADP a las mitocondrias está acoplada a la salida del ATP

La principal función de la fosforilación oxidativa consiste en generar ATP a partir de ADP. Sin embargo, estos nucleótidos no difunden libremente a través de la membrana mitocondrial interna. ¿Cómo atraviesan la membrana mitocondrial interna estas moléculas tan cargadas? Una proteína transportadora específica, la *ATP-ADP translocasa*, permite que estas moléculas atraviesen esta barrera de permeabilidad. Y, lo que es más importante, el flujo de ATP y el del ADP están acoplados. *El ADP entra en la matriz mitocondrial únicamente si sale ATP, y viceversa.* Este proceso lo lleva a cabo un antiporte, la translocasa.

$$ADP^{3-}_{citoplasma} + ATP^{4-}_{matriz} \longrightarrow ADP^{3-}_{matriz} + ATP^{4-}_{citoplasma}$$

La ATP-ADP translocasa es muy abundante, ya que representa aproximadamente el 15% de las proteínas de la membrana mitocondrial interna. La abundancia es una manifestación del hecho de que, cada día, los seres humanos intercambian el equivalente a su peso en ATP. La translocasa de 30 kDa contiene un único lugar de unión a nucleótidos que se orienta alternativamente hacia el lado de la matriz o hacia el lado citoplasmático de la membrana (Figura 21.13). La clave para el transporte es que el ATP tiene una carga negativa más que el ADP. Por tanto, en una mitocondria que está respirando activamente con un potencial de membrana positivo, el transporte de ATP hacia el exterior de la matriz mitocondrial y el transporte de ADP hacia el interior están favorecidos. Este intercambio ATP-ADP no está exento de un significativo coste energético; aproximadamente la cuarta parte del rendimiento energético del transporte de electrones a través de la cadena respiratoria se consume en regenerar el potencial de membrana que se pierde durante este proceso de intercambio. La inhibición de la ATP-ADP translocasa también da lugar a la ulterior inhibición de la respiración celular (p. 380).

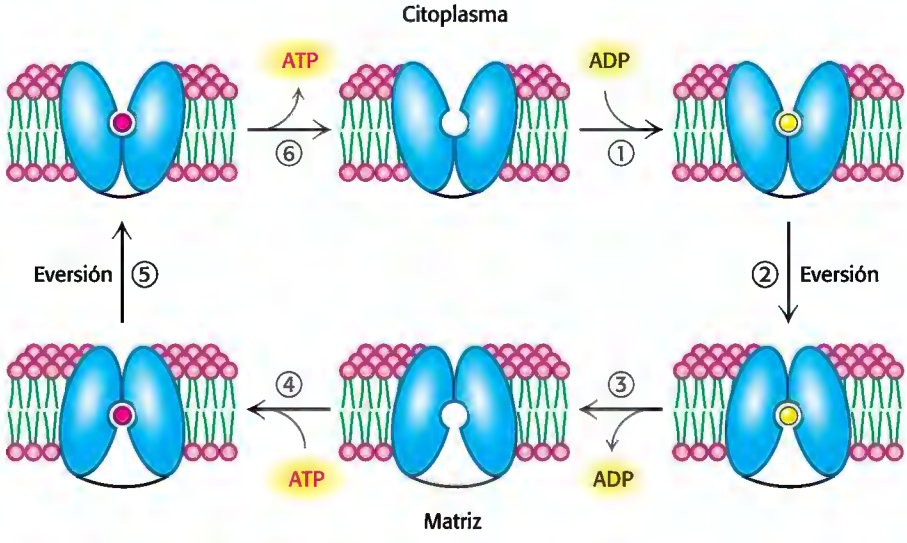


Figura 21.13 Mecanismo de la ATP-ADP translocasa mitocondrial. La translocasa cataliza la entrada de ADP a la matriz acoplada a la salida del ATP. En el citoplasma, la unión del ADP (1) favorece la eversión del transportador (2) para que libere el ADP en la matriz (3). La posterior unión del ATP de la matriz a la forma evertida (4) favorece el retorno a la conformación original (5), liberando ATP en el citoplasma (6).

Los transportadores mitocondriales permiten el intercambio de metabolitos entre el citoplasma y las mitocondrias

La ATP-ADP translocasa es tan solo uno de los muchos transportadores de iones y de moléculas cargadas de las mitocondrias (Figura 21.14). El *transportador de fosfato*, que opera de forma coordinada con la ATP-ADP translocasa, interviene en el intercambio de $H_2PO_4^-$ por OH^-. La acción combinada de estos dos transportadores da lugar al intercambio de ADP y P_i citoplasmático por ATP de la matriz, lo que supone un coste equivalente a la entrada de un H^+ (ya que se transporta un OH^- al exterior de la matriz que, al unirse a un H^+ para formar H_2O, reduce el gradiente de protones). Estos dos transportadores, que proporcionan los sustratos a la ATP sintasa, están asociados con la sintasa para formar un gran complejo denominado *ATP sintasoma*.

También hay otros transportadores en la membrana mitocondrial interna. El transportador dicarboxilato permite que el malato, el succinato y el fumarato salgan de la matriz mitocondrial a cambio de P_i. El transportador tricarboxilato intercambia citrato y H^+ por malato. El piruvato del citoplasma atraviesa la membrana mitocondrial a cambio de OH^- gracias al transportador de piruvato. En total, el genoma humano codifica más de 40 transportadores de este tipo.

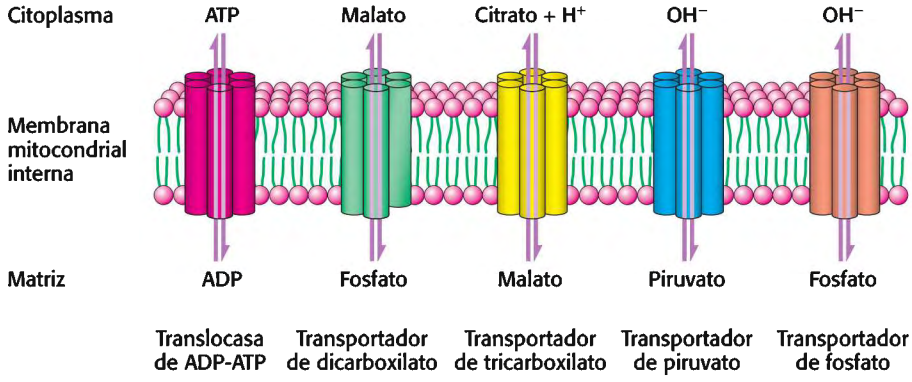


Figura 21.14 Transportadores mitocondriales. Los transportadores son proteínas transmembrana que transportan determinados iones y metabolitos cargados a través de la membrana mitocondrial interna.

✓ 4 Identificar qué es lo que determina, en última instancia, la velocidad de la respiración celular.

21.3 La respiración celular está regulada por la necesidad de ATP

En muchas ocasiones hemos observado que muchas rutas catabólicas están reguladas, de alguna forma, por la concentración de ATP. Como el ATP es el producto final de la *respiración celular*, las necesidades de ATP de las células son las que, en última instancia, determinan la velocidad de las rutas respiratorias y sus componentes.

La oxidación completa de la glucosa produce aproximadamente 30 moléculas de ATP

Ahora podemos hacer una estimación de cuántos moléculas de ATP se forman cuando la glucosa se oxida completamente a CO_2. Se trata de una "estimación" porque, a diferencia del ATP que se produce en la glucólisis o en el ciclo del ácido cítrico (que generan 4 moléculas de ATP por cada molécula de glucosa y una molécula de ATP, o de GTP, por cada molécula de piruvato, respectivamente), las estequiometrías del bombeo de protones, de la síntesis de ATP y de los procesos de transporte de metabolitos no tienen por qué ser número enteros ni siquiera tener un valor fijo. Como ya se ha comentado anteriormente, a día de hoy, las mejores estimaciones sobre el número de protones que se bombean al exterior de la matriz por parte de la NADH-Q oxidorreductasa, de la Q-citocromo *c* oxidorreductasa y de la citocromo *c* oxidasa por cada pareja de electrones son de cuatro, cuatro y dos, respectivamente. La síntesis de una molécula de ATP está impulsada por el flujo de, aproximadamente, tres protones a través de la ATP sintasa. Se consume un protón adicional para transportar el

Tabla 21.1 Producción de ATP durante la oxidación completa de la glucosa

Secuencia de reacciones	ATP producido por molécula de glucosa
Glucólisis: conversión de glucosa en piruvato (en el citoplasma)	
Fosforilación de la glucosa	−1
Fosforilación de la fructosa 6-fosfato	−1
Desfosforilación de 2 moléculas de 1,3-BPG	+2
Desfosforilación de 2 moléculas de fosfoenolpiruvato	+2
Durante la oxidación de 2 moléculas de gliceraldehído 3-fosfato se forman 2 moléculas de NADH	
Conversión de piruvato en acetil-CoA (en el interior de las mitocondrias)	
Se forman 2 moléculas de NADH	
Ciclo del ácido cítrico (en el interior de las mitocondrias)	
A partir de dos moléculas de succinil-CoA se forman 2 moléculas de ATP (o GTP)	+2
Durante la oxidación de 2 moléculas de isocitrato, 2 de α-cetoglutarato y 2 de malato se forman 6 moléculas de NADH	
Durante la oxidación de 2 moléculas de succinato se forman 2 moléculas de $FADH_2$	
Fosforilación oxidativa (en el interior de las mitocondrias)	
En la glucólisis se forman 2 moléculas de NADH; cada una produce 1,5 moléculas de ATP (suponiendo que el NADH es transportado por la lanzadera de glicerol 3-fosfato)	+3
En la descarboxilación oxidativa del piruvato se forman 2 moléculas de NADH; cada una produce 2,5 moléculas de ATP	+5
En el ciclo del ácido cítrico se forman 2 moléculas de $FADH_2$; cada una produce 1,5 moléculas de ATP	+3
En el ciclo del ácido cítrico se forman 6 moléculas de NADH; cada una produce 2,5 moléculas de ATP	+15
Rendimiento neto por molécula de glucosa	+30

Fuente: el rendimiento de ATP durante la fosforilación oxidativa se basa en los valores aportados por P. C. Hinkle, M. A. Kumar, A. Resetar y D. L. Harris. *Biochemistry* 30: 3576, 1991.
Nota: el valor actual de 30 moléculas de ATP por molécula de glucosa sustituye al anterior, de 36 moléculas de ATP. Las estequiometrías del bombeo de protones, la síntesis de ATP y el transporte de metabolitos deben considerarse como una estimación. Cuando se utiliza la lanzadera de malato-aspartato en lugar de la lanzadera de glicerol 3-fosfato, se forman, aproximadamente, dos moléculas más de ATP por cada molécula de glucosa oxidada.

ATP desde la matriz al citoplasma. Por tanto, como resultado del flujo de un par de electrones desde el NADH al O_2 se generan alrededor de 2,5 moléculas de ATP citoplasmático. En el caso de los electrones que se incorporan a través de la Q-citocromo *c* oxidorreductasa, como los que proceden de la oxidación del succinato o del NADH citoplasmático, el rendimiento es de alrededor de 1,5 moléculas de ATP por cada par de electrones. Por tanto, tal y como se ha contabilizado en la **Tabla 21.1**, *cuando la glucosa se oxida completamente a CO_2 se producen alrededor de 30 moléculas de ATP*. La mayor parte del ATP, 26 de las 30 moléculas que se forman, se genera mediante la fosforilación oxidativa. Recordemos que el metabolismo anaerobio de la glucosa solo produce 2 moléculas de ATP. La eficiencia de la respiración celular se pone de manifiesto al observar que uno de los efectos de los ejercicios de resistencia, una práctica que requiere mucho ATP durante un periodo de tiempo prolongado, consiste en aumentar el número de mitocondrias y de vasos sanguíneos en el músculo, con lo que aumenta la cantidad de ATP que se genera por medio de la fosforilación oxidativa.

La velocidad de la fosforilación oxidativa está determinada por la necesidad de ATP

¿Cómo se controla la velocidad de la cadena transportadora de electrones? En las condiciones fisiológicas más habituales, el transporte de electrones está íntimamente ligado a la fosforilación. *Normalmente, los electrones no se desplazan a través de la cadena transportadora de electrones hasta el O_2 a menos que, al mismo tiempo, el ADP se fosforile a ATP*. Cuando la concentración de ADP aumenta, como ocurriría en un músculo activo que esté continuamente consumiendo ATP, aumenta la velocidad de la fosforilación oxidativa para cubrir las necesidades de ATP de la célula. La regulación de la velocidad de la fosforilación oxidativa por el nivel de ADP se denomina

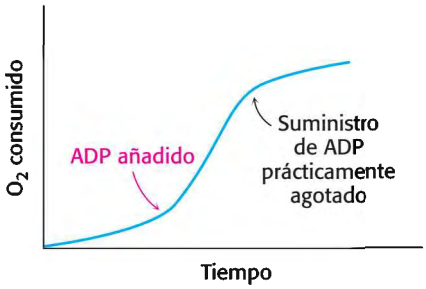


Figura 21.15 Control respiratorio. Solo se transfieren electrones al O_2 si, al mismo tiempo, el ADP se fosforila a ATP.

control respiratorio o *control por medio del aceptor*. Experimentos realizados con mitocondrias aisladas han demostrado la importancia del nivel de ADP (**Figura 21.15**). La velocidad del consumo de oxígeno por parte de las mitocondrias aumenta notablemente cuando se añade ADP y, a continuación, vuelve a su valor inicial cuando el ADP añadido se ha convertido en ATP.

Tal y como se comentó en el Capítulo 19, el nivel de ADP también afecta de forma indirecta a la velocidad del ciclo del ácido cítrico. A concentraciones bajas de ADP, como cuando el músculo está en reposo, el NADH y el $FADH_2$ producidos por el ciclo del ácido cítrico no se oxidan a NAD^+ y FAD por la cadena transportadora de electrones. El ciclo del ácido cítrico se ralentiza porque hay menos NAD^+ y FAD para hacer que el ciclo funcione. A medida que el nivel de ADP aumenta y la fosforilación oxidativa se acelera, el NADH y el $FADH_2$ se oxidan y el ciclo del ácido cítrico se vuelve más activo. *Los electrones no fluyen desde las moléculas combustible hacia el O_2 a menos que se tenga que sintetizar ATP*. Aquí vemos otro ejemplo de la importancia reguladora de la carga energética (**Figura 21.16**).

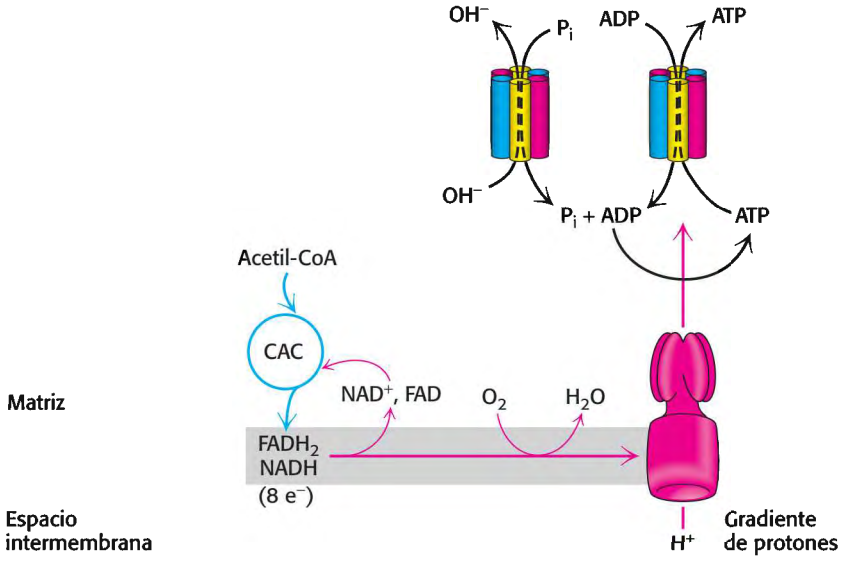


Figura 21.16 La carga energética regula el uso de los combustibles. La síntesis de ATP a partir de ADP y P_i controla el flujo de electrones desde el NADH y el $FADH_2$ al oxígeno. A su vez, la disponibilidad de NAD^+ y FAD controla la velocidad del ciclo del ácido cítrico (CAC).

Aspecto biológico

El desacoplamiento regulado da lugar a la generación de calor

Algunos organismos poseen la capacidad de desacoplar la fosforilación oxidativa de la síntesis de ATP para generar calor. Este desacoplamiento es una forma de mantener la temperatura corporal en el caso de los animales que hibernan, en algunos animales recién nacidos (ser humano incluido) y en mamíferos adaptados al frío. En los animales, la *grasa parda* (el tejido adiposo pardo) es un tejido especializado en este proceso de *termogénesis sin tiritera*. El tejido adiposo pardo es muy rico en mitocondrias, las denominadas *mitocondrias de la grasa parda*. La membrana mitocondrial interna de estas mitocondrias contiene una gran cantidad de *proteína desacoplante 1*

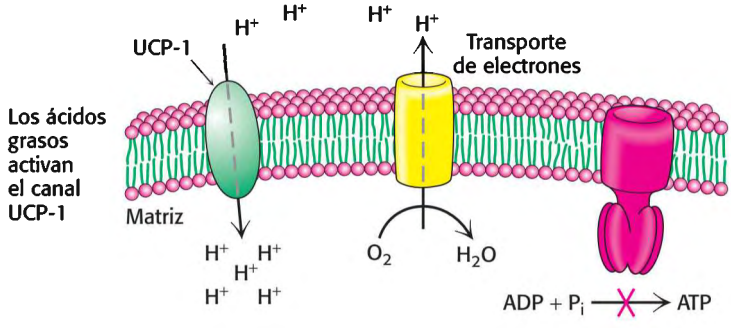


Figura 21.17 Acción de una proteína desacoplante. La proteína desacoplante 1 (UCP-1) genera calor permitiendo la entrada de protones a la mitocondria sin que se sintetice ATP.

(UCP-1), también denominada *termogenina*. La UCP-1 forma una ruta para el flujo de protones desde el citoplasma a la matriz. Básicamente, *la UCP-1 genera calor cortocircuitando la batería de protones de la mitocondria*. A medida que los protones fluyen a través de UCP-1 hacia la matriz mitocondrial, la energía del gradiente de protones, que normalmente se transforma en ATP, se libera en forma de calor. Esta ruta disipadora de protones se activa cuando la temperatura interna del organismo comienza a descender. En respuesta a un descenso de la temperatura, se segregan hormonas que provocan la liberación de los ácidos grasos presentes en los triacilgliceroles que, a su vez, activan la termogenina (**Figura 21.17**).

Observando el comportamiento de los cerdos podemos ser testigos de los efectos de la ausencia de termogénesis sin tiritera. Los cerdos son mamíferos atípicos porque sus camadas son numerosas y porque son los únicos ungulados (animales con pezuña) que preparan nidos para el parto (**Figura 21.18**). Estas características de su comportamiento parecen ser el resultado de una insuficiencia bioquímica. Los cerdos carecen de UCP-1 y, por tanto, de grasa parda. Los lechones tienen que recurrir a otras formas de termogénesis. Hacer un nido, una camada numerosa y tiritar son métodos que permiten a los cerdos compensar la falta de grasa parda.



Figura 21.18 Nido de lechones. La figura muestra un jabalí salvaje, que es un miembro de la familia de los cerdos, con sus lechones en un nido. [Duncan Usher/Alamy Images.]

Hasta hace poco se creía que los seres humanos adultos carecían de tejido adiposo pardo. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que los adultos, especialmente las mujeres, poseen tejido adiposo pardo en el cuello y en las regiones superiores del pecho y que se activa por el frío (**Figura 21.19**). La obesidad da lugar a una disminución del tejido adiposo pardo. ■



Figura 21.19 La exposición al frío permite visualizar el tejido adiposo pardo. Los resultados obtenidos con un escáner de TEP-TC (tomografía de emisión de positrones y tomografía computarizada) muestran la absorción y distribución de ^{18}F-fluorodesoxiglucosa (^{18}F-FDG), un análogo de la glucosa que no se metaboliza, en el tejido adiposo. En un mismo sujeto, los patrones de absorción de ^{18}F-FDG son radicalmente distintos en condiciones térmicas neutras (izquierda) y tras la exposición al frío (derecha). [Cortesía de Wouter van Marken Lichtenbelt. Copyright 2009 Massachusetts Medical Society. Todos los derechos reservados.]

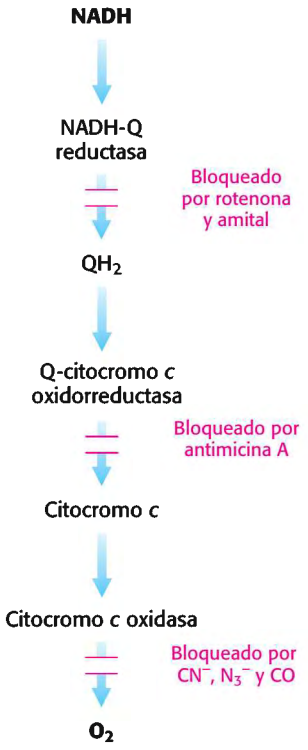


Figura 21.20 Lugares de acción de algunos inhibidores del transporte de electrones.

La fosforilación oxidativa se puede inhibir en muchos puntos

Muchos venenos potentes y letales actúan inhibiendo la fosforilación oxidativa en alguno de los siguientes puntos.

Inhibición de la cadena transportadora de electrones. Los cuatro complejos de la cadena transportadora de electrones se pueden inhibir mediante diversos compuestos que bloquean la transferencia de electrones a través de la cadena y, de este modo, desactivan la fosforilación oxidativa. La NADH-Q oxidorreductasa (Complejo I) se inhibe por la *rotenona*, que se utiliza como veneno para peces e insectos, y por el *amital*, un barbitúrico con efectos sedantes. Los inhibidores del Complejo I evitan la utilización de NADH como sustrato (Figura 21.20). La exposición a la rotenona, junto con una predisposición genética, se ha relacionado con el desarrollo de la enfermedad de Parkinson, un trastorno que se caracteriza por temblores en estado de reposo, lentitud de movimientos, incapacidad de iniciar el movimiento, rigidez e inestabilidad postural. La inhibición del Complejo I no impide el flujo de los electrones procedentes del $FADH_2$ porque estos electrones se incorporan a través de QH_2, más allá del lugar que está bloqueado. La Q-citocromo *c* oxidoreductasa (Complejo III) se inhibe por *antimicina A*, un antibiótico que se obtiene a partir de *Streptomyces* y que se utiliza como veneno para peces. Además, el flujo de electrones a través de la citocromo *c* oxidasa (Complejo IV) se puede bloquear por medio de *cianuro* (CN^-), *azida* (N_3^-) y *monóxido de carbono* (CO). El cianuro y la azida reaccionan con la forma férrica (Fe^{3+}) del grupo hemo a_3, mientras que el monóxido de carbono inhibe la forma ferrosa (Fe^{2+}). La inhibición de la cadena transportadora de electrones también inhibe la síntesis de ATP porque ya no se puede generar la fuerza protón-motriz.

Inhibición de la ATP sintasa. La *oligomicina*, un antibiótico utilizado como agente antifúngico, y la diciclohexilcarbodiimida (DCCD), utilizada para la síntesis de péptidos en el laboratorio, impiden la entrada de protones a través de la ATP sintasa. Si se exponen mitocondrias que están respirando activamente a un inhibidor de la ATP sintasa, la cadena transportadora de electrones deja de funcionar. Esta observación demuestra con claridad que, normalmente, el transporte de electrones y la síntesis de ATP están estrechamente acoplados.

Desacoplamiento entre el transporte de electrones y la síntesis de ATP. El estrecho acoplamiento que existe entre el transporte de electrones y la fosforilación en las mitocondrias se puede desacoplar por medio de *2,4-dinitrofenol* (DNP) y otros compuestos aromáticos ácidos. Estas sustancias transportan protones a través de la membrana mitocondrial interna, a favor de su gradiente de concentración. En presencia de estos desacoplantes, el transporte de electrones desde el NADH al O_2 se produce con normalidad, pero la ATP sintasa mitocondrial no forma ATP porque la fuerza protón-motriz que se establece a través de la membrana mitocondrial interna se está disipando continuamente. Esta pérdida de control respiratorio da lugar a un incremento en el consumo de oxígeno y a la oxidación del NADH. De hecho, al ingerir desacoplantes de forma accidental se consumen grandes cantidades de combustibles metabólicos pero no se recupera energía en forma de ATP. En vez de ello, la energía se libera en forma de calor. El DNP es el ingrediente activo de algunos herbicidas y fungicidas. Curiosamente, algunas personas consumen DNP como fármaco adelgazante a pesar de que la Agencia Federal de Alimentos y Medicamentos (FDA) prohibió su uso en 1938. También existen informes de que se administró DNP a los soldados soviéticos para mantenerlos calientes durante los largos inviernos rusos. Los desacoplantes químicos son los homólogos no fisiológicos y no regulados de las proteínas desacoplantes.

Inhibición de la exportación del ATP. La ATP-ADP translocasa se inhibe de forma específica por bajas concentraciones de *atractilósido* (un glicósido de origen vegetal) o de *ácido bongcréquico* (un antibiótico extraído de un moho). El atractilósido se une a la translocasa cuando su lugar de unión a nucleótidos está orientado hacia el citoplasma, mientras que el ácido bongcréquico se une cuando este mismo sitio está orientado hacia la matriz mitocondrial. La fosforilación oxidativa se detiene poco

después de añadir cualquiera de estos inhibidores, lo que demuestra que la ATP-ADP translocasa es esencial para el mantenimiento de una cantidad de ADP adecuada para aceptar la energía asociada a la fuerza protón-motriz.

Aspecto clínico

Se está descubriendo un número cada vez mayor de enfermedades mitocondriales

El número de enfermedades que se pueden atribuir a mutaciones mitocondriales está aumentando de forma constante, al mismo ritmo que nuestros conocimientos cada vez más amplios de la bioquímica y la genética de las mitocondrias. Se ha estimado que la prevalencia de las enfermedades mitocondriales es de entre 10 y 15 casos por cada 100.000 personas, una frecuencia que es prácticamente equivalente a la de las distrofias musculares. La primera enfermedad mitocondrial conocida fue la *neuropatía óptica hereditaria de Leber* (cuyo acrónimo inglés es LHON), una forma de ceguera que aparece en la madurez como resultado de mutaciones en el Complejo I. Algunas de estas mutaciones impiden la utilización del NADH, mientras que otras bloquean la transferencia de electrones a Q. Las mutaciones en el Complejo I son la causa más frecuente de las enfermedades mitocondriales, aunque se han descubierto mutaciones en prácticamente todos los componentes mitocondriales. La acumulación de mutaciones en los genes mitocondriales durante un periodo de varias décadas puede contribuir al envejecimiento, enfermedades degenerativas y cáncer. Los defectos en la respiración celular son doblemente peligrosos. No solo se reduce la transducción de energía sino que también aumenta la probabilidad de que se generen especies reactivas del oxígeno. Los órganos que dependen en gran medida de la fosforilación oxidativa, como el sistema nervioso y el corazón, son los más vulnerables a las mutaciones en el DNA mitocondrial. ■

La transmisión de energía por medio de gradientes de protones es un concepto clave de la bioenergética

El concepto más importante que se ha expuesto en este capítulo es que, en las mitocondrias, la transferencia de electrones y la síntesis de ATP están acopladas por medio de un gradiente de protones a través de la membrana. En bacterias y cloroplastos, la síntesis de ATP también está impulsada por gradientes de protones. De hecho, los gradientes de protones impulsan una serie de procesos que requieren energía, como, por ejemplo, el transporte activo de iones calcio por parte de las mitocondrias, la entrada de algunos aminoácidos y azúcares en las bacterias, la rotación de los flagelos bacterianos y la transferencia de electrones desde el $NADP^+$ al NADPH. Como ya hemos visto, los gradientes de protones también se pueden utilizar para generar calor. Resulta evidente que, *en los sistemas biológicos, los gradientes de protones son la principal moneda de energía libre interconvertible* (**Figura 21.21**). Mitchell se percató de que la fuerza protón-motriz es una forma maravillosamente simple y eficaz de almacenar energía libre porque tan solo requiere una fina membrana lipídica cerrada que separe dos fases acuosas.

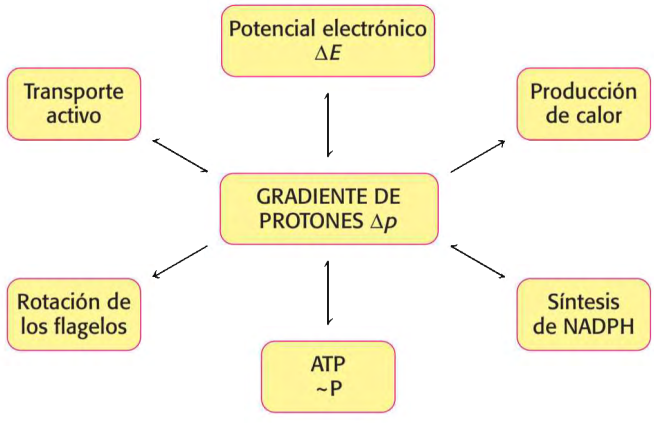


Figura 21.21 El gradiente de protones es una forma interconvertible de energía libre.

Resumen

21.1 Un gradiente de protones impulsa la síntesis de ATP

El flujo de electrones a través de los complejos I, III y IV de la cadena transportadora de electrones da lugar a la transferencia de protones desde el lado de la matriz hacia el lado citoplasmático de la membrana mitocondrial interna. Se genera una fuerza protón-motriz que está formada por un gradiente de pH (básico en el lado de la matriz) y un potencial de membrana (negativo en el lado de la matriz). El retorno de los protones a la matriz a través de la ATP sintasa impulsa la síntesis de ATP. El complejo enzimático es un motor molecular formado por dos unidades operacionales: un componente rotatorio y un componente estático. La rotación de la subunidad γ provoca cambios estructurales en la subunidad β que dan lugar a la síntesis y liberación de ATP por parte de la enzima. La entrada de protones proporciona la fuerza para la rotación.

El flujo de dos electrones a través de la NADH-Q oxidorreductasa, la Q-citocromo *c* oxidorreductasa y la citocromo *c* oxidasa genera un gradiente capaz de sintetizar 1, 1 y 0,5 moléculas de ATP, respectivamente. Por tanto, por cada molécula de NADH que se oxida en la matriz mitocondrial se forman 2,5 moléculas de ATP, mientras que por cada molécula de $FADH_2$ que se oxida solo se forman 1,5 moléculas de ATP porque sus electrones se incorporan a la cadena por medio de QH_2, que está después del primer lugar de bombeo de protones.

21.2 Las lanzaderas permiten el movimiento a través de las membranas mitocondriales

Las mitocondrias utilizan un conjunto de transportadores para mover moléculas a través de la membrana mitocondrial interna. Los electrones del NADH citoplasmático se transfieren a la mitocondria por medio de la lanzadera de glicerol 3-fosfato, con lo que se forma $FADH_2$ a partir de FAD, o por la lanzadera malato aspartato, con lo que se forma NADH mitocondrial. La entrada de ADP a la matriz mitocondrial está acoplada a la salida de ATP gracias a la ATP-ADP translocasa, un transportador impulsado por el potencial de membrana.

21.3 La respiración celular está regulada por la necesidad de ATP

Cuando una molécula de glucosa se oxida completamente a CO_2 y H_2O, se generan alrededor de 30 moléculas de ATP. Normalmente, el transporte de electrones se encuentra íntimamente acoplado a la fosforilación. El NADH y el $FADH_2$ solo se oxidan si, al mismo tiempo, el ADP se fosforila a ATP, una forma de regulación denominada control respiratorio o control por medio del aceptor. Se han identificado proteínas que desacoplan el transporte de electrones y la síntesis de ATP para generar calor. Los desacoplantes, como el 2,4-dinitrofenol, también pueden interrumpir este acoplamiento; disipan el gradiente de protones transportando protones a través de la membrana mitocondrial interna.

Términos clave

ATP sintasa (Complejo V, ATPasa F_1F_0) (p. 368)
fuerza protón-motriz (p. 368)
cadena transportadora de electrones (p. 368)
lanzadera de glicerol 3-fosfato (p. 374)
lanzadera malato-aspartato (p. 374)
ATP-ADP translocasa (translocasa de nucleótidos de adenina, ANT) (p. 375)
respiración celular (p. 376)
control respiratorio (por medio del aceptor) (p. 377)
proteína desacoplante 1 (UCP-1) (p. 378)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Recordemos que, al estudiar las reacciones catalizadas por enzimas, se comentó que la dirección de una reacción está determinada por el ΔG entre el sustrato y los productos. Una enzima acelera la velocidad de las reacciones tanto en un sentido como en el otro. La hidrólisis del ATP es exergónica y, por tanto, la ATP sintasa intensificará la reacción hidrolítica.

2. El número de subunidades **c** es importante porque determina el número de protones que hay que transportar para generar una molécula de ATP. La ATP sintasa tiene que rotar 360 grados para sintetizar tres moléculas de ATP; por tanto, cuantas más subunidades **c** haya, más protones se necesitarán para hacer que F_1 gire 360 grados.

Problemas

1. *Reciclando recursos.* Los seres humanos tienen tan solo unos 250 g de ATP, pero incluso alguien que esté todo el día tumbado en el sofá necesita alrededor de 83 kg de ATP para abrir la bolsa de patatas fritas y utilizar el mando a distancia. ¿Cómo se explica esta diferencia entre las necesidades y los recursos?

2. *Barbie y Ken.* Asigne a cada término la descripción correspondiente.

(a) ATP sintasa _____
(b) Fuerza protón-motriz _____
(c) Cadena transportadora de electrones _____
(d) Lanzadera de glicerol 3-fosfato _____
(e) Lanzadera malato-aspartato _____
(f) Control respiratorio (por medio del aceptor) _____
(g) Proteína desacoplante _____
(h) Subunidad F_1 _____
(i) Subunidad F_0 _____
(j) Anillo **c** _____

1. Intercambia NADH citoplasmático por $FADH_2$ mitocondrial
2. Genera calor en lugar de ATP
3. Subunidad catalítica
4. Convierte la fuerza protón-motriz en ATP
5. Canal de protones
6. Formada por un gradiente químico y un gradiente de carga
7. Un tiovivo de protones
8. Genera el gradiente de protones
9. El ADP controla la velocidad de respiración
10. Intercambia NADH citoplasmático por NADH mitocondrial

3. *Cosecha energética.* ¿Cuál es el rendimiento de ATP cuando cada uno de los siguientes sustratos se oxida por completo a CO_2 por medio de un homogenado de células de mamífero? Suponga que la glucólisis, el ciclo del ácido cítrico y la fosforilación oxidativa funcionan a pleno rendimiento.

(a) Piruvato
(b) Lactato
(c) Fructosa 1,6-bisfosfato
(d) Fosfoenolpiruvato
(e) Galactosa
(f) Dihidroxiacetona fosfato

4. *Venenos potentes.* ¿Cuál es el efecto de cada uno de los siguientes inhibidores sobre el transporte de electrones y la formación de ATP por la cadena respiratoria?

(a) Azida
(b) Atractilósido
(c) Rotenona
(d) DNP
(e) Monóxido de carbono
(f) Antimicina A

5. *Cuestión de acoplamiento.* ¿Qué mecanismo explica el hecho de que los inhibidores de la ATP sintasa también inhiban la cadena transportadora de electrones? ✓ 3

6. *Consumo de O_2.* En las mitocondrias, es frecuente monitorizar la fosforilación oxidativa midiendo el consumo de oxígeno. Cuando la fosforilación oxidativa está funcionando rápidamente, las mitocondrias consumirán rápidamente el oxígeno. Si hay poca fosforilación oxidativa, solo se utilizará una pequeña cantidad de oxígeno. Suponga que le ofrecen una suspensión de mitocondrias aisladas y se le indica que añada los siguientes compuestos en orden: del *a* al *h*. Al añadir cada compuesto, los compuestos previamente añadidos siguen estando presentes. Pronostique el efecto de cada adición sobre el consumo de oxígeno por parte de las mitocondrias aisladas.

(a) Glucosa
(b) ADP + P_i
(c) Citrato
(d) Oligomicina
(e) Succinato
(f) 2,4-Dinitrofenol
(g) Rotenona
(h) Cianuro

7. *Mitocondrias fuera de control 1.* El número de moléculas de fosfato inorgánico que se incorporan a compuestos orgánicos por cada átomo de oxígeno consumido es lo que se denomina *cociente P:O*, y se utilizaba a menudo como indicador de la fosforilación oxidativa. Suponga que las mitocondrias de un paciente oxidan NADH independientemente de que haya o no ADP. En estas mitocondrias, el cociente P:O de la fosforilación oxidativa es menor de lo normal. Pronostique los síntomas más probables de este trastorno.

8. *Un residuo esencial.* La conducción de protones por la unidad F_0 de la ATP sintasa se bloquea al modificar una única cadena lateral por medio de la diciclohexilcarbodiimida. ¿Cuáles son las dianas más probables para la actuación de este reactivo? ¿Cómo se podría utilizar la mutagénesis dirigida para determinar si este residuo es esencial para la conducción de los protones? ✓ 3

9. *Mitocondrias fuera de control 2.* Hace años, se sugirió que los desacoplantes podrían ser maravillosos fármacos para adelgazar. Explique por qué se propuso esta idea y por qué fue rechazada. ¿Por qué apoyarían esta idea los fabricantes de antitranspirantes?

10. *Procesos acoplados.* Si se exponen mitocondrias que están respirando activamente a un inhibidor de la ATP sintasa, la cadena transportadora de electrones deja de funcionar. ¿Por qué?

11. *Se lo llevó la corriente.* ¿Cuál es el papel de los protones en la síntesis de ATP por parte de la ATP sintasa F_1F_0? ✓ 3 y 4

12. *Los opuestos se atraen.* Un residuo de arginina (Arg 210) de la subunidad **a** de la ATP sintasa está cerca del residuo de aspartato (Asp 61) en el canal de protones que está comunicado con la matriz. ¿Cómo podría la Arg 210 ayudar al flujo de protones? ✓ 3

13. *Subunidades c variables.* Recordemos que el número de subunidades **c** del anillo **c** parece estar comprendido entre 8 y 15. Este número es importante porque determina el número de protones que se tienen que transportar para generar una molécula de ATP. Cada rotación de 360 grados de la subunidad γ da lugar a la síntesis y liberación de tres moléculas de ATP. Por tanto, si hay 10 subunidades **c** en el anillo (tal y como se ha observado en una estructura cristalina de la ATPasa de mitocondrias de levadura), cada ATP generado necesita el transporte de 10/3 = 3,33 protones. ¿Cuántos protones se necesitan para formar ATP si el anillo tiene 8 subunidades **c**? ¿Y si tiene 12? ¿Y si tiene 15? ✓ 3

14. *A cada cual, según sus necesidades.* Se ha observado que, a menudo, las mitocondrias de las células musculares presentan más crestas que las mitocondrias de las células hepáticas. Sugiera una explicación. ✓ 4

15. *Todo está conectado.* Si se exponen mitocondrias que están respirando activamente a un inhibidor de la ATP-ADP translocasa, la cadena transportadora de electrones se detiene. ¿Por qué? ✓ 4

16. *Exagerando la diferencia.* ¿Por qué la ATP-ADP translocasa tiene que utilizar formas de ATP y de ADP libres de Mg^{2+}? ✓ 4

17. *Carraca browniana.* ¿Qué es lo que provoca la rotación de las subunidades **c** de la ATP sintasa? ¿Qué es lo que determina el sentido de giro? ✓ 3

18. *Multiuso.* Cite un ejemplo del uso de la fuerza protón-motriz que no sea la síntesis de ATP.

19. *Conexiones.* ¿Cómo afecta la inhibición de la ATP-ADP translocasa al ciclo del ácido cítrico? ¿Y a la glucólisis aeróbica? ✓ 4

20. *Control respiratorio.* La velocidad de consumo de oxígeno por parte de las mitocondrias aumenta notablemente cuando se añade ADP para descender después hasta su valor inicial cuando el ADP añadido se ha convertido en ATP (ver la Figura 21.15). ¿Por qué disminuye la velocidad? ✓ 4

21. *Lo mismo, pero distinto.* ¿Por qué el intercambio eléctricamente neutro de $H_2PO_4^-$ por OH^- es indistinguible del simporte eléctricamente neutro de $H_2PO_4^-$ y H^+?

22. *En contra de lo que cabría esperar.* En determinadas condiciones, se ha observado que la ATP sintasa mitocondrial opera en sentido inverso. ¿Cómo afectaría esta situación a la fuerza protón-motriz?

23. *No es un rumor sino una evidencia.* Describa las evidencias que respaldan la hipótesis quimiosmótica. ✓ 3

24. *Imposición de un gradiente.* Los mitoplastos son mitocondrias que carecen de la membrana externa pero que siguen siendo capaces de llevar a cabo la fosforilación oxidativa. Suponga que introduce mitoplastos en un tampón a pH 7 durante varias horas. A continuación, recupera rápidamente los mitoplastos y los introduce en un tampón a pH 4 que contiene ADP y P_i. ¿Se sintetizaría ATP? Explique por qué. ✓ 3

Problemas de integración de capítulos

25. *Obedeciendo las leyes de la termodinámica.* ¿Por qué las subunidades F_1 aisladas tendrán actividad ATPasa pero no actividad ATP sintasa? Entonces, ¿por qué la enzima funciona en las mitocondrias como una ATP sintasa?

26. *¿Etiología? ¿Qué quiere decir eso?* La rotenona aumenta la susceptibilidad a la enfermedad de Parkinson. ¿Qué indica este hecho sobre la etiología de esta enfermedad?

27. *El lugar correcto.* Algunas quinasas citoplasmáticas, enzimas que fosforilan sustratos a costa del ATP, se unen a canales aniónicos dependientes del voltaje (VDAC, p. 351). ¿Cuál es la ventaja de este tipo de unión?

28. *Sin intercambio.* Mediante la técnica del "*knockout*" se pueden generar ratones que carecen por completo de la ATP-ADP translocasa (ANT^-/ ANT^-). Curiosamente, estos ratones son viables pero presentan los siguientes estados patológicos: (1) niveles elevados de lactato, alanina y succinato en la sangre; (2) poco transporte de electrones y (3) los niveles de H_2O_2 en las mitocondrias son entre 6 y 8 veces más altos de los observados en ratones normales. Sugiera una posible explicación bioquímica para cada uno de estos síntomas. ✓ 4

29. *Rutas alternativas.* La señal metabólica más habitual de un trastorno mitocondrial es la acidosis láctica. ¿Por qué? ✓ 4

Problema de interpretación de datos para atrevidos

30. *Enfermedad mitocondrial.* Se ha identificado una mutación en un gen mitocondrial que codifica un componente de la ATP sintasa. Las personas que presentan esta mutación padecen debilidad muscular, ataxia y retinitis pigmentosa. Se realizaron biopsias de los tejidos de tres pacientes que presentaban esta mutación y se aislaron partículas submitocondriales que eran capaces de sintetizar ATP a partir de succinato. En primer lugar, se midió la actividad de la ATP sintasa tras la adición de succinato y se obtuvieron los siguientes resultados.

Actividad ATP sintasa (nmoles de ATP formados min^{-1} mg^{-1})	
Controles	3,0
Paciente 1	0,25
Paciente 2	0,11
Paciente 3	0,17

(a) ¿Con qué fin se añadió el succinato?
(b) ¿Cuál es el efecto de la mutación sobre la síntesis de ATP asociada al succinato?

A continuación, se midió la actividad ATPasa de la enzima incubando las partículas submitocondriales con ATP en ausencia de succinato.

Hidrólisis de ATP (nmoles de ATP hidrolizados min^{-1} mg^{-1})	
Controles	33
Paciente 1	30
Paciente 2	25
Paciente 3	31

(c) ¿Por qué se excluye al succinato de la reacción?
(d) ¿Cuál es el efecto de la mutación sobre la hidrólisis del ATP?
(e) ¿Qué indican estos resultados, junto con los del primer experimento, sobre la naturaleza de la mutación?

Problemas para atrevidos

31. *Cocientes P:O.* El cociente P:O se puede utilizar para monitorizar la fosforilación oxidativa (ver el problema 7).
(a) ¿Qué relación hay entre el cociente P:O, el cociente $H^+/2e^-$ (el número de protones translocados por cada par de electrones) y el cociente P/H^+ (el número de protones necesarios para sintetizar ATP y transportarlo al citoplasma)?
(b) ¿Cuál es el cociente P:O en el caso de los electrones cedidos por el NADH de la matriz? ¿Y en el caso de los electrones cedidos por el succinato?

32. *Antídoto para el cianuro.* La administración inmediata de nitrito es un tratamiento muy eficaz para el envenenamiento por cianuro. ¿En qué se basa la actuación de este antídoto? (Pista: el nitrito oxida la ferrohemoglobina a ferrihemoglobina.)

33. *Cambio de divisas.* Para una fuerza protón-motriz de 0,2 V (negativa en la matriz), ¿cuál es la máxima proporción [ATP]/[ADP][P_i] compatible con la síntesis de ATP? Calcule esta proporción tres veces, suponiendo que el número de protones translocados por cada ATP formada sea de dos, tres y cuatro, y que la temperatura sea de 25 °C. ✓ 3

34. *Identificando la inhibición.* Se le pide que determine si un producto químico es un inhibidor de la cadena transportadora de electrones o un inhibidor de la ATP sintasa. Diseñe un experimento para hacer esta comprobación.

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.



Capítulo 22: Las reacciones luminosas



Capítulo 23: El ciclo de Calvin

SECCIÓN 10

Las reacciones luminosas de la fotosíntesis y el ciclo de Calvin

A cada momento, el Sol libera una inconmensurable cantidad de energía. La mayor parte de esta energía simplemente irá a parar para siempre, inútilmente, al espacio exterior, un dramático ejemplo de que la entropía es inevitable. Sin embargo, la Tierra se encuentra inmersa en este resplandor celestial a medida que realiza su viaje anual alrededor del Sol. La energía del Sol se presenta en un amplio espectro de radiación electromagnética, siendo una parte de este espectro especialmente importante para la vida en la Tierra —la región comprendida entre 380 y 750 nm—, es decir, la luz visible.

En nuestro planeta hay organismos capaces de captar la energía electromagnética del espectro visible y convertirla en energía química. Las plantas verdes son los organismos más obvios de este tipo, aunque el 60% de esta conversión lo llevan a cabo algas y bacterias. Esta transformación es quizás la más importante de todas las transformaciones energéticas que veremos a lo largo de nuestro estudio de la bioquímica; sin ella, la vida en nuestro planeta, tal y como la conocemos, sencillamente no podría existir. Si las plantas dejasen de convertir la energía de la luz en energía química, todas las formas de vida superiores se extinguirían en unos 25 años.

El proceso de convertir la radicación electromagnética en energía química se denomina *fotosíntesis*, que utiliza la energía del Sol para convertir dióxido de carbono y agua en carbohidratos y oxígeno. Estos carbohidratos no solo proporcionan energía para mover el mundo biológico sino que también suministran moléculas carbonadas para la fabricación de una amplia gama de biomoléculas. Los organismos fotosintéticos se denominan *autótrofos* (literalmente, "que se alimentan de forma autónoma") porque

pueden sintetizar glucosa a partir de dióxido de carbono y agua, utilizando la luz del Sol como fuente de energía y, posteriormente, recuperar parte de la energía contenida en la glucosa sintetizada mediante la ruta glucolítica y el metabolismo aeróbico. Los organismos que obtienen energía únicamente a partir de combustibles químicos se denominan *heterótrofos* y dependen, en última instancia, de los autótrofos para obtener su combustible.

Podemos considerar que la fotosíntesis consta de dos partes: las reacciones luminosas y las reacciones oscuras. En las *reacciones luminosas*, la energía de la luz de transforma en dos formas de energía bioquímica con las que ya nos hemos familiarizado: poder reductor y ATP. Posteriormente, los productos de las reacciones luminosas son utilizados por las reacciones oscuras para impulsar la reducción de CO_2 y su conversión en glucosa y otros azúcares. Las reacciones oscuras también se denominan el *ciclo de Calvin* o las *reacciones independientes de la luz.*

Al igual que la respiración tiene lugar en las mitocondrias, la fotosíntesis tiene lugar en unos orgánulos especializados, los *cloroplastos*. Estudiaremos el cloroplasto y, a continuación, seguiremos con las reacciones luminosas de la fotosíntesis. Muchos de los principios bioquímicos que se aplican a la fosforilación oxidativa también se aplican a la fotosíntesis. Por último, analizaremos el ciclo de Calvin para aprender cómo se utilizan los productos de las reacciones luminosas para sintetizar glucosa.

✓ Al final de esta sección, usted debería ser capaz de:

- ✓ 1 Describir las reacciones luminosas.
- ✓ 2 Identificar los productos clave de las reacciones luminosas.
- ✓ 3 Explicar cómo se mantiene el equilibrio redox durante las reacciones luminosas.
- ✓ 4 Explicar la función del ciclo de Calvin.
- ✓ 5 Describir cómo se coordinan las reacciones luminosas y el ciclo de Calvin.

CAPÍTULO 22

Las reacciones luminosas

22.1 La fotosíntesis tiene lugar en los cloroplastos

22.2 La fotosíntesis transforma la energía de la luz en energía química

22.3 Dos fotosistemas generan un gradiente de protones y NADPH

22.4 Un gradiente de protones impulsa la síntesis de ATP



Un campo de cebada al atardecer. A lo largo del día, la cebada ha estado convirtiendo la luz del Sol en energía química gracias al proceso bioquímico de la fotosíntesis. Como la cebada es uno de las principales cultivos dedicados a la alimentación animal, la energía del Sol no tardará mucho en llegar hasta los seres humanos a través de la cadena alimenticia. [Photodisc/Alamy.]

En las secciones 8 y 9, vimos que el ATP se genera mediante la respiración celular, la oxidación de los átomos de carbono de los carbohidratos, especialmente la glucosa, a CO_2 con la reducción del O_2 a agua. En la fotosíntesis, se invierte este proceso —se reduce el CO_2 y se oxida el H_2O para sintetizar glucosa.

$$\text{Energía} + 6\,H_2O + 6\,CO_2 \xrightarrow{\text{Fotosíntesis}} C_6H_{12}O_6 + 6\,CO_2$$

$$C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 \xrightarrow{\text{Respiración celular}} 6\,O_2 + 6\,H_2O + \text{energía}$$

Aunque los procesos de respiración y fotosíntesis son químicamente opuestos entre sí, los principios bioquímicos que dirigen los dos procesos son prácticamente idénticos. La clave de ambos procesos es la generación de electrones de alta energía. El ciclo del ácido cítrico oxida combustibles carbonados a CO_2 generando electrones de alta energía. El flujo de estos electrones a través de la cadena transportadora de energía genera una fuerza protón-motriz. Posteriormente, la ATP sintasa transduce esta fuerza protón-motriz para formar ATP. Para sintetizar glucosa a partir de

CO_2, se necesitan electrones de alta energía con dos fines: (1) para suministrar poder reductor para la reducción del CO_2 y (2) para generar ATP que impulse la reducción. ¿Cómo se pueden generar electrones de alta energía sin utilizar un combustible químico? *La fotosíntesis utiliza la energía de la luz para llevar los electrones desde un estado de baja energía a un estado de alta energía.* En el estado de alta energía, que es inestable, las moléculas colindantes pueden apropiarse de los electrones excitados. Después, estos electrones se utilizan directamente para producir poder reductor para la biosíntesis en forma de NADPH y se utilizan, indirectamente, por medio de una cadena transportadora de electrones que genera una fuerza protón-motriz a través de una membrana, para impulsar la síntesis de ATP. Las reacciones impulsadas por la luz del Sol se denominan *reacciones luminosas* (Figura 22.1).

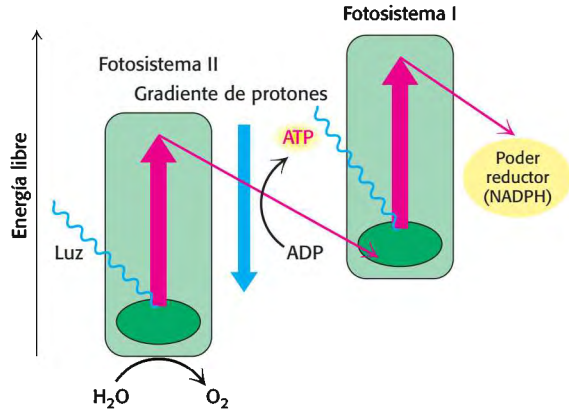


Figura 22.1 Las reacciones luminosas de la fotosíntesis. En las plantas, la fotosíntesis consta de dos fotosistemas. Los dos sistemas funcionan de forma concertada, de manera que se absorbe la luz y la energía se utiliza para extraer electrones del agua para generar NADPH y para impulsar los protones a través de una membrana. Estos protones regresan a través de la ATP sintasa para producir ATP.

Comenzaremos con los cloroplastos, los orgánulos donde tiene lugar la fotosíntesis. Posteriormente, estudiaremos las moléculas que absorben la luz y que inician la captura de la luz en forma de electrones de alta energía. Por último, veremos cómo se utilizan los electrones de alta energía para generar poder reductor y ATP, las fuentes de energía para la síntesis de glucosa.

22.1 La fotosíntesis tiene lugar en los cloroplastos

En la sección 9 vimos que la fosforilación oxidativa tiene lugar en las mitocondrias. Análogamente, la fotosíntesis está confinada en unos orgánulos, que normalmente tienen una longitud de 5 μm, denominados *cloroplastos*. Al igual que una mitocondria, un cloroplasto tiene una membrana externa y una membrana interna, separadas por un espacio intermembrana (Figura 22.2). La membrana interna rodea un espacio denominado *estroma*, que contiene las enzimas solubles que utilizan el poder reductor y el ATP para convertir el CO_2 en azúcar. El estroma es similar a la matriz de la mitocondria, que es el lugar donde se desarrolla la química del carbono durante la respiración. En el estroma hay unos discos membranosos denominados *tilacoides*, que se encuentran apilados formando un *granum*. Los diferentes grana están conectados por regiones de la membrana de los tilacoides que se denominan *lamelas del estroma*. Las membranas tilacoides separan el *lumen* de los tilacoides del estroma. Por tanto, los cloroplastos presentan tres membranas distintas (la *externa*, la *interna* y la de los *tilacoides*) y tres espacios distintos (el *espacio intermembrana*, el *estroma* y el *lumen de los tilacoides*). La membrana de los tilacoides y la membrana interna, al igual que la membrana mitocondrial interna, son impermeables a la mayoría de iones y moléculas. La membrana externa de un cloroplasto, como la de una mitocondria, es muy permeable a los iones y a las moléculas pequeñas. Al igual que las crestas mitocondriales, las membranas de los tilacoides son los lugares donde se producen las reacciones acopladas de oxidación-reducción que generan la fuerza protón-motriz. Las células de las hojas de las plantas contienen entre 1 y 100 cloroplastos, en función de la especie, del tipo de célula y de las condiciones de crecimiento.

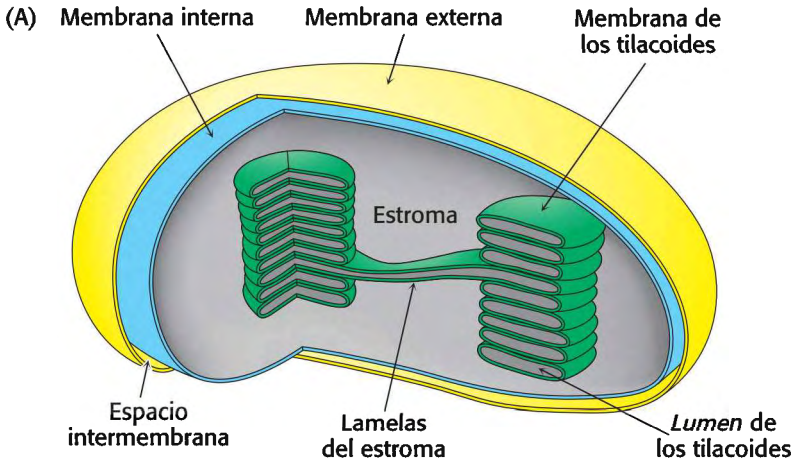


Figura 22.2 Estructura de un cloroplasto. (A) Diagrama de un cloroplasto. (B) Micrografía electrónica de un cloroplasto de hoja de espinaca que muestra las membranas de los tilacoides apiladas entre sí para formar los grana. [(A) Tomado de S. L. Wolfe, *Biology of the Cell*, p. 130. © 1972 por Wadsworth Publishing Company, Inc. Adaptada con permiso del editor. (B) Cortesía de Dr. Kenneth Miller.]

Aspecto biológico

Los cloroplastos, al igual que las mitocondrias, surgieron a partir de un proceso endosimbiótico

Los cloroplastos contienen su propio DNA y la maquinaria para replicarlo y expresarlo. Sin embargo, los cloroplastos no son autónomos: el DNA nuclear codifica muchas de las proteínas que contienen los cloroplastos. ¿Cómo surgió la fascinante relación entre la célula y sus cloroplastos? Hoy en día creemos que, de forma análoga a la evolución de las mitocondrias (p. 351), los cloroplastos son el resultado de procesos endosimbióticos en los que un microorganismo fotosintético, posiblemente un antecesor de una cianobacteria, fue engullido por un huésped eucariota.

El genoma del cloroplasto es más pequeño que el de una cianobacteria, pero los dos genomas tienen en común algunas características clave. Ambos son circulares y tienen un único lugar para la replicación del DNA, y los genes de ambos están organizados en forma de operones —secuencias de genes relacionados funcionalmente y sometidos a un control común (Capítulo 36). En el transcurso de la evolución, muchos de los genes del ancestro del cloroplasto fueron transferidos al núcleo de la célula vegetal o, en algunos casos, se perdieron por completo, estableciéndose así una relación de total dependencia. ■

22.2 La fotosíntesis transforma la energía de la luz en energía química

✓ 1 Describir las reacciones luminosas.

En las plantas, el papel de los cloroplastos consiste en captar la energía de la luz. La captura de la energía de la luz —la conversión de la radiación electromagnética en energía química— es la clave de la fotosíntesis y, por tanto, la clave de la vida.

El primer acontecimiento de la fotosíntesis es la absorción de luz por parte de una molécula fotorreceptora. Las moléculas fotorreceptoras, capaces de absorber la energía de la luz de una longitud de onda específica, también se denominan pigmentos. ¿Qué sucede cuando una molécula fotorreceptora absorbe un fotón con la energía apropiada? La energía de la luz excita un electrón desde su estado energético basal a un estado de energía excitado (Figura 22.3). En el caso de la mayoría de los compuestos que absorben luz, el electrón excitado sencillamente vuelve al estado basal y la energía absorbida se convierte en calor o en luz, como cuando una molécula emite fluorescencia. Sin embargo, en las moléculas fotorreceptoras, la energía de excitación que se libera cuando un electrón regresa a su estado basal puede ser aceptada por un electrón colindante que, a continuación, salta a un estado energético superior. Este proceso, en el que la energía se desplaza de un electrón a otro, se conoce como

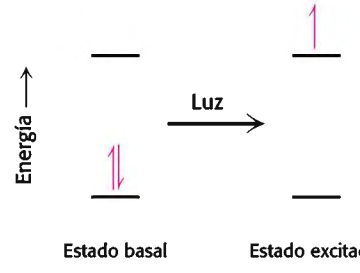


Figura 22.3 Absorción de luz. La absorción de luz da lugar a la excitación de un electrón, que pasa de su estado excitado a un nivel energético superior. Las líneas horizontales representan los distintos niveles energéticos de los átomos de las moléculas de pigmento.

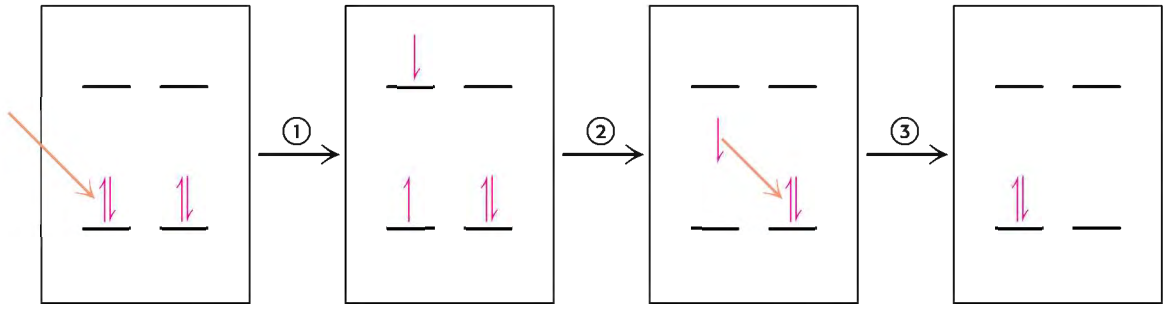


Figura 22.4 Transferencia de energía por resonancia. (1) Un electrón puede aceptar energía de una radiación electromagnética con una longitud de onda adecuada y saltar a un estado energético superior. (2) Cuando el electrón excitado vuelve a su estado de menor energía, se libera la energía absorbida. (3) La energía liberada puede ser absorbida por un electrón de una molécula cercana y este electrón salta a un estado energético superior. Las líneas horizontales representan los distintos niveles energéticos de los átomos de las moléculas de pigmento.

transferencia de energía por resonancia (Figura 22.4). La transferencia de energía por resonancia permite que la energía se transmita de una molécula a otra, algo que, como veremos más adelante, es una propiedad importante para que aumente la eficacia de la fotosíntesis (p. 393).

Alternativamente, el propio electrón excitado puede desplazarse hacia una molécula colindante que presente estado excitado de menor energía, mediante un proceso que se denomina *transferencia electrónica* (Figura 22.5). Como consecuencia de la pérdida de un electrón, se genera una carga positiva en la molécula inicial, mientras en el aceptor, la ganancia de un electrón da lugar a la formación de una carga negativa. Por ello, este proceso se conoce con el nombre de *separación de cargas fotoinducida*. Ahora, en su nueva molécula, el electrón excitado tiene poder reductor: puede reducir otras moléculas para almacenar en forma química la energía obtenida en un principio a partir de la luz. La pareja de transportadores de electrones en donde se produce la separación de cargas se denomina *centro de reacción*.

Un fotón es un paquete discreto, también llamado *quantum*, de energía electromagnética que se desplaza a la velocidad de la luz (c). La energía de un fotón (E) es directamente proporcional a la frecuencia (ν) de su vibración o inversamente proporcional a su longitud de onda (λ). La constante de proporcionalidad (h) es la constante de Planck.
$E = h\nu = hc/\lambda$

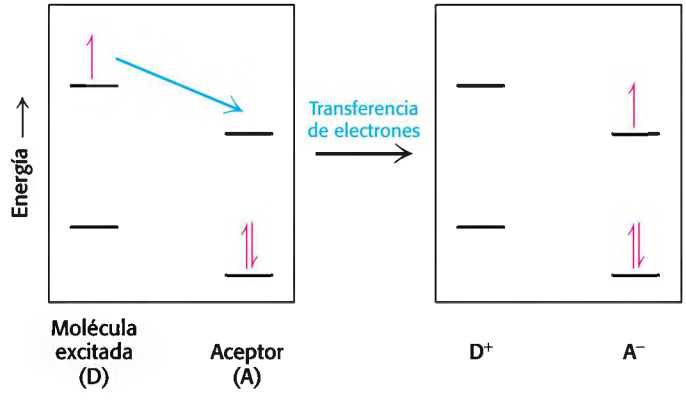
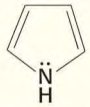


Figura 22.5 Separación de cargas fotoinducida. Si hay un aceptor de electrones adecuado cerca, un electrón que se encuentre en un nivel energético elevado tras haber absorbido luz puede desplazarse desde la molécula excitada al aceptor.

En la mayoría de los sistemas fotosintéticos, la clorofila es el principal aceptor de luz

En los cloroplastos de la mayoría de las plantas verdes, el principal fotorreceptor es la *clorofila*, un tetrapirrol sustituido (Figura 22.6). Los cuatro átomos de nitrógeno de los pirroles se encuentran unidos a un ion magnesio, del mismo modo en que el grupo hemo se encuentra unido al hierro (p. 143). Una característica distintiva de la clorofila es la presencia del *fitol*, un alcohol de 20 átomos de carbono muy hidrofóbico, esterificado con una cadena lateral ácida.



Un pirrol

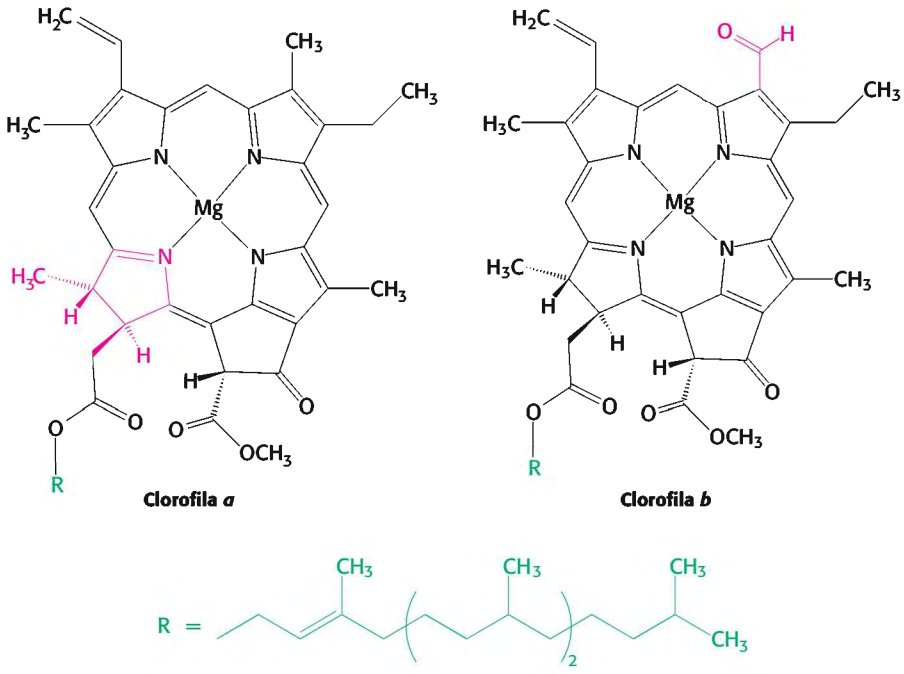


Figura 22.6 Clorofila. Al igual que el grupo hemo, la clorofila *a* es un tetrapirrol cíclico (mostrado en color rojo) con un ion magnesio en el centro de la estructura. En la clorofila *b*, hay un grupo formilo ocupando el lugar de uno de los grupo metilo de la clorofila *a*. El grupo hidrofóbico fitol (R) se muestra en color verde.

Las clorofilas son fotorreceptores muy eficaces porque contienen un entramado en el que alternan enlaces sencillos y dobles enlaces. Estos compuestos se denominan *polienos* y presentan estructuras resonantes. Como los electrones no se encuentran fuertemente unidos a un átomo concreto y, por tanto, pueden encontrarse en resonancia en el interior de la estructura del anillo, que es más grande, pueden ser fácilmente excitados por luz de una energía adecuada.

Hay dos variedades principales de moléculas de clorofila, la clorofila *a* (Chl_a) y la clorofila *b* (Chl_b). La clorofila *a*, que es la principal clorofila de las plantas verdes, tiene máximos de absorción a 420 nm y a 670 nm, lo que deja un amplio hueco en medio de la región visible. La clorofila *b* se diferencia de la clorofila *a* por tener un grupo formilo en lugar de un grupo metilo. Esta pequeña diferencia desplaza sus dos picos de absorción más importantes hacia el centro de la región visible, donde la clorofila *a* no absorbe muy bien (Figura 22.7).

En el centro de reacción, la absorción de energía por parte de la clorofila, mediante transferencia electrónica o directamente a partir de la luz, permite a la molécula de clorofila ceder un electrón a una molécula colindante, su compañera en la *pareja especial*, dando lugar a una separación de cargas fotoinducida.

$$\text{Chl}_a + \text{aceptor} \xrightarrow{\text{Absorción de luz}} \underset{\text{Clorofila excitada}}{\text{Chl}_a^*} + \text{aceptor} \xrightarrow{\text{Transferencia electrónica}} \underset{\text{Separación de cargas}}{\text{Chl}_a^+} + \text{aceptor}^-$$

Ahora, el aceptor cargado negativamente posee un elevado potencial de transferencia de electrones. De este modo, la energía de la luz se convierte en energía química.

Los complejos captadores de luz intensifican la eficiencia de la fotosíntesis

Un sistema captador de luz que solo dependiese de las moléculas de clorofila *a* del centro de reacción sería ineficaz por dos razones. En primer lugar, las moléculas de clorofila *a* absorben solo una parte del espectro solar. En segundo lugar, incluso en

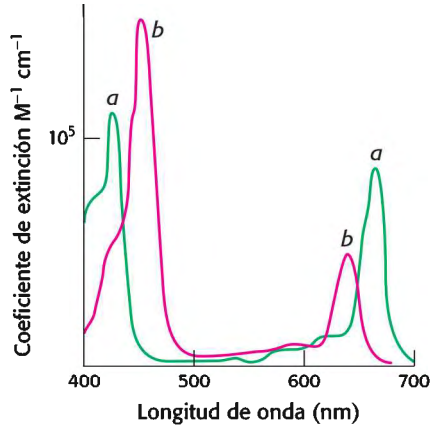
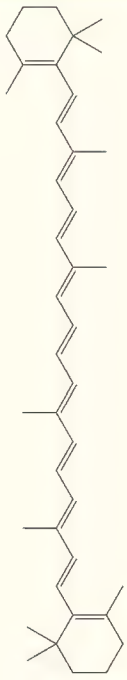


Figura 22.7 Espectros de absorción de las clorofilas *a* y *b*.

"La vida se ha impuesto la tarea de interceptar la luz en su viaje hacia la Tierra y almacenar en forma rígida la más elusiva de todas las energías".
Robert Julius Mayer, médico alemán (1814-1878), uno de los primeros en reconocer la ley de conservación de la energía

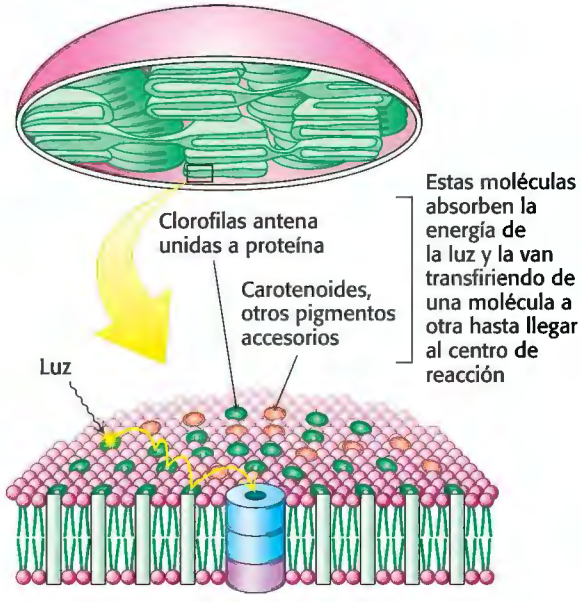


β-Caroteno

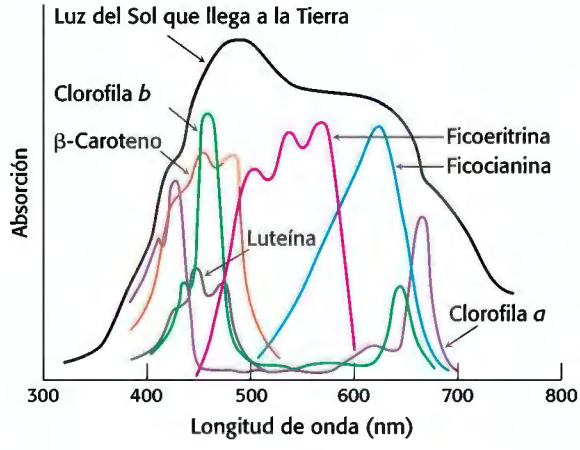
El caroteno absorbe luz de color azul y luz de color índigo y, por tanto, tiene color naranja. Los productos de la descomposición del caroteno de la hierba son los responsables del aroma del heno. El β-caroteno también es un precursor del retinol, un pigmento visual importante en el ojo.

las regiones del espectro en las que la clorofila *a* absorbe luz, muchos fotones la atraviesarían sin ser absorbidos a causa de la relativamente baja densidad de moléculas de clorofila *a* en un centro de reacción. El espectro de absorción se amplía mediante el uso de *moléculas antena*: moléculas de clorofila *a* que no se encuentran en un centro de reacción, clorofila *b* y otros pigmentos accesorios como los *carotenoides*, que son polienos que absorben luz entre 400 y 500 nm. Son los pigmentos responsables de la mayor parte de la coloración amarilla y roja de frutas y flores. También aportan el brillo de los colores del otoño, cuando las moléculas verdes de clorofila se degradan dejando los carotenoides al descubierto.

Los pigmentos accesorios se disponen en numerosos *complejos captadores de luz* que rodean por completo el centro de reacción (**Figura 22.8**). *Estos pigmentos absorben luz y transmiten su energía al centro de reacción mediante transferencia de energía por resonancia para que se convierta en energía química.*



(A)



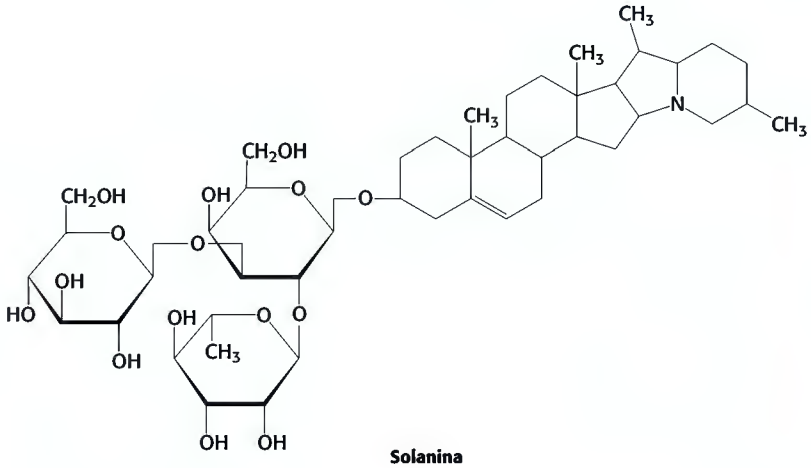
(B)

Figura 22.8 Transferencia de energía desde los pigmentos accesorios hasta los centros de reacción. (A) La energía de la luz absorbida por las moléculas de clorofila accesorias u otros pigmentos puede ser transferida a los centros de reacción mediante transferencia de energía por resonancia (flechas de color amarillo), donde impulsa la separación de cargas fotoinducida. (B) Los pigmentos accesorios incrementan el rango de absorción de luz mucho más allá de lo que sería posible solo con las clorofilas *a* y *b*. [Tomada de D. L. Nelson y M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 5.ª ed. [W. H. Freeman and Company, 2008), (A) Fig. 19.52, (B) Fig. 19. 48.]

Aspecto biológico

En las patatas, la clorofila sugiere la presencia de una toxina

A la hora de identificar patatas venenosas, la síntesis de clorofila es una señal de advertencia. La luz activa una ruta nociva de las patatas que da lugar a la síntesis de solanina, un alcaloide tóxico. Entre los alcaloides vegetales se incluyen moléculas como la nicotina, la cafeína, la morfina, la cocaína y la codeína.



Solanina

La solanina es tóxica para los animales porque inhibe la acetilcolinesterasa, una enzima crucial para el control de la transmisión de los impulsos nerviosos. Se cree que la planta sintetiza solanina para disuadir a los insectos de que se coman la patata. La luz también hace que las patatas sinteticen clorofila, lo que da lugar a que los tubérculos se vuelvan verdes. Las patatas verdes han estado expuestas a la luz y, por tanto, es probable que también estén sintetizando solanina (Figura 22.9). Por este motivo, es mejor no comer patatas verdes ni patatas fritas que tengan los bordes de color verde. ■



Figura 22.9 Patatas tóxicas. Las patatas expuestas a la luz sintetizan clorofila, lo que da lugar a patatas verdosas. La luz también activa una ruta que provoca la síntesis de solanina, un alcaloide tóxico. Las patatas fritas hechas con patatas expuestas a la luz tienen los bordes verdes. [Science Photo Library/Alamy.]

22.3 Dos fotosistemas generan un gradiente de protones y NADPH

✓ 2 Identificar los productos clave de las reacciones luminosas.

✓ 3 Explicar cómo se mantiene el equilibrio redox durante las reacciones luminosas.

Una vez conocidos los principios que explican cómo los organismos fotosintéticos generan electrones de alta energía, veamos lo sistemas bioquímicos que coordinan la captura de electrones y su uso para la generación de poder reductor y ATP, recursos que serán utilizados para impulsar la síntesis de glucosa a partir de CO_2. En las plantas verdes, la fotosíntesis está mediada por dos tipos de complejos sensibles a la luz y asociados a membrana —el *fotosistema I* (PS I) y el *fotosistema II* (PS II), cada uno con su propio centro de reacción característico (Figura 22.10). El fotosistema I responde a la luz con una longitud de onda menor de 700 nm y es el responsable de aportar los electrones que reducirán el $NADP^+$ a NADPH, un reactivo muy versátil a la hora de impulsar los procesos biosintéticos que necesitan poder reductor. El fotosistema II responde a longitudes de onda menores de 680 nm, enviando electrones a través de una bomba de protones unida a la membrana denominada *citocromo bf* y luego hacia el fotosistema I para reemplazar a los electrones cedidos por el PS I al $NADP^+$. Los electrones del centro de reacción del fotosistema II se restituyen cuando se oxidan dos moléculas de H_2O para generar una molécula de O_2. Como veremos enseguida, *los electrones fluyen desde el agua a través del fotosistema II, del complejo citrocromo bf y del fotosistema I para acabar siendo aceptados por el* $NADP^+$. En el transcurso de este flujo, se establece un gradiente de protones a través de la membrana de los tilacoides. Este gradiente de protones es la fuerza que impulsa la producción de ATP.

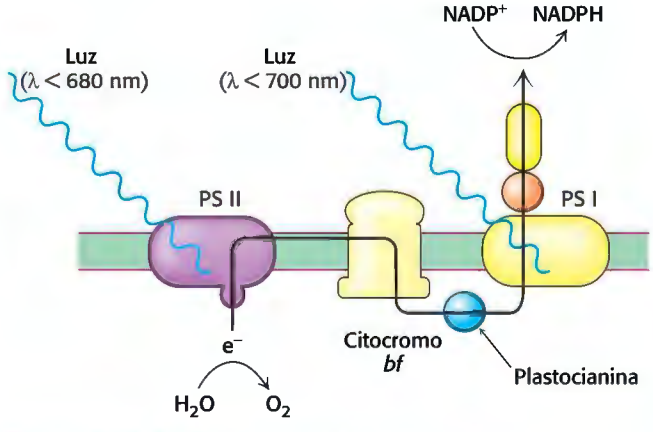


Figura 22.10 Dos fotosistemas. Para que se produzca el flujo ininterrumpido de electrones desde el agua al $NADP^+$, se requiere la absorción de fotones por parte de dos fotosistemas distintos (FS I y FS II).

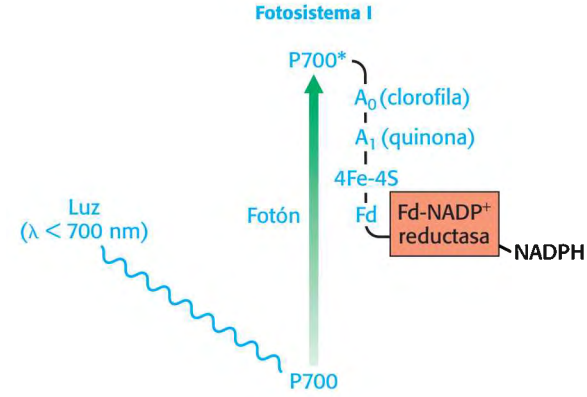


Figura 22.11 Fotosistema I. La absorción de luz induce la transferencia de electrones desde P700 a la ferredoxina a través de una cadena transportadora de electrones que incluye una molécula de clorofila, una molécula de quinona y tres complejos 4Fe-4S.

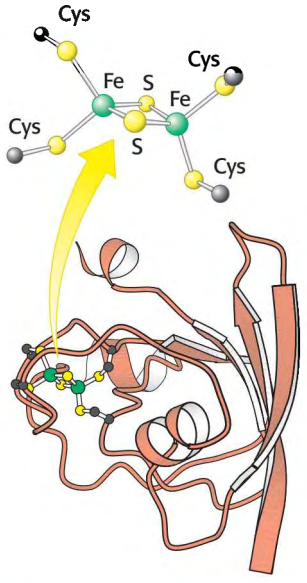


Figura 22.12 Estructura de la ferredoxina. En plantas, la ferredoxina contiene un complejo 2Fe-2S. Esta proteína acepta electrones del fotosistema I y los transporta hasta la ferredoxina-$NADP^+$ reductasa. [Elaborada a partir de 1FXA.pdb.]

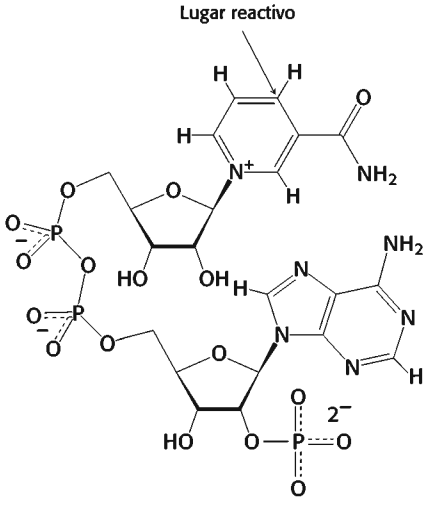


Figura 22.13 Estructura del $NADP^+$. El nicotinamida adenina dinucleótido fosfato ($NADP^+$) es un importante transportador de electrones de alta energía. El $NADP^+$ se une a un ion hidruro (H^-) en el lugar reactivo para formar NADPH mediante una reacción que es totalmente análoga a la reducción del NAD^+ (ver la Figura 15.12).

El fotosistema I utiliza la energía de la luz para generar ferredoxina reducida, un potente reductor

La primera etapa de las reacciones luminosas está catalizada por el fotosistema I (Figura 22.11). Normalmente, el fotosistema I contiene 14 cadenas polipeptídicas asociadas a multitud de proteínas y cofactores. El núcleo central de este sistema es un par de subunidades similares, PsaA (83 kDa) y PsaB (82 kDa). En el centro de la estructura hay una pareja especial de moléculas de clorofila *a* que absorben luz de longitud de onda mayor que la de la luz que absorbe la clorofila *a* que no se encuentra asociada a un fotosistema. Este centro de reacción, P700, inicia la separación de cargas fotoinducida que genera electrones de alta energía. Los electrones se desplazan a lo largo de una cadena transportadora de electrones atravesando una clorofila denominada A_0 y una quinona denominada A_1 para llegar a un conjunto de complejos 4Fe-S. A partir de ahí, el electrón es transferido a la ferredoxina (Fd), una proteína soluble que contiene un complejo 2Fe-2S coordinado con cuatro residuos de cisteína (Figura 22.12).

Aunque la ferredoxina reducida es un reductor muy potente, no sirve para impulsar muchas reacciones, en parte porque la ferredoxina solo transporta un electrón. *En las células, la moneda de poder reductor fácilmente disponible para la biosíntesis es el NADPH*, que transporta dos electrones en forma de un ion hidruro. De hecho, el NADPH funciona exactamente igual que el NADH (p. 259) y sus estructuras solo se diferencian por la presencia de un grupo fosforilo en el grupo hidroxilo 2′ de una de las unidades de ribosa (Figura 22.13). Este grupo fosforilo actúa como una etiqueta que identifica al NADPH como el reductor para las reacciones biosintéticas (anabólicas) y, por tanto, no se oxida mediante la cadena respiratoria como ocurre en el caso del NADH. Esta distinción se mantiene en todos los sistemas bioquímicos, incluyendo los seres humanos.

¿Cómo se puede utilizar la ferredoxina reducida para impulsar la reducción de $NADP^+$ a NADPH? Esta reacción es catalizada por la *feredoxina-$NADP^+$ reductasa*, una flavoproteína. Para pasar de la forma oxidada a la forma completamente reducida, el componente FAD unido a esta enzima acepta dos electrones, de uno en uno, procedentes de dos moléculas de ferredoxina reducida (Figura 22.14). A continuación, la enzima transfiere un ion hidruro al $NADP^+$ para formar NADPH. Hay que señalar que esta reacción tiene lugar en la cara de la membrana de los tilacoides que está en contacto con el estroma. El uso de un protón del estroma para reducir el $NADP^+$ hace que el estroma sea más básico que el *lumen* de los tilacoides y, de este modo, contribuye a la formación de una fuerza protón-motriz a través de la membrana de los tilacoides que será utilizada para la síntesis de ATP. Se ha generado la primera de las materias primas necesarias para reducir el CO_2 —el poder reductor biosintético en forma de NADPH. Sin embargo, ahora el fotosistema I tiene déficit de electrones. ¿Cómo se pueden restituir estos electrones?

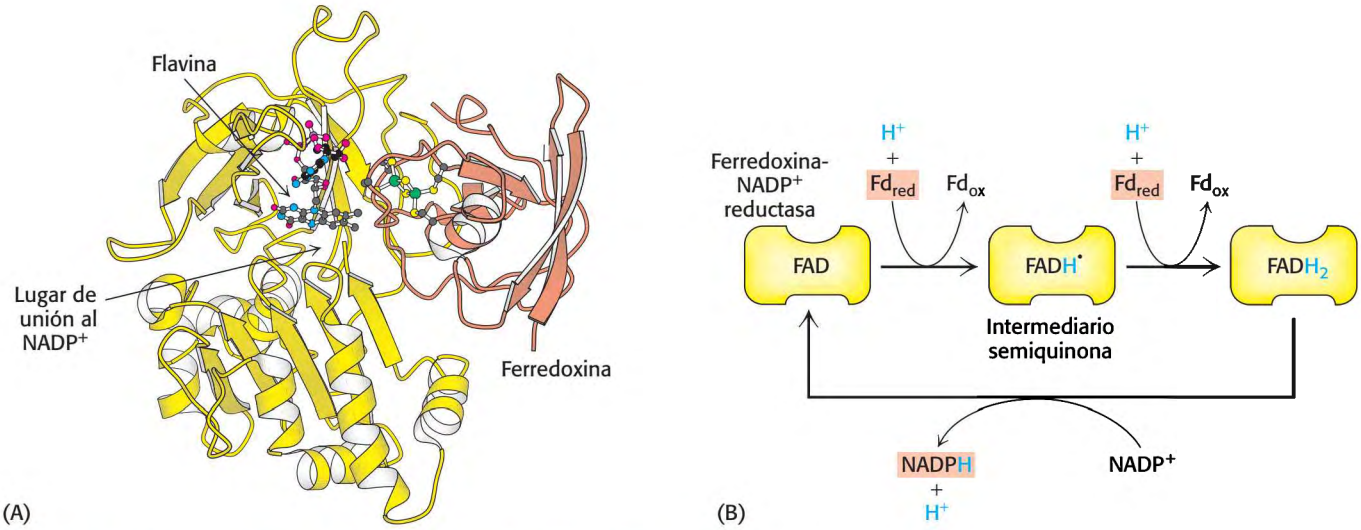


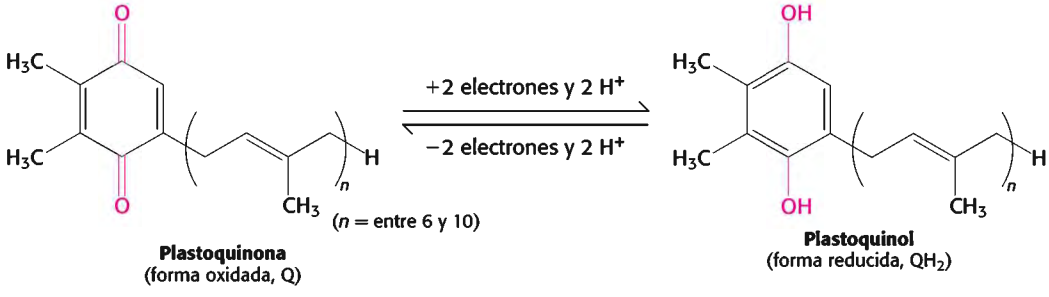
Figura 22.14 Estructura y función de la ferredoxina-$NADP^+$ reductasa. (A) La estructura de la ferredoxina-$NADP^+$ reductasa se muestra en color amarillo. Esta enzima acepta electrones, de uno en uno, procedentes de la ferredoxina (mostrada en color naranja). (B) Primero, la ferredoxina-$NADP^+$ reductasa acepta dos electrones y dos protones de dos moléculas de ferredoxina reducida (Fd_{red}) para formar $FADH_2$, que, posteriormente, transfiere dos electrones y un protón al $NADP^+$ para formar NADPH. [(A) Elaborada a partir de 1EWY.pdb.]

El fotosistema II transfiere electrones al fotosistema I y genera un gradiente de protones

Para reponer los electrones del fotosistema I se necesita otra fuente de electrones. Una de las funciones del fotosistema II consiste en suministrar electrones al fotosistema I. El fotosistema II cataliza la transferencia de electrones, impulsada por la luz, desde el agua al fotosistema I. Durante este proceso se bombean protones hacia el *lumen* de los tilacoides generando una fuerza protón-motriz. El fotosistema II es un ensamblaje enorme, de más de 20 subunidades. Está formado por D1 y D2, una pareja de proteínas parecidas de 32 kDa que atraviesan la membrana de los tilacoides (Figura 22.15).

La fotoquímica del fotosistema II comienza con la excitación de una pareja especial de moléculas de clorofila a las que se les suele denominar *P680* (Figura 22.16). Al excitarse, P680 transfiere electrones rápidamente a una feofitina cercana (denominada Ph), una clorofila con dos iones H^+ en vez del ion Mg^{2+} central. A partir de ahí, los electrones se transfieren primero a una plastoquinona fuertemente unida al sitio Q_A y, posteriormente, a una plastoquinona móvil localizada en el sitio Q_B. La plastoquinona es un transportador de electrones que se parece mucho a la ubiquinona, uno de los componentes de la cadena transportadora de electrones mitocondrial. Con la llegada de un segundo electrón y la adquisición de dos protones, la plastoquinona móvil se reduce a plastoquinol, QH_2.

Al cocinar ciertas verduras verdes, cuando se pierde el ion magnesio de la clorofila y es sustituido por protones, se forma feofitina. Las propiedades de absorción de la feofitina son distintas de las de las clorofilas, lo que, a menudo, hace que los vegetales cocinados tengan un color verde más apagado que el de los homólogos no cocinados.



El fotosistema II atraviesa la membrana de los tilacoides de forma que el lugar donde se reduce la quinona se encuentra del lado del estroma. De este modo, los dos protones que se necesitan para la reducción de cada molécula de plastoquinona

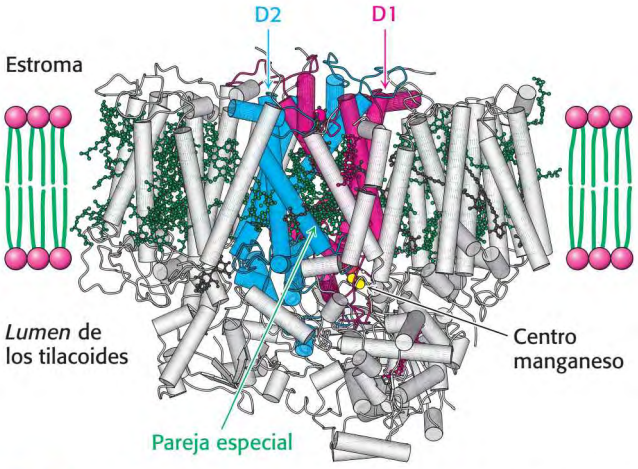


Figura 22.15 Estructura del fotosistema II. Las subunidades D1 y D2 se muestran en color rojo y azul, respectivamente, y las numerosas moléculas de clorofila unidas se muestran de color verde oscuro. Observe que la pareja especial y el centro manganeso (el lugar donde se produce oxígeno) están orientados hacia el lado de la membrana que está en contacto con el *lumen* de los tilacoides. [Elaborada a partir de 1S5L.pdb.]

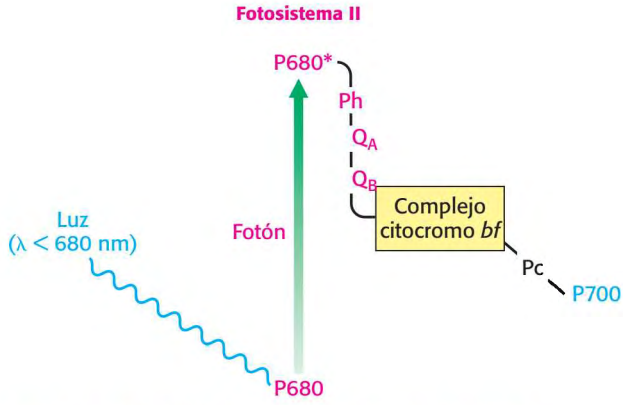


Figura 22.16 El fotosistema II suministra electrones al fotosistema I. A medida que los electrones fluyen del fotosistema II al fotosistema I, atraviesan el complejo citocromo *bf*, una bomba de protones. Abreviaturas: Ph, feofitina; Q_A y Q_B, plastoquinonas; Pc, plastocianina.

proceden del estroma, con lo que aumenta el gradiente de protones. El gradiente aumenta aún más gracias a la conexión entre el fotosistema II y el fotosistema I, el *complejo citocromo bf*.

El citocromo *bf* conecta el fotosistema II al fotosistema I

El QH_2 producido por el fotosistema II transfiere sus electrones a la plastocianina que, a su vez, cede los electrones al fotosistema I, reponiendo así los electrones que le faltan al fotosistema I. La cadena comienza cuando los electrones se transfieren, de uno en uno, desde el QH_2 a la plastocianina (Pc), una proteína del *lumen* de los tilacoides que contiene cobre (ver la Figura 22.10). Esta reacción está catalizada por el citrocromo *bf*, una bomba de protones.

$$QH_2 + 2 \text{ plastocianina } (Cu^{2+}) \xrightarrow{\text{Citocromo } bf} Q + 2 \text{ plastocianina } (Cu^{+}) + 2\ H^{+}_{\textit{lumen}\text{ de los tilacoides}}$$

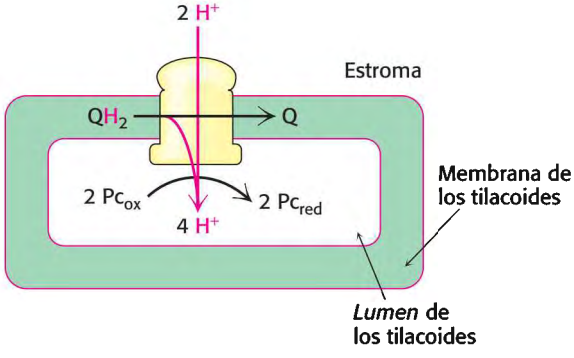


Figura 22.17 Contribución del citocromo *bf* al gradiente de protones. El complejo citocromo *bf* oxida QH_2 a Q mediante el ciclo Q. En cada ciclo se liberan cuatro protones al *lumen* de los tilacoides.

La reacción del citocromo *bf* recuerda a la catalizada por la ubiquinol citocromo *c* reductasa en la fosforilación oxidativa (p. 359). De hecho, la mayor parte de los componentes del complejo citocromo *bf* son similares a los de la Q citocromo *c* reductasa.

La oxidación del plastoquinol por parte del complejo citocromo *bf* tiene lugar mediante un mecanismo prácticamente idéntico al del ciclo Q de la cadena transportadora de electrones de la respiración celular. En la fotosíntesis, el efecto neto del ciclo Q es, primero, liberar los protones del QH_2 en el *lumen* y, segundo, bombear protones desde el estroma hacia el *lumen*, intensificando la fuerza protón-motriz (Figura 22.17). De este modo, los electrones procedentes del fotosistema II se utilizan para restituir electrones al fotosistema I y, al mismo tiempo, para aumentar el gradiente de protones. Sin embargo, ahora es P680 el que tiene déficit de electrones, y hay que reponerlos.

La oxidación del agua restablece el equilibrio de oxidación-reducción y aporta protones al gradiente de protones

Cada vez que respiramos experimentamos el resultado del restablecimiento del equilibrio redox fotosintético. *El $P680^+$ con déficit de electrones es un oxidante muy fuerte y es capaz de extraer electrones de las moléculas de agua*, dando lugar a la liberación

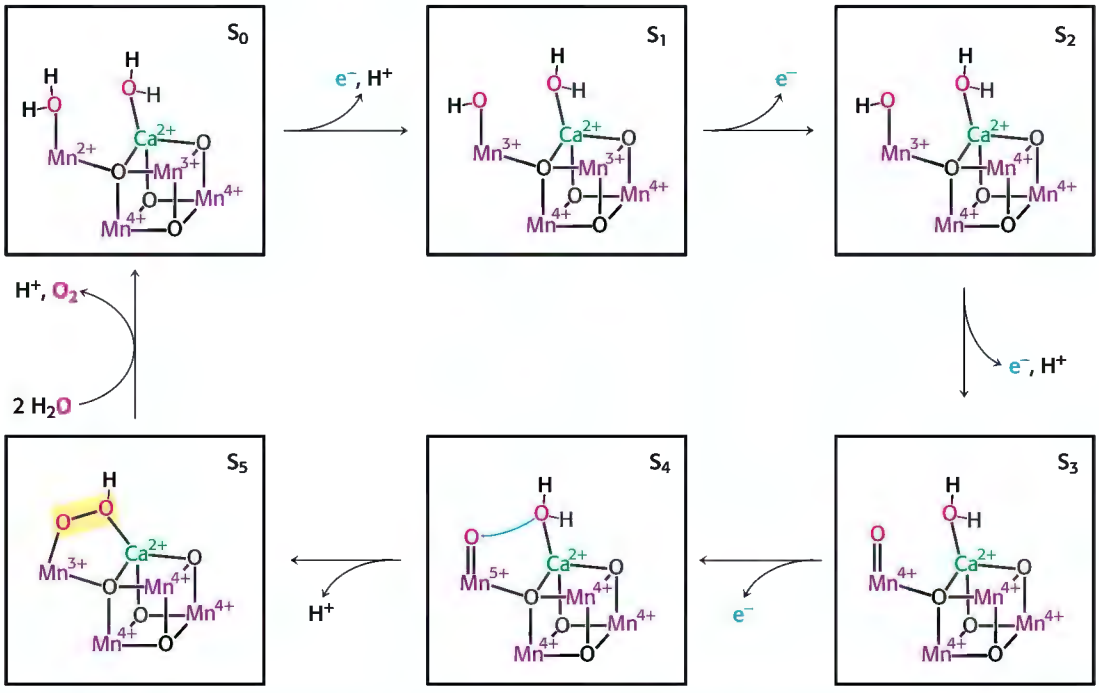


Figura 22.18 Posible esquema de la generación de oxígeno en el centro manganeso. El centro manganeso se oxida, perdiendo los electrones de uno en uno, hasta que dos moléculas de H_2O unidas se asocian para formar una molécula de O_2 que, posteriormente, abandona el centro. Un residuo de tirosina (que no se muestra en la figura) interviene en los pasos donde hay una transferencia acoplada de protones y electrones. Los nombres de las estructuras van de S_0 a S_4 para indicar el número de electrones que se han ido liberando.

de oxígeno. Esta reacción, la *fotolisis del agua*, tiene lugar en el *centro manganeso* del fotosistema II (ver la Figura 22.15). La estructura de este centro incluye cuatro iones manganeso, un ion calcio, un ion cloruro y un residuo de tirosina (al que se suele denominar Z). El manganeso es especialmente adecuado para fotolizar el agua gracias a su capacidad para adoptar múltiples estados de oxidación y para formar enlaces fuertes con las especies que contienen oxígeno.

Cada vez que la absorción de un fotón hace saltar un electrón de P680, la pareja especial cargada positivamente extrae un electrón del centro manganeso. Sin embargo, los electrones no proceden directamente de los iones manganeso. El residuo de tirosina Z de la subunidad D1 del fotosistema II es el donador inmediato de los electrones, con lo que se forma un radical tirosina. El radical tirosina extrae electrones de los iones manganeso. Cuando el centro manganeso se encuentra en la forma totalmente oxidada (designada S4 en la **Figura 22.18**), oxida dos moléculas de agua formando una única molécula de oxígeno. Los cuatro electrones extraídos del agua restablecen el equilibrio redox en el complejo manganeso y los cuatro protones que se liberan durante la oxidación del agua se liberan en el *lumen*, contribuyendo así al gradiente de protones. Por tanto, se necesitan cuatro pasos fotoquímicos para extraer los electrones y reducir el centro manganeso. La ecuación global de la fotolisis es

$$2\,H_2O \longrightarrow 4\,e^- + 4\,H^+ + O_2$$

En la biosfera, la fotolisis del agua por parte de los organismos fotosintéticos es prácticamente la única fuente de oxígeno. Este gas, tan valioso para nuestras vidas, es básicamente un producto de desecho de la fotosíntesis y es el resultado de la necesidad de restablecer el equilibrio redox (**Figura 22.19**).



Figura 22.19 *Elodea.* En esta planta acuática, la producción de oxígeno es evidente gracias a la generación de burbujas. [Colin Milkins/Oxford Scientific Films.]

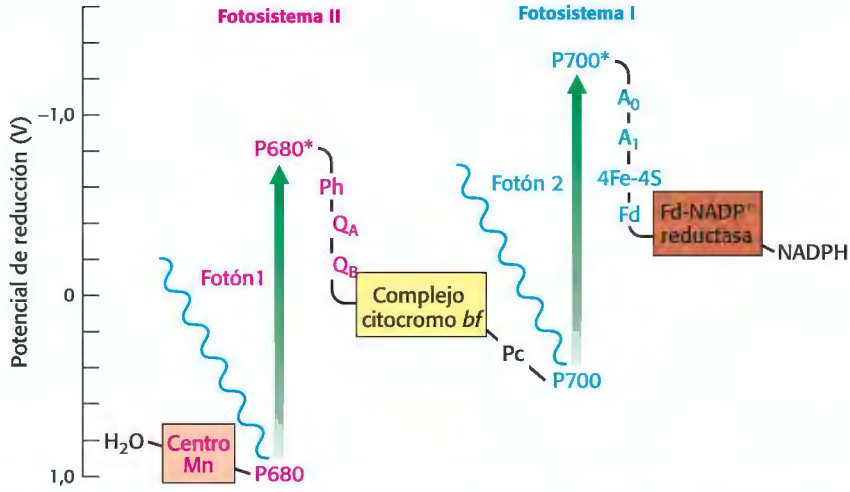


Figura 22.20 Trayectoria que siguen los electrones desde el H_2O al $NADP^+$ en la fotosíntesis. Esta reacción endergónica resulta posible gracias a la absorción de luz por parte del fotosistema II (P680) y del fotosistema I (P700). Abreviaturas: Ph, feofitina; Q_A y Q_B, plastoquinonas; Pc, plastocianina; A_0 y A_1, aceptores de los electrones de P700*; Fd, ferredoxina; Mn, manganeso.

"Lo que impulsa la vida es una pequeña corriente eléctrica, que se mantiene gracias a un poco de luz del Sol".
Albert Szent-Györgyi, bioquímico, Premio Nobel de Fisiología o Medicina

La cooperación entre el fotosistema I y el fotosistema II crea un flujo de electrones —una corriente eléctrica— desde el H_2O al $NADP^+$. La trayectoria del flujo de electrones se denomina *esquema Z de la fotosíntesis* porque el diagrama redox que conecta P680 con $P700^*$ tiene la forma de la letra Z (**Figura 22.20**).

Aunque nos hemos centrado en las plantas verdes, que utilizan el H_2O como donador de electrones en la fotosíntesis, la **Tabla 22.1** muestra que las bacterias fotosintéticas presentan una amplia variedad de donadores de electrones.

? **PREGUNTA RÁPIDA** El fotosistema I genera un potente reductor, mientras que el fotosistema II genera un potente oxidante. Identifique el reductor y el oxidante, y describa sus funciones.

Tabla 22.1 Principales grupos de bacterias fotosintéticas

Bacteria	Donador de electrones en la fotosíntesis	Genera O_2
Verdes sulfúreas	H_2, H_2S, S	No
Verdes no sulfúreas	Diversos aminoácidos y ácidos orgánicos	No
Púrpuras sulfúreas	H_2, H_2S, S	No
Púrpuras no sulfúreas	Por lo general, moléculas orgánicas	No
Cianobacterias	H_2O	Sí

22.4 Un gradiente de protones impulsa la síntesis de ATP

Una consecuencia fundamental del flujo de electrones desde el agua al $NADP^+$ es la formación de un gradiente de protones. Este gradiente se puede mantener porque la membrana de los tilacoides es impermeable a los protones. Como ya se comentó en el Capítulo 21, la energía inherente al gradiente de protones, denominada *fuerza protón-motriz* (Δp), se define como la suma de dos componentes: un gradiente de carga y un gradiente químico. La naturaleza dual de Δp queda perfectamente bien reflejada en los cloroplastos. En los cloroplastos, casi toda la Δp se debe al gradiente de protones, mientras que, en las mitocondrias, la contribución del potencial de membrana es mayor. La razón de esta diferencia es que la membrana de los tilacoides, aunque impermeable para la mayoría de los iones, incluidos los H^+, es bastante permeable al Cl^- y al Mg^{2+} extraídos del suelo. La transferencia de H^+ hacia el *lumen* de los tilacoides inducida por la luz va acompañada de la transferencia de Cl^- en la misma dirección o de Mg^{2+} (1 Mg^{2+} por cada 2 H^+) en la dirección opuesta. En consecuencia, se mantiene la neutralidad eléctrica y no se genera un potencial de membrana.

La ATP sintasa de los cloroplastos se parece mucho a la de las mitocondrias

La fuerza protón-motriz generada por las reacciones luminosas se convierte en ATP gracias a la *ATP sintasa* de los cloroplastos, también denominada *complejo CF_1-CF_0*

(*C* hace referencia a cloroplasto y *F* a factor). La ATP sintasa CF_1-CF_0 se parece mucho al complejo F_1-F_0 de las mitocondrias (p. 369). El componente CF_0 es análogo al componente F_0 de las mitocondrias y conduce protones a través de la membrana de los tilacoides, mientras que CF_1, que es análogo a F_1, cataliza la formación de ATP a partir de ADP y P_i.

El componente CF_0 está integrado en la membrana de los tilacoides. Consta de cuatro cadenas polipeptídicas distintas denominadas I (17 kDa), II (16,5 kDa), III (8 kDa) y IV (27 kDa) con una estequiometría estimada de 1:2:12:1. Las subunidades I y II corresponden a la subunidad mitocondrial **b**, mientras que las subunidades III y IV corresponden a las subunidades **c** y **a**, respectivamente, de la subunidad F_0 mitocondrial. El componente CF_1, el lugar donde se sintetiza el ATP, está compuesto por las subunidades $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\varepsilon$. Las subunidades β contienen los centros catalíticos, al igual que en la subunidad F_1 de la ATP sintasa mitocondrial. Los protones fluyen *hacia fuera* del *lumen* de los tilacoides y llegan al estroma a través de la ATP sintasa. Como CF_1 se encuentra en la superficie de la membrana de los tilacoides que está en contacto con el estroma, el ATP recién sintetizado se libera directamente en el estroma (**Figura 22.21**). Recordemos que el NADPH, formado por la actividad del fotosistema I y la ferredoxina-$NADP^+$ reductasa, también se libera en el estroma. Por tanto, *el ATP y el NADPH, los productos de las reacciones luminosas de la fotosíntesis, se encuentran convenientemente posicionados para las reacciones oscuras subsiguientes, en las que el CO_2 se convierte en carbohidratos.*

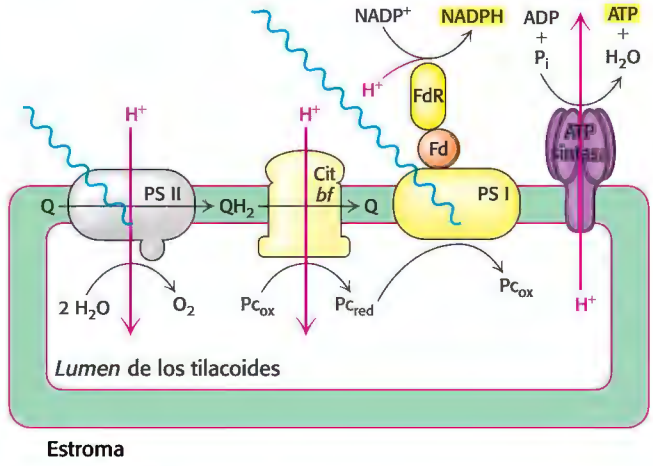


Figura 22.21 Resumen de las reacciones luminosas de la fotosíntesis. Durante la fotosíntesis, la transferencia de electrones inducida por la luz impulsa protones hacia el *lumen* de los tilacoides. Los protones en exceso salen del *lumen* a través de la ATP sintasa generando ATP en el estroma. Fd, ferredoxina; FdR, ferredoxina reductasa.

El flujo cíclico de los electrones a través del fotosistema I da lugar a la producción de ATP en lugar de NADPH

A veces, cuando la proporción entre NADPH y $NADP^+$ es muy elevada, puede que no haya $NADP^+$ disponible para aceptar electrones de la ferredoxina. En estas circunstancias, los electrones de la ferredoxina reducida se pueden transferir de nuevo al complejo citocromo *bf* en lugar de al $NADP^+$. Por lo tanto, cada electrón fluye de nuevo a través del complejo citocromo *bf* para reducir la plastocianina, que puede entonces volver a ser oxidada por $P700^*$ para completar un ciclo (**Figura 22.22**). El re-

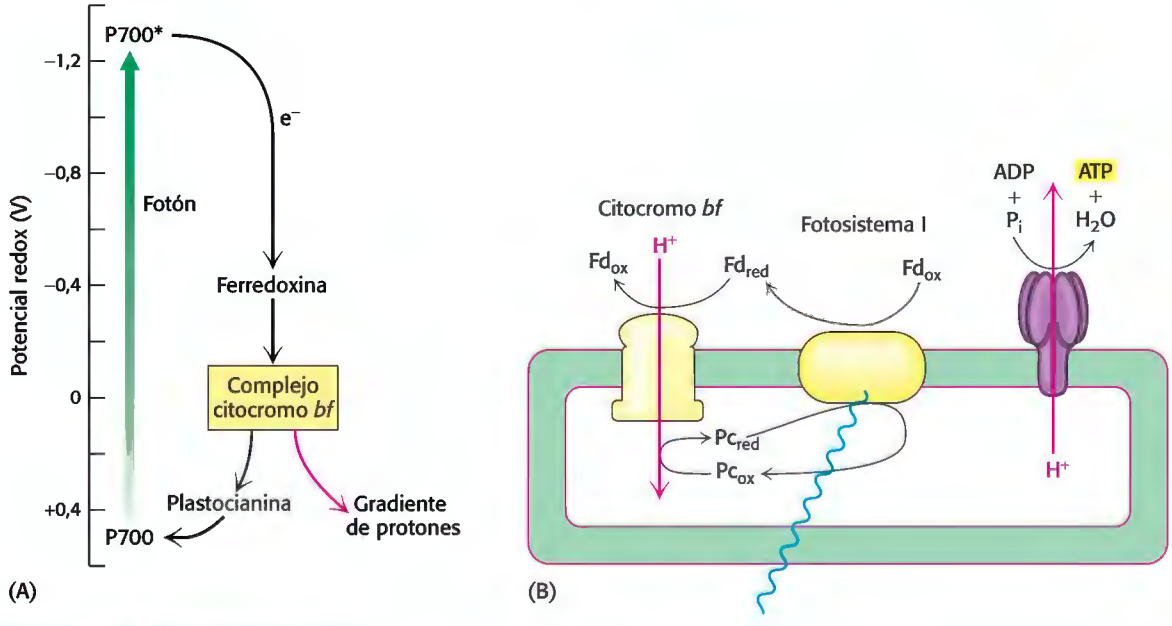


Figura 22.22 Fotofosforilación cíclica. (A) Esquema que muestra el fundamento energético de la fotofosforilación cíclica. (B) En esta ruta, los electrones procedentes de la ferredoxina reducida se transfieren al citocromo *bf* en vez de a la ferredoxina-$NADP^-$ reductasa. El flujo de electrones a través del citocromo *bf* bombea protones hacia el *lumen* de los tilacoides. Estos protones fluyen a través de la ATP sintasa generando ATP. Mediante esta ruta no se generan ni NADPH ni O_2.

sultado neto de este flujo cíclico de electrones es el bombeo de protones por parte del complejo citocromo *bf*. A continuación, el gradiente de protones resultante impulsa la síntesis de ATP. Durante este proceso, denominado *fotofosforilación cíclica, se genera ATP independientemente de la formación de NADPH*. El fotosistema II no interviene en la fotofosforilación cíclica y, por tanto, no se genera O_2 a partir del H_2O.

La absorción de ocho fotones da lugar a la formación de una molécula de O_2, dos de NADPH y tres de ATP

Ahora ya podemos estimar la estequiometría global de las reacciones luminosas. La absorción de 4 fotones por el fotosistema II genera una molécula de O_2 y libera 4 protones en el *lumen* de los tilacoides. Las dos moléculas de plastoquinol se oxidan por el ciclo Q del complejo citocromo *bf* para liberar 8 protones en el *lumen*. La absorción de otros cuatro fotones por el fotosistema I genera cuatro moléculas de plastocianina reducida que, posteriormente, reducen cuatro moléculas de ferredoxina. Las cuatro moléculas de ferredoxina reducida generan dos moléculas de NADPH. Por tanto, la reacción global es

$$2\,H_2O + 2\,NADP^+ + 10\,H^+_{estroma} \longrightarrow O_2 + 2\,NADPH + 12\,H^+_{lumen}$$

Después, los 12 protones liberados en el *lumen* pueden fluir a través de la ATP sintasa. Puesto que aparentemente hay 12 subunidades III formando parte de CF_0, es de esperar que 12 protones tengan que atravesar CF_0 para que se produzca una rotación completa de CF_1. Como en el caso de la ATP sintasa mitocondrial, una única rotación genera tres moléculas de ATP. Partiendo de la proporción de tres moléculas de ATP por cada 12 protones, la reacción global es

$$\begin{array}{l} 2\,H_2O + 2\,NADP^+ + 10\,H^+_{estroma} \longrightarrow O_2 + 2\,NADPH + 12\,H^+_{lumen} \\ 3\,ADP^{3-} + 3\,P_i^{2-} + 3\,H^+ + 12\,H^+_{lumen} \longrightarrow 3\,ATP^{4-} + 3\,H_2O + 12\,H^+_{estroma} \\ \hline 2\,NADP^+ + 3\,ADP^{3-} + 3\,P_i^{2-} + H^+ \longrightarrow O_2 + 2\,NADPH + 3\,ATP^{4-} + H_2O \end{array}$$

Por lo tanto, se necesitan 8 fotones para producir tres moléculas de ATP (2,7 fotones/ATP).

La fotofosforilación cíclica es una forma algo más productiva de sintetizar ATP. La absorción de 4 fotones por el fotosistema I da lugar a la liberación de 8 protones en el *lumen* por parte del sistema citocromo *bf*. Estos protones fluyen a través de la ATP sintasa para generar dos moléculas de ATP. Así, por cada 2 fotones que se absorben se genera una molécula de ATP. No se produce NADPH.

Los componentes de la fotosíntesis se disponen de forma muy ordenada

La complejidad de la fotosíntesis, que ya ha quedado patente a la vista de las complejas interacciones que se establecen entre sus múltiples componentes, se extiende incluso a la disposición de los componentes en las membranas de los tilacoides. *En las membranas de los tilacoides de la mayoría de las plantas se distinguen regiones apiladas (superpuestas) y no apiladas (no superpuestas)*. El apilamiento aumenta la cantidad de membranas tilacoides para un volumen determinado de cloroplasto. Ambas regiones rodean un mismo *lumen* interno de los tilacoides, pero solo las regiones no apiladas establecen un contacto directo con el estroma del cloroplasto. Las regiones apiladas y no apiladas se diferencian en la naturaleza de sus ensamblajes fotosintéticos (Figura 22.23). El fotosistema I y la ATP sintasa se localizan casi exclusivamente en las regiones no apiladas, mientras que el fotosistema II se encuentra principalmente en las regiones apiladas. El complejo citocromo *bf* se encuentra en ambas regiones. De hecho, este complejo se desplaza rápidamente desde las regiones apiladas a las no apiladas y viceversa. La plastoquinona y la plastocianina son los transportadores móviles que transfieren electrones entre los complejos proteicos situados en las distintas regiones de las membranas de los tilacoides. Un *lumen* interno común en los tilacoides permite que los protones liberados por el fotosistema II en las membranas apiladas sean utilizados por las moléculas de ATP sintasa localizadas más lejos, en las membranas no apiladas.

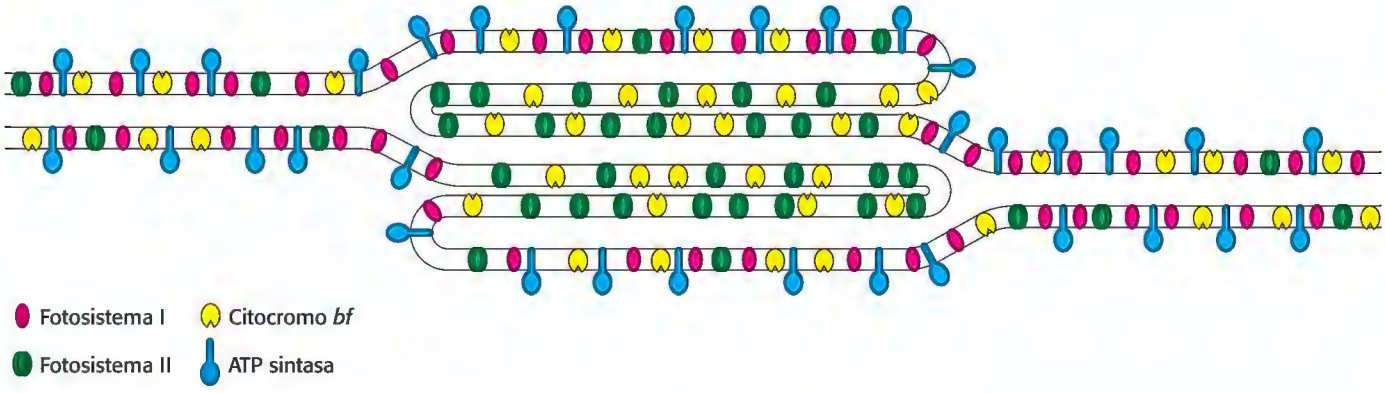


Figura 22.23 Localización de los componentes de la fotosíntesis. Los ensamblajes fotosintéticos se distribuyen de forma diferenciada en las regiones apiladas y no apiladas de las membranas de los tilacoides. [Adaptada a partir de un dibujo amablemente cedido por los Dres. Jan M. Anderson y Bertil Andersson.]

¿Cuál es la importancia funcional de esta diferenciación espacial en el sistema de membranas de los tilacoides? La ubicación del fotosistema I en las membranas no apiladas le da acceso directo al estroma para la reducción del $NADP^+$. La ATP sintasa también está localizada en la región no apilada porque así dispone de espacio para su gran glóbulo CF_1, de manera que este pueda unirse al ADP y fosfato del estroma y liberar su producto, el ATP, en el estroma. De este modo, las materias primas para la reducción del CO_2 y la síntesis de carbohidratos están accesibles para las enzimas del estroma. La falta de espacio en la región apilada no supone un problema para el fotosistema II, que interacciona con dos moléculas que se encuentran en el *lumen* de los tilacoides —un pequeño donador de electrones polar (el H_2O) y un transportador de electrones muy liposoluble (la plastoquinona).

Aspecto biológico

Muchos herbicidas inhiben las reacciones luminosas de la fotosíntesis

Muchos herbicidas comerciales matan las malas hierbas interfiriendo en la actividad de uno de los fotosistemas (**Figura 22.24**). Los inhibidores del fotosistema II bloquean el flujo de electrones, mientras que los inhibidores del fotosistema I captan los electrones procedentes de la ferredoxina, en el tramo final de este fotosistema. Entre los inhibidores del fotosistema II se incluyen derivados de la urea como el *diurón* y derivados de la triazina como la *atrazina*, el compuesto más utilizado en los Estados Unidos para eliminar la maleza. Estos compuestos químicos se unen a un lugar de la subunidad D1 del fotosistema II y bloquean la formación de plastoquinol (QH_2) (p. 397).

El paraquat (1,1′-dimetil-4,4′-bipiridinio), uno de los herbicidas más utilizados en el mundo, es un inhibidor del fotosistema I. El paraquat puede aceptar electrones del fotosistema I para convertirse en un radical. Este radical reacciona con el O_2 produciendo especies reactivas del oxígeno como el ion superóxido y el radical hidroxilo (OH•). Estas especies reactivas del oxígeno dañan las membranas porque reaccionan con los dobles enlaces de los lípidos. Por vía oral, el paraquat es muy tóxico para los seres humanos, ya que en ellos también provoca la generación de especies reactivas del oxígeno. ■

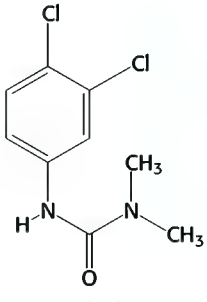


(A)

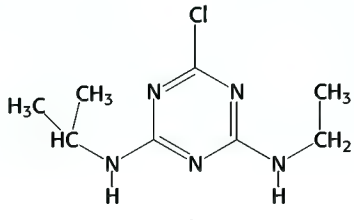


(B)

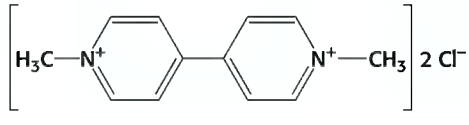
Figura 22.24 Efectos del tratamiento con herbicidas. (A) Un cultivo sano de diente de león. (B) La misma parcela de terreno después de ser tratada con herbicida. [Cortesía del Dr. Chris Boerboom / Universidad de Wisconsin, Madison.]



Diurón



Atrazina



Paraquat

Resumen

22.1 La fotosíntesis tiene lugar en los cloroplastos

Las proteínas que intervienen en las reacciones luminosas de la fotosíntesis se localizan en las membranas tilacoides de los cloroplastos. Las reacciones luminosas dan lugar a (1) la creación de poder reductor para la producción de NADPH, (2) la generación de un gradiente de protones a través de la membrana para la formación de ATP y (3) la producción de O_2.

22.2 La fotosíntesis transforma la energía de la luz en energía química

Las moléculas de clorofila —tetrapirroles con un ion de magnesio en el centro— absorben la luz de forma bastante eficaz porque son polienos. Un electrón excitado a su estado de alta energía por la absorción de un fotón puede migrar a un aceptor de electrones colindante. En la fotosíntesis, un electrón excitado procede de una pareja de moléculas de clorofila asociadas, denominada pareja especial, que está localizada en el centro de reacción. Los complejos captadores de luz que rodean los centros de reacción contienen moléculas adicionales de clorofila *a*, así como carotenoides y moléculas de clorofila *b*, que absorben luz en la región central del espectro visible. Estos pigmentos accesorios aumentan la eficacia de la captación de luz absorbiendo la luz y transfiriendo la energía a los centros de reacción mediante transferencia de energía por resonancia.

22.3 Dos fotosistemas generan un gradiente de protones y NADPH

En las plantas verdes, la fotosíntesis está mediada por dos fotosistemas conectados. En el fotosistema I, la excitación de la pareja especial P700 libera electrones que fluyen hacia la ferredoxina, un potente reductor. La ferredoxina-$NADP^+$ reductasa cataliza la formación de NADPH. En el fotosistema II, la excitación de una pareja especial de moléculas de clorofila denominada P680 da lugar a la transferencia de electrones hacia la plastocianina, que restituye los electrones extraídos del fotosistema I. A medida que los electrones atraviesan el fotosistema II, el complejo citrocromo *bf* y la ferredoxina-$NADP^+$ reductasa, se genera un gradiente de protones. Los electrones extraídos del fotosistema II se reponen mediante la extracción de electrones de una molécula de agua en un centro que contiene cuatro iones manganeso. En este centro se genera una molécula de O_2 por cada cuatro electrones transferidos.

22.4 Un gradiente de protones impulsa la síntesis de ATP

El gradiente de protones a través de la membrana de los tilacoides genera una fuerza protón-motriz que es utilizada por la ATP sintasa para formar ATP. La ATP sintasa de los cloroplastos (también denominada CF_1-CF_0) se parece mucho al ensamblaje que sintetiza ATP en las mitocondrias (F_1-F_0). Si la proporción NADPH/$NADP^+$ es elevada, los electrones transferidos a la ferredoxina por el fotosistema I pueden regresar al complejo citocromo *bf*. Este proceso, denominado fotofosforilación cíclica, da lugar a la generación de un gradiente de protones por parte del complejo citocromo *bf* sin que se forme ni NADPH ni O_2.

Términos clave

reacciones luminosas (p. 390)
cloroplasto (p. 390)
estroma (p. 390)
tilacoide (p. 390)
granum (p. 390)
separación de cargas fotoinducida (p. 392)
centro de reacción (p. 392)
clorofila (p. 392)
pareja especial (p. 393)
carotenoide (p. 394)
complejo captador de luz (p. 395)
fotosistema I (PS I) (p. 395)
fotosistema II (PS II) (p. 395)
P700 (p. 396)
P680 (p. 397)
complejo citocromo *bf* (p. 398)
centro manganeso (p. 399)
esquema Z de la fotosíntesis (p. 400)
fuerza protón-motriz (Δp) (p. 400)
ATP sintasa (complejo CF_1-CF_0) (p. 400)
fotofosforilación cíclica (p. 401)

? Respuesta a la PREGUNTA RÁPIDA

El fotosistema I genera ferredoxina, un potente reductor que reduce el $NADP^+$ a NADPH, una fuente de poder reductor para la biosíntesis. El fotosistema II activa el complejo manganeso, un potente oxidante capaz de oxidar el agua, generando O_2 y electrones que, en última instancia, serán utilizados para reducir el $NADP^+$. Durante la oxidación del agua, el complejo manganeso también genera protones para formar el gradiente de protones que se utiliza para generar ATP.

Problemas

1. *Un prerrequisito crucial.* Los seres humanos no producen energía mediante fotosíntesis y, sin embargo, este proceso es decisivo para nuestra supervivencia. Explicar por qué. ✓ 2

2. *La contabilidad.* ¿Cuál es la reacción global de la fotosíntesis? ✓ 1 y 3

3. *Flauta y tambor.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 1

(a) Reacciones luminosas _____
(b) Cloroplastos _____
(c) Centro de reacción _____
(d) Clorofila _____
(e) Complejo captador de luz _____
(f) Fotosistema I _____
(g) Fotosistema II _____
(h) Complejo citrocromo *bf* _____
(i) Centro manganeso _____
(j) ATP sintasa

1. Utiliza la transferencia de energía por resonancia para alcanzar el centro de reacción
2. Genera NADPH
3. Bombea protones
4. Lugar donde se produce la separación de cargas fotoinducida
5. Localización celular de la fotosíntesis
6. Complejo CF_1-CF_0
7. Genera ATP, NADPH y O_2
8. Lugar donde se genera el oxígeno
9. Transfiere electrones desde el H_2O al P700
10. Pigmento fotosintético fundamental

4. *Una única longitud de onda.* La fotosíntesis se puede medir determinando la velocidad de producción de oxígeno. Cuando las plantas se exponen a luz de una longitud de onda de 680 nm, se libera más oxígeno que cuando se exponen a luz de una longitud de onda de 700 nm. Explicar la razón. ✓ 2

5. *Combinando longitudes de onda.* Si las plantas del problema 4 se iluminan con una mezcla de luz de 680 nm y luz de 700 nm, la producción de oxígeno supera a la que se produce con esas mismas longitudes de onda por separado. Explicar por qué. ✓ 2

6. *Si con un poco va bien...* ¿Cuál es la ventaja de disponer de un extenso conjunto de membranas tilacoides en los cloroplastos? ✓ 2

7. *Separación de cargas.* ¿Cuál es la importancia de la separación de cargas fotoinducida en la fotosíntesis? ✓ 1

8. *Cooperación.* Explicar cómo los complejos captadores de luz incrementan la eficacia de la fotosíntesis. ✓ 1

9. *Una cosa lleva a la otra.* Identificar el aceptor final de electrones y el donador final de electrones en la fotosíntesis. ¿Qué es lo que impulsa el flujo de electrones entre el donador y el aceptor? ✓ 3

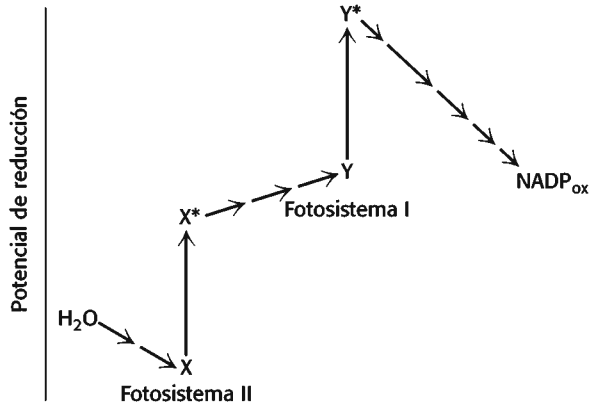
10. *Compensar la neutralidad.* En los cloroplastos, para impulsar la síntesis de ATP se necesita un gradiente de pH a través de la membrana de los tilacoides mayor que el que se necesita a través de la membrana mitocondrial interna. ¿Qué explicación tiene? ✓ 2

11. *Apropiado para su entorno.* La clorofila es una molécula hidrofóbica. ¿Por qué esta propiedad es decisiva para el funcionamiento de la clorofila? ✓ 1

12. *Creando una red social.* ¿Por qué la clorofila es un pigmento que absorbe luz de forma eficaz? ✓ 1

13. *Procedencia de los protones.* ¿Cuáles son las diversas fuentes de protones que contribuyen a la generación de un gradiente de protones en los cloroplastos? ✓ 3

14. *¡Está mal!* Explicar el defecto o los defectos que contiene el esquema ficticio de las reacciones luminosas de la fotosíntesis que se dibuja a continuación.



15. *Transferencia de electrones.* Calcular el $\Delta E'_0$ y el $\Delta G^{o\prime}$ para la reducción del $NADP^+$ por parte de la ferredoxina. Utilice los datos mostrados en la Tabla 20.1. ✓ 3

16. *Para audaces.* (a) Se puede argumentar que, si existiese vida en algún otro lugar del universo, precisaría de algún proceso similar a la fotosíntesis. ¿Por qué es sensato este razonamiento? (b) Si la nave espacial *Enterprise* tuviese que aterrizar en un planeta lejano y no detectase oxígeno en la atmósfera, ¿podría la tripulación llegar a la conclusión de que no hay fotosíntesis?

17. *Herbicida 1.* La diclorofenildimetilurea (DCMU), un herbicida, interfiere con la fotofosforilación y con la producción de O_2. Sin embargo, no impide la producción de O_2 en presencia de un aceptor de electrones artificial como el ferricia-

nuro. Proponga dónde tiene lugar la actividad inhibidora de la DCMU. ✓ 3

18. *Herbicida 2.* Pronostique el efecto del herbicida diclorofenildimetilurea (DCMU) sobre la capacidad de una planta para llevar a cabo la fotofosforilación cíclica. ✓ 3

19. *Experimento mental.* Suponga que tiene una suspensión de cloroplastos a la que le falta ADP y P_i. Expone estos cloroplastos a la luz durante un periodo de tiempo, tras el cual, los coloca en la oscuridad al tiempo que les añade ADP y P_i. ¿En qué medida esperaría usted que se produjese síntesis de ATP, en caso de haberla?

20. *Conteniendo el flujo.* La venturicidina, un antibiótico extraído de una cepa de *Streptomyces*, inhibe el flujo de protones a través de la subunidad CF_0 de la ATP sintasa de los cloroplastos. ¿Qué efecto tendría la adición de venturicidina a una suspensión de cloroplastos que esté generando oxígeno con mucha intensidad? ✓ 2

21. *Incrementando el flujo.* Consideremos nuevamente la situación descrita en el problema 20. ¿Qué se podría añadir a la suspensión inhibida de cloroplastos para que se restablezca la producción de oxígeno? ✓ 2

Problemas de integración de capítulos

22. *Equivalentes funcionales.* ¿Qué característica estructural de las mitocondrias se corresponde con las membranas tilacoides?

23. *Comparar y contrastar.* Comparar y contrastar la fosforilación oxidativa y la fotosíntesis.

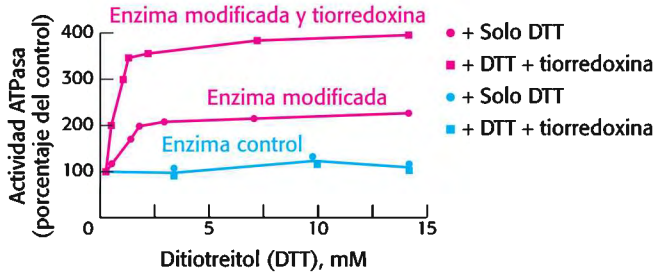
24. *Marcha atrás.* ¿En qué aspecto se parece la transferencia de electrones en la ferredoxina-$NADP^+$ reductasa a la que tiene lugar en el complejo piruvato deshidrogenasa?

25. *Buscando un lugar para descansar.* Albert Szent-Györgyi, bioquímico galardonado con el Premio Nobel, dijo una vez algo en este sentido: "La vida no es más que un electrón en busca de un lugar para descansar". Explicar cómo se ajusta esta breve afirmación a la fotosíntesis y a la respiración celular. ✓ 3

Problema de interpretación de datos y de integración de capítulos

26. *Lo mismo, pero distinto. In vitro*, el complejo $\alpha_3\beta_3\gamma$ de la ATP sintasa de las mitocondrias o de los cloroplastos funcionará como una ATPasa. La enzima de los cloroplastos (que tiene actividad sintasa y ATPasa) es sensible al control redox, mientras que la enzima de las mitocondrias no. Para determinar dónde se encuentra la diferencia entre ambas enzimas se extrajo un segmento de la subunidad γ mitocondrial y se sustituyó por el segmento equivalente de la subunidad γ de los cloroplastos. A continuación, se midió la actividad ATPasa de la enzima modificada en función de las condiciones redox. El ditiotreitol (DTT) es una pequeña molécula que utilizan los bioquímicos para reducir los puentes disulfuro. La tiorredoxina es una enzima que se encuentra normalmente en todas las formas de vida y que reduce los puentes disulfuro.

(a) ¿Cuál es el regulador redox de la ATP sintasa *in vivo*? El gráfico adjunto muestra la actividad ATPasa de la enzima modificada y de la enzima control en varias condiciones redox.



(b) ¿Cuál es el efecto de incrementar el poder reductor de la mezcla de reacción en el caso de la enzima control y en el caso de la enzima modificada?
(c) ¿Cuál es el efecto de la adición de tiorredoxina? ¿En qué se diferencian estos resultados de los obtenidos en presencia de tan solo DTT? Sugiera una posible explicación para esta diferencia.
(d) ¿Consiguieron los investigadores identificar la región de la subunidad γ responsable de la regulación redox?
(e) ¿Cuál es el fundamento bioquímico de la regulación por medio de concentraciones elevadas de agentes reductores?
(f) ¿Qué aminoácidos de la subunidad γ tienen mayor probabilidad de resultar afectados por las condiciones reductoras?
(g) ¿Qué experimentos podrían confirmar su respuesta al apartado *f*?

Problemas para atrevidos

27. *La eficacia importa.* ¿Qué fracción de la energía de la luz de 700 nm absorbida por el fotosistema I se queda retenida en los electrones de alta energía? Los fotones de 700 nm tienen un contenido energético de 172 kJ mol^{-1} de fotones (un mol de fotones también se denomina un einstein). ✓ 1

28. *Cosecha infrarroja.* Consideremos la relación que hay entre la energía de un fotón y su longitud de onda. ✓ 1

(a) Algunas bacterias son capaces de captar luz de 1.000 nm. ¿Cuál es la energía (en kilojulios o en kilocalorías) de un mol (también llamado einstein) de fotones de 1.000 nm?
(b) ¿Cuál es el máximo aumento del potencial redox que se puede inducir por un fotón de 1.000 nm?
(c) ¿Cuál es el mínimo número de fotones de 1.000 nm que se necesitan para formar ATP a partir de ADP y P_i? Considere que el ΔG para la reacción de fosforilacion es de 50 kJ mol^{-1} (12 kcal mol^{-1}).

29. *Reacción de Hill.* En 1939, Robert Hill descubrió que los cloroplastos producen O_2 cuando se les ilumina en presencia de un aceptor de electrones artificial, como, por ejemplo, el ferricianuro $[Fe^{3+}(CN)_6]^{3-}$. Durante este proceso, el ferricianuro se reduce a ferrocianuro $[Fe^{2+}(CN)_6]^{4-}$. No se produce NADPH ni plastocianina reducida. Proponga un mecanismo para la reacción de Hill. ✓ 3

30. *Contabilidad energética.* En la página 412, se muestra el balance general del coste de la síntesis de glucosa. Se necesitan 18 moléculas de ATP. Sin embargo, cuando la glucosa es sometida a combustión en la respiración celular se producen 30 moléculas de ATP. Explique la diferencia. ✓ 2

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 23

El ciclo de Calvin

23.1 El ciclo de Calvin sintetiza **hexosas a partir de dióxido de carbono y agua**

23.2 **El ciclo de Calvin se regula por el entorno**



Los bosques tropicales son los principales lugares donde se produce la fijación del carbono. Aproximadamente, el 50% de la fijación terrestre del carbono tiene lugar en estos bosques. La tala de los bosques tropicales y la consiguiente pérdida de fijación de carbono explican, en parte, el incremento de dióxido de carbono en la atmósfera. [Antonio Nunes/FeaturePics.]

Las reacciones luminosas transforman la energía de la luz en ATP y poder reductor para la biosíntesis, NADPH. La segunda parte de la fotosíntesis utiliza estas materias primas para reducir los átomos de carbono desde su estado totalmente oxidado en forma de dióxido de carbono a un estado más reducido en forma de hexosa. Estas reacciones se denominan reacciones oscuras o reacciones independientes de la luz porque no se necesita directamente la luz. También se suelen denominar *ciclo de Calvin*, en honor a Melvin Calvin, el bioquímico que descubrió la ruta. La fuente de átomos de carbono para el ciclo de Calvin es la sencilla molécula de dióxido de carbono. El ciclo de Calvin suministra a los sistemas vivos los átomos de carbono que se convertirán en los constituyentes bioquímicos de todos los organismos.

✓ 4 Explicar la función del ciclo de Calvin.

23.1 El ciclo de Calvin sintetiza hexosas a partir de dióxido de carbono y agua

El ciclo de Calvin tiene lugar en el estroma de los cloroplastos, los orgánulos fotosintéticos. En este proceso extremadamente importante, *el dióxido de carbono gaseoso queda atrapado en una molécula orgánica, el 3-fosfoglicerato, que tiene muchos destinos bioquímicos.*

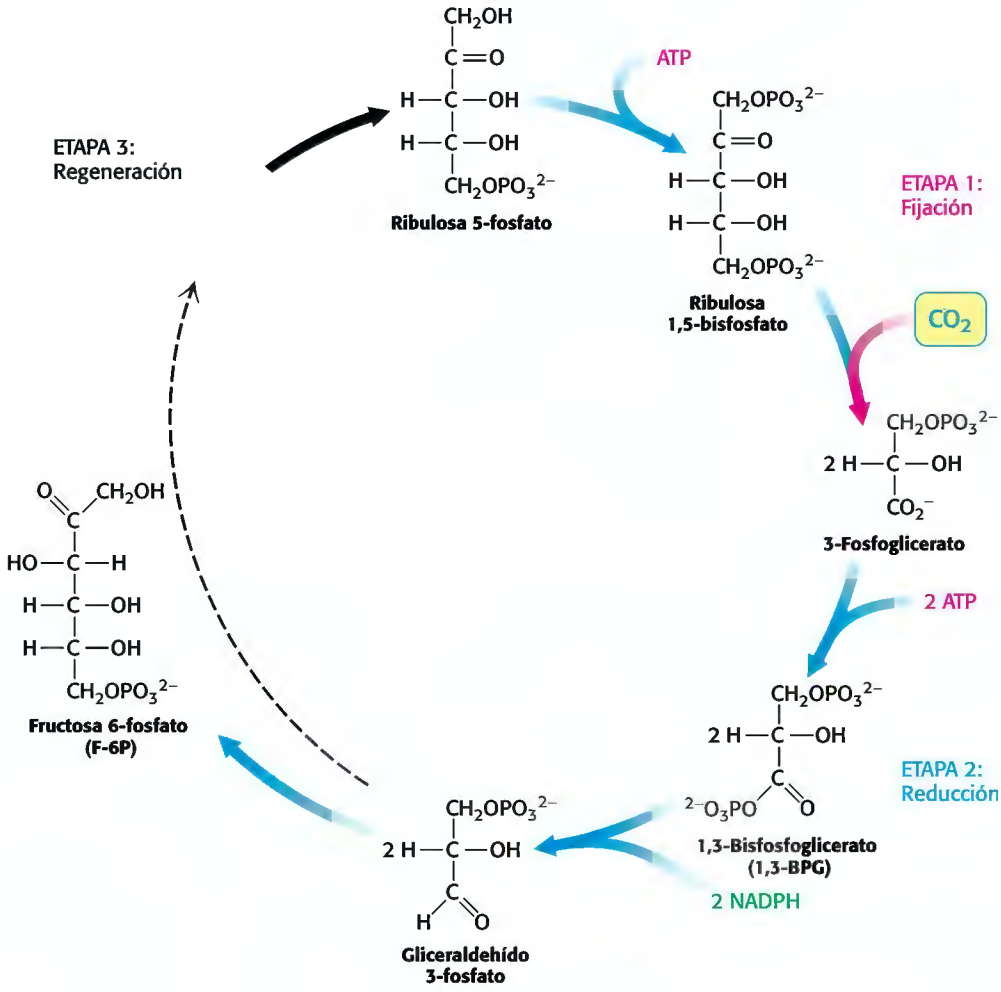
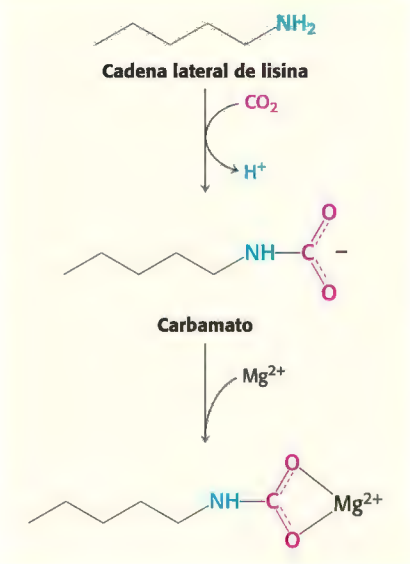


Figura 23.1 El ciclo de Calvin. El ciclo de Calvin consta de tres etapas. La etapa 1 consiste en la fijación del carbono mediante la carboxilación de la ribulosa 1,5-bisfosfato. La etapa 2 es la reducción del carbono fijado para comenzar la síntesis de una hexosa. La etapa 3 consiste en la regeneración del compuesto de partida, la ribulosa 1,5-bisfosfato.



El ciclo de Calvin consta de tres etapas (**Figura 23.1**):

1. La fijación del CO_2 por parte de la ribulosa 1,5-bisfosfato para formar dos moléculas de 3-fosfoglicerato. Recordemos que el 3-fosfoglicerato es un intermediario de la glucólisis y de la gluconeogénesis.
2. La reducción del 3-fosfoglicerato para formar hexosas.
3. La regeneración de la ribulosa 1,5-bisfosfato para que pueda fijar más CO_2.

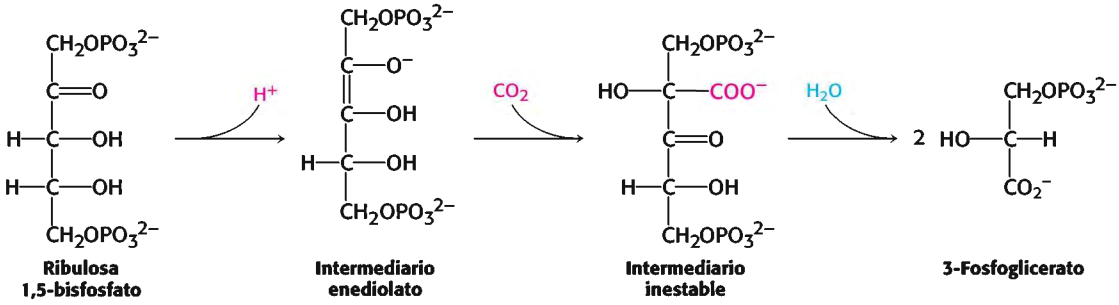
No olvidemos que, debido a la estequiometría de la conversión de seis moléculas de CO_2 en una hexosa, para sintetizar una molécula de glucosa o de cualquier otra hexosa, las tres etapas se tienen que llevar a cabo seis veces. El proceso de regeneración es complicado —de ahí la flecha punteada y la simplificación del proceso representado en la Figura 23.1; los detalles se desvelarán a medida que vayamos avanzando en el proceso. Para simplificar, estudiaremos las reacciones molécula a molécula o de tres en tres.

El dióxido de carbono reacciona con la ribulosa 1,5-bisfosfato para formar dos moléculas de 3-fosfoglicerato

La primera etapa del ciclo de Calvin es la *fijación del CO_2*. Esta reacción es muy exergónica ($\Delta G^{\circ\prime} = -51{,}9$ kJ mol^{-1} o $-12{,}4$ kcal mol^{-1}) y está catalizada por la *ribulosa 1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa* (normalmente denominada *rubisco*), una enzima localizada en la superficie de las membranas de los tilacoides de los cloroplastos que está en contacto con el estroma. *Esta importante reacción es el paso limitante de la síntesis de hexosas.*

La fijación del carbono comienza con la conversión de la ribulosa 1,5-bisfosfato en un intermediario enediolato muy reactivo. La molécula de CO_2 se condensa con el

intermediario enediolato formando un compuesto inestable de seis átomos de carbono que se hidroliza rápidamente y genera dos moléculas de 3-fosfoglicerato.



De este modo, el dióxido de carbono, un producto de desecho de la respiración celular, se reintroduce en el mundo bioquímico. Las plantas que solo utilizan el ciclo de Calvin para fijar el dióxido de carbono se denominan plantas C_3 porque inmediatamente después de la reacción de la rubisco se forma la molécula de tres átomos de carbono 3-fosfoglicerato.

En los cloroplastos, la rubisco consta de ocho subunidades grandes (L, de 55 kDa) y ocho pequeñas (S, de 13 kDa) (Figura 23.2). Cada cadena L contiene un centro catalítico y un centro regulador. Las cadenas S intensifican la actividad catalítica de las cadenas L. Esta enzima es muy abundante en los cloroplastos y representa más del 16% de su contenido proteico total. De hecho, la rubisco es la enzima más abundante de las plantas y, probablemente, la proteína más abundante de la biosfera. Se necesitan grandes cantidades porque la rubisco es una enzima muy poco eficiente; su máxima velocidad catalítica es de tan sólo 3 s^{-1}. La actividad catalítica de la rubisco también necesita un CO_2 unido, además del CO_2 que actúa como sustrato. El CO_2 unido forma un carbamato con la lisina 201 de la subunidad grande (ver el margen de la p. 408). El carbamato se une a un ion Mg^{2+} que resulta necesario para la actividad catalítica. Más adelante veremos la importancia que tiene este requisito para la regulación.

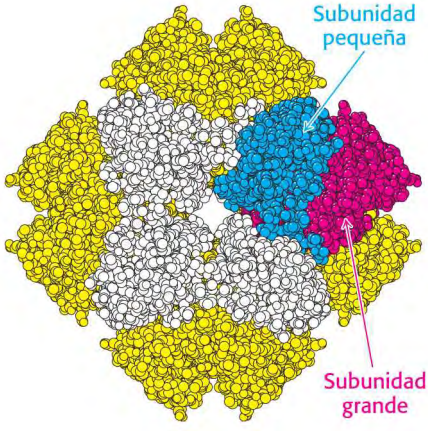


Figura 23.2 Estructura de la rubisco. La enzima ribulosa 1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (rubisco) consta de ocho subunidades grandes (una de ellas se muestra de color rojo y el resto de color amarillo) y ocho subunidades pequeñas (una de ellas se muestra de color azul y el resto de color blanco). Los centros activos se encuentran en las subunidades grandes. [Elaborada a partir de 1RXO.pdb.]

Las hexosas fosfato se sintetizan a partir de fosfoglicerato y se regenera la ribulosa 1,5-bisfosfato

En la segunda etapa del ciclo de Calvin, el 3-fosfoglicerato producido por la rubisco se convierte en una hexosa fosfato. Los pasos de esta conversión (Figura 23.3) son como los de la ruta gluconeogénica (p. 300), salvo por el hecho de que la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa de los cloroplastos, que genera gliceraldehído 3-fosfato (GAP) durante el tercer paso de la conversión, es específica para NADPH en vez de para NADH. El producto hexosa fosfato del ciclo de Calvin puede ser cualquiera de las tres formas isoméricas: glucosa 1-fosfato, glucosa 6-fosfato y fructosa 6-fosfato que, de forma conjunta, reciben el nombre de *reservorio de hexosas monofosfato*. Recordemos que estos isómeros son fácilmente interconvertibles entre sí (pp. 274 y 305). Alternativamente, el gliceraldehído 3-fosfato puede ser transportado al citoplasma y metabolizado a fructosa 6-fosfato y glucosa 1-fosfato, utilizando la ruta gluconeo-

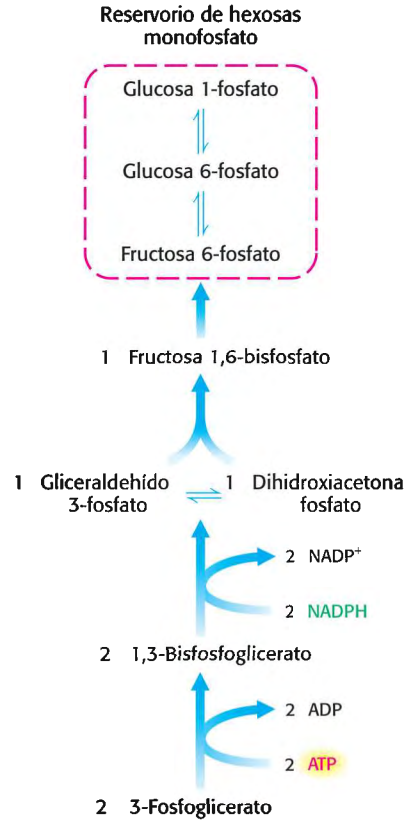


Figura 23.3 Formación de hexosas fosfato. El 3-fosfoglicerato se convierte en fructosa 6-fosfato mediante una ruta paralela a la de la gluconeogénesis.

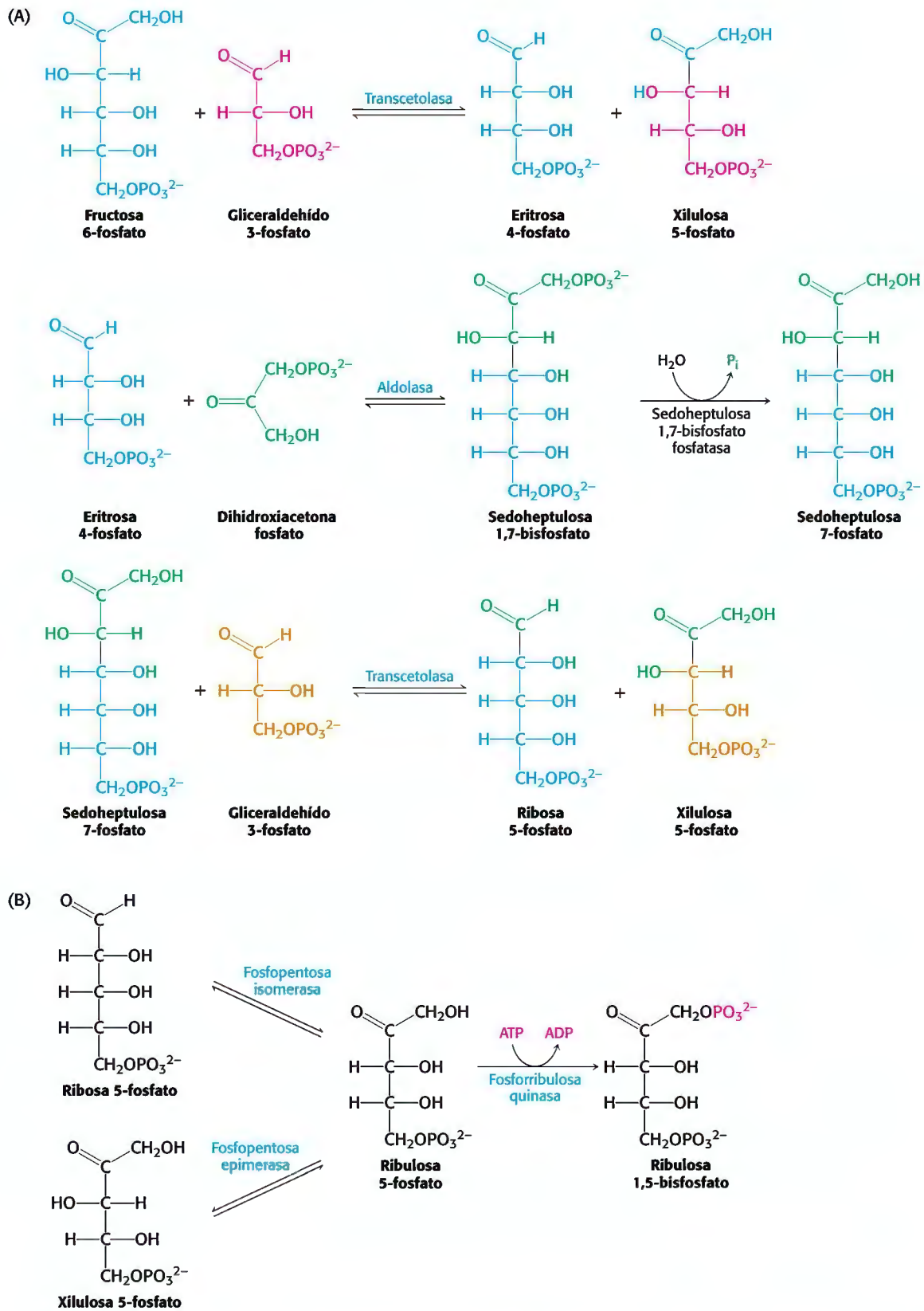


Figura 23.4 Regeneración de la ribulosa 1,5-bisfosfato. (A) A partir de azúcares de seis y tres átomos de carbono, una transcetolasa y una aldolasa generan los azúcares de cinco átomos de carbono ribosa 5-fosfato y xilulosa 5-fosfato. (B) Tanto la ribosa 5-fosfato como la xilulosa 5-fosfato se convierten en ribulosa 5-fosfato que, posteriormente, se fosforila para completar la regeneración de la ribulosa 1,5-bisfosfato.

génica y la enzima fosfoglucomutasa. La fructosa 6-fosfato y la glucosa 1-fosfato se utilizan para la síntesis de sacarosa (ver la Figura 23.8). Estas reacciones y la reacción catalizada por la rubisco elevan el CO_2 al grado de oxidación de una hexosa, convirtiendo el CO_2 en un combustible químico a expensas del NADPH y del ATP generados durante las reacciones luminosas.

La tercera y última etapa del ciclo de Calvin consiste en la regeneración de la ribulosa 1,5-bisfosfato, el aceptor de CO_2 en la primera etapa. Esta regeneración no se realiza de forma tan sencilla como la regeneración del oxalacetato en el ciclo del ácido cítrico. El reto consiste en construir un azúcar de cinco átomos de carbono a partir de un componente del reservorio de hexosas monofosfato, de seis átomos de carbono, y de moléculas de tres átomos de carbono como el gliceraldehído 3-fosfato. Una transcetolasa, que volveremos a encontrar en la ruta de las pentosas fosfato, y una aldolasa, una enzima de la glucólisis y de la gluconeogénesis, desempeñan un papel decisivo en la reordenación de los átomos de carbono. Con estas enzimas, la construcción del azúcar de cinco átomos de carbono tiene lugar tal y como se muestra en la Figura 23.4. La suma de estas reacciones es

Fructosa 6-fosfato + 2 gliceraldehído 3-fosfato
+ dihidroxiacetona fosfato + 3 ATP ⟶
3-ribulosa 1,5-bisfosfato + 3 ADP

Esta serie de reacciones completa el ciclo de Calvin (Figura 23.5). La Figura 23.5 muestra las reacciones necesarias con la estequiometría adecuada para convertir tres moléculas de CO_2 en una molécula de dihidroxiacetona fosfato (DHAP). Sin embargo, se necesitan dos moléculas de DHAP para la síntesis de un componente del reser-

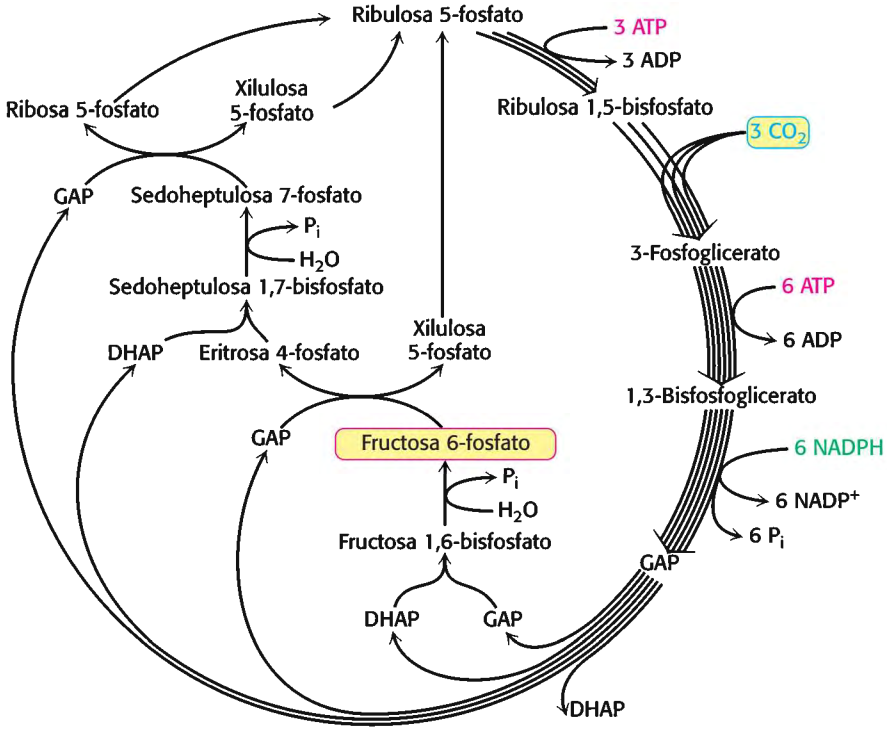


Figura 23.5 Estequiometría del ciclo de Calvin. El diagrama muestra las reacciones necesarias con la estequiometría correcta para convertir tres moléculas de CO_2 en una molécula de dihidroxiacetona fosfato (DHAP). Posteriormente, dos moléculas de DHAP se convierten en uno de los componentes del reservorio de hexosas monofosfato, mostrado en la figura en forma de fructosa 6-fosfato. El ciclo no es tan sencillo como se muestra en la Figura 23.1; en vez de ello, incluye muchas reacciones que dan lugar, en última instancia, a la síntesis de glucosa y a la regeneración de la ribulosa 1,5-bisfosfato. [Tomado de J. R. Bowyer y R. C, Leegood, Photosynthesis. En *Plant biochemistry*, P. M. Dey y J. B. Harborne, Eds. (Academic Press, 1997), p. 85.]

vorio de hexosas monofosfato. En consecuencia, el ciclo, tal y como está representado, tiene que llevarse a cabo dos veces para generar una hexosa monofosfato. El resultado del ciclo de Calvin es la generación de una hexosa y la regeneración del compuesto de partida, la ribulosa 1,5-bisfosfato. *Básicamente, la ribulosa 1,5-bisfosfato actúa catalíticamente, de forma similar al oxalacetato en el ciclo del ácido cítrico.*

Para elevar el dióxido de carbono al nivel de una hexosa se utilizan tres moléculas de ATP y dos moléculas de NADPH

¿Cuánta energía se gasta durante la síntesis de una hexosa? Hacen falta seis vueltas del ciclo de Calvin porque en cada vuelta se reduce un átomo de carbono. Se gastan 12 moléculas de ATP para fosforilar 12 moléculas de 3-fosfoglicerato a 1,3-bisfosfoglicerato y se consumen 12 moléculas de NADPH para reducir 12 moléculas de 1,3-bisfosfoglicerato a gliceraldehído 3-fosfato. Para regenerar la ribulosa 1,5-bisfosfato se gastan otras 6 moléculas de ATP. Por tanto, la ecuación ajustada de la reacción global del ciclo de Calvin es

$$6\,CO_2 + 18\,ATP + 12\,NADPH + 12\,H_2O \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 18\,ADP + 18\,P_i + 12\,NADP^+ + 6\,H^+$$

Por tanto, se consumen 3 moléculas de ATP y 2 moléculas de NADPH para incorporar una única molécula de CO_2 a una hexosa como la glucosa o la fructosa. Bioquímicamente, la síntesis de glucosa a partir de CO_2 es cara desde el punto de vista energético, pero la fuente de energía primordial —la luz del sol— es abundante.



Figura 23.6 Erupción del volcán Pinatubo. [©InterNetwork Media/Getty Images.]

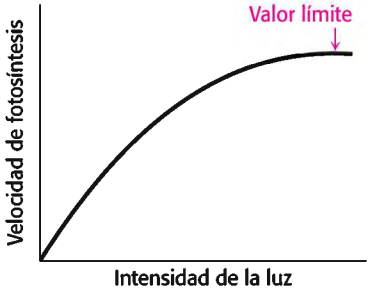


Figura 23.7 La fotosíntesis tiene una velocidad máxima. Cuando los complejos captadores de luz se encuentran saturados por la luz, la velocidad de fotosíntesis alcanza un valor límite.

Aspecto biológico

Una erupción volcánica puede afectar a la fotosíntesis en todo el mundo

El 12 de junio de 1991, hubo una erupción en el volcán Pinatubo, situado en la isla de Luzón, en Filipinas (Figura 23.6). La erupción, que fue la más grande en cien años, mató a más de 700 personas. La erupción también arrojó a la atmósfera alrededor de 15 millones de toneladas de SO_2 en forma de un aerosol de sulfato, envolviendo la Tierra con una inmensa manta de aerosol durante unas tres semanas. La capa de aerosol dio lugar a una disminución de la cantidad total de luz solar (la luz directa del sol más la luz dispersada) que llegaba a la Tierra, pero incrementó la proporción de luz dispersada.

A la vez que el aerosol de sulfato rodeaba el planeta, la velocidad a la que aumentaba el CO_2 atmosférico disminuyó bruscamente. Además, una estación experimental del noreste de los Estados Unidos informó que la fotosíntesis medida al mediodía aumentó en casi un 25%. ¿Podría existir una relación entre estos dos sucesos?

Si el incremento en la fotosíntesis observado en el noreste de los Estados Unidos estuviese ocurriendo a escala global, tal y como cabría esperar, se hubiese extraído más cantidad de CO_2 de la atmósfera por parte de la rubisco, lo que explicaría la disminución en la velocidad de aumento del CO_2. Pero ¿por qué ocurrió? Aunque todavía no se ha determinado de forma definitiva, se ha sugerido que la luz dispersa provocada por el aerosol de sulfato habría incrementado, de hecho, la cantidad de fotosíntesis que se estaba llevando a cabo. La Figura 23.7 muestra que cuando aumenta la intensidad de luz, la velocidad de fotosíntesis alcanza un valor límite. En consecuencia, bajo la brillante luz directa del sol, las hojas superiores de un bosque estarían recibiendo más luz de la que pueden utilizar bioquímicamente. Sin embargo, bajo la luz directa del sol, las hojas inferiores que se encuentran a la sombra de las hojas más altas estarían desprovistas de luz. Por otra parte, la luz dispersada penetrará más profundamente en el bosque. Más hojas recibirán luz, más moléculas de la rubisco estarán activas y más CO_2 se convertirá en azúcar. ■

En las plantas, el almidón y la sacarosa son las principales reservas de carbohidratos

¿Qué destinos aguardan a los átomos de carbono fijados y procesados por las enzimas del ciclo de Calvin? Estas moléculas se utilizan de diversas formas pero hay dos destinos importantes. En las plantas, las reservas de azúcar mayoritarias son de dos tipos: almidón y sacarosa. El *almidón*, como su homólogo en animales, el glucógeno

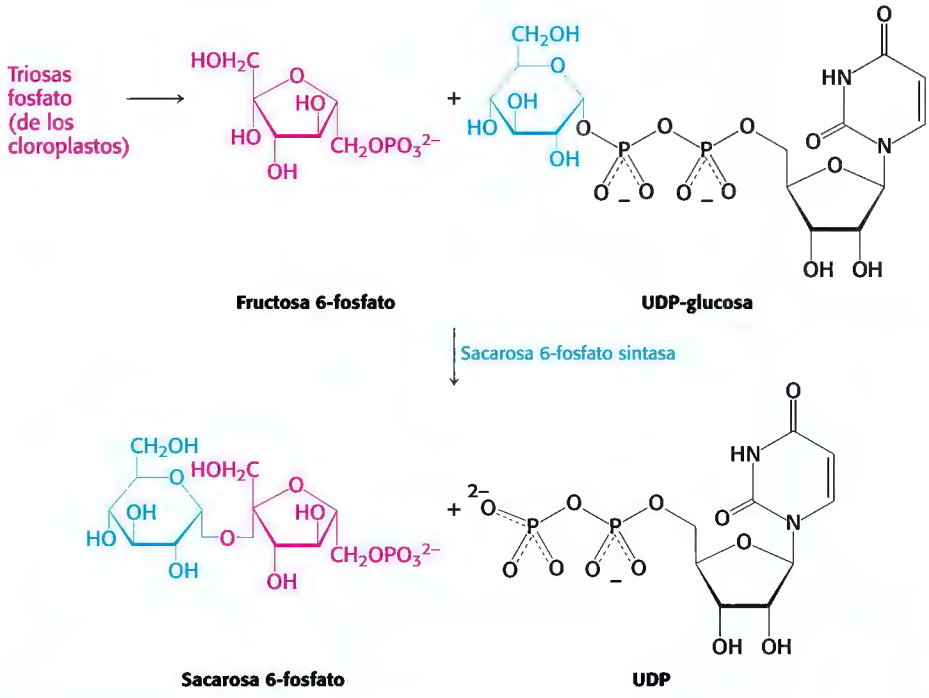


Figura 23.8 Síntesis de sacarosa. La sacarosa 6-fosfato se forma mediante la reacción entre la fructosa 6-fosfato y el intermediario activado uridina difosfato glucosa (UDP-glucosa).

(p. 165), es un polímero de residuos de glucosa. El almidón se presenta en dos formas: amilosa, que está formada por moléculas de glucosa unidas exclusivamente mediante enlaces α-1,4; y amilopectina, que está ramificada a causa de la presencia de enlaces α-1,6. El almidón se sintetiza y almacena en los cloroplastos.

Por el contrario, la *sacarosa* (el azúcar de mesa común) es un disacárido que se sintetiza en el citoplasma. Las plantas carecen de la capacidad para transportar hexosas fosfato a través de la membrana de los cloroplastos, pero un antiporte fosfato muy abundante (p. 205) interviene en el transporte de triosas fosfato desde los cloroplastos al citoplasma, a cambio de fosfato. En el citoplasma se forma fructosa 6-fosfato a partir de estas triosas fosfato y se une a la unidad de glucosa de una UDP-glucosa (glucosa activada, p. 284) para formar sacarosa 6-fosfato (**Figura 23.8**). A continuación, se hidroliza la sacarosa 6-fosfato generando sacarosa. Este disacárido es uno de los componentes de la savia y es transportado desde las hojas a las partes no fotosintéticas de la planta, como, por ejemplo, las raíces, y se almacena en muchas células vegetales, como ocurre en el caso de la remolacha azucarera y la caña de azúcar (**Figura 23.9**).



Figura 23.9 La sacarosa se transporta por toda la planta, ya que es uno de los componentes de la savia. El jarabe de arce, que se obtiene a partir del arce sacarino (*Acer saccharum*) mediante ebullición y evaporación, es una disolución de sacarosa al 65%, aproximadamente, con algo de glucosa y fructosa. [Brittany Carter Courville/Stockphoto.]

? PREGUNTA RÁPIDA 1 ¿Por qué el ciclo de Calvin es fundamental para el funcionamiento de todas las formas de vida?

Aspecto biológico

Por qué se pone duro el pan: el papel del almidón

El endurecimiento del pan es un complejo proceso en el que intervienen todos sus componentes —incluyendo las proteínas, los lípidos, el almidón y sus complejas interacciones. Consideremos el papel del almidón. Normalmente, un gránulo de almidón no es una formación amorfa, sino una estructura cristalina organizada de un modo muy preciso. Este ordenamiento que adquiere el gránulo de almidón se debe a todos los puentes de hidrógeno que se forman entre las cadenas de amilosa y las moléculas de amilopectina a medida que se van colocando una al lado de la otra. Sin embargo, cuando se calienta el almidón durante el horneado, se rompen los puentes de hidrógeno de la estructura cristalina, permitiendo así la absorción de agua. El agua deshace la estructura cristalina por completo. Por tanto, los gránulos de almidón se vuelven más amorfos, lo que contribuye al sabor y a la textura de la miga de pan (el interior de una barra de pan).



Figura 23.10 Endurecimiento del pan. La cristalización del almidón es la causa de que se forme la corteza de pan. [Lukasphoto/FeaturePics.]

A medida que el pan se enfría tras ser sacado del horno (**Figura 23.10**), las moléculas de amilosa se separan de la estructura amorfa del almidón y empiezan a asociarse entre sí; en otras palabras, la amilosa cristaliza. Esta cristalización tiene lugar principalmente sobre la superficie del pan, ya que resulta favorecida por la evaporación del agua superficial. Esta cristalización hace que la superficie esté crujiente.

Mientras tanto, en el interior del pan, la cristalización de la amilopectina de la miga es más lenta, posiblemente debido a su estructura ramificada y el proceso se prolonga durante varios días. A medida que se va formando el cristal, se libera el agua unida a la amilopectina, dando lugar al deterioro de la textura y el sabor de la miga. El agua sigue estando presente, pero ya no está asociada a las moléculas de amilopectina. De hecho, en este punto es posible revertir el endurecimiento si se vuelve a calentar el pan para rehidratar la amilosa interna y los cristales de amilopectina. Sin embargo, si se deja el pan al aire, el agua se desplazará a la superficie, haciendo que el pan deje de estar crujiente, y posteriormente se evaporará. Más evaporación dará lugar a más cristalización y, en última instancia, nos quedamos con una barra de pan que resultará más apropiada para ser usada como tope para una puerta. ■

✓ 5 Describir cómo se coordinan las reacciones luminosas y el ciclo de Calvin.

23.2 El ciclo de Calvin se regula por el entorno

¿Cómo se comunican las reacciones luminosas con las reacciones oscuras para regular el decisivo proceso de la fijación del CO_2 en las biomoléculas? *La principal forma de regulación es la alteración del ambiente del estroma por medio de las reacciones luminosas.* En el interior del estroma, las reacciones luminosas dan lugar a un incremento tanto del pH como de las concentraciones de Mg^{2+}, NADPH y ferredoxina reducida —y todo ello contribuye a la activación de determinadas enzimas del ciclo de Calvin (**Figura 23.11**).

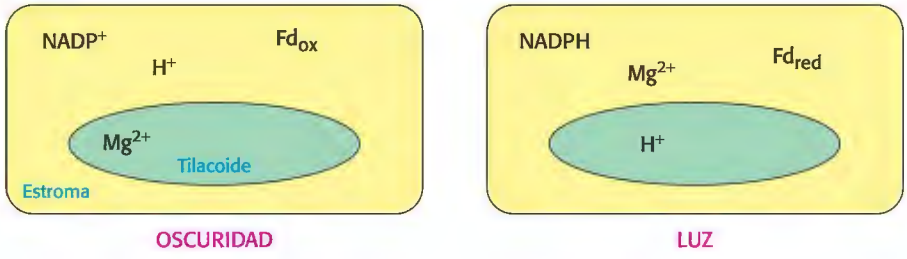


Figura 23.11 Regulación del ciclo de Calvin por medio de la luz. Las reacciones luminosas de la fotosíntesis transfieren electrones desde el *lumen* de los tilacoides hacia el estroma, y transfieren H^+ desde el estroma hacia el *lumen* de los tilacoides. Como consecuencia de estos procesos, las concentraciones de NADPH, ferredoxina reducida (Fd) y Mg^{2+} en el estroma son mayores cuando hay luz que en la oscuridad, mientras que la concentración de H^+ es menor cuando hay luz. Todos y cada uno de estos cambios de concentración ayudan a acoplar las reacciones del ciclo de Calvin con las reacciones luminosas.

Tal y como se afirma en la página 408, el paso limitante del ciclo de Calvin es la carboxilación de la ribulosa 1,5-bisfosfato para formar dos moléculas de 3-fosfoglicerato. Esta reacción está catalizada por la rubisco, una enzima que funciona muy lentamente. *La actividad de la rubisco aumenta considerablemente si se expone a la luz.* ¿Cómo modifican las reacciones luminosas la actividad de la rubisco? Recordemos que la lisina 201 de la rubisco tiene que unirse a CO_2 para que se forme el carbamato esencial para su actividad catalítica (p. 409). La formación de carbamato se ve favorecida por un pH alcalino y elevadas concentraciones de iones Mg^{2+} en el estroma, y ambas condiciones son consecuencia del bombeo de protones desde el estroma al espacio de los tilacoides impulsado por la luz. La concentración de iones Mg^{2+} aumenta porque los iones Mg^{2+} del espacio de los tilacoides se liberan al estroma para compensar la entrada de protones. De este modo, la luz provoca la generación de señales reguladoras, además del ATP y el NADPH.

La tiorredoxina desempeña un papel clave en la regulación del ciclo de Calvin

Las reacciones impulsadas por la luz dan lugar a la transferencia de electrones desde el agua a la ferredoxina y, en última instancia, al NADPH. *Tanto la ferredoxina reducida como el NADPH regulan enzimas del ciclo de Calvin.* Una proteína importante en estos procesos reguladores es la *tiorredoxina*, una proteína de 12 kDa que contiene residuos de cisteína próximos entre sí. La tiorredoxina alterna entre una forma oxidada con

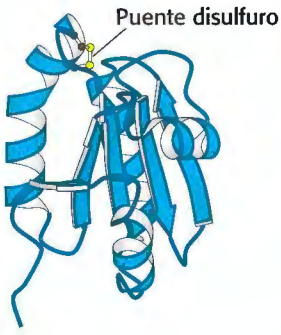


Figura 23.12 Tiorredoxina. La forma oxidada de la tiorredoxina contiene un puente disulfuro. Cuando la ferredoxina reducida reduce la tiorredoxina, el puente disulfuro se convierte en dos grupos sulfhidrilo libres. La tiorredoxina reducida puede deshacer puentes disulfuro en las enzimas, activando determinadas enzimas del ciclo de Calvin y desactivando algunas enzimas degradativas. [Elaborada a partir de 1F9M.pdb.]

un puente disulfuro entre las dos cisteínas y una forma sulfhidrilo reducida (**Figura 23.12**). En los cloroplastos, la tiorredoxina oxidada es reducida por la ferredoxina mediante una reacción catalizada por la *ferredoxina-tiorredoxina reductasa*. La forma reducida de la tiorredoxina activa la rubisco y otras enzimas del ciclo de Calvin, así como muchas enzimas de otras rutas metabólicas de la célula, reduciendo los puentes disulfuro que controlan su actividad (**Tabla 23.1**). De esta forma, *las actividades de las reacciones luminosas y oscuras de la fotosíntesis se coordinan mediante la transferencia de electrones desde la ferredoxina reducida a la tiorredoxina y, posteriormente, a otras enzimas que contienen puentes disulfuro reguladores* (**Figura 23.13**).

Tabla 23.1 Enzimas reguladas por la tiorredoxina

Enzima	Ruta
Rubisco	Fijación de carbono en el ciclo de Calvin
Fructosa 1,6-bisfosfatasa	Gluconeogénesis
Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa	Ciclo de Calvin, gluconeogénesis, glucólisis
Sedoheptulosa 1,7-bisfosfatasa	Ciclo de Calvin
Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa	Ruta de las pentosas fosfato
Fenilalanina amonio liasa	Síntesis de lignina
Ribulosa 5′-fosfato quinasa	Ciclo de Calvin
$NADP^+$-malato deshidrogenasa	Ruta C_4

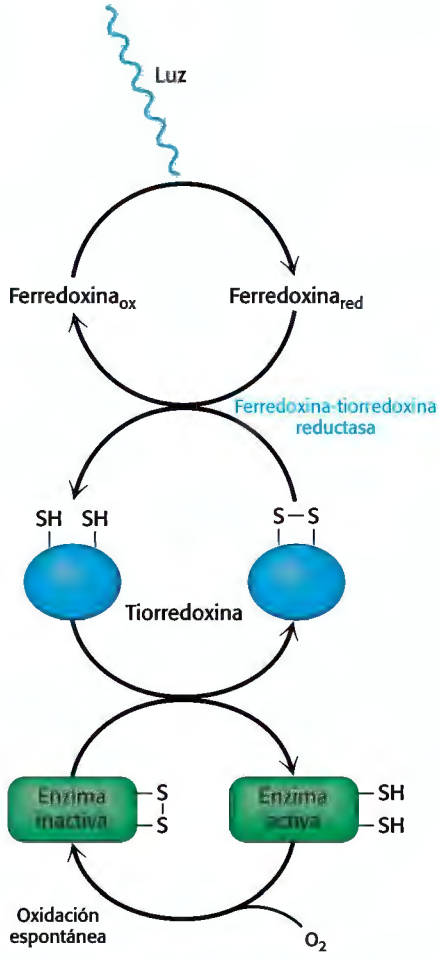


Figura 23.13 Activación enzimática mediada por la tiorredoxina. La tiorredoxina reducida activa determinadas enzimas del ciclo de Calvin deshaciendo puentes disulfuro reguladores.

La rubisco también cataliza una reacción oxigenasa improductiva

La rubisco es una de las enzimas más importantes de la vida porque suministra carbono orgánico a la biosfera. Sin embargo, esta enzima tiene su lado derrochador. A veces, la rubisco reacciona con el O_2 en lugar de con el CO_2, catalizando una reacción oxigenasa inútil. Los productos de esta reacción son el *fosfoglicolato* y el *3-fosfoglicerato* (**Figura 23.14**). El fosfoglicolato no es un metabolito muy versátil. Una ruta de rescate recupera parte de su esqueleto carbonado, reciclando tres de los cuatro átomos de carbono de dos moléculas de glicolato. No obstante, se pierde un átomo de carbono en

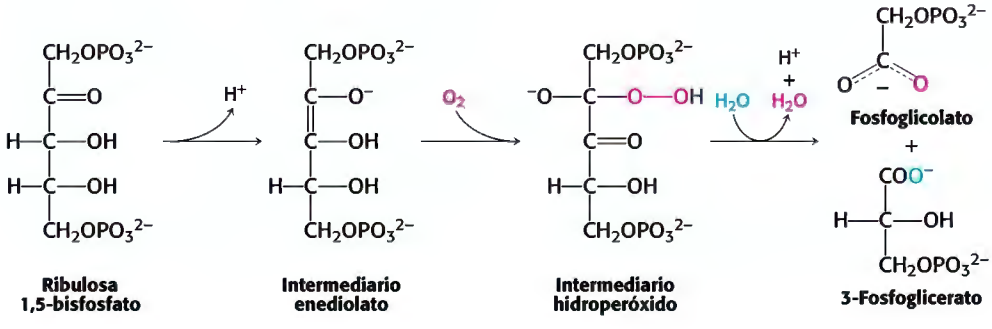


Figura 23.14 Una reacción secundaria improductiva. El intermediario enediolato reactivo de la rubisco también reacciona con el oxígeno molecular para formar un intermediario hidroperóxido que acaba transformándose en una molécula de 3-fosfoglicerato y una molécula de fosfoglicolato.

forma de CO_2. Este proceso se denomina *fotorrespiración* porque, al igual que en la respiración celular, se consume O_2 y se libera CO_2. Sin embargo, la fotorrespiración es un despilfarro, ya que el carbono orgánico se convierte en CO_2 sin que se produzca ni ATP, ni NADPH ni ningún otro metabolito rico en energía. Este despilfarro plantea la pregunta: ¿cuál es la razón bioquímica de esta ineficacia? Los resultados de estudios estructurales muestran que, cuando se forma el intermediario enediolato reactivo, unos bucles de la proteína tapan el centro activo para proteger el enediolato. Se mantiene un canal que conecta con el entorno para permitir el acceso del CO_2. No obstante, al igual que el CO_2, el O_2 es una molécula lineal que también puede introducirse en el canal. Básicamente, el problema no reside en la enzima sino en la estructura poco diferenciada del CO_2. El dióxido de carbono carece de características químicas que permitan diferenciarlo de otros gases como el O_2 y, por tanto, la actividad oxigenasa es un fallo inevitable de la enzima. Sin embargo, existe otra posibilidad. Puede que la actividad oxigenasa no sea una imperfección de la enzima sino que la comprensión de su utilidad escape a nuestros conocimientos. Quizás la actividad oxigenasa desempeñe una importante función bioquímica que todavía no hemos descubierto.

La actividad oxigenasa aumenta con la temperatura más rápidamente que la actividad carboxilasa, lo que supone un problema para las plantas tropicales. Las plantas como la caña de azúcar y el maíz, que crecen en climas cálidos, ¿cómo evitan velocidades de fotorrespiración muy elevadas? La solución al problema ilustra una de las maneras mediante las cuales responde la fotosíntesis a las condiciones ambientales.

En las plantas tropicales, la ruta C_4 acelera la fotosíntesis concentrando el dióxido de carbono

Una forma de superar la actividad oxigenasa intrínseca de la rubisco consiste en conseguir una elevada concentración local de CO_2 allí donde se lleva a cabo el ciclo de Calvin en las células fotosintéticas. La esencia de este proceso consiste en que *compuestos con cuatro átomos de carbono (C_4), como el oxalacetato, transportan CO_2 desde las células del mesófilo localizadas en la superficie de las hojas hasta el interior de las células de la vaina del haz, que es donde se lleva a cabo, mayoritariamente, la fotosíntesis* (**Figura 23.15**). La descarboxilación del compuesto de cuatro carbonos en una célula de la vaina del haz mantiene una elevada concentración de CO_2 en el lugar donde se lleva a cabo el ciclo de Calvin. El compuesto de tres carbonos resultante, el piruvato, vuelve a las células del mesófilo para otro ciclo de carboxilación.

La *ruta C_4* para el transporte de CO_2, también denominada *ruta de Hatch-Slack*, en honor a sus descubridores Marshall Davidson Hatch y Charles Roges Slack, comienza en una célula del mesófilo con la condensación de CO_2 y fosfoenolpiruvato para formar *oxalacetato*, mediante una reacción catalizada por la *fosfoenolpiruvato carboxilasa*. A continuación, el fosfoenolpiruvato se convierte en *malato* gracias a una malato deshidrogenasa asociada al $NADP^+$. El malato entra en la célula de la vaina del haz y se descarboxila en el interior de los cloroplastos por medio de una isoenzima distinta de la malato deshidrogenasa asociada al $NADP^+$. El CO_2 liberado se incorpo-

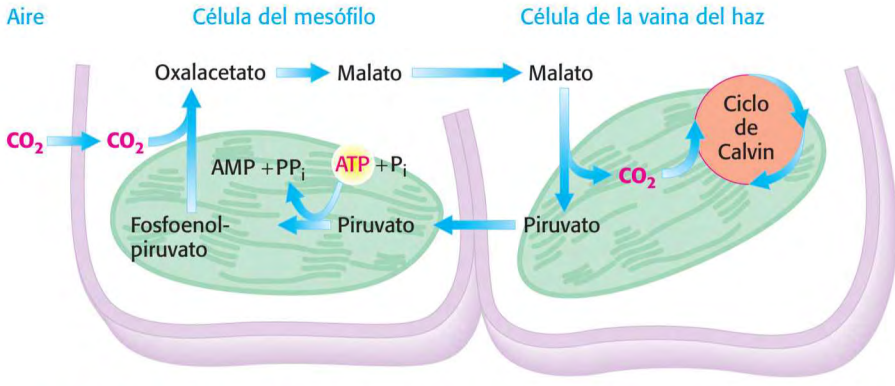


Figura 23.15 La ruta C_4. El dióxido de carbono se concentra en las células de la vaina del haz gastando ATP en las células del mesófilo.

ra al ciclo de Calvin de forma normal, condensándose con la ribulosa 1,5-bisfosfato. El piruvato que se forma en esta reacción de descarboxilación vuelve a la célula del mesófilo. Por último, se forma fosfoenolpiruvato a partir de piruvato gracias a la *piruvato-P_i diquinasa*. La reacción global de esta ruta C_4 es

$$CO_2 \text{ (en la célula del mesófilo)} + ATP + H_2O \longrightarrow CO_2 \text{ (en la célula de la vaina del haz)} + AMP + 2\,P_i + H^+$$

De esta forma, *durante el transporte de CO_2 a los cloroplastos de las células de la vaina del haz se consume el equivalente energético a dos moléculas de ATP*. Básicamente, este proceso es un transporte activo: el bombeo de CO_2 hacia las células de la vaina del haz está impulsado por la hidrólisis de una molécula de ATP a una molécula de AMP y dos moléculas de ortofosfato. Como resultado de este transporte, la concentración de CO_2 en las células de la vaina del haz puede ser 20 veces mayor que en las células del mesófilo.

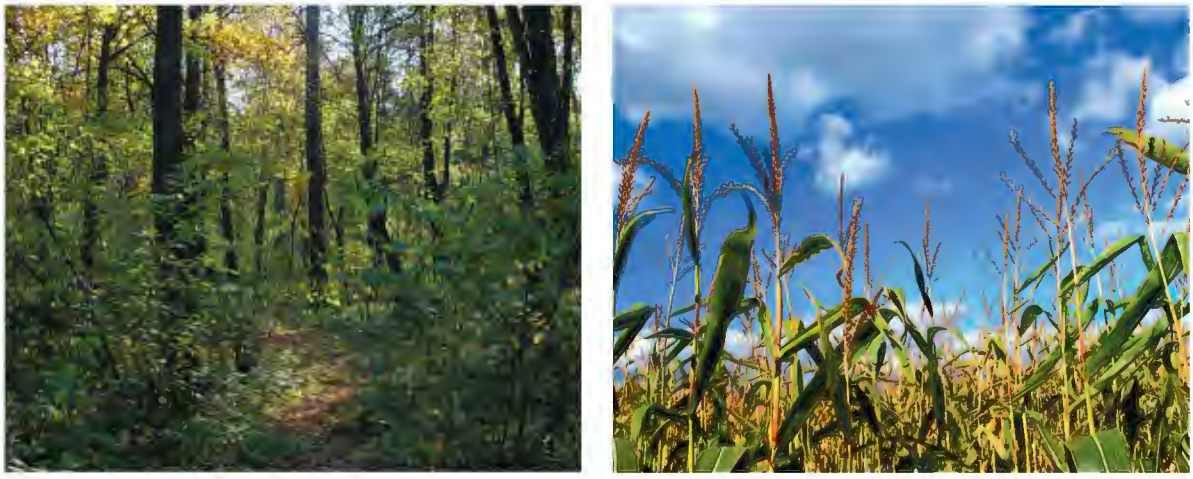
Cuando la ruta C_4 y el ciclo de Calvin operan de forma conjunta, la reacción global es

$$6\,CO_2 + 30\,ATP + 12\,NADPH + 12\,H_2O \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 30\,ADP + 30\,P_i + 12\,NADP^+ + 18\,H^+$$

Hay que señalar que se consumen 30 moléculas de ATP por cada molécula de hexosa que se forma cuando la ruta C_4 aporta CO_2 al ciclo de Calvin, a diferencia de las 18 moléculas de ATP por molécula de hexosa que se necesitan en ausencia de la ruta C_4. La elevada concentración de CO_2 que se obtiene gastando una molécula extra de ATP acelera la velocidad de fotosíntesis en las plantas tropicales, que crecen con luz abundante, y minimiza la pérdida de energía causada por la fotorrespiración. Las plantas que dependen de la ruta C_4 se denominan *plantas C_4*.

Las plantas tropicales con una ruta C_4 fotorrespiran poco porque la elevada concentración de CO_2 en sus células de la vaina del haz acelera la reacción carboxilasa en relación a la reacción oxigenasa. La distribución geográfica de las plantas que presentan esta ruta (las plantas C_4) y de las que carecen de ella (las plantas C_3) se puede entender ahora en términos moleculares. *Las plantas C_4* tienen ventaja en un ambiente cálido y con una intensa iluminación, lo que explica su prevalencia en los trópicos. *Las plantas C_3*, que en ausencia de fororrespiración solo consumen 18 moléculas de ATP por cada molécula de hexosa formada (en comparación con las 30 moléculas de ATP que se necesitan en el caso de las plantas C_4), son más eficaces que las plantas C_4 en ambientes donde la temperatura es moderada (**Figura 23.16**).

? PREGUNTA RÁPIDA 2 ¿Por qué la ruta C_4 es tan valiosa para las plantas tropicales?



(A) (B)

Figura 23.16 Plantas C_3 y C_4. (A) Las plantas C_3, como los árboles, representan el 95% de las especies de plantas. (B) El maíz es una planta C_4 de enorme importancia para la agricultura. [(A) Audrey Ustuzhanih/FeaturePics; (B) Elena Elisseeva/FeaturePics.]



Figura 23.17 Plantas desérticas. Los cactus están muy bien adaptados a la vida en el desierto gracias al metabolismo ácido de las crasuláceas. [America/Alamy.]



Figura 23.18 Estomas. Micrografía electrónica de una estoma abierto y de un estoma cerrado. [Power and Syred/Science Photo Library/Science Source.]

El metabolismo ácido de las crasuláceas permite el crecimiento en ecosistemas áridos

El agua es un protagonista importante de la fotosíntesis; si no hay agua para suministrar electrones, la fotosíntesis oxigénica se detiene. La disponibilidad de agua no es un problema en las regiones templadas ni en los trópicos húmedos y cálidos, pero no es muy abundante en los desiertos (**Figura 23.17**). De hecho, durante los días calurosos y secos del desierto, la pérdida de agua por evaporación podría suponer un serio problema para las plantas que no estén adaptadas a estas condiciones. Una adaptación crucial de las plantas desérticas es la apertura y cierre controlados de los *estomas*, poros microscópicos localizados en la cara inferior de las hojas de las plantas y que se utilizan para el intercambio de gases.

Muchas plantas que crecen en climas calurosos y secos deben mantener cerrados los estomas de sus hojas durante el día, cuando hace calor, para evitar la pérdida de agua (**Figura 23.18**). En consecuencia, no se puede absorber CO_2 durante las horas del día, cuando hace falta para la síntesis de hexosas. Es más bien por la noche cuando el CO_2 entra en las hojas, cuando la temperatura es más fresca y los estomas se abren. Para almacenar el CO_2 hasta que pueda ser utilizado durante el día, estas plantas hacen uso de una adaptación denominada *metabolismo ácido de las crasuláceas* (CAM), término que hace referencia a la familia Crassulaceae (que incluye muchas plantas suculentas). El dióxido de carbono se fija mediante la ruta C_4 en malato, que se almacena en vacuolas. Durante el día, el malato se descarboxila y el CO_2 queda disponible para el ciclo de Calvin. A diferencia de las plantas C_4, las plantas CAM separan temporalmente, en vez de espacialmente, la acumulación del CO_2 de su utilización.

Resumen

23.1 El ciclo de Calvin sintetiza hexosas a partir de dióxido de carbono y agua

El ATP y el NADPH formados durante las reacciones luminosas de la fotosíntesis se utilizan para convertir el CO_2 en hexosas y otros compuestos orgánicos. La fase oscura de la fotosíntesis, denominada ciclo de Calvin, comienza con la reacción del CO_2 y la ribulosa 1,5-bisfosfato, para formar dos moléculas de 3-fosfoglicerato. Los pasos para la conversión del 3-fosfoglicerato en fructosa 6-fosfato y glucosa 6-fosfato son como los de la gluconeogénesis, salvo por el hecho de que la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa de los cloroplastos es específica para el NADPH en vez de para el NADH. La ribulosa 1,5-bisfosfato se regenera a partir de fructosa 6-fosfato, gliceraldehído 3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato mediante una compleja serie de reacciones. Por cada molécula de CO_2 que se convierte en hexosa se consumen tres moléculas de ATP y dos moléculas de NADPH. El almidón de los cloroplastos y la sacarosa del citoplasma son las principales reservas de carbohidratos en plantas.

23.2 El ciclo de Calvin se regula por el entorno

La actividad del ciclo de Calvin está coordinada con las reacciones luminosas de la fotosíntesis. La tiorredoxina reducida formada por la transferencia, impulsada por la luz, de electrones procedentes de la ferredoxina activa enzimas del ciclo de Calvin reduciendo puentes disulfuro. El incremento del pH y de los niveles de Mg^{2+} que se producen en el estroma impulsado por la luz es importante a la hora de estimular la carboxilación de la ribulosa 1,5-bisfosfato por parte de la rubisco.

La rubisco también cataliza una reacción oxigenasa que compite con la carboxilación y que genera fosfoglicolato y 3-fosfoglicerato. El reciclaje del fosfoglicolato da lugar a la liberación de CO_2 y a un mayor consumo de O_2 mediante un proceso denominado fotorrespiración. En las plantas tropicales, se minimiza esta reacción secundaria improductiva gracias a la existencia de una ruta accesoria —la ruta C_4— para concentrar el CO_2 en el lugar donde se lleva a cabo el ciclo de Calvin. Esta ruta permite a las plantas tropicales aprovechar los intensos niveles de luz y minimizar la oxigenación de la ribulosa 1,5-bisfosfato. En los ecosistemas áridos, las plantas utilizan el metabolismo ácido de las crasuláceas para evitar la deshidratación. En las plantas CAM, la ruta C_4 está activa durante la noche, cuando la planta intercambia gases con el aire. Durante el día, se interrumpe el intercambio gaseoso y el CO_2 se genera a partir del malato almacenado en vacuolas.

Términos clave

ciclo de Calvin (reacciones oscuras) (p. 407)
rubisco (ribulosa 1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa) (p. 408)
almidón (p. 412)
sacarosa (p. 412)
tiorredoxina (p. 414)
ruta C_4 (p. 416)
planta C_3 (p. 417)
planta C_4 (p. 417)
estomas (p. 418)
metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) (p. 418)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. El ciclo de Calvin es el principal medio para convertir el CO_2 gaseoso en materia orgánica, es decir, biomoléculas. Básicamente, en algún momento del pasado, todos y cada uno de los átomos de carbono de nuestro organismo se han incorporado al ciclo de Calvin a través de la rubisco.

2. La ruta C_4 permite el aumento de la concentración de CO_2 en el lugar donde se produce la fijación del carbono. Elevadas concentraciones de CO_2 inhiben la reacción oxigenasa de la rubisco. Esta inhibición es importante para las plantas tropicales porque la actividad oxigenasa aumenta más rápidamente con la temperatura que la actividad carboxilasa.

Problemas

1. *Sea amable con las plantas.* ¿Qué diferencia hay entre autótrofos y heterótrofos? ✓ 4

2. *¿Reacciones cabalísticas?* ¿Por qué, en algunas ocasiones, las reacciones del ciclo de Calvin también se denominan reacciones oscuras? ¿Tienen lugar solo por la noche o son reacciones siniestras y secretas? ✓ 4

3. *Armonía a tres bandas.* Se puede considerar que el ciclo de Calvin tiene lugar en tres etapas. Descríbalas. ✓ 4

4. *Huevos con jamón.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 4

(a) Ciclo de Calvin _____
(b) Rubisco _____
(c) Carbamato _____
(d) Almidón _____
(e) Sacarosa _____
(f) Amilosa _____
(g) Amilopecptina _____
(h) Plantas C_3 _____
(i) Plantas C_4 _____
(j) Estomas _____

1. Fijación del CO_2
2. Forma de almacenamiento de los carbohidratos
3. Solo presenta enlaces α-1,4
4. Tras la fijación del carbono se forma 3-fosfoglicerato
5. Las reacciones oscuras
6. Contiene enlaces α-1,4
7. Necesario para la actividad de la rubisco
8. La fijación del carbono da lugar a la formación de oxalacetato
9. Permite el intercambio de gases
10. Forma de transporte de los carbohidratos

5. *No se trata de ser la más rápida.* Sugiera una razón por la que la rubisco puede ser la enzima más abundante del mundo. ✓ 4

6. *Un requisito.* En una atmósfera carente de CO_2 pero rica en O_2, desaparece la actividad oxigenasa de la rubisco. ¿Por qué? ✓ 5

7. *No se come gratis.* Explique por qué el mantenimiento de una elevada concentración de CO_2 en las células de la vaina del haz de las plantas C_4 es un ejemplo de transporte activo. ¿Cuántas moléculas de ATP se necesitan por cada molécula de CO_2 para mantener una elevada concentración de CO_2 en las células de la vaina del haz de las plantas C_4?

8. *Reducción localizada.* En los cloroplastos, la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa utiliza NADPH para intervenir en la síntesis de glucosa. En la gluconeogénesis que tiene lugar en el citoplasma, la isoenzima de la deshidrogenasa utiliza NADH. ¿Por qué resulta ventajosa la utilización de NADPH por parte de la enzima del cloroplasto? ✓ 4

9. *La conexión entre las reacciones luminosas y las oscuras.* Para su actividad catalítica, la rubisco necesita una molécula de CO_2 unida covalentemente a la lisina 201. La actividad carboxilasa de la rubisco se ve favorecida por el elevado pH y las altas concentraciones de Mg^{2+} que hay en el estroma. ¿Por qué es lógico, desde el punto de vista fisiológico, que estas condiciones favorezcan la actividad carboxilasa de la rubisco? ✓ 5

10. *Comunicación.* ¿Cuáles son los cambios dependientes de la luz que se producen en el estroma y que regulan el ciclo de Calvin? ✓ 5

11. *Cuando uno es igual a dos.* En la ruta C_4 se utiliza una molécula de ATP para combinar el CO_2 con el fosfoenolpiruvato y formar oxalacetato, pero en el cálculo de la contabilidad energética se considera que se consumen dos moléculas de ATP. Sugiera una explicación.

12. *La canícula de agosto.* Antes de ponerse de moda el césped bien cuidado, la mayoría de los propietarios de casas practicaban el darwinismo hortícola. Como resultado, el exuberante césped de principios de verano se solía convertir, durante la canícula de agosto, en vigorosos cultivos de malas hierbas. Proponga una posible explicación bioquímica para esta transformación. ✓ 4

13. *¿Fotos que respiran?* ¿Qué es la fotorrespiración? ¿A qué se debe? ¿Por qué se considera que es un despilfarro?

14. *La competencia es buena.* ¿Por qué las elevadas concentraciones de CO_2 inhiben la fotorrespiración?

15. *Calentamiento global.* Las plantas C_3 son más abundantes en las latitudes más elevadas y son menos frecuentes en las latitudes próximas al ecuador. Lo contrario es cierto en el caso de las plantas C_4. ¿Cómo podría afectar el calentamiento global a esta distribución?

16. *¿Es rentable?* Las plantas C_3 necesitan 18 moléculas de ATP para sintetizar una molécula de glucosa. Por otra parte, las plantas C_4 necesitan 30 moléculas de ATP para sintetizar una molécula de glucosa. ¿Por qué habría de utilizar una planta el metabolismo C_4 en vez del metabolismo C_3 teniendo en cuenta que el metabolismo C_3 es mucho más eficiente?

Problemas de integración de capítulos

17. *Comparar y contrastar.* Indique las semejanzas y las diferencias que hay entre el ciclo de Krebs y el ciclo de Calvin. ✓ 4

18. *Eficacia fotosintética.* Utilice la siguiente información para estimar la eficacia de la fotosíntesis.

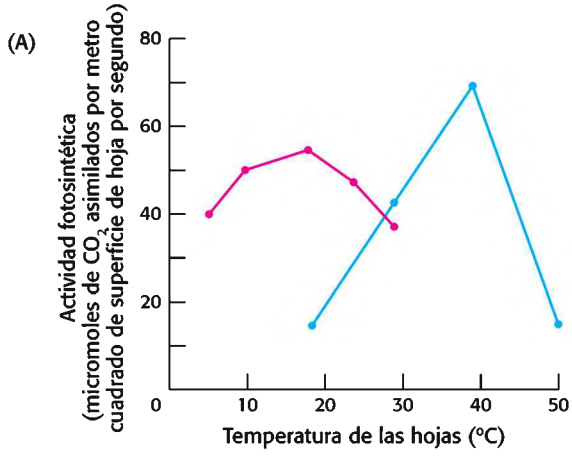
El $\Delta G^{\circ\prime}$ para la reducción del CO_2 al nivel de una hexosa es de +477 kJ mol^{-1} (+114 kcal mol^{-1}).

Un mol de fotones de 600 nm tiene un contenido energético de 199 kJ (47,6 kcal).

Suponga que el gradiente de protones generado para producir el NADPH que se necesita es suficiente para impulsar la síntesis del ATP necesario.

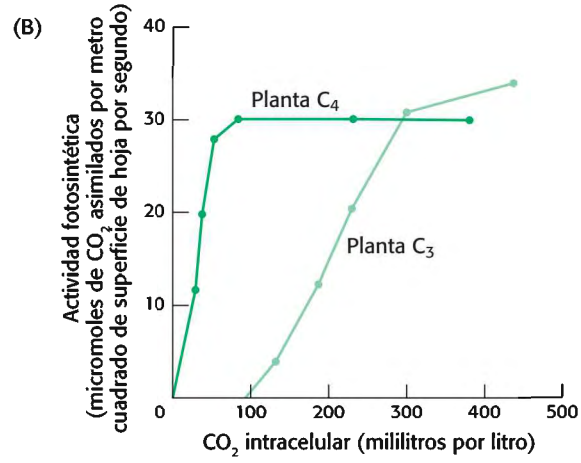
Problema de interpretación de datos

19. *Decidir entre tres y cuatro.* La gráfica A muestra la actividad fotosintética de dos especies de plantas, una es una planta C_4 y la otra es una planta C_3, en función de la temperatura de las hojas.



(a) ¿Qué datos tendrán mayor probabilidad de haber sido generados por la planta C_4 y qué datos habrán sido generados por la planta C_3? Razone la respuesta.
(b) Sugiera algunas posibles explicaciones de por qué la actividad fotosintética disminuye a temperaturas elevadas.

La gráfica B muestra cómo varía la actividad fotosintética de las plantas C_3 y C_4 en función de la concentración de CO_2 cuando se mantienen constantes la temperatura (30 °C) y la intensidad de la luz (elevada).



(c) ¿Por qué las plantas C_4 crecen tanto a concentraciones de CO_2 que no permiten el crecimiento de las plantas C_3)?
(d) Sugiera una posible explicación de por qué las plantas C_3 siguen aumentando su actividad fotosintética a concentraciones más elevadas de CO_2, mientras que las plantas C_4 alcanzan un valor estable.

Problemas para atrevidos

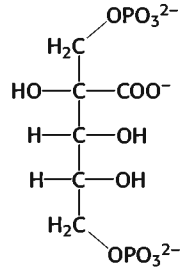
20. *Experimentos de marcaje.* Cuando Melvin Calvin llevó a cabo sus experimentos iniciales sobre la fijación del carbono, expuso algas a dióxido de carbono radiactivo. A los cinco segundos, solo había un compuesto orgánico que presentaba radiactividad pero a los 60 segundos multitud de compuestos habían incorporado radiactividad. (a) ¿Qué compuesto es el que contenía inicialmente la radiactividad? (b) ¿Qué compuestos contenían radiactividad a los 60 segundos?

21. *Eclipse total.* Una suspensión iluminada de *Chlorella*, un género de algas verdes unicelulares, está fotosintetizando activamente. Suponga que, de repente, se apaga la luz. ¿Cómo cambiarán los niveles de 3-fosfoglicerato y de ribulosa 1,5-bisfosfato en el primer minuto? ✓ 5

22. *Privación de CO_2.* Una suspensión iluminada de *Chlorella* está fotosintetizando activamente en presencia de 1% de CO_2. La concentración de CO_2 se reduce bruscamente al 0,003%. ¿Qué efecto tendrá esta reducción sobre los niveles de 3-fosfoglicerato y de ribulosa 1,5-bisfosfato en el primer minuto? ✓ 5

23. *Un potente análogo.* El 2-carboxiarabinitol 1,5-bisfosfato (CABP) ha resultado muy útil en los estudios de la rubisco.

(a) ¿A qué intermediario catalílico se parece el CABP?
(b) Pronostique el efecto del CABP sobre la rubisco.



2-Carboxiarabinitol 1,5-bisfosfato (CABP)

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.



Capítulo 24: Degradación del glucógeno



Capítulo 25: Síntesis del glucógeno



Capítulo 26: La ruta de las pentosas fosfato

SECCIÓN 11

Metabolismo del glucógeno y ruta de las pentosas fosfato

Los ciclistas y los corredores de fondo la denominan "pájara". Este término hace referencia a un estado de agotamiento en el que resulta imposible seguir haciendo ejercicio. ¿Cuál es el fundamento bioquímico de esta situación?

Cuando terminan los exámenes finales, hay veces en que los cansados estudiantes permanecen durmiendo durante doce horas o más. Aunque los demás tejidos pueden utilizar las reservas de grasa como combustible, el cerebro necesita glucosa. ¿Cómo se suministra glucosa al cerebro durante este prolongado ayuno?

Las respuestas a estas dos preguntas están relacionadas con una biomolécula: el *glucógeno*. Este polímero es una forma de almacenar de glucosa que se puede movilizar fácilmente, ya que cuando hace falta energía se puede descomponer para generar moléculas de glucosa. El sentimiento de cansancio posterior a un ejercicio intenso se explica, en parte, por el agotamiento del glucógeno muscular, mientras que la dosificación de las reservas de glucógeno hepático durante el ayuno nocturno permite al cerebro seguir funcionando.

Como cualquier recurso valioso, la glucosa se debe almacenar cuando hay de sobra. Gran parte de la glucosa que se consume tras hacer ejercicio o tras el sueño nocturno se almacena en forma de glucógeno. La interacción entre la descomposición del glucógeno y su síntesis tiene que estar muy coordinada para garantizar que el organismo tenga glucosa cuando la necesite.

No todo el metabolismo del glucógeno está relacionado con las necesidades energéticas. El producto final de la descomposición del glucógeno —la glucosa 6-fosfato—

también se puede metabolizar mediante una ruta presente en todos los organismos y que se conoce indistintamente como la ruta de las pentosas fosfato, la ruta de las hexosas monofosfato, la ruta del fosfogluconato o el desvío de las pentosas. Esta ruta ofrece a todos los organismos la posibilidad de oxidar glucosa para generar poder reductor para la biosíntesis, NADPH, que se utiliza para sintetizar muchas biomoléculas, especialmente las grasas. Como ya se indicó en la Sección 10, el NADPH también es un producto del fotosistema I durante la fotosíntesis, aunque este proceso solo proporciona NADPH a las plantas. La ruta de las pentosas fosfato también se puede utilizar para el metabolismo de las pentosas ingeridas en la dieta, para la síntesis de las pentosas necesarias para generar nucleótidos y para el catabolismo y la síntesis de azúcares poco frecuentes de cuatro y siete átomos de carbono.

Comenzaremos esta sección estudiando cómo se degradan, o movilizan, las reservas de glucógeno y cómo se regula esta movilización. La movilización del glucógeno se activa durante el ejercicio o el ayuno. A continuación, examinaremos el proceso inverso: cuando hay poca demanda de energía y hay glucosa en exceso, se sintetiza glucógeno. Analizaremos cómo se coordinan la síntesis y la degradación del glucógeno. Por último, veremos cómo se metaboliza la glucosa 6-fosfato, el producto final de la descomposición del glucógeno, para suministrar poder reductor y azúcares de cinco átomos de carbono.

✓ Al final de esta sección, usted debería ser capaz de:

- ✓ 1 Enumerar y describir los pasos de la descomposición del glucógeno e identificar las enzimas necesarias.
- ✓ 2 Explicar la regulación de la descomposición del glucógeno.
- ✓ 3 Describir los pasos de la síntesis de glucógeno e identificar las enzimas necesarias.
- ✓ 4 Explicar la regulación de la síntesis de glucógeno.
- ✓ 5 Describir cómo se coordinan la movilización y la síntesis de glucógeno.
- ✓ 6 Identificar las dos etapas de la ruta de las pentosas fosfato y explicar cómo se coordina la ruta con la glucólisis y con la gluconeogénesis.
- ✓ 7 Identificar la enzima que controla la ruta de las pentosas fosfato.

CAPÍTULO 24

Degradación del glucógeno

24.1 La descomposición del glucógeno requiere varias enzimas

24.2 La fosforilasa se regula mediante interacciones alostéricas y fosforilación reversible

24.3 La adrenalina y el glucagón son una señal de que hay que descomponer glucógeno



Para los corredores, el glucógeno es una fuente de energía fundamental. La movilización del glucógeno —la conversión del glucógeno en glucosa— está muy regulada. [AP Photo/Stew Milne.]

El glucógeno es un polímero de residuos de glucosa muy grande y ramificado (Figura 24.1). En el glucógeno, la mayoría de los residuos de glucosa están unidos mediante enlaces glicosídicos α-1,4 y las ramificaciones, que se encuentran cada 10 residuos, aproximadamente, se crean por medio de enlaces glicosídicos α-1,6. El glucógeno no está tan reducido como los ácidos grasos y, por consiguiente, no contiene tanta energía. Entonces, ¿por qué no se almacena todo el exceso de combustible en forma de ácidos grasos en vez de en forma de glucógeno? La glucosa rápidamente movilizada a partir del glucógeno es una buena fuente de energía para la actividad intensa y repentina. A diferencia de los ácidos grasos, la glucosa liberada puede suministrar energía en ausencia de oxígeno y puede, por tanto, aportar energía para realizar actividades anaeróbicas. Además, la liberación controlada de la glucosa a partir del glucógeno mantiene los niveles de glucosa en sangre entre las comidas. La sangre en circulación mantiene el suministro de glucosa al cerebro, ya que es prácticamente el único combustible que utiliza este órgano, excepto en casos de ayuno prolongado.

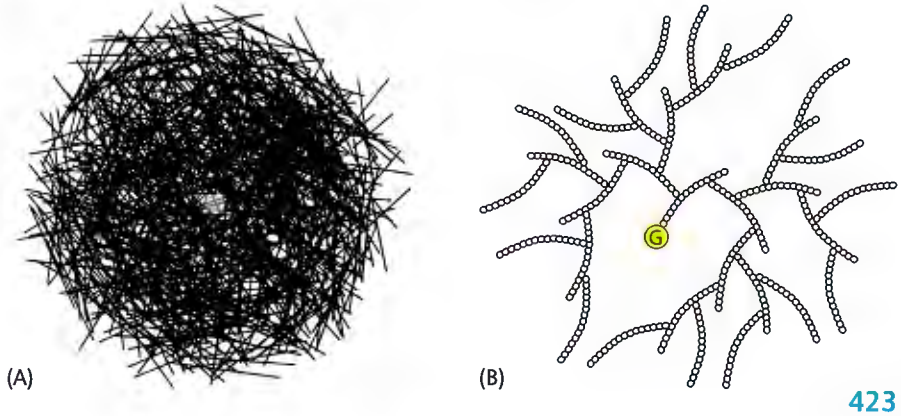


Figura 24.1 Glucógeno. Las unidades de glucosa unidas mediante enlaces α-1,4 se muestran como líneas rectas. Los extremos no reductores de la molécula de glucógeno forman la superficie del gránulo de glucógeno. En el centro de la molécula de glucógeno se encuentra la proteína glucogenina (mostrada en color amarillo, capítulo 25). La degradación se produce sobre esta superficie. (B) Sección transversal de una molécula de glucógeno. La glucogenina se representa mediante la letra G. [(A) Tomado de R. Meléndez, E. Meléndez-Hevia y E. T. Canela, Fractal structure of glycogen: A clever solution to optimize cell metabolism. *Biophys. J.* 77: 1327-1332, 1999.]

Aunque la mayoría de los tejidos tienen algo de glucógeno, los dos lugares donde se almacena principalmente el glucógeno son el hígado y el músculo esquelético. La concentración de glucógeno en el hígado es mayor que en el músculo (el 10% en peso, frente al 2%), pero, en total, se almacena más glucógeno en el músculo esquelético porque en el organismo hay más cantidad de músculo esquelético que de tejido hepático. El glucógeno se encuentra en el citoplasma en forma de gránulos cuyo diámetro está comprendido entre 10 y 40 nm. *En el hígado, la síntesis y la degradación de glucógeno están reguladas para poder mantener los niveles de glucosa en sangre necesarios para satisfacer las necesidades globales del organismo.* Durante el ayuno nocturno, la glucosa se va dosificando a partir del hígado para mantener la función del cerebro durante la noche. Por el contrario, en el músculo estos procesos están regulados para satisfacer las necesidades energéticas del propio músculo. La descomposición del glucógeno se lleva a cabo para obtener el combustible necesario para satisfacer la demanda de ATP de la contracción muscular. Se cree que el agotamiento de las reservas de glucógeno en el músculo es una de las principales causas de la fatiga —la pájara.

✓ 1 Enumerar y describir los pasos de la descomposición del glucógeno e identificar las enzimas necesarias.

24.1 La descomposición del glucógeno requiere varias enzimas

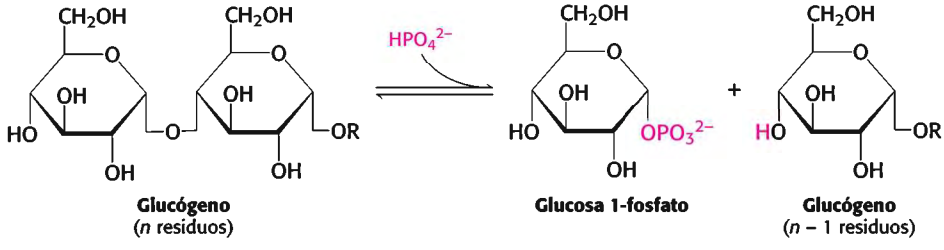
La descomposición eficiente del glucógeno para producir glucosa 6-fosfato para otros usos metabólicos requiere cuatro actividades enzimáticas: una para degradar el glucógeno, dos para remodelar el glucógeno de modo que pueda seguir siendo un sustrato para la degradación y una para convertir el producto de la descomposición del glucógeno en una molécula adecuada pasa seguir siendo metabolizada. Vamos a estudiar estas actividades de una en una.

La fosforilasa escinde el glucógeno liberando glucosa 1-fosfato

La *glucógeno fosforilasa*, la enzima reguladora clave de la descomposición del glucógeno escinde su sustrato añadiendo ortofosfato (P_i) para generar *glucosa 1-fosfato*. La ruptura de un enlace mediante la adición de ortofosfato se denomina *fosforolisis*.

$$\underset{(n \text{ residuos})}{\text{Glucógeno}} + P_i \rightleftharpoons \text{glucosa 1-fosfato} + \underset{(n-1 \text{ residuos})}{\text{glucógeno}}$$

La fosforilasa cataliza la extracción secuencial de residuos de glucosa a partir de los extremos no reductores de la molécula de glucógeno, tal y como se ilustra en la Figura 24.2 (los extremos con un grupo OH libre en el carbono 4; p. 161). El ortofosfato rompe el enlace glicosídico entre el C-1 del residuo terminal y el C-4 del residuo adyacente. Concretamente, escinde el enlace entre el átomo de carbono C-1 y el átomo de oxígeno glicosídico, con lo que se mantiene la configuración α del C-1 de la glucosa 1-fosfato recién liberada.



La glucosa 1-fosfato liberada del glucógeno puede convertirse fácilmente en glucosa 6-fosfato, un importante intermediario metabólico, gracias a la enzima fosfoglucomutasa.

La ruptura fosforolítica del glucógeno es ventajosa desde el punto de vista energético porque el azúcar que se libera ya está fosforilado. Por el contrario, una ruptura hidrolítica generaría glucosa, que posteriormente tendría que ser fosforilada, gastando una molécula de ATP, para incorporarse a la ruta glucolítica. En el caso de las células musculares, una ventaja adicional de la ruptura fosforolítica es que la glucosa 1-fosfato

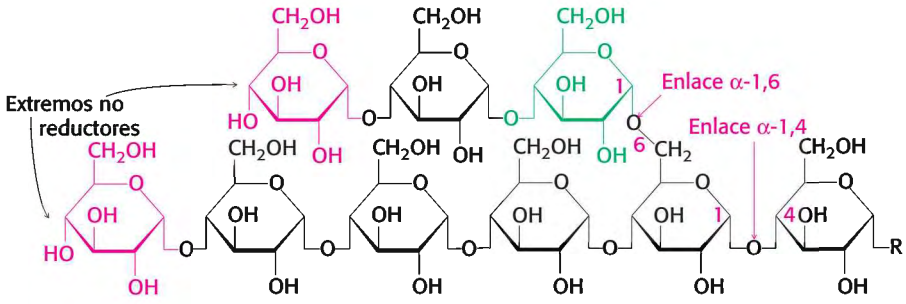


Figura 24.2 Estructura del glucógeno. En esta estructura, que representa dos ramas externas de una molécula de glucógeno, los residuos situados en los extremos no reductores se muestran de color rojo y el residuo del que parte una ramificación se muestra de color verde. El resto de la molécula de glucógeno se representa mediante una R.

no puede ser transportada fuera de las células, ya que no existen transportadores para esta molécula, que en condiciones fisiológicas está cargada negativamente.

Para descomponer el glucógeno también se necesita una enzima desramificante

La glucógeno fosforilasa puede llevar a cabo por sí misma el proceso de degradación del glucógeno, pero solo hasta cierto punto porque, antes o después, se encontrará con un obstáculo. La fosforilasa no puede romper los enlaces glicosídicos α-1,6 presentes en los puntos de ramificación. De hecho, la fosforilasa deja de romper los enlaces α-1,4 cuando llega a un residuo situado cuatro posiciones antes de un punto de ramificación. Como aproximadamente uno de cada 10 residuos está ramificado, la degradación del glucógeno producida exclusivamente por la fosforilasa se pararía tras la liberación de seis moléculas de glucosa de cada rama.

¿Cómo se puede degradar el resto de la molécula de glucógeno para que pueda ser utilizado como combustible? Otras dos enzimas, una *transferasa* y una α-*1,6 glucosidasa*, reestructuran el glucógeno para que pueda seguir siendo degradado por la fosforilasa. *La transferasa desplaza un bloque de tres residuos de glucosa de una rama externa a otra* (**Figura 24.3**). Esta transferencia hace que solo quede un residuo de glucosa unido mediante un enlace glicosídico α-1,6. A continuación, la α-1,6-glucosidasa, también denominada *enzima desramificante*, hidroliza el enlace glicosídico α-1,6, con lo que se libera una molécula de glucosa.

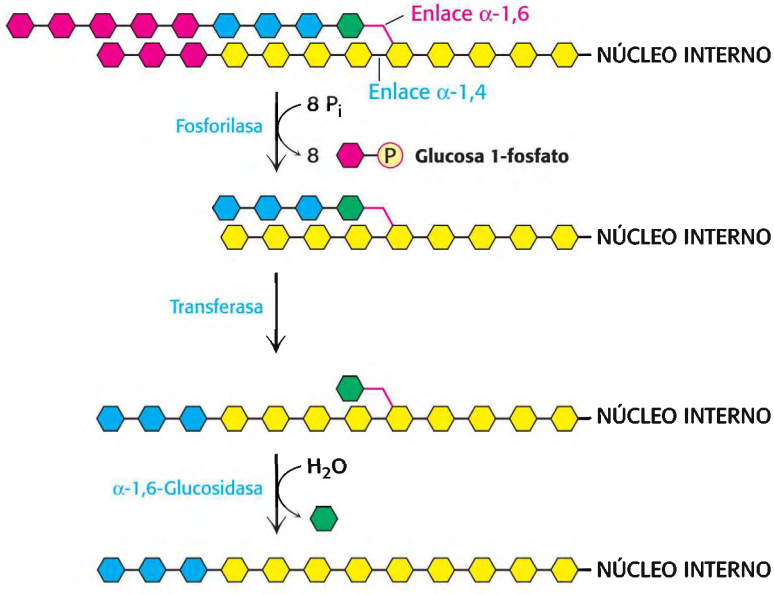
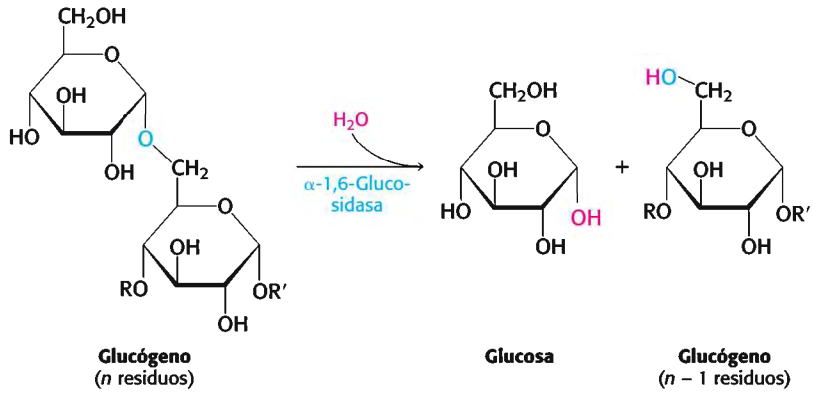


Figura 24.3 Reestructuración del glucógeno. En primer lugar, se rompen los enlaces glicosídicos α-1,4 de cada rama por medio de la fosforilasa, que deja intactos cuatro residuos de cada rama. Luego, la transferasa desplaza un bloque de tres residuos de glucosa de una rama a otra. En esta reacción, se rompe el enlace glicosídico α-1,4 entre los residuos de color azul y los residuos de color verde, y se forma un nuevo enlace glicosídico α-1,4 entre los residuos azul y amarillo. A continuación, se elimina el residuo de color verde por medio de la α-1,6-glucosidasa, generando una cadena lineal en la que todos los enlaces son α-1,4, que puede seguir siendo degradada por la fosforilasa.



Esta molécula de glucosa libre se fosforila mediante la hexoquinasa, una enzima glucolítica (p. 272). Por tanto, la transferasa y la α-1,6-glucosidasa convierten una estructura ramificada en una estructura lineal, lo que allana el camino para que la fosforilasa siga rompiendo enlaces. En eucariotas, las actividades transferasa y α-1,6-glucosidasa se encuentran en una cadena polipeptídica de 160 kDa, lo que constituye otro ejemplo de enzima bifuncional (p. 307).

La fosfoglucomutasa convierte la glucosa 1-fosfato en glucosa 6-fosfato

La glucosa 1-fosfato formada durante la ruptura fosforolítica del glucógeno se tiene que convertir en glucosa 6-fosfato para incorporarse a las principales rutas del metabolismo. Este desplazamiento de un grupo fosforilo está catalizado por la fosfoglucomutasa. Recordemos que esta enzima también se utiliza en el metabolismo de la galactosa (p. 285). Para efectuar este desplazamiento, la enzima intercambia un grupo fosforilo con el sustrato (Figura 24.4). El centro catalítico de una molécula de mutasa activa contiene un residuo de serina fosforilado. El grupo fosforilo se transfiere desde el residuo de serina al grupo hidroxilo del C-6 de la glucosa 1-fosfato para formar glucosa 1,6-bisfosfato. A continuación, el grupo fosforilo del C-1 de este intermediario se transfiere a ese mismo residuo de serina, dando lugar a la formación de glucosa 6-fosfato y a la regeneración de la fosfoenzima.

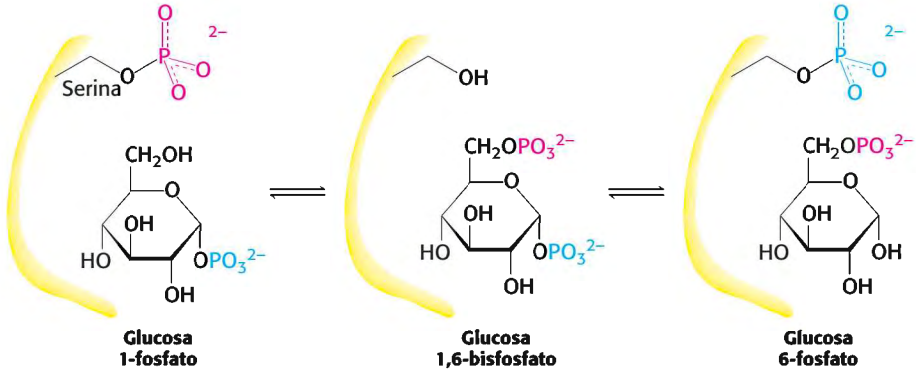


Figura 24.4 Reacción catalizada por la fosfoglucomutasa. Se transfiere un grupo fosforilo desde la enzima al sustrato y se transfiere otro grupo fosforilo distinto a la enzima para devolverla a su estado inicial.

El hígado contiene glucosa 6-fosfatasa, una enzima hidrolítica que no se encuentra en el músculo

Una de las principales funciones del hígado consiste en mantener el nivel de glucosa en sangre prácticamente constante. Durante la actividad muscular y entre las comidas, el hígado libera glucosa a la sangre. La glucosa liberada es utilizada por el cerebro, el músculo esquelético y los glóbulos rojos. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre con la glucosa sin modificar, la glucosa fosforilada producida por la descomposición del glucógeno no se transporta fuera de las células. El hígado contiene una enzima hidrolítica, la *glucosa 6-fosfatasa*, que hace posible que la glucosa abandone este órgano. Esta enzima escinde el grupo fosforilo para formar glucosa libre y ortofosfato.

$$\text{Glucosa 6-fosfato} + H_2O \longrightarrow \text{glucosa} + P_i$$

Esta glucosa 6-fosfatasa es la misma enzima que genera glucosa libre al término de la gluconeogénesis. Está localizada en la cara orientada hacia el *lumen* de la membrana del retículo endoplasmático liso. Recordemos que la glucosa 6-fosfato se transporta hacia el retículo endoplasmático; posteriormente, la glucosa y el ortofosfato formados durante la hidrólisis son enviados de vuelta al citoplasma (p. 305). En el resto de los tejidos no hay glucosa 6-fosfatasa. Estos tejidos reservan la glucosa 6-fosfato para la generación de ATP. En el hígado, por el contrario, la glucosa no es uno de los combustibles más importantes.

? PREGUNTA RÁPIDA 1 ¿Qué enzimas necesita el hígado para liberar glucosa a la sangre cuando el organismo se encuentra durmiendo o en estado de ayuno?

24.2 La fosforilasa se regula mediante interacciones alostéricas y fosforilación reversible

✓ 2 Explicar la regulación de la descomposición del glucógeno.

El metabolismo del glucógeno está regulado de manera precisa por múltiples mecanismos interconectados. El elemento central de este control es la enzima dimérica glucógeno fosforilasa. La glucógeno fosforilasa puede encontrarse de dos formas: la fosforilasa *b*, que es la forma menos activa, y la fosforilasa *a*, la forma más activa. A diferencia de la fosforilasa *b*, la fosforilasa *a* está modificada mediante la adición de un grupo fosforilo. Además, cada una de las dos formas se encuentra en equilibrio entre un estado relajado activo (R) y un estado tenso inactivo (T). En el estado T, el centro activo está parcialmente ocupado por parte de una hélice α (**Figura 24.5**). El equilibrio de la fosforilasa *a* se encuentra desplazado a favor del estado R, mientras que el equilibrio de la fosforilasa *b* favorece el estado T. En consecuencia, la fosforilasa menos activa es la fosforilasa *b* en el estado T, mientras que la fosforilasa más activa es la fosforilasa *a* en el estado R (**Figura 24.6**). Por tanto, *la fosforilasa está regulada por fosforilación reversible, que responde ante hormonas como la insulina, la adrenalina y el glucagón.* Como se verá más adelante, varios efectores alostéricos también regulan la transición de R a T. Estudiaremos las diferencias en el control del metabolismo del glucógeno en dos tejidos: el músculo esquelético y el hígado. Estas diferencias se deben al hecho de que *el músculo utiliza la glucosa para producir energía para sí mismo, mientras que el hígado mantiene la homeostasis de la glucosa en la totalidad del organismo.*

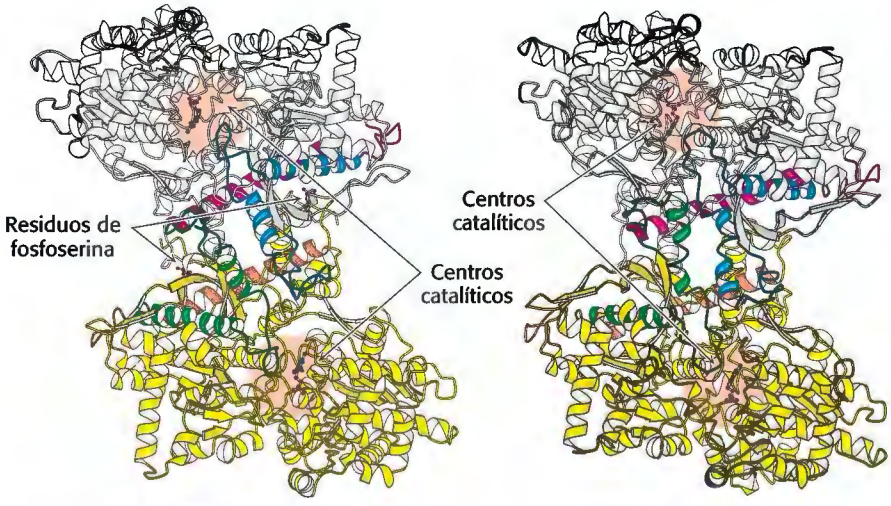


Figura 24.5 Estructuras de la fosforilasa *a* y de la fosforilasa *b*. En cada subunidad de la fosforilasa *a*, la serina 14 se encuentra fosforilada. Esta modificación favorece la estructura del estado R, más activo. Una subunidad se muestra de color blanco, con las hélices y bucles importantes para la regulación representados de color azul y rojo. La otra subunidad se muestra de color amarillo, con las estructuras reguladoras representadas de color naranja y verde. La fosforilasa *b* no está fosforilada y se encuentra mayoritariamente en el estado T. *Observe* que, en el estado T, los centros catalíticos se encuentran parcialmente bloqueados. [Elaborada a partir de 1GPA.pdb y 1NOJ.pdb.]

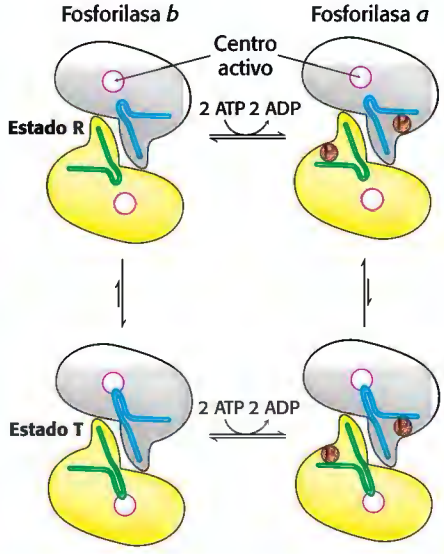


Figura 24.6 Regulación de la fosforilasa. Tanto la fosforilasa *b* como la fosforilasa *a* se encuentran en equilibrio entre un estado activo R y un estado T, menos activo. Normalmente, la fosforilasa *b* es inactiva porque el equilibrio favorece el estado T. La fosforilasa *a* suele ser activa porque el equilibrio favorece el estado R. En el estado T, el centro activo se encuentra parcialmente bloqueado por una estructura reguladora. En el estado R, el centro activo se encuentra libre de obstáculos. Las estructuras reguladoras se muestran en color azul y verde.

La fosforilasa del músculo se regula por la carga energética intracelular

Consideremos un músculo en reposo, en el que la necesidad de ATP y, por tanto, de glucosa, es mínima. En estas condiciones, la fosforilasa del músculo se encontrará en la forma *b* y en el estado T. Los inhibidores alostéricos que estabilizan el estado T son la glucosa 6-fosfato y el ATP. Si abundan estas moléculas, no se necesita la actividad fosforilasa. Ahora, consideremos qué ocurre cuando comienza la contracción. La concentración de ATP disminuye a medida que aporta energía para la contracción y la concentración de glucosa 6-fosfato disminuye a medida que se metaboliza mediante la glucólisis. Además, la concentración de AMP aumenta. La fosforilasa *b* del músculo solo es activa en presencia de elevadas concentraciones de AMP, que se une al lugar de unión a nucleótidos y estabiliza la conformación de la fosforilasa *b* en su estado activo (**Figura 24.7**). Por tanto, *la transición de la fosforilasa b de su estado activo R a su estado menos activo T está controlada por la carga energética de la célula muscular*.

Las interacciones alostéricas no son la única forma de activar la glucógeno fosforilasa. La fosforilasa *b* se convierte en fosforilasa *a* mediante la fosforilación de un único residuo de serina (la serina 14) en cada subunidad (ver las Figuras 24.5 y 24.6). Esta conversión se pone en marcha mediante hormonas. Así, el miedo o la excitación que provoca el ejercicio darán lugar a un aumento de la secreción de la hormona *adrenalina*, una hormona sintetizada a partir de la tirosina, por parte de la médula de la glándula suprarrenal. El aumento de los niveles de adrenalina y la propia contracción del músculo fosforilan la enzima, que adopta la forma fosforilasa *a*, que da lugar a una degradación más rápida del glucógeno para generar combustible. La enzima reguladora *fosforilasa quinasa* cataliza esta modificación covalente.

En la mayoría de las condiciones fisiológicas, *la fosforilasa b es inactiva debido a los efectos inhibidores del ATP y la glucosa 6-fosfato*. Por el contrario, *la fosforilasa a se encuentra totalmente activa*, independientemente de los niveles de AMP, ATP y glucosa 6-fosfato. En el músculo en reposo, casi toda la enzima se encuentra en la forma *b*, inactiva. Cuando comienza el ejercicio, el elevado nivel de AMP da lugar a la activación de la fosforilasa *b*. El ejercicio también provocará la liberación de hormonas que generan la forma fosforilada *a* de la enzima. La ausencia de glucosa 6-fosfatasa en el músculo asegura que la glucosa 6-fosfato procedente del glucógeno permanezca en el interior de la célula para su transformación energética.

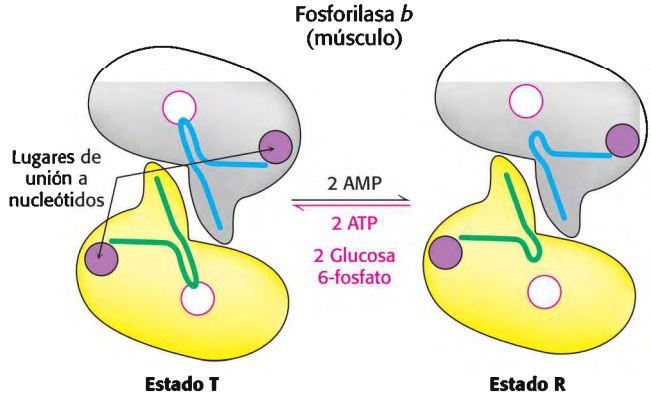


Figura 24.7 Regulación alostérica de la fosforilasa del músculo. Una carga energética baja, representada por elevadas concentraciones de AMP, favorece la transición al estado R.

La fosforilasa del hígado produce glucosa para que sea utilizada por otros tejidos

El control del metabolismo del glucógeno en el hígado es diferente al del músculo porque el objetivo de la degradación del glucógeno en el hígado consiste en la generación de glucosa *para que sea exportada a otros tejidos* cuando el nivel de glucosa en sangre es reducido. Mientras que la conformación "por defecto" de la fosforilasa muscular es la forma *b* en el estado T, la conformación "por defecto" de la fosforilasa hepática es la forma *a* en el estado R. Como la glucosa es un combustible necesario para el cerebro y los glóbulos rojos, la fosforilasa del hígado es activa a menos que reciba una señal de la presencia de glucosa. Por tanto, si hay glucosa libre procedente de otra fuente, como la dieta, no hay necesidad de movilizar el glucógeno. En con-

secuencia, en el hígado, la actividad de la fosforilasa *a* es sensible a la presencia de glucosa: la unión de glucosa desactiva la enzima. Análogamente, la insulina, la hormona que indica un estado de saciedad, provoca la desfosforilación de la forma *a* para generar la forma *b*. El *glucagón*, una hormona polipeptídica segregada por las células β del páncreas cuando el nivel de azúcar en sangre es bajo, es una señal de inanición y provoca la fosforilación de la forma *b* para generar la forma *a*, más activa.

En los seres humanos, las secuencias de la fosforilasa hepática y de la fosforilasa muscular tienen aproximadamente un 90% de aminoácidos idénticos. Las diferencias estructurales de estas isozimas dan lugar a ligeros pero importantes cambios en la estabilidad de las diversas formas de la enzima. A diferencia de la enzima muscular, la fosforilasa *a* del hígado es la que muestra una transición de R a T más sensible. La unión de glucosa desplaza el equilibrio alostérico de la forma *a* del estado R al estado T, desactivando la enzima (Figura 24.8). A diferencia de la enzima muscular, la fosforilasa hepática no es sensible a la regulación por AMP porque el hígado no experimenta los drásticos cambios en la carga energética que se observan en un músculo en contracción. Vemos aquí un claro ejemplo del uso de isoenzimas para dotar a una misma enzima de las propiedades bioquímicas específicas para el tejido muscular y para el tejido hepático.

Las isozimas, o isoenzimas, son enzimas codificadas por genes distintos pero que catalizan la misma reacción. Normalmente, las isozimas muestran distintos parámetros cinéticos o propiedades reguladoras diferentes.

? **PREGUNTA RÁPIDA 2** Compare la regulación alostérica de la fosforilasa en el hígado y en el músculo, y explique la importancia de la diferencia.

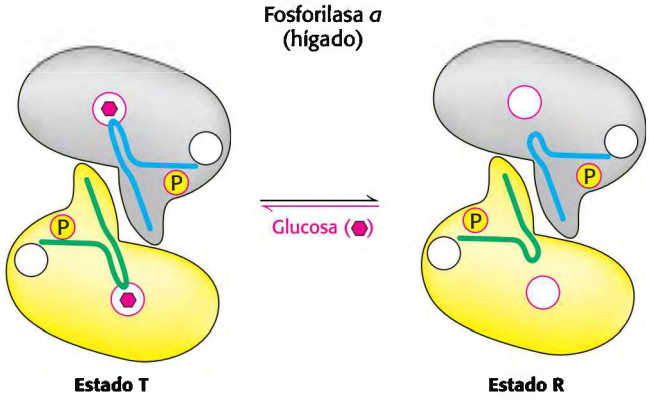


Figura 24.8 Regulación alostérica de la fosforilasa del hígado. La unión de glucosa a la fosforilasa *a* desplaza el equilibrio hacia el estado T, desactivando la enzima. De este modo, cuando hay glucosa en abundancia no se moviliza el glucógeno. Les estructuras reguladoras se muestran de color azul y verde.

La fosforilasa quinasa se activa mediante fosforilación y mediante iones calcio

En la regulación de la degradación del glucógeno, la interconversión entre fosforilasa *a* y fosforilasa *b* es un elemento regulador importante. Esta modificación clave está catalizada por la fosforilasa quinasa, la enzima que activa la fosforilasa *b* añadiéndole un grupo fosforilo. En el músculo esquelético está formada por las subunidades $(\alpha\beta\gamma\delta)_4$, y la masa de esta proteína de gran tamaño es de 1.200 kDa. La actividad catalítica reside en la subunidad γ, mientras que las otras subunidades realizan una función reguladora. Esta quinasa está sometida a un control dual: se activa mediante la fosforilación o mediante un aumento de los niveles de Ca^{2+} (Figura 24.9). Al igual que su propio sustrato, la fosforilasa quinasa se activa mediante fosforilación: cuando se fosforila su subunidad β, la quinasa pasa de una forma con poca actividad a una forma con actividad elevada. La *proteína quinasa A* es la responsable de la fosforilación de la fosforilasa quinasa. Recordemos que la proteína quinasa A también regula la glucólisis (p. 308). La activación de la fosforilasa quinasa por parte de la proteína quinasa A es un paso dentro de una cascada de transducción de señales iniciada por hormonas.

La fosforilasa quinasa también puede activarse parcialmente mediante niveles elevados de Ca^{2+} intracelular. Su subunidad δ es la *calmodulina*, un sensor de calcio que activa muchas enzimas en eucariotas (p. 228). Esta forma de activación de la quinasa es especialmente notoria en el músculo, donde la liberación del Ca^{2+} almacenado en el retículo sarcoplásmico desencadena la contracción. De este modo, la señal que inicia la contracción del músculo también estimula la liberación de glucosa, que sirve como combustible para la contracción. La fosforilasa quinasa solo alcanza su actividad máxima cuando la subunidad β se ha fosforilado y cuando la subunidad δ se ha activado mediante su unión a Ca^{2+}.

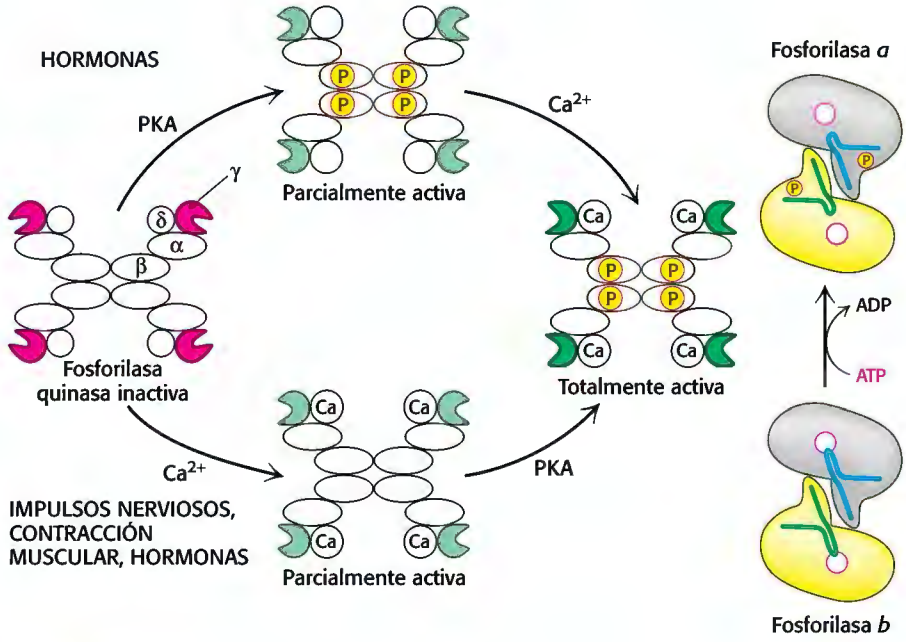


Figura 24.9 Activación de la fosforilasa quinasa. La fosforilasa quinasa, un ensamblaje de tipo $(\alpha\beta\gamma\delta)_4$, se activa mediante hormonas que provocan la fosforilación de la subunidad β y mediante la unión de Ca^{2+} a la subunidad δ. Para que la enzima alcance su actividad máxima, se requieren ambos tipos de estimulación. Cuando está activa, la enzima convierte la fosforilasa *b* en fosforilasa *a*.

Aspecto clínico

La enfermedad de Hers se debe a una insuficiencia de fosforilasa

La enfermedad de Hers, un trastorno hereditario, es una enfermedad relacionada con el almacenamiento del glucógeno que pone de manifiesto la importancia de las isoenzimas de la glucógeno fosforilasa. La enfermedad de Hers se debe a una insuficiencia de la isoenzima hepática de la glucógeno fosforilasa. Como no se puede degradar el glucógeno, se acumula, lo que da lugar a un agrandamiento del hígado (hepatomegalia) que, en algunos casos, provoca la protrusión del abdomen. En los casos extremos se pueden producir daños en el hígado. Los pacientes con enfermedad de Hers muestran niveles reducidos de glucosa en sangre (hipoglucemia) porque sus hígados no son capaces de degradar el glucógeno. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad de Hers son muy variadas. En algunos pacientes, la enfermedad es indetectable y, en otros, provoca daños en el hígado y retrasos en el crecimiento. Sin embargo, en la mayoría de los casos la prognosis es buena y las manifestaciones clínicas mejoran con la edad. Para saber algo más sobre los efectos de una insuficiencia de glucógeno fosforilasa muscular, vea el problema 6 de la página 434. ■

24.3 La adrenalina y el glucagón son una señal de que hay que descomponer glucógeno

La proteína quinasa A activa la fosforilasa quinasa que, a su vez, activa la glucógeno fosforilasa. ¿Cómo se activa la proteína quinasa A? ¿Cuál es la señal que, en última instancia, pone en marcha un aumento de la descomposición del glucógeno?

Las proteínas G transmiten la señal para que se inicie la descomposición del glucógeno

Como ya se ha mencionado, el glucagón y la adrenalina desencadenan la descomposición del glucógeno. La actividad muscular, o su anticipación, provocan la liberación de adrenalina, que estimula notablemente la descomposición del glucógeno en el músculo y, en menor medida, en el hígado. El hígado es más sensible al glucagón, que es un indicador del estado de ayuno (**Figura 24.10**).

¿Cómo desencadenan las hormonas la descomposición del glucógeno? Como ya se comentó en el capítulo 13, ponen en marcha una cascada de transducción de señales basada en el AMP cíclico (cAMP) (**Figura 24.11**). Esta cascada activa la fosforilasa en cuatro pasos:

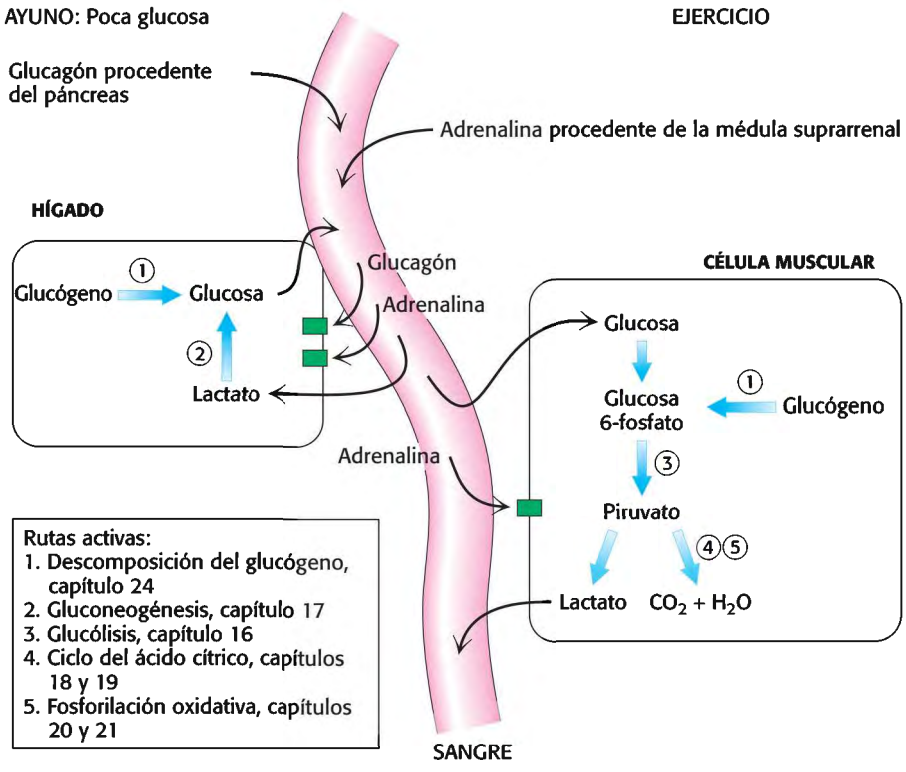


Figura 24.10 Control hormonal de la descomposición del glucógeno. El lado izquierdo de la figura muestra la respuesta hormonal al ayuno. En el hígado, el glucagón estimula la descomposición del glucógeno cuando el nivel de glucosa en sangre es bajo. El lado derecho de la figura muestra la respuesta hormonal al ejercicio. En el músculo y en el hígado, la adrenalina intensifica la descomposición del glucógeno para suministrar combustible para la contracción muscular.

1. Las moléculas señal adrenalina y glucagón se unen a receptores específicos que atraviesan siete veces (7TM) la membrana plasmática de las célula diana. En el músculo, la adrenalina se une al receptor β-adrenérgico, mientras que, en el hígado, el glucagón se une al receptor de glucagón. Estas uniones activan la proteína $G_{\alpha s}$.
2. La subunidad de $G_{\alpha s}$ que se encuentra unida al GTP activa la proteína transmembrana adenilato ciclasa. Esta enzima cataliza la formación del segundo mensajero, cAMP, a partir de ATP.

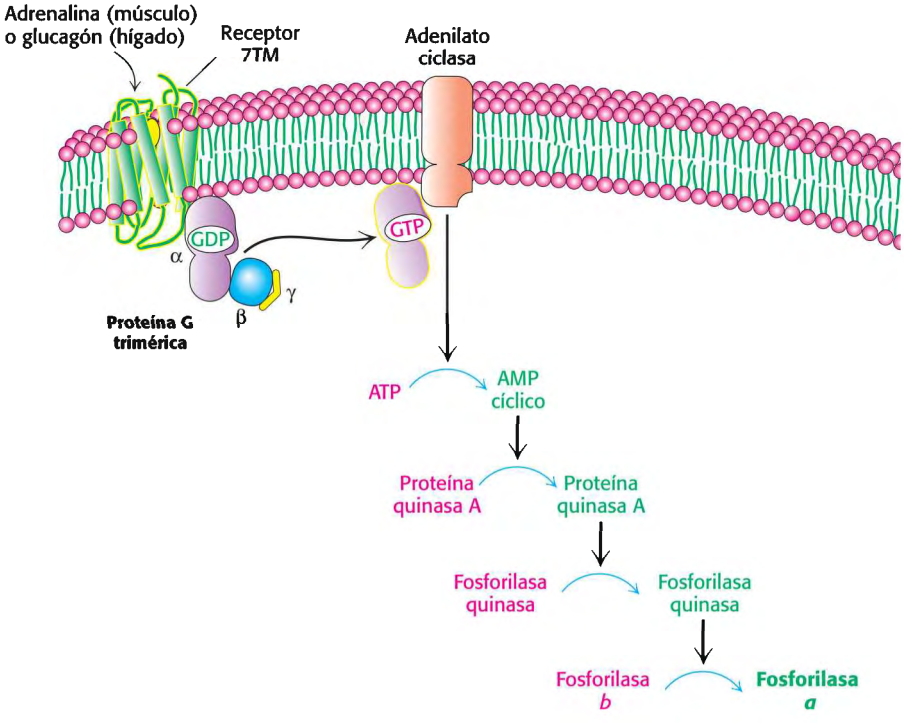


Figura 24.11 Cascada reguladora para la descomposición del glucógeno. La degradación del glucógeno se estimula mediante la unión de hormonas a receptores 7TM. La unión de la hormona inicia una ruta de transducción de señales dependiente de proteínas G que da lugar a la fosforilación y activación de la glucógeno fosforilasa.

3. El mayor nivel de AMP cíclico en el citoplasma activa la proteína quinasa A.
4. La proteína quinasa A fosforila la fosforilasa quinasa que, posteriormente, activa la glucógeno fosforilasa.

La cascada de AMP cíclico amplifica enormemente los efectos de las hormonas. La unión de un pequeño número de moléculas de hormona a los receptores de la superficie celular da lugar a la liberación de un número muy grande de unidades de azúcar. De hecho, gran parte del glucógeno almacenado en el organismo se movilizaría en cuestión de segundos si no fuese por los elementos reguladores que se comentarán en breve.

Los procesos de transducción de señales en el hígado son más complejos que los del músculo. La adrenalina puede provocar la degradación de glucógeno en el hígado. Sin embargo, además de unirse al receptor β-adrenérgico, tal y como hace en el músculo esquelético, se une al receptor α-adrenérgico 7TM que, a continuación, pone en marcha la *cascada de fosfoinosítidos* (p. 222) que induce la liberación de los depósitos de Ca^{2+} del retículo endoplasmático. Recordemos que la subunidad δ de la fosforilasa quinasa es la calmodulina, un sensor de Ca^{2+}. La unión de Ca^{2+} a la calmodulina da lugar a la activación parcial de la fosforilasa quinasa. La estimulación conjunta por glucagón y adrenalina provoca la máxima movilización del glucógeno hepático.

La descomposición del glucógeno se tiene que desactivar rápidamente cuando sea necesario

Tiene que haber una forma rápida de desactivar la descomposición del glucógeno para evitar que se despilfarre el glucógeno una vez satisfechas las necesidades energéticas. Cuando las necesidades de glucosa han sido cubiertas, la fosforilasa quinasa y la glucógeno fosforilasa se desfosforilan y se desactivan. Al mismo tiempo, se activa la síntesis de glucógeno (Capítulo 25).

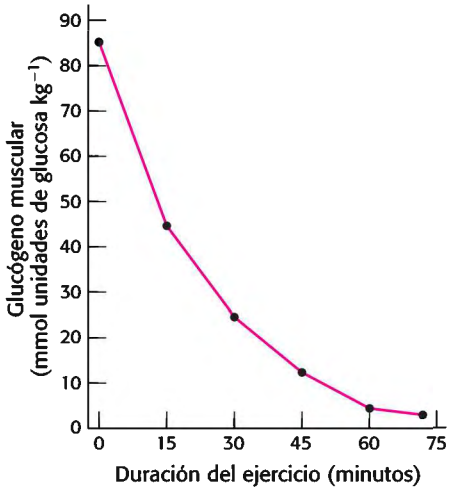
La ruta de transducción de señales que provoca la activación de la glucógeno fosforilasa se desconecta automáticamente cuando desaparece la hormona que la inició. La actividad GTPasa intrínseca de la proteína G convierte el GTP unido en GDP inactivo y las fosfodiesterasas, que siempre están presentes en la célula, convierten el AMP cíclico en AMP. La *proteína fosfatasa 1* (PP1) extrae los grupos fosforilo de la fosforilasa quinasa, desactivando así la enzima. Por último, la proteína fosfatasa 1 también extrae el grupo fosforilo de la glucógeno fosforilasa, convirtiendo la enzima en la forma *b*, que normalmente es inactiva.



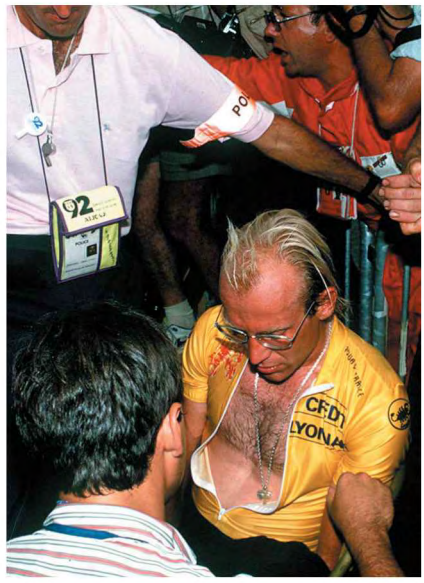
Aspecto biológico

El agotamiento de la reserva de glucógeno coincide con la sensación de cansancio

Aunque la mayoría de nosotros ha experimentado el cansancio, es difícil de definir puesto que abarca muchas facetas. A pesar de que se define habitualmente como la incapacidad para mantener el rendimiento energético exigido, en el cansancio existen componentes metabólicos, neurológicos y psicológicos. La Figura 24.12A muestra la disminución, en función del tiempo, del contenido de glucógeno del músculo vasto lateral (uno de los componentes del cuádriceps) de ciclistas que estaban entrenando al 80% de su capacidad máxima. La glucógeno fosforilasa muscular se activó mediante mecanismos alostéricos y mediante modificación covalente inducida por hormonas hasta tal punto que, al cabo de 75 minutos, se consumió todo el glucógeno del músculo vasto lateral. Además, el agotamiento del glucógeno coincidió con la aparición de la fatiga, o la incapacidad para mantener el esfuerzo requerido. En otras palabras, los ciclistas experimentaron la "pájara" (Figura 24.12B). Sin embargo, estos experimentos no indican que el agotamiento del glucógeno sea el *causante* de la fatiga; que exista una correlación no quiere decir que sea la causa. Algunos experimentos sugieren que una causa más directa de la fatiga puede ser el incremento de la concentración de ADP que se produce cuando se consume todo el glucógeno. Resulta fascinante que todavía se resista a los científicos la explicación para una sensación tan frecuente, lo que demuestra, una vez más, lo poco que sabemos y las oportunidades que existen para realizar investigaciones más interesantes. ■



(A)



(B)

Figura 24.12 Agotamiento del glucógeno como consecuencia del ejercicio. Cuando se realiza ejercicio al 80% de la capacidad máxima, el contenido de glucógeno del músculo vasto lateral disminuye en función del tiempo. (B) El gran ciclista francés Laurent Fignon se derrumba extenuado tras perder la última contrarreloj ante Greg Lemond en el Tour de Francia de 1989. [(A) Tomada de J. Bergström y E. Hultman, A study of the glycogen metabolism during exercise in man, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 19: 218-226, 1967. (B) Tavernier Nicolas / SIPA.]

Resumen

El glucógeno, un almacén de combustible que se puede movilizar fácilmente, es un polímero ramificado de residuos de glucosa. En el glucógeno, la mayoría de las unidades de glucosa se encuentran unidas mediante enlaces glicosídicos α-1,4. Cada diez residuos, aproximadamente, se crea una ramificación mediante un enlace glicosídico α-1,6. El glucógeno se encuentra en grandes cantidades en las células musculares y en las células del hígado, donde se almacena en el citoplasma en forma de gránulos hidratados.

24.1 La descomposición del glucógeno requiere varias enzimas

La mayor parte de la molécula de glucógeno se degrada a glucosa 1-fosfato gracias a la actividad de la glucógeno fosforilasa, la enzima clave en la descomposición del glucógeno. El enlace glicosídico entre el C-1 del residuo terminal y el C-4 del residuo adyacente es escindido por el ortofosfato produciendo glucosa 1-fosfato, que se puede convertir de manera reversible en glucosa 6-fosfato. Los puntos de ramificación se degradan mediante la acción concertada de una transferasa de oligosacáridos y una α-1,6-glucosidasa.

24.2 La fosforilasa se regula mediante interacciones alostéricas y fosforilación reversible

La fosforilasa *b*, que normalmente es inactiva, se convierte en fosforilasa *a* activa mediante la fosforilación de un único residuo de serina en cada subunidad. Esta reacción está catalizada por la fosforilasa quinasa. En el músculo, la forma *b* también se puede activar mediante la unión de AMP, un efecto contrarrestado por el ATP y la glucosa 6-fosfato. En el hígado, la forma *a* se inhibe por glucosa. En el músculo, la fosforilasa se activa para generar glucosa que va a ser utilizada dentro de la célula como combustible para la contracción. Por el contrario, la fosforilasa del hígado se activa para liberar glucosa que va a ser exportada a otros órganos, como el músculo esquelético y el cerebro.

24.3 La adrenalina y el glucagón son una señal de que hay que descomponer glucógeno

La adrenalina y el glucagón estimulan la descomposición del glucógeno por medio de receptores 7TM específicos. El músculo es la principal diana de la adrenalina, mientras que el hígado es sensible al glucagón. Ambas moléculas señal inician una cascada de quinasas que da lugar a la activación de la glucógeno fosforilasa.

Términos clave

glucógeno fosforilasa (p. 424)
fosforolisis (p. 424)
adrenalina (p. 428)
glucagón (p. 429)
fosforilasa quinasa (p. 429)
proteína quinasa A (p. 429)
calmodulina (p. 429)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Fosforilasa, transferasa, glucosidasa, fosfoglucomutasa y glucosa 6-fosfatasa.

2. En el músculo, la forma *b* de la fosforilasa se activa mediante AMP. En el hígado, la forma *a* se inhibe por glucosa. La diferencia corresponde al distinto papel metabólico del glucógeno en cada tejido. El músculo utiliza el glucógeno como combustible para la contracción, mientras que el hígado utiliza el glucógeno para mantener los niveles de glucosa en sangre.

Problemas

1. *Degradación paso a paso.* ¿Cuáles son los tres pasos de la degradación del glucógeno y qué enzimas requieren? ✓ 1

2. *Tweedledum y Tweedledee.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 1

(a) Glucógeno fosforilasa _____
(b) Fosforolisis _____
(c) Transferasa _____
(d) α-1,6-Glucosidasa _____
(e) Fosfoglucomutasa _____
(f) Fosforilasa quinasa _____
(g) Proteína quinasa A _____
(h) Calmodulina _____
(i) Adrenalina _____
(j) Glucagón _____

1. Subunidad de la fosforilasa quinasa que se une a calcio
2. Activa la glucógeno fosforilasa
3. Extracción de un residuo de glucosa mediante la adición de fosfato
4. Estimula la descomposición de glucógeno en el músculo
5. Libera un residuo de glucosa libre
6. Cambia de sitio varios residuos de glucosa
7. Estimula la descomposición de glucógeno en el hígado
8. Cataliza la ruptura fosforolítica
9. Prepara la glucosa 1-fosfato para la glucólisis
10. Fosforila la fosforilasa quinasa

3. *Por un bien mayor.* ¿Por qué se controla el glucógeno de manera distinta en el músculo y en el hígado? ✓ 2

4. *¡Quítate de en medio!* ¿Qué diferencia estructural explica el hecho de que el estado T de la fosforilasa quinasa sea menos activo que el estado R? ✓ 2

5. *El que regula al regulador.* ¿Qué factores provocan la máxima activación de la fosforilasa quinasa? ✓ 2

6. *No todas las ausencias son iguales.* La enfermedad de Hers es consecuencia de la falta de glucógeno fosforilasa en el hígado y puede resultar muy grave. La enfermedad de McArdle se debe a la falta de glucógeno fosforilasa en el músculo. Aunque para los pacientes que sufren la enfermedad de McArdle hacer ejercicio resulta complicado, es muy raro que la enfermedad ponga sus vidas en peligro. ✓ 2
(a) Explique las distintas manifestaciones de la ausencia de glucógeno fosforilasa en los dos tejidos.
(b) ¿Qué indica la existencia de estas dos enfermedades distintas sobre la naturaleza genética de la fosforilasa?

7. *Atrévase a ser distinto.* Compare la regulación alostérica de la fosforilasa en el hígado y en el músculo, y explique el significado de la diferencia. ✓ 2

8. *Un inhibidor apropiado.* ¿Cuál es la base bioquímica de la inhibición de la glucógeno fosforilasa muscular por glucosa 6-fosfato, siendo el producto de la reacción de la fosforilasa la glucosa 1-fosfato? ✓ 2

9. *Metamorfosis.* En el músculo en reposo, ¿cuál es la forma predominante de la glucógeno fosforilasa? Esta forma se activa inmediatamente después de comenzar un ejercicio físico. ¿Cómo se produce esta activación? ✓ 2

10. *Transmitiendo la información.* Resuma la cascada de transducción de señales para la degradación de glucógeno en el músculo. ✓ 2

11. *Activación doble.* ¿Qué ruta se utiliza en el hígado, además de la transducción de señales inducida por el cAMP, para maximizar la degradación del glucógeno? ✓ 2

12. *Pisando el freno a fondo.* Tiene que haber una forma de desactivar rápidamente la descomposición del glucógeno para evitar que se consuma inútilmente, una vez satisfechas las necesidades energéticas. ¿Qué mecanismos se utilizan para desconectar la descomposición del glucógeno? ✓ 2

13. *Elegir es bueno.* El glucógeno no está tan reducido como los ácidos grasos y, en consecuencia, no es tan rico en energía. ¿Por qué los animales almacenan energía en forma de glucógeno? ¿Por qué no convertir todo el exceso de combustible en ácidos grasos?

14. *Sentirse agotado.* El agotamiento del glucógeno que tiene lugar tras un ejercicio intenso y prolongado puede dar lugar a la extenuación y a la incapacidad para seguir haciendo ejercicio. Algunas personas también sufren mareos, son incapaces de concentrarse y pierden el control muscular. Explique por qué aparecen estos síntomas.

15. *Parecido familiar.* En el problema 23 del capítulo 16, se le pidió que considerase los efectos de la exposición de células glucolíticamente activas al arseniato. Recordemos que el arseniato puede sustituir al fosfato, pero los ésteres de arseniato son inestables y se descomponen espontáneamente generando arseniato y un alcohol. ¿Cuáles serían las consecuencias energéticas si la glucógeno fosforilasa utilizase arseniato en vez de fosfato? ✓ 1

16. *Trabajando juntos.* Una de las principales funciones del hígado consiste en mantener los niveles de glucosa en sangre cuando el organismo se encuentra en condiciones de ayuno, como ocurre durante el sueño nocturno. La movilización del glucógeno hepático requiere un trabajo enzimático en equipo. Identifique las enzimas que se necesitan para que el hígado libere glucosa en la sangre. ✓ 1

17. *Todos tienen un trabajo que hacer.* ¿Cómo se explica el hecho de que la fosforilasa hepática sea un sensor de glucosa y la fosforilasa muscular no? ✓ 2

18. *Si un poco es bueno, mucho será mejor.* La α-amilosa es un polímero de glucosa que no está ramificado. ¿Por qué este polímero no sería una forma de almacenamiento de glucosa tan eficaz como el glucógeno?

19. *R y T, a y b.* La glucógeno fosforilasa puede encontrarse en los siguientes estados. ✓ 2

A. Fosforilasa *a*	estado T
B. Fosforilasa *a*	estado R
C. Fosforilasa *b*	estado T
D. Fosforilasa *b*	estado R

(a) ¿Cuáles son las formas más activas de la enzima?
(b) ¿Qué enzima cataliza la conversión de la forma C en la forma A?
(c) En el músculo, ¿entre qué dos formas provocan una transición las concentraciones elevadas de AMP?
(d) En el hígado, ¿entre qué dos formas provoca una transición la glucosa?
(e) En el músculo, ¿qué transición resulta estimulada por la glucosa 6-fosfato?
(f) ¿Qué enzima convierte la forma A en la forma C?

20. *Dos en uno.* Una única cadena polipeptídica alberga la enzima transferasa y la enzima desramificante. ¿Qué posible ventaja tiene este tipo de disposición? ✓ 2

21. *¿Cómo lo han hecho?* Se ha desarrollado una cepa de ratones que carece de la enzima fosforilasa quinasa. Sin embargo, tras un ejercicio agotador, las reservas de glucógeno de un ratón de esta estirpe se han agotado. Explique cómo es esto posible. ✓ 2

Problemas de integración de capítulos para atrevidos

22. *Una experiencia demoledora.* Los cristales de fosforilasa *a* que se han formado en presencia de glucosa se destruyen cuando se les añade un sustrato como la glucosa 1-fosfato. ¿Por qué? ✓ 2

23. *Dos por la unión de uno.* En el hígado, el glucagón estimula la descomposición del glucógeno. ¿Qué otra ruta del metabolismo de los carbohidratos se estimula en el hígado por el glucagón?

24. *Un ATP ahorrado es un ATP ganado.* La oxidación completa de la glucosa 6-fosfato obtenida a partir de glucosa libre genera 30 moléculas de ATP, mientras que la oxidación completa de la glucosa 6-fosfato obtenida a partir del glucógeno genera 31 moléculas de ATP. Explique esta diferencia. ✓ 1

25. *Desequilibrando la balanza. In vitro*, la reacción catalizada por la fosforilasa es fácilmente reversible. En el equilibrio a pH 6,8, la proporción entre el ortofosfato y la glucosa 1-fosfato es de 3,6. El valor del $\Delta G^{\circ\prime}$ para esta reacción es pequeño porque un enlace glicosídico es sustituido por un enlace fosforil-éster que tiene prácticamente el mismo potencial de transferencia. *In vivo*, sin embargo, la fosforolisis está claramente desplazada a favor de la descomposición del glucógeno. Sugiera un mecanismo mediante el cual la reacción pueda hacerse irreversible *in vivo*. ✓ 1

26. *Hidrofobia.* ¿Por qué se excluye el agua del centro activo de la fosforilasa? Pronostique el efecto de una mutación que permite entrar a las moléculas de agua.

27. *Menos liberación.* La diabetes de tipo 2 es una enfermedad que se caracteriza por la resistencia a la insulina y por una elevada concentración de glucosa en sangre. Se están llevando a cabo investigaciones para desarrollar inhibidores de la glucógeno fosforilasa como posible tratamiento para la diabetes de tipo 2. ¿Cuál es el fundamento bioquímico de esta estrategia? ¿Qué posible problema podría surgir a raíz de ella?

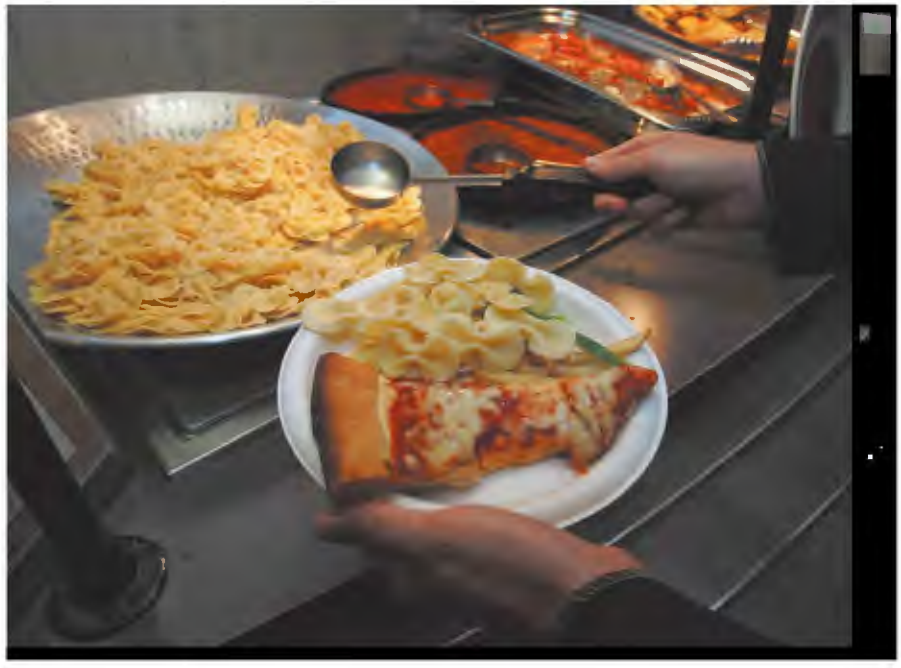
En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 25

Síntesis de glucógeno

25.1 El glucógeno se sintetiza y se degrada mediante rutas distintas

25.2 El metabolismo en su contexto: la descomposición y la síntesis del glucógeno se regulan de forma recíproca



La pasta y la pizza son buenas fuentes de energía para un gran número de competiciones deportivas. Estos alimentos ricos en carbohidratos, consumidos en los días previos a una prueba de resistencia como un maratón, garantizan la presencia del glucógeno muscular necesario para una carrera intensa. [Suzanne Dechillo/The New York Times/Redux.]

Como ya hemos visto en el caso de la glucólisis y de la gluconeogénesis, es muy raro que las rutas de degradación y de biosíntesis funcionen llevando a cabo exactamente las mismas reacciones en una dirección y en la contraria. El metabolismo del glucógeno ha sido el primer ejemplo conocido de este importante principio. *Las rutas separadas permiten una flexibilidad mucho mayor, tanto en la energética como en el control.*

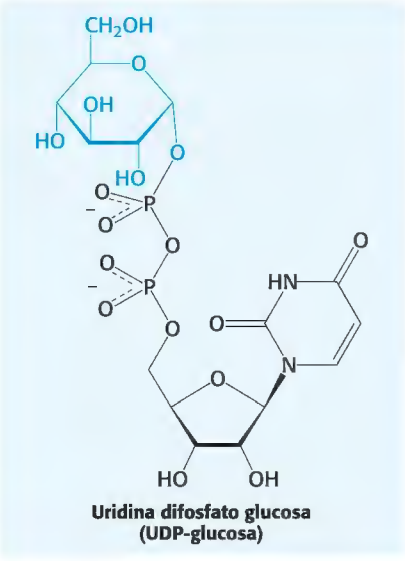
Comenzaremos estudiando el sustrato para la biosíntesis de glucógeno y las enzimas necesarias para sintetizar este polímero ramificado. Después, veremos cómo se controla la síntesis del glucógeno, prestando especial atención a la coordinación regulada de la síntesis y la degradación del glucógeno. Por último, analizaremos cómo utiliza el hígado el metabolismo del glucógeno para mantener la homeostasis de la glucosa que circula por la sangre.

✓ 3 Describir los pasos de la síntesis de glucógeno e identificar las enzimas necesarias.

✓ 4 Explicar la regulación de la síntesis de glucógeno.

25.1 El glucógeno se sintetiza y se degrada mediante rutas distintas

Un aspecto común de las rutas biosintéticas que encontraremos a lo largo de nuestro estudio de la bioquímica es la necesidad de un precursor activado. Este axioma también se cumple en el caso de la síntesis de glucógeno. El glucógeno se sintetiza por medio de una ruta que utiliza la *uridina difosfato glucosa* (UDP-glucosa) en vez de la



Uridina difosfato glucosa (UDP-glucosa)

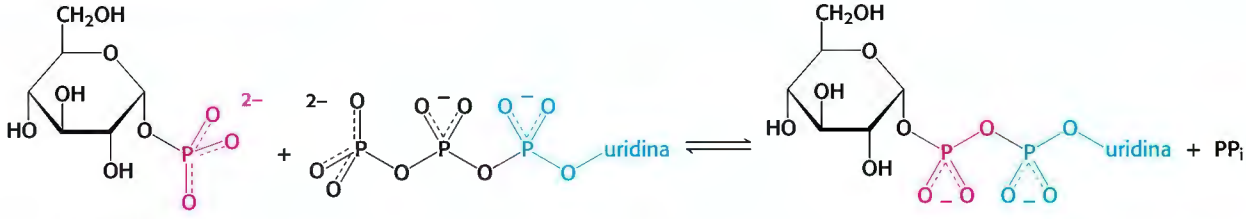
glucosa 1-fosfato como donador de la glucosa activada. Recordemos que la glucosa 1-fosfato también es el producto de la glucógeno fosforilasa. Al estudiar el metabolismo de la galactosa (p. 284), ya nos hemos encontrado con la UDP-glucosa. El átomo de carbono C-1 de la unidad de glucosa de la UDP-glucosa está activado, ya que su grupo hidroxilo se encuentra esterificado al componente difosfato del UDP.

$$\text{Síntesis: Glucógeno}_n + \text{UDP-glucosa} \longrightarrow \text{glucógeno}_{n+1} + \text{UDP}$$

$$\text{Degradación: Glucógeno}_{n+1} + P_i \longrightarrow \text{glucógeno}_n + \text{glucosa 1-fosfato}$$

La UDP-glucosa es una forma activada de la glucosa

La UDP-glucosa, el donador de glucosa en la biosíntesis de glucógeno, es una forma activada de la glucosa, al igual que el ATP y el acetil-CoA son formas activadas del ortofosfato y el acetato, respectivamente. La UDP-glucosa se sintetiza a partir de la glucosa 1-fosfato y del nucleótido uridina trifosfato (UTP) mediante una reacción catalizada por la *UDP-glucosa pirofosforilasa*. Esta reacción libera los dos residuos fosforilos más externos del UTP en forma de pirofosfato.



Glucosa 1-fosfato **UTP** **UDP-glucosa**

Esta reacción es fácilmente reversible. Sin embargo, gracias a la pirofosfatasa inorgánica, el pirofosfato se hidroliza rápidamente *in vivo* para formar ortofosfato. La hidrólisis prácticamente irreversible del pirofosfato impulsa la síntesis de UDP-glucosa.

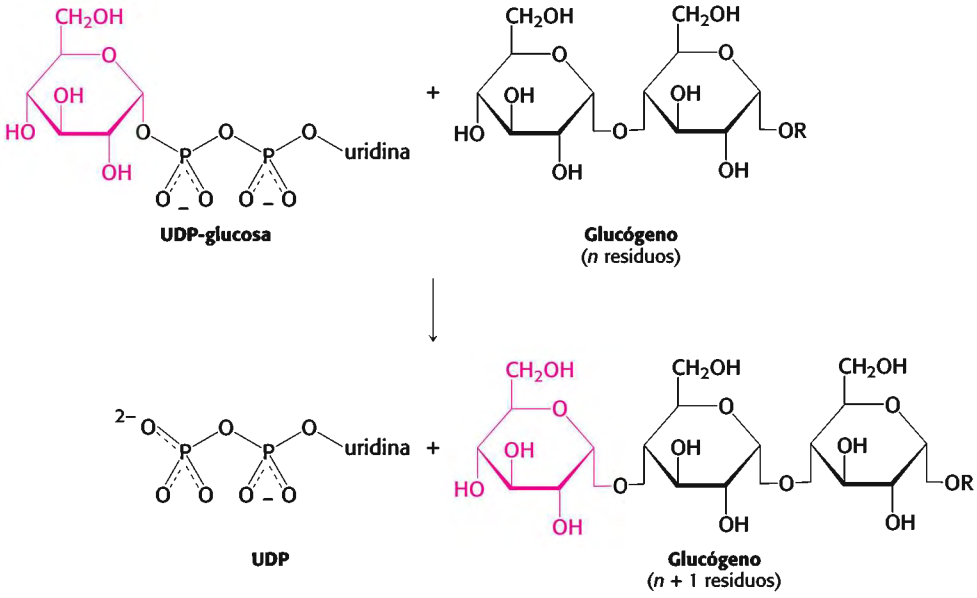
$$\begin{aligned} \text{Glucosa 1-fosfato} + \text{UTP} &\rightleftharpoons \text{UDP-glucosa} + PP_i \\ PP_i + H_2O &\longrightarrow 2\,P_i \\ \hline \text{Glucosa 1-fosfato} + \text{UTP} + H_2O &\longrightarrow \text{UDP-glucosa} + 2\,P_i \end{aligned}$$

La síntesis de UDP-glucosa es un ejemplo de otro de los aspectos recurrentes de la bioquímica: *muchas reacciones biosintéticas están impulsadas por la hidrólisis del pirofosfato.*

La glucógeno sintasa cataliza la transferencia de glucosa desde la UDP-glucosa a una cadena creciente de glucógeno

Las nuevas unidades de glucosa se añaden a los residuos terminales no reductores del glucógeno. La unidad de glucosa activada de la UDP-glucosa se transfiere al grupo hidroxilo del C-4 de un residuo terminal de una cadena de glucógeno para formar un enlace glicosídico α-1,4. El UDP resulta desplazado por el grupo hidroxilo terminal de la molécula de glucógeno en crecimiento. Esta reacción está catalizada por la *glucógeno sintasa, la enzima reguladora clave de la síntesis de glucógeno.*

La glucógeno sintasa solo puede añadir residuos de glucosa a una cadena de polisacárido que ya tenga más de cuatro residuos. Por tanto, la síntesis de glucógeno necesita un *cebador*. Esta función de cebador la desempeña la *glucogenina*, una enzima formada por dos subunidades idénticas de 37 kDa. Cada subunidad de la glucogenina cataliza la adición de ocho unidades de glucosa a la otra subunidad. Estas unidades de glucosa forman polímeros cortos de glucosas unidas entre sí mediante enlaces α-1,4, que se encuentran unidos covalentemente al grupo hidroxilo de un residuo específico de tirosina de cada una de las subunidades de la glucogenina. En esta reacción, el donador es la UDP-glucosa. Llegados a este punto, la glucógeno sintasa recoge el testigo



para hacer crecer la molécula de glucógeno. De este modo, en la región más profunda de cada molécula de glucógeno hay un núcleo de glucogenina (Figura 25.1).

Una enzima ramificante forma enlaces alfa-1,6

La glucógeno sintasa solo cataliza la síntesis de enlaces α-1,4. Para formar los enlaces α-1,6 que hacen del glucógeno un polímero ramificado, se necesita otra enzima. La ramificación tiene lugar después de que la glucógeno sintasa haya unido un cierto número de residuos de glucosa mediante enlaces α-1,4. Mediante la ruptura de un enlace α-1,4 y la formación de un enlace α-1,6, se crea una ramificación. Un bloque de residuos, normalmente de siete, se transfiere a un lugar situado más hacia el interior de la molécula de glucógeno. La *enzima ramificante* que cataliza esta reacción es bastante precisa (Figura 25.2). El bloque de más o menos 7 residuos tiene que incluir el extremo no reductor y debe proceder de una cadena que tenga, al menos, una longitud de 11 residuos. Además, el nuevo punto de ramificación tiene que estar situado a una distancia mínima de 4 residuos de otro punto de ramificación ya existente.

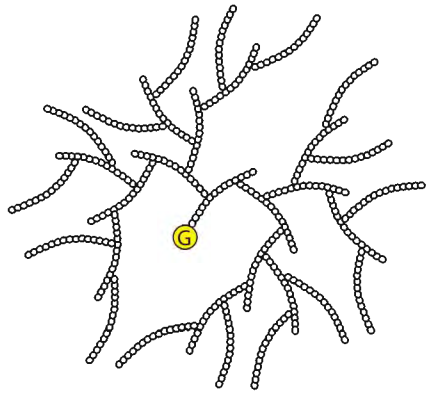


Figura 25.1 Sección transversal de una molécula de glucógeno. El componente representado mediante una letra G es la glucogenina.

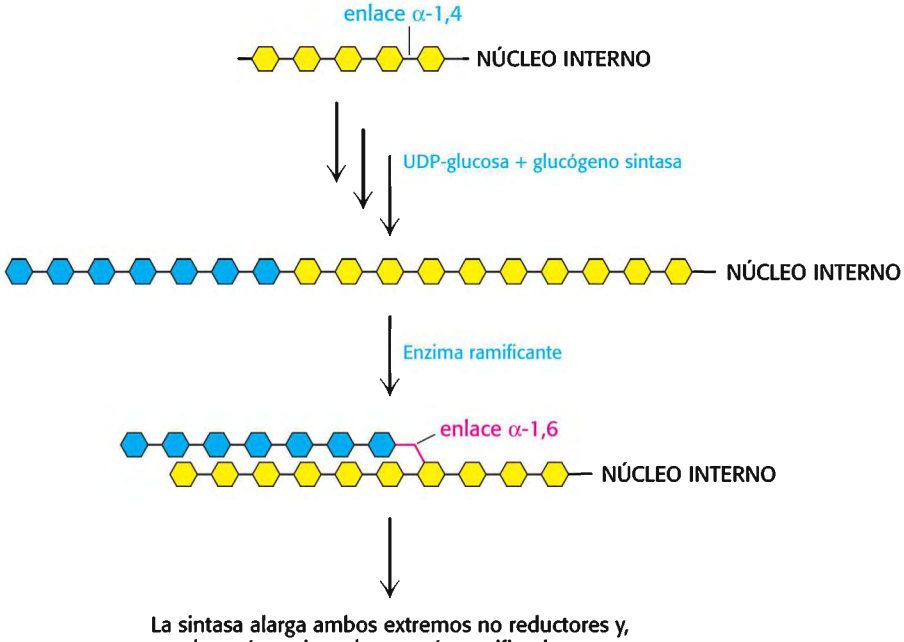


Figura 25.2 Reacción ramificante. La enzima ramificante extrae un oligosacárido de aproximadamente 7 residuos del extremo no reductor y genera un enlace α-1,6 interno.

La ramificación es importante porque incrementa la solubilidad del glucógeno. Además, la ramificación crea un gran número de residuos terminales, los lugares donde actúan la glucógeno fosforilasa y la sintasa (ver la Figura 25.1). Por tanto, *la ramificación incrementa la velocidad de síntesis y degradación del glucógeno.*

La glucógeno sintasa es la enzima reguladora clave de la síntesis de glucógeno

La enzima glucógeno sintasa, al igual que la fosforilasa, se puede encontrar de dos formas: una forma *a* activa no fosforilada y una forma *b* fosforilada, que normalmente es inactiva. De nuevo, al igual que la fosforilasa, la interconversión de las dos formas se encuentra regulada mediante modificación covalente. Sin embargo, recientes estudios sugieren que la principal forma de regular la glucógeno sintasa es mediante la regulación alostérica de la forma fosforilada de la enzima, la glucógeno sintasa *b*. La glucosa 6-fosfato es un potente activador de la enzima, ya que estabiliza el estado R de la enzima en vez del estado T.

Parece ser que la modificación covalente de la glucógeno sintasa se parece más a un mecanismo de ajuste fino. La sintasa se fosforila en multitud de lugares gracias a varias proteína quinasas —sobre todo, la *glucógeno sintasa quinasa* (GSK), que está sometida al control de la insulina (p. 443) y la *proteína quinasa A*. El cambio que se produce en las cargas de la proteína da lugar a su desactivación. *La fosforilación provoca efectos opuestos en la actividad enzimática de la glucógeno sintasa y de la glucógeno fosforilasa.*

? PREGUNTA RÁPIDA 1 ¿Por qué supone una ventaja el hecho de que la fosforilación tenga efectos opuestos en la síntesis y en la degradación del glucógeno?

El glucógeno es una eficaz forma de almacenar glucosa

¿Cuál es el coste de convertir la glucosa de la dieta en glucógeno y, posteriormente, en glucosa 6-fosfato? Antes de realizar este cálculo, tenemos que hablar de otra enzima, la *nucleósido difosfoquinasa*. Esta enzima cataliza la regeneración de UTP a partir de UDP, un producto que se libera cuando el glucógeno crece mediante la adición de glucosa procedente de la UDP-glucosa. La difosfoquinasa utiliza el ATP para fosforilar el UDP. La suma de las reacciones de síntesis del glucógeno es:

$$\text{Glucosa} + \text{ATP} \longrightarrow \text{glucosa 6-fosfato} + \text{ADP} \quad (1)$$

$$\text{Glucosa 6-fosfato} \longrightarrow \text{glucosa 1-fosfato} \quad (2)$$

$$\text{Glucosa 1-fosfato} + \text{UTP} \longrightarrow \text{UDP-glucosa} + \text{PP}_i \quad (3)$$

$$\text{PP}_i + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow 2\,\text{P}_i \quad (4)$$

$$\text{UDP-glucosa} + \text{glucógeno}_n \longrightarrow \text{glucógeno}_{n+1} + \text{UDP} \quad (5)$$

$$\text{UDP} + \text{ATP} \longrightarrow \text{UTP} + \text{ADP} \quad (6)$$

$$\text{Suma: Glucosa} + 2\,\text{ATP} + \text{glucógeno}_n + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{glucógeno}_{n+1} + 2\,\text{ADP} + 2\,\text{P}_i$$

Hay estudios que han demostrado que cuando se agota el glucógeno muscular, el rendimiento del músculo se reduce a aproximadamente el 50% del máximo. El rendimiento disminuye a pesar de disponer de amplias reservas de grasa, lo que sugiere que las grasas solo pueden aportar alrededor del 50% del esfuerzo aeróbico máximo. Si, tras haber agotado el glucógeno, se consumen alimentos ricos en carbohidratos, las reservas de glucógeno se reponen rápidamente; de hecho, la síntesis de glucógeno continúa, incrementando las reservas de glucógeno por encima de lo normal. Este fenómeno se denomina "supercompensación" o, vulgarmente, "carga de carbohidratos".

Por tanto, se hidrolizan 2 moléculas de ATP para incorporar al glucógeno la glucosa ingerida en la dieta. El rendimiento energético obtenido a partir de la descomposición del glucógeno formado a partir de la glucosa de la dieta es muy eficiente. Alrededor del 90% de los residuos se escinden fosforolíticamente a glucosa 1-fosfato, que se convierte en glucosa 6-fosfato sin tener que consumir una molécula de ATP. El otro 10% son los residuos de las ramificaciones que se escinden hidrolíticamente. Después, hay que utilizar una molécula de ATP para fosforilar cada una de estas moléculas de glucosa a glucosa 6-fosfato. Como ya vimos desde el capítulo 16 al 21, la oxidación completa de la glucosa 6-fosfato genera alrededor de 31 moléculas de ATP, y el almacenamiento consume algo más de 2 moléculas de ATP por cada molécula de glucosa 6-fosfato; por tanto, solo se requieren 2 moléculas de ATP para almacenar glucosa en forma de glucógeno, pero la glucosa procedente del glucógeno genera 31 moléculas de ATP; por tanto, *la eficiencia global del almacenamiento es de casi el 94%.*

25.2 El metabolismo en su contexto: la descomposición y la síntesis del glucógeno se regulan de forma recíproca

✓ 5 Describir cómo se coordinan la movilización y la síntesis de glucógeno.

Un importante mecanismo de control evita que se sintetice glucógeno al mismo tiempo que se está descomponiendo. *Las mismas cascadas de cAMP puestas en marcha por el glucagón y la adrenalina que inician la descomposición del glucógeno en el hígado y en el músculo, respectivamente, también desactivan la síntesis de glucógeno.* El glucagón y la adrenalina controlan tanto la descomposición del glucógeno como su síntesis a través de la proteína quinasa A (**Figura 25.3**). Recordemos que la proteína quinasa A añade un grupo fosforilo a la fosforilasa quinasa, activando esa enzima e iniciando la descomposición del glucógeno. La glucógeno sintasa quinasa y la proteína quinasa A añaden un grupo fosforilo a la glucógeno sintasa, pero esta fosforilación da lugar a una *disminución* de la actividad enzimática. De esta forma, la descomposición del glucógeno y su síntesis se encuentran reguladas de forma recíproca. ¿Cómo se revierte la actividad enzimática de la glucógeno fosforilasa de forma que se detenga la descomposición del glucógeno y comience su síntesis?

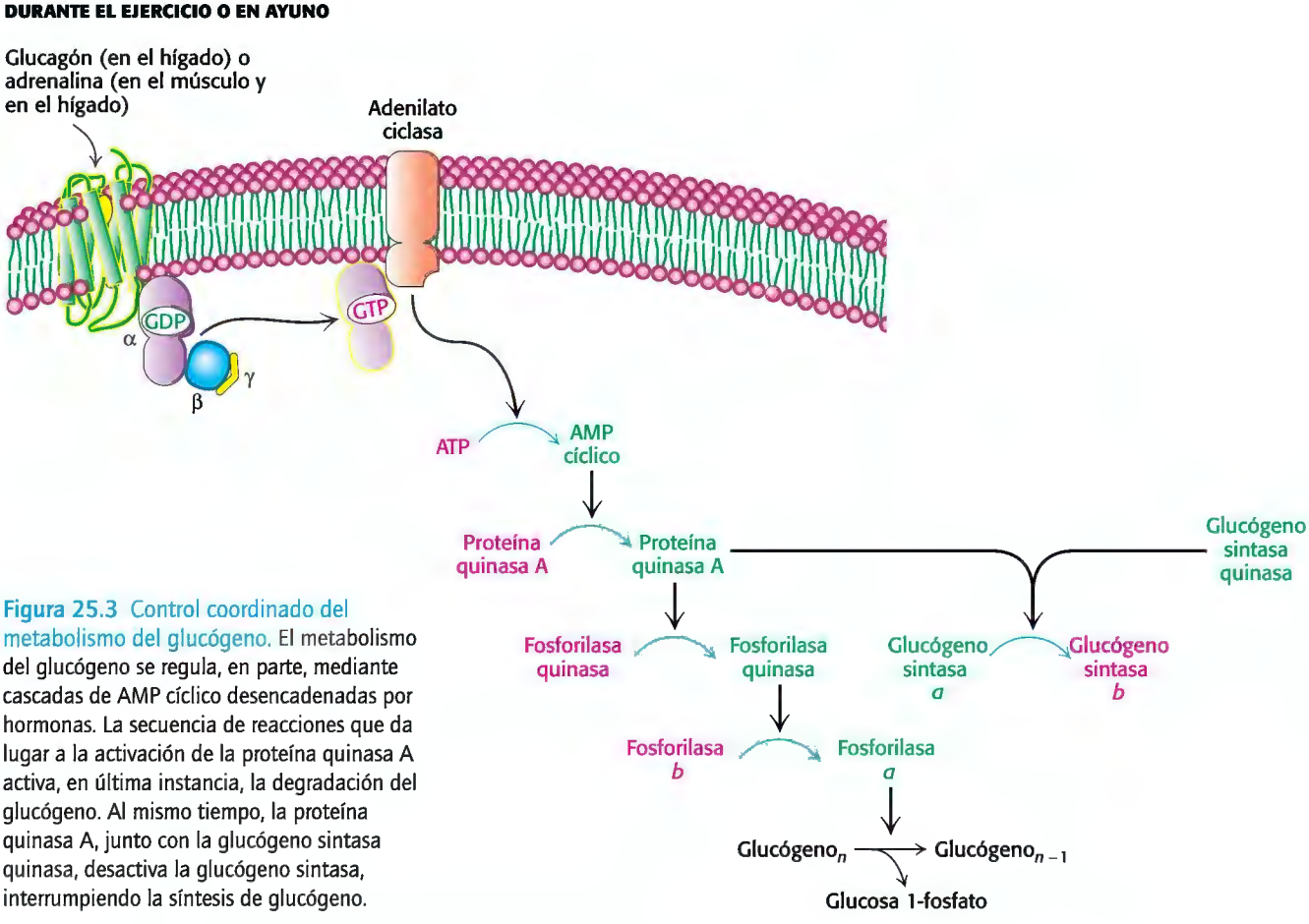


Figura 25.3 Control coordinado del metabolismo del glucógeno. El metabolismo del glucógeno se regula, en parte, mediante cascadas de AMP cíclico desencadenadas por hormonas. La secuencia de reacciones que da lugar a la activación de la proteína quinasa A activa, en última instancia, la degradación del glucógeno. Al mismo tiempo, la proteína quinasa A, junto con la glucógeno sintasa quinasa, desactiva la glucógeno sintasa, interrumpiendo la síntesis de glucógeno.

La proteína fosfatasa 1 revierte los efectos reguladores que ejercen las quinasas sobre el metabolismo del glucógeno

Tras un periodo de ejercicio, el músculo debe cambiar de un estado en el que se está degradando glucógeno a otro en el que hay que reponerlo. Un primer paso de esta tarea metabólica consiste en desactivar las proteínas fosforiladas que estimulan la descomposición del glucógeno. Este paso se lleva a cabo por medio de *proteína fosfatasas*

que catalizan la hidrólisis de residuos de serina y de treonina fosforilados. *La proteína fosfatasa 1 (PP1) desempeña funciones clave en la regulación del metabolismo del glucógeno* (**Figura 25.4**). La PP1 desactiva la fosforilasa *a* y la fosforilasa quinasa desfosforilándolas. De este modo, PP1 reduce la velocidad de descomposición del glucógeno, ya que revierte los efectos de la cascada de fosforilación. Además, *PP1 extrae grupos fosforilo de la glucógeno sintasa b para convertirla en la forma glucógeno sintasa a, más activa*. Por tanto, PP1 también acelera la síntesis de glucógeno y constituye otro dispositivo molecular para el control coordinado del metabolismo del glucógeno.

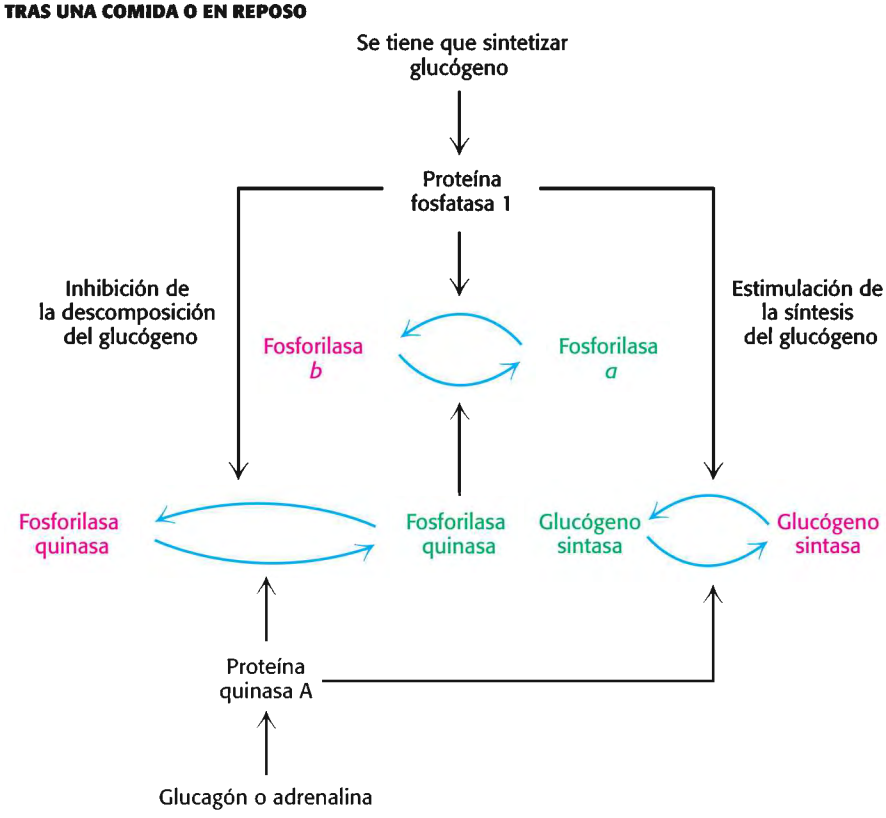


Figura 25.4 Regulación de la síntesis de glucógeno mediante la proteína fosfatasa 1. La PP1 estimula la síntesis de glucógeno al tiempo que inhibe su descomposición.

La subunidad catalítica de PP1 es una proteína con un único dominio. Normalmente, esta subunidad se encuentra unida a un miembro de una familia de subunidades reguladoras; en el músculo esquelético y en el corazón, la subunidad reguladora más abundante se denomina G_M, mientras que en el hígado, la subunidad reguladora más abundante es G_L. Estas subunidades reguladoras poseen múltiples dominios que intervienen en interacciones con el glucógeno, con la subunidad catalítica de la proteína fosfatasa y con enzimas diana. Por tanto, *estas subunidades reguladoras actúan como plataformas que acercan la proteína fosfatasa a sus sustratos en el contexto de una partícula de glucógeno*.

La actividad fosfatasa de PP1 tiene que disminuir cuando hay que descomponer el glucógeno (**Figura 25.5**). En estos casos, la adrenalina o el glucagón han activado la cascada de AMP cíclico y la proteína quinasa A se encuentra activa. La proteína quinasa A reduce la actividad de PP1 mediante dos mecanismos. Primero, en el músculo, se fosforila G_M, lo que da lugar a la liberación de la subunidad catalítica. Se reduce así, en gran medida, la desfosforilación. En segundo lugar, casi todos los tejidos contienen pequeñas proteínas que, al ser fosforiladas, inhiben la subunidad catalítica de PP1. De este modo, cuando se activa la degradación del glucógeno por medio de cAMP, la fosforilación de estos inhibidores desactiva las proteína fosfatasas, manteniendo la glucógeno fosforilasa en su forma activa *a* y la glucógeno sintasa en su forma inactiva *b*.

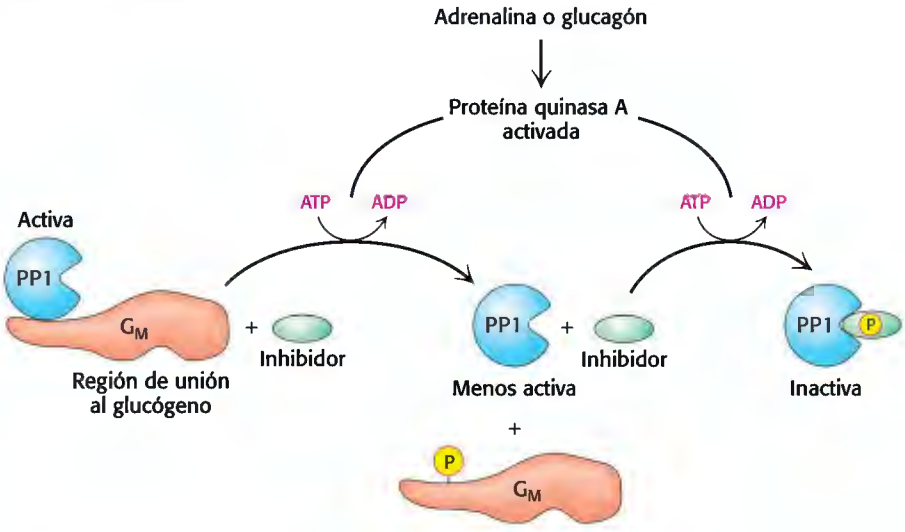


Figura 25.5 En el músculo, la regulación de la proteína fosfatasa 1 tiene lugar en dos pasos. La fosforilación de G_M por parte de la proteína quinasa A disocia la subunidad catalítica de sus sustratos en la partícula de glucógeno. La fosforilación de la subunidad inhibidora por parte de la proteína quinasa A desactiva la subunidad catalítica de PP1.

La insulina estimula la síntesis de glucógeno desactivando la glucógeno sintasa quinasa

Tras hacer ejercicio, la gente suele consumir alimentos ricos en carbohidratos para reponer sus reservas de glucógeno. De hecho, en los seres humanos, la principal forma de retirar glucosa de la sangre consiste en convertirla en glucógeno muscular. ¿Cómo se estimula la síntesis de glucógeno? Cuando los niveles de glucosa en sangre son elevados, *la insulina estimula la síntesis de glucógeno*. Esta estimulación tiene dos componentes. En primer lugar, recordemos que la insulina provoca un aumento de la concentración intracelular de glucosa incrementando el número de transportadores de glucosa (GLUT4) en la membrana celular (p. 291). La entrada de glucosa y su posterior conversión en glucosa 6-fosfato activa alostéricamente la glucógeno sintasa *b*. En segundo lugar, *la insulina provoca la desactivación de la glucógeno sintasa quinasa*, la enzima que mantiene la glucógeno sintasa en su forma fosforilada, menos activa (**Figura 25.6**).

¿Cómo ejerce la insulina sus efectos? El primer paso de la acción de la insulina es su unión a un receptor, una tirosina quinasa de la membrana plasmática (p. 227). La unión de la insulina estimula la actividad tirosina quinasa del receptor de manera que fosforila los sustratos del receptor de la insulina. Estas proteínas fosforiladas ponen en marcha rutas de transducción de señales que, en última instancia, provocan el movimiento de transportadores de glucosa hacia la membrana celular y la activación de proteína quinasas que fosforilan y desactivan la glucógeno sintasa quinasa. La quinasa inactiva ya no puede mantener la glucógeno fosforilasa en su estado fosforilado, menos activo. Mientras tanto, la proteína fosfatasa 1 desfosforila la glucógeno sintasa, estimulando aún más la enzima y reponiendo las reservas de glucógeno. El efecto neto de la insulina consiste en el restablecimiento de las reservas de glucógeno.

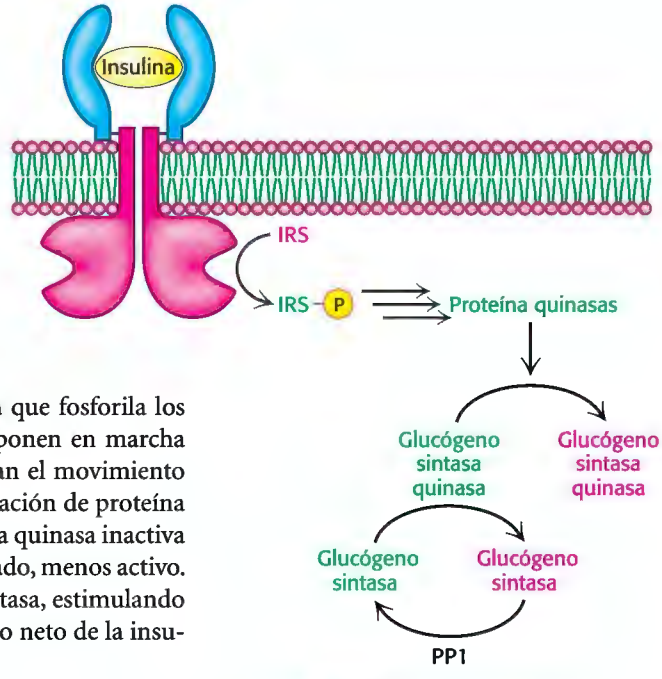


Figura 25.6 La insulina desactiva la glucógeno sintasa quinasa. La insulina pone en marcha una cascada que da lugar a la fosforilación y desactivación de la glucógeno sintasa quinasa, con lo que evita la fosforilación de la glucógeno sintasa. La proteína fosfatasa 1 (PP1) extrae grupos fosforilo de la glucógeno sintasa, con lo que activa la enzima y permite la síntesis de glucógeno. Abreviatura: IRS, sustrato del receptor de la insulina.

En el hígado, el metabolismo del glucógeno regula el nivel de glucosa en la sangre

Tras una comida rica en carbohidratos, los niveles de glucosa en sangre aumentan y se intensifica la síntesis de glucógeno en el hígado. Aunque la insulina es la principal señal para la síntesis de glucógeno, otra señal es la concentración de glucosa en sangre, que normalmente oscila entre 80 y 120 mg por cada 100 ml (4,4-6,7 mM). El hígado detecta la concentración de glucosa en sangre y capta o libera glucosa para mantener un nivel normal. Cuando el hígado aporta glucosa a la sangre, la cantidad de fosforilasa *a* de este órgano disminuye (**Figura 25.7**). De hecho, *la fosforilasa a*

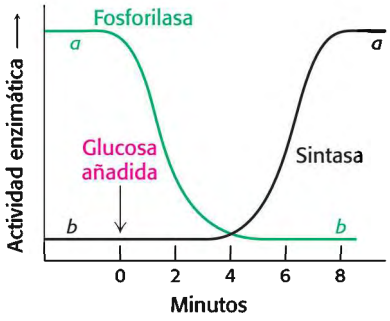


Figura 25.7 En el hígado, la glucosa presente en la sangre regula el metabolismo del glucógeno. La liberación de glucosa en el torrente sanguíneo provoca la desactivación de la fosforilasa, que va seguida de la activación de la glucógeno sintasa hepática. [Tomada de W. Stalmans, H. de Wulf, L. Hue y H. -G. Hers. *Eur. J. Biochem.* 41: 117-134, 1974.]

PREGUNTA RÁPIDA 2 ¿Qué es lo que explica el hecho de que la fosforilasa del hígado sea un sensor de glucosa, mientras que la fosforilasa del músculo no?

es el sensor de glucosa de las células hepáticas. La unión de glucosa a la fosforilasa *a* desplaza su equilibrio alostérico de la forma activa R a la forma inactiva T. Este cambio conformacional *convierte al grupo fosforilo de la serina 14 en un sustrato para la proteína fosfatasa 1*. La PP1 se une fuertemente a la fosforilasa *a* solo si la fosforilasa se encuentra en el estado R, pero, cuando está unida, PP1 es inactiva. Cuando la glucosa induce la transición hacia la forma T, PP1 se disocia de la fosforilasa y se vuelve activa, convirtiendo la fosforilasa *a* del hígado en la forma *b*. Recordemos que la transición R $\rightleftharpoons$ T de la fosforilasa *a* muscular no se ve afectada por la glucosa y, por tanto, no le afecta el aumento de los niveles de glucosa en sangre (p. 428).

Tras un periodo en el que el nivel de glucógeno fosforilasa *a* está disminuyendo, la cantidad de glucógeno sintasa *a* aumenta, lo que da lugar a la síntesis de glucógeno a partir de la glucosa que ya ha llegado al hígado. ¿Cómo activa la glucosa la glucógeno sintasa? La fosforilasa *b*, a diferencia de la fosforilasa *a*, no se une a la fosfatasa. Por consiguiente, *la conversión de a en b va acompañada de la liberación de PP1, de modo que ya puede activar la glucógeno sintasa y desactivar la glucógeno fosforilasa* (**Figura 25.8**). La extracción del grupo fosforilo de la glucógeno sintasa *b*, inactiva, la convierte en la forma *a*, activa. Al principio, hay alrededor de 10 moléculas de fosforilasa *a* por cada molécula de fosfatasa. En consecuencia, la mayoría de las moléculas de la fosforilasa *a* se convierten en *b* antes de que se libere la fosfatasa. Por tanto, *la actividad de la glucógeno sintasa comienza a aumentar solo cuando la mayor parte de la fosforilasa se encuentra desactivada* (ver la Figura 25.7). El desfase entre la degradación y la síntesis evita que las dos rutas operen de forma simultánea. Este extraordinario sistema sensor de la glucosa depende de tres elementos clave: (1) la comunicación entre el lugar alostérico para la glucosa y la serina fosfato, (2) la utilización de PP1 para desactivar la fosforilasa y activar la glucógeno sintasa y (3) la unión de la fosfatasa a la fosforilasa *a* para evitar la activación prematura de la glucógeno sintasa.

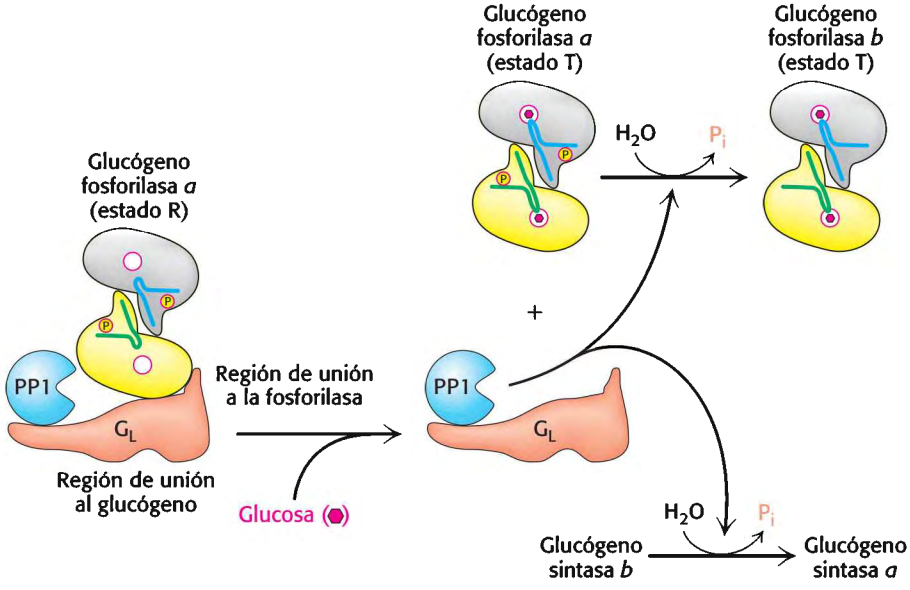


Figura 25.8 En el hígado, la glucosa regula el metabolismo del glucógeno. En el hígado, la glucosa se une a la glucógeno fosforilasa *a* y la inhibe, ya que favorece la formación del estado T de la fosforilasa *a*. En este estado, la fosforilasa *a* no se une a la proteína fosfatasa 1 (PP1), con lo que PP1 se disocia de la glucógeno fosforilasa *a* y se activa. La PP1 libre desfosforila la glucógeno fosforilasa *a* y la glucógeno sintasa *b*, desactivando la descomposición del glucógeno y activando la síntesis de glucógeno.

Aspecto clínico

La diabetes mellitus es el resultado de una deficiencia de insulina y un exceso de glucagón

La *diabetes mellitus* es una enfermedad compleja que se caracteriza por un uso de los combustibles extremadamente fuera de lo normal: *el hígado produce glucosa en exceso, que es infrautilizada por los demás órganos*. La incidencia de la diabetes mellitus (o, sencillamente, *diabetes*) es de aproximadamente el 5% de la población mundial. De hecho, la diabetes es la enfermedad metabólica grave más frecuente del mundo; afecta a cientos de millones de personas. La *diabetes de tipo 1*, o *diabetes mellitus de-*

pendiente de la insulina (DMDI), se debe a la destrucción autoinmune de las células β del páncreas que secretan la insulina y, normalmente, aparece antes de cumplir los 20 años. La dependencia de la insulina significa que la persona afectada necesita que se le administre insulina para vivir. Por el contrario, la mayoría de los diabéticos presentan un nivel de insulina normal en su sangre o un nivel más elevado que el de las personas no afectadas, pero estos diabéticos apenas responden a la hormona, una circunstancia que se conoce con el nombre de *resistencia a la insulina*. Como ya se comentó en el Capítulo 17, esta forma de la enfermedad, denominada *diabetes de tipo 2*, o *diabetes mellitus no dependiente de la insulina* (DMNDI), suele aparecer a edades más tardías que la forma dependiente de la insulina.

En la diabetes de tipo 1, la producción de insulina es insuficiente y, por consiguiente, el glucagón está presente a niveles más altos de lo normal. Como hay insuficiencia de insulina, *la glucosa no puede entrar en las células adiposas y musculares*. El hígado se atasca en un estado gluconeogénico y cetogénico, es decir, en un estado en el que metaboliza grasas (Capítulo 27). Básicamente, la persona diabética se encuentra en un estado bioquímico de inanición, a pesar de la elevada concentración de glucosa en su sangre. El excesivo nivel de glucagón en comparación con el de insulina provoca una disminución de la cantidad de fructosa 2,6-bisfosfato (F-2,6-BP) en el hígado. Por tanto, se inhibe la glucólisis y se estimula la gluconeogénesis a causa de los efectos recíprocos que ejerce la F-2,6-BP sobre la fosfofructoquinasa y la fructosa 1,6-bisfosfatasa (p. 306). La elevada proporción entre glucagón e insulina que tiene lugar en la diabetes también provoca la descomposición del glucógeno. Por tanto, *en el hígado se produce una cantidad excesiva de glucosa, que es liberada a la sangre*. Cuando su concentración en sangre supera la capacidad de reabsorción de los túbulos renales, la glucosa se excreta por la orina. La glucosa excretada va acompañada de agua y, por tanto, en la fase aguda de la enfermedad, un diabético no tratado está hambriento y sediento. ■

Areteo de Capadocia, un médico del siglo II d. C. escribió: "Se ha asignado el epíteto diabetes a una enfermedad que viene a ser algo así como el paso del agua a través de un sifón." Con mucha perspicacia, definió la diabetes como "el derretimiento de la carne y de las extremidades en orina". "Mellitus" procede del latín y significa "endulzado con miel".

Aspecto clínico

Las enfermedades relacionadas con el almacenamiento del glucógeno se pueden entender en términos bioquímicos

En 1929, Edgar von Gierke describió la primera enfermedad relacionada con el almacenamiento del glucógeno. Un paciente con esta enfermedad tiene un abdomen enorme provocado por un agrandamiento masivo del hígado. Entre comidas hay una *hipoglucemia* muy acusada. Además, los niveles de glucosa en sangre no aumentan tras la administración de adrenalina y glucagón. Un niño con esta enfermedad del almacenamiento del glucógeno puede presentar convulsiones a causa del bajo nivel de glucosa en sangre.

El defecto enzimático causante de la enfermedad de von Gierke fue descubierto en 1952 por Carl y Gerty Cori. Observaron que el hígado de los pacientes con esta enfermedad carece de glucosa 6-fosfatasa. Este descubrimiento fue la primera demostración de una insuficiencia hereditaria de una enzima del hígado. El glucógeno hepático tiene una estructura normal pero se encuentra en cantidades anormalmente elevadas. La ausencia de glucosa 6-fosfatasa en el hígado provoca hipoglucemia porque no se puede formar glucosa a partir de glucosa 6-fosfato. Este azúcar fosforilado no abandona el hígado, ya que no puede atravesar la membrana plasmática. La presencia de un exceso de glucosa 6-fosfato desencadena un aumento de la glucólisis en el hígado, lo que da lugar a niveles elevados de lactato y piruvato en la sangre. Además, los pacientes con la enfermedad de von Gierke presentan una mayor dependencia del metabolismo de las grasas. Esta enfermedad también se puede producir por una mutación en el gen que codifica el *transportador de glucosa 6-fosfato*. Recordemos que la glucosa 6-fosfato tiene que ser transportada al *lumen* del retículo endoplasmático para ser hidrolizada por la fosfatasa (p. 305). Análogamente, las mutaciones en las otras tres enzimas esenciales de este sistema pueden dar lugar a la enfermedad de von Gierke.

Desde la primera caracterización de la enfermedad de von Gierke se han caracterizado otras siete enfermedades relacionadas con el almacenamiento del glucógeno

Tabla 25.1 Enfermedades relacionadas con el almacenamiento del glucógeno

Tipo	Enzima defectuosa	Órgano afectado	Glucógeno en el órgano afectado	Características clínicas
I Enfermedad de von Gierke	Glucosa 6-fosfatasa o el sistema de transporte	Hígado y riñón	En mayor cantidad; estructura normal	Agrandamiento masivo del hígado. Falta de desarrollo. Hipoglucemia grave, cetosis, hiperuricemia, hiperlipemia.
II Enfermedad de Pompe	α-1,4-Glucosidasa (lisosómica)	Todos los órganos	Incremento masivo en la cantidad; estructura normal	Un fallo cardiorrespiratorio provoca la muerte, normalmente antes de cumplir dos años.
III Enfermedad de Cori	Amilo-1,6-glucosidasa (enzima desramificante)	Músculo e hígado	En mayor cantidad; ramas externas cortas	Como el tipo I, pero con síntomas más suaves.
IV Enfermedad de Andersen	Enzima ramificante (α-1,4 → α-1,6)	Hígado y bazo	Cantidad normal; ramas externas muy largas	Cirrosis progresiva del hígado. Un fallo hepático provoca la muerte, normalmente antes de cumplir dos años.
V Enfermedad de McArdle	Fosforilasa	Músculo	Incremento moderado en la cantidad; estructura normal	Capacidad limitada para realizar ejercicios intensos a causa de los dolorosos calambres musculares. Por lo demás, el paciente está normal y bien desarrollado
VI Enfermedad de Hers	Fosforilasa	Hígado	En mayor cantidad	Como el tipo I, pero con síntomas más suaves.
VII	Fosfofructoquinasa	Músculo	En mayor cantidad; estructura normal	Como el tipo V.
VIII	Fosforilasa quinasa	Hígado	En mayor cantidad; estructura normal	Agrandamiento moderado del hígado. Hipoglucemia moderada.

Nota: desde el tipo I al tipo VII, se trata de rasgos autosómicos recesivos. El tipo VIII es un rasgo ligado al sexo.

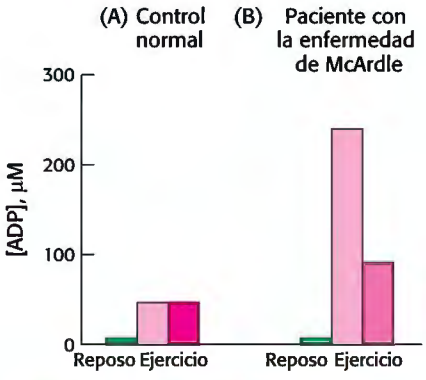


Figura 25.9 Estudio de RMN de los niveles de ADP en el músculo del brazo humano. Se midieron los niveles de ADP en un individuo normal (A) y en un paciente con la enfermedad de McArdle, una enfermedad relacionada con el almacenamiento del glucógeno (B), tanto en reposo como haciendo ejercicio. Durante el ejercicio, el nivel de ADP aumenta mucho más que en los controles normales, pero disminuye significativamente tras una aclimatación al ejercicio. Código de colores: en reposo (verde); ejercicio moderado (rosa); ejercicio intenso (rojo), aclimatación al ejercicio (rosa claro). [Tomada de G. K. Radda. *Biochem. Soc. Trans.* 14: 517-525, 1986.]

y se han desvelado las razones bioquímicas que explican los síntomas de estas enfermedades (Tabla 25.1). El matrimonio Cori descubrió el defecto bioquímico de otra enfermedad relacionada con el almacenamiento del glucógeno (la enfermedad de tipo III), que ahora lleva su nombre. En la enfermedad de tipo III, la estructura del glucógeno del hígado y del músculo no es normal y está presente en cantidades notablemente más altas. Lo más sorprendente es que las ramas externas del glucógeno son muy cortas. *Los pacientes que presentan este tipo de enfermedad relacionada con el almacenamiento del glucógeno carecen de la enzima desramificante (α-1,6-glucosidasa)*, de modo que solo se pueden utilizar eficazmente las ramas más externas del glucógeno. Por tanto, solo una pequeña fracción de este glucógeno anormal es funcionalmente activo como reserva de glucosa accesible.

En la enfermedad de McArdle (de tipo V) se observa un defecto del metabolismo del glucógeno que afecta exclusivamente al músculo. La actividad de la fosforilasa muscular no existe y la capacidad del paciente para llevar a cabo un ejercicio intenso es limitada a causa de los dolorosos calambres musculares. Aparte de eso, el paciente es normal y está bien desarrollado. Por tanto, la utilización eficaz del glucógeno muscular no es esencial para la vida. Estudios de resonancia magnética nuclear (RMN) con fósforo-31 realizados en estos pacientes han resultado muy reveladores. El pH de las células del músculo esquelético de personas normales disminuye durante un ejercicio intenso debido a la producción de lactato. Por el contrario, las células musculares de los pacientes con la enfermedad de McArdle se vuelven más alcalinas durante el ejercicio a causa de la descomposición de la creatina fosfato (p. 254). En estos pacientes no se acumula lactato porque la velocidad de la glucólisis en sus músculos es mucho menor de lo normal; su glucógeno no se puede movilizar. Los resultados de los estudios de RMN también han demostrado que los dolorosos calambres característicos de esta enfermedad están relacionados con elevados niveles de ADP (Figura 25.9). La aclimatación al ejercicio da lugar a un descenso de la concentración de ADP y a la desaparición de los calambres. La espectroscopía de RMN es una valiosa técnica de espectroscopía no invasiva que permite evaluar las terapias contra esta enfermedad basadas en la dieta y en el ejercicio. ■

Resumen

25.1 El glucógeno se sintetiza y se degrada mediante rutas distintas

El glucógeno se sintetiza mediante una ruta distinta a la de su descomposición. La UDP-glucosa, el intermediario activado de la síntesis de glucógeno, se forma a partir de glucosa 1-fosfato y UTP. La glucógeno sintasa cataliza la transferencia de glucosa desde la UDP-glucosa al grupo hidroxilo del C-4 de un residuo terminal de una molécula de glucógeno en crecimiento. El cebador de la síntesis es la glucogenina, una proteína que se autoglucosila y que presenta una unidad de oligosacárido unida covalentemente a un residuo específico de tirosina. Una enzima ramificante convierte algunos enlaces α-1,4 en enlaces α-1,6, con lo que aumenta el número de extremos y, de este modo, el glucógeno se puede fabricar y descomponer con más rapidez.

25.2 El metabolismo en su contexto: la descomposición y la síntesis del glucógeno se regulan de forma recíproca

La síntesis y la degradación del glucógeno están coordinadas mediante varias cascadas de reacciones de amplificación. La adrenalina y el glucagón estimulan la descomposición del glucógeno e inhiben su síntesis incrementando el nivel de AMP cíclico en el citoplasma, lo que activa la proteína quinasa A. Esta proteína activa la descomposición del glucógeno añadiendo un grupo fosforilo a la fosforilasa quinasa e inhibe la síntesis de glucógeno fosforilando la glucógeno sintasa.

Los efectos de la proteína quinasa A sobre la movilización del glucógeno son revertidos por la proteína fosfatasa 1, que está regulada por medio de varias hormonas. La adrenalina inhibe esta fosfatasa bloqueando su unión a las moléculas de glucógeno y activando un inhibidor. La insulina, por el contrario, desencadena una cascada que fosforila y desactiva la glucógeno sintasa quinasa, una de las enzimas que inhiben la glucógeno sintasa. Por tanto, la síntesis de glucógeno disminuye por la adrenalina y aumenta por la insulina. La glucógeno sintasa y la glucógeno fosforilasa también están reguladas mediante interacciones alostéricas no covalentes. La glucógeno sintasa *b* se activa por la glucosa 6-fosfato, mientras que la glucógeno fosforilasa es un componente clave del sistema sensor de glucosa de las células hepáticas. El metabolismo del glucógeno es un ejemplo del poder y la precisión de la fosforilación reversible a la hora de regular procesos biológicos.

Términos clave

uridina difosfato glucosa (UDP-glucosa) (p. 437)
glucógeno sintasa (p. 348)
glucogenina (p. 438)
glucógeno sintasa quinasa (GSK) (p. 440)
proteína fosfatasa 1 (PP1) (p. 441)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Evita que la síntesis y la descomposición tengan lugar de forma simultánea, lo que provocaría un gasto inútil de energía. Ver el problema 9 en la sección de Problemas.

2. La fosforilasa *a* del hígado es inhibida por la glucosa, que facilita la transición R → T. Esta transición libera la proteína fosfatasa 1, que desactiva la descomposición del glucógeno y estimula su síntesis. La fosforilasa del músculo no es sensible a la glucosa.

Problemas

1. *Ying y Yang.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 3

(a) UDP-Glucosa _____
(b) UDP-Glucosa pirofosforilasa _____
(c) Glucógeno sintasa _____
(d) Glucogenina _____
(e) Enzima ramificante _____
(f) Glucosa 6-fosfato _____
(g) Glucógeno sintasa quinasa _____
(h) Proteína fosfatasa 1 _____
(i) Insulina _____
(j) Glucógeno fosforilasa *a* _____

1. Uno de sus sustratos es la glucosa 1-fosfato
2. Potente activador de la glucógeno sintasa *b*
3. Sensor de glucosa en el hígado
4. Sustrato activado para la síntesis de glucógeno
5. Sintetiza enlaces α-1,4 entre moléculas de glucosa
6. Provoca la desactivación de la glucógeno sintetasa quinasa
7. Sintetiza enlaces α-1,6 entre moléculas de glucosa
8. Cataliza la formación de glucógeno sintasa *b*
9. Cataliza la formación de glucógeno sintasa *a*
10. Proporciona el cebador para la síntesis de glucógeno

2. *Trabajo de equipo.* ¿Qué enzimas se necesitan para la síntesis de una partícula de glucógeno a partir de glucosa 6-fosfato? ✓ 3 y 4

3. *¡El ATP está detrás de todo!* La UDP-glucosa es el precursor activado de la síntesis de glucógeno pero, en última instancia, es el ATP el que aporta la energía que impulsa la síntesis de glucógeno. Demuestre esta afirmación indicando las reacciones que se necesitan para convertir la glucosa 6-fosfato en una unidad de glucógeno con la consiguiente regeneración del UTP. ✓ 3

4. *Haz que vaya hacia adelante.* La siguiente reacción explica la síntesis de UDP-glucosa. Esta reacción es fácilmente reversible. ¿Cómo se hace que sea irreversible *in vivo*? ✓ 3

$$\text{Glucosa 1-fosfato} + \text{UTP} \rightleftharpoons \text{UDP-glucosa} + PP_i$$

5. *Si insistes.* ¿Por qué la activación de la forma *b* fosforilada de la glucógeno sintasa mediante concentraciones elevadas de glucosa 6-fosfato es una buen idea desde el punto de vista bioquímico? ✓ 4

6. *Iniciar y extender.* Describa las distintas funciones de la glucogenina y de la glucógeno sintasa durante la síntesis de glucógeno. ✓ 4

7. *Un ATP ahorrado es un ATP ganado.* La oxidación completa de glucosa 6-fosfato procedente de glucosa libre genera 30 moléculas de ATP, mientras que la oxidación completa de la glucosa 6-fosfato procedente del glucógeno genera 31 moléculas de ATP. Explique esta diferencia. ✓ 5

8. *Papel dual.* La fosfoglucomutasa es esencial tanto para la descomposición del glucógeno como para su síntesis. Explique el papel de esta enzima en cada uno de los dos procesos.

9. *Trabajando con distinto fin.* Escriba una reacción ajustada que muestre el efecto de la activación simultánea de la glucógeno fosforilasa y la glucógeno sintasa. Incluya las reacciones catalizadas por la fosfoglucomutasa y la UDP-glucosa pirofosforilasa. ✓ 5

10. *Lograr la inmortalidad.* La glucógeno sintasa necesita un cebador. En un principio se creía que el cebador procedía de gránulos de glucógeno ya existentes que se repartían entre las células hijas durante la división celular. En otras palabras, parte de la molécula original de glucógeno sencillamente se transmitía de una generación a la siguiente. ¿Hubiera tenido éxito esta estrategia a la hora de transmitir la reserva de glucógeno de una generación a la siguiente? En base a los conocimientos actuales, ¿cómo se sintetizan las nuevas moléculas de glucógeno? ✓ 4

11. *Señal para la síntesis.* ¿Cómo estimula la insulina la síntesis de glucógeno? ✓ 4

12. *Reservas excesivas.* Sugiera una explicación para el aumento de la cantidad de glucógeno que se observa en la enfermedad relacionada con el almacenamiento del glucógeno de tipo I (la enfermedad de von Gierke). ✓ 4

Problemas de integración de capítulos

13. *Mutantes metabólicos.* Pronostique la principal consecuencia de cada una de las siguientes mutaciones. ✓ 5

(a) Pérdida del lugar de unión al AMP de la fosforilasa muscular.
(b) Mutación de la Ser 14 a Ala 14 en la fosforilasa del hígado.
(c) Sobreexpresión de la fosforilasa quinasa en el hígado.
(d) Pérdida del gen que codifica el inhibidor 1 de la proteína fosfatasa 1.
(e) Pérdida del gen que codifica la subunidad de la proteína fosfatasa 1 que interacciona con el glucógeno.
(f) Pérdida del gen que codifica glucogenina.

14. *Más mutantes metabólicos.* Comente brevemente las principales consecuencias de cada una de las siguientes mutaciones que afectan a la utilización del glucógeno. ✓ 5

(a) Pérdida de la actividad GTPasa de la subunidad α de la proteína G.
(b) Pérdida de la actividad fosfodiesterasa.

15. *Mismos síntomas, distinta causa.* Con frecuencia, la enfermedad de von Gierke es el resultado de un defecto en la glucosa 6-fosfatasa. Sugiera otra mutación en el metabolismo de la glucosa que provoque síntomas similares a los de la enfermedad de von Gierke.

16. *Otra vez von Gierke.* Las personas que padecen la enfermedad de von Gierke liberan una pequeña cantidad de glu-

cosa en la sangre tras inyectarles glucagón. ¿Cómo es esto posible?

17. *Esa cara me suena.* La UDP-glucosa es la forma activada de la glucosa que se utiliza durante la síntesis del glucógeno. Sin embargo, a lo largo de nuestro estudio del metabolismo ya hemos visto otras formas activadas de los carbohidratos parecidas. ¿En qué otro sitio hemos visto un UDP-carbohidrato?

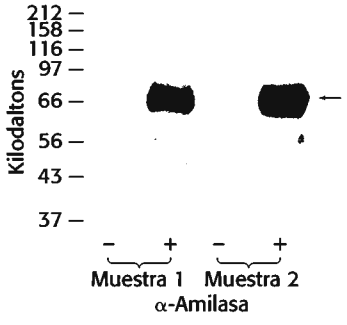
18. *Conversión de carbohidratos.* Escriba una reacción ajustada para la formación de glucógeno a partir de galactosa. ✓ 3

Problemas de integración de capítulos y de interpretación de datos para atrevidos

19. *Eliminando cualquier rastro.* En extractos de hígado humanos, la actividad catalítica de la glucogenina solo se podía detectar tras un tratamiento con α-amilasa, una enzima que hidroliza enlaces glicosídicos α-1,4. ¿Por qué se necesitaba la α-amilasa para poner de manifiesto la actividad de la glucogenina?

20. *Productos reveladores.* Una muestra de glucógeno procedente de un paciente con una enfermedad hepática se incuba con ortofosfato, fosforilasa, transferasa y enzima desramificante (α-1,6-glucosidasa). La proporción entre glucosa 1-fosfato y glucosa que se forma en esta mezcla es de 100. ¿Cuál es la insuficiencia enzimática más probable en este paciente? ✓ 3

21. *Purificación de glucógeno 1.* El hígado es uno de los principales lugares donde se almacena glucógeno. Obtenido a partir de dos muestras de hígado humano, el glucógeno fue tratado (+) o no (−) con α-amilasa y analizado posteriormente mediante SDS-PAGE y transferencia *Western* utilizando anticuerpos contra la glucogenina (ver el Capítulo 5). Los resultados se muestran en la siguiente ilustración.



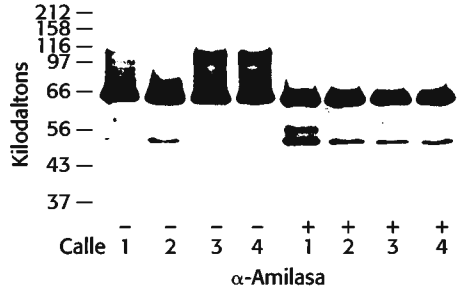
[Cortesía del Dr. Peter J. Roach, Escuela de Medicina de la Universidad de Indiana.]

(a) ¿Por qué no se ven proteínas en las calles correspondientes a las muestras no tratadas con α-amilasa?

(b) ¿Qué efecto se observa al tratar las muestras con α-amilasa? Explique los resultados.

(c) Cite otras proteínas que esperaría encontrar asociadas al glucógeno. ¿Por qué no se ven otras proteínas?

22. *Purificación de glucógeno 2.* Mediante transfección, se introdujo el gen de la glucogenina en una línea celular que normalmente solo almacena pequeñas cantidades de glucógeno. A continuación, las células fueron manipuladas según el protocolo explicado más adelante. Después, se purificó el glucógeno y se analizó mediante SDS-PAGE y transferencia *Western* utilizando anticuerpos contra la glucogenina (ver el Capítulo 5). Los resultados se muestran en la siguiente ilustración.



[Cortesía del Dr. Peter J. Roach, Escuela de Medicina de la Universidad de Indiana.]

Protocolo: las células cultivadas en un medio de crecimiento con glucosa 25 mM (calle 1) fueron transferidas a un medio que no tenía glucosa durante 24 horas (calle 2). Se volvió a suministrar glucosa a las células privadas de ella, introduciéndolas en un medio con glucosa 25 mM durante una hora (calle 3) o 3 horas (calle 4). Antes de aplicarlas sobre el gel, las muestras (12 μg de proteína) fueron tratadas (+) o no (−) con α-amilasa, según se indica en la figura.

(a) ¿Por qué la transferencia *Western* da lugar a una "estela" —en otras palabras, a la tinción que se observa en la zona de alto peso molecular de la calle 1 (−)?

(b) ¿Qué significa la menor tinción que se observa en la zona de alto peso molecular en la calle 2 (−)?

(c) ¿Qué significa la diferencia entre las calles 2 (−) y 3 (−)?

(d) Sugiera una posible razón para que apenas haya diferencia entre las calles 3 (−) y 4 (−).

(e) ¿Por qué las bandas de 66 kDa que se observan en las calles tratadas con amilasa son iguales, a pesar de que las células han sido sometidas a tratamientos distintos?

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 26

La ruta de las pentosas fosfato

26.1 La ruta de las pentosas fosfato genera NADPH y azúcares de cinco átomos de carbono

26.2 El metabolismo en su contexto: la glucólisis y la ruta de las pentosas fosfato se controlan de forma coordinada

26.3 La glucosa 6-fosfato deshidrogenasa disminuye el estrés oxidativo



El crecimiento es una proeza bioquímica formidable. Dos de los componentes bioquímicos clave necesarios para el crecimiento –el azúcar ribosa y el poder reductor– son suministrados por la ruta de las pentosas fosfato. [Comstock Images/AgeFotostock.]

Hasta ahora, hemos considerado el metabolismo del glucógeno centrándonos en la producción y almacenamiento de energía. Otro destino importante del producto final de la degradación del glucógeno —la glucosa 6-fosfato— es servir como sustrato para la ruta de las pentosas fosfato, un conjunto de reacciones extraordinariamente versátil. La ruta de las pentosas fosfato es una importante fuente de NADPH, el poder reductor para la biosíntesis. Además, la ruta cataliza la intercon-

versión entre los intermediarios de la glucólisis de tres y seis átomos de carbono y los carbohidratos con cinco átomos de carbono. Estas interconversiones permiten la síntesis de las pentosas necesarias para fabricar DNA y RNA, así como el metabolismo de los azúcares de cinco átomos de carbono ingeridos en la dieta.

Comenzaremos estudiando la generación de NADPH y, después, analizaremos las interconversiones entre carbohidratos. Por último, veremos la versatilidad de las reacciones de la ruta de las pentosas fosfato.

✓ 6 Identificar las dos etapas de la ruta de las pentosas fosfato y explicar cómo se coordina la ruta con la glucólisis y con la gluconeogénesis.

26.1 La ruta de las pentosas fosfato genera NADPH y azúcares de cinco átomos de carbono

Recordemos que el NADPH es un producto clave de las reacciones luminosas de la fotosíntesis. *En todos los organismos, el NADPH es la fuente de poder reductor biosintético* y se utiliza en un gran número de procesos bioquímicos (Tabla 26.1). ¿Cómo generan NADPH las células y organismos no fotosintéticos? En estos organismos, el NADPH se genera a partir del metabolismo de la glucosa 6-fosfato por medio de la *ruta de las pentosas fosfato*. Esta ruta consta de dos fases: (1) la generación oxidativa de NADPH y (2) la interconversión no oxidativa de los azúcares (Figura 26.1). Durante la fase oxidativa, el NADPH se genera cuando la glucosa 6-fosfato se oxida a ribulosa 5-fosfato.

Tabla 26.1 Rutas que necesitan NADPH

Síntesis
Biosíntesis de ácidos grasos
Biosíntesis de colesterol
Biosíntesis de neurotransmisores
Biosíntesis de nucleótidos
Desintoxicación
Reducción del glutatión oxidado
Citocromo P450 monooxigenasas

$$\text{Glucosa 6-fosfato} + 2\ NADP^+ + H_2O \longrightarrow \text{ribulosa 5-fosfato} + 2\ NADPH + 2\ H^+ + CO_2$$

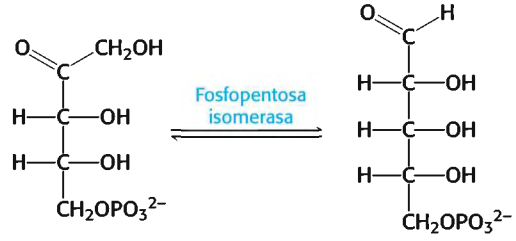
Posteriormente, la ribulosa 5-fosfato se convierte en ribosa 5-fosfato, un precursor del RNA y del DNA, así como del ATP, NADH, FAD y la coenzima A. En la fase no oxidativa, la ruta cataliza la interconversión de azúcares con tres, cuatro, cinco, seis y siete átomos de carbono mediante una serie de reacciones no oxidativas. El exceso de azúcares de cinco átomos de carbono se puede convertir en intermediarios de la ruta glucolítica. Todas estas reacciones tienen lugar en el citoplasma.

Durante la conversión de glucosa 6-fosfato en ribulosa 5-fosfato se generan dos moléculas de NADPH

La fase oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato comienza con la oxidación del carbono 1 de la glucosa 6-fosfato, una reacción catalizada por la *glucosa 6-fosfato deshidrogenasa* (Figura 26.2, p. 454). Esta enzima es muy específica para el $NADP^+$ y lo reduce a NADPH al tiempo que deshidrogena la glucosa 6-fosfato. El producto de la deshidrogenación es la *6-fosfoglucono-δ-lactona*, que tiene un enlace éster entre el grupo carboxilo del C-1 y el grupo hidroxilo del C-5. El siguiente paso consiste en la hidrólisis de la 6-fosfoglucono-δ-lactona mediante una *lactonasa* específica para generar *6-fosfogluconato*. A continuación, este azúcar de seis átomos de carbono se descarboxila oxidativamente por medio de la *6-fosfogluconato deshidrogenasa* produciendo *ribulosa 5-fosfato*. De nuevo, el aceptor de electrones es el $NADP^+$. Esta reacción completa la fase oxidativa.

La ruta de las pentosas fosfato y la glucólisis están conectadas mediante la transcetolasa y la transaldolasa

Las reacciones precedentes generan dos moléculas de NADPH y una molécula de ribulosa 5-fosfato por cada molécula de glucosa 6-fosfato oxidada. Posteriormente, la ribulosa 5-fosfato se isomeriza a ribosa 5-fosfato por medio de la fosfopentosa isomerasa.



Ribulosa 5-fosfato **Ribosa 5-fosfato**

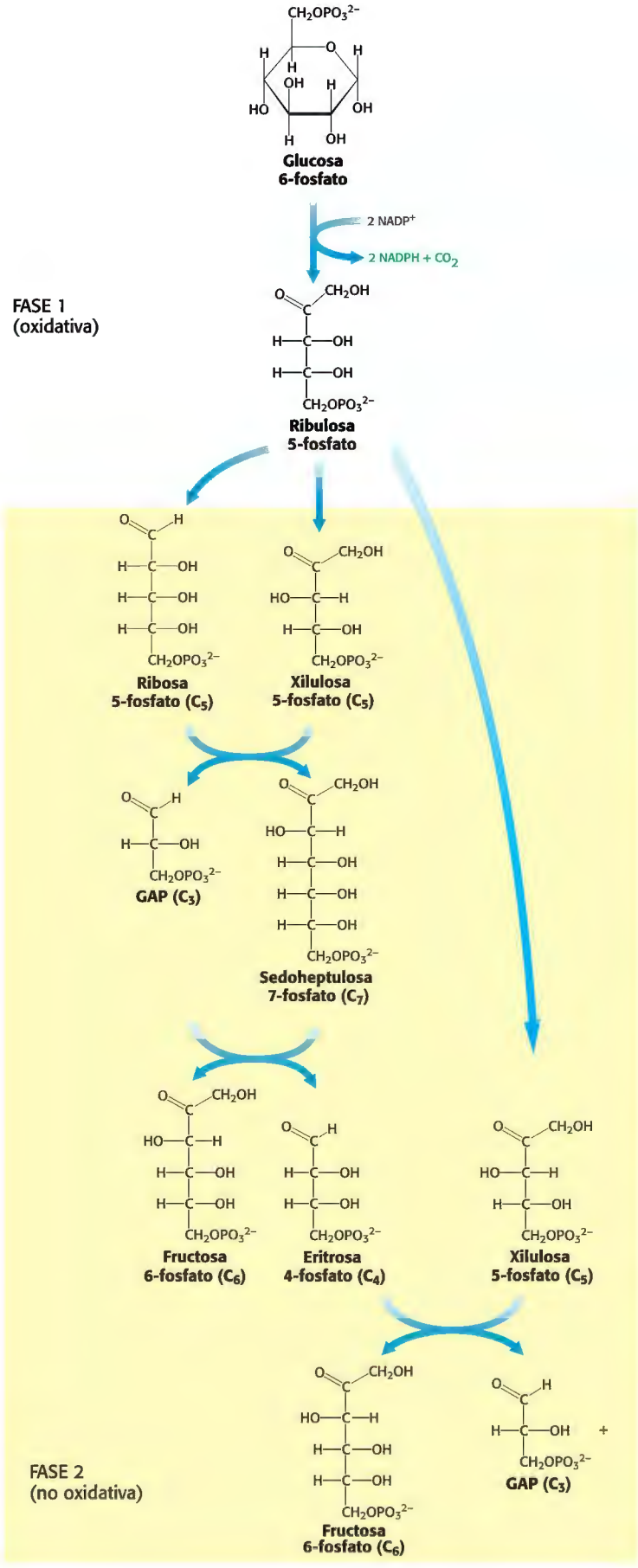


Figura 26.1 La ruta de las pentosas fosfato. La ruta consta de (1) una fase oxidativa que genera NADPH y (2) una fase no oxidativa en la que se producen interconversiones entre los azúcares fosforilados.

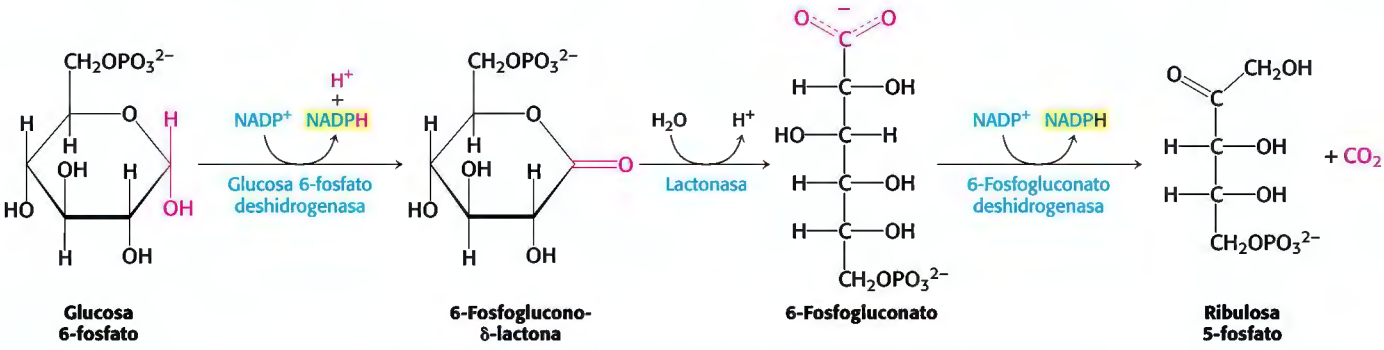
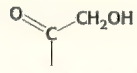
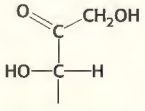


Figura 26.2 La fase oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato. La glucosa 6-fosfato se oxida a 6-fosfoglucono-δ-lactona generando una molécula de NADPH. La lactona producida se hidroliza a 6-fosfogluconato, que se descarboxila oxidativamente a ribulosa 5-fosfato generando una segunda molécula de NADPH.



Transferido por la transcetolasa



Transferido por la transaldolasa

Aunque la ribosa 5-fosfato es un precursor de muchas biomoléculas, en muchas células, la necesidad de NADPH para la biosíntesis reductora es mucho mayor que la necesidad de ribosa 5-fosfato para su incorporación a nucleótidos y ácidos nucleicos. Por ejemplo, el tejido adiposo, el hígado y las glándulas mamarias necesitan grandes cantidades de NADPH para la síntesis de ácidos grasos (Capítulo 28). En estos casos, la ribosa 5-fosfato se convierte en gliceraldehído 3-fosfato y fructosa 6-fosfato gracias a la *transcetolasa* y a la *transaldolasa*. *Estas enzimas crean un enlace reversible entre la ruta de las pentosas fosfato y la glucólisis, catalizando estas tres reacciones sucesivas* (ver la Figura 26.1).

$$C_5 + C_5 \xrightarrow{\text{Transcetolasa}} C_3 + C_7$$

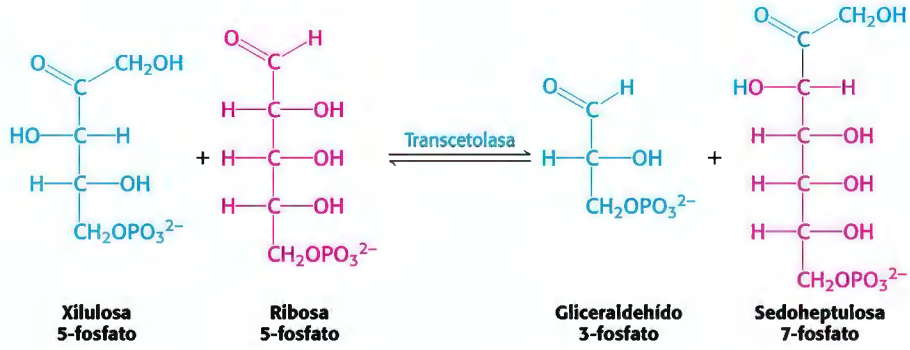
$$C_3 + C_7 \xrightarrow{\text{Transcetolasa}} C_6 + C_4$$

$$C_4 + C_5 \xrightarrow{\text{Transcetolasa}} C_6 + C_3$$

El resultado neto de estas reacciones es la *formación de dos hexosas y una triosa a partir de tres pentosas*:

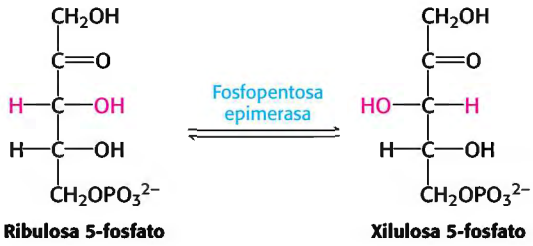
$$3\ C_5 \rightleftharpoons 2\ C_6 + C_3$$

La primera de las tres reacciones que conectan la ruta de las pentosas fosfato con la glucólisis es la formación de *gliceraldehído 3-fosfato* y *sedoheptulosa 7-fosfato*, a partir de dos pentosas.

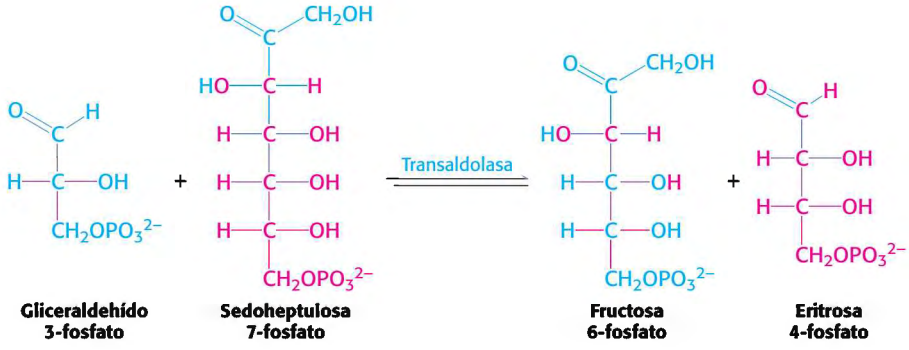


Epímeros son isómeros con múltiples centros asimétricos que se diferencian en la configuración de un único centro de asimetría.

En esta reacción, el donador de la unidad de dos átomos de carbono es la xilulosa 5-fosfato, un epímero de la ribulosa 5-fosfato. La ribulosa 5-fosfato se convierte en el epímero apropiado para la reacción de la transcetolasa gracias a la *fosfopentosa epimerasa*.

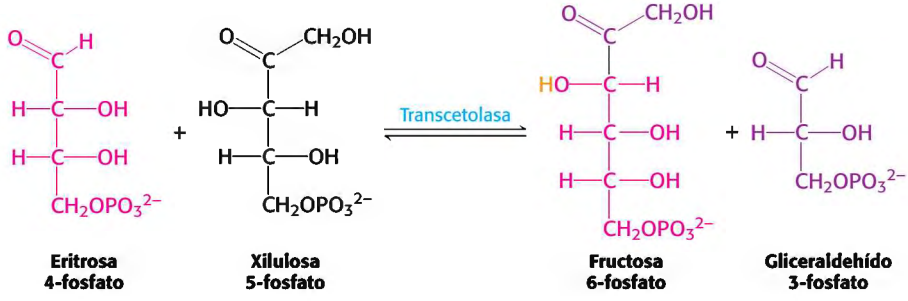


En la segunda reacción que conecta la ruta de las pentosas fosfato con la glucólisis, el gliceraldehído 3-fosfato y la sedoheptulosa 7-fosfato reaccionan formando *fructosa 6-fosfato* y *eritrosa 4-fosfato*.



Esta síntesis de un azúcar de cuatro átomos de carbono y uno de seis está catalizada por la *transaldolasa*.

En la tercera reacción, la transcetolasa cataliza la síntesis de *fructosa 6-fosfato* y *gliceraldehído 3-fosfato* a partir de eritrosa 4-fosfato y xilulosa 5-fosfato.



La suma de estas reacciones es

$$2\ \text{Xilulosa 5-fosfato} + \text{ribosa 5-fosfato} \rightleftharpoons 2\ \text{fructosa 6-fosfato} + \text{gliceraldehído 3-fosfato}$$

La xilulosa 5-fosfato se puede formar a partir de ribosa 5-fosfato mediante la acción secuencial de la fosfopentosa isomerasa y la fosfopentosa epimerasa y, por tanto, la reacción global cuando se parte de la ribosa 5-fosfato es

$$3\ \text{Ribosa 5-fosfato} \rightleftharpoons 2\ \text{fructosa 6-fosfato} + \text{gliceraldehído 3-fosfato}$$

De este modo, *el exceso de ribosa 5-fosfato que se forma durante la ruta de las pentosas fosfato se puede convertir completamente en intermediarios de la glucólisis*. Además, mediante esta ruta, toda la ribosa ingerida en la dieta se puede convertir en intermediarios glucolíticos. Evidentemente, los esqueletos carbonados de los azúcares se pueden reorganizar de muchas maneras para satisfacer las necesidades fisiológicas (Figura 26.2).

? PREGUNTA RÁPIDA 1 Describa cómo se conectan la glucólisis y la ruta de las pentosas fosfato por medio de la transaldolasa y la transcetolasa.

Tabla 26.2 La ruta de las pentosas fosfato

Reacción	Enzima
Fase oxidativa	
Glucosa 6-fosfato + $NADP^+$ ⟶ 6-fosfoglucono-δ-lactona + NADPH + H^+	Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa
6-Fosfoglucono-δ-lactona + H_2O ⟶ 6-fosfogluconato + H^+	Lactonasa
6-Fosfogluconato + $NADP^+$ ⟶ ribulosa 5-fosfato + CO_2 + NADPH	6-Fosfogluconato deshidrogenasa
Fase no oxidativa	
Ribulosa 5-fosfato ⇌ ribosa 5-fosfato	Fosfopentosa isomerasa
Ribulosa 5-fosfato ⇌ xilulosa 5-fosfato	Fosfopentosa epimerasa
Xilulosa 5-fosfato + ribosa 5-fosfato ⇌ sedoheptulosa 7-fosfato + gliceraldehído 3-fosfato	Transcetolasa
Sedoheptulosa 7-fosfato + gliceraldehído 3-fosfato ⇌ fructosa 6-fosfato + eritrosa 4-fosfato	Transaldolasa
Xilulosa 5-fosfato + eritrosa 4-fosfato ⇌ fructosa 6-fosfato + gliceraldehído 3-fosfato	Transcetolasa

✓ 7 Identificar la enzima que controla la ruta de las pentosas fosfato.

26.2 El metabolismo en su contexto: la glucólisis y la ruta de las pentosas fosfato se controlan de forma coordinada

La glucosa 6-fosfato se metaboliza tanto por la ruta glucolítica como por la ruta de las pentosas fosfato. ¿Cómo se canaliza el metabolismo de este importante metabolito entre estas dos rutas metabólicas? La concentración citoplasmática de $NADP^+$ desempeña un papel crucial a la hora de determinar el destino de la glucosa 6-fosfato.

La velocidad de la ruta de las pentosas fosfato se controla mediante el nivel de $NADP^+$

La primera reacción de la rama oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato, la deshidrogenación de la glucosa 6-fosfato por parte de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, es prácticamente irreversible. De hecho, en condiciones fisiológicas, esta reacción es la que determina la velocidad y sirve como punto de control. El factor regulador más importante es la concentración de $NADP^+$, el aceptor de electrones en los pasos de oxidación de la ruta de las pentosas fosfato. Cuando hay un exceso de NADPH, la cantidad de $NADP^+$ en las células es pequeña. A concentraciones bajas de $NADP^+$, la actividad de las tres enzimas que participan en el paso de oxidación es reducida porque hay menos agentes oxidantes que impulsen la reacción hacia delante. El efecto inhibidor de los niveles reducidos de $NADP^+$ se intensifica por el hecho de que el NADPH, que en el citoplasma del hígado se encuentra a una concentración 70 veces mayor que el $NADP^+$, compite con el $NADP^+$ a la hora de unirse a la enzima, evitando así la oxidación de la glucosa 6-fosfato. El efecto del nivel de $NADP^+$ sobre la velocidad de la fase oxidativa garantiza que la generación de NADPH esté estrechamente acoplada a su uso en las biosíntesis reductoras. La fase no oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato está controlada fundamentalmente por la disponibilidad de los sustratos.

El destino de la glucosa 6-fosfato depende de las necesidades de NADPH, ribosa 5-fosfato y ATP

Si analizamos el metabolismo de la glucosa 6-fosfato en cuatro situaciones metabólicas distintas (**Figura 26.3**), podemos hacernos una idea de la gran versatilidad de la ruta de las pentosas fosfato (similar a la de una navaja suiza), así como de sus interacciones con la glucólisis y la gluconeogénesis.

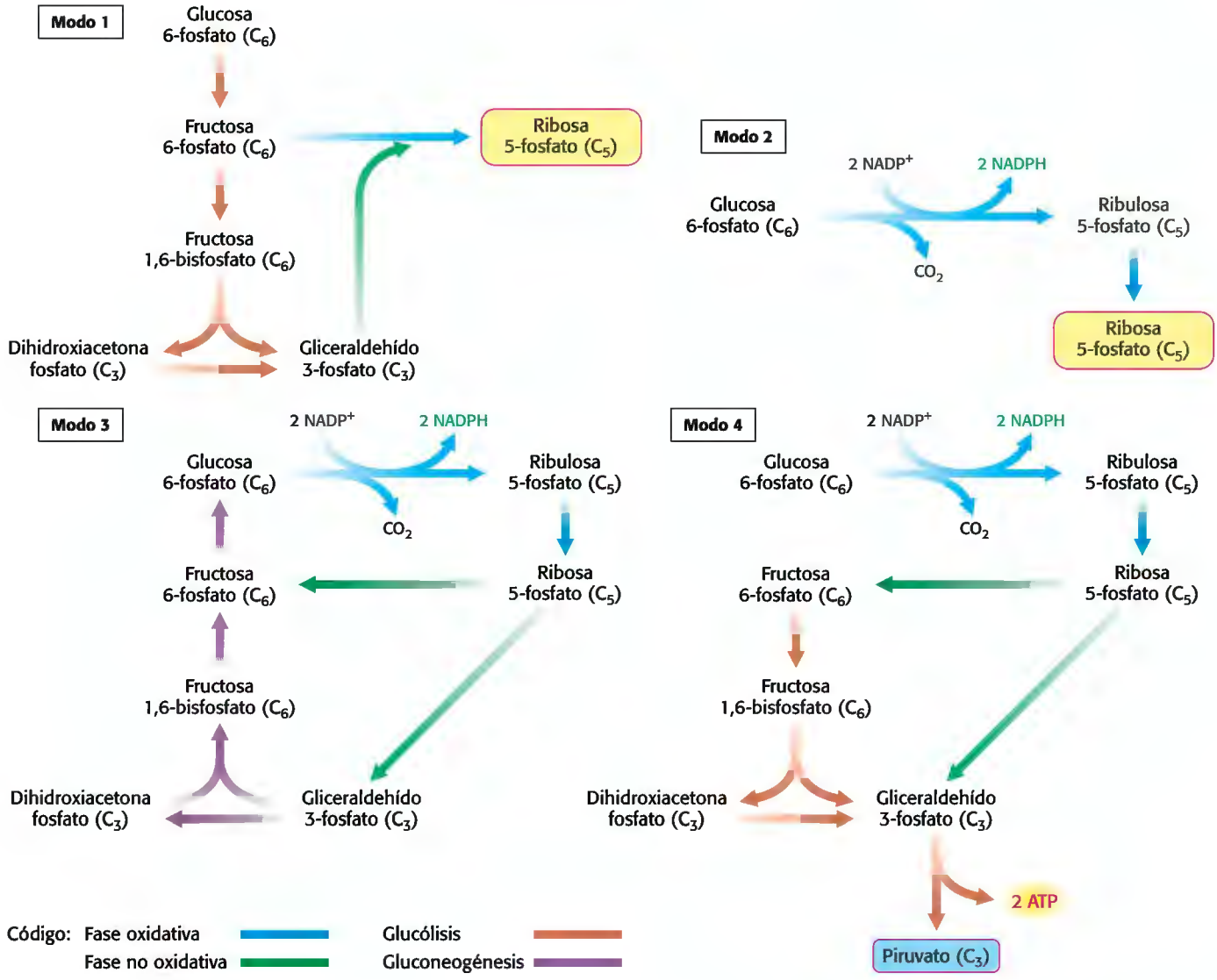


Figura 26.3 Las cuatro modalidades de la ruta de las pentosas fosfato. Los productos principales se muestran coloreados.

Modo 1. *La necesidad de ribosa 5-fosfato es mayor que la de NADPH.* Por ejemplo, las células que se están dividiendo rápidamente necesitan ribosa 5-fosfato para sintetizar los nucleótidos precursores del DNA. La mayor parte de la glucosa 6-fosfato se convierte en fructosa 6-fosfato y gliceraldehído 3-fosfato mediante la ruta glucolítica. Después, la fase no oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato convierte dos moléculas de fructosa 6-fosfato y una molécula de gliceraldehído 3-fosfato en tres moléculas de ribosa 5-fosfato mediante reacciones inversas a las descritas anteriormente. La estequiometría del modo 1 es

$$5 \text{ Glucosa 6-fosfato} + \text{ATP} \longrightarrow 6 \text{ ribosa 5-fosfato} + \text{ADP} + H^+$$

Modo 2. *Las necesidades de NADPH y ribosa 5-fosfato están equilibradas.* En estas condiciones, la reacción predominante es la formación de dos moléculas de NADPH y una molécula de ribosa 5-fosfato (generada por la isomerización de la ribulosa 5-fosfato) a partir de una molécula de glucosa 6-fosfato durante la fase oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato. Es decir, básicamente, la ruta de las pentosas fosfato se detiene al final de la fase oxidativa. La estequiometría del modo 2 es

$$\text{Glucosa 6-fosfato} + 2\,NADP^+ + H_2O \longrightarrow$$
$$\text{ribosa 5-fosfato} + 2\,NADPH + 2\,H^+ + CO_2$$

Tabla 26.3 Tejidos donde la ruta de las pentosas fosfato está activa

Tejido	Función
Glándulas suprarrenales	Síntesis de esteroides
Hígado	Síntesis de ácidos grasos y colesterol
Testículos	Síntesis de esteroides
Tejido adiposo	Síntesis de ácidos grasos
Ovarios	Síntesis de esteroides
Glándulas mamarias	Síntesis de ácidos grasos
Glóbulos rojos	Mantenimiento de la forma reducida del glutatión

Modo 3. *La necesidad de NADPH es mayor que la de ribosa 5-fosfato.* Por ejemplo, el hígado necesita un elevado nivel de NADPH para la síntesis de ácidos grasos (Tabla 26.3). En este caso, la glucosa 6-fosfato se oxida completamente a CO_2. En esta situación hay tres grupos de reacciones activos. En primer lugar, la fase oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato forma dos moléculas de NADPH y una molécula de ribosa 5-fosfato. A continuación, la ribosa 5-fosfato se convierte en fructosa 6-fosfato y gliceraldehído 3-fosfato mediante la fase no oxidativa. Por último, se vuelve a sintetizar glucosa 6-fosfato a partir de fructosa 6-fosfato y gliceraldehído 3-fosfato mediante la ruta de la gluconeogénesis. Básicamente, la ribosa 5-fosfato producida por la ruta de las pentosas fosfato se recicla a glucosa 6-fosfato gracias a la fase no oxidativa de la ruta y a algunas enzimas de la ruta gluconeogénica. Las estequiometrías de estos tres conjuntos de reacciones son

$$6\ \text{Glucosa 6-fosfato} + 12\ NADP^+ + 6\ H_2O \longrightarrow 6\ \text{ribosa 5-fosfato} + 12\ NADPH + 12\ H^+ + 6\ CO_2$$

$$6\ \text{Ribosa 5-fosfato} \longrightarrow 4\ \text{fructosa 6-fosfato} + 2\ \text{gliceraldehído 3-fosfato}$$

$$4\ \text{Fructosa 6-fosfato} + 2\ \text{gliceraldehído 3-fosfato} + H_2O \longrightarrow 5\ \text{glucosa 6-fosfato} + P_i$$

La suma de las reacciones en el modo 3 es

$$\text{Glucosa 6-fosfato} + 12\ NADP^+ + 7\ H_2O \longrightarrow 6\ CO_2 + 12\ NADPH + 12\ H^+ + P_i$$

Por tanto, *el equivalente a una molécula de glucosa 6-fosfato se puede oxidar completamente a CO_2 al tiempo que se genera NADPH.*

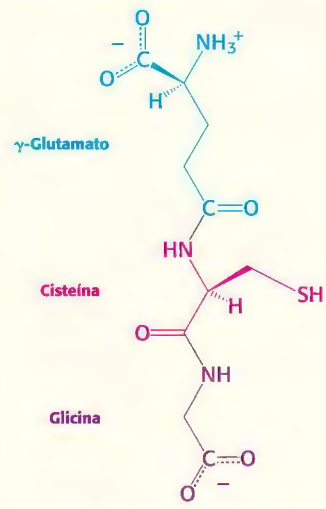
Modo 4. *Se necesita NADPH y ATP.* Alternativamente, cuando se necesita poder reductor y ATP, la ribosa 5-fosfato formada durante la fase oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato se puede convertir en piruvato. La fructosa 6-fosfato y el gliceraldehído 3-fosfato procedentes de las reacciones no oxidativas de la ruta de las pentosas fosfato se incorporan a la ruta glucolítica en lugar de reconvertirse en glucosa 6-fosfato. De esta forma *se generan, al mismo tiempo, ATP y NADPH, y cinco de los seis átomos de carbono de la glucosa 6-fosfato aparecen formando parte del piruvato.*

$$3\ \text{Glucosa 6-fosfato} + 6\ NADP^+ + 5\ NAD^+ + 5\ P_i + 8\ ADP \longrightarrow 5\ \text{piruvato} + 3\ CO_2 + 6\ NADPH + 5\ NADH + 8\ ATP + 2\ H_2O + 8\ H^+$$

El piruvato formado mediante estas reacciones se puede oxidar para generar más ATP o se puede utilizar como material de construcción en diversas rutas biosintéticas.

26.3 La glucosa 6-fosfato deshidrogenasa disminuye el estrés oxidativo

El NADPH generado por la ruta de las pentosas fosfato desempeña un papel decisivo a la hora de proteger a las células de las especies reactivas del oxígeno (ROS). Las especies reactivas del oxígeno generadas durante el metabolismo oxidativo provocan daños en todo tipo de macromoléculas y, en última instancia, pueden llegar a causar la muerte celular. De hecho, las ROS están implicadas en una serie de enfermedades humanas (p. 363). El *glutatión* reducido (GSH), un tripéptido con un grupo sulfhidrilo libre, combate el estrés oxidativo reduciendo las ROS a formas inocuas. Una vez cumplida su tarea, el glutatión se encuentra en su forma oxidada (GSSG) y se tiene que reducir para regenerar el GSH. El poder reductor lo aporta el NADPH generado en la ruta de las pentosas fosfato gracias a la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa. De hecho, las células con niveles reducidos de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa son especialmente sensibles al estrés oxidativo. Este estrés es más intenso en los glóbulos rojos porque, al carecer de mitocondrias, no disponen de una forma alternativa de generar poder reductor.



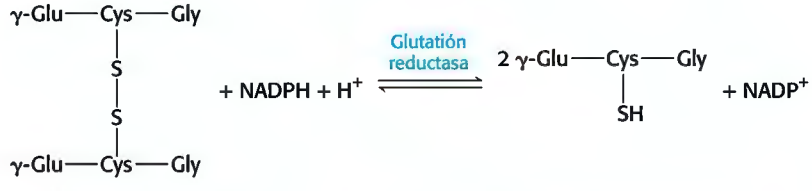
Glutatión (reducido)
(γ-Glutamilcisteinilglicina)

Aspecto clínico

La insuficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa provoca una anemia hemolítica causada por medicamentos

La importancia de la ruta de las pentosas fosfato se pone de manifiesto en la respuesta anómala de la gente ante determinados fármacos. Por ejemplo, la pamaquina, un fármaco contra la malaria desarrollado en 1926, estaba relacionada con la aparición de misteriosas y graves dolencias. La mayoría de los pacientes toleraban bien el medicamento, pero unos pocos presentaban síntomas graves a los pocos días de haber iniciado la terapia. La orina se volvía negra, desarrollaban ictericia y el contenido de hemoglobina de la sangre disminuía bruscamente. En algunos casos, la destrucción masiva de los glóbulos rojos provocaba la muerte.

Treinta años después, se demostró que esta *anemia hemolítica* inducida por el medicamento se debía a una *insuficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa*, la enzima que cataliza el primer paso de la rama oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato. El resultado es la escasez de NADPH en todas las células, pero esta insuficiencia es más acusada en el caso de los glóbulos rojos. Este defecto, que se hereda ligado al cromosoma X, es la enfermedad que, con más frecuencia, da lugar a una disfunción enzimática, ya que afecta a cientos de millones de personas. El principal papel del NADPH en los glóbulos rojos consiste en reducir la forma disulfuro del glutatión a la forma sulfhidrilo. La enzima que cataliza la regeneración del glutatión reducido es la *glutatión reductasa*.



Glutatión oxidado (GSSG)

Glutatión reducido (GSH)

Los glóbulos rojos con un nivel reducido de glutatión reducido son más susceptibles a la hemolisis. ¿Cómo podemos explicar este fenómeno desde el punto de vista bioquímico? Podemos abordar esta cuestión planteando otra: ¿Por qué el fármaco contra la malaria pamaquina destruye los glóbulos rojos? La pamaquina, un glicósido de purina presente en las habas, es un agente oxidante que provoca la oxidación de los peróxidos, especies reactivas del oxígeno que pueden dañar las membranas, así como otras biomoléculas. Normalmente, los peróxidos se eliminan mediante la enzima *glutatión peroxidasa*, que utiliza el glutatión reducido como agente reductor.



Figura 26.4 Glóbulos rojos con cuerpos de Heinz. La micrografía óptica muestra glóbulos rojos obtenidos a partir de una persona con insuficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa. Las partículas oscuras, denominadas cuerpos de Heinz, presentes en el interior de las células, son agregados de proteínas desnaturalizadas que se adhieren a la membrana plasmática y se tiñen con colorantes básicos. En estas personas, los glóbulos rojos son muy propensos al daño oxidativo. [Cortesía del Dr. Stanley Schrier.]

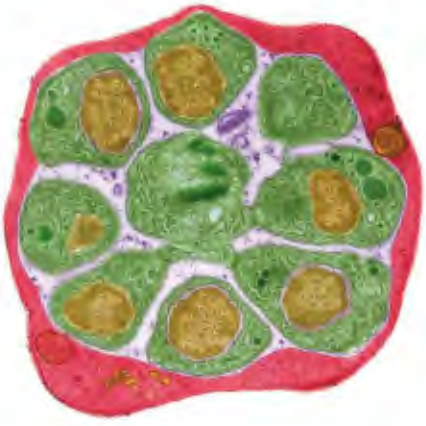


Figura 26.5 Glóbulo rojo infectado por *Plasmodium falciparum*. *Plasmodium falciparum* es el protozoo parásito que provoca la malaria. Los glóbulos rojos son un importante lugar de infección para *P. falciparum*. En la figura, los parásitos aparecen de color verde. Al crecer, el parásito consume las proteínas de los glóbulos rojos, especialmente la hemoglobina, lo que provoca la muerte celular y origina una anemia en el huésped. [Omikron/Photo Researchers.]

$$2\ GSH + ROOH \xrightleftharpoons[\text{peroxidasa}]{\text{Glutatión}} GSSG + H_2O + ROH$$

En ausencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, los peróxidos continúan dañando las membranas porque no se está produciendo NADPH para regenerar el glutatión.

El glutatión reducido también es esencial para el mantenimiento de la estructura normal de los glóbulos rojos, ya que preserva la estructura de la hemoglobina. La forma reducida del glutatión actúa como un amortiguador de grupos sulfhidrilo que mantiene los grupos sulfhidrilo de los residuos de hemoglobina en la forma reducida. Cuando el nivel de glutatión reducido no es el adecuado, los grupos sulfhidrilo de la hemoglobina no pueden seguir estando en la forma reducida. Las moléculas de hemoglobina se entrecruzan entre sí formando agregados sobre la superficie celular que se conocen con el nombre de *cuerpos de Heinz* (**Figura 26.4**). Las membranas dañadas por los cuerpos de Heinz y las especies reactivas del oxígeno se deforman y aumenta la probabilidad de lisis celular. Por tanto, la respuesta a nuestra pregunta es que la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa es necesaria para mantener los niveles de glutatión reducido capaces de proteger contra el estrés oxidativo. Sin embargo, en ausencia de estrés oxidativo, la insuficiencia es bastante beneficiosa. La sensibilidad hacia la pamaquina de las personas que presentan esta insuficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa también demuestra claramente que *las reacciones atípicas ante los medicamentos pueden tener una base genética.* ■

Aspecto biológico

En determinadas circunstancias, una insuficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa confiere una ventaja evolutiva

La variante más frecuente de la insuficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa se caracteriza porque su actividad enzimática en los glóbulos rojos es 10 veces menor y su incidencia entre la población americana de origen africano es del 11%. Esta elevada frecuencia sugiere que, en determinadas condiciones ambientales, la insuficiencia puede resultar ventajosa. De hecho, *la insuficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa protege contra la malaria causada por Plasmodium falciparum* (**Figura 26.5**). Los parásitos que provocan esta enfermedad necesitan NADPH para su crecimiento óptimo. Por tanto, la insuficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa es un mecanismo de protección contra la malaria, lo que explica su elevada incidencia en las regiones del mundo infestadas por la malaria. Vemos aquí, de nuevo, la interacción entre la herencia y el entorno a la hora de manifestarse la enfermedad. ■

Resumen

26.1 La ruta de las pentosas fosfato genera NADPH y azúcares de cinco átomos de carbono

La ruta de las pentosas fosfato, presente en todos los organismos, genera NADPH y ribosa 5-fosfato en el citoplasma. El NADPH se utiliza en las biosíntesis reductoras, mientras que la ribosa 5-fosfato se utiliza en la síntesis de RNA, DNA y nucleótidos que actúan como coenzimas. La ruta de las pentosas fosfato comienza con la deshidrogenación de la glucosa 6-fosfato para formar una lactona que se hidroliza formando 6-fosfogluconato y, posteriormente, se descarboxila oxidativamente para generar ribulosa 5-fosfato. En ambas oxidaciones, el aceptor de electrones es el $NADP^+$. A continuación, la ribulosa 5-fosfato (una cetosa) se isomeriza a ribosa 5-fosfato (una aldosa). Cuando las células necesitan mucho más NADPH que ribosa 5-fosfato, se activa en las células una modalidad distinta de la ruta. En estas condiciones, la ribosa 5-fosfato se convierte en gliceraldehído 3-fosfato y fructosa 6-fosfato, gracias a la transcetolasa y a la transaldolasa. Estas dos enzimas crean una conexión reversible entre la ruta de las pentosas fosfato y la gluconeogénesis. La xilulosa 5-fosfato, sedoheptulosa 7-fosfato y eritrosa 4-fosfato son intermediarios de estas interconversiones. Así, se pueden generar 12 moléculas de NADPH por cada molécula de glucosa 6-fosfato que se oxida por completo a CO_2.

26.2 El metabolismo en su contexto: la glucólisis y la ruta de las pentosas fosfato se controlan de forma coordinada

Cuando se tiene que sintetizar mucha más ribosa 5-fosfato que NADPH, solo la rama no oxidativa de esta ruta mantiene una actividad significativa. En estas condiciones, la fructosa 6-fosfato y el gliceraldehído 3-fosfato (formados por la ruta glucolítica) se convierten en ribosa 5-fosfato sin que se produzca NADPH. Alternativamente, la ribosa 5-fosfato formada por la rama oxidativa se puede convertir en piruvato vía fructosa 6-fosfato y gliceraldehído 3-fosfato. Mediante esta modalidad, se generan ATP y NADPH, y cinco de los seis átomos de carbono de la glucosa 6-fosfato aparecen formando parte del piruvato. La interacción entre la glucólisis y la ruta de las pentosas fosfato permite que los niveles de NADPH, ATP y materiales de construcción como la ribosa 5-fosfato y el piruvato, se ajusten continuamente a las necesidades celulares.

26.3 La glucosa 6-fosfato deshidrogenasa disminuye el estrés oxidativo

El NADPH generado por la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa mantiene el nivel de glutatión reducido necesario para combatir el estrés oxidativo y mantener el entorno reductor apropiado en el interior de la célula. Las células con actividad glucosa 6-fosfato deshidrogenasa reducida son especialmente sensibles al estrés oxidativo.

Términos clave

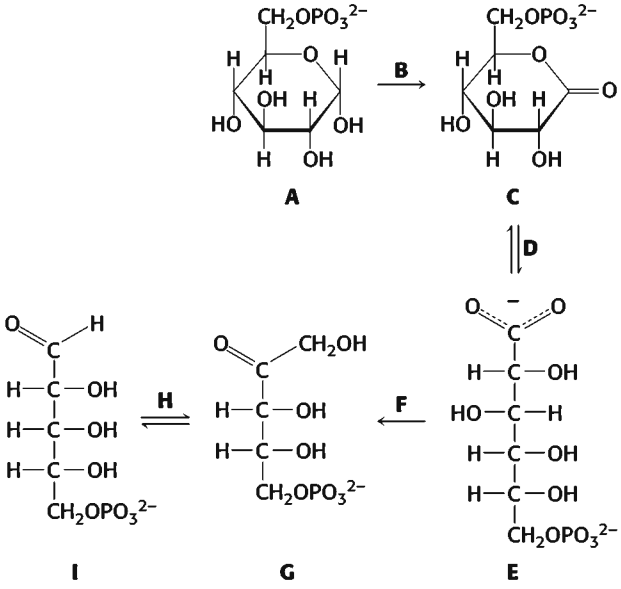
ruta de las pentosas fosfato (p. 452)
glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (p. 452)
glutatión (p. 459)
glutatión reductasa (p. 459)
glutatión peroxidasa (p. 459)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Las enzimas catalizan la transformación del azúcar de cinco átomos de carbono formado durante la fase oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato en fructosa 6-fosfato y gliceraldehído 3-fosfato, intermediarios de la glucólisis (y de la gluconeogénesis).

Problemas

1. *Taxonomía bioquímica.*



(a) Identifique la 6-fosfonoglucono-δ-lactona. _____
(b) ¿Qué reacciones producen NADPH? _____
(c) Identifique la ribulosa 5-fosfato. _____
(d) ¿Qué reacción genera CO_2? _____
(e) Identifique el 6-fosfogluconato. _____
(f) ¿Qué reacción está catalizada por la fosfopentosa isomerasa? _____
(g) Identifique la ribosa 5-fosfato. _____
(h) ¿Qué reacción está catalizada por la lactonasa? _____
(i) Identifique la glucosa 6-fosfato. _____
(j) ¿Qué reacción está catalizada por la 6-fosfogluconato deshidrogenasa? _____
(k) ¿Qué reacción está catalizada por la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa? _____

2. *Cambio de fase.* La ruta de las pentosas fosfato se compone de dos fases distintas. ¿Cuáles son y qué función desempeñan? ✓ 6

3. *Diseñada para controlar o gobernar.* ¿Cuál es la enzima reguladora clave de la ruta de las pentosas fosfato? ¿Cuál es su señal reguladora más importante? ✓ 7

4. *Sin respiración.* Normalmente, la glucosa se oxida completamente a CO_2 en las mitocondrias. ¿En qué circunstancias se puede oxidar la glucosa completamente a CO_2 en el citoplasma? ✓ 6

5. *Vigile su dieta, doctor.* En cierta ocasión, el célebre psiquiatra Hannibal Lecter comentó a la agente Starling del FBI que le encantaba el hígado con habas y un buen Chianti. ¿Por qué esta dieta podría resultar peligrosa para algunas personas? ✓ 7

6. *¿Vísceras o vísperas?* La carne del hígado y de otros órganos contiene gran cantidad de ácidos nucleicos. En el transcurso de la digestión, el RNA se hidroliza, entre otros compuestos químicos, a ribosa. Explique cómo se puede utilizar la ribosa como combustible. ✓ 6

7. *Se necesita ATP.* El metabolismo de la glucosa 6-fosfato a ribosa 5-fosfato por la acción conjunta de la ruta de las pentosas fosfato y la glucólisis se puede resumir mediante la siguiente ecuación.

$$5 \text{ Glucosa 6-fosfato} + \text{ATP} \longrightarrow 6 \text{ ribosa 5-fosfato} + \text{ADP}$$

¿Qué reacción necesita el ATP?

8. *Siguiendo el rastro de la glucosa.* Se añade glucosa marcada con ^{14}C en el C-6 a una disolución que contiene las enzimas y cofactores de la fase oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato. ¿Qué destino le espera al marcaje radiactivo?

9. *Sin redundancias.* ¿Por qué la insuficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa se manifiesta frecuentemente en forma de anemia? ✓ 7

Problemas de integración de capítulos

10. *A través del espejo.* Explique por qué el ciclo de Calvin y la ruta de las pentosas fosfato casi son imágenes especulares entre sí.

11. *Descarboxilaciones recurrentes.* ¿Qué reacción del ciclo del ácido cítrico es la que más se parece a la descarboxilación oxidativa del 6-fosfogluconato a ribulosa 5-fosfato?

Problemas para atrevidos

12. *Haz lo que puedas.* Los glóbulos rojos carecen de mitocondrias. Estas células metabolizan la glucosa a lactato, pero también generan CO_2. ¿Con qué fin se produce lactato? ¿Cómo pueden los glóbulos rojos generar CO_2 si carecen de mitocondrias? ✓ 6

13. *Mezclando los carbonos.* Se añade ribosa 5-fosfato marcada con ^{14}C en el C-1 a una disolución que contiene transcetolasa, transaldolasa, fosfopentosa epimerasa, fosfopentosa isomerasa y gliceraldehído 3-fosfato. ¿Cómo se distribuye el marcaje radiactivo en la eritrosa 4-fosfato y en la fructosa 6-fosfato que se forman en esta mezcla de reacción? ✓ 6

14. *Estequiometrías sintéticas.* ¿Cuál es la estequiometría de la síntesis de (a) ribosa 5-fosfato a partir de glucosa 6-fosfato sin que se genere al mismo tiempo NADPH? ¿Y de la síntesis de (b) NADPH a partir de glucosa 6-fosfato sin que se generen al mismo tiempo pentosas? ✓ 6

15. *Poder reductor.* ¿Qué proporción $NADPH/NADP^+$ se necesita para mantener [GSH] = 10 mM y [GSSG] = 1 mM? Utilice los potenciales redox mostrados en la Tabla 20.1.

16. *Recogiendo carbonos.* Los experimentos con marcadores radiactivos pueden proporcionar una estimación de cuánta glucosa 6-fosfato se metaboliza por medio de la ruta de las pentosas fosfato y cuánta se metaboliza por medio de la acción conjunta de la glucólisis y el ciclo del ácido cítrico. Suponga que tiene muestras de dos tejidos distintos, así como dos muestras de glucosa marcada radiactivamente, una marcada con ^{14}C en el C-1 y otra con ^{14}C en el C-6. Diseñe un experimento que le permita determinar la actividad relativa del metabolismo aeróbico de la glucosa en comparación con el metabolismo a través de la ruta de las pentosas fosfato. ✓ 6

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo



Capítulo 27: Degradación de los ácidos grasos



Capítulo 28: Síntesis de los ácidos grasos



Capítulo 29: Síntesis de lípidos

SECCIÓN 12

Metabolismo de los ácidos grasos y de los lípidos

Algunos pájaros pueden volar miles de kilómetros sobre el agua sin parar a comer. Los osos pueden hibernar durante meses sin necesidad de despertarse para buscar comida. Las interfaces permiten la existencia de células y, por extensión, de los organismos. Todo ello es posible gracias a una clase de moléculas fundamental: los lípidos. Ya hemos visto que los lípidos pueden ser una forma de almacenamiento de energía (Capítulo 11) y que forman parte de las membranas (Capítulo 12). La energía se almacena en forma de triacilgliceroles, moléculas formadas por la esterificación de una molécula de glicerol con tres ácidos grasos. Cuando se necesita energía, se liberan los ácidos grasos y se oxidan para generar ATP. Cuando hay combustible en abundancia, se sintetizan ácidos grasos, se incorporan a los triacilgliceroles y se almacenan en el tejido adiposo.

Los triacilgliceroles son los combustibles más eficientes, ya que están más reducidos que los carbohidratos. Sin embargo, esta mayor eficiencia energética se consigue a costa de versatilidad bioquímica. A diferencia del metabolismo de los carbohidratos, para producir ATP, el metabolismo de los lípidos requiere la presencia de oxígeno molecular.

Los lípidos no solo son importantes como moléculas combustible sino que también desempeñan un papel estructural. Los lípidos de membrana más habituales son los fosfolípidos, los glicolípidos y el colesterol. Un fosfolípido se construye sobre un esqueleto de glicerol o de esfingosina. Estos lípidos, además de los ácidos grasos, contienen un grupo fosforilo y un alcohol. Los lípidos basados en la esfingosina contienen, además, carbohidratos y constituyen los glicolípidos. El colesterol es otro lípido de membrana fundamental. El colesterol no contiene ácidos grasos sino que se sintetiza a partir de un núcleo esteroideo. El colesterol es decisivo para la estructura y función de las membranas y es, además, un precursor para la síntesis de hormonas esteroideas. Los triacilgliceroles y el colesterol se transportan de un lugar a otro del organismo por la sangre, en forma de partículas de lipoproteína.

En el Capítulo 27, veremos cómo se metabolizan los triacilgliceroles para generar ácidos grasos y cómo se degradan los ácidos grasos mediante un proceso denominado β-oxidación que, en última instancia, da lugar a la síntesis de gran cantidad de ATP. En el Capítulo 28, estudiaremos cómo se sintetizan los ácidos grasos y cómo se coordinan su síntesis y su degradación. En el capítulo que cierra esta sección, analizaremos la síntesis y el transporte de lípidos, prestando especial atención a la síntesis de colesterol y a su regulación.

✓ Al final de esta sección, usted debería ser capaz de:

- ✓ 1 Identificar los pasos que se repiten durante la degradación de los ácidos grasos.
- ✓ 2 Describir los cuerpos cetónicos y su papel en el metabolismo.
- ✓ 3 Explicar cómo se sintetizan los ácidos grasos.
- ✓ 4 Explicar cómo se regula el metabolismo de los ácidos grasos.
- ✓ 5 Describir la relación que hay entre la síntesis de triacilgliceroles y la síntesis de fosfolípidos.
- ✓ 6 Enumerar los pasos reguladores en el control de la síntesis de colesterol.

CAPÍTULO 27

Degradación de los ácidos grasos

27.1 Los ácidos grasos se metabolizan en tres etapas

27.2 La degradación de ácidos grasos insaturados y de ácidos grasos de cadena impar requiere pasos adicionales

27.3 Los cuerpos cetónicos son otra fuente de combustible procedente de las grasas

27.4 **El metabolismo en su contexto: el metabolismo de los ácidos grasos es una fuente de conocimiento sobre diversos estados fisiológicos**



Muchos mamíferos, como este ratón doméstico, hibernan durante los largos meses del invierno. Aunque su metabolismo se ralentiza durante la hibernación, las necesidades energéticas del animal tienen que seguir siendo atendidas. La degradación de los ácidos grasos es una fuente de energía fundamental para sastifacer esta demanda. [Juniors Bildarchiv/AgeFotostock.]

Los ácidos grasos se almacenan en el tejido adiposo en forma de *triacilgliceroles*. Este tejido, rico en combustible, se distribuye por todo el cuerpo, especialmente por debajo de la piel (la grasa subcutánea) y rodeando los órganos internos (grasa visceral). En este capítulo, estudiaremos primero cómo se movilizan los triacilgliceroles para que se puedan utilizar mediante lipolisis, la descomposición del triacilglicerol en ácidos grasos y glicerol. A continuación, analizaremos cómo se oxidan los ácidos grasos a acetil-CoA durante el proceso de β-oxidación. También veremos la formación de cuerpos cetónicos, una fuente de combustible obtenida a partir de la grasa que es especialmente importante en periodos de ayuno. Por último, estudiaremos el papel del metabolismo de los ácidos grasos en la diabetes y en condiciones de ayuno prolongado.

✓ 1 Identificar los pasos que se repiten durante la degradación de los ácidos grasos.

27.1 Los ácidos grasos se metabolizan en tres etapas

En el Capítulo 14, vimos cómo se digieren, absorben y almacenan los triacilgliceroles ingeridos en la dieta. Ahora, estudiaremos cómo se puede acceder bioquímicamente a los triacilgliceroles almacenados. Los tejidos periféricos, como el músculo, consi-

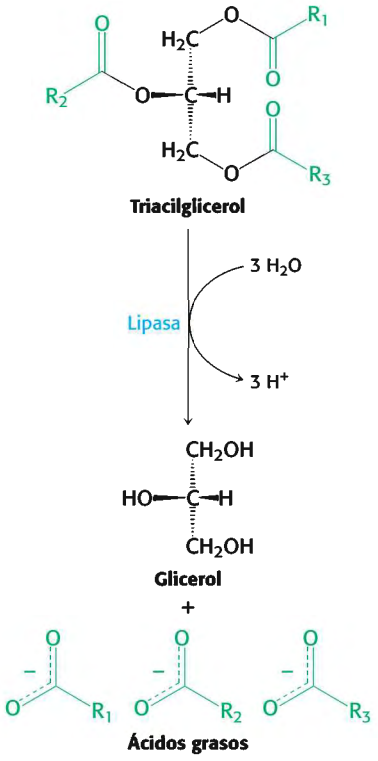


Figura 27.1 Degradación de lípidos. Los lípidos se hidrolizan mediante lipasas en tres pasos generando ácidos grasos y glicerol. Los ácidos grasos son captados por las células y utilizados como combustible. El glicerol también es absorbido por el hígado, donde puede ser metabolizado por la glucólisis o por la gluconeogénesis.

guen acceder a las reservas de energía almacenadas en forma de lípido en el tejido adiposo mediante un proceso que consta de tres etapas. En primer lugar, hay que movilizar los lípidos. Para ello, los triacilgliceroles se degradan a ácidos grasos y glicerol, que son liberados por el tejido adiposo para ser transportados a los tejidos que requieren energía (Figura 27.1). En segundo lugar, en estos tejidos, los ácidos grasos se tienen que activar y transportar hacia las mitocondrias para su degradación. En tercer lugar, los ácidos grasos se descomponen, paso a paso, formando acetil-CoA que, después, se metaboliza por medio del ciclo del ácido cítrico.

Los triacilgliceroles se hidrolizan por medio de lipasas estimuladas por hormonas

Consideremos una persona que se acaba de despertar después de dormir toda la noche y se pone a hacer ejercicio. Tras una noche de ayuno, las reservas de glucógeno están bajas, pero los lípidos se encuentran disponibles. ¿Cómo se movilizan estas reservas de lípido para que suministren combustible a los músculos y a otros tejidos?

Los triacilgliceroles se almacenen en el interior de una célula grasa (adipocito) en forma de una gotita de grasa, un compartimento intracelular rodeado de una monocapa formada por fosfolípidos y por las proteínas necesarias para el metabolismo de los ácidos grasos (ver la Figura 11.3). La movilización y la descomposición de los triacilgliceroles tienen lugar sobre la superficie de la gotita. Antes de poder utilizar las grasas como combustible, se tienen que hidrolizar los triacilgliceroles, la forma de almacenamiento, para generar ácidos grasos libres. En las condiciones fisiológicas en que se encuentra alguien que se pone a correr a primera hora de la mañana, el glucagón y la adrenalina estarán presentes. En el tejido adiposo, estas hormonas estimulan receptores 7TM que activan la adenilato ciclasa (p. 219). A continuación, el aumento en los niveles de AMP cíclico estimula la proteína quinasa A, que fosforila dos proteínas clave: la *perilipina*, una proteína asociada a las gotitas de grasa, y la *lipasa sensible a hormonas* (Figura 27.2). La fosforilación de la perilipina tiene dos efectos cruciales. En primer lugar, reestructura la gotita de grasa de modo que los triacilgliceroles estén más accesibles para su movilización. En segundo lugar, la fosforilación de la perilipina desencadena la liberación de un coactivador de la *lipasa de triglicéridos del tejido adiposo* (ATGL). Esta

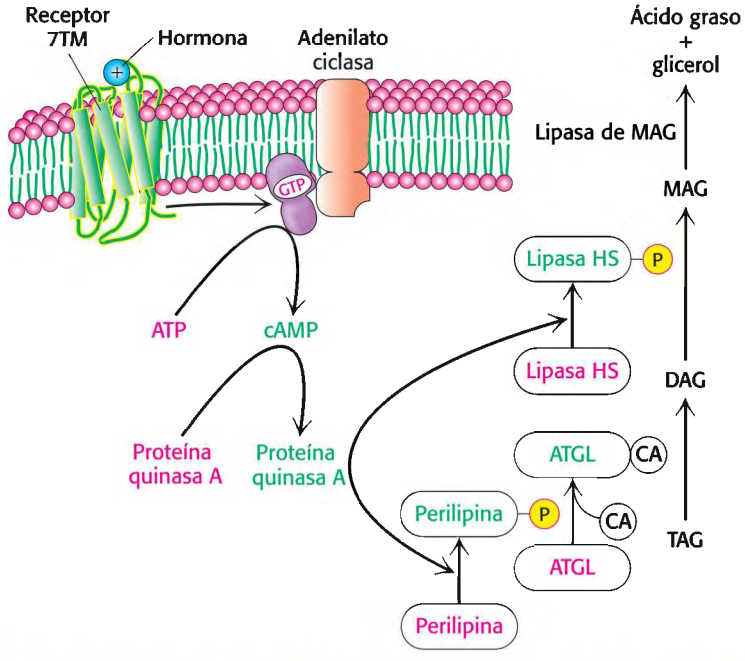
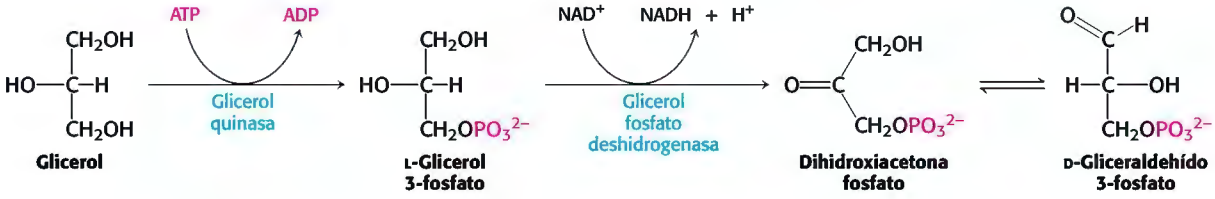


Figura 27.2 En el tejido adiposo, los triacilgliceroles se convierten en ácidos grasos libres en respuesta a señales hormonales. La fosforilación de la perilipina reestructura la gotita de lípido y libera el coactivador de la ATGL. La activación de esta lipasa por la unión a su coactivador da comienzo a la movilización. La lipasa sensible a hormonas libera un ácido graso del diacilglicerol. La lipasa de monoacilglicerol completa el proceso de movilización. Abreviaturas: 7TM, que atraviesa siete veces la membrana; ATGL, lipasa de triglicéridos del tejido adiposo; CA, coactivador; lipasa HS, lipasa sensible a hormonas; lipasa de MAG, lipasa de monoacilglicerol; DAG, diacilglicerol; TAG, triacilglicerol.

enzima pone en marcha la movilización de los triacilgliceroles liberando un ácido graso del triacilglicerol formando diacilglicerol. Este compuesto se convierte en un ácido graso libre y monoacilglicerol gracias a la lipasa sensible a hormonas. Por último, una *lipasa de monoacilglicerol* completa la movilización de los ácidos grasos generando un ácido graso libre y glicerol. Por tanto, *la adrenalina y el glucagón inducen la lipolisis.* Aunque su papel en el músculo no se ha establecido aún de forma tan clara, es probable que estas hormonas también regulen la utilización de las reservas de triacilglicerol en ese tejido.

Los ácidos grasos liberados no son solubles en el plasma sanguíneo, por lo que se unen a la seroalbúmina de la sangre, que actúa como transportador. De este modo, los ácidos grasos libres pueden estar disponibles para ser utilizados como combustible en otros tejidos.

El glicerol formado por la lipolisis es absorbido por el hígado y fosforilado. Posteriormente, se oxida a dihidroxiacetona fosfato, que se isomeriza a gliceraldehído 3-fosfato. Esta molécula es un intermediario, tanto de la ruta glucolítica como de la ruta gluconeogénica.



Por lo tanto, en el hígado, el glicerol se puede convertir en piruvato o en glucosa, ya que contiene las enzimas apropiadas (**Figura 27.3**). Con igual facilidad se puede producir también la reacción inversa. De este modo, el glicerol y los intermediarios de la glucólisis son interconvertibles.

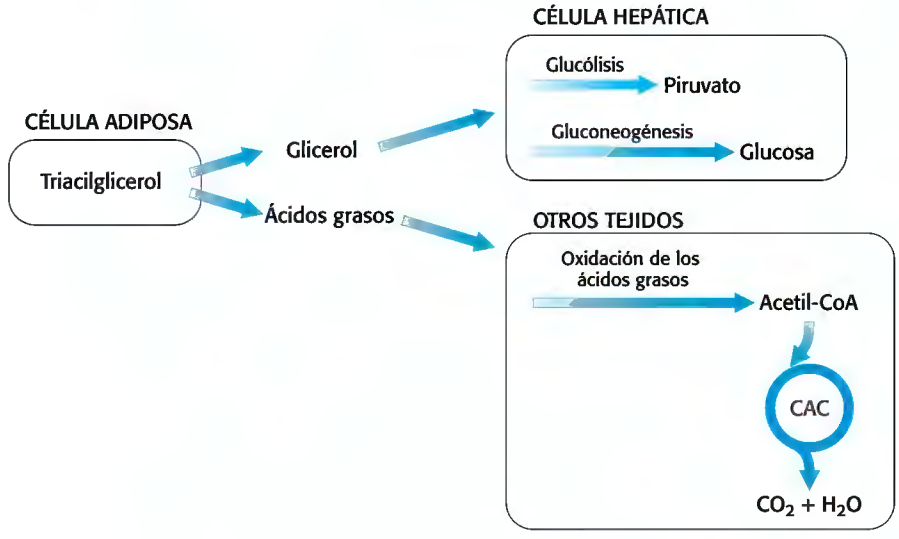
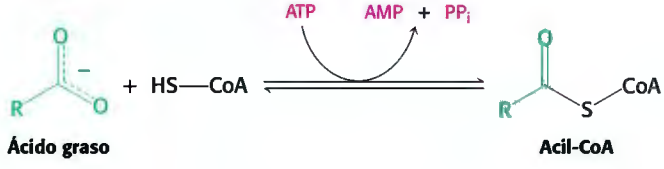


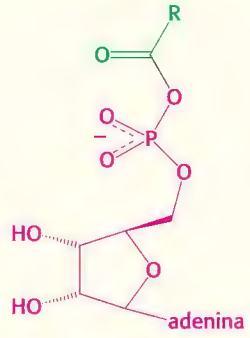
Figura 27.3 La lipolisis genera ácidos grasos y glicerol. En muchos tejidos, los ácidos grasos se utilizan como combustible. El hígado metaboliza el glicerol, bien por la ruta glucolítica o bien por la ruta gluconeogénica, en función de las circunstancias metabólicas. Abreviatura: CAC, ciclo del ácido cítrico.

Antes de su oxidación, los ácidos grasos se unen a la coenzima A

Los ácidos grasos se disocian de la seroalbúmina en la sangre y difunden a través de la membrana celular con la ayuda de proteínas de transporte. Una vez en la célula, los ácidos grasos se distribuyen por su interior asociados a proteínas que se unen a los ácidos grasos.

La oxidación de los ácidos grasos tiene lugar en las mitocondrias. ¿Cómo acceden estos combustibles al lugar de degradación? En primer lugar, hay que activar los ácidos grasos mediante una reacción con la coenzima A en la que se forma acil-CoA. Esta reacción de activación está catalizada por la *acil-CoA sintetasa* y tiene lugar sobre la membrana mitocondrial externa.





Aciladenilato

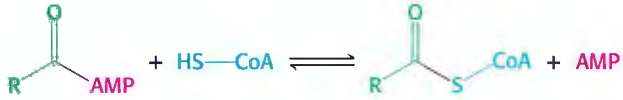
La activación tiene lugar en dos pasos:

1. El ácido graso reacciona con el ATP par formar un *aciladenilato*, y los otros dos grupos fosforilo del sustrato ATP se liberan en forma de pirofosfato.



Ácido graso — Aciladenilato (1)

2. A continuación, el grupo sulfhidrilo de la CoA ataca el aciladenilato para formar acil-CoA y AMP.



Acil-CoA (2)

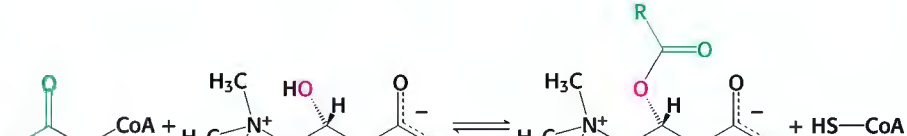
Estas reacciones parciales son totalmente reversibles. De hecho, la constante de equilibrio para la suma de estas reacciones tiene un valor cercano a 1, lo que significa que los niveles de energía de los reactantes y de los productos son aproximadamente iguales. La reacción se impulsa hacia adelante gracias a la hidrólisis del pirofosfato por parte de la pirofosfatasa.

$$\underset{\text{Pirofosfato}}{PP_i} + H_2O \xrightarrow{\text{Pirofosfatasa}} \underset{\text{Fosfato}}{2\,P_i}$$

Vemos aquí otro ejemplo de un aspecto recurrente en bioquímica: *muchas reacciones biosintéticas se hacen irreversibles mediante la hidrólisis del pirofosfato inorgánico*. Por tanto, la reacción completa para la activación de los ácidos grasos es

$$RCOO^- + CoA + ATP + H_2O \longrightarrow RCO\text{-}CoA + AMP + 2\,P_i$$

La activación no es el único paso que se necesita para llevar los ácidos grasos hasta la matriz mitocondrial. Los ácidos grasos activados pueden atravesar la membrana mitocondrial externa a través de unos canales denominados porinas. Sin embargo, el transporte a través de la membrana mitocondrial interna requiere que los ácidos grasos se encuentren unidos al alcohol *carnitina*. El grupo acilo se transfiere desde el átomo de azufre de la CoA al grupo hidroxilo de la carnitina formando *acilcarnitina*. Esta reacción está catalizada por la *carnitina aciltransferasa I* (también denominada *carnitina palmitilfransferasa I*), que se encuentra unida a la membrana mitocondrial externa.



Acil-CoA — Carnitina — Acilcarnitina

A continuación, la acilcarnitina es transportada a través de la membrana mitocondrial interna por medio de una translocasa (**Figura 27.4**). El grupo acilo es devuelto a la CoA por medio de la *carnitina aciltransferasa II* (carnitina palmitilfransferasa II), en la superficie de la membrana orientada hacia la matriz. Por último, la translocasa devuelve la carnitina al lado citoplasmático a cambio de otra acilcarnitina entrante, con lo que el proceso continúa.



Un grupo acilo

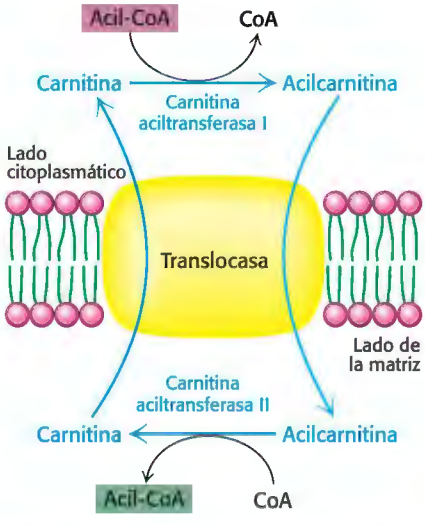


Figura 27.4 Acilcarnitina translocasa. Una translocasa interviene en la entrada de acilcarnitina a la matriz mitocondrial. La carnitina regresa al lado citoplasmático de la membrana mitocondrial interna a cambio de acilcarnitina.

Aspecto clínico

Si los ácidos grasos no entran en las mitocondrias surgen estados patológicos

Hay una serie de enfermedades cuyo origen se debe a una insuficiencia de carnitina, carnitina transferasa o translocasa. Los síntomas de la insuficiencia de carnitina abarcan desde leves calambres musculares hasta una debilidad grave o, incluso, la muerte. Los

tejidos más afectados son el músculo, los riñones y el corazón. La debilidad muscular durante un ejercicio prolongado es un síntoma de una insuficiencia de carnitina aciltransferasas, ya que el músculo depende de los ácidos grasos como fuente de energía a largo plazo. Estas enfermedades reflejan que *la interrupción del flujo de un metabolito de un compartimento celular a otro puede dar lugar a estados patológicos*. Hoy en día, la carnitina es un suplemento alimentario popular y sus defensores aseguran que incrementa el rendimiento, intensifica la función cerebral y promueve una pérdida de peso. La eficacia real de la carnitina como suplemento alimentario aún está por determinar. ■

La oxidación de los ácidos grasos genera acetil-CoA, NADH y $FADH_2$

Cuando el ácido graso activado se encuentra en las mitocondrias, ya está listo para ser metabolizado. El objetivo de la degradación de los ácidos grasos es oxidar estas moléculas a acetil-CoA —oxidando los átomos de carbono de dos en dos— y recolectar los electrones de alta energía que se liberan para impulsar la fosforilación oxidativa. Una molécula saturada de acil-CoA se degrada mediante una secuencia recurrente de cuatro reacciones: oxidación por medio del dinucleótido de flavina y adenina (FAD), hidratación, oxidación por medio del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+) y tiolisis por parte de la coenzima A (**Figura 27.5**). Como resultado de estas reacciones, la cadena de ácido graso se acorta en dos átomos de carbono y se genera $FADH_2$, NADH y acetil-CoA. Como la oxidación tiene lugar en el átomo de carbono β, esta serie de reacciones se denomina la *ruta de la β-oxidación*.

Notación simbólica: β α
Numeración de los carbonos: 3 2 1

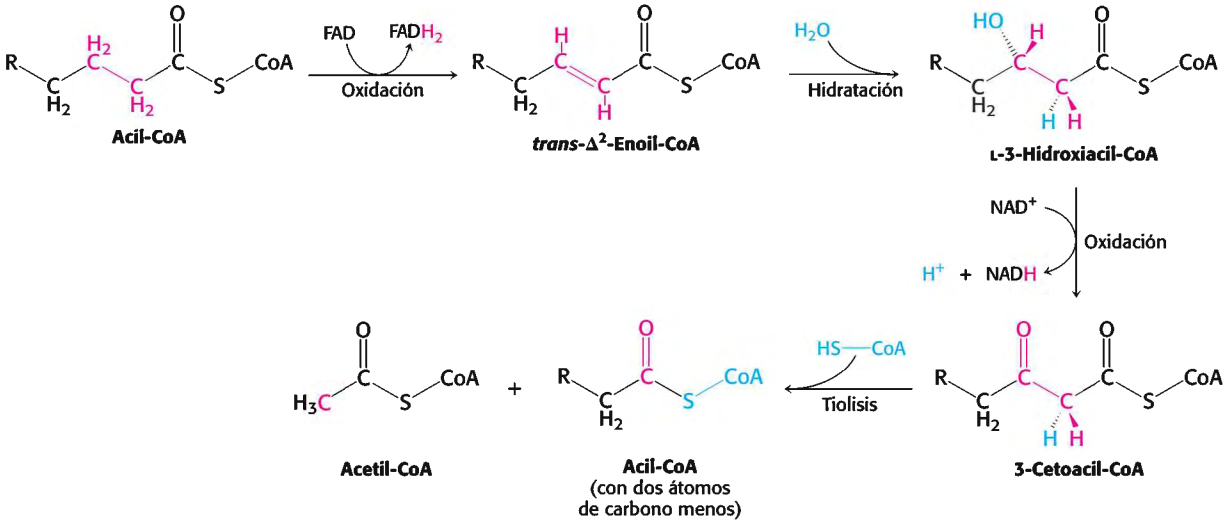


Figura 27.5 Secuencia de reacciones para la degradación de los ácidos grasos. Los ácidos grasos se degradan mediante la repetición de una secuencia de cuatro reacciones que consisten en una oxidación, una hidratación, otra oxidación y una tiolisis.

El símbolo Δ^n (letra delta mayúscula, superíndice numérico) se utiliza para indicar la posición del primero de los átomos de carbono que participa en un doble enlace. Así, Δ^2 indica un doble enlace entre el carbono 2 y el carbono 3.

La primera reacción de cada ronda de degradación consiste en la *oxidación* de la acil-CoA por parte de una *acil-CoA deshidrogenasa* formando una enoil-CoA con un doble enlace *trans* entre el C-2 y el C-3.

$$\text{Acil-CoA} + \text{E-FAD} \longrightarrow \textit{trans}\text{-}\Delta^2\textit{-enoil-CoA} + \text{E-FADH}_2$$

Como ocurre en la deshidrogenación del succinato en el ciclo del ácido cítrico, el aceptor de electrones es el FAD en lugar del NAD^+, ya que el ΔG para esta reacción no es suficiente como para impulsar la reducción del NAD^+. Los electrones captados por el FAD se transfieren a través de la cadena transportadora de electrones hasta la ubiquinona que, de esta forma, se reduce a ubiquinol. A continuación, el ubiquinol entrega sus electrones de alto potencial al segundo lugar de la cadena respiratoria, donde tiene lugar el bombeo de protones (p. 359).

El siguiente paso consiste en la *hidratación* del doble enlace entre el C-2 y el C-3 por parte de la *enoil-CoA hidratasa*.

$$\textit{trans}\text{-}\Delta^2\text{-Enoil-CoA} + H_2O \rightleftharpoons \text{L-3-hidroxiacil-CoA}$$

La hidratación de la enoil-CoA es estereoespecífica. Cuando se hidrata el doble enlace *trans*-Δ^2 solo se forma el isómero L de la 3-hidroxiacil-CoA.

La hidratación de la enoil-CoA es el preludio de la segunda reacción de *oxidación*, que convierte el grupo hidroxilo del C-3 en un grupo ceto y genera NADH. Esta oxidación está catalizada por la *L-3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa*:

$$\text{L-3-Hidroxiacil CoA} + \text{NAD}^+ \rightleftharpoons \text{3-cetoacil-CoA} + \text{NADH} + \text{H}^+$$



Un grupo ceto

Las reacciones precedentes han oxidado el grupo metileno (CH_2—) del C-3 a un grupo ceto. El último paso consiste en la *escisión* de la 3-cetoacil-CoA por parte del grupo tiol de una segunda molécula de coenzima A, que genera acetil-CoA y una acil-CoA con dos átomos de carbono menos. Esta escisión tiolítica está catalizada por la *β-cetotiolasa*.

$$\underset{(n \text{ átomos de carbono})}{\text{3-Cetoacil-CoA}} + \text{HS-CoA} \rightleftharpoons \text{acetil-CoA} + \underset{(n-2 \text{ átomos de carbono})}{\text{acil-CoA}}$$

La **Tabla 27.1** resume las reacciones de la degradación de los ácidos grasos. A continuación, la acil-CoA acortada experimenta otro ciclo de oxidación que se inicia con la reacción catalizada por la acil-CoA deshidrogenasa (**Figura 27.6**).

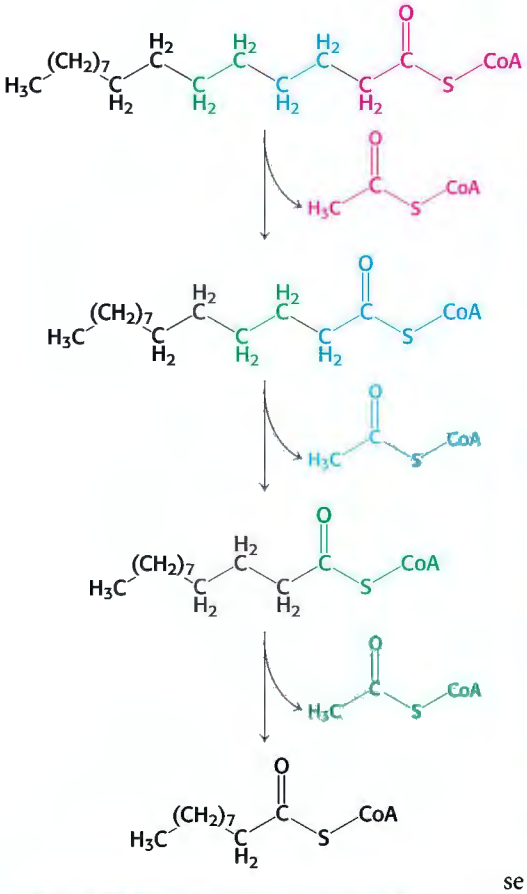


Figura 27.6 Las tres primeras rondas de la degradación del palmitato. Se van extrayendo, de forma secuencial, unidades de dos átomos de carbono a partir del extremo carboxilo del ácido graso.

Tabla 27.1 Principales reacciones que hacen falta para la degradación de los ácidos grasos

Paso	Reacción	Enzima
1	Ácido graso + CoA + ATP ⇌ acil-CoA + AMP + PP_i	Acil-CoA sintetasa (también denominada ácido graso tioquinasa y ácido graso CoA ligasa)*
2	Carnitina + acil-CoA ⇌ acil-carnitina + CoA	Carnitina aciltransferasas I y II (también denominadas carnitina palmitiltransferasas I y II)
3	Acil-CoA + E-FAD ⇌ acil-CoA + AMP + PP_i	Acil-CoA deshidrogenasas (varias isoenzimas con diferente especificidad por la longitud de la cadena)
4	*trans*-Δ^2-Enoil-CoA ⇌ L-3-hidroxiacil-CoA	Enoil-CoA hidratasa (también denominada crotonasa o 3-hidroxiacil-CoA hidrolasa)
5	L-3-Hidroxiacil-CoA + NAD^+ ⇌ 3-cetoacil-CoA + NADH + H^+	L-3-Hidroxiacil-CoA deshidrogenasa
6	3-Cetoacil-CoA + CoA ⇌ acetil-CoA + acil-CoA (con dos átomos de carbono menos)	β-Cetotiolasa (también denominada tiolasa)

*Una ligasa que forma AMP.

Evidencias recientes sugieren que las enzimas de la oxidación de los ácidos grasos se asocian entre sí formando un supercomplejo. Además, este supercomplejo está asociado, a su vez, con la membrana mitocondrial interna, el lugar donde se encuentra la cadena transportadora de electrones y donde se sintetiza el ATP. Esta organización permite el rápido movimiento de sustratos de una enzima a otra y permite que los electrones de alta energía que se generan durante la oxidación de los ácidos grasos accedan de forma inmediata a la cadena transportadora de electrones.

La oxidación completa de palmitato genera 106 moléculas de ATP

Ahora podemos calcular el rendimiento energético asociado a la oxidación de un ácido graso. En cada ciclo de reacciones, una acil-CoA se acorta en dos átomos de carbono y se forma una molécula de $FADH_2$, una de NADH y una de acetil-CoA.

$$C_n\text{-acil-CoA} + FAD + NAD^+ + H_2O + CoA \longrightarrow C_{n-2}\text{-acil-CoA} + FADH_2 + NADH + \text{acetil-CoA} + H^+$$

La degradación de la palmitil-CoA (C_{16}-acil-CoA) precisa siete ciclos de reacción. En el séptimo ciclo, la C_4-cetoacil-CoA se tioliza formando dos moléculas de acetil-CoA. Por tanto, la estequiometría de la oxidación de la palmitil-CoA es

$$\text{Palmitil-CoA} + 7\,FAD + 7\,NAD^+ + 7\,CoA + 7\,H_2O \longrightarrow 8\,\text{acetil-CoA} + 7\,FADH_2 + 7\,NADH + 7\,H^+$$

Cuando la cadena respiratoria oxida cada una de estas moléculas de NADH, se generan aproximadamente 2,5 moléculas de ATP, mientras que por cada molécula de $FADH_2$ se generan aproximadamente 1,5 moléculas de ATP, ya que sus electrones se incorporan a la cadena al nivel del ubiquinol. Recordemos que la oxidación de la acetil-CoA mediante el ciclo del ácido cítrico genera 10 moléculas de ATP. Por tanto, el número de moléculas de ATP que se forman durante la oxidación de la palmitil-CoA es de 10,5 a partir de las 7 moléculas de $FADH_2$, 17,5 a partir de las 7 moléculas de NADH y 80 a partir de las 8 moléculas de acetil-CoA, lo que hace un total de 108. Durante la activación del palmitato, en la que un ATP se escinde en AMP y dos moléculas de ortofosfato, se consume el equivalente a dos moléculas de ATP. Por tanto, *la oxidación completa de una molécula de palmitato genera 106 moléculas de ATP.*

? **PREGUNTA RÁPIDA 1** Describa los pasos que se repiten durante la β-oxidación. ¿Por qué este proceso se denomina β-oxidación?

27.2 La degradación de ácidos grasos insaturados y de ácidos grasos de cadena impar requiere pasos adicionales

La ruta de la β-oxidación consigue degradar por completo los ácidos grasos saturados que tengan un número par de átomos de carbono. La mayoría de los ácidos grasos se ajustan a este tipo de estructura por la forma en que se han sintetizado (Capítulo 28). Sin embargo, no todos los ácidos grasos son tan sencillos. La oxidación de los ácidos grasos que contienen dobles enlaces requiere pasos adicionales. Análogamente, los ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono necesitan reacciones enzimáticas adicionales para formar una molécula metabólicamente útil.

Para la oxidación de ácidos grasos insaturados se necesitan una isomerasa y una reductasa

En nuestra dieta ingerimos muchos ácidos grasos insaturados. De hecho, se nos anima a consumir alimentos ricos en determinados tipos de ácidos grasos poliinsaturados como el ácido linolénico, un ácido graso de tipo ω-3, que abunda en el aceite de cártamo y en el aceite de maíz. Los ácidos grasos poliinsaturados son importantes por varias razones y una de las más importantes es que ofrecen cierta protección frente a los ataques al corazón. ¿Cómo se oxidan los excedentes de este tipo de ácidos grasos?

Consideremos la oxidación del palmitoleato. Este ácido graso C_{16} insaturado, que tiene un doble enlace entre el C-9 y el C-10, se activa a palmitoleil-CoA y se transporta a través de la membrana mitocondrial interna de la misma forma que los ácidos grasos saturados. A continuación, la palmitoleil-CoA experimenta tres ciclos de degradación, llevados a cabo por las mismas enzimas que intervienen en la oxidación de los ácidos grasos saturados. Sin embargo, el *cis*-Δ^3-enoil-CoA que se forma en la tercera ronda no es un sustrato para la acil-CoA deshidrogenasa. La presencia de un doble enlace entre el C-3 y el C-4 evita la formación de otro doble enlace entre el C-2 y el C-3. Este atasco se soluciona mediante una nueva reacción que desplaza la posición y la configuración del doble enlace *cis*-Δ^3. La *cis*-Δ^3-*enoil-CoA isomerasa* convierte este doble enlace en un doble enlace *trans*-Δ^2 (**Figura 27.7**). Las reacciones subsiguientes son las de la ruta de la oxidación de ácidos grasos saturados, en las que la *trans*-Δ^2-enoil-CoA es un sustrato habitual.

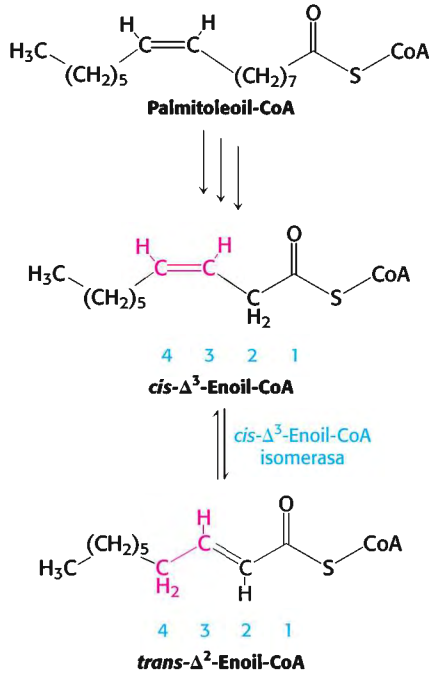


Figura 27.7 Degradación de un ácido graso monoinsaturado. La *cis*-Δ^3-enoil-CoA isomerasa permite que no se interrumpa la β-oxidación de ácidos grasos con un único doble enlace.

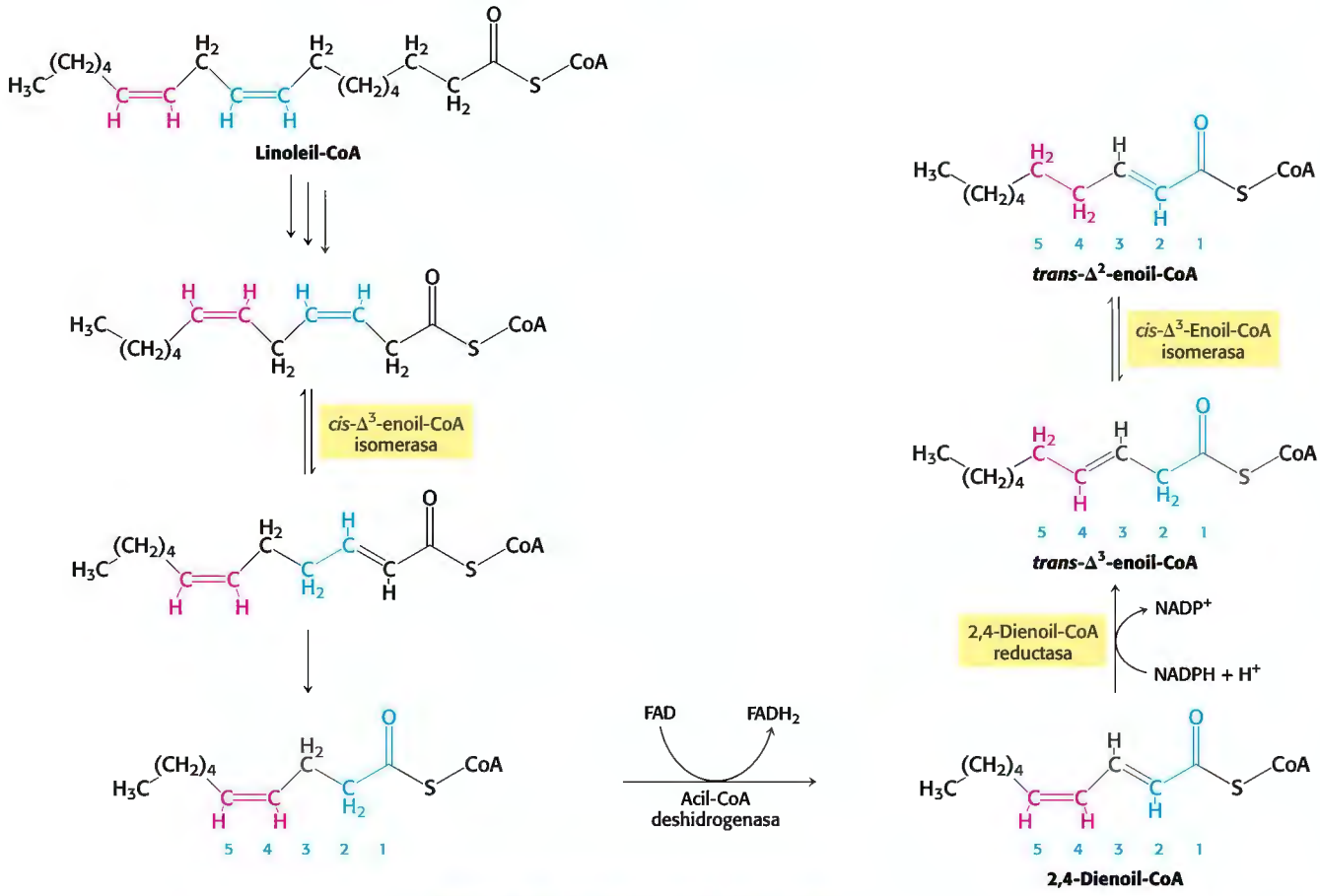


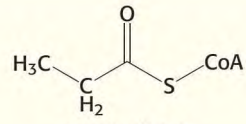
Figura 27.8 Oxidación de la linoleil-CoA. La oxidación completa del ácido graso diinsaturado linoleato es posible gracias a la actividad de la enoil-CoA isomerasa y de la 2,4-dienoil-CoA reductasa.



Vitamina B_{12} Toda la vitamina B_{12} que se encuentra en la naturaleza está producida por microorganismos. En el caso de los seres humanos, la fuente alimentaria de esta vitamina son productos de origen animal, como la carne, el pescado, aves y huevos. Una insuficiencia de vitamina B_{12} puede ocasionar anemia megaloblástica, es decir, la puesta en circulación de un menor número de glóbulos rojos pero de un tamaño superior a la media. Los síntomas son fatiga, dificultades respiratorias y entumecimiento de las extremidades. [Chepe Nicoli/FeaturePics.]

Los seres humanos también necesitan ácidos grasos poliinsaturados, que tienen múltiples dobles enlaces, para que sirvan de precursores de moléculas señal, pero los excedentes de ácidos grasos poliinsaturados se degradan por medio de la β-oxidación. Sin embargo, cuando estas grasas se someten a la β-oxidación, se obtienen moléculas que no se pueden degradar por esta ruta. Para evitar el derroche que supone la acumulación de estas moléculas, primero hay que modificar los productos iniciales de la degradación de los ácidos grasos poliinsaturados. Consideremos el linoleato, un ácido grasos poliinsaturado C_{18} con dobles enlaces *cis*-Δ^9 y *cis*-Δ^{12} (**Figura 27.8**). El doble enlace *cis*-Δ^3 que se forma después de tres rondas de β-oxidación se convierte en un doble enlace *trans*-Δ^2 por medio de la isomerasa mencionada anteriormente. La acil-CoA que se produce en otra ronda de β-oxidación contiene un doble enlace *cis*-Δ^4. La deshidrogenación de esta especie por parte de la acil-CoA deshidrogenasa genera un *intermediario 2,4-dienoilo*, que no es un sustrato para la siguiente enzima de la ruta de la β-oxidación. Este escollo se evita gracias a la *2,4-dienoil-CoA reductasa*, una enzima que utiliza NADPH para reducir el intermediario 2,4-dienoilo a *trans*-Δ^3-enoil-CoA. A continuación, la *cis*-Δ^3-enoil-CoA isomerasa convierte la *trans*-Δ^3-enoil-CoA en la forma *trans*-Δ^2, un intermediario normal en la ruta de la β-oxidación. Estas estrategias catalíticas son elegantes y económicas. Solo se necesitan dos enzimas más para la oxidación de *cualquier* ácido graso poliinsaturado. *En los ácidos grasos poliinsaturados, los dobles enlaces en posición impar se procesan únicamente mediante la isomerasa, mientras que los que están en posición par se procesan por la reductasa y por la isomerasa.*

Los ácidos grasos de cadena impar generan propionil-CoA en el último paso, la tiolisis



Propionil-CoA

Los ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono son una clase minoritaria que se encuentra, en pequeñas cantidades, en las plantas. Se oxidan de la misma forma que los ácidos grasos con un número par de átomos de carbono, salvo por el hecho de que, en la última ronda de la degradación, se generan propionil-CoA y acetil-CoA en lugar de dos moléculas de acetil-CoA. La unidad activada de tres átomos de carbono de la propionil-CoA se convierte en succinil-CoA, una molécula que se puede incorporar al ciclo del ácido cítrico.

La ruta de la propionil-CoA a succinil-CoA resulta de especial interés, ya que supone una reorganización que precisa de la *vitamina* B_{12} (también denominada *cobalamina*). La propionil-CoA se carboxila por la propionil-CoA carboxilasa (una enzima que contiene biotina) a expensas de la hidrólisis de una molécula de ATP, generando el isómero D de la metilmalonil-CoA (**Figura 27.9**). Esta molécula se convierte en el isómero L, que es el sustrato de una mutasa que lo convierte en *succinil-CoA* mediante una *reorganización intramolecular*. El grupo —CO—S—CoA se desplaza del C-2 al grupo metilo a cambio de un átomo de hidrógeno. Esta isomerización tan atípica está catalizada por la *metilmalonil-CoA mutasa*, que contiene una coenzima que se sintetiza a partir de la cobalamina (vitamina B_{12}).

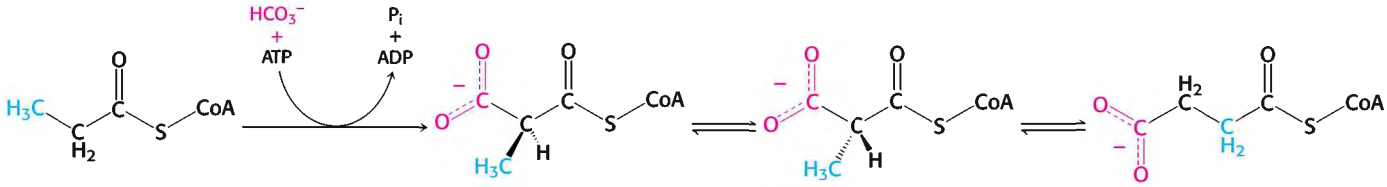


Figura 27.9 Conversión de propionil-CoA en succinil-CoA. La propionil-CoA, generada a partir de ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono o a partir de algunos aminoácidos, se convierte en succinil-CoA, un intermediario del ciclo del ácido cítrico.

27.3 Los cuerpos cetónicos son otra fuente de combustible procedente de las grasas

✓ 2 Describir los cuerpos cetónicos y su papel en el metabolismo.

La mayor parte de la acetil-CoA producida por la degradación de los ácidos grasos se incorpora al ciclo del ácido cítrico. Sin embargo, algunas unidades de acetil-CoA se utilizan para formar los llamados *cuerpos cetónicos* —principalmente, acetoacetato, 3-hidroxibutirato (β-hidroxibutirato)—, que constituyen una fuente alternativa de combustible. Aunque los cuerpos cetónicos no generan tanto ATP como los ácidos grasos de donde proceden, presentan la ventaja de ser solubles en agua y, por tanto, representan una forma fácilmente transportable de unidades de acetilo. Antes se creía que eran una señal de algún trastorno metabólico, pero hoy en día se sabe que el acetoacetato y el 3-hidroxibutirato son combustibles normales de la respiración. De hecho, el músculo cardiaco y la corteza renal prefieren utilizar acetoacetato en vez de glucosa.

La síntesis de cuerpos cetónicos tiene lugar en el hígado

El principal lugar donde se produce la cetogénesis —la producción de acetoacetato y 3-hidroxibutirato — es en las mitocondrias del hígado. El acetoacetato se forma a partir de la acetil-CoA en tres pasos (**Figura 27.10**). La suma de estas reacciones es

$$2\ \text{Acetil-CoA} + H_2O \longrightarrow \text{acetoacetato} + 2\ \text{CoA} + H^+$$

Para formar D-3-hidroxibutirato se necesita un cuarto paso: la reducción del acetoacetato en la matriz mitocondrial. A continuación, los cuerpos cetónicos abandonan

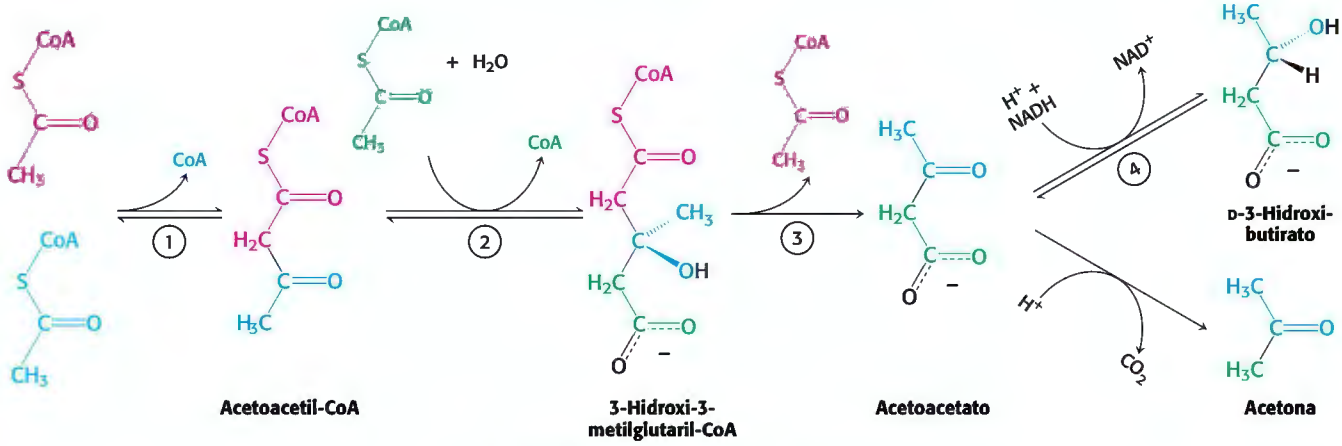


Figura 27.10 Formación de cuerpos cetónicos. Los cuerpos cetónicos —acetoacetato, D-3-hidroxibutirato y acetona— se forman principalmente en el hígado, a partir de acetil-CoA. Las enzimas que catalizan estas reacciones son: (1) 3-cetotiolasa, (2) hidroximetilglutaril-CoA sintasa, (3) la enzima que escinde la hidroximetilglutaril-CoA y (4) la D-3-hidroxibutirato deshidrogenasa. El acetoacetato se descarboxila espontáneamente generando acetona.

? PREGUNTA RÁPIDA 2 ¿Por qué habría que considerar al D-3-hidroxibutirato como un cuerpo cetónico más importante que el acetoacetato?

el hígado gracias a la intervención de proteínas transportadoras específicas, y pasan a la sangre para ser trasladados a los tejidos periféricos. La acetona se produce mediante la lenta descarboxilación espontánea del acetoacetato. En condiciones de ayuno prolongado, la acetona se puede aprovechar para sintetizar glucosa.

¿De qué forma se utilizan los cuerpos cetónicos como combustible? La **Figura 27.11** muestra cómo se metabolizan los cuerpos cetónicos para generar NADH y acetil-CoA, el combustible del ciclo del ácido cítrico. El D-3-hidroxibutirato se oxida a acetoacetato que, a continuación, se activa mediante una CoA transferasa específica. Por último, el acetoacetil-CoA se escinde por medio de una tiolasa generando dos moléculas de acetil-CoA que se incorporan al ciclo del ácido cítrico. Sin embargo, las células hepáticas carecen de la CoA transferasa, lo que permite que el acetoacetato salga de la célula y sea transportado a otros tejidos, en vez de ser metabolizado en el hígado. El acetoacetato también tiene un papel regulador. *Niveles elevados de acetoacetato en la sangre indican una abundancia de unidades acetilo y dan lugar a una disminución de la velocidad de lipolisis en el tejido adiposo.*

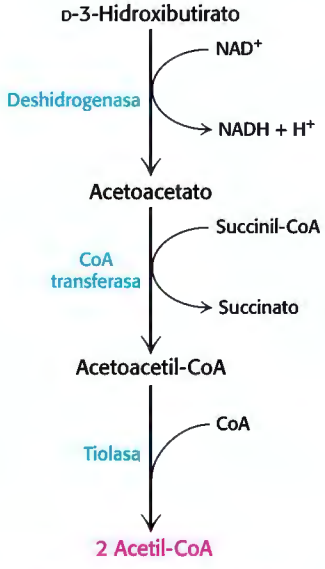


Figura 27.11 Utilización del D-3-hidroxibutirato y del acetoacetato como combustible. El D-3-hidroxibutirato se oxida a acetoacetato formando NADH. Después, el acetoacetato se convierte en dos moléculas de acetil-CoA que se incorporan al ciclo del ácido cítrico.

Los animales no pueden convertir los ácidos grasos en glucosa

Un ser humano típico tiene muchas más reservas de grasa que de glucógeno. Sin embargo, el glucógeno es necesario para suministrar energía a los músculos muy activos y al cerebro, un órgano que, normalmente, solo utiliza glucosa como combustible. Cuando los niveles de glucógeno son bajos, ¿por qué no puede el organismo hacer uso de las reservas de grasa y convertir los ácidos grasos en glucosa? Porque *los animales son incapaces de efectuar la síntesis neta de glucosa a partir de ácidos grasos.* Concretamente, en los animales, la acetil-CoA generada por la degradación de los ácidos grasos no puede convertirse en piruvato o en oxalacetato. Recordemos que la reacción que genera acetil-CoA a partir de piruvato es irreversible (p. 318). Los dos átomos de carbono del grupo acetilo de la acetil-CoA se incorporan al ciclo del ácido cítrico, pero en las descarboxilaciones catalizadas por la isocitrato deshidrogenasa y por la α-cetoglutarato deshidrogenasa el ciclo se desprende de dos átomos de carbono. En consecuencia, *se regenera el oxalacetato, pero no se forma de novo cuando la unidad acetilo de la acetil-CoA se oxida por medio del ciclo del ácido cítrico.* Básicamente, dos átomos de carbono entran al ciclo en forma de un grupo acetilo, pero dos átomos de carbono abandonan el ciclo en forma de CO_2 antes de que se genere oxalacetato. Por tanto, la síntesis neta de oxalacetato resulta imposible. Por el contrario, las plantas tienen dos enzimas adicionales que les permiten convertir los átomos de carbono de la acetil-CoA en oxalacetato (p. 340).

27.4 El metabolismo en su contexto: el metabolismo de los ácidos grasos es una fuente de conocimiento sobre diversos estados fisiológicos

Los ácidos grasos son nuestro combustible más importante. Por tanto, no es de extrañar que el metabolismo de estas moléculas clave se altere en diversas condiciones biológicas. Ahora vamos a analizar el papel del metabolismo de los ácidos grasos en dos condiciones distintas: la diabetes y el ayuno prolongado.

La diabetes puede dar lugar a la producción excesiva de cuerpos cetónicos, algo que puede provocar la muerte

Aunque los cuerpos cetónicos son un combustible normal, una cantidad excesiva de estos ácidos puede resultar peligrosa. La producción en exceso puede deberse a un desequilibrio en el metabolismo de los carbohidratos y de los ácidos grasos, tal y como ocurre en el caso de la *diabetes mellitus*, una enfermedad que se caracteriza por la ausencia de la insulina o por la resistencia a esta hormona (p. 444).

¿Por qué la alteración de la función de la insulina da lugar a una enfermedad? La insulina desempeña dos papeles fundamentales a la hora de regular el metabolismo. En primer lugar, la insulina estimula la absorción de glucosa en el hígado. Si esta absorción no se produce, no se puede formar oxalacetato para que reaccione con la acetil-CoA, el producto de la degradación de los ácidos grasos. Recordemos que los animales sintetizan oxalacetato a partir de piruvato, un producto del metabolismo glucolítico de la glucosa (p. 302). De hecho, en los diabéticos, el oxalacetato procedente del ciclo del ácido cítrico *se consume* para formar glucosa a través de la gluconeogénesis. En segundo lugar, la insulina normalmente reduce la movilización de los ácidos grasos por parte del tejido adiposo. En ausencia de insulina, se liberan los ácidos grasos y, en consecuencia, se generan grandes cantidades de acetil-CoA por medio de la β-oxidación. Sin embargo, la mayor parte de la acetil-CoA no se puede incorporar al ciclo del ácido cítrico, ya que no hay suficiente oxalacetato para la reacción de condensación. Una característica llamativa de la diabetes es un cambio en el uso de los combustibles: se utilizan grasas en vez de carbohidratos; la glucosa, más abundante que nunca, se queda en la sangre, sin utilizar.

El hígado también libera gran cantidad de cuerpos cetónicos a la sangre porque está degradando ácidos grasos, pero carece de la glucosa necesaria para reponer el ciclo del ácido cítrico (Figura 27.12). Los cuerpos cetónicos son ácidos moderadamente fuertes, lo que da como resultado una acidosis grave. A concentraciones elevadas, los cuerpos cetónicos superan la capacidad del riñón para mantener el equilibrio ácido-base. La mayor acidez de la sangre perjudica la función de los tejidos, sobre todo en el sistema nervioso central. Un diabético no tratado que no haya comido puede entrar en coma a causa de una disminución del pH sanguíneo, deshidratación y falta de glucosa. Antiguamente, a los diabéticos con una cetosis diabética se les solía diagnosticar como borrachos. La falta de glucosa para el cerebro daba lugar a comportamientos extraños y la descarboxilación espontánea del acetoacetato a acetona se confundía con el aliento a alcohol.

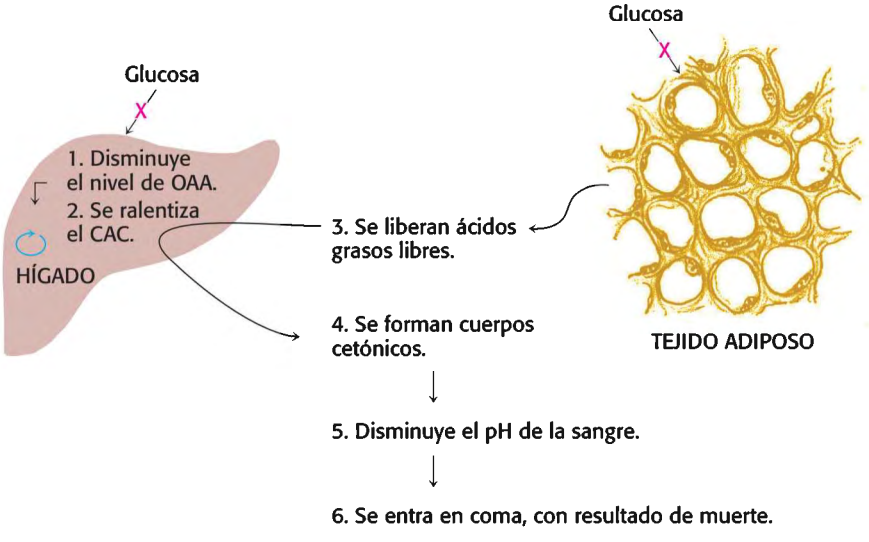


Figura 27.12 La falta de insulina da lugar a la cetosis diabética. En ausencia de insulina, se liberan grasas del tejido adiposo y la glucosa no puede ser absorbida por el hígado ni por el tejido adiposo. El hígado degrada los ácidos grasos por medio de la β-oxidación, pero no puede metabolizar la acetil-CoA porque no dispone del oxalacetato (OAA) procedente de la glucosa. Se generan cuerpos cetónicos en exceso, que son liberados a la sangre. Abreviatura: CAC, ciclo del ácido cítrico.

En condiciones de ayuno prolongado, los cuerpos cetónicos son una fuente de combustible fundamental

Para algunas personas el uso de cuerpos cetónicos como combustible es una cuestión de vida o muerte. Los organismos de las personas en estado de inanición recurren a los cuerpos cetónicos como principal fuente de combustible. ¿Por qué se produce esta adaptación? Consideremos los cambios bioquímicos que tienen lugar durante el transcurso de un ayuno prolongado. Un hombre típico, bien alimentado, que pese 70 kg tiene unas reservas de combustible que equivalen, aproximadamente, a 670.000 kJ (161.000 kcal; **Tabla 27.2**). Sus necesidades energéticas para un periodo de 24 horas oscilan entre 6.700 kJ (1.600 kcal) y 25.000 kJ (6.000 kcal), en función del tipo de actividad que desarrolle; de modo que su combustible almacenado cubre sus necesidades energéticas, en condiciones de inanición, durante un periodo de entre 1 y 3 meses. Sin embargo, las reservas de carbohidratos se agotan en un solo día. La primera prioridad del metabolismo consiste en proporcionar glucosa suficiente al cerebro y a otros tejidos (como los glóbulos rojos), que dependen por completo de este combustible. No obstante, dado que la glucosa procedente del glucógeno se ha agotado y las grasas no se pueden convertir en glucosa, la única fuente de glucosa posible son los aminoácidos procedentes de la descomposición de las proteínas. Como las proteínas no se almacenan, su descomposición irá acompañada de una pérdida de función. En la mayoría de los animales, la supervivencia depende de su capacidad para moverse con rapidez, lo que requiere una gran masa muscular, de modo que hay que minimizar la pérdida de masa muscular.

Tabla 27.2 Reservas de combustible en un hombre típico de 70 kg de peso

Órgano	Energía disponible en kilojulios (kcal)					
	Glucosa o glucógeno		Triacilgliceroles		Proteínas movilizables	
Sangre	250	(60)	20	(45)	0	(0)
Hígado	1.700	(400)	2.000	(450)	1.700	(400)
Cerebro	30	(8)	0	(0)	0	(0)
Músculo	5.000	(1.200)	2.000	(450)	100.000	(24.000)
Tejido adiposo	330	(80)	560.000	(135.000)	170	(40)

Tomado de: G. F. Cahill, Jr., *Clin. Endocrinol. Metab.* 5: 398, 1976.

Por tanto, en condiciones de inanición, la segunda prioridad del metabolismo consiste en preservar la proteína muscular cambiando el tipo de combustible utilizado, sustituyendo la glucosa por ácidos grasos y cuerpos cetónicos, especialmente en los órganos que, normalmente, dependen de la glucosa (**Figura 27.13**). ¿Cómo se reduce la pérdida de proteína muscular? En primer lugar, el músculo —el mayor consumidor de combustible del organismo— empieza a utilizar ácidos grasos, en vez de glucosa, como combustible. Este cambio reduce la necesidad de degradar proteínas para formar glucosa. En el músculo, la degradación de los ácidos grasos detiene la conversión de piruvato en acetil-CoA, ya que la acetil-CoA procedente de los ácidos grasos inhibe la piruvato deshidrogenasa, la enzima que convierte el piruvato en acetil-CoA. Por tanto, todo el piruvato, lactato y alanina disponible se exporta al hígado para que se convierta en glucosa y sea utilizada por el cerebro. En segundo lugar, a los tres días de ayuno, aproximadamente, el hígado forma gran cantidad de acetoacetato y D-3-hidroxibutirato. Su síntesis a partir de acetil-CoA aumenta notablemente porque el ciclo del ácido cítrico es incapaz de oxidar todas las unidades acetilo generadas por la degradación de los ácidos grasos. La gluconeogénesis consume todas las existencias de oxalacetato, lo que resulta esencial para la incorporación de la acetil-CoA al ciclo del ácido cítrico. En consecuencia, el hígado genera gran cantidad de cuerpos cetónicos, que se liberan a la sangre. En este momento, *el cerebro empieza a consumir cantidades significativas de acetoacetato en vez de glucosa.* A partir del tercer día de ayuno, aproximadamente una tercera parte de las necesidades energéticas del cerebro están cubiertas gracias a los cuerpos cetónicos (**Tabla 27.3**).

Tras varias semanas de ayuno, los cuerpos cetónicos se convierten en el principal combustible del cerebro. En estas condiciones, el cerebro solo necesita 40 g de glucosa al día, en comparación com los aproximadamente 120 g que necesitaba el primer día de ayuno. La eficaz conversión de los ácidos grasos en cuerpos cetónicos por parte del hígado y su

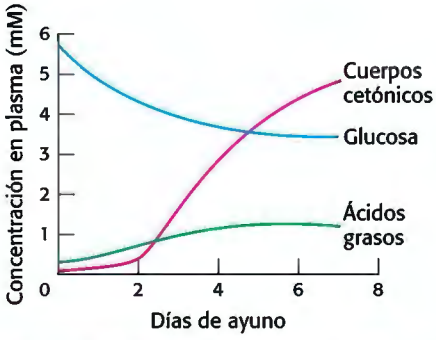


Figura 27.13 Selección del combustible en condiciones de inanición. Durante el ayuno prolongado, la concentración de ácidos grasos y de cuerpos cetónicos en el plasma aumenta, mientras que la de glucosa disminuye.

Tabla 27.3 Metabolismo de los combustibles durante el ayuno prolongado

Cambios de combustible y consumo	Cantidad formada o consumida en 24 horas (gramos)	
	Tercer día	Día 40
Combustible usado en el cerebro		
Glucosa	100	40
Cuerpos cetónicos	50	100
Otros usos de la glucosa	50	40
Movilización de combustibles		
Lipolisis en el tejido adiposo	180	180
Degradación de la proteína muscular	75	20
Producción de combustibles en el hígado		
Glucosa	150	80
Cuerpos cetónicos	150	150

utilización por parte del cerebro, disminuyen notablemente las necesidades de glucosa. Por tanto, se degrada menos músculo que en los primeros días de ayuno. La descomposición de 20 g de músculo al día, en comparación con los 75 g que se degradaban al empezar el ayuno, tiene una importancia decisiva para la supervivencia. El tiempo que puede sobrevivir una persona depende, principalmente, del tamaño de sus depósitos de triacilglicerol.

¿Qué ocurre cuando se agotan las reservas de lípidos? La única fuente de combustible que queda es la proteína. La degradación de proteínas se acelera y el resultado inevitable es la muerte, que se produce como consecuencia del deterioro del funcionamiento del corazón, del hígado o de los riñones.

Resumen

27.1 Los ácidos grasos se metabolizan en tres etapas

Los triacilgliceroles se pueden movilizar mediante la actividad hidrolítica de las lipasas que se encuentran bajo control hormonal. El glucagón y la adrenalina estimulan la descomposición del triacilglicerol activando las lipasas. La insulina, por el contrario, inhibe la lipolisis. Los ácidos grasos se activan a acil-CoA, que se transporta a través de la membrana mitocondrial interna por la carnitina y se degrada en la matriz mitocondrial mediante una serie recurrente de cuatro reacciones: oxidación por el FAD, hidratación, oxidación por el NAD^+ y tiolisis por la coenzima A. El $FADH_2$ y NADH que se forman en los pasos de oxidación transfieren sus electrones al O_2 a través de la cadena respiratoria, mientras que, normalmente, la acetil-CoA formada en el paso de tiolisis se incorpora al ciclo del ácido cítrico mediante una reacción de condensación con el oxalacetato. Los mamíferos son incapaces de convertir los ácidos grasos en glucosa porque carecen de una ruta para la producción neta de oxalacetato, piruvato u otro intermediario de la gluconeogénesis a partir de la acetil-CoA.

27.2 La degradación de ácidos grasos insaturados y de ácidos grasos de cadena impar requiere pasos adicionales

Los ácidos grasos que contienen dobles enlaces o un número impar de átomos de carbono requieren pasos complementarios para su degradación. Para la oxidación de los ácidos grasos insaturados se necesitan una isomerasa y una reductasa, mientras que la propionil-CoA procedente de las cadenas con un número impar de átomos de carbono necesita una enzima dependiente de la vitamina B_{12} para ser convertido en succinil-CoA.

27.3 Los cuerpos cetónicos son otra fuente de combustible procedente de las grasas

Los principales cuerpos cetónicos —el acetoacetato y el 3-hidroxibutirato— se forman en el hígado mediante condensación de unidades de acetil-CoA. Los cuerpos cetónicos se liberan en la sangre y son una importante fuente de combustible para una serie de tejidos. Una vez dentro de la célula, los cuerpos cetónicos se convierten en acetil-CoA y se metabolizan por medio del ciclo del ácido cítrico.

27.4 El metabolismo en su contexto: el metabolismo de los ácidos grasos es una fuente de conocimiento sobre diversos estados fisiológicos

La diabetes se caracteriza por la incapacidad de las células para absorber glucosa. La falta de glucosa da lugar a una mayor demanda de ácidos grasos como combustible. Se puede producir un exceso de cuerpos cetónicos que acidifique la sangre, una circunstancia que puede ser letal y que se denomina cetosis diabética. Los cuerpos cetónicos también son una fuente de combustible especialmente importante para el cerebro cuando la disponibilidad de glucosa es limitada, como ocurre en el caso de un ayuno prolongado.

Términos clave

triacilglicerol (grasa neutra, triglicérido) (p. 465)
aciladenilato (p. 468)
carnitina (p. 468)
ruta de la β-oxidación (p. 469)
cuerpo cetónico (p. 470)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Los pasos son (1) oxidación por el FAD; (2) hidratación; (3) oxidación por el NAD^+; (4) tiolisis para generar acetil-CoA. En notación simbólica, se oxida el carbono β.

2. El D-3-hidroxibutirato es más rico en energía porque su potencial de oxidación es mayor que el del acetoacetato. Una vez absorbido por una célula, el D-3-hidroxibutirato se oxida a acetoacetato, generando electrones de alta energía en forma de NADH. Posteriormente, el acetoacetato se escinde formando acetil-CoA.

Problemas

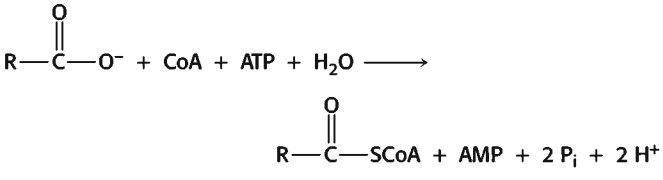
1. *Etapas del metabolismo.* ¿Cuáles son las tres etapas del metabolismo del triacilglicerol? ✓ 1

2. *El control importa.* Resuma el control de la movilización del triacilglicerol. ✓ 1

3. *Formas de energía.* Las reacciones parciales que dan lugar a la síntesis de acetil-CoA (ecuaciones 1 y 2, p. 468) son totalmente reversibles. La constante de equilibrio para la suma de estas reacciones tiene un valor cercano a 1, lo que significa que los niveles de energía de los reactantes y de los productos son casi iguales, a pesar de que se ha hidrolizado una molécula de ATP. Explique por qué estas reacciones son totalmente reversibles. ✓ 1

4. *En su totalidad.* Escriba la reacción completa de la activación de los ácidos grasos. ✓ 1

5. *Tasa de activación.* La reacción para la activación de los ácidos grasos previa a su degradación es



Esta reacción es bastante favorable porque se hidroliza el equivalente a dos moléculas de ATP. Explique por qué, desde el punto de vista de la contabilidad bioquímica, se utiliza el equivalente a dos moléculas de ATP, a pesar del hecho de que en el lado izquierdo de la ecuación solo aparece una molécula de ATP. ✓ 1

6. *Reacciones repetidas.* ¿Cuáles son las reacciones recurrentes de la oxidación de los ácidos grasos saturados? ✓ 1

7. *Simon y Garfunkel.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 1

(a) Triacilglicerol _____
(b) Perilipina _____
(c) Lipasa de triglicéridos del tejido adiposo _____
(d) Glucagón _____
(e) Acil-CoA sintetasa _____
(f) Carnitina _____
(g) Ruta de la β-oxidación _____
(h) Enoil-CoA isomerasa _____
(i) 2,4-Dienoil-CoA reductasa _____
(j) Metilmalonil-CoA mutasa _____
(k) Cuerpo cetónico _____

1. Enzima que inicia la degradación de los lípidos
2. Activa los ácidos grasos para su degradación
3. Convierte un doble enlace *cis*-Δ^3 en un doble enlace *trans*-Δ^2
4. Reduce el intermediario 2,4-dienoilo a *trans*-Δ^3-enoil-CoA
5. Forma de almacenamiento de las grasas
6. Se necesita para entrar en las mitocondrias
7. Necesita vitamina B_{12}
8. Acetoacetato
9. Método por el que se degradan los ácidos grasos
10. Estimula la lipolisis
11. Proteína asociada a gotitas de lípido

8. *Secuencia apropiada.* Coloque en el orden correcto la siguiente lista de reacciones y lugares relevantes en la β-oxidación de los ácidos grasos. ✓ 1

(a) Reacción con carnitina.
(b) Ácido graso en el citoplasma.
(c) Activación del ácido graso mediante la unión de CoA.
(d) Hidratación.
(e) Oxidación asociada al NAD^+.
(f) Tiolisis.
(g) Acil-CoA en la mitocondria.
(h) Oxidación asociada al FAD.

9. *Demasiado cansado para hacer ejercicio.* Explique por qué las personas con una insuficiencia hereditaria de carnitina aciltransferasa II padecen debilidad muscular. ¿Por qué los síntomas son más graves en condiciones de ayuno? ✓ 1

10. *¿Una acetil-CoA fantasma?* En la ecuación de la degradación de los ácidos grasos que se muestra a continuación, solo se necesitan 7 moléculas de CoA para formar 8 moléculas de acetil-CoA. ¿A qué se debe esta diferencia? ✓ 1

$$\text{Palmitil-CoA} + 7\ \text{FAD} + 7\ \text{NAD}^+ + 7\ \text{CoASH} + 7\ \text{H}_2\text{O} \longrightarrow 8\ \text{Acetil-CoA} + 7\ \text{FADH}_2 + 7\ \text{NADH} + 7\ \text{H}^+$$

11. *Comparando rendimientos.* Compare los rendimientos de ATP obtenidos a partir del ácido palmítico y del ácido palmitoleico. ✓ 1

12. *Contando ATP, 1.* ¿Cuál es el rendimiento de ATP durante la oxidación completa del ácido graso C_{17} (heptadecanoico)? Considere que la propionil-CoA acaba generando oxalacetato mediante el ciclo del ácido cítrico. ✓ 1

13. *Dulce tentación.* El ácido esteárico es un ácido graso C_{18} que se encuentra en el chocolate. Suponga que ha tenido un mal día y decide arreglar el asunto atiborrándose de chocolate. ¿Cuánto ATP se generaría a partir de la oxidación completa de ácido esteárico a CO_2? ✓ 1

14. *Esbelto y musculoso.* Se suele decir que si uno está interesado en perder grasa corporal, la mejor hora para hacer un ejercicio aeróbico intenso es por la mañana, inmediatamente después de despertarse; es decir, en ayunas. No hay que desayunar antes de hacer ejercicio pero sí hay que tomar una taza de café con cafeína, que es un inhibidor de la AMP cíclico fosfodiesterasa. Explique, desde el punto de vista bioquímico, por qué puede funcionar este consejo. ✓ 1

15. *La mejor forma de almacenamiento.* Compare el rendimiento de ATP de la oxidación completa de la glucosa, un carbohidrato de seis átomos de carbono, con el del ácido hexanoico, un ácido graso de seis átomos de carbono. El ácido hexanoico también se llama ácido caproico y es el responsable del "aroma" de las cabras. ¿Por qué las grasas son mejor combustible que los carbohidratos? ✓ 1

16. *De ácido graso a cuerpo cetónico.* Escriba una reacción ajustada para la conversión de estearato en acetoacetato. ✓ 2

17. *Generoso, pero sin pasarse.* El hígado es el principal lugar donde se sintetizan los cuerpos cetónicos. Sin embargo, los cuerpos cetónicos no se utilizan en el hígado sino que son liberados para que los utilicen otros tejidos. Durante la síntesis y liberación de cuerpos cetónicos, el hígado obtiene energía. Calcule el número de moléculas de ATP que se generan en el hígado durante la conversión de palmitato, un ácido graso C_{16}, en acetoacetato. ✓ 2

18. *Contando ATP, 2.* ¿Cuánta energía se obtiene a partir de la oxidación completa del cuerpo cetónico D-3-hidroxibutirato? ✓ 2

19. *Otro punto de vista.* ¿Por qué alguien podría argumentar que la respuesta al problema 18 está mal? (Tenga en cuenta los posibles usos de la succinil-CoA.) ✓ 2

20. *Un proverbio acertado.* Un viejo proverbio bioquímico afirma que *las grasas se queman en la llama de los carbohidratos.* ¿Cuál es el fundamento bioquímico de este proverbio? ✓ 2

21. *Faltan las acil-CoA deshidrogenasas.* Se han descrito varias insuficiencias genéticas de acil-CoA deshidrogenasas. Estas insuficiencias aparecen en las primeras etapas de la vida o tras un periodo de ayuno. Entre sus síntomas se incluyen vómitos, apatía y, a veces, el coma. Los niveles de glucosa en sangre son bajos (hipoglucemia) y, además, no se observa la cetosis inducida por la inanición. Sugiera una explicación bioquímica para estas dos últimas observaciones.

22. *Falta un ingrediente.* ¿Por qué las células del hígado no son capaces de utilizar los cuerpos cetónicos como combustible? ✓ 2

23. *Encontrando triacilgliceroles en los lugares equivocados.* Con frecuencia, la diabetes dependiente de la insulina va acompañada de niveles elevados de triacilgliceroles en sangre. Sugiera una explicación bioquímica para este hecho. ✓ 2

Problemas de integración de capítulos

24. *Vendrán tiempos peores.* ¿Por qué los animales no pueden convertir las grasas en glucosa? ¿Por qué las plantas sí pueden hacerlo?

25. *Perdiendo proteína.* ¿Cuál es el objetivo de la degradación de proteínas durante las etapas iniciales de un ayuno prolongado?

26. *Deja de perder proteína.* ¿Cómo se retrasa la pérdida de proteína muscular durante un ayuno prolongado?

27. *Después de la lipolisis.* Durante la movilización de los ácidos grasos se produce glicerol, que no se desperdicia. Escriba una ecuación ajustada para la conversión de glicerol en piruvato. ¿Qué enzimas se necesitan, además de las de la ruta glucolítica?

28. *Recuerdos de reacciones pasadas.* Durante nuestro estudio de la bioquímica hemos visto reacciones similares a la oxidación, hidratación y segunda oxidación que tienen lugar en la degradación de los ácidos grasos. ¿Qué otra ruta utiliza este conjunto de reacciones?

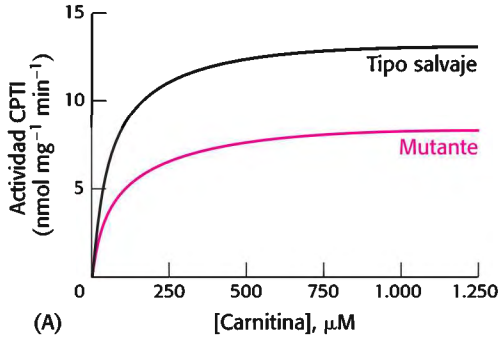
29. *Dieta poco aconsejable.* Suponga que, por alguna extraña razón, decide seguir una dieta basada exclusivamente en grasa de ballena y grasa de foca.

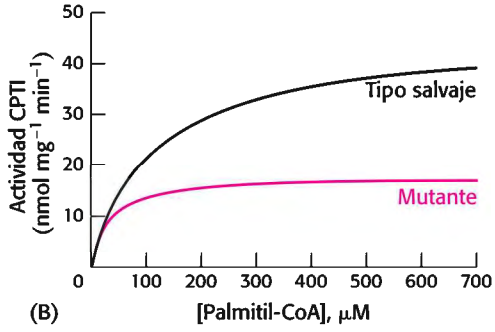
(a) ¿Cómo afectaría la ausencia de carbohidratos a su capacidad para utilizar las grasas?
(b) ¿A qué le olería el aliento?

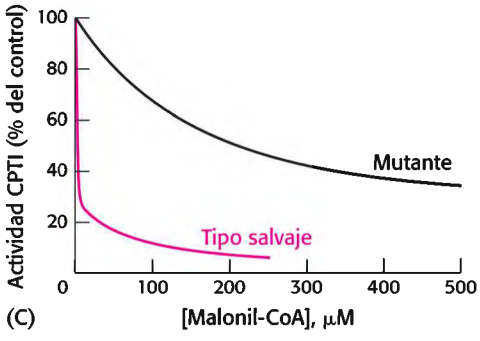
(c) Uno de sus mejores amigos, tras intentar convencerle, sin éxito, de que abandone esta dieta, consigue que usted se comprometa a consumir una buena dosis de ácidos grasos de cadena impar. ¿Lo hace su amigo pensando en lo que es mejor para usted? Explique su respuesta.

Problema de interpretación de datos

30. *Enzima mutante.* La carnitina palmitiltransferasa I (CPTI) cataliza la conversión de acil-CoA de cadena larga en acilcarnitina, un prerrequisito para el transporte a las mitocondrias y su posterior degradación. Se produjo una enzima mutante con un único aminoácido cambiado que, en la posición 3, tenía alanina en vez de ácido glutámico. Las gráficas A, B y C se basan en los datos obtenidos en investigaciones llevadas a cabo para identificar el efecto de la mutación (datos tomados de J. Shi, H. Zhu, D. N. Arvidson y G. J. Wodegiorgis, *J. Biol. Chem.* 274: 9421-9426, 1999). ✓ 1



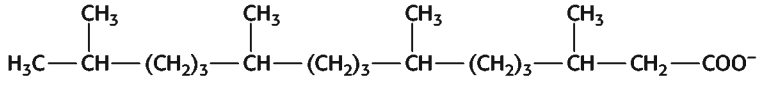




(a) ¿Qué efecto tiene la mutación sobre la actividad enzimática cuando varía la concentración de carnitina? ¿Cuáles son los valores de K_M y $V_{máx}$ para la enzima normal (tipo salvaje) y la enzima mutante?
(b) ¿Qué efecto se observa cuando se repite el experimento variando la concentración de palmitil-CoA? ¿Cuáles son los valores de K_M y $V_{máx}$ para la enzima salvaje y la enzima mutante?
(c) El gráfico C muestra el efecto inhibidor de la malonil-CoA sobre la enzima salvaje y la enzima mutante. ¿Cuál de ellas es más sensible a la inhibición por malonil-CoA? Nota: la malonil-CoA es un sustrato para la síntesis de ácidos grasos (p. 483).
(d) Suponga que la concentración de palmitil-CoA es 100 mM, la de carnitina es 100 mM y la de malonil-CoA es 10 mM. En estas condiciones, ¿cuál es el efecto más importante de la mutación sobre las propiedades de la enzima?
(e) ¿Qué conclusiones se pueden sacar sobre el papel del glutamato 3 en la función de la carnitina aciltransferasa I?

Problemas para atrevidos

31. *Enfermedad de Refsum.* El ácido fitánico es un ácido graso de cadena ramificada que forma parte de la clorofila y es un componente importante de la leche. En las personas afectadas, se puede acumular el ácido fitánico, lo que da lugar a problemas neurológicos. Este síndrome se conoce con el nombre de enfermedad de Refsum o enfermedad del almacenamiento del ácido fitánico. ✓ 1



Ácido fitánico

(a) ¿Por qué se acumula el ácido fitánico?
(b) ¿Qué actividad enzimática se podría inventar para evitar su acumulación?

32. *Prestidigitación.* Los animales no pueden realizar la síntesis neta de glucógeno a partir de ácidos grasos. Sin embargo, si se alimentan animales con lípidos radiactivos (^{14}C), con el tiempo, aparece algo de glucógeno radiactivo. ¿Cómo es posible que aparezca glucógeno radiactivo en estos animales?

33. *Desvío necesario.* Cuando la acetil-CoA producida por la β-oxidación desborda la capacidad del ciclo del ácido cítrico, se producen cuerpos cetónicos. Aunque la acetil-CoA no es tóxica, las mitocondrias tienen que desviar la acetil-CoA hacia la producción de cuerpos cetónicos para seguir funcionando. Explique por qué. ¿Qué ocurriría si no se generasen cuerpos cetónicos?

34. *Una dieta caliente.* El tritio es un isótopo radiactivo del hidrógeno que se puede detectar fácilmente. A una rata se le administra un ácido graso saturado de seis átomos de carbono totalmente tritiado y, después, se realiza una biopsia del músculo de la rata con la ayuda de técnicos de laboratorio serios, discretos y preocupados por el bienestar del animal. Estos técnicos purifican con mucho cuidado toda la acetil-CoA generada por la β-oxidación del ácido graso radiactivo y extraen la CoA para obtener acetato. ¿Cuál será la proporción global tritio/carbono en el acetato obtenido de este modo? ✓ 1

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 28

Síntesis de ácidos grasos

28.1 La síntesis de ácidos grasos tiene lugar en tres etapas

28.2 Enzimas complementarias alargan e introducen insaturaciones en los ácidos grasos

28.3 La acetil-CoA carboxilasa es un regulador clave del metabolismo de los ácidos grasos

28.4 **El metabolismo en su contexto: en el hígado, el etanol altera el metabolismo energético**



Para preparar su hibernación invernal, los osos se alimentan durante el otoño, almacenando el exceso de energía en forma de grasa, concretamente, en forma de triglicéridos. Estas reservas energéticas mantienen al oso durante la hibernación. [Agliolo Sanford/Photolibrary.]

Como ya hemos visto, los ácidos grasos desempeñan varias funciones cruciales en los sistemas biológicos. Por ejemplo, sirven como reserva de combustible, moléculas señal y componentes de los lípidos de membrana. Dado que nuestra dieta satisface nuestras necesidades fisiológicas de grasas y lípidos, los seres humanos adultos apenas necesitan sintetizar ácidos grasos *de novo*. Sin embargo, muchos tejidos, como el hígado y el tejido adiposo, son capaces de sintetizar ácidos grasos y, en determinadas condiciones fisiológicas, esta síntesis es necesaria. Por ejemplo, la síntesis de ácidos grasos es necesaria durante el desarrollo embrionario y, en las glándulas mamarias, durante la lactancia. En el hígado de las personas alcohólicas, la síntesis inapropiada de ácidos grasos contribuye a un fallo hepático (p. 491).

La acetil-CoA, el producto final de la degradación de los ácidos grasos, es el precursor de prácticamente todos los ácidos grasos. El reto bioquímico consiste en enlazar unidades de dos átomos de carbono entre sí y reducir los átomos de carbono para formar palmitato, un ácido graso C_{16}. Posteriormente, el palmitato sirve como precursor para la síntesis de otros muchos ácidos grasos.

✓ 3 Explicar cómo se sintetizan los ácidos grasos.

28.1 La síntesis de ácidos grasos tiene lugar en tres etapas

Al igual que en el caso de la degradación de los ácidos grasos, podemos considerar que la *síntesis de ácidos grasos* es un proceso que consta de tres etapas:

1. En una etapa preparatoria, se transfiere acetil-CoA desde las mitocondrias, donde se produce, al citoplasma, donde tiene lugar la síntesis de ácidos grasos. La acetil-CoA se transporta en forma de citrato, que se escinde generando acetil-CoA y oxalacetato.
2. La síntesis de ácidos grasos comienza en el citoplasma con la activación de la acetil-CoA a malonil-CoA, una reacción que se produce en dos pasos.
3. Los intermediarios de la reacción se encuentran unidos a una proteína transportadora de grupos acilo que actúa como una plataforma molecular sobre la que se van construyendo los ácidos grasos. Estas moléculas se sintetizan mediante un ciclo de elongación que incluye cinco pasos y, en cada ciclo, se añaden dos átomos de carbono.

El citrato transporta grupos acetilo desde las mitocondrias al citoplasma

El primer obstáculo bioquímico de la síntesis de ácidos grasos es que la síntesis tiene lugar en el citoplasma, mientras que la acetil-CoA, la materia prima para la síntesis de ácidos grasos, se forma en las mitocondrias. Estos orgánulos no son muy permeables a la acetil-CoA. ¿Cómo se transfieren las moléculas de acetil-CoA al citoplasma? El problema se resuelve transportando acetil-CoA fuera de las mitocondrias en forma de citrato. El citrato se forma en la matriz mitocondrial mediante la condensación de acetil-CoA y oxalacetato (**Figura 28.1**). Esta reacción es la que inicia el ciclo del ácido cítrico cuando se necesita energía. Cuando se han cubierto las necesidades energéticas de una célula, el citrato es trasladado al citoplasma mediante una proteína de transporte, donde es escindido por la *ATP-citrato liasa* a costa de una molécula de ATP generando acetil-CoA citoplasmático y oxalacetato.

$$\text{Citrato} + \text{ATP} + \text{CoA} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{ATP-citrato liasa}} \text{acetil-CoA} + \text{ADP} + \text{P}_\text{i} + \text{oxalacetato}$$

Las reacciones de transporte y escisión se tienen que llevar a cabo ocho veces para suministrar todos los átomos de carbono necesarios para sintetizar palmitato.

Además de ser un precursor para la síntesis de ácidos grasos, el citrato actúa como molécula señal. Inhibe la fosfofructoquinasa, que controla la velocidad de la glucólisis (p. 288). En el citoplasma, el citrato indica un estado rico en energía, una señal de que no hay necesidad de oxidar glucosa.

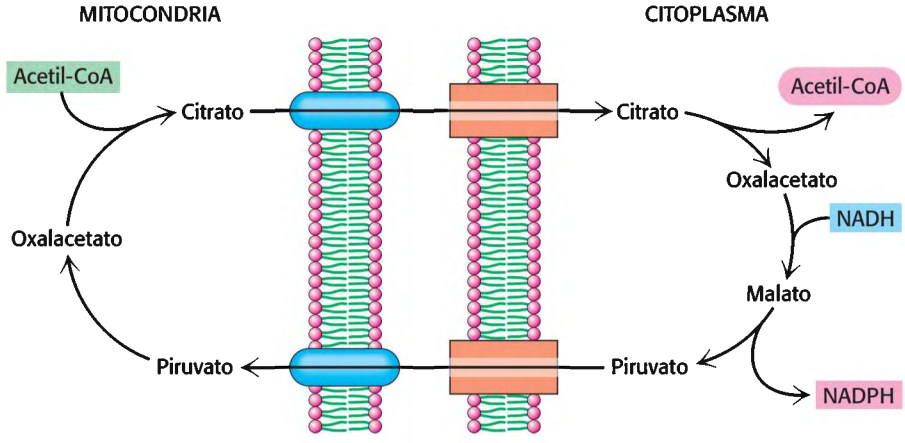


Figura 28.1 Transferencia de acetil-CoA al citoplasma. Mediante esta serie de reacciones, la acetil-CoA se transfiere desde las mitocondrias al citoplasma y, al mismo tiempo, el potencial reductor del NADH se transforma en el del NADPH.

El NADPH que se necesita para la síntesis de ácidos grasos procede de varias fuentes

La síntesis de palmitato requiere 14 moléculas de NADPH, así como el consumo de ATP. Parte del poder reductor se genera cuando el oxalacetato formado durante la transferencia de grupos acetilo al citoplasma regresa a las mitocondrias. La membrana mitocondrial interna es impermeable al oxalacetato. Por tanto, se necesita una serie de reacciones que eviten este problema. En primer lugar, el oxalacetato se reduce a malato por parte del NADH. Esta reacción está catalizada por una *malato deshidrogenasa* citoplasmática.

$$\text{Oxalacetato} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{malato} + \text{NAD}^+$$

En segundo lugar, el malato se descarboxila oxidativamente gracias a una *enzima málica asociada al NADP*$^+$ (o, sencillamente, *enzima málica*).

$$\text{Malato} + \text{NADP}^+ \longrightarrow \text{piruvato} + \text{CO}_2 + \text{NADPH}$$

El piruvato formado en esta reacción entra fácilmente en las mitocondrias, donde es carboxilado a oxalacetato por la *piruvato carboxilasa*.

$$\text{Piruvato} + \text{CO}_2 + \text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{oxalacetato} + \text{ADP} + \text{P}_\text{i} + 2\,\text{H}^+$$

La suma de estas tres reacciones es

$$\text{NADP}^+ + \text{NADH} + \text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{NADPH} + \text{NAD}^+ + \text{ADP} + \text{P}_\text{i} + \text{H}^+$$

De este modo, *se genera una molécula de NADPH por cada molécula de acetil-CoA que se transfiere desde las mitocondrias al citoplasma*. Por tanto, cuando se transfieren ocho moléculas de acetil-CoA al citoplasma se forman ocho moléculas de NADPH para sintetizar palmitato. *Las otras seis moléculas de NADPH que se necesitan para la síntesis del palmitato proceden de la ruta de las pentosas fosfato* (Capítulo 26).

La acumulación de los precursores para la síntesis de los ácidos grasos es un maravilloso ejemplo del uso coordinado de múltiples rutas. El ciclo del ácido cítrico, el transporte de citrato fuera de las mitocondrias y la ruta de las pentosas fosfato suministran los átomos de carbono y el poder reductor, mientras que la glucólisis y la fosforilación oxidativa aportan el ATP que se necesita para sintetizar ácidos grasos (**Figura 28.2**).

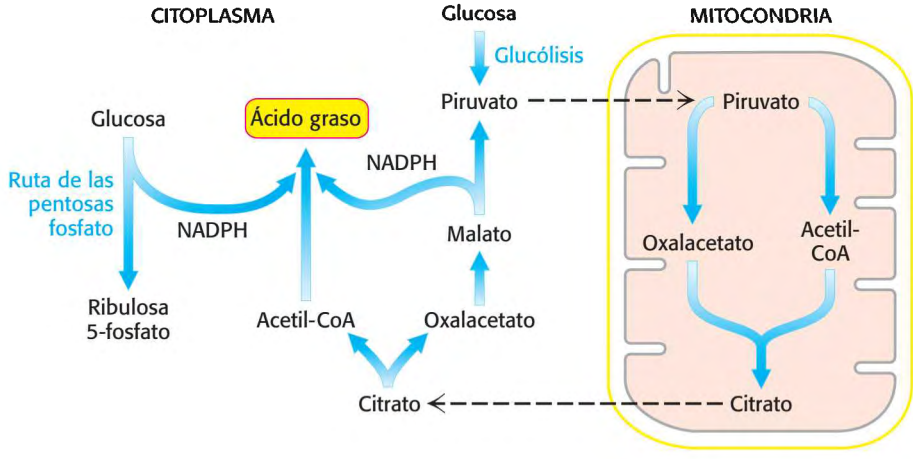
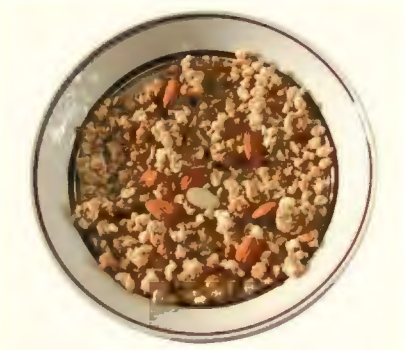


Figura 28.2 INTEGRACIÓN DE RUTAS: SÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS. La síntesis de ácidos grasos requiere la cooperación de varias rutas metabólicas localizadas en compartimentos celulares distintos.

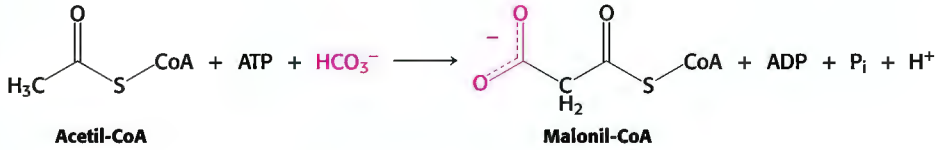
La formación de malonil-CoA es el paso comprometido para la síntesis de ácidos grasos

Como ocurre en la síntesis de cualquier polímero, la síntesis de ácidos grasos necesita un paso de activación. Las síntesis de ácidos grasos comienza con la carboxilación de acetil-CoA a *malonil-CoA*, la forma activada de la acetil-CoA. Como veremos dentro de poco, la malonil-CoA es la donadora de todos los átomos de carbono del ácido palmítico excepto dos.



Biotina Las bacterias que residen en el intestino grueso producen biotina para que la utilice el ser humano. La biotina también se encuentra en una amplia gama de alimentos, tales como hígado, huevos, cereales y nueces.
La insuficiencia de biotina es rara, pero sus síntomas son letargo, dolor muscular, náuseas y dermatitis. [Fotografía tomada de Kheng Gkuan Toh/FeaturePics.]

La acetil-CoA se combina con HCO_3^-, la forma que adopta el CO_2 en disoluciones acuosas. En la síntesis de ácidos grasos, esta reacción irreversible constituye el paso comprometido.



La síntesis de malonil-CoA es un proceso que consta de dos pasos y está catalizado por la *acetil-CoA carboxilasa*, la enzima reguladora clave del metabolismo de los ácidos grasos.

1. La acetil-CoA carboxilasa contiene un grupo prostético biotina. En el primer paso, se forma un intermediario carboxibiotina a expensas de la hidrólisis de una molécula de ATP.

$$\text{Biotina-enzima} + \text{ATP} + HCO_3^- \rightleftharpoons CO_2\text{-biotina} + \text{ADP} + P_i + H^+$$

2. Posteriormente, el grupo CO_2 activado se transfiere a la acetil-CoA formando malonil-CoA.

$$CO_2\text{-biotina-enzima} + \text{acetil-CoA} \longrightarrow \text{malonil-CoA} + \text{biotina-enzima}$$

La síntesis de ácidos grasos consta de una serie de reacciones de condensación, reducción, deshidratación y reducción

El sistema enzimático que cataliza la síntesis de ácidos grasos saturados de cadena larga a partir de acetil-CoA, malonil-CoA y NADPH se denomina *ácido graso sintasa*. De hecho, la sintasa es un complejo formado por distintas enzimas, donde cada una de ellas desempeña una función diferente en la síntesis de ácidos grasos. En bacterias, el complejo enzimático cataliza todos los pasos de la síntesis de ácidos grasos excepto el de activación (**Tabla 28.1**). En bacterias, la fase de elongación de la síntesis de ácidos grasos se inicia cuando la acetil-CoA y la malonil-CoA reaccionan con una proteína que actúa como plataforma de construcción y que se denomina *proteína portadora de acilos* (ACP), formando acetil-ACP y malonil-ACP, respectivamente. Del mismo modo en que la mayoría de los proyectos de construcción necesitan unos cimientos sobre los que construir la estructura, la síntesis de ácidos grasos necesita unos cimientos moleculares. Los intermediarios de la síntesis de ácidos grasos se encuentran unidos al extremo sulfhidrilo de un grupo fosfopanteteína de la ACP —el mismo "extremo funcional" que tiene la CoA— que, a su vez, se encuentra unido a un residuo de serina de la proteína portadora de acilos (**Figura 28.3**).

La proteína portadora de acilos, una única cadena polipeptídica de 77 residuos, se puede considerar como un grupo prostético gigante, una "macro CoA". La *acetiltransacilasa* y la *maloniltransacilasa* catalizan la formación de acetil-ACP y malonil-ACP, respectivamente.

$$\text{Acetil-CoA} + \text{ACP} \rightleftharpoons \text{acetil-ACP} + \text{CoA}$$
$$\text{Malonil-CoA} + \text{ACP} \rightleftharpoons \text{malonil-ACP} + \text{CoA}$$

La síntesis de ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono comienza con propionil-ACP, que se forma a partir de propionil-CoA gracias a la acetil-transacilasa.

Tabla 28.1 Principales reacciones de la síntesis de ácidos grasos en bacterias

Paso	Reacción	Enzima
1	Acetil-CoA + HCO_3^- + ATP ⟶ malonil-CoA + ADP + P_i + H^+	Acetil-CoA carboxilasa
2	Acetil-CoA + ACP ⇌ acetil-ACP + CoA	Acetil-transacilasa
3	Malonil-CoA + ACP ⇌ malonil-ACP + CoA	Maloniltransacilasa
4	Acetil-ACP + malonil-ACP ⟶ acetoacetil-ACP + ACP + CO_2	β-Cetoacilsintasa
5	Acetoacetil-ACP + NADPH + H^+ ⇌ D-3-hidroxibutiril-ACP + $NADP^+$	β-Cetoacilreductasa
6	D-3-Hidroxibutiril-ACP ⇌ crotonil-ACP + H_2O	3-Hidroxiacildeshidratasa
7	Crotonil-ACP + NADPH + H^+ ⟶ butiril-ACP + $NADP^+$	Enoilreductasa

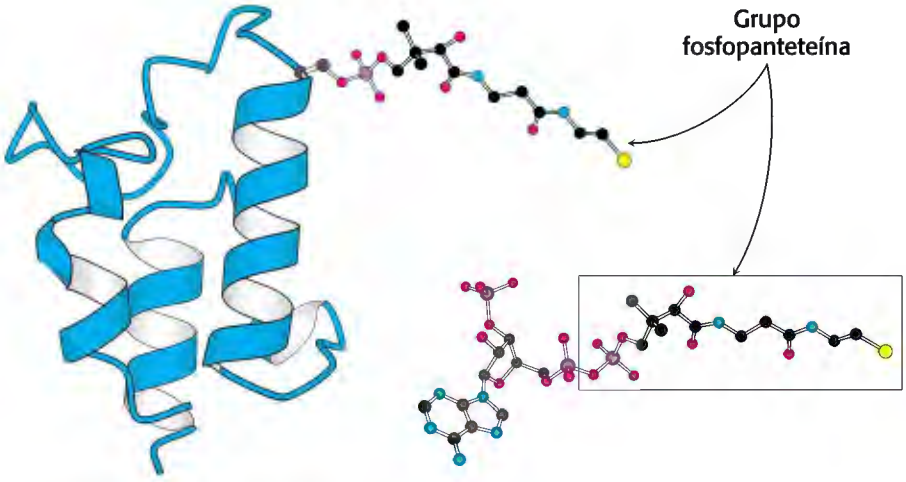


Figura 28.3 Fosfopanteteína. Las unidades reactivas de la proteína portadora de acilos y de la coenzima A contienen fosfopanteteína.

La acetil-ACP y la malonil-ACP reaccionan formando acetoacetil-ACP (Figura 28.4). La *β-cetoacilsintasa*, también denominada enzima condensante, cataliza esta reacción de condensación.

$$\text{Acetil-ACP} + \text{malonil-ACP} \longrightarrow \text{acetoacetil-ACP} + \text{ACP} + CO_2$$

En la reacción de condensación, se forma una unidad de cuatro átomos de carbono a partir de una unidad de dos átomos de carbono y de una unidad de tres átomos de carbono, y se libera CO_2. ¿Por qué no se forma la unidad de cuatro carbonos a partir de dos unidades de dos carbonos —o sea, a partir de dos moléculas de acetil-ACP? El equilibrio para la síntesis de acetoacetil-ACP a partir de dos moléculas de acetil-ACP es muy desfavorable. Por el contrario, *el equilibrio es favorable si el reactante es la malonil-ACP, la forma activada de la acetil-CoA, ya que su descarboxilación provoca una disminución sustancial de la energía libre.* A todos los efectos, el ATP impulsa la reacción de condensación a pesar de que el ATP no interviene directamente en esa reacción. El ATP se usa más bien para carboxilar la acetil-CoA a malonil-CoA, la forma activada de la acetil-CoA. La energía libre almacenada de este modo en la malonil-CoA se libera en la descarboxilación que acompaña la formación de acetoacetil-ACP. Aunque para la síntesis de ácidos grasos se necesita HCO_3^-, su átomo de carbono no aparece en el producto puesto que *todos los átomos de carbono de los ácidos grasos que tienen un número par de átomos de carbono proceden de la acetil-CoA.*

Los tres pasos siguientes de la síntesis de ácidos grasos reducen el grupo ceto (ver el margen) del C-3 a un grupo metileno (—CH_2—; ver la Figura 28.4). En primer lugar, la acetoacetil-ACP se reduce a D-3-hidroxibutiril-ACP. Esta reacción se diferencia en dos aspectos de la correspondiente oxidación en la degradación de los ácidos grasos: (1) se forma el isómero D en vez del L y (2) el agente reductor es el NADPH, mientras que en la β-oxidación, el agente oxidante es el NAD^+. Esta diferencia constituye un ejemplo del principio general de que *en las reacciones biosintéticas se consume NADPH, mientras que en las reacciones que generan energía se forma NADH.* A continuación, la D-3-hidroxibutiril-ACP se *deshidrata* formando crotonil-ACP, que es una *trans*-Δ^2-enoil-ACP. El último paso del ciclo *reduce* la crotonil-ACP a butiril-ACP. De nuevo, el reductor es el NADPH, mientras que el FAD es el oxidante en la reacción correspondiente en la β-oxidación. La enzima que cataliza este paso, la *enoil-ACP reductasa*, se inhibe por el *triclosán*, un agente antibacteriano de amplio espectro que se añade a diversos productos, como pasta de dientes, jabones y cremas para la piel. Estas tres últimas reacciones —una reducción, una deshidratación y una segunda reducción— convierten la acetoacetil-ACP en butiril-ACP, con lo que se completa el primer ciclo de elongación.

En la segunda ronda de la síntesis de ácidos grasos, la butiril-ACP se condensa con otra malonil-ACP formando una C_6-β-cetoacil-ACP. Esta reacción es como la de la primera ronda, en la que la acetil-ACP se condensa con la malonil-ACP formando una C_4-β-cetoacil-ACP. Una reducción, una deshidratación y una segunda reducción

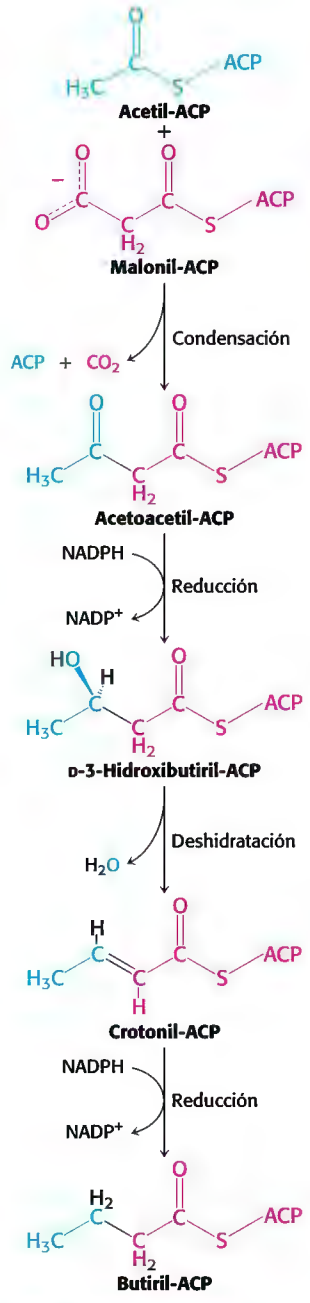
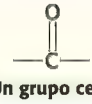
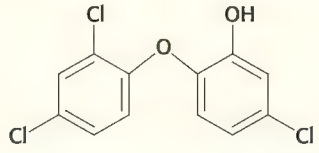


Figura 28.4 Síntesis de ácidos grasos. Los ácidos grasos se sintetizan mediante la repetición de la siguiente secuencia de reacciones: condensación, reducción, deshidratación y reducción. Los intermediarios mostrados en la figura son los que se forman en la primera ronda de la síntesis.


Un grupo ceto

El triclosán se une a la reductasa por el lugar de unión al sustrato enoílo, formando un complejo ternario estable con la enzima y con el cofactor $NADP^+$. La formación del complejo ternario explica la efectividad del triclosán como agente antibacteriano.



convierten la C_6-β-cetoacil-ACP en C_6-acil-ACP que está lista para una tercera ronda de elongación. Los ciclos de elongación continúan hasta que se forma C_{16}-acil-ACP. Este intermediario es un buen sustrato para una tioesterasa que hidroliza C_{16}-acil-ACP liberando la cadena de ácido graso de la proteína transportadora. Como actúa de manera selectiva sobre la C_{16}-acil-ACP, *la tioesterasa actúa como una regla que determina la longitud de la cadena del ácido graso*. La síntesis de ácidos grasos de cadenas más largas se estudia en la sección 28.2.

La síntesis de palmitato necesita 8 moléculas de acetil-CoA, 14 moléculas de NADPH y 7 moléculas de ATP

Ahora que hemos visto todas las reacciones individuales de la síntesis de ácidos grasos, consideremos la reacción global para la síntesis del palmitato, un ácido graso C_{16}. La estequiometría de la síntesis del palmitato es

$$\text{Acetil-CoA} + 7\ \text{malonil-CoA} + 14\ \text{NADPH} + 7\ H^+ \longrightarrow \text{palmitato} + 7\ CO_2 + 14\ NADP^+ + 8\ \text{CoA} + 6\ H_2O$$

La ecuación para la síntesis de malonil-CoA utilizada en la reacción anterior es

$$7\ \text{acetil-CoA} + 7\ CO_2 + 7\ \text{ATP} \longrightarrow 7\ \text{malonil-CoA} + 7\ \text{ADP} + 7\ P_i + 7\ H^+$$

Por tanto, la estequiometría global de la síntesis del palmitato es

$$8\ \text{acetil-CoA} + 7\ \text{ATP} + 14\ \text{NADPH} \longrightarrow \text{palmitato} + 14\ NADP^+ + 8\ \text{CoA} + 6\ H_2O + 7\ \text{ADP} + 7\ P_i$$

En los animales, los ácidos grasos se sintetizan mediante un complejo enzimático multifuncional

Aunque las reacciones bioquímicas básicas de la síntesis de ácidos grasos en *E. coli* y en eucariotas son parecidas, la estructura de la sintasa difiere de manera considerable. Las enzimas que forman parte de las ácido graso sintasas animales, a diferencia de las de *E. coli* y plantas, se encuentran unidas es una gran cadena polipeptídica.

Recientemente, se ha determinado la estructura de gran parte de la ácido graso sintasa de mamíferos, quedando por resolver las estructuras de la proteína portadora de acilos y de la tioesterasa. La enzima es un dímero de subunidades idénticas de 270 kDa. Cada cadena contiene todos los centros activos necesarios para su actividad, así como una proteína portadora de acilos que se encuentra conectada al complejo (**Figura 28.5**A). A pesar del hecho de que cada cadena posee todas las enzimas necesarias para la síntesis de ácidos grasos, los monómeros no son activos. Se necesita un dímero.

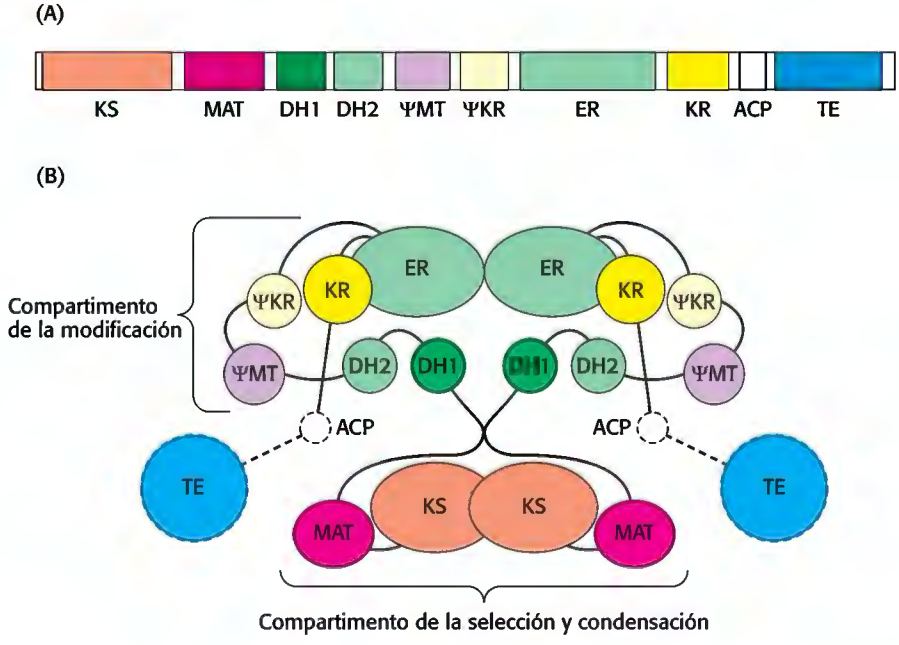


Figura 28.5 Representación esquemática de una única cadena de la ácido graso sintasa de animales (A) Disposición de las actividades catalíticas presentes en una única cadena polipeptídica. (B) Esquema del dímero basado en resultados de cristalografía de rayos X. Los dominios Ψ-MT y Ψ-KR son inactivos y sus secuencias son similares a las de metiltransferasas y cetorreductasas, respectivamente. Aunque hay dos dominios DH, solo uno es activo. Los dominios inactivos se muestran con colores menos intensos. Las líneas punteadas indican aquellos dominios cuya estructura aún no se ha determinado. Abreviaturas: KS, β-cetoacetilsintasa; MAT, malonilacetiltransferasa; DH, deshidratasa; Ψ-MT, metiltransferasa (inactiva); ΨKR, cetorreductasa (inactiva), ER; enoilreductasa; KR,cetorreductasa; ACP, proteína transportadora de acilos; TE, tioesterasa.

Las dos cadenas del complejo interaccionan de modo que las actividades enzimáticas se encuentran repartidas en dos compartimentos distintos (Figura 28.5B). El compartimento de selección y condensación se une a los sustratos acetilo y malonilo y los condensa formando la cadena que se irá alargando. Curiosamente, la ácido graso sintasa de mamíferos tiene un centro activo, malonilacetil-transacilasa, que se puede unir tanto a la acetil-CoA como a la malonil-CoA. Por el contrario, casi todas las demás ácido graso sintasas presentan dos actividades enzimáticas distintas, una para la acetil-CoA y otra para la malonil-CoA. El compartimento de modificación es responsable de las actividades de reducción y deshidratación que dan lugar al producto, un ácido graso saturado.

Muchos complejos multienzimáticos eucarióticos son proteínas multifuncionales formadas por enzimas distintas unidas covalentemente. Una ventaja de esta disposición es que se coordina la actividad sintética de las diversas enzimas. Además, los intermediarios se pueden enviar de un centro activo a otro de forma muy eficiente, sin que abandonen el complejo.

? PREGUNTA RÁPIDA 1 ¿Cuáles son las materias primas para la síntesis de ácidos grasos? ¿Cómo se obtienen?

Aspecto clínico

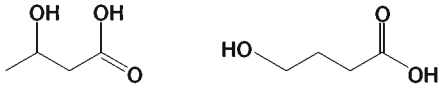
Los inhibidores de la ácido graso sintasa pueden ser fármacos útiles

En la mayoría de los cánceres humanos se sobreexpresa la ácido graso sintasa y su expresión está correlacionada con la malignidad del tumor. Los ácidos grasos no se almacenan como fuente de energía sino que, más bien, se utilizan como precursores para la síntesis de los fosfolípidos que, posteriormente, se incorporarán a las membranas de las células cancerosas en rápido crecimiento. Los investigadores que se han sentido intrigados por esta observación han probado inhibidores de la ácido graso sintasa en ratones para ver si los inhibidores ralentizaban el crecimiento del tumor. Estos inhibidores ralentizan, de hecho, el crecimiento del tumor, aparentemente, porque inducen la muerte celular programada. Sin embargo, también observaron algo sorprendente: *los ratones tratados con inhibidores de la β-cetoacilsintasa (la enzima condensante) experimentaron una notable pérdida de peso* porque comían menos. Por tanto, los inhibidores de la ácido graso sintasa son candidatos interesantes tanto para desarrollar fármacos antitumorales como para desarrollar fármacos que combatan la obesidad. ■

Aspecto clínico

Un pequeño ácido graso que provoca grandes problemas

El ácido γ-hidroxibutírico (GHB) es un ácido graso de cadena corta que es un isómero del ácido β-hidroxibutírico. La versión acilada del ácido β-hidroxibutírico es un metabolito de la síntesis y degradación de los ácidos grasos. La forma ionizada de esta molécula es un cuerpo cetónico.



Ácido β-hidroxibutírico **Ácido γ-hidroxibutírico**

Esta pequeña diferencia química en cuanto a la localización del grupo alcohol (—OH) tiene gran repercusión sobre los efectos de estos dos compuestos químicos. El GHB está presente en pequeñas cantidades en el cerebro, donde se cree que podría ser un neurotransmisor. El GHB se ha utilizado clínicamente como anestésico y para el tratamiento de la narcolepsia y del alcoholismo, pero se empezó a utilizar con fines recreativos después de que los culturistas descubriesen que estimulaba la liberación de la hormona del crecimiento. Se convirtió en una droga muy popular, ya que se asegura que provoca la desinhibición y el aumento de la concienciación sexual, y es tristemente célebre porque se suele utilizar para eliminar la resistencia a contraer relaciones sexuales en casos de violación. El GHB también se conoce como G, éxtasis líquido, gib o líquido X, entre otras denominaciones. En 1990 se prohibió su uso sin prescripción facultativa. ■

28.2 Enzimas complementarias alargan e introducen insaturaciones en los ácidos grasos

El principal producto de la ácido graso sintasa es el palmitato, un ácido graso de 16 átomos de carbono. Sin embargo, todas las células necesitan ácidos grasos de cadena más larga para diversos fines, entre los que se incluye la síntesis de moléculas señal. En eucariotas, enzimas de la cara citoplasmática de la membrana del retículo endoplasmático catalizan las reacciones de elongación que dan lugar a la formación de ácidos grasos más largos. Estas reacciones utilizan malonil-CoA para añadir, de forma secuencial, unidades de dos átomos de carbono a los extremos carboxilo de los sustratos, que pueden ser acil-CoA saturadas o insaturadas.

Enzimas unidas a membrana generan ácidos grasos insaturados

$CH_3(CH_2)_{16}COO^-$
Estearato

$CH_3(CH_2)_7CH{=}CH(CH_2)_7COO^-$
Oleato

Los sistemas del retículo endoplasmático también introducen dobles enlaces en las acil-CoA de cadena larga, un paso importante para la síntesis de importantes moléculas señal, como las *prostaglandinas*. Por ejemplo, durante la conversión de estearil-CoA en oleil-CoA se inserta un doble enlace *cis*-Δ^9 gracias a una oxidasa que utiliza *oxígeno molecular* y *NADH* (o *NADPH*).

$$\text{Estearil-CoA} + \text{NADH} + \text{H}^+ + \text{O}_2 \longrightarrow \text{oleil-CoA} + \text{NAD}^+ + 2\,\text{H}_2\text{O}$$

En mamíferos, los ácidos grasos insaturados proceden del palmitoleato (16:1, 16 átomos de carbono, un doble enlace), oleato (18:1), linoleato (18:2) o linolenato (18:3). *Los mamíferos carecen de enzimas para introducir dobles enlaces en los átomos de carbono situados más allá del C-9 en la cadena de ácido graso*. Por tanto, los mamíferos no pueden sintetizar linoleato (18:2 *cis*-Δ^9, Δ^{12}) ni linolenato (18:3 *cis*-Δ^9, Δ^{12}, Δ^{15}). *El linoleato y el linolenato son dos ácidos grasos esenciales*, lo que significa que tienen que ser suministrados por la dieta, ya que son necesarios para el organismo y no se pueden sintetizar de forma endógena. El linoleato (ω-6) y el linolenato (ω-3) son los ácidos grasos omega (ω) de los que tanto hemos oído hablar. El linoleato y el linolenato aportados por la dieta son los puntos de partida para la síntesis de otros muchos ácidos grasos insaturados, entre los que se incluyen ciertas hormonas. El aceite de cártamo y el aceite de maíz son fuentes particularmente ricas en linoleato, mientras que el aceite de colza y el aceite de soja nos aportan linolenato.

Precursor	Fórmula
Linolenato (ω-3)	$CH_3{-}(CH_2)_2{=}CH{-}R$
Linoleato (ω-6)	$CH_3{-}(CH_2)_5{=}CH{-}R$
Palmitoleato (ω-7)	$CH_3{-}(CH_2)_6{=}CH{-}R$
Oleato (ω-9)	$CH_3{-}(CH_2)_8{=}CH{-}R$

Las hormonas eicosanoides se sintetizan a partir de los ácidos grasos poliinsaturados

El *araquidonato*, un ácido graso 20:4 que se obtiene a partir del linoleato, es el principal precursor de varios tipos de moléculas señal: prostaglandinas, prostaciclinas, tromboxanos y leucotrienos (Figura 28.6). Las prostaglandinas y otras moléculas señal parecidas se denominan *eicosanoides* (del griego *eikosi*, que significa "veinte") porque contienen 20 átomos de carbono.

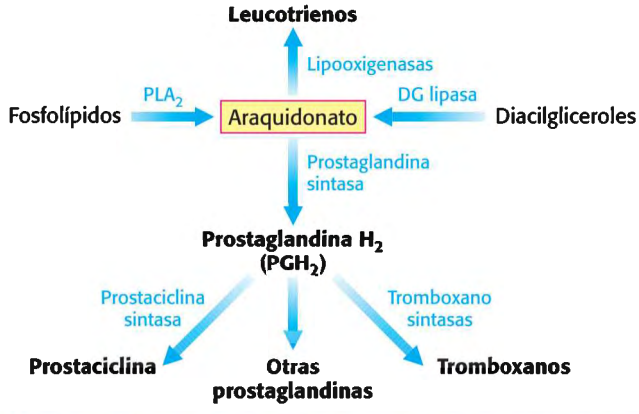


Figura 28.6 El araquidonato es el principal precursor de las hormonas eicosanoides.
La prostaglandina sintasa cataliza el primer paso de una ruta que genera prostaglandinas, prostaciclinas y tromboxanos. Las lipooxigenasas catalizan el paso inicial de una ruta que genera leucotrienos. Abreviaturas: PLA_2, fosfolipasa A_2; DG, diacilglicerol.

Las prostaglandinas y otros eicosanoides son *hormonas locales*. Tienen una vida media corta y solo modifican la actividad de las células que las han sintetizado y de las que se encuentran en sus inmediaciones mediante su unión a receptores de membrana. Sus efectos pueden variar de un tipo de célula a otro. Entre otros efectos, las prostaglandinas estimulan la inflamación, regulan el flujo de sangre hacia determinados órganos, controlan el transporte de iones a través de membranas, modulan la transmisión sináptica e inducen el sueño.

Aspecto clínico

La aspirina ejerce sus efectos modificando covalentemente una enzima clave

La aspirina bloquea el acceso al centro activo de la enzima que convierte el araquidonato en prostaglandina H_2 (p. 201). Como el araquidonato es el precursor de otras prostaglandinas, prostaciclinas y tromboxanos, el bloqueo de este paso afecta a muchas rutas de señalización. Es responsable de la amplia gama de efectos que la aspirina y compuestos parecidos provocan sobre la inflamación, la fiebre, el dolor y la coagulación de la sangre. ■

28.3 La acetil-CoA carboxilasa es un regulador clave del metabolismo de los ácidos grasos

✓ 4 Explicar cómo se regula el metabolismo de los ácidos grasos.

El metabolismo de los ácidos grasos está rigurosamente controlado para que su síntesis y degradación respondan rápidamente a las necesidades fisiológicas. La síntesis de ácidos grasos es máxima cuando hay carbohidratos y energía en abundancia, y cuando hay escasez de ácidos grasos. *La acetil-CoA carboxilasa desempeña un papel esencial a la hora de regular la síntesis y degradación de ácidos grasos*. Recordemos que esta enzima cataliza el paso comprometido en la síntesis de ácidos grasos: la producción de malonil-CoA (la donadora activada de unidades de dos carbonos). Esta importante enzima está sometida tanto a regulación local como a regulación hormonal. Vamos a estudiar cada uno de estos niveles de regulación por separado.

La acetil-CoA carboxilasa se regula mediante las condiciones celulares

La acetil-CoA carboxilasa responde a cambios en su entorno inmediato, *se desactiva mediante fosforilación y se activa mediante desfosforilación* (**Figura 28.7**). La *proteína quinasa dependiente de AMP* (AMPK) convierte la carboxilasa en su forma inactiva modificando un único residuo de serina. Básicamente, la AMPK es un indicador del nivel de combustible; se activa por AMP y se inhibe por ATP. De este modo, la carboxilasa se inactiva cuando la carga energética es baja. Si se necesita energía, no se sintetizan grasas.

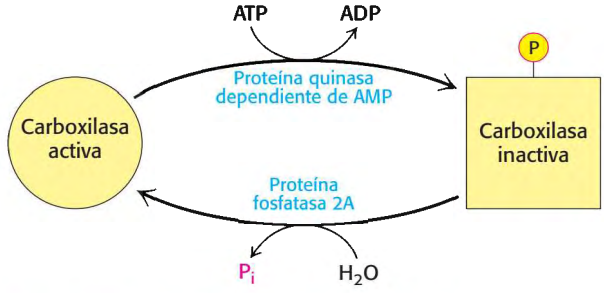


Figura 28.7 Control de la acetil-CoA carboxilasa. La acetil-CoA carboxilasa se inhibe mediante fosforilación.

La carboxilasa también se estimula alostéricamente mediante citrato. Esta molécula actúa de forma atípica sobre la acetil-CoA carboxilasa inactiva, que se encuentra formando dímeros aislados. El citrato facilita la polimerización de los dímeros inactivos que da lugar a filamentos activos (**Figura 28.8**). La polimerización inducida por citrato puede revertir parcialmente la inhibición producida por la fosforilación (**Figura 28.9**). El nivel de citrato es elevado cuando tanto la acetil-CoA como el ATP son abundantes, lo que significa que hay materias primas y energía disponible para la síntesis de ácidos grasos. El efecto estimulador del citrato sobre la carboxilasa es contrarrestado por la *palmitil-CoA*, que se encuentra en abundancia cuando hay un exceso de ácidos grasos. La palmitil-CoA hace que se descompongan los filamentos, dando lugar a subunidades inactivas. Así mismo, la palmitil-CoA también inhibe la translocasa que transporta el citrato desde las mitocondrias al citoplasma, así como la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, la enzima reguladora de la fase oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato.

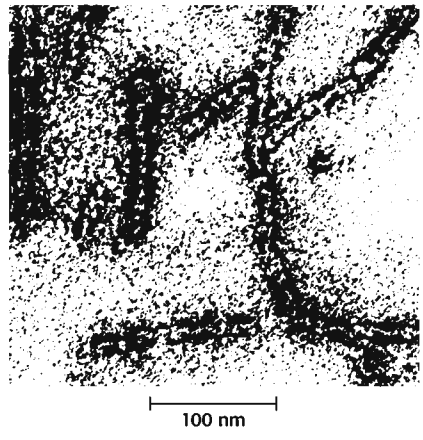


Figura 28.8 Filamentos de acetil-CoA carboxilasa. Micrografía electrónica que muestra la forma filamentosa enzimáticamente activa de la acetil-CoA carboxilasa obtenida a partir de hígado de pollo. La forma inactiva es un dímero de subunidades de 265 kDa. [Cortesía del Dr. M. Daniel Lane.]

La acetil-CoA carboxilasa también desempeña un papel en la regulación de la degradación de los ácidos grasos. Cuando hay moléculas combustible en abundancia, el nivel de malonil-CoA, el producto de la reacción de la carboxilasa, es elevado. *La malonil-CoA inhibe la carnitina aciltransferasa I, lo que evita la entrada de acil-CoA*

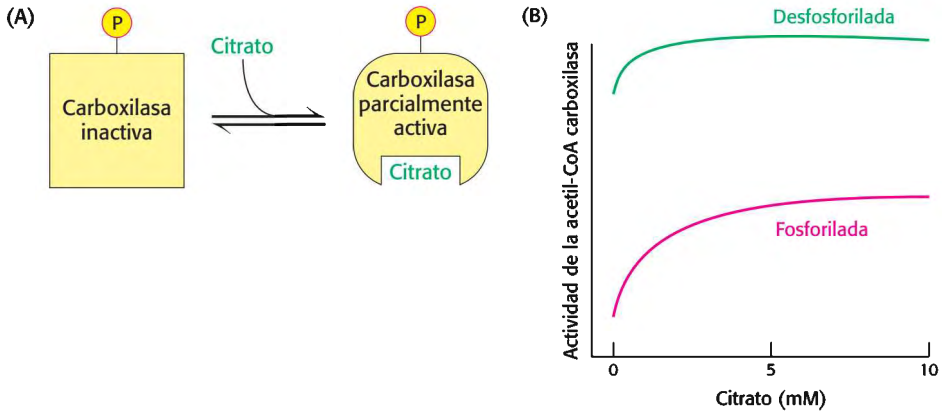


Figura 28.9 Actividad catalítica de la acetil-CoA carboxilasa en función de la concentración de citrato. (A) El citrato puede activar parcialmente la carboxilasa fosforilada. (B) La forma desfosforilada de la carboxilasa es muy activa, incluso en ausencia de citrato. El citrato contrarresta, en parte, la inhibición provocada por la fosforilación. [Tomado de G. M. Mabrouk, I. M. Helmy, K. G. Thampy, and S. J. Wakil. *J. Biol. Chem.* 265: 6330–6338, 1990.]

en la matriz mitocondrial en épocas de abundancia. La malonil-CoA es un inhibidor particularmente eficaz de la carnitina aciltransferasa I del corazón y del músculo, tejidos que, por sí mismos, tienen una capacidad limitada para sintetizar ácidos grasos. En estos tejidos, la acetil-CoA carboxilasa puede ser una enzima exclusivamente reguladora.

La acetil-CoA carboxilasa se regula mediante diversas hormonas

La carboxilasa también está controlada por las hormonas glucagón, adrenalina e insulina, que indican el estatus energético global del organismo. *La insulina estimula la síntesis de ácidos grasos activando la carboxilasa, mientras que el glucagón y la adrenalina tienen el efecto opuesto*.

Regulación por glucagón y adrenalina Consideremos, como se hizo en el Capítulo 27, una persona que se acaba de despertar del sueño nocturno y comienza a hacer ejercicio. Las reservas de glucógeno estarán bajas, pero los lípidos están disponibles para su movilización. Las hormonas glucagón y adrenalina, presentes en condiciones de ayuno y durante el ejercicio, estimularán la movilización de los ácidos grasos a partir de los triacilgliceroles de las células adiposas, que se liberarán en la sangre y, probablemente, en las células musculares, donde los ácidos grasos serán inmediatamente utilizados como combustible. Estas mismas hormonas inhibirán la síntesis de ácidos grasos inhibiendo la acetil-CoA carboxilasa. Aunque el mecanismo exacto mediante el cual estas hormonas ejercen sus efectos es complejo, el resultado neto consiste en aumentar la inhibición de la quinasa dependiente de AMP. Este resultado tiene mucha lógica desde el punto de vista fisiológico: cuando el nivel energético de una célula es bajo, como indica una elevada concentración de AMP, y el nivel energético del organismo es bajo, como indica la presencia de glucagón, no se deberían sintetizar grasas. La adrenalina, que es una señal de que se necesita energía de forma inmediata, intensifica este efecto. Por tanto, *estas hormonas catabólicas desactivan la síntesis de ácidos grasos manteniendo la carboxilasa en su estado fosforilado, inactivo*.

Regulación por insulina Consideremos ahora la situación tras finalizar el ejercicio y tras haber comido. En este caso, la hormona insulina inhibe la movilización de los ácidos grasos y estimula su acumulación en forma de triglicéridos tanto en el músculo como en el tejido adiposo. La insulina también estimula la síntesis de ácidos grasos estimulando la actividad de una proteína fosfatasa que desfosforila y activa la acetil-CoA carboxilasa. De este modo, las moléculas señal glucagón, adrenalina e insulina actúan de forma concertada sobre el metabolismo del triacilglicerol y sobre la acetil-CoA carboxilasa para regular con sumo cuidado la utilización y el almacenamiento de los ácidos grasos.

Respuesta a la dieta *El control a largo plazo se realiza mediante cambios en las velocidades de síntesis y degradación de las enzimas que intervienen en la síntesis de ácidos grasos*. Los animales que, tras haber ayunado, son sometidos a una dieta rica en carbohidratos y pobre en grasas muestran, al cabo de unos pocos días, un notable incremento

en las concentraciones de acetil-CoA carboxilasa y ácido graso sintasa. Este tipo de regulación se denomina *control adaptativo*. Esta regulación, en la que intervienen tanto la insulina como la glucosa, se realiza a nivel de la transcripción génica.

? PREGUNTA RÁPIDA 2 ¿Cómo se coordinan la síntesis y la degradación de los ácidos grasos?

28.4 El metabolismo en su contexto: en el hígado, el etanol altera el metabolismo energético

El etanol ha formado parte de la dieta de los seres humanos durante siglos (**Figura 28.10**). De hecho, en todo el mundo, solo el agua y el té se consumen más que la cerveza. Sin embargo, el consumo excesivo de etanol puede dar lugar a una serie de problemas de salud, sobre todo, daños en el hígado. ¿Cuál es el fundamento bioquímico de estos problemas de salud?

El etanol no se puede excretar y, por tanto, tiene que ser metabolizado, fundamentalmente en el hígado. Hay varias rutas para el metabolismo del etanol. Una de ellas consta de dos pasos. El primer paso tiene lugar en el citoplasma:

$$\underset{\text{Etanol}}{CH_3CH_2OH} + NAD^+ \xrightarrow{\text{Alcohol deshidrogenasa}} \underset{\text{Acetaldehído}}{CH_3CHO} + NADH + H^+$$

El segundo paso tiene lugar en las mitocondrias.

$$\underset{\text{Acetaldehído}}{CH_3CHO} + NAD^+ + H_2O \xrightarrow{\text{Aldehído deshidrogenasa}} \underset{\text{Acetato}}{CH_3COO^-} + NADH + H^+$$

Observe que el consumo de etanol da lugar a la acumulación de NADH. Esta elevada concentración de NADH inhibe la gluconeogénesis evitando la oxidación del lactato a piruvato. De hecho, la elevada concentración de NADH hará que predomine la reacción inversa: se acumulará lactato. Las consecuencias pueden ser hipoglucemia (niveles reducidos de glucosa en sangre) y acidosis láctica.

El exceso de NADH también inhibe la oxidación de los ácidos grasos. El objetivo metabólico de la oxidación de los ácidos grasos es generar NADH para la síntesis de ATP por medio de la fosforilación oxidativa (Capítulo 27). Sin embargo, las necesidades de NADH de una persona que consume alcohol son cubiertas por el metabolismo del etanol. De hecho, el exceso de NADH es una señal de que se dan las condiciones adecuadas para la síntesis de ácidos grasos. Por tanto, se acumulan ácidos grasos en el hígado, lo que da lugar a una enfermedad denominada "hígado graso".



Figura 28.10 Bebidas alcohólicas. La importancia cultural del vino queda reflejada en este detalle de un mosaico del siglo IV de una bóveda del mausoleo de Santa Constanza, en Italia. El mausoleo fue construido por el emperador romano Constantino para albergar los restos mortales de su hija Constanza. Los *putti*, criaturas con aspecto de Cupido, están recolectando uvas para fabricar vino, mientras que una de las hijas de Constantino, probablemente Constanza, les observa desde arriba. [The Art Archive/ Corbis.]

¿Cuáles son los efectos de los demás metabolitos del etanol? Las mitocondrias del hígado pueden convertir acetato en acetil-CoA mediante una reacción que necesita ATP. La enzima es la misma que, normalmente, activa los ácidos grasos —la acil-CoA sintetasa.

$$\text{Acetato} + \text{CoA} + \text{ATP} \longrightarrow \text{acetil-CoA} + \text{AMP} + \text{PP}_i$$
$$\text{PP}_i \longrightarrow 2\ \text{P}_i$$

Sin embargo, el metabolismo posterior de la acetil-CoA a través del ciclo del ácido cítrico se bloquea porque el NADH inhibe dos importantes enzimas reguladoras del ciclo del ácido cítrico —la isocitrato deshidrogenasa y la α-cetoglutarato deshidrogenasa. La acumulación de acetil-CoA tiene varias consecuencias. En primer lugar, se formarán cuerpos cetónicos que se liberarán a la sangre, agravando las condiciones ácidas que ya existen como resultado de la elevada concentración de lactato. En el hígado, el metabolismo del acetato se vuelve ineficaz, dando lugar a la acumulación de acetaldehído. Este compuesto es muy reactivo y forma enlaces covalentes con muchos grupos funcionales importantes de las proteínas, perjudicando su función. Si se consume gran cantidad de etanol de forma continuada, el acetaldehído puede dañar el hígado de forma significativa, algo que, en última instancia, puede provocar la muerte celular.

Resumen

28.1 La síntesis de ácidos grasos tiene lugar en tres etapas

Los ácidos grasos se sintetizan en el citoplasma mediante una ruta distinta de la β-oxidación. Un ciclo de reacciones basado en la formación y escisión del citrato transporta grupos acetilo desde las mitocondrias al citoplasma. El NADPH que se necesita para la síntesis se genera durante la transferencia de equivalentes de reducción desde las mitocondrias, gracias a la acción conjunta de la malato deshidrogenasa y la enzima málica asociada al $NADP^+$, así como por la ruta de las pentosas fosfato.

La síntesis comienza con la carboxilación de acetil-CoA a malonil-CoA, el paso comprometido. Esta reacción, impulsada por el ATP, está catalizada por la acetil-CoA carboxilasa, una enzima que contiene biotina. Los intermediarios de la síntesis de los ácidos grasos se encuentran unidos a una proteína portadora de acilos. A partir de la acetil-CoA se forma acetil-ACP y a partir de malonil-CoA se forma malonil-ACP. La acetil-ACP y la malonil-ACP se condensan formando acetoacetil-ACP, una reacción impulsada por la liberación de CO_2 a partir de la unidad malonilo activada. A continuación, tienen lugar una reducción, una deshidratación y una segunda reducción. En estos pasos, el agente reductor es el NADPH. La butiril-ACP que se forma de esta manera está lista para una segunda ronda de elongación, que comienza con la adición de una unidad de dos átomos de carbono procedente de la malonil-ACP. Siete rondas de elongación dan lugar a la palmitil-ACP, que se hidroliza a palmitato. En los organismos superiores, las enzimas que catalizan la síntesis de ácidos grasos están unidas covalentemente formando un complejo enzimático multifuncional.

28.2 Enzimas complementarias alargan e introducen insaturaciones en los ácidos grasos

Los sistemas enzimáticos de la membrana del retículo endoplasmático alargan e introducen insaturaciones en los ácidos grasos. La introducción de insaturaciones necesita NADH y O_2. Los mamíferos carecen de enzimas para introducir dobles enlaces más allá del C-9 y, por tanto, necesitan ingerir linoleato y linoleato en su dieta.

El araquidonato, un ácido graso poliinsaturado 20:4, se obtiene a partir del linoleato. El araquidonato es un precursor esencial de varios tipos de moléculas señal —prostaglandinas, prostaciclinas, tromboxanos y leucotrienos— que actúan como mensajeros y como hormonas locales, debido a su breve existencia. Se denominan eicosanoides porque contienen 20 átomos de carbono. La aspirina (acetilsalicilato), un medicamento antiinflamatorio y antitrombótico, bloquea de manera irreversible la síntesis de estos eicosanoides.

28.3 La acetil-CoA carboxilasa es un regulador clave del metabolismo de los ácidos grasos

La síntesis y degradación de ácidos grasos están reguladas de forma recíproca para que no estén activas al mismo tiempo. La acetil-CoA carboxilasa, el punto

de control decisivo, se inactiva al fosforilarse mediante una quinasa dependiente del AMP. La fosforilación se revierte por medio de una proteína fosfatasa. El citrato, que es una señal de que hay materiales de construcción y energía en abundancia, revierte parcialmente la inhibición mediante fosforilación. La actividad de la carboxilasa se estimula por la insulina y se inhibe por glucagón y adrenalina. En épocas de abundancia, los acil-CoA no entran en la matriz mitocondrial porque la malonil-CoA inhibe la carnitina aciltransferasa I.

28.4 El metabolismo en su contexto: en el hígado, el etanol altera el metabolismo energético

El etanol no se puede excretar y, por tanto, se tiene que metabolizar. El metabolismo del etanol genera gran cantidad de NADH. El exceso de NADH inhibe la degradación de los ácidos grasos y estimula su síntesis, lo que da lugar a una acumulación de grasa en el hígado. El exceso de etanol se metaboliza formando acetil-CoA, lo que provoca cetosis, y acetaldehído, un compuesto reactivo que modifica las proteínas y perjudica su función.

Términos clave

síntesis de ácidos grasos (p. 482)
malonil-CoA (p. 483)
acetil-CoA carboxilasa (p. 484)
proteína portadora de acilos (ACP) (p. 484)
prostaglandina (p. 488)
araquidonato (p. 488)
eicosanoide (p. 489)
proteína quinasa dependiente de AMP (AMPK) (p. 489)

Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. El acetil-CoA es el sustrato básico para la síntesis de ácidos grasos. Se transporta al exterior de las mitocondrias en forma de citrato. Tras la formación de acetil-CoA, el oxalacetato resultante se transporta de vuelta a las mitocondrias, al tiempo que se genera NADPH, el poder reductor para la síntesis de ácidos grasos. Se puede generar más NADPH mediante la ruta de las pentosas fosfato. La malonil-CoA, el verdadero sustrato para la síntesis de los ácidos grasos, se forma mediante la carboxilación de la acetil-CoA.

2. La malonil-CoA, el sustrato para la síntesis de ácidos grasos, inhibe la carnitina aciltransferasa I, evitando así el transporte de los ácidos grasos a las mitocondrias para su degradación. La palmitil-CoA inhibe la acetil-CoA carboxilasa, el transporte de citrato al citoplasma y la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, la enzima que controla la ruta de las pentosas fosfato.

Problemas

1. *Fabricando una grasa.* El palmitato es un ácido graso abundante. ¿Cuál es la estequiometría global para la síntesis de palmitato a partir de acetil-CoA? ✓ 3

2. *NADH a NADPH.* ¿Cuáles son las tres reacciones que permiten la conversión de NADH citoplasmático en NADPH? ¿Qué enzimas se necesitan? Muestre la suma de las tres reacciones. ✓ 3

3. *Compromiso para avanzar.* ¿Cuál es el paso comprometido en la síntesis de ácidos grasos? ¿Qué enzima cataliza este paso? ✓ 4

4. *Dulce y picante.* Asigne a cada término la descripción correspondiente.

(a) ATP-citrato liasa _____
(b) Enzima málica _____
(c) Malonil-CoA _____
(d) Acetil-CoA carboxilasa _____
(e) Proteína portadora de acilos _____
(f) β-Cetoacilsintasa _____
(g) Palmitato _____
(h) Eicosanoides _____
(i) Araquidonato _____
(j) Proteína quinasa dependiente de AMP _____

1. Ayuda a generar NADPH a partir de NADH
2. Desactiva la acetil-CoA carboxilasa
3. Molécula sobre la que se sintetizan los ácidos grasos
4. Un precursor de las prostaglandinas
5. Acetil-CoA activada
6. Producto final de la ácido graso sintasa
7. Ácidos grasos que contienen 20 átomos de carbono
8. Cataliza el paso comprometido de la síntesis de ácidos grasos
9. Cataliza la reacción de la acetil-CoA y la malonil-CoA
10. Genera acetil-CoA citoplasmática

5. *Síntesis adaptable.* El miristato, un ácido graso saturado C_{14}, se utiliza como emoliente para cosméticos y medicamentos de uso tópico. Escriba una ecuación ajustada para la síntesis de miristato. ✓ 3

6. *El precio de la limpieza.* El ácido laúrico es un ácido graso C_{12} que no tiene dobles enlaces. La sal sódica del ácido laúrico (laurato sódico) es un detergente común que se utiliza en diversos productos, tales como detergente para la ropa, champú y pasta de dientes. ¿Cuántas moléculas de ATP y de NADPH se necesitan para sintetiza ácido laúrico? ✓ 3

7. *Organización correcta.* Coloque los siguientes pasos de la síntesis de ácidos grasos en el orden correcto. ✓ 3
(a) Deshidratación.
(b) Condensación.
(c) Liberación de un ácido graso C_{16}.
(d) Reducción de un carbonilo.
(e) Formación de malonil-CoA

8. *Sin acceso a sus bienes.* ¿Cuál sería el efecto sobre la síntesis de ácidos grasos de una mutación en la ATP-citrato liasa que redujese la actividad de la enzima? Explique por qué. ✓ 3

9. *Y nada más que la verdad.* Indique si cada uno de los siguientes enunciados es verdadero o falso. Si es falso, explique por qué.
(a) Se necesita biotina para la actividad de la ácido graso sintasa.
(b) En la síntesis de ácidos grasos, la reacción de condensación está impulsada por la descarboxilación de la malonil-CoA.
(c) La síntesis de ácidos grasos no depende del ATP.
(d) El palmitato es el producto final de la síntesis de ácidos grasos.
(e) En mamíferos, todas las actividades enzimáticas que hacen falta para la síntesis de ácidos grasos están presentes en una única cadena polipeptídica.
(f) En mamíferos, la ácido graso sintasa monomérica es activa.
(g) El ácido graso araquidonato es un precursor de moléculas señal.
(h) La acetil-CoA carboxilasa se inhibe por citrato.

10. *Grasas raras fuera.* Explique cómo se sintetizan los ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono.

11. *Un fuerte abrazo.* La avidina, una glicoproteína presente en los huevos, tiene gran afinidad hacia la biotina. La avidina se puede unir a la biotina y evitar que sea utilizada por el organismo. ¿Cómo podría afectar una dieta rica en huevos crudos a la síntesis de ácidos grasos? ¿Qué efectos tendría sobre la síntesis de ácidos grasos una dieta rica en huevos cocinados? ¿Por qué?

12. *¿Alfa u omega?* En la síntesis de ácidos grasos solo se utiliza directamente una molécula de acetil-CoA. Identifique los átomos de carbono de una molécula de ácido palmítico que han sido aportados por la acetil-CoA. ✓ 3

13. *Ahora lo ves, ahora no lo ves.* Aunque se necesita HCO_3^- para la síntesis de ácidos grasos, su átomo de carbono no aparece en el producto. ¿Por qué? . ✓ 4

14. *Siguiendo el rastro de los átomos de carbono.* Consideremos un extracto celular que está sintetizando palmitato activamente. Suponga que, en esta preparación, una ácido graso sintasa genera una molécula de palmitato en unos 5 minutos. De repente, se añade a este sistema una gran cantidad de malonil-CoA en la que todos los átomos de carbono de la unidad malonilo están marcados con ^{14}C y que, un minuto después, se interrumpe la síntesis de ácidos grasos cambiando el pH. Se determina la radiactividad de los ácidos grasos. ¿Qué átomo de carbono del palmitato formado por este sistema será más radiactivo, el C-1 o el C-14?

15. *Impulsada por la descarboxilación.* ¿Cuál es el papel de la descarboxilación en la síntesis de ácidos grasos? Cite otra reacción clave de una ruta metabólica que también utilice este tipo de mecanismo.

16. *Un mutante poco receptivo.* Se induce una mutación en el residuo de serina de la acetil-CoA carboxilasa donde actúa la proteína quinasa dependiente de AMP para sustituirlo por alanina. ¿Cuál será, probablemente, una de las consecuencias de esta mutación? ✓ 4

17. *Todos para uno, uno para todos.* ¿Cuál es el posible inconveniente de tener muchos centros catalíticos juntos en una cadena polipeptídica muy larga?

18. *Seis de uno y media docena del otro.* Las personas que consumen pocas grasas pero demasiados carbohidratos también pueden engordar. ¿Cómo es esto posible?

19. *Prohibido el tráfico.* Tanto la síntesis de ácidos grasos como su degradación se regulan, al menos en parte, controlando el movimiento de moléculas hacia dentro o hacia fuera de las mitocondrias. Ponga dos ejemplos. ✓ 4

Problemas de integración de capítulos

20. *Todo sobre comunicación.* ¿Por qué el citrato es un inhibidor apropiado para la fosfofructoquinasa?

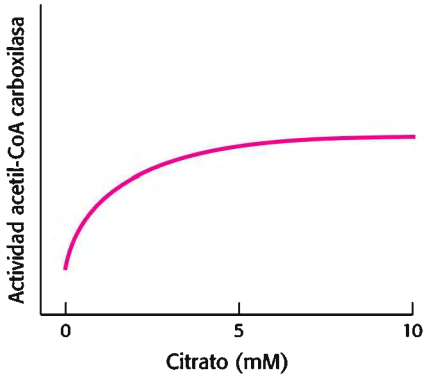
21. *Contrapunto.* Compare y contraste la síntesis y la oxidación de los ácidos grasos en relación a (a) el lugar donde tiene lugar el proceso; (b) el portador de acilos; (c) los reductores y los oxidantes; (d) la estereoquímica de los intermediarios; (e) la dirección de la síntesis o de la degradación; (f) la organización del sistema enzimático.

22. *¿Te resulta familiar?* Una de las reacciones decisivas para la generación de NADPH citoplasmático a partir de NADH citoplasmático también es importante en la gluconeogénesis. ¿De qué reacción se trata? ¿Cuál es el destino inmediato del producto de la reacción en la gluconeogénesis?

23. *Un pie en ambos campos.* ¿Qué papeles desempeña la acetil-CoA carboxilasa en la regulación de la degradación de los ácidos grasos? ✓ 4

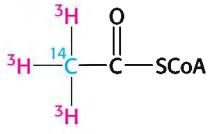
Problema de interpretación de datos

24. *Vienen juntos.* El gráfico adjunto muestra la respuesta de la acetil-CoA carboxilasa fosforilada en función de la concentración de citrato. Explique este efecto teniendo en cuenta los efectos alostéricos que el citrato provoca en la enzima. Pronostique los efectos de concentraciones crecientes de palmitil-CoA. ✓ 4



Problemas para atrevidos

25. *Marcajes.* Suponga que dispone de un sistema para sintetizar ácidos grasos *in vitro* que contiene todas las enzimas y cofactores necesarios para la síntesis de ácidos grasos, pero que no tiene acetil-CoA. Se añade a este sistema acetil-CoA marcada con hidrógeno radiactivo (tritio, ^3H) y carbono 14 (^{14}C), tal y como se muestra en la figura.



La proporción $^3H/^{14}C$ es 3. ¿Cómo será esta proporción en el ácido palmítico (C_{16}) sintetizado a partir de acetil-CoA radiactiva?

26. *Si un poco es bueno, mucho será mejor.* En el hígado, el etanol se puede convertir en acetato gracias a la alcohol deshidrogenasa y a la aldehído deshidrogenasa.

$$CH_3CH_2OH + NAD^+ \xrightleftharpoons{\text{Alcohol deshidrogenasa}} CH_3CHO + NADH + H^+$$

Etanol — Acetaldehído

$$CH_3CHO + NAD^+ \xrightleftharpoons{\text{Aldehído deshidrogenasa}} CH_3COO^2 + NADH + H^+$$

Acetaldehído — Acetato

Estas reacciones alteran la proporción $NAD^+/NADH$ en el hígado. ¿Qué efecto tendrá esta alteración sobre la glucólisis, la gluconeogénesis, el metabolismo de los ácidos grasos y el ciclo del ácido cítrico? ✓ 4

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 29

Síntesis de lípidos: almacenamiento de lípidos, de fosfolípidos y de colesterol

29.1 El fosfatidato es un precursor de los lípidos de reserva y de muchos lípidos de membrana

29.2 El colesterol se sintetiza a partir de acetil-coenzima A en tres etapas

29.3 La regulación de la síntesis de colesterol tiene lugar a varios niveles

29.4 Las lipoproteínas transportan colesterol y triacilgliceroles por todo el organismo

29.5 El colesterol es el precursor de las hormonas esteroideas



Las grasas se convierten en moléculas de triacilglicerol, que muchos organismos utilizan tanto para almacenar el excedente de energía para su uso posterior como para desempeñar otros fines, lo cual se refleja en la grasa aislante de las ballenas. La tendencia natural de las grasas a presentarse en formas prácticamente libres de agua hace que estas moléculas sean muy apropiadas para desempeñar estas funciones. [Ralph Lee Hopkins/National Geographic Image Collection/Alamy.]

Ahora, tras haber visto el metabolismo de los ácidos grasos, vamos a estudiar el metabolismo de los lípidos, que se construyen a partir de ácidos grasos o de los productos de su descomposición. Consideraremos tres clases de lípidos: triacilgliceroles, que son la forma de almacenamiento de los ácidos grasos, los lípidos de membrana, que incluyen los fosfolípidos y los esfingolípidos, y el colesterol que, además de formar parte de la membrana, es un precursor de las hormonas esteroideas.

✓ 5 Describir la relación que hay entre la síntesis de triacilgliceroles y la síntesis de fosfolípidos.

29.1 El fosfatidato es un precursor de los lípidos de reserva y de muchos lípidos de membrana

La **Figura 29.1** ofrece una panorámica amplia de la síntesis de lípidos. Tanto la síntesis de triacilglicerol como la de fosfolípidos comienzan con el precursor *fosfatidato* (diacilglicerol 3-fosfato). El fosfatidato se forma mediante la adición de dos ácidos grasos al *glicerol 3-fosfato*. En la mayoría de los casos, primero se transfiere un grupo acilo, procedente de una acil-CoA saturada, al glicerol 3-fosfato formando *lisofosfatidato* que, a su vez, recibe otro grupo acilo que, normalmente, procede de una acil-CoA insaturada, formandose así fosfatidato.

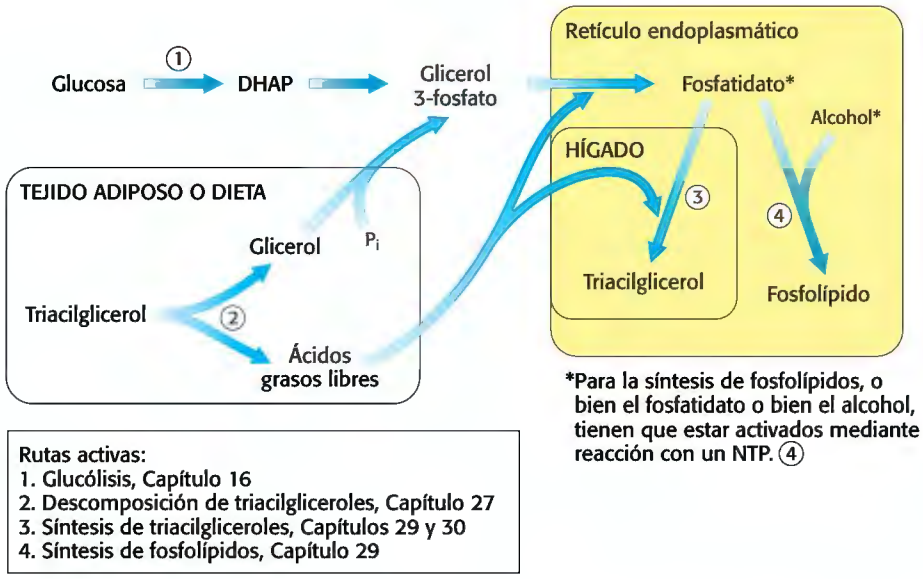
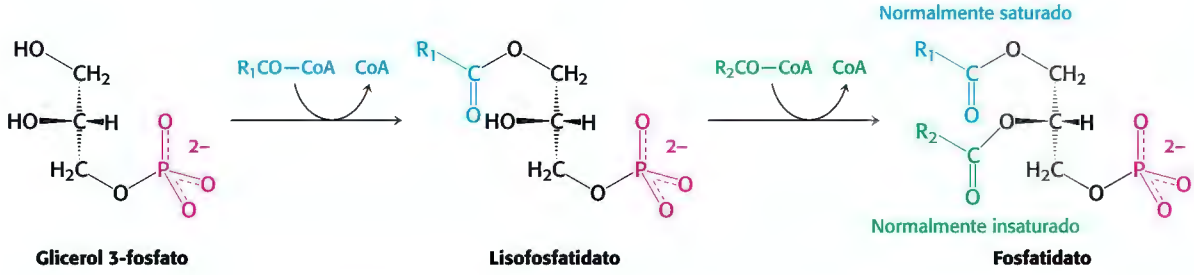
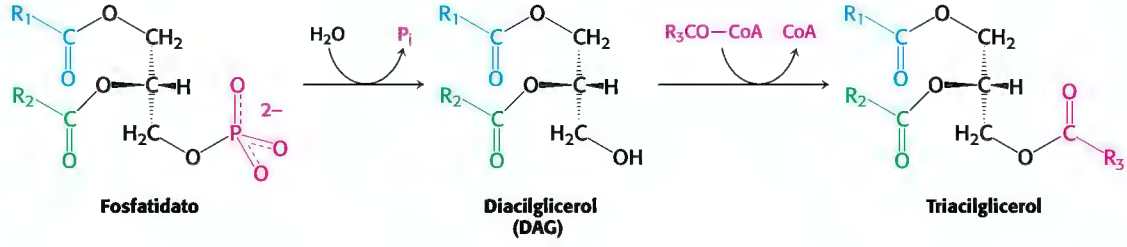


Figura 29.1 INTEGRACIÓN DE RUTAS: Fuentes que suministran intermediarios para la síntesis de triacilgliceroles y fosfolípidos. El fosfatidato, sintetizado a partir de la dihidroxiacetona fosfato (DHAP) producida en la glucólisis y de los ácidos grasos, puede seguir siendo metabolizado para producir triacilgliceroles o fosfolípidos. En todas las células se producen continuamente tanto fosfolípidos como otros lípidos de membrana.



El triacilglicerol se sintetiza a partir del fosfatidato en dos pasos

Las rutas se separan a partir del fosfatidato. La síntesis de triacilglicerol se completa mediante un *complejo triacilglicerol sintasa* que se encuentra unido a la membrana del retículo endoplasmático. El fosfatidato se hidroliza formando diacilglicerol (DAG) que, posteriormente, recibe un grupo acilo dando lugar a un *triacilglicerol.*



El hígado es el principal lugar donde se produce la síntesis de triacilglicerol. Desde el hígado, los triacilgliceroles son transportados a los músculos, para que sean utilizados como combustible, o al tejido adiposo, para que se almacenen. Aproximadamente, el 85% de la energía de una persona no obesa se almacena en forma de triacilglicerol, principalmente, en el tejido adiposo.

La síntesis de fosfolípidos necesita precursores activados

El fosfatidato también es el precursor de los *fosfolípidos.* La síntesis de fosfolípidos, que tiene lugar en el retículo endoplasmático, requiere la combinación de un diacilglicérido con un alcohol. Como ocurre con la mayoría de las reacciones anabólicas, uno de los componentes tiene que estar activado. En este caso, cualquiera de los dos componentes puede estar activado, dependiendo del origen de los reactantes.

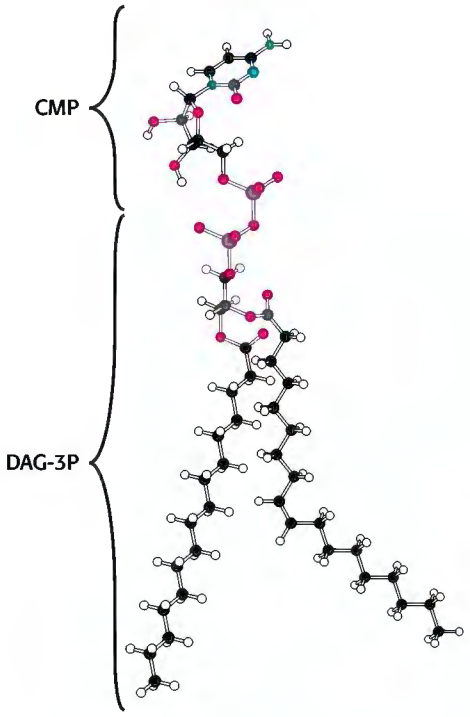
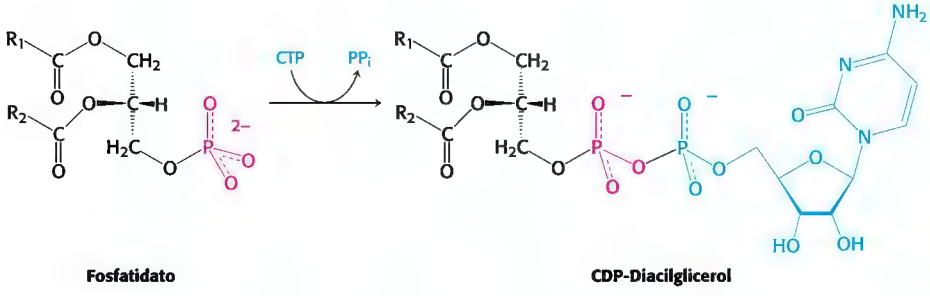


Figura 29.2 Estructura del CDP-glicerol. Un intermediario clave de la síntesis de los fosfolípidos está formado por fosfatidato (diacilglicerol 3-fosfato, o DAG-3P) y citidina monofosfato (CMP).

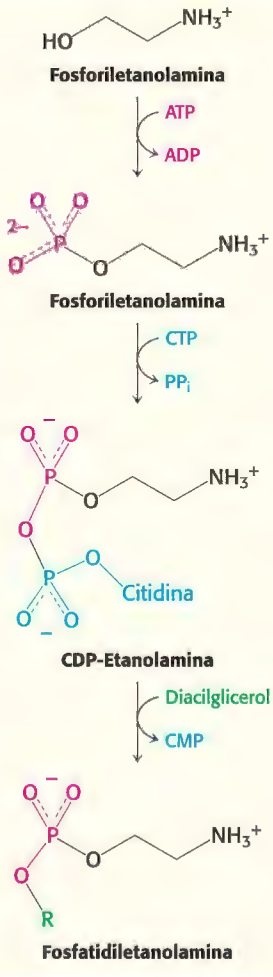
Síntesis a partir de diacilglicerol activado Esta ruta comienza con la reacción del fosfatidato con citidina trifosfato (CTP) formando *citidina difosfodiacilglicerol* (CDP-diacilglicerol; **Figura 29.2**). Esta reacción, como otras muchas biosíntesis, está impulsada por la hidrólisis del pirofosfato.

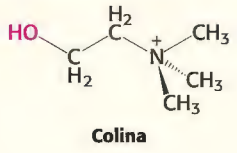


A continuación, la unidad fosfatidilo activada reacciona con el grupo hidroxilo de un alcohol. Si el alcohol es el inositol, los productos son *fosfatidilinositol* y citidina monofosfato (CMP). Fosforilaciones posteriores del fosfatidilinositol catalizadas por quinasas específicas dan lugar a la síntesis de *fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato*, un lípido de membrana que también es una molécula importante durante la transducción de señales (p. 222).

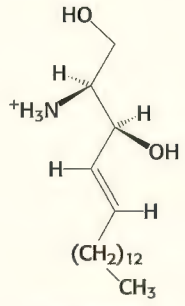
Síntesis a partir de un alcohol activado En mamíferos, la fosfatidiletanolamina se puede sintetizar a partir del alcohol etanolamina mediante la formación de CDP-etanolamina. En este caso, la etanolamina se fosforila por el ATP formando *fosforiletanolamina*, el precursor. A continuación, este precursor reacciona con CTP formando *CDP-etanolamina*, el alcohol activado. Después, la unidad fosforiletanolamina de la CDP-etanolamina se transfiere al diacilglicerol formando el compuesto *fosfatidiletanolamina*.

En mamíferos, el fosfolípido más abundante es la fosfatidilcolina. Para sintetizar este lípido, la colina procedente de la dieta se activa mediante una serie de reacciones análogas a las de la activación de la etanolamina. Curiosamente, el hígado posee una enzima que, cuando la dieta no aporta suficiente colina, sintetiza fosfatidilcolina a partir de fosfatidiletanolamina. El grupo amino de esta fosfatidiletanolamina se me-

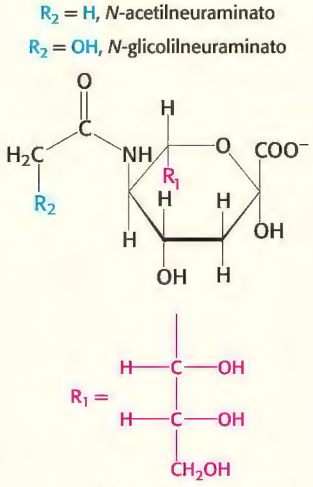




Colina

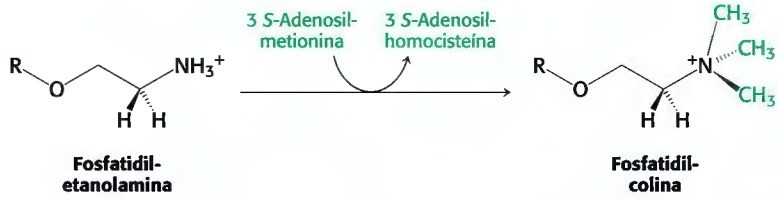


Esfingosina



Ácidos siálicos

tila tres veces formando *fosfatidilcolina*. El donador de estos grupos metilo suele ser la *S-adenosilmetionina* (p. 536).



Fosfatidil-etanolamina **Fosfatidil-colina**

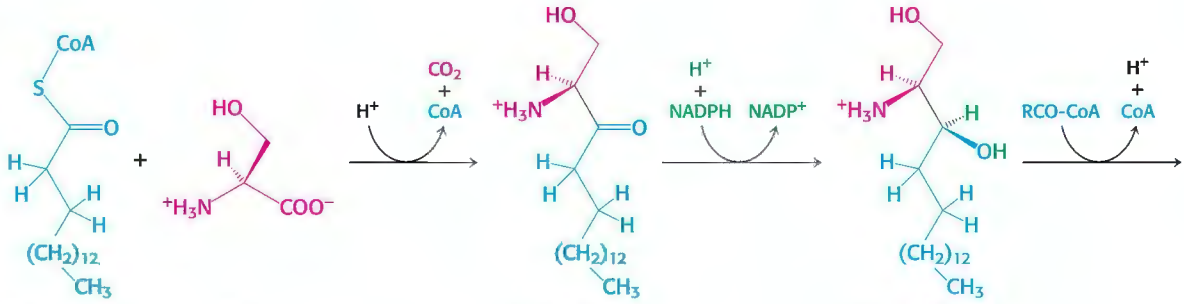
De esta forma, los mamíferos pueden producir fosfatidilcolina por dos rutas distintas, lo que garantiza la síntesis de este fosfolípido incluso cuando los componentes de una de las rutas escaseen.

Los esfingolípidos se sintetizan a partir de ceramida

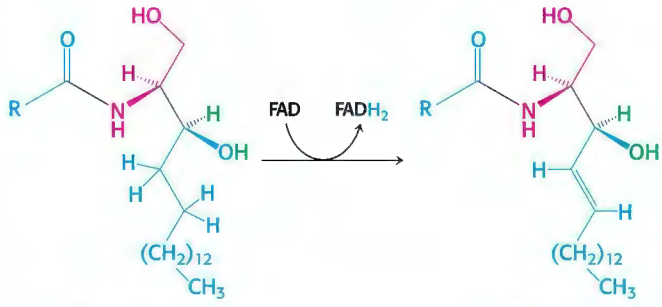
Los fosfolípidos, con sus esqueletos de glicerol, no son el único tipo de lípidos de membrana. Los *esfingolípidos*, con un esqueleto de *esfingosina* en vez de glicerol, están presentes en la membrana plasmática de todas las células eucarióticas, aunque su concentración es mayor en las células del sistema nervioso central. Para sintetizar un esfingolípido, la palmitil-CoA y la serina se condensan formando 3-cetoesfinganina que, posteriormente, se reduce a dihidroesfingosina (**Figura 29.3**). Mediante la adición de una acil-CoA de cadena larga al grupo amino de la dihidroesfingosina, seguida de una reacción de oxidación que genera un doble enlace *trans*, la dihidroesfingosina se convierte en *ceramida*.

El grupo hidroxilo terminal de la ceramida también se puede sustituir dando lugar a diversos esfingolípidos (**Figura 29.4**):

- En la *esfingomielina*, un componente de la vaina de mielina que recubre muchas fibras nerviosas, el sustituyente es la fosforilcolina.
- En un *cerebrósido*, que también forma parte de la mielina, el sustituyente es la glucosa o la galactosa.



Palmitil-CoA **Serina** **3-Cetoesfinganina** **Dihidroesfinganina**



Dihidroceramida **Ceramida**

Figura 29.3 Síntesis de ceramida a partir de palmitoil-CoA y serina. Tras la condensación de la palmitil-CoA con serina, una secuencia de tres reacciones –una reducción, una acilación y una oxidación– da lugar a la ceramida.

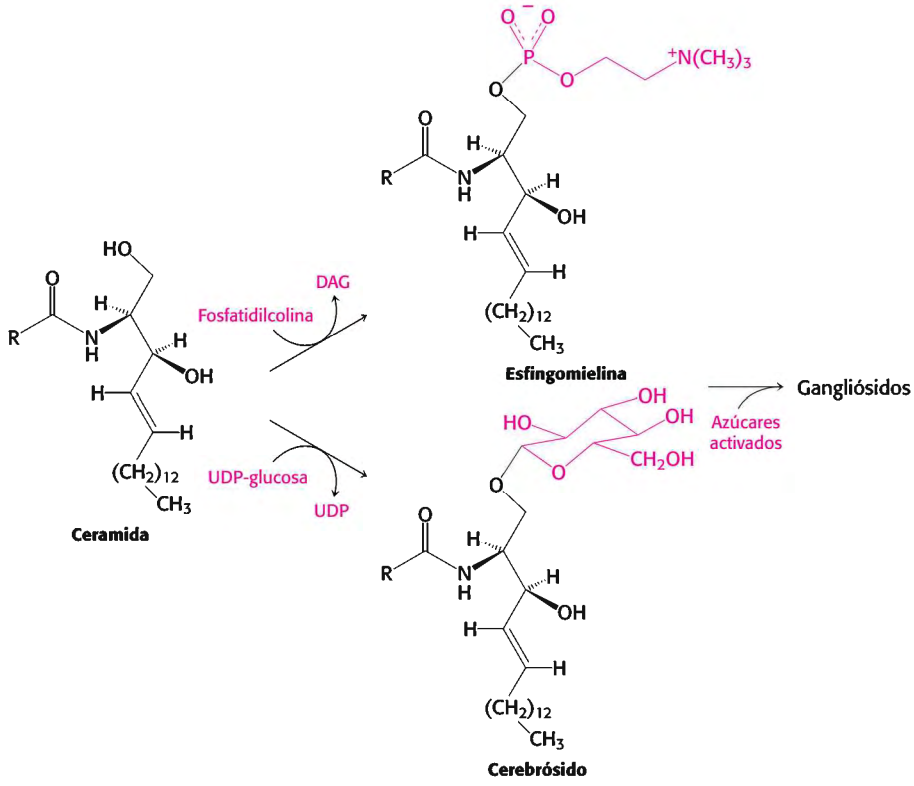


Figura 29.4 Síntesis de esfingolípidos. La ceramida es el punto de partida para la formación de esfingomielina y gangliósidos.

- En un gangliósido, un oligosacárido que contiene al menos un ácido siálico se une al grupo hidroxilo terminal de la ceramida mediante un residuo de glucosa. Los gangliósidos son fundamentales para que las células del sistema inmunitario se unan a los lugares donde se ha producido una herida y se ponga en marcha la respuesta inflamatoria.

Aspecto clínico

Los gangliósidos sirven como lugar de unión para los patógenos

Para muchos patógenos víricos y bacterianos, el primer paso para conseguir entrar en la célula consiste en unirse al componente carbohidrato de los gangliósidos. Por ejemplo, la etapa inicial del desarrollo del cólera, un estado patológico que se caracteriza por graves diarreas (Capítulo 13), es la unión de la toxina del cólera a los gangliósidos. ■

? PREGUNTA RÁPIDA 1 Describa las funciones del glicerol 3-fosfato, fosfatidato y diacilglicerol en la síntesis de triacilgliceroles y en la síntesis de fosfolípidos.

Aspecto clínico

La interrupción del metabolismo lipídico da lugar al síndrome de distrés respiratorio y a la enfermedad de Tay-Sachs

Las alteraciones del metabolismo lipídico son responsables de un gran número de enfermedades. Vamos a considerar brevemente dos ejemplos de este tipo de enfermedades. El *síndrome de distrés respiratorio* es un estado patológico causado por un fallo en la biosíntesis de dipalmitoilfosfatidilcolina. Este fosfolípido, junto con proteínas específicas y otros fosfolípidos, se encuentra en el fluido extracelular que rodea los alvéolos pulmonares, donde reduce la tensión superficial del líquido para evitar que los pulmones se colapsen al final de la fase expiratoria de la respiración. Los bebés prematuros pueden padecer síndrome de distrés respiratorio porque sus pulmones inmaduros no sintetizan suficiente dipalmitoilfosfatidilcolina.

Mientras que el síndrome de distrés respiratorio es el resultado de un fallo en la biosíntesis, la *enfermedad de Tay-Sachs*, una enfermedad congénita que afecta a los ni-

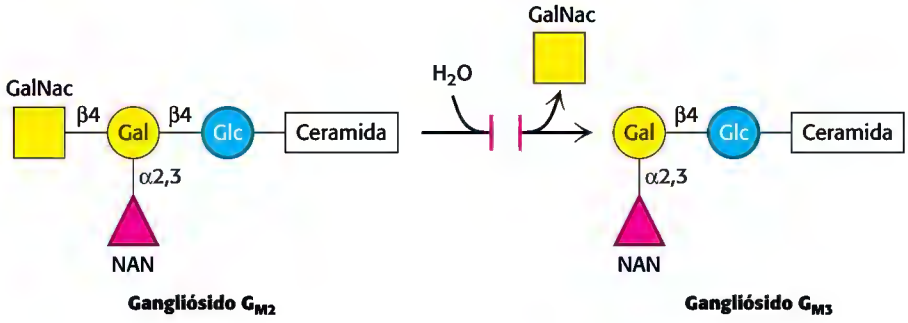


Figura 29.5 La enfermedad de Tay-Sachs es consecuencia de la incapacidad para degradar un ganglósido. En los pacientes con la enfermedad de Tay-Sachs se acumula un ganglósido concreto, el G_{M2}, porque no se puede llevar a cabo un paso clave de su degradación, su conversión en G_{M3}. La causa es una insuficiencia de β-N-acetilhexosaminidasa. Abreviaturas: GalNAc, *N*-acetilgalactosamina; NAN, *N*-acetilneuraminato; Gal, galactosa; Glc, glucosa.

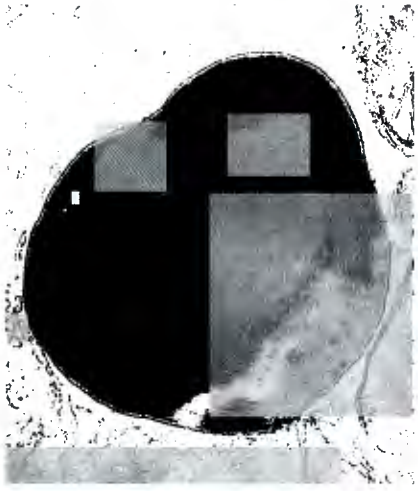


Figura 29.6 Lisosoma con lípidos. Micrografía electrónica de un lisosoma que contiene una cantidad anormal de lípido. [Cortesía del Dr. George Palade.]

ños al poco de nacer, se debe a un fallo en la degradación de los lípidos: concretamente, a una incapacidad para degradar los gangliósidos. El lugar donde la concentración de estos lípidos es más elevada es el sistema nervioso, especialmente en la materia gris, donde constituyen el 6% de los lípidos. Normalmente, los gangliósidos se degradan en el interior de los lisosomas mediante la eliminación secuencial de sus azúcares terminales, pero, en la enfermedad de Tay-Sachs, no se lleva a cabo esta degradación. El residuo terminal del ganglósido no se elimina o lo hace muy lentamente. La enzima que falta o que está defectuosa es una *β-N-acetilhexosaminidasa* específica (**Figura 29.5**).

En consecuencia, las neuronas se hinchan significativamente porque sus lisosomas están repletos de lípidos (**Figura 29.6**). Un niño afectado muestra debilidad y retraso en sus aptitudes psicomotoras antes de cumplir un año de edad. A los dos años, el niño sufre demencia y ceguera y, normalmente, muere antes de cumplir los tres años de edad.

La enfermedad de Tay-Sachs se puede diagnosticar durante el transcurso del desarrollo fetal. Se obtiene una muestra del fluido que rodea al feto en el útero (el líquido amniótico) mediante una aguja que se inserta a través del abdomen de la madre (amniocentesis). Después, se ensaya la actividad *β-N*-acetilhexosaminidasa de la muestra. ■

En el metabolismo de los lípidos, la ácido fosfatídico fosfatasa es una enzima reguladora clave

Aunque los detalles de la regulación de la síntesis de lípidos aún están por esclarecer, hay evidencias que sugieren que la *ácido fosfatídico fosfatasa* (PAP), junto con la diacilglicerol quinasa, desempeña un papel clave en la regulación de la síntesis de lípidos. La ácido fosfatídico fosfatasa, que en mamíferos también se denomina lipina 1, controla la cantidad de triacilgliceroles que se sintetizan en relación con la de fosfolípidos y regula el tipo de fosfolípidos que se sintetiza (**Figura 29.7**). Por ejemplo, cuando la

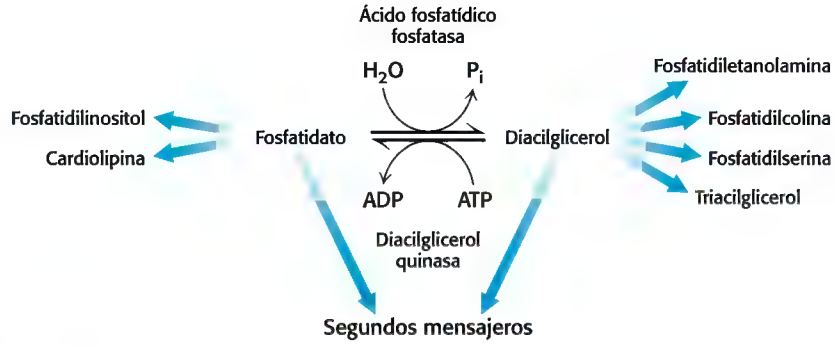


Figura 29.7 Regulación de la síntesis de lípidos. La ácido fosfatídico fosfatasa (PAP) es la enzima reguladora clave en la síntesis de lípidos. Cuando está activa, la PAP genera diacilglicerol, que puede reaccionar con alcoholes activados para formar fosfolípidos o con acil-CoA para formar triacilgliceroles. Cuando la PAP está inactiva, el fosfatidato se convierte en CMP-DAG para la síntesis de diversos fosfolípidos. La PAP también controla la cantidad de DAG y fosfatidato, dos moléculas que funcionan como segundos mensajeros.

actividad PAP es elevada, el fosfatidato se desfosforila y se produce diacilglicerol, que puede reaccionar con los alcoholes activados adecuados formando fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina o fosfatidilcolina. El diacilglicerol también se puede convertir en triacilgliceroles y hay evidencias que sugieren que la formación de triacilgliceroles puede actuar a modo de amortiguador de ácidos grasos, ayudando a regular los niveles de diacilglicerol y de esfingolípidos, dos moléculas que desempeñan funciones de señalización.

Cuando la actividad PAP es más reducida, el fosfatidato se utiliza como precursor de diversos fosfolípidos, como el fosfatidilinositol y la cardiolipina. Además, el propio fosfatidato es una molécula señal que regula el crecimiento de las membranas del retículo endoplasmático y del núcleo, y que actúa como cofactor que estimula la expresión de los genes implicados en la síntesis de fosfolípidos.

¿Cuáles son las moléculas señal que regulan la actividad de la PAP? El CDP-diacilglicerol, el fosfatidilinositol y la cardiolipina incrementan la actividad de la PAP, mientras que la esfingosina y la dihidroesfingosina la inhiben.

Estudios con ratones muestran claramente la importancia de la PAP para la regulación de la síntesis de ácidos grasos. La pérdida de la función de la PAP impide el desarrollo normal del tejido adiposo, lo que da lugar a lipodistrofia (grave pérdida de la grasa corporal) y a resistencia a la insulina. Una actividad PAP excesiva provoca obesidad. El conocimiento de la regulación de la síntesis de fosfolípidos es un tema de investigación fascinante que seguirá activo durante mucho tiempo.

29.2 El colesterol se sintetiza a partir de acetil-coenzima A en tres etapas

Centremos ahora nuestra atención en la síntesis de una clase de lípido distinta, que carece de las largas cadenas hidrocarbonadas características de los triacilgliceroles y de los lípidos de membrana —el *colesterol*. Esta molécula nos resulta mucho más familiar que los otros lípidos a causa de su relación con las enfermedades cardiacas. A pesar de su mala reputación entre la gente, el colesterol es fundamental para el organismo: mantiene la fluidez adecuada en las membranas celulares de los animales (p. 198) y es el precursor de hormonas esteroideas como la progesterona, el estradiol y el cortisol.

El colesterol se sintetiza en el hígado y, en menor medida, en otros tejidos. La velocidad de su síntesis es muy sensible a los niveles celulares de colesterol. Los 27 átomos de carbono del colesterol proceden de la acetil-CoA, mediante un proceso biosintético que consta de tres etapas:

1. La primera etapa consiste en la síntesis de isopentenilpirofosfato, una unidad de isopreno activada que es el material de construcción clave para sintetizar colesterol.
2. La segunda etapa consiste en la condensación de seis moléculas de isopentenilpirofosfato para formar escualeno.
3. En la tercera etapa, el escualeno se cierra sobre sí mismo formando un producto tetracíclico que, posteriormente, se convierte en colesterol.

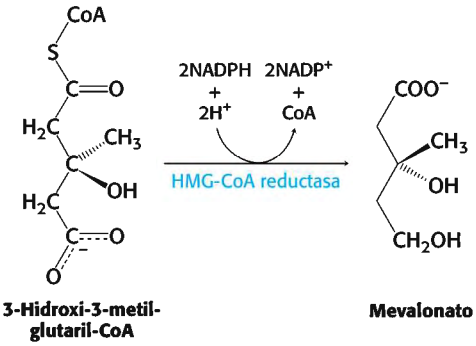
La primera etapa tiene lugar en el citoplasma y las otras dos en el *lumen* del retículo endoplasmático.

"En biología, el colesterol es la molécula pequeña más galardonada. Trece premios Nobel se han otorgado a científicos dedicados, durante la mayor parte de sus carreras, al colesterol. Desde que se purificó a partir de cálculos biliares en 1784, el colesterol ha ejercido una fascinación casi hipnótica en científicos procedentes de las disciplinas más diversas de la ciencia y de la medicina... El colesterol es una molécula de dos caras. La misma propiedad que le hace útil en las membranas celulares, es decir, su absoluta insolubilidad en agua, también le hace letal."

Michael Brown y Joseph Goldstein, al recibir el premio Nobel por descubrir el control de los niveles de colesterol en sangre. *Nobel Lectures* (1985); © The Nobel Foundation, 1985

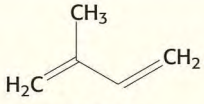
La síntesis de colesterol comienza con la síntesis de mevalonato

La primera etapa de la síntesis de colesterol consiste en la formación de isopentenilpirofosfato a partir de acetil-CoA. Este conjunto de reacciones comienza con la formación de 3-hidroxi-3-metilgutaril-CoA (HMG-CoA) a partir de acetil-CoA y acetoacetil-CoA. Para sintetizar colesterol, este intermediario se reduce luego a *mevalonato*.



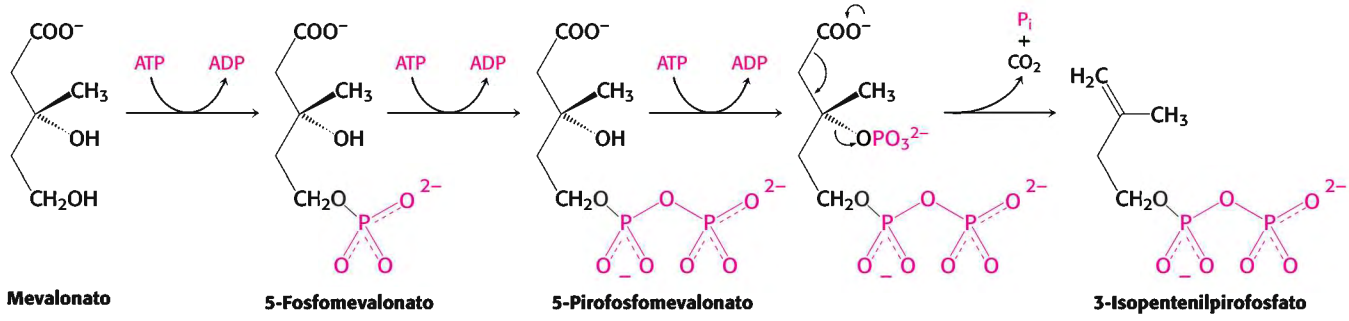
3-Hidroxi-3-metil-glutaril-CoA **Mevalonato**

La síntesis de mevalonato es el paso comprometido de la síntesis del colesterol. La enzima que cataliza este paso irreversible, la *3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa* (HMG-CoA reductasa), es un punto de control importante en la biosíntesis del colesterol, como se verá en breve. La importancia del colesterol queda claramente reflejada en el hecho de que los ratones que carecen de la HMG-CoA reductasa mueren en las etapas tempranas del desarrollo.



Isopreno

El mevalonato se convierte en *3-isopentenilpirofosfato* mediante tres reacciones consecutivas que requieren ATP (Figura 29.8). La primera etapa finaliza al formarse el isopentenilpirofosfato, una unidad *isopreno* de 5 átomos de carbono activada.



Mevalonato **5-Fosfomevalonato** **5-Pirofosfomevalonato** **3-Isopentenilpirofosfato**

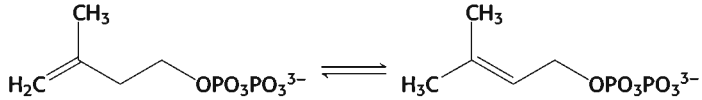
Figura 29.8 Síntesis de isopentenilpirofosfato. Este intermediario activado se forma en tres pasos a partir del mevalonato, y el último paso incluye una descarboxilación.

El escualeno (C_{30}) se sintetiza a partir de seis moléculas de isopentenilpirofosfato (C_5)

El siguiente precursor de la ruta que finaliza en el colesterol es el *escualeno*, que se sintetiza a partir de isopentenilpirofosfato mediante la siguiente secuencia de reacciones:

$$C_5 \longrightarrow C_{10} \longrightarrow C_{15} \longrightarrow C_{30}$$

Antes de que se lleve a cabo la condensación, el *isopentenilpirofosfato* se isomeriza a *dimetilalilpirofosfato*.



Isopentenilpirofosfato **Dimetilalilpirofosfato**

Para iniciar la formación del escualeno, las dos unidades isoméricas C_5 (una de cada) se condensan. Las reacciones que, a partir de seis unidades C_5, dan lugar al escualeno, un isoprenoide C_{30}, se resumen en la Figura 29.9.

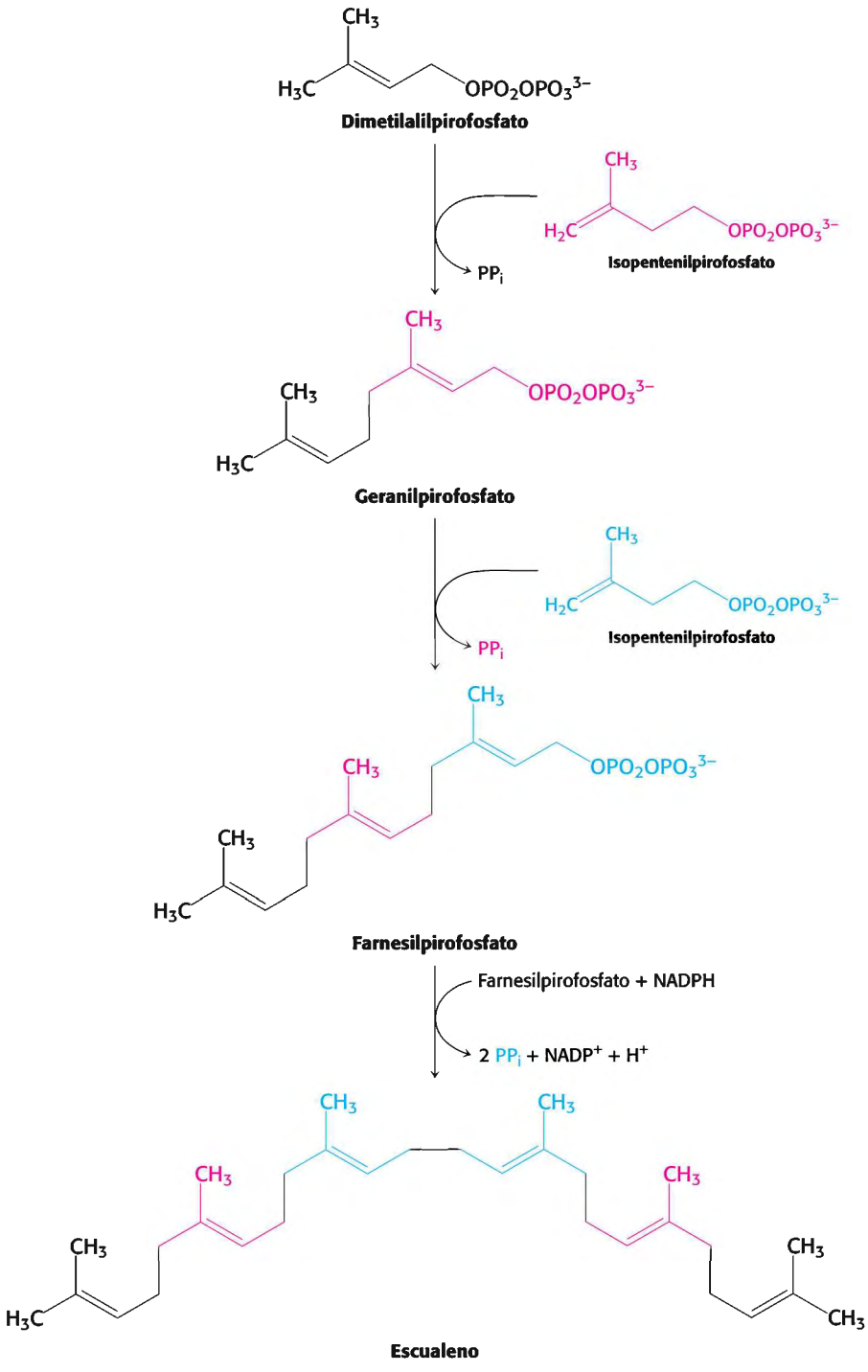


Figura 29.9 Síntesis de escualeno. Una molécula de dimetilalilpirofosfato y dos moléculas de isopentenilpirofosfato se condensan para formar farnesilpirofosfato. El acoplamiento cola con cola de dos moléculas de farnesilpirofosfato da lugar al escualeno.

Para formar colesterol, el escualeno adopta estructuras cíclicas

En la etapa final de la biosíntesis del colesterol, el escualeno se cierra sobre sí mismo para formar una estructura cíclica (**Figura 29.10**). En primer lugar, el escualeno se activa convirtiéndose en epóxido de escualeno (2,3-oxidoescualeno) por medio de una reacción que necesita O_2 y NADPH. A continuación, el epóxido de escualeno se cierra sobre sí mismo formando *lanosterol*, una molécula C_{30} que, a continuación, se convierte en colesterol (C_{27}) mediante un proceso que consta de múltiples pasos, durante el cual, se eliminan unidades de tres átomos de carbono (ver la Figura 29.10).

Un epóxido es una estructura cíclica de tres átomos que contiene un grupo éter. Un éter es un átomo de oxígeno unido a dos átomos de carbono.

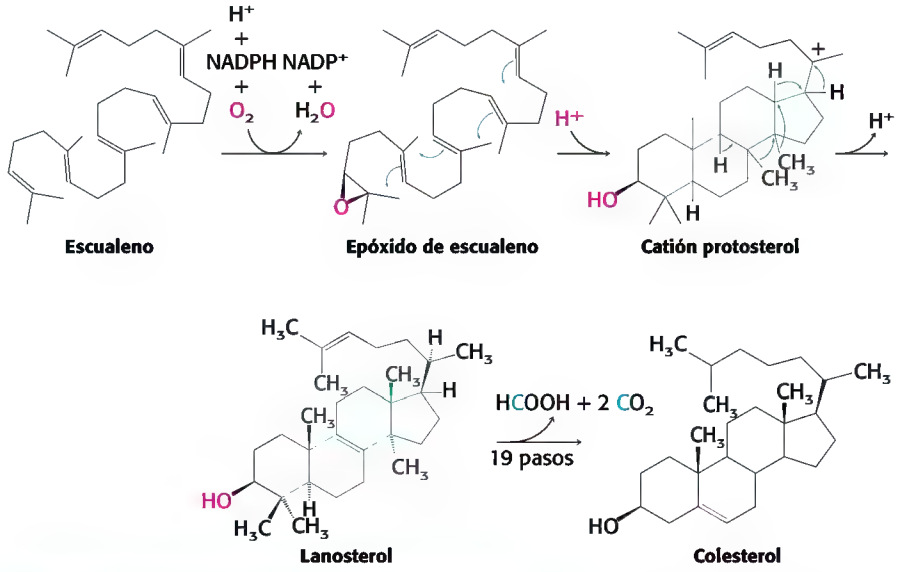


Figura 29.10 El escualeno da lugar a estructuras cíclicas. La formación del núcleo esteroide a partir del escualeno comienza con la formación del epóxido de escualeno. Este intermediario se protona formando un carbocatión que da lugar a una estructura tetracíclica, que se reorganiza dando lugar al lanosterol. Después, el lanosterol se convierte en colesterol mediante un complejo proceso.

✓ 6 Enumerar los pasos reguladores en el control de la síntesis de colesterol.

29.3 La regulación de la síntesis de colesterol tiene lugar a varios niveles

El colesterol se puede obtener a partir de la dieta o se puede sintetizar *de novo*. Normalmente, un adulto sometido a una dieta baja en colesterol sintetiza alrededor de 800 mg de colesterol al día. En mamíferos, el hígado es el principal lugar donde se lleva a cabo la síntesis de colesterol (**Figura 29.11**), aunque el intestino también sintetiza cantidades significativas. En estos órganos, la velocidad de síntesis de colesterol es muy sensible al nivel celular de colesterol. *Esta regulación por retroinhibición se realiza principalmente mediante cambios en la cantidad y en la actividad de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa)*. Como ya se ha comentado anteriormente (p. 504), esta enzima cataliza la formación de mevalonato, el paso comprometido de la biosíntesis del colesterol. La HMG-CoA reductasa se controla de múltiples maneras:

1. *La velocidad de síntesis del mRNA que codifica la HMG-CoA reductasa se regula* por medio de la proteína de unión al elemento regulador de esteroles (SREBP). Este factor de transcripción se une a una corta secuencia del DNA denominada *elemento regulador de esteroles* (SRE) situada en el lado 5′ del gen de la reductasa.

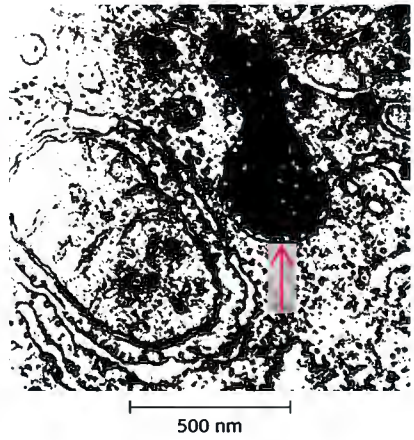


Figura 29.11 El lugar donde se sintetiza el colesterol. Micrografía electrónica de parte de una célula hepática que está activamente involucrada en el proceso de síntesis y secreción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), unas lipoproteínas que transportan los lípidos sintetizados en el hígado a otras partes del organismo (ver la Tabla 29.1 y la Figura 29.13). La flecha señala una vesícula que está liberando su contenido de partículas de VLDL. [Cortesía del Dr. George Palade.]

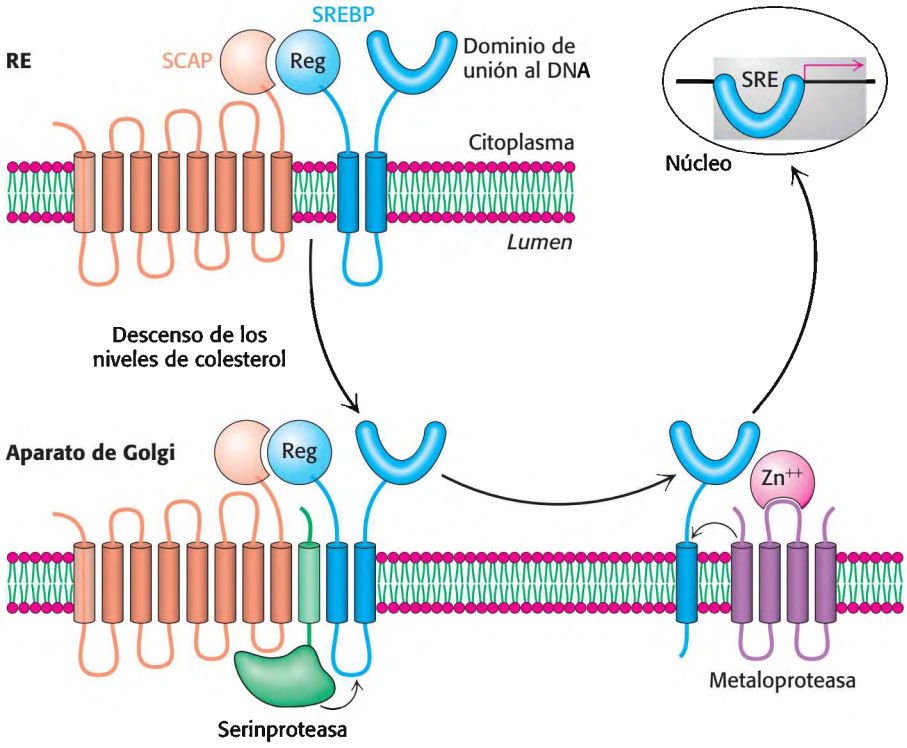


Figura 29.12 La ruta de la SREBP. La SREPB reside en el retículo endoplasmático, donde se encuentra unida a SCAP por su dominio regulador (Reg). Cuando descienden los niveles de colesterol, SCAP y SREBP se desplazan al aparato de Golgi donde SREBP sufre dos rupturas proteolíticas sucesivas por medio de una serinproteasa y de una metaloproteasa, respectivamente. El dominio de unión al DNA que se libera se desplaza al núcleo para alterar la expresión génica. [Basada en una ilustración cedida por los doctores Michael Brown y Joseph Goldstein.]

La unión al SRE se produce cuando los niveles de colesterol son bajos, de manera que se intensifica la transcripción. En su estado inactivo, la SREBP se encuentra en la membrana del retículo endoplasmático, donde está asociada a la proteína activadora que escinde SREBP (SCAP), una proteína integral de la membrana. La proteína SCAP es el sensor de colesterol. Cuando descienden los niveles de colesterol, SCAP acompaña a SREBP en pequeñas vesículas de membrana que se dirigen al aparato de Golgi, donde se produce la disociación de SREBP de la membrana gracias a dos rupturas proteolíticas específicas (Figura 29.12). La proteína liberada migra hacia el núcleo y se une al SRE del gen que codifica la HMG-CoA reductasa, así como a otros genes de la ruta de la biosíntesis de colesterol, para intensificar la transcripción. Cuando los niveles de colesterol aumentan, se bloquea la liberación proteolítica de SREBP y la SREBP del núcleo se degrada rápidamente. Estos dos eventos detienen la transcripción de los genes de las rutas biosintéticas del colesterol.

¿Qué mecanismo molecular retiene SCAP-SREBP en el retículo endoplasmático cuando hay colesterol y permite su traslado al aparato de Golgi cuando la concentración de colesterol es reducida? Cuando hay poco colesterol, SCAP se une a proteínas de las vesículas que facilitan el transporte de SCAP-SREBP al aparato de Golgi. Cuando hay colesterol, SCAP se une al colesterol, lo que provoca un cambio estructural en SCAP que hace que se una a Insig, otra proteína del retículo endoplasmático. Insig es el ancla que retiene a SCAP y, por tanto, también a SREBP, en el retículo endoplasmático cuando hay colesterol.

2. *La velocidad de traducción del mRNA que codifica la HMG-CoA reductasa se inhibe* por metabolitos derivados del mevalonato que no son esteroles, así como por el colesterol procedente de la dieta.

3. *La degradación de la HMG-CoA reductasa está rigurosamente controlada.* La enzima posee dos dominios: su dominio citoplasmático lleva a cabo la catálisis y su dominio de membrana detecta las señales que dan lugar a su degradación. El dominio de membrana puede experimentar cambios estructurales en respuesta a concentraciones crecientes de esteroles como el colesterol, que hacen que la enzima sea más susceptible a la proteolisis. Una combinación de estos tres mecanismos reguladores puede hacer que la concentración de enzima presente en la célula se modifique por un factor de 200 o más.

4. *La fosforilación disminuye la actividad de la HMG-CoA reductasa.* Esta enzima, al igual que la acetil-CoA carboxilasa, que cataliza el paso comprometido de la síntesis de los ácidos grasos (p. 489), se desactiva por medio de una proteína quinasa dependiente de AMP. Por tanto, cuando el nivel de ATP es reducido, la síntesis de colesterol se detiene.

? PREGUNTA RÁPIDA 2 Explique brevemente los mecanismos para la regulación de la biosíntesis de colesterol.

Después de considerar un asunto relacionado —el transporte de triacilglicerol— volveremos al control del colesterol, pero desde una perspectiva clínica.

29.4 Las lipoproteínas transportan colesterol y triacilgliceroles por todo el organismo

El colesterol y los triacilgliceroles se sintetizan principalmente en el hígado, pero son utilizados por todos los tejidos del organismo. ¿Cómo se transportan estos importantes compuestos bioquímicos de naturaleza hidrofóbica por el torrente sanguíneo? Para ser transportados por los fluidos corporales, el colesterol y los triacilgliceroles se incorporan a *partículas de lipoproteína*. Cada partícula consta de un núcleo de lípidos hidrofóbicos que está rodeado por una capa de lípidos más polares y proteínas. Los componentes proteicos (denominados *apoproteínas*) desempeñan dos funciones: *solubilizan los lípidos hidrofóbicos y contienen señales para que sean enviadas a determinadas células*. En la **Tabla 29.1** se muestran algunas de las lipoproteínas más importantes y sus características.

Tabla 29.1 Propiedades de las lipoproteínas del plasma

Lipoproteínas del plasma	Densidad (g ml^{-1})	Diámetro (nm)	Apolipoproteína	Función fisiológica	Composición (%)				
					TAG	CE	C	PL	P
Quilomicrones	< 0,95	75–1.200	B48, C, E	Transporte de las grasas de la dieta	86	3	1	8	2
Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)	0,95–1,006	30–80	B100, C, E	Transporte de la grasa endógena	52	14	7	18	8
Lipoproteínas de densidad intermedia (IDL)	1,006–1,019	15–35	B100, E	Precursor de LDL	38	30	8	23	11
Lipoproteínas de baja densidad (LDL)	1,019–1,063	18–25	B100	Transporte del colesterol	10	38	8	22	21
Lipoproteínas de alta densidad (HDL)	1,063–1,21	7,5–20	A	Transporte inverso del colesterol	5–10	14–21	3–7	19–29	33–57

Abreviaturas: TAG, triacilglicerol; CE, éster de colesterol; C, colesterol libre; PL, fosfolípido; P, proteína.

Las partículas de lipoproteína se clasifican por orden de densidad creciente: quilomicrones, remanentes de quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL). Al estudiar la digestión (p. 242) ya describimos los quilomicrones, que se encargan de transportar los lípidos ingeridos en la dieta.

El colesterol y los triacilgliceroles que exceden las necesidades del propio hígado son exportados a la sangre en forma de *lipoproteínas de muy baja densidad*. En las VLDL, los triacilgliceroles se hidrolizan mediante lipasas localizadas en la superficie de los capilares y los ácidos grasos liberados son absorbidos por las células. Los remanentes, ricos en colesterol, que se denominan *lipoproteínas de densidad intermedia,* pueden ser absorbidos por el hígado para ser metabolizados o para convertirlos en *lipoproteínas de baja densidad* eliminando más triacilgliceroles (**Figura 29.13**).

La lipoproteína de baja densidad es la principal transportadora de colesterol en la sangre. Esta partícula de lipoproteína contiene un núcleo de moléculas de colesterol unidas mediante enlaces éster a ácidos grasos. Este núcleo está rodeado de una capa de fosfolípidos y colesterol sin esterificar. La capa también contiene una única copia de la apoproteína B-100, que dirige la LDL hacia las células apropiadas (**Figura 29.14**). La función de la LDL consiste en transportar colesterol a los tejidos perifé-

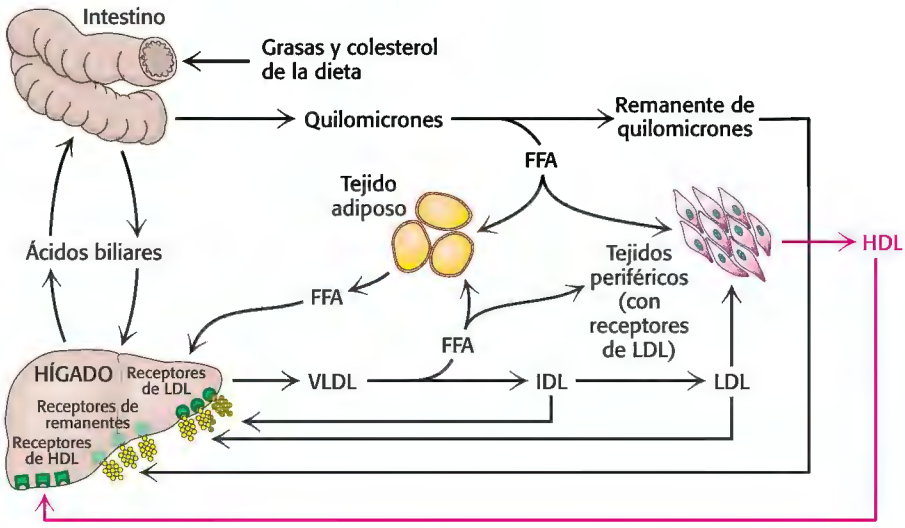


Figura 29.13 Esquema del metabolismo de las partículas de lipoproteína. La abreviatura para los ácidos grasos es FFA (*free fatty acids*). [Tomado de J. G. Hardman (Ed.), L. L. Limbrid (Ed.) y A. G. Gilman (Consult. Ed.), *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10.ª ed. (McGraw-Hill, 2001), p. 975, Fig. 36.1.]

ricos y regular la síntesis *de novo* del colesterol en estos lugares, tal y como se describe en la siguiente sección.

Las *lipoproteínas de alta densidad* cumplen otra función, ya que recogen el colesterol liberado al plasma por las células que están muriendo y por las membranas que se están reciclando, un proceso denominado *transporte inverso del colesterol*. Una aciltransferasa de la HDL esterifica estas moléculas de colesterol que, a continuación, son devueltas al hígado por las HDL.

Las lipoproteínas de baja densidad desempeñan un papel decisivo en el metabolismo del colesterol

El metabolismo del colesterol se tiene que regular de forma muy precisa para evitar la ateroesclerosis, el aumento del espesor de las paredes arteriales y la consiguiente pérdida de elasticidad. El mecanismo de control en el hígado, el principal lugar donde se produce la síntesis de colesterol, ya se ha comentado (p. 506). La fuente más importante de colesterol para los tejidos periféricos es la lipoproteína de baja densidad. Como se verá en el apartado "Aspecto clínico" de la página 510, las concentraciones elevadas de LDL en sangre desempeñan un papel clave a la hora de crear condiciones para un ataque al corazón. Normalmente, las LDL se retiran de la sangre mediante un proceso denominado *endocitosis mediada por receptor*, que sirve de paradigma para el acceso de muchas moléculas al interior de la célula.

La endocitosis de LDL mediada por receptor se lleva a cabo en los siguientes tres pasos (**Figura 29.15**):

1. *La lipoproteína de baja densidad se une a una proteína receptora de la superficie celular*. La apoproteína B-100 de la superficie de una partícula de LDL se une a una

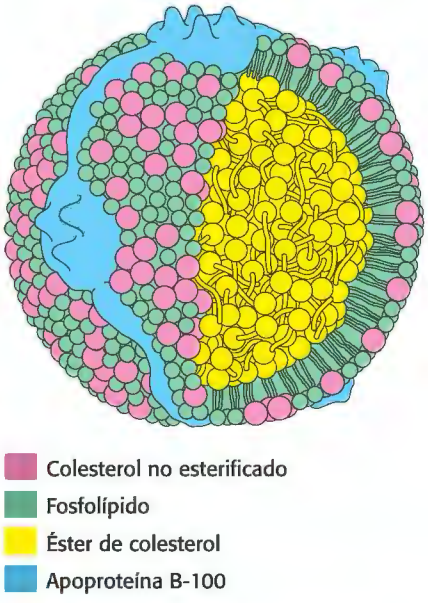


Figura 29.14 Representación esquemática de una lipoproteína de baja densidad. La partícula de LDL tiene un diámetro aproximado de 22 nm (220 Å).

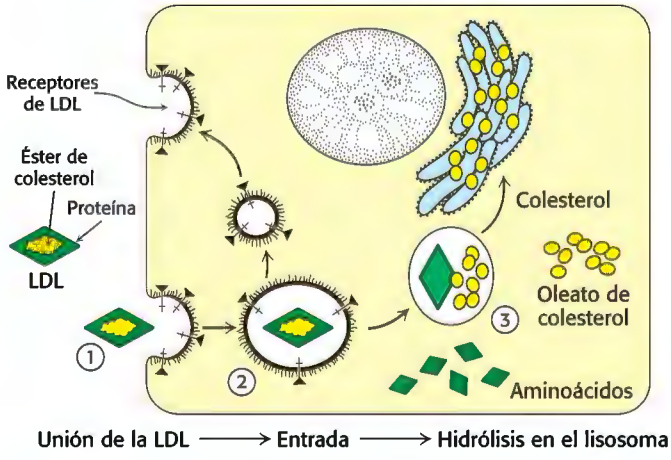
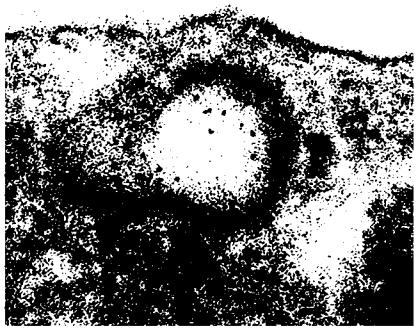


Figura 29.15 Endocitosis mediada por receptor. Se muestra el proceso de endocitosis mediada por receptor en el caso de una lipoproteína de baja densidad (LDL): (1) la LDL se une a un receptor específico, el receptor de LDL; (2) este complejo se invagina formando una vesícula interna; (3) tras la separación de su receptor, la vesícula que contiene LDL se fusiona con un lisosoma, lo que da lugar a la degradación de la LDL y a la liberación del colesterol.



(A)



(B)

Figura 29.16 Endocitosis de una lipoproteína de baja densidad unida a su receptor. Micrografías que muestran (A) una LDL (conjugada con ferritina saturada de hierro para que se pueda visualizar en forma de puntos oscuros) unida a una región revestida de clatrina localizada sobre la superficie de un fibroblasto humano en cultivo y (B) la invaginación de esta región y su fusión con un lisosoma para formar una vesícula endocítica. [Reproducida de *Cell* 10 R. G. W. Anderson, M. S. Brown, y J. L. Goldstein, Role of the coated endocytic vesicle in the uptake of receptor-bound low density lipoprotein in human fibroblasts, pp. 351-364 ©1977, con el permiso de Elsevier.]

proteína receptora específica localizada en la membrana plasmática de células no hepáticas. Los receptores de LDL se encuentran en regiones especializadas denominadas *vesículas forradas* ("*coated pits*"), que contienen una proteína característica denominada *clatrina*.

2. *El complejo receptor-LDL accede al interior de la célula.* En las proximidades del complejo, la membrana plasmática se cierra sobre sí misma (forma invaginaciones). A continuación, la invaginación de la membrana se cierra formando una vesícula endocítica que contiene el complejo receptor-LDL (*endocitosis*) (Figura 29.16).
3. *La lipoproteína de baja densidad es hidrolizada en los lisosomas.* Después, las vesículas que contienen LDL se fusionan con *lisosomas*, vesículas ácidas que contienen una amplia gama de enzimas digestivas. El componente proteico de la LDL se hidroliza a aminoácidos libres. Los ésteres de colesterol de la LDL se hidrolizan por medio de una lipasa ácida lisosomal. Por regla general, el receptor de la LDL regresa intacto a la membrana plasmática. El viaje de ida y vuelta del receptor dura unos 10 minutos; en su tiempo de vida media, que es aproximadamente un día, puede hacer entrar en la célula a multitud de partículas de LDL.

Posteriormente, el colesterol sin esterificar que se ha liberado puede ser utilizado para la biosíntesis de membranas o se puede volver a esterificar en el interior de la célula para su almacenamiento. El colesterol almacenado se tiene que volver a esterificar porque concentraciones elevadas de colesterol sin esterificar destruyen la integridad de las membranas celulares.

La propia síntesis del receptor de LDL está sujeta a regulación por retroinhibición. Las investigaciones indican que, cuando el colesterol abunda en el interior de la célula, no se sintetizan nuevos receptores de LDL, lo que evita la absorción de más colesterol procedente de las LDL del plasma.

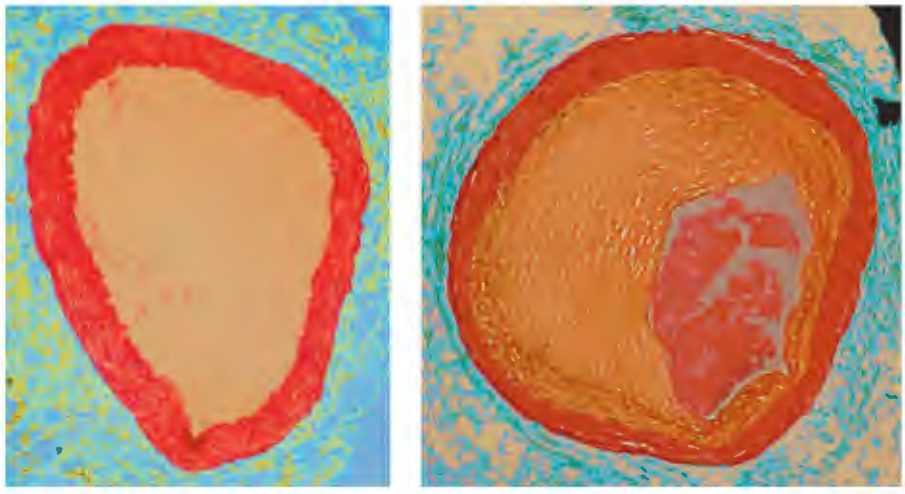
Aspecto clínico

La ausencia del receptor de LDL da lugar a la hipercolesterolemia y a la ateroesclerosis

Los niveles elevados de colesterol favorecen la aterosclerosis, que es la principal causa de muerte en las sociedades industrializadas. El papel del colesterol en el desarrollo de la ateroesclerosis se puso de manifiesto gracias al estudio de la *hipercolesterolemia familiar*, una enfermedad genética. Esta enfermedad se caracteriza por elevadas concentraciones de colesterol y de HDL en el plasma, unas tres o cuatro veces más de lo que sería deseable. En la hipercolesterolemia familiar, el colesterol se deposita en diversos tejidos, debido que el plasma contiene una elevada concentración de colesterol procedente de las LDL. En la piel y en los tendones de las personas con niveles elevados de LDL se observan abundantes nódulos de colesterol denominados *xantomas*. Especialmente preocupante es la oxidación del exceso de LDL en sangre, que da lugar a LDL oxidadas (oxLDL). Las oxLDL son absorbidas por unas células del sistema inmunitario denominadas macrófagos, que acaban hinchándose formando células espumosas. Estas células se quedan atrapadas en las paredes de los vasos sanguíneos y contribuyen a la formación de placas de ateroma que provocan el estrechamiento de las arterias y dan lugar a los ataques al corazón (Figura 29.17).

En la mayor parte de los casos de hipercolesterolemia familiar, el defecto molecular consiste en una ausencia o insuficiencia de receptores de LDL funcionales. Los individuos homocigóticos casi no tienen receptores de LDL funcionales, mientras que en los heterocigóticos, el número de receptores es, aproximadamente, la mitad de lo normal. En consecuencia, se impide la entrada de LDL a las células del hígado o a otras células, lo que da lugar a un aumento en los niveles de LDL en el plasma. La mayoría de los individuos homocigóticos mueren durante la infancia a causa de una enfermedad de las arterias coronarias. En los heterocigóticos (una de cada 500 personas), los síntomas clínicos de la enfermedad son mas suaves y más variados.

La hipercolesterolemia familiar homocigótica solo se puede tratar mediante un trasplante de hígado. Para los individuos heterocigóticos y para quienes presentan

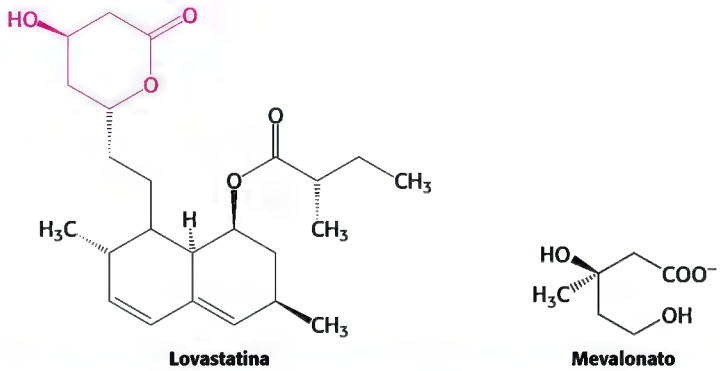


(A) (B)

Figura 29.17 Efectos de un exceso de colesterol. Sección transversal de (A) una arteria normal y (B) una arteria obstruida por una placa rica en colesterol. [SPL/Photo Researchers.]

elevados niveles de colesterol existe una terapia de aplicación más general. *El objetivo consiste en reducir la cantidad de colesterol en sangre estimulando el único gen normal para que produzca más receptores LDL de lo habitual.* Ya hemos comentado que la producción de receptores de LDL está controlada por las necesidades de colesterol de la célula. Por lo tanto, básicamente, la estrategia consiste en privar a la célula de las fuentes de colesterol más fácilmente accesibles. Cuando se necesita colesterol, la cantidad de mRNA para el receptor de LDL aumenta y se observan más receptores en la superficie celular. Este estado se puede inducir mediante una estrategia dual. En primer lugar, se inhibe la reabsorción de las sales biliares por parte del intestino. Las sales biliares son derivados del colesterol que facilitan la absorción del colesterol y las grasas ingeridos en la dieta (p. 241). En segundo lugar, se bloquea la síntesis *de novo* del colesterol.

La reabsorción de la bilis se impide mediante la administración oral de polímeros cargados positivamente, como la colestiramina, que se unen a las sales biliares cargadas negativamente y no son absorbidos. La síntesis de colesterol se puede bloquear eficazmente por medio de una clase de compuestos denominados *estatinas*. Un ejemplo muy conocido de este tipo de compuestos es la lovastatina, también conocida como mevacor (**Figura 29.18**). Estos compuestos son inhibidores competitivos muy potentes de la HMG-CoA reductasa, el punto de control esencial en la ruta biosintética. En muchos pacientes a los que se les suministra lovastatina e inhibidores de la reabsorción de las sales biliares, los niveles de colesterol en el plasma disminuyen en un 50%. La lovastatina y otros inhibidores de la HMG-CoA reductasa se utilizan con mucha frecuencia para reducir los niveles de colesterol en plasma de las personas que padecen ateroesclerosis. ■



Lovastatina **Mevalonato**

Figura 29.18 La lovastatina es un inhibidor competitivo de la HMG-CoA reductasa. La parte de la estructura que se parece al mevalonato se muestra de color rojo.

Aspecto clínico

Las HDL parecen proteger contra la ateroesclerosis

Mientras que los niveles elevados de LDL, el denominado colesterol malo, pueden provocar enfermedades coronarias, las HDL parecen proteger al organismo frente a las placas de ateroma. La proporción entre el colesterol en forma de HDL, que a veces también se denomina "colesterol bueno", y el colesterol en forma de LDL se puede utilizar para evaluar la susceptibilidad de una persona al desarrollo de la enfermedad cardiaca. Para una persona sana, el cociente LDL/HDL es de 3,5 o menor. ¿Cuál es el fundamento bioquímico del efecto saludable de las HDL?

Las HDL presentan una serie de propiedades antiaterogénicas, pero la propiedad mejor caracterizada es la extracción del colesterol de las células, especialmente de los macrófagos. Anteriormente, hemos visto que las HDL extraen colesterol de otros tejidos del organismo para devolverlo al hígado con objeto de que sea excretado en forma de bilis o en las heces. Este transporte inverso del colesterol es especialmente importante en el caso de los macrófagos. De hecho, cuando el transporte falla, los macrófagos se convierten en células espumosas y facilitan la formación de las placas, como ya hemos visto. Normalmente, los macrófagos que recogen el colesterol de las LDL lo transportan a las partículas HDL. Cuanto más HDL haya, con más facilidad se llevará a cabo este transporte y menor será la probabilidad de que los macrófagos se conviertan en células espumosas. Presumiblemente, este intenso transporte inverso del colesterol explica, al menos en parte, la observación de que los niveles elevados de HDL confieren protección contra la ateroesclerosis.

Otra propiedad antiaterogénica de las HDL resulta de su asociación con la paraoxanasa, una esterasa del suero. La paraoxanasa puede destruir las oxLDL, lo que explica, en parte, la capacidad de las HDL para proteger de las enfermedades coronarias. ■

29.5 El colesterol es el precursor de las hormonas esteroideas

Aunque el colesterol es muy conocido, por derecho propio, por ser uno de los factores que contribuyen al desarrollo de la enfermedad cardiaca, los metabolitos del colesterol —las hormonas esteroideas— también aparecen con frecuencia en las noticias. De hecho, el abuso de hormonas esteroideas aparece en la sección de deportes de los periódicos tanto como cualquier deportista. El colesterol también es precursor de otras dos importantes moléculas: las sales biliares y la vitamina D. Empezaremos viendo las sales biliares, moléculas decisivas para la absorción de los lípidos ingeridos en la dieta.

Las sales biliares facilitan la absorción de lípidos

Las sales biliares, el principal componente de la bilis, son *detergentes* muy eficaces porque contienen regiones polares y regiones no polares. Solubilizan los lípidos ingeridos en la dieta (p. 241) de modo que puedan ser fácilmente digeridos por las lipasas y absorbidos por el intestino. Las sales biliares se sintetizan en el hígado a partir del colesterol, se almacenan y se concentran en la vesícula biliar y, posteriormente, son liberadas en el intestino delgado. El glicocolato es la principal sal biliar (Figura 29.19).

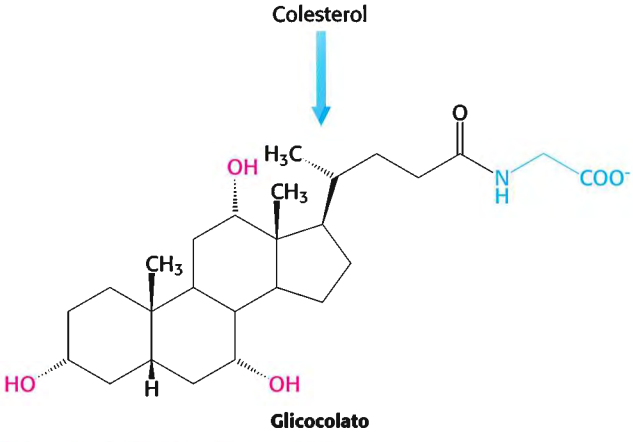


Figura 29.19 Síntesis de sales biliares. Los grupos OH mostrados en color rojo se añaden al colesterol, al igual que los grupos mostrados en color azul.

Las hormonas esteroideas son moléculas señal fundamentales

El colesterol es el precursor de las hormonas esteroideas (Figura 29.20). Estas hormonas son potentes moléculas señal que regulan un gran número de funciones del organismo. Hay cinco clases principales de hormonas esteroideas: progestágenos, glucocorticoides, mineralocorticoides, andrógenos y estrógenos.

La *progesterona*, un *progestágeno*, prepara el revestimiento del útero para la implantación de un óvulo y es esencial para el mantenimiento del embarazo. Los *andrógenos* son responsables del desarrollo de los caracteres sexuales secundarios masculinos. La *testosterona*, un andrógeno importante, da lugar al desarrollo del comportamiento

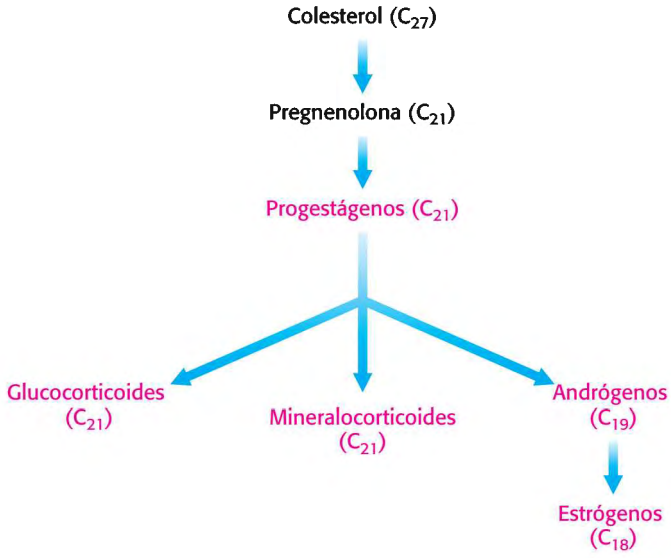


Figura 29.20 Relaciones biosintéticas entre las distintas clases de hormonas esteroideas y el colesterol.

sexual masculino. También es importante para el mantenimiento de los testículos y para el desarrollo de la masa muscular. Debido a esta última actividad, se dice que la testosterona es un *esteroide anabólico*. La testosterona es reducida por la *5α-reductasa* para formar *dihidrotestosterona* (DHT), un potente andrógeno embrionario que induce el desarrollo y la diferenciación del fenotipo masculino. Los *estrógenos* (ej., *estradiol*) son necesarios para el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios femeninos. Los estrógenos, junto con la progesterona, también intervienen en el ciclo ovárico. Los *glucocorticoides* (como el *cortisol*), promueven la gluconeogénesis y la formación de glucógeno, intensifican la degradación de grasas y proteínas e inhiben la respuesta inflamatoria. Permiten a los animales responder al estrés —de hecho, la ausencia de glucocorticoides puede resultar fatal. Los mineralocorticoides (fundamentalmente, la *aldosterona*), actúan sobre el riñón para regular el equilibrio salino, así como el volumen y la presión de la sangre.

Todas las hormonas esteroideas funcionan de forma similar. Estas potentes moléculas señal se unen a proteínas receptoras y las activan para que actúen como factores de transcripción, proteínas que regulan la expresión de los genes diana (Capítulo 37).

La vitamina D se sintetiza a partir del colesterol gracias a la energía de la luz solar

El colesterol también es el precursor de la vitamina D, que desempeña un papel esencial en el control del metabolismo del calcio y del fósforo. La luz ultravioleta del Sol rompe un enlace del 7-deshidrocolesterol formando previtamina D_3, con lo que se inicia la síntesis de *calcitriol* (1,25-dihidroxicolecalciferol), la hormona activa (**Figura 29.21**). Aunque no es un esteroide, la vitamina D se sintetiza a partir del colesterol y actúa de forma análoga a los verdaderos esteroides; por tanto, se la considera como un "esteroide honorario".

Aspecto clínico

La vitamina D es necesaria para el desarrollo de los huesos

La insuficiencia de vitamina D durante la infancia provoca raquitismo, una enfermedad que se caracteriza por una calcificación inapropiada de cartílagos y huesos. En la Inglaterra del siglo XVII, el raquitismo era tan frecuente que se le denominaba "la enfermedad de los niños ingleses". El 7-deshidrocolesterol de la piel de estos niños no se escindía para formar previtamina D_3 porque durante muchos meses al año había muy poca luz solar. Además, sus dietas aportaban poca vitamina D porque la mayoría de los alimentos naturales presentan un bajo contenido en esta vitamina. Hoy en día, los alimentos enriquecidos constituyen una fuente fiable de vitamina D en la dieta: la leche, por ejemplo, se enriquece hasta alcanzar un nivel de, aproximadamente, 10 μg por

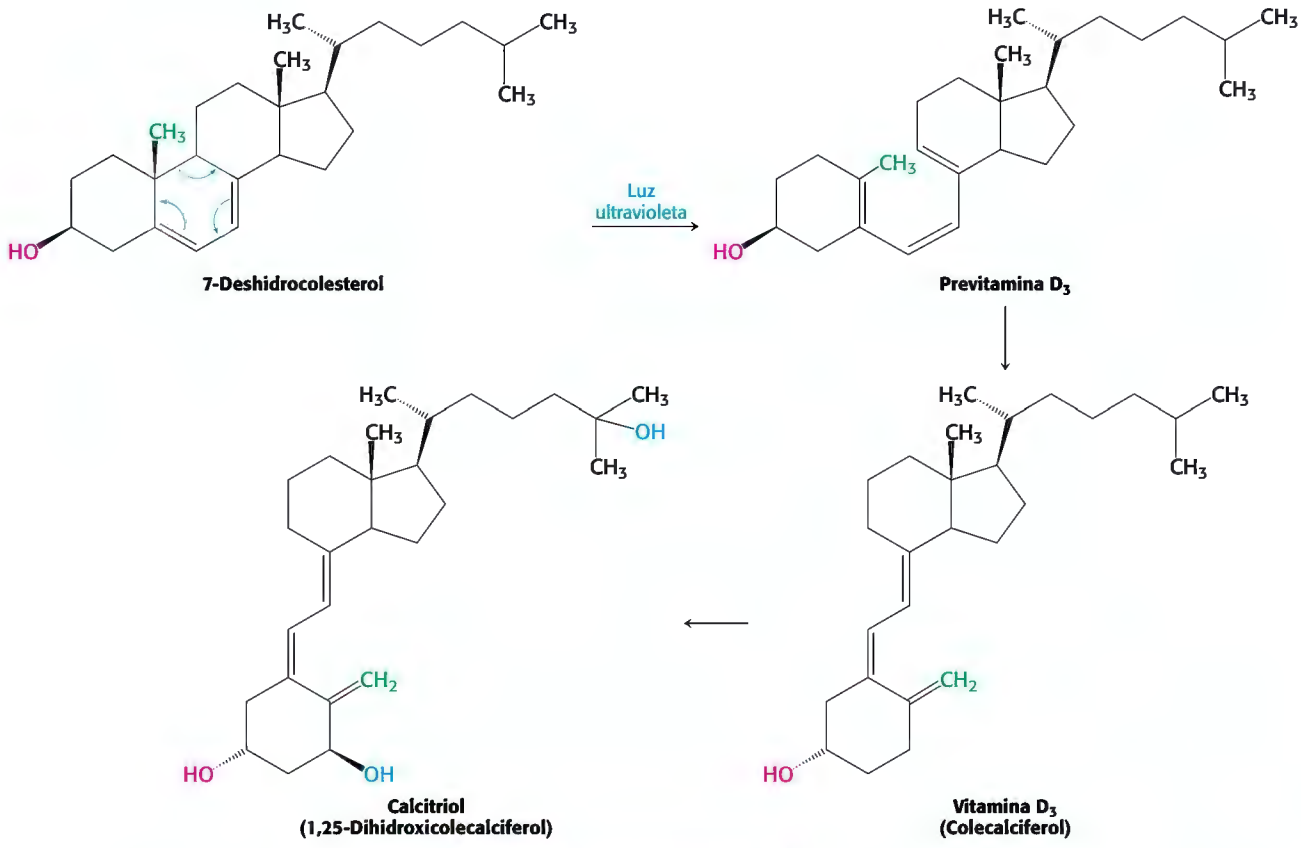


Figura 29.21 Síntesis de vitamina D. Ruta para la conversión del 7-dehidrocolesterol en vitamina D_3 y, posteriormente, en calcitriol, la hormona activa.



Figura 29.22 La testosterona aumenta la masa muscular. En muchos deportes, incluido el culturismo, algunos atletas utilizan esteroides para crear masa muscular de forma ilegal. [Brad Perks Lightscapes/ Alamy.]

litro. El aporte diario recomendado de vitamina D es de 10 μg, independientemente de la edad. En adultos, la insuficiencia de vitamina D da lugar al reblandecimiento y debilitamiento de los huesos, una enfermedad que se denomina *osteomalacia*. La gran incidencia de la osteomalacia entres las mujeres de Arabia Saudí, que se visten de modo que solo sus ojos quedan expuestos a la luz solar, pone claramente de manifiesto que la vitamina D es necesaria, tanto para los adultos como para los niños.

Las investigaciones realizadas en los últimos años indican que la vitamina D puede desempeñar una función bioquímica mucho más amplia que la simple regulación del metabolismo de los huesos. El músculo parece ser una de las dianas para la actividad de la vitamina D. En el músculo, la vitamina D parece afectar a varios procesos bioquímicos, y el efecto neto consiste en un mayor rendimiento muscular. Los estudios también sugieren que la vitamina D evita la enfermedad cardiovascular, reduce la incidencia de varios tipos de cáncer y protege contra las enfermedades autoinmunitarias, incluida la diabetes. Además, la insuficiencia de vitamina D parece ser más frecuente de lo que se creía. En los Estados Unidos, algunos estudios indican que el 75% de los negros y muchos hispanos y asiáticos presentan niveles insuficientes de vitamina D en sangre. Estos recientes estudios sobre la vitamina D muestran, de nuevo, la naturaleza dinámica de las investigaciones bioquímicas. La vitamina D, un compuesto químico cuya función bioquímica se creía bien conocida, ofrece ahora nuevos horizontes para la investigación biomédica. ■

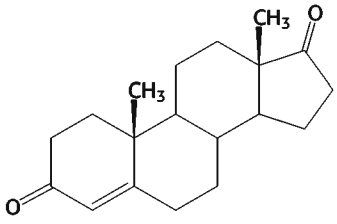
Aspecto clínico

Los andrógenos se pueden utilizar para mejorar de manera artificial el rendimiento de los atletas

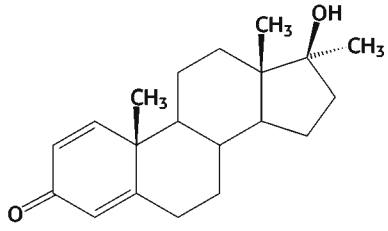
Algunos atletas ingieren andrógenos porque sus efectos anabólicos incrementan la masa muscular magra (**Figura 29.22**). Se han desarrollado esteroides sintéticos con el fin de separar las propiedades anabólicas (el crecimiento de la masa muscular

magra) de las propiedades androgénicas (el desarrollo de las características sexuales masculinas) que presentan los andrógenos endógenos.

Sin embargo, la total separación de estas dos actividades ha resultado ser imposible. El uso de esteroides anabólicos por parte de los varones provoca una disminución de la secreción de testosterona, atrofia testicular y, algunas veces, al aumento de volumen de las mamas (ginecomastia) causado por la conversión de parte del exceso de andrógeno es estrógeno. En las mujeres, el exceso de testosterona reduce la ovulación y la secreción de estrógenos, provoca la regresión de las mamas y el crecimiento de vello facial. ■



Androstendiona
(un andrógeno natural)



Dianabol
(metandrostenolona)
(un andrógeno sintético)

Los átomos de oxígeno se incorporan a los esteroides por medio de citocromo P450 monooxigenasas

Una de las características químicas que distingue un esteroide de otro es el número y posición de los átomos de oxígeno. En el colesterol, el carbono 3 es el único átomo de carbono que se encuentra unido al oxígeno. En las hormonas esteroideas, los demás átomos de oxígeno se introducen por medio de reacciones de hidroxilación que requieren *NADPH y* O_2. Las enzimas que catalizan estas reacciones se denominan *monooxigenasas* o, también, *oxigenasas de función mixta.*

$$RH + O_2 + NADPH + H^+ \longrightarrow ROH + H_2O + NADP^+$$

La hidroxilación requiere la activación del oxígeno. Durante la síntesis de hormonas esteroideas, la activación se consigue gracias a la *citocromo P450 monooxigenasa*, una familia de citocromos anclados en la membrana que, a veces, también se denomina sistema citocromo P450, que contiene un grupo prostético hemo. Además, el sistema citocromo P450 desempeña un papel en el metabolismo de fármacos y otras sustancias foráneas, como el ibuprofeno y la cafeína.

El metabolismo en su contexto: el etanol también se procesa mediante el sistema citocromo P450

En el Capítulo 28 consideramos las consecuencias del consumo excesivo de etanol. Muchos de los efectos bioquímicos perjudiciales surgen a raíz de la sobreproducción de NADH por parte de la alcohol deshidrogenasa y de la acetaldehído deshidrogenasa. El etanol también se puede metabolizar mediante un sistema citocromo P450 inducido por etanol denominado *sistema de oxidación microsomal del etanol* (MEOS). Esta ruta genera acetaldehído y, a continuación, acetato, oxidando poder reductor biosintético, el NADPH, a $NADP^+$. Como utiliza oxígeno, esta ruta genera radicales libres que deterioran los tejidos. Además, dado que el sistema consume NADPH, no se puede regenerar el antioxidante glutatión (p. 459), lo que agrava el estrés oxidativo.

Los efectos adversos del etanol no se limitan al metabolismo del propio etanol. La vitamina A (retinol) se convierte en ácido retinoico, una importante molécula señal para el crecimiento y el desarrollo de los vertebrados, por medio de las mismas deshidrogenasas que metabolizan el etanol. En consecuencia, esta activación no se produce en presencia del etanol, que actúa como un inhibidor competitivo. Además, el MEOS inducido por etanol desactiva el ácido retinoico. Se cree que estas interrupciones en la ruta de señalización del ácido retinoico son responsables, al menos en parte, del síndrome de alcoholismo fetal y del desarrollo de varios tipos de cáncer.

Resumen

29.1 El fosfatidato es un precursor de los lípidos de reserva y de muchos lípidos de la membrana

El fosfatidato se forma mediante acilaciones sucesivas del glicerol 3-fosfato por parte de moléculas de acil-CoA. La hidrólisis de su grupo fosforilo, seguida de la acilación, da lugar a un triacilglicerol. El CDP-diacilglicerol, el intermediario activado en la síntesis *de novo* de diversos fosfolípidos, se forma a partir de fosfatidato y CTP. A continuación, la unidad fosfatidilo activada se transfiere al grupo hidroxilo de un alcohol polar, como el inositol, formando un fosfolípido como el fosfatidilinositol. En mamíferos, la fosfatidiletanolamina se forma a partir de CDP-etanolamina y diacilglicerol. La fosfatidiletanolamina se metila por medio de la *S*-adenosilmetionina formando fosfatidilcolina. En mamíferos, este fosfolípido también se puede sintetizar mediante una ruta que utiliza la colina ingerida en la dieta. En esta ruta, el intermediario activado es la CDP-colina.

Los esfingolípidos se sintetizan a partir de ceramida, que se forma mediante la acilación y reducción de la dihidroesfingosina. Los gangliósidos son esfingolípidos que contienen una unidad de oligosacárido que incluye, al menos, un residuo de *N*-acetilneuraminato o un ácido siálico parecido. Se sintetizan mediante la adición, paso a paso, de azúcares activados, como la UDP-glucosa, a la ceramida.

29.2 El colesterol se sintetiza a partir de acetil-coenzima A en tres etapas

El colesterol es un esteroide que forma parte de las membranas animales y es un precursor de las hormonas esteroideas. El paso comprometido de su síntesis es la formación de mevalonato a partir de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (que procede del acetil-CoA y del acetoacetil-CoA). El mevalonato se convierte en isopentenilpirofosfato (C_5), que se condensa con su isómero, el dimetilalilpirofosfato (C_5) formando geranilpirofosfato (C_{10}). La adición de una segunda molécula de isopentenilpirofosfato genera farnesilpirofosfato (C_{15}), que se condensa consigo mismo formando escualeno (C_{30}). Este intermediario se cierra sobre sí mismo formando lanosterol (C_{30}), que se modifica dando lugar al colesterol (C_{27}).

29.3 La regulación de la síntesis de colesterol tiene lugar a varios niveles

En el hígado, la síntesis del colesterol está regulada mediante cambios en la cantidad y actividad de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa. La transcripción del gen, la traducción del mRNA y la degradación de la enzima están rigurosamente controladas. Además, la actividad de la reductasa se regula mediante fosforilación.

29.4 Las lipoproteínas transportan colesterol y triacilgliceroles por todo el organismo

El colesterol y otros lípidos en exceso que ya no son necesarios para el hígado se exportan en forma de lipoproteínas de muy baja densidad. Tras entregar su cargamento de triacilglicerol al tejido adiposo y a otros tejidos periféricos, las VLDL se convierten en lipoproteínas de densidad intermedia y, posteriormente, en lipoproteínas de baja densidad, las cuales contienen ésteres de colesterol. Las células del hígado y de los tejidos periféricos absorben las LDL mediante endocitosis mediada por receptor. El receptor de LDL, una proteína que atraviesa la membrana plasmática de la célula diana, se une a la LDL y facilita su entrada en la célula. La ausencia de receptores de LDL en la forma homocigótica de la hipercolesterolemia familiar hace que los niveles de colesterol procedente de las LDL en el plasma sean notablemente elevados y que el colesterol precipite sobre las paredes de los vasos sanguíneos, lo que, a su vez, puede ocasionar ataques al corazón durante la infancia. Las lipoproteínas de alta densidad transportan el colesterol desde los tejidos periféricos hacia el hígado.

29.5 El colesterol es el precursor de las hormonas esteroideas

Las cinco clases principales de hormonas esteroideas derivan del colesterol: progestágenos, glucocorticoides, mineralocorticoides, andrógenos y estrógenos. Las hidroxilaciones por medio de monooxigenasas P450 que utilizan NADPH y O_2 desempeñan un papel importante en la síntesis de hormonas esteroideas y de sales biliares a partir del colesterol. La vitamina D, que es importante para controlar el metabolismo del calcio y del fósforo, se forma a partir de un derivado del colesterol gracias a la acción de la luz.

Términos clave

fosfatidato (p. 497)
triacilglicerol (p. 498)
fosfolípido (p. 498)
citidina difosfodiacilglicerol (CDP-diacilglicerol) (p. 499)
esfingolípido (p. 500)
ceramida (p. 500)
esfingomielina (p. 500)
cerebrósido (p. 500)
gangliósido (p. 501)
ácido fosfatídico fosfatasa (PAP) (p. 502)
colesterol (p. 503)
mevalonato (p. 503)
3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa) (p. 504)
3-isopentenilpirofosfato (p. 504)
proteína de unión al elemento regulador de esteroles (SREBP) (p. 506)
partícula de lipoproteína (p. 508)
lipoproteína de baja densidad (LDL) (p. 508)
lipoproteína de alta densidad (HDL) (p. 509)
transporte inverso del colesterol (p. 509)
endocitosis mediada por receptor (p. 509)
sal biliar (p. 512)
hormona esteroidea (p. 512)
citocromo P450 monooxigenasa (p. 515)

Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. El glicerol 3-fosfato es la plataforma tanto para la síntesis de triacilglicerol como para la síntesis de fosfolípidos. Para formar fosfatidato, el glicerol 3-fosfato se acila dos veces. En la síntesis de triacilglicerol, se extrae el grupo fosforilo del glicerol 3-fosfato, formando diacilglicerol que, a continuación, es acilado dando lugar al triacilglicerol. En la síntesis de fosfolípidos, el fosfatidato suele reaccionar con CTP formando CDP-diacilglicerol que, posteriormente, reacciona con un alcohol generando un fosfolípido. Alternativamente, el diacilglicerol puede reaccionar con un CDP-alcohol formando un fosfolípido.

2. La cantidad de reductasa y su actividad controlan la regulación de la biosíntesis del colesterol. El control transcripcional está mediado por la SREBP. La traducción del mRNA que codifica la reductasa también se controla. La propia reductasa puede someterse a proteolisis regulada. Por último, cuando los niveles de ATP son reducidos, la actividad de la reductasa se inhibe mediante fosforilación por parte de una quinasa dependiente de AMP.

Problemas

1. *Fabricando grasa.* Escriba una ecuación ajustada para la síntesis de un triacilglicerol a partir de glicerol y ácidos grasos. ✓ 5
2. *Fabricando un fosfolípido.* Escriba una ecuación ajustada para la síntesis de fosfatidilserina mediante la ruta *de novo*, a partir de serina, glicerol y ácidos grasos. ✓ 5
3. *Suministros necesarios.* ¿Cómo se genera el glicerol 3-fosfato necesario para la síntesis de fosfatidato? ✓ 5
4. *Necesidades de ATP.* ¿Cuántas moléculas con un elevado potencial de transferencia de fosforilos se necesitan para sintetizar fosfatidiletanolamina a partir de etanolamina y diacilglicerol? Considere que la etanolamina es el componente activado. ✓ 5
5. *Identificando diferencias* ¿Qué diferencias hay entre la esfingomielina, un cerebrósido y un gangliósido? ✓ 5

6. *Wilbur y Orville.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 5

(a) Fosfatidato _____
(b) Triacilglicerol _____
(c) Fosfolípido _____
(d) Esfingolípido _____
(e) Cerebrósido _____
(f) Ganglиósido _____
(g) Colesterol _____
(h) Mevalonato _____
(i) Partícula de lipoproteína _____
(j) Hormona esteroidea _____

1. Lípido de membrana basado en el glicerol
2. Producto del paso comprometido de la síntesis del colesterol
3. Ceramida unida a glucosa o a galactosa
4. Forma de almacenamiento de los ácidos grasos
5. El escualeno es un precursor de esta molécula
6. Transporta colesterol y lípidos
7. Derivado del colesterol
8. Precursor tanto de fosfolípidos como de triacilgliceroles
9. Formado a partir de ceramida por la adición de fosfocolina
10. Ceramida unida a múltiples carbohidratos

7. *Donadores activados.* ¿Cuál es el reactante activado en cada una de las siguientes biosíntesis? ✓ 5

(a) Fosfatidilinositol a partir de inositol.
(b) Fosfatidiletanolamina a partir de etanolamina.
(c) Ceramida a partir de esfingosina.
(d) Esfingomielina a partir de ceramida.
(e) Cerebrósido a partir de ceramida.
(f) Farnesilpirofosfato a partir de geranilpirofosfato.

8. *Contemos las maneras.* Puede haber 50 formas de dejar a tu pareja, pero, en principio, solo hay dos formas de fabricar un fosfolípido basado en el glicerol. Describa esas dos formas. ✓ 5

9. *Quien decide.* ¿Qué enzima desempeña el papel fundamental en la regulación de la síntesis de lípidos y cómo se pone de manifiesto esta regulación? ✓ 5

10. *Sin DAG no hay TAG.* ¿Cuál sería el efecto de una mutación que redujese la actividad de la ácido fosfatídico fosfatasa? ✓ 5

11. *Da 10 vueltas.* ¿Cuál sería el efecto de una mutación que incrementase la actividad de la ácido fosfatídico fosfatasa? ✓ 5

12. *La ley de las tres etapas.* ¿Cuáles son las tres etapas que se necesitan para la síntesis de colesterol? ✓ 6

13. *Marcajes reveladores.* ¿Cuál es la distribución del marcaje isotópico en el colesterol sintetizado a partir de los siguientes precursores? ✓ 6

(a) Mevalonato marcado con ^{14}C en su átomo de carbono carboxilo.
(b) Malonil-CoA marcada con ^{14}C en su átomo de carbono carboxilo.

14. *Demasiado y demasiado pronto.* ¿Qué es la hipercolesterolemia familiar y cuáles son sus causas? ✓ 6

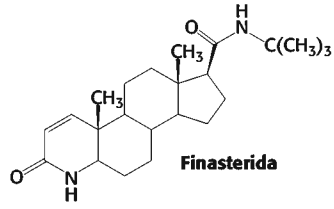
15. *Muchas regulaciones a seguir.* Resuma los mecanismos de regulación de la biosíntesis del colesterol. ✓ 6

16. *Una buena cosa.* ¿Qué son las estatinas? ¿Cuál es su función farmacológica? ✓ 6

17. *Los excesos no son buenos.* Si se desarrollase una "superestatina" que inhibiese toda la actividad HMG-CoA reductasa, ¿sería un medicamento útil? ¿Por qué? ✓ 6

18. *Agentes controladores.* ¿Cuáles son las cinco clases principales de hormonas esteroideas?

19. *Catástrofe durante el desarrollo.* La finasterida (fármaco que se comercializa con el nombre de Propecia) es un esteroide sintético que funciona como un inhibidor competitivo específico para la 5α-reductasa, la enzima responsable de la síntesis de dihidrotestosterona a partir de testosterona.



Finasterida

Hoy en día, la Propecia se usa mucho para retrasar el desarrollo de la calvicie de patrón masculino. A las mujeres embarazadas se les aconseja que ni siquiera toquen este fármaco. ¿Por qué es de vital importancia que las mujeres embarazadas eviten el contacto con la Propecia?

20. *Charla de desayuno.* Suponga que está desayunando con un amigo. Mientras comen, su amigo está leyendo el reverso de la caja de cereales y se encuentra con el siguiente enunciado: "El colesterol desempeña funciones beneficiosas para su organismo, contribuyendo a la formación de células, hormonas y tejidos". Como sabe que usted estudia bioquímica, le pregunta si esa afirmación tiene sentido. ¿Qué le respondería? ✓ 6

21. *Que entre la luz del sol.* A nivel bioquímico, la vitamina D funciona como una hormona esteroidea. Por tanto, a veces se la considera como un esteroide honorario. ¿Por qué la vitamina D no es un verdadero esteroide?

22. *Una forma de entrar.* Describa el proceso de endocitosis mediada por receptor utilizando como ejemplo la LDL. ✓ 6

23. *Medicina personalizada.* El sistema citocromo P450 metaboliza muchos medicamentos útiles. Aunque todos los seres humanos tienen el mismo número de genes P450, existen polimorfismos individuales que alteran la especificidad y la eficiencia de las proteínas codificadas por lo genes. ¿Sería útil, desde el punto de vista clínico, conocer los polimorfismos individuales?

24. *Crisis apícola.* En 2006, colonias de abejas productoras de miel murieron de forma repentina e inexplicable por todo el territorio de los Estados Unidos. La extinción tuvo importantes repercusiones económicas, ya que un tercio de la dieta humana procede de plantas polinizadas por insectos y las abejas productoras de miel son responsables del 80% de las polinizaciones. En octubre de 2006, se publicó la secuencia del genoma de las abejas productoras de miel. Curiosamente, se descubrió que su genoma contenía muchos menos genes de citocromo P450 que los genomas de otros insectos. Sugiera la relación que puede haber entre la escasez de genes P450 y la extinción.

Problemas de integración de capítulos

25. *Agárrate fuerte o acabarás en el citoplasma.* Muchas proteínas están modificadas covalentemente mediante la unión de una unidad farnesilo (C_{15}) o geranilgeranilo (C_{20}) al residuo de cisteína del extremo carboxilo de la proteína. ¿Para qué puede servir esta modificacion?

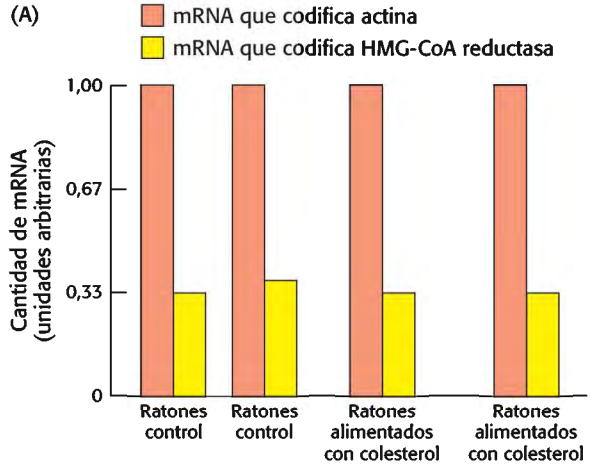
26. *Similitudes.* Compare el papel de la CTP en la síntesis de fosfoglicéridos con el papel de la UTP en la síntesis de glucógeno.

27. *Necesidades de ATP.* Explique cómo depende la síntesis del colesterol de la actividad de la ATP-citrato liasa.

28. *Una bifurcación en la carretera.* La 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA es un intermediario de la ruta de biosíntesis del colesterol. También forma parte de otra ruta. ¿De qué ruta se trata? ¿Qué es lo que determina la ruta que va a seguir la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA? ✓ 6

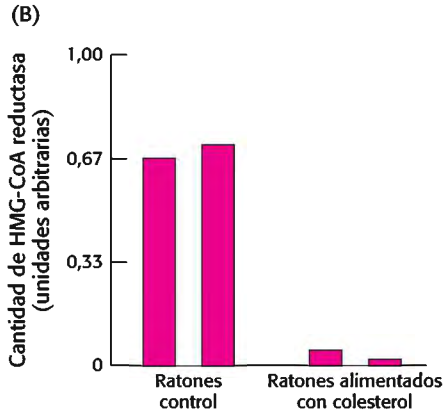
Problema de interpretación de datos

29. *Ingesta de colesterol.* Se formaron cuatro grupos de ratones, dos de los cuales fueron alimentados con una dieta normal y los otros dos con una dieta rica en colesterol. Posteriormente, se procedió a extraer de los hígados y cuantificar el mRNA que codifica la HMG-CoA reductasa y la propia proteína. El gráfico A muestra los resultados de la purificación de mRNA.



(a) ¿Cuál es el efecto de la ingesta de colesterol sobre la cantidad de mRNA que codifica la HMG-CoA reductasa?
(b) ¿Con qué propósito se purifica también el mRNA que codifica la proteína actina, que no se encuentra sometida al control del elemento de respuesta a esteroles?

La proteína HMG-CoA reductasa se purificó mediante precipitación con un anticuerpo monoclonal contra la HMG-CoA reductasa. El gráfico B muestra la cantidad de esta proteína en cada grupo.

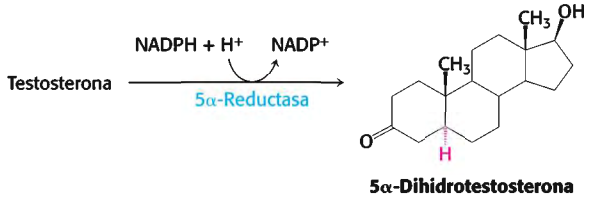


(c) ¿Cuál es el efecto de la dieta rica en colesterol sobre la cantidad de proteína HMG-CoA reductasa?
(d) ¿Por qué sorprende este resultado a la vista de los resultados mostrados en el gráfico A?
(e) Sugiera posibles explicaciones para los resultados mostrados en el gráfico B. ✓ 6

Problemas para atrevidos

30. *Hipercolesterolemia familiar.* Se han identificado varias clases de mutaciones en los receptores de LDL causantes de la hipercolesterolemia familiar. Suponga que dispone de células procedentes de pacientes con distintas mutaciones, de un anticuerpo específico para el receptor de LDL, visible al microscopio electrónico, y de acceso a un microscopio electrónico. ¿Qué diferencias en la distribución de los anticuerpos esperaría encontrar entre las células pertenecientes a distintos pacientes? ✓ 6

31. *Inspiración para el diseño de fármacos.* Algunos de los efectos de los andrógenos están mediados por la dihidrotestosterona, que se forma mediante la reducción de la testosterona. Este último retoque está catalizado por una 5α-reductasa dependiente de NADPH.



Los varones (con cromosomas X e Y) con una insuficiencia genética de esta reductasa nacen con un tracto urogenital in-

terno masculino pero con genitales externos predominantemente femeninos. Normalmente, a estas personas se les educa como niñas. En la pubertad se masculinizan, ya que aumentan los niveles de testosterona. Los testículos de estos hombres con insuficiencia de reductasa son normales, mientras que el tamaño de las glándulas prostáticas sigue siendo pequeño. ¿Cómo se podría utilizar esta información para diseñar un fármaco para el tratamiento de la *hipertrofia prostática benigna*, una consecuencia habitual del proceso de envejecimiento normal del hombre? La mayoría de los hombres de más de 55 años presentan algún grado de agrandamiento de la próstata, algo que, con frecuencia, da lugar a obstrucciones urinarias.

32. *Consecuencias del estilo de vida.* El sistema citocromo P450 es una ubicua superfamilia de monooxigenasas que se encuentra en plantas, animales y procariotas. El genoma humano codifica más de 50 miembros de esta familia, mientras que el genoma de la planta *Arabidopsis* codifica más de 250 miembros. Estas enzimas son responsables de la síntesis de toxinas en plantas. ¿Por qué tiene sentido que las plantas tengan más enzimas de este tipo?

33. *Eliminación de sustancias olorosas.* Muchas moléculas olorosas son muy hidrofóbicas y se concentran en el epitelio olfativo. Si no se modificasen rápidamente, provocarían una señal persistente, independiente de su concentración en el medio. Proponga un mecanismo para convertir las sustancias olorosas hidrofóbicas en derivados hidrosolubles que puedan ser rápidamente eliminados.

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.



Capítulo 30: Degradación de aminoácidos y el ciclo de la urea



Capítulo 31: Síntesis de aminoácidos



Capítulo 32: Metabolismo de nucleótidos

SECCIÓN **13**

El metabolismo de las moléculas que contienen nitrógeno

En esta sección vamos a estudiar el metabolismo de los compuestos que contienen nitrógeno —concretamente, los aminoácidos y las bases de los nucleósidos. Así comprobaremos, una vez más, lo inextricablemente unidos que estamos a los demás habitantes del planeta Tierra. Como seres humanos, estamos acostumbrados a pensar que somos el centro del universo, al menos, desde el punto de vista biológico. Sin embargo, puede que nos hayamos sentido (o que deberíamos habernos sentido) humillados al descubrir que, tal y como se describe en la Sección 10, sin una fotosíntesis que incorpore átomos de carbono a la bioquímica, literalmente, no estaríamos aquí. Debemos ser más modestos y darnos cuenta de que nuestras vidas están ligadas a las de criaturas fotosintéticas, como las majestuosas secuoyas, las seductoras orquídeas o incluso el ficus de la esquina de la habitación, así como a los ancestros de estas plantas. Sin embargo, nuestra dependencia de otros organismos no solo se reduce a que nos suministren el carbono. Nosotros, al igual que los demás organismos, necesitamos nitrógeno. Casi todas las moléculas que hemos estudiado, a excepción de los combustibles, contienen nitrógeno. La principal fuente de este nitrógeno es una clase especial de microorganismos —los procariotas que fijan nitrógeno.

Comenzamos nuestro estudio del metabolismo de las moléculas que contienen nitrógeno con la degradación de los aminoácidos. El exceso de aminoácidos que no resulta necesario para la biosíntesis no se puede ni almacenar ni excretar. En vez de ello, los aminoácidos sobrantes se utilizan como combustible. En primer lugar, se elimina el grupo α-amino y se convierte en urea mediante el ciclo de la urea para que, después, sea excretada. Los esqueletos carbonados resultantes se convierten en intermediarios metabólicos, contribuyendo así a la generación de energía en la célula.

Después estudiaremos la síntesis de aminoácidos. Primero veremos cómo los habitantes prácticamente invisibles de nuestro mundo —los procariotas que fijan el nitrógeno— hacen posible la vida extrayendo N_2 de la atmósfera y reduciéndolo a amoniaco. Luego veremos cómo se añade el nitrógeno a los metabolitos fundamentales para formar aminoácidos. A continuación, analizaremos cómo se utilizan los aminoácidos como materiales de construcción para sintetizar un gran número de otras moléculas importantes que contienen nitrógeno. Nos centraremos en la síntesis, dependiente de aminoácidos, de los nucleótidos, que son los precursores del DNA y del RNA, moléculas cruciales que contienen información.

✓ Al final de esta sección, usted debería ser capaz de:

✓ 1 Describir el destino del nitrógeno que se elimina cuando se utilizan los aminoácidos como combustible.

✓ 2 Explicar cómo se metabolizan los esqueletos carbonados de los aminoácidos tras la eliminación del nitrógeno.

✓ 3 Explicar la crucial importancia de la fijación del nitrógeno para la vida y describir cómo se convierte el nitrógeno atmosférico en una forma de nitrógeno biológicamente útil.

✓ 4 Identificar las fuentes de átomos de carbono para la síntesis de aminoácidos.

✓ 5 Describir cómo se sintetizan los nucleótidos.

✓ 6 Explicar cómo se regula la síntesis de nucleótidos.

CAPÍTULO 30

Degradación de aminoácidos y ciclo de la urea

30.1 La eliminación del nitrógeno es el primer paso de la degradación de aminoácidos

30.2 En la mayoría de los vertebrados terrestres, los iones amonio se convierten en urea

30.3 Los átomos de carbono de los aminoácidos degradados aparecen en los principales intermediarios metabólicos



Este grabado en madera pintado a mano del siglo XIV y procedente de Alemania muestra una rueda que clasifica las muestras de orina en función de su color y de su consistencia. En el centro de la rueda, un médico inspecciona la orina de un paciente mediante la vista, el olfato y el gusto. Los viales que aparecen en la rueda ayudaban a los médicos a diagnosticar enfermedades. [Rosenwald Collection, Rare Book and Special Collections Division (128.2), Library of Congress.]

Las proteínas que aporta la dieta son una fuente crucial de aminoácidos. Las proteínas que ingerimos se digieren a aminoácidos o a péptidos pequeños que pueden ser absorbidos por el intestino y transportados por la sangre (p. 238). Otra fuente de aminoácidos es la degradación de las proteínas celulares defectuosas o innecesarias. En las células, el recambio de proteínas —su degradación y la síntesis de otras nuevas— se produce constantemente. Aunque algunas proteínas, como las que forman parte del cristalino del ojo, son muy estables, muchas proteínas tienen una vida media corta, especialmente aquellas que son importantes para la regulación del metabolismo. Un cambio en la cantidad de estas proteínas puede alterar rápidamente los patrones metabólicos. Además, las células poseen mecanismos para detectar y eliminar las proteínas deterioradas. Una fracción significativa de las proteínas recién sintetizadas son defectuosas debido a errores en la traducción. Incluso proteínas que son normales tras la síntesis pueden, con el tiempo, experimentar daños oxidativos o alterarse de otras maneras. ¿Cuál es el destino de los aminoácidos liberados durante la degradación de las proteínas? Los aminoácidos no se almacenan como los carbohidratos o las grasas y, por tanto, tienen que metabolizarse bioquímicamente. La prioridad número uno es la de utilizarlos como materiales de construcción para las reacciones anabólicas, como la síntesis de proteínas y nucleótidos. Si estas necesida-

des están cubiertas, los aminoácidos se degradan y los esqueletos carbonados se utilizan en el catabolismo o en el anabolismo. ¿Qué ocurre con el nitrógeno de los aminoácidos? Es importante deshacerse de él de forma segura porque el exceso de nitrógeno en forma de amoniaco resulta tóxico.

En este capítulo estudiaremos cómo se elimina el nitrógeno de los aminoácidos para su posterior excreción en forma de urea. A continuación, consideraremos los destinos que aguardan a los esqueletos carbonados de los aminoácidos.

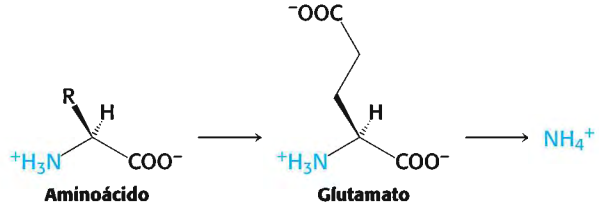
✓ 1 Describir el destino del nitrógeno que se elimina cuando se utilizan los aminoácidos como combustible.

30.1 La eliminación del nitrógeno es el primer paso de la degradación de aminoácidos

Como ya se ha mencionado, los aminoácidos no se almacenan para ser utilizados en otro momento. Cualquier aminoácido que no sea necesario como material de construcción se degrada liberando diversos compuestos, en función del tipo de aminoácido y del tejido donde se ha originado. En mamíferos, el principal lugar donde se lleva a cabo la degradación de aminoácidos es el hígado. El primer paso consiste en eliminar el nitrógeno. A continuación, los α-cetoácidos resultantes se metabolizan para que sus esqueletos carbonados puedan incorporarse a las principales rutas metabólicas como precursores de la glucosa o de intermediarios del ciclo del ácido cítrico. En primer lugar, analizaremos el destino del grupo α-amino y, después, el del esqueleto carbonado.

Mediante la desaminación oxidativa del glutamato, los grupos alfa-amino se convierten en iones amonio

El grupo α-amino de muchos aminoácidos se transfiere al α-cetoglutarato formando *glutamato* que, posteriormente, se desamina de forma oxidativa dando lugar al ion amonio (NH_4^+).



Las *aminotransferasas* catalizan la transferencia de un grupo α-amino de un α-aminoácido a un α-cetoácido. Por lo general, estas enzimas, también denominadas *transaminasas*, suelen canalizar los grupos α-amino de diversos aminoácidos hacia el α-cetoglutarato para que se conviertan en NH_4^+. Hay que señalar que estas mismas enzimas transaminasas se pueden utilizar para la síntesis de aminoácidos.



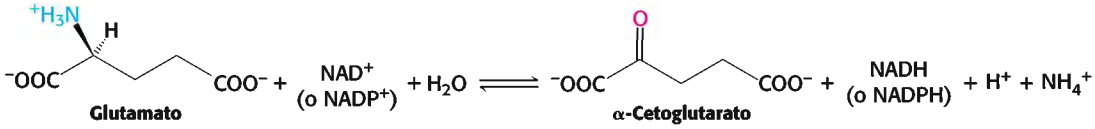
La *aspartato aminotransferasa*, una de las enzimas más importantes de este grupo, cataliza la transferencia del grupo α-amino del aspartato al α-cetoglutarato.

$$\text{Aspartato} + \alpha\text{-cetoglutarato} \rightleftharpoons \text{oxalacetato} + \text{glutamato}$$

La *alanina aminotransferasa* cataliza la transferencia del grupo amino de la alanina al α-cetoglutarato.

$$\text{Alanina} + \alpha\text{-cetoglutarato} \rightleftharpoons \text{piruvato} + \text{glutamato}$$

Mediante la desaminación oxidativa del glutamato, el átomo de nitrógeno que se transfiere al α-cetoglutarato en la reacción de transaminación se convierte en un ion amonio libre, al tiempo que se regenera el α-cetoglutarato.



Esta reacción está catalizada por la *glutamato deshidrogenasa*, una enzima que volveremos a encontrar al estudiar la incorporación del amoniaco a las biomoléculas (Capítulo 31). Esta enzima, por tanto, ayuda a que el nitrógeno se incorpore o se retire de los sistemas biológicos. La glutamato deshidrogenasa es atípica, ya que puede utilizar NADH o NADPH como poder reductor, al menos en algunas especies. La glutamato deshidrogenasa se localiza en las mitocondrias, al igual que algunas de las otras enzimas necesarias para la síntesis de urea, la forma utilizada por la mayoría de los vertebrados para excretar el NH_4^+. Esta compartimentación permite mantener confinado el amoniaco libre, que es muy tóxico.

En vertebrados, la actividad de la glutamato deshidrogenasa se regula alostéricamente. La enzima consta de seis subunidades idénticas. La guanosina trifosfato y la adenosina trifosfato son inhibidores alostéricos, mientras que la guanosina difosfato y la adenosina difosfato son activadores alostéricos. Por tanto, *una disminución de la carga energética de la célula acelera la oxidación de los aminoácidos*.

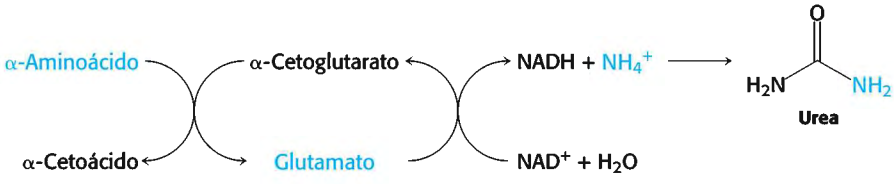
La suma de las reacciones catalizadas por las aminotransferasas y la glutamato deshidrogenasa es

$$\text{α-Aminoácido} + \underset{(\text{o NADP}^+)}{\text{NAD}^+} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{α-cetoácido} + \text{NH}_4^+ + \underset{(\text{o NADPH})}{\text{NADH}} + \text{H}^+$$

Aunque los átomos de nitrógeno de la mayoría de los aminoácidos se transfieren al α-cetoglutarato antes de ser eliminados, los grupos α-amino de la serina y de la treonina se pueden convertir directamente en NH_4^+. Estas desaminaciones directas están catalizadas por la *serina deshidratasa* y por la *treonina deshidratasa*, enzimas que utilizan el *piridoxal fosfato* (PLP) como grupo prostético.

$$\text{Serina} \longrightarrow \text{piruvato} + \text{NH}_4^+$$
$$\text{Treonina} \longrightarrow \text{α-cetobutirato} + \text{NH}_4^+$$

En la mayoría de los vertebrados terrestres, el NH_4^+ se convierte, posteriormente, en urea para que pueda ser excretada, un proceso que analizaremos en breve.



Los tejidos periféricos transportan nitrógeno al hígado

Aunque gran parte de la degradación de aminoácidos tiene lugar en el hígado, este órgano, por sí solo, es incapaz de desaminar los aminoácidos de cadena ramificada: leucina, valina e isoleucina. Otros tejidos, sobre todo el músculo, utilizan los aminoácidos de cadena ramificada como fuente de combustible. ¿Cómo se metaboliza el nitrógeno en estos otros tejidos? Al igual que en el hígado, el primer paso consiste en la eliminación del nitrógeno del aminoácido. Sin embargo, el músculo carece de las enzimas del ciclo de la urea, el conjunto de reacciones que preparan el nitrógeno para su excreción: por tanto, en el músculo, el nitrógeno primero se tiene que liberar en una forma que pueda ser absorbida por el hígado y convertida en urea.

El nitrógeno se transporta desde el músculo hasta el hígado principalmente de dos maneras: en forma de alanina y en forma de glutamina. El glutamato se for-

Rutas activas:
1. Descomposición del glucógeno, Capítulo 24
2. Glucólisis, Capítulo 16
3. Ciclo del ácido cítrico, Capítulo 18
4. Fosforilación oxidativa, Capítulo 20
5. Gluconeogénesis, Capítulo 17
6. Ciclo de la urea, Capítulo 30

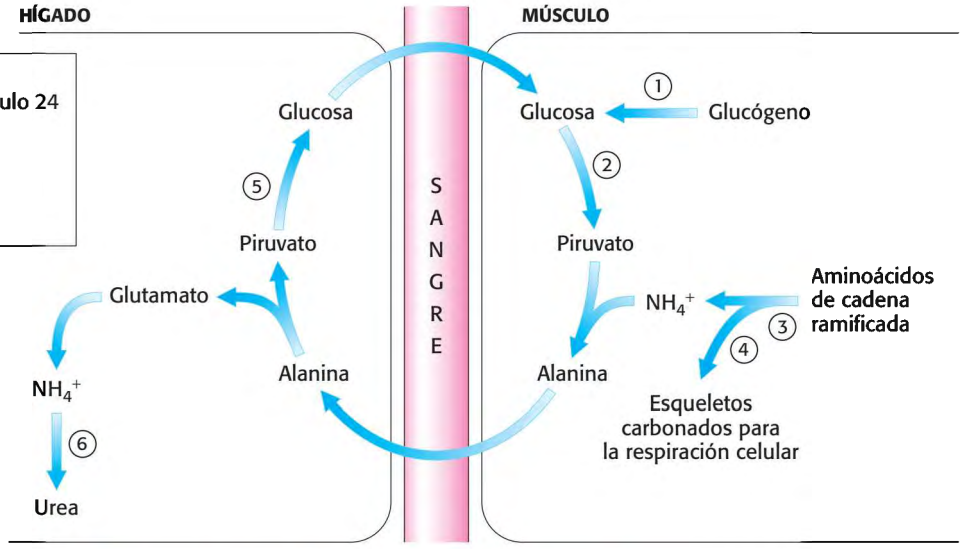
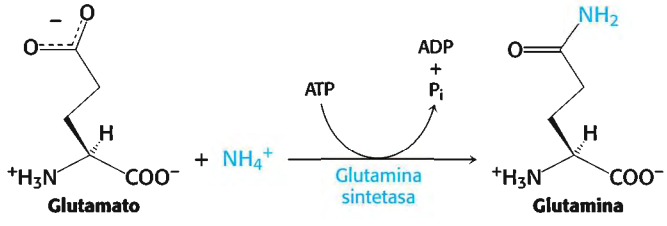


Figura 30.1 INTEGRACIÓN DE RUTAS: el ciclo glucosa-alanina. Durante el ejercicio prolongado y durante el ayuno, los músculos utilizan como combustible aminoácidos de cadena ramificada. El nitrógeno eliminado se transfiere (vía glutamato) a la alanina, que se libera al torrente sanguíneo. En el hígado, se absorbe la alanina y se convierte en piruvato para la posterior síntesis de glucosa.

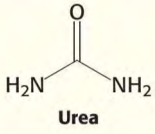
ma mediante reacciones de transaminación, pero, posteriormente, el nitrógeno se transfiere al piruvato para formar alanina, que se libera a la sangre (Figura 30.1). El hígado absorbe la alanina y la vuelve a convertir en piruvato mediante una transaminación. El piruvato se puede utilizar para la gluconeogénesis y el grupo amino acaba apareciendo en la urea. A este transporte se le denomina *ciclo de glucosa-alanina*. Es parecido al ciclo de Cori estudiado anteriormente (p. 310). Sin embargo, a diferencia del ciclo de Cori, el piruvato no se reduce a lactato y, por tanto, hay más electrones de alta energía disponibles para la fosforilación oxidativa en el músculo.

El nitrógeno también se puede transportar en forma de glutamina. La glutamina sintetasa cataliza la síntesis de glutamina a partir de glutamato y NH_4^+ mediante una reacción dependiente de ATP:



En el hígado, los átomos de nitrógeno de la glutamina se pueden convertir en urea.

? PREGUNTA RÁPIDA 1 ¿Cómo cooperan las aminotransferasas y la glutamato deshidrogenasa en el metabolismo del grupo α-amino de los aminoácidos?



30.2 En la mayoría de los vertebrados terrestres, los iones amonio se convierten en urea

Parte del NH_4^+ formado durante la descomposición de los aminoácidos se consume en la biosíntesis de compuestos nitrogenados. En la mayoría de los vertebrados terrestres, el exceso de NH_4^+ se convierte en *urea* y, posteriormente, se excreta. Estos organismos se denominan *ureotélicos*. En estos vertebrados terrestres, la urea se sintetiza mediante el *ciclo de la urea* (Figura 30.2). Uno de los átomos de nitrógeno de la urea se transfiere desde un aminoácido, el aspartato. El otro átomo de nitrógeno procede directamente del NH_4^+ libre, mientras que el átomo de carbono procede del HCO_3^- (que se origina por la hidratación del CO_2).

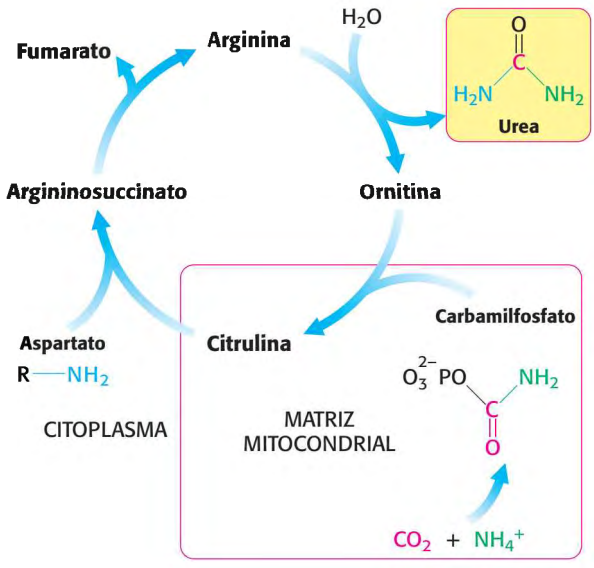
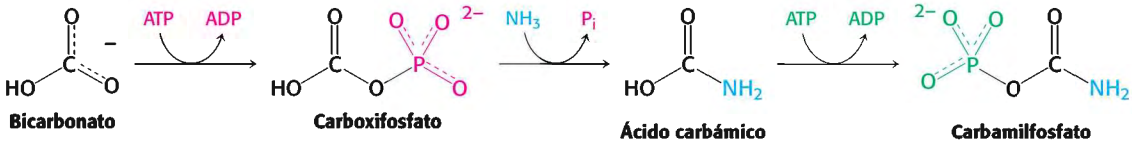
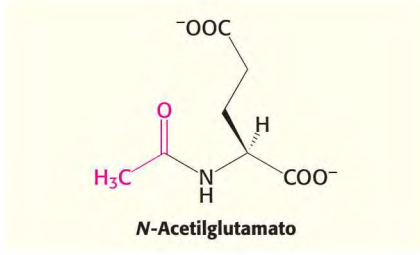


Figura 30.2 El ciclo de la urea.

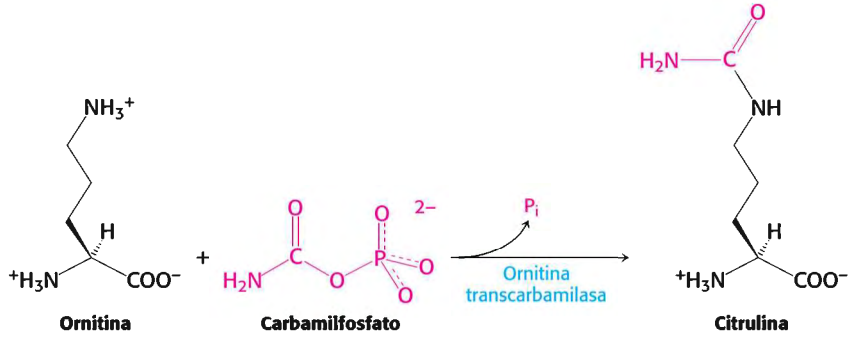
El ciclo de la urea comienza en las mitocondrias con el acoplamiento del NH_4^+ libre y el HCO_3^- para formar carbamilfosfato. Aunque se trata de una molécula sencilla, su biosíntesis, que necesita energía, es compleja y consta de tres pasos, todos ellos catalizados por la *carbamilfosfato sintetasa* (también denominada CPS I).



Hay que señalar que el NH_3, al ser una base fuerte, en disolución acuosa se encuentra normalmente en forma de NH_4^+. Sin embargo, la carbamilfosfato sintetasa desprotona el ion y utiliza el NH_3 como sustrato. La reacción comienza con la fosforilación del HCO_3^- formando carboxifosfato que, posteriormente, reacciona con el amoniaco formando ácido carbámico. Por último, una segunda molécula de ATP fosforila el ácido carbámico dando lugar al carbamilfosfato. El consumo de dos moléculas de ATP hace que esta síntesis de carbamilfosfato sea prácticamente irreversible. Para ser activa, la enzima de los mamíferos necesita la molécula reguladora *N-acetilglutamato*. Esta molécula solo se sintetiza si hay aminoácidos libres presentes, una señal bioquímica de que todo el amoniaco que se genere debe ser eliminado.



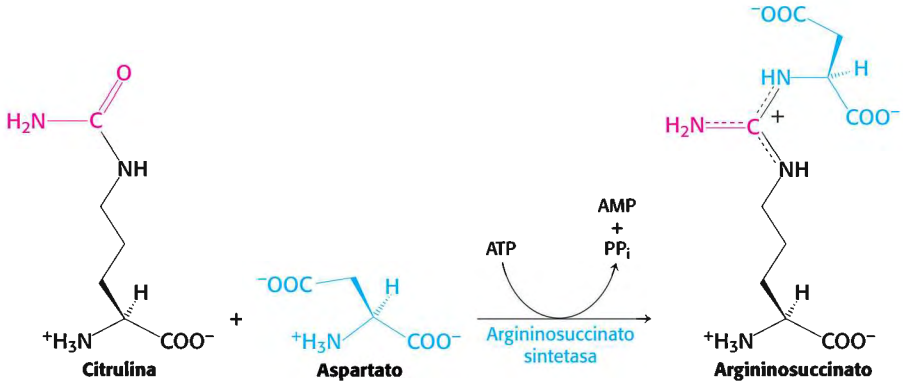
El grupo carbamilo del carbamilfosfato se transfiere a la *ornitina*, con lo que se forma *citrulina* en una reacción catalizada por la *ornitina transcarbamilasa*.



La ornitina y la citrulina son aminoácidos, pero no forman parte del "alfabeto" de 20 aminoácidos utilizados como materiales para la fabricación de proteínas. La for-

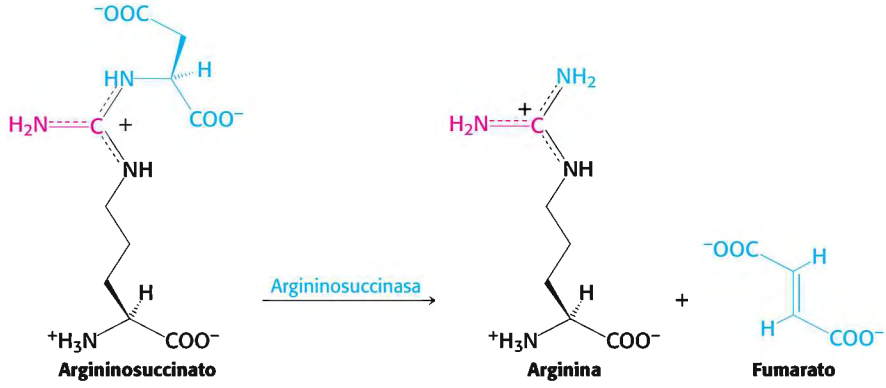
mación de NH_4^+ por parte de la glutamato deshidrogenasa, su incorporación al carbamilfosfato y la posterior síntesis de citrulina tienen lugar en la matriz mitocondrial. Por el contrario, las siguientes tres reacciones del ciclo de la urea, que dan lugar a la formación de urea, tienen lugar en el citoplasma.

La citrulina, transportada al citoplasma a cambio de ornitina, se condensa con el aspartato, el donador del segundo grupo amino de la urea. Esta síntesis de *argininosuccinato*, catalizada por la *argininosuccinato sintetasa*, está impulsada por la escisión del ATP a AMP y pirofosfato y la subsiguiente hidrólisis del pirofosfato.



A continuación, la *argininosuccinasa* escinde el argininosuccinato dando lugar a *arginina* y *fumarato*. De este modo, el esqueleto carbonado del aspartato se preserva en forma de fumarato.

En la antigua Roma, la orina era una mercancía muy valiosa que se utilizaba para dar brillo a las togas. Se colocaban vasijas en las esquinas de las calles para animar a los transeúntes a orinar en ellas. Las bacterias degradaban la urea liberando iones amonio que actuaban como agente blanqueador.



Por último, la arginina se hidroliza generando urea y ornitina, en una reacción catalizada por la *arginasa*. Posteriormente, la ornitina es transportada de vuelta a la mitocondria para comenzar un nuevo ciclo. La urea se excreta. De hecho, los seres humanos excretan unos 10 kg de urea al año.

? PREGUNTA RÁPIDA 2 ¿Cuáles son las fuentes bioquímicas inmediatas de los dos átomos de nitrógeno de la urea?

El ciclo de la urea está conectado con la gluconeogénesis

La estequiometría de la síntesis de urea es

$$CO_2 + NH_4^+ + 3\ ATP + aspartato + 2\ H_2O \longrightarrow$$
$$urea + 2\ ADP + 2\ P_i + AMP + PP_i + fumarato$$

El ciclo de la urea genera suficiente arginina como para satisfacer las necesidades de un ser humano adulto; por ello, para los adultos, la arginina no es un aminoácido esencial. Los niños, sin embargo, necesitan más materiales de construcción para sus organismos en crecimiento y necesitan ingerir arginina en la dieta.

El pirofosfato se hidroliza rápidamente, por lo que para sintetizar una molécula de urea, estas reacciones consumen el equivalente a cuatro moléculas de ATP. La síntesis de fumarato por medio del ciclo de la urea es importante porque es un precursor para la síntesis de glucosa (**Figura 30.3**). El fumarato se hidrata a malato, un intermediario del ciclo del ácido cítrico, que, a su vez, es oxidado a oxalacetato. Este último se puede convertir en glucosa mediante gluconeogénesis o se puede transaminar generando aspartato.

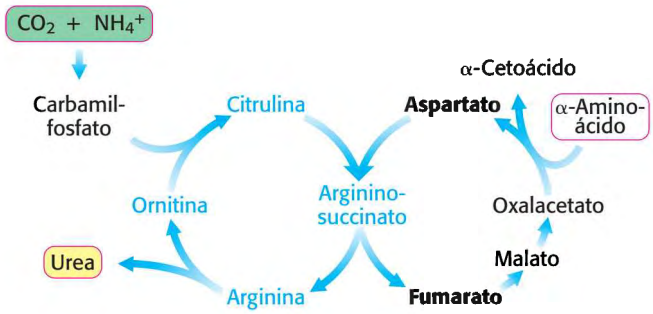


Figura 30.3 El contexto metabólico del metabolismo del nitrógeno. El ciclo de la urea, el ciclo del ácido cítrico y la transaminación del acetato están conectados mediante el fumarato y el aspartato.

Aspecto clínico

El metabolismo en su contexto: la hiperamonemia se debe a defectos congénitos del ciclo de la urea

La síntesis de urea en el hígado es la principal ruta para la eliminación del NH_4^+. El bloqueo de la síntesis de carbamilfosfato o de cualquiera de los cuatro pasos del ciclo de la urea tiene consecuencias devastadoras, ya que no hay una ruta alternativa para la síntesis de urea. *Todos los defectos del ciclo de la urea dan lugar a un elevado nivel de NH_4^+ en la sangre (hiperamonemia).* Algunos de estos defectos genéticos se ponen de manifiesto uno o dos días después del parto, cuando el bebé afectado se muestra aletargado y vomita de forma periódica. En poco tiempo entrará en coma y sufrirá daños cerebrales irreversibles.

El consumo excesivo de alcohol también puede dar lugar a la hiperamonemia. Ya vimos previamente los efectos del consumo de alcohol sobre la bioquímica del hígado (p. 491). Gran parte de los daños se deben a una excesiva producción de NADPH. El daño hepático debido a un consumo excesivo de alcohol se produce en tres etapas. En la primera etapa, se desarrolla el hígado graso. En la segunda etapa —hepatitis alcohólica— se mueren grupos de células y se produce una inflamación, efectos que podrían deberse a una superproducción de acetaldehído y al deterioro de las mitocondrias. Esta etapa puede resultar, por sí misma, letal. En la etapa tres —cirrosis— se forman estructuras fibrosas y tejido cicatricial en torno a las células muertas (**Figura 30.4**). El hígado cirrótico es incapaz de convertir el amoniaco en urea y los niveles de amoniaco en sangre aumentan. El amoniaco es tóxico para el sistema nervioso y puede provocar el coma y la muerte. La cirrosis hepática se produce en aproximadamente el 25% de los alcohólicos y prácticamente el 75% de todos los casos de cirrosis hepática se deben al alcoholismo. La hepatitis vírica es una causa de cirrosis hepática no relacionada con el alcohol.

¿Por qué los niveles elevados de NH_4^+ son tóxicos? La respuesta a esta pregunta todavía no se conoce. Sin embargo, investigaciones recientes sugieren que el NH_4^+ podría activar de forma inapropiada al cotransportador de sodio-potasio-cloruro. Esta activación desbarata el equilibrio osmótico de la célula nerviosa, lo que provoca un aumento de volumen que deteriora la célula y da lugar a trastornos neurológicos. ■



Figura 30.4 Destrucción del hígado. El hígado de la izquierda muestra un exceso de acumulación de grasa debido a la abundancia de NADH provocada por el metabolismo del etanol (p. 491). El del centro es un hígado cirrótico que muestra daños generalizados provocados, en parte, por una grave disfunción del ciclo de la urea. A la derecha se muestra un hígado sano. [Arthur Glauberman/Photo Researchers.]

Aspecto biológico

La hibernación plantea problemas a la hora de eliminar el nitrógeno

Algunos animales hibernan y, durante la hibernación, las rutas bioquímicas siguen funcionando para mantener vivo al animal. Consideremos un oso hibernando, que puede dormir durante un periodo de entre 3 y 5 meses. En este tiempo, el oso se convierte en un sistema metabólico cerrado y sostenible: no hay aporte de carbono ni de agua y no se libera ni orina ni materia digestiva. Anteriormente, ya vimos cómo se utilizan las reservas de grasa para mantener el funcionamiento del metabolismo basal, en el que los cuerpos cetónicos sirven de combustible al cerebro (p. 476). En los tejidos de un oso que hiberna se sigue produciendo el recambio de proteínas; entonces, ¿cómo evita el oso la acumulación de niveles peligrosos de NH_4^+, si no se puede excretar urea a través de la orina?

El nitrógeno se sigue recuperando para producir urea, que pasa a la vejiga urinaria. En el oso que hiberna, la urea es absorbida por la sangre y liberada en el intestino. Las bacterias del intestino hidrolizan la urea, generando NH_4^+, que se utiliza para sintetizar aminoácidos y proteínas. Cuando los microorganismos mueren, los aminoácidos liberados son absorbidos por el oso y utilizados para la biosíntesis. Obviamente, se benefician tanto el oso como las bacterias. En el oso, se elimina la urea y se forman aminoácidos necesarios, mientras las bacterias disponen de una fuente de nitrógeno para su biosíntesis. Curiosamente, algunas de las bacterias del oso pueden utilizar la hidrólisis de la urea para generar un gradiente electroquímico que se utiliza para sintetizar ATP. En definitiva, aunque el oso está hibernando, tanto él como sus habitantes son una marmita de actividad bioquímica. ■



Aspecto biológico

La urea no es la única forma de deshacerse del exceso de nitrógeno

Como se ha comentado anteriormente, la mayoría de los vertebrados terrestres son ureotélicos; excretan el exceso de nitrógeno en forma de urea. Sin embargo, la urea no es la única forma excretable del nitrógeno. *Los organismos amoniotélicos, como los vertebrados acuáticos y los invertebrados, liberan el nitrógeno en forma de NH_4^+* y dependen del entorno acuoso para diluir esta sustancia tóxica. Por tanto, estos organismos no necesitan metabolizar el nitrógeno, como en el ciclo de la urea, ya que pueden excretarlo a medida que se va eliminando de los aminoácidos. Curiosamente, los peces pulmonados, que normalmente son amoniotélicos, se vuelven ureotélicos en épocas de sequía, cuando viven fuera del agua.

Tanto los organismos ureotélicos como los amoniotélicos dependen del agua, en mayor o menor medida, para excretar el nitrógeno. *Por el contrario, los organismos uricotélicos, que secretan el nitrógeno en forma de ácido úrico, una purina, apenas necesitan agua.* La eliminación del exceso de nitrógeno en forma de ácido úrico es especialmente importante en animales, como las aves, que producen huevos que tienen una membrana impermeable que acumula los productos de desecho. La ruta de excreción del nitrógeno depende, claramente, del hábitat donde vive el organismo. ■

✓ 2 Explicar cómo se metabolizan los esqueletos carbonados de los aminoácidos tras la eliminación del nitrógeno.

30.3 Los átomos de carbono de los aminoácidos degradados aparecen en los principales intermediarios metabólicos

Nos centraremos ahora en los destinos que aguardan a los esqueletos carbonados de los aminoácidos, una vez eliminado el grupo α-amino. *La estrategia de la degradación de los aminoácidos consiste en transformar los esqueletos carbonados en los principales intermediarios metabólicos para que se puedan convertir en glucosa o para que sean oxidados mediante el ciclo del ácido cítrico.* Las rutas de conversión pueden ser extremadamente simples o bastante complejas. Los esqueletos carbonados de los 20 aminoácidos fundamentales son canalizados hacia la formación de tan solo siete moléculas: *piruvato*, *acetil-CoA*, *acetoacetil-CoA*, *α-cetoglutarato*, *succinil-CoA*, *fumarato* y *oxalacetato*. La conversión de los 20 esqueletos carbonados de los aminoácidos en tan solo siete moléculas ilustra la extraordinaria economía de las conversiones metabólicas, así como la importancia de determinados metabolitos.

Los aminoácidos que se degradan a acetil-CoA o a acetoacetil-CoA se denominan *aminoácidos cetogénicos*, ya que pueden generar cuerpos cetónicos o ácidos grasos, pero no pueden ser utilizados para sintetizar glucosa. Recordemos que los mamíferos carecen de una ruta para la síntesis neta de glucosa a partir de acetil-CoA o de acetoacetil-CoA (p. 474). Los aminoácidos que se degradan a piruvato, α-cetoglutarato, succinil-CoA, fumarato u oxalacetato se denominan *aminoácidos glucogénicos*. La síntesis neta de glucosa a partir de estos aminoácidos es posible gracias a que tanto el piruvato como estos intermediarios del ciclo del ácido cítrico se pueden convertir en fosfoenolpiruvato y, posteriormente, en glucosa a través de la gluconeogénesis.

De los 20 aminoácidos fundamentales, solo la leucina y la leucina son exclusivamente cetogénicos (Figura 30.5). La treonina, isoleucina, fenilalanina, triptófano y ti-

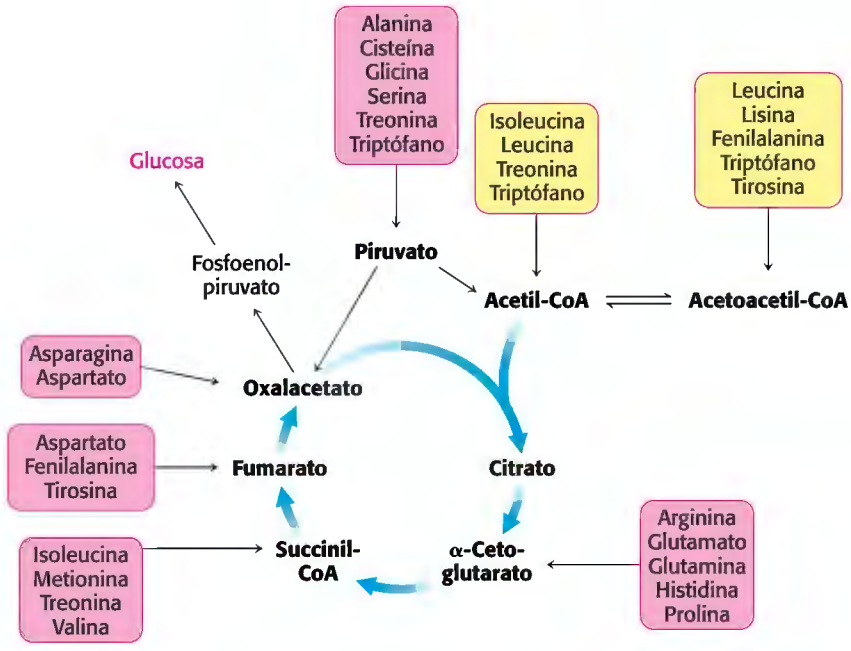


Figura 30.5 Destinos de los esqueletos carbonados de los aminoácidos. Los aminoácidos glucogénicos se muestran sobre un fondo rojo y los aminoácidos cetogénicos sobre un fondo amarillo. Algunos aminoácidos son cetogénicos y glucogénicos.

rosina son cetogénicos y glucogénicos. Algunos de sus átomos de carbono aparecen en el acetil-CoA o en el acetoacetil-CoA, mientras que otros aparecen en posibles precursores de la glucosa. Los otros 14 aminoácidos se clasifican como exclusivamente glucogénicos. Esta clasificación no tiene una aceptación universal, ya que se aplican distintos criterios cuantitativos. Que un aminoácido se considere glucogénico, cetogénico o ambos depende, en parte, del criterio del observador. Nosotros diferenciaremos las rutas de degradación en función del punto por donde se incorporan al metabolismo. Además, como algunas rutas de degradación son bastante complejas, se presentarán de forma resumida, resaltando únicamente algunos de los intermediarios clave.

El piruvato es un punto de entrada al metabolismo

El piruvato es el punto de entrada a las principales rutas del metabolismo de los aminoácidos con tres átomos de carbono —alanina, serina y cisteína— (**Figura 30.6**). Como ya se ha indicado antes en este capítulo, la transaminación de la alanina genera directamente piruvato.

$$\text{Alanina} + \alpha\text{-cetoglutarato} \rightleftharpoons \text{piruvato} + \text{glutamato}$$

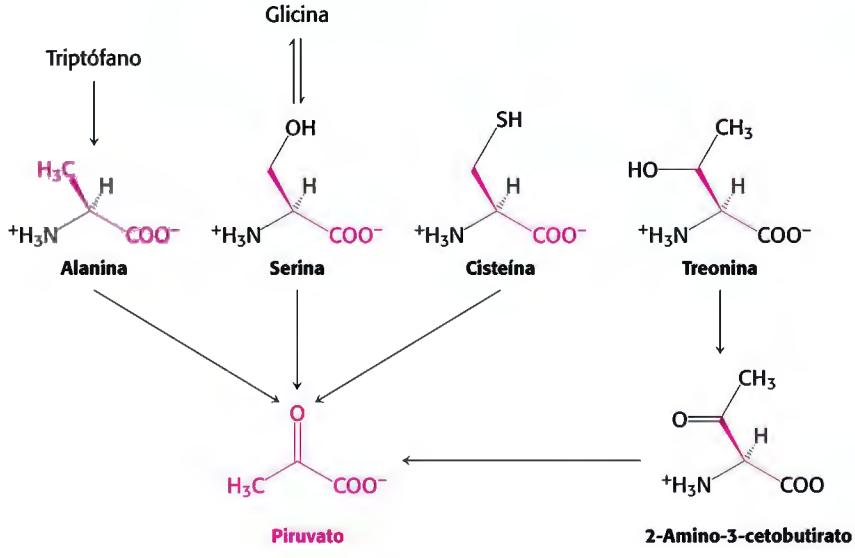


Figura 30.6 Formación de piruvato a partir de aminoácidos. El piruvato es el punto de entrada al metabolismo de la alanina, serina, cisteína, glicina, treonina y triptófano.

Otra sencilla reacción de la degradación de los aminoácidos es la *desaminación de la serina a piruvato* por parte de la *serina deshidratasa*.

$$\text{Serina} \longrightarrow \text{piruvato} + NH_4^+$$

La conversión de cisteína en piruvato es más compleja, ya que puede producirse mediante varias rutas, en las cuales, el átomo de azufre de la cisteína puede aparecer en forma de H_2S, SCN^- o SO_3^{2-}.

Los átomos de carbono de otros tres aminoácidos también se pueden convertir en piruvato. La *glicina* se puede convertir en serina mediante la adición enzimática de un grupo hidroximetilo o se puede escindir generando CO_2, NH_4^+ y la unidad monocarbonada activada tetrahidrofolato (Capítulo 31). La *treonina* genera 2-amino-3-cetobutirato, que genera piruvato o acetil-CoA. Tres de los átomos de carbono del *triptófano* pueden aparecer en la alanina que, posteriormente, se puede convertir en piruvato.

El oxalacetato es otro punto de entrada al metabolismo

El aspartato y la asparagina se convierten en oxalacetato, un intermediario del ciclo del ácido cítrico. El *aspartato*, un aminoácido con cuatro átomos de carbono, *se transamina directamente a oxalacetato*.

$$\text{Aspartato} + \alpha\text{-cetoglutarato} \rightleftharpoons \text{oxalacetato} + \text{glutamato}$$

La *asparagina* se hidroliza por la *asparaginasa* a NH_4^+ y aspartato, que después se transamina, tal y como muestra la anterior reacción.

Recordemos que el aspartato también se puede convertir en *fumarato* mediante el ciclo de la urea (p. 528). El fumarato también es un punto de entrada para la mitad de los átomos de carbono de la tirosina y de la fenilalanina, como se verá en breve.

El alfa-cetoglutarato también es otro punto de entrada al metabolismo

Los esqueletos carbonados de varios aminoácidos con cinco átomos de carbono se incorporan al ciclo del ácido cítrico como α-*cetoglutarato*. Estos aminoácidos se convierten primero en *glutamato* que, como se ha descrito antes en este capítulo (p. 525), se desamina oxidativamente por medio de la glutamato deshidrogenasa formando α-cetoglutarato (Figura 30.7).

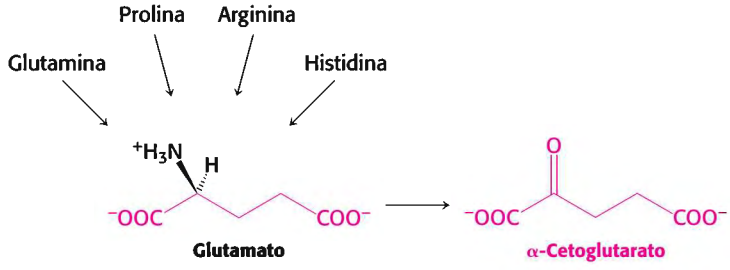


Figura 30.7 Formación de α-cetoglutarato a partir de aminoácidos. El α-cetoglutarato es el punto de entrada al metabolismo de algunos aminoácidos de cinco átomos de carbono que, primero, se convierten en glutamato.

La *histidina* se convierte en glutamato a través del intermediario 4-imidazolona-5-propionato (Figura 30.8). El enlace amida del anillo de este intermediario se hidroliza dando lugar al derivado *N*-formimino del glutamato que, posteriormente, se convierte en glutamato mediante la transferencia de su grupo formimino al tetrahidrofolato.

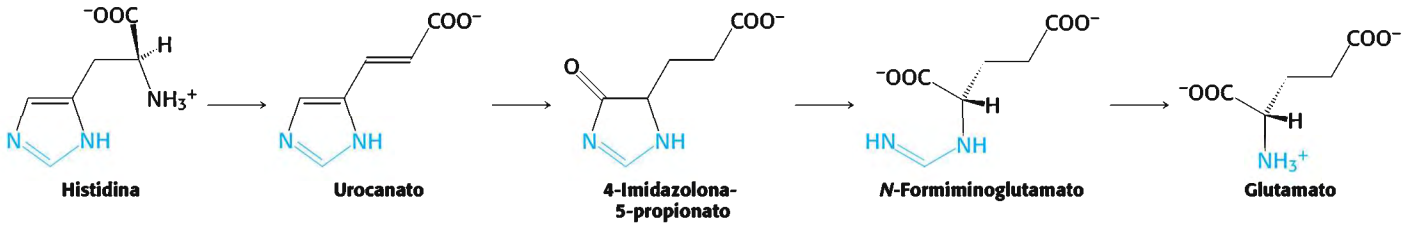


Figura 30.8 Degradación de la histidina. Conversión de histidina en glutamato.

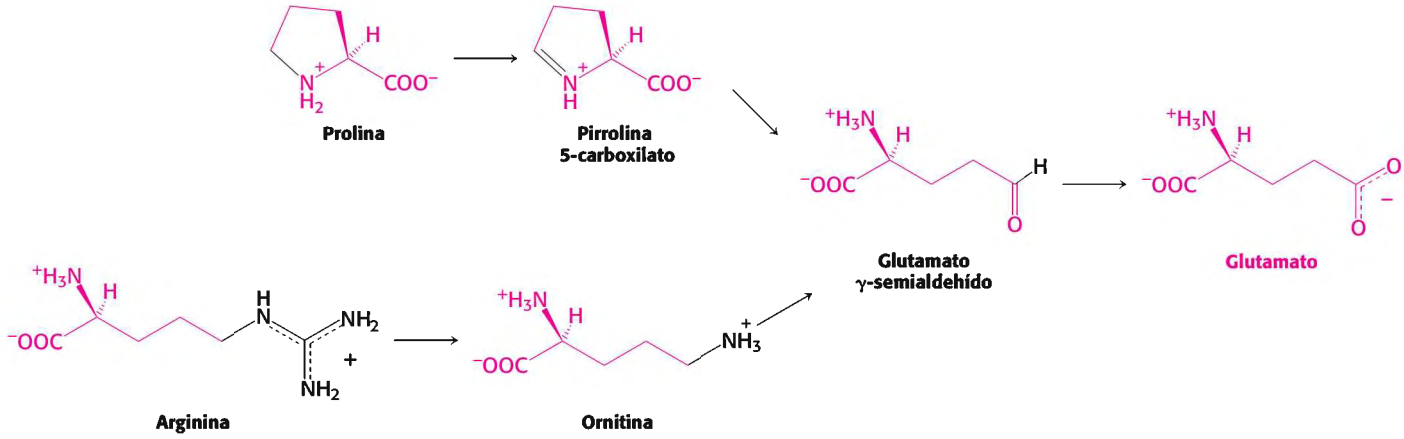


Figura 30.9 Formación de glutamato. Conversión de la prolina y arginina en glutamato.

La *glutamina* se hidroliza a glutamato y NH_4^+ por medio de la *glutaminasa*. Tanto la *prolina* como la *arginina* se convierten en γ-semialdehído glutámico, que después se oxida a glutamato (**Figura 30.9**).

La succinil coenzima A es un punto de entrada para varios aminoácidos no polares

La succinil-CoA es un punto de entrada para alguno de los átomos de carbono de la metionina, isoleucina y valina. La propionil-CoA y la metilmalonil-CoA son intermediarios que aparecen durante la descomposición de estos tres aminoácidos no polares (**Figura 30.10**). Esta ruta de la propionil-CoA a la succinil-CoA también se utiliza durante la oxidación de los ácidos grasos de cadena impar (p. 471). Como la conversión de la metilmalonil-CoA en succinil-CoA es una reacción dependiente de la vitamina B_{12}, la acumulación de ácido metilmalónico es un indicador clínico de una posible insuficiencia de vitamina B_{12}.

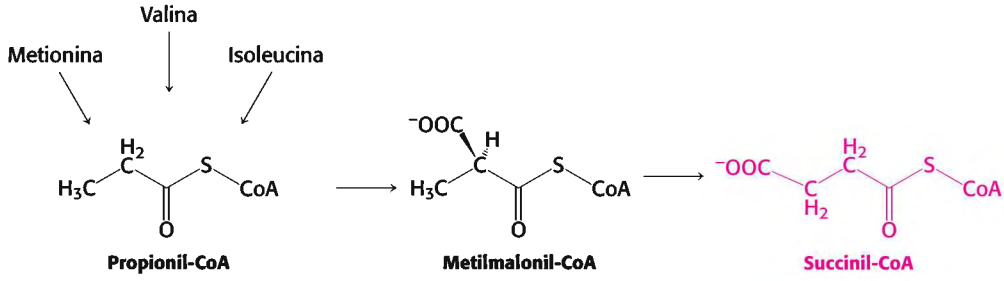
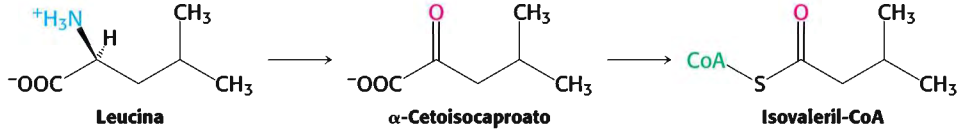


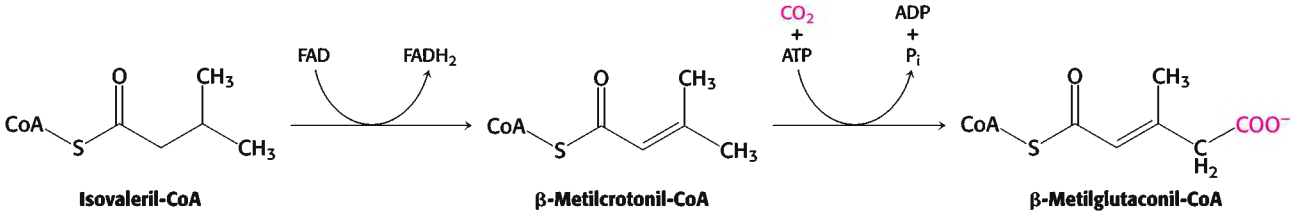
Figura 30.10 Formación de succinil-CoA. Conversión de metionina, isoleucina y valina en succinil-CoA.

Los aminoácidos de cadena ramificada generan acetil-coenzima A, acetoacetato o succinil-coenzima A

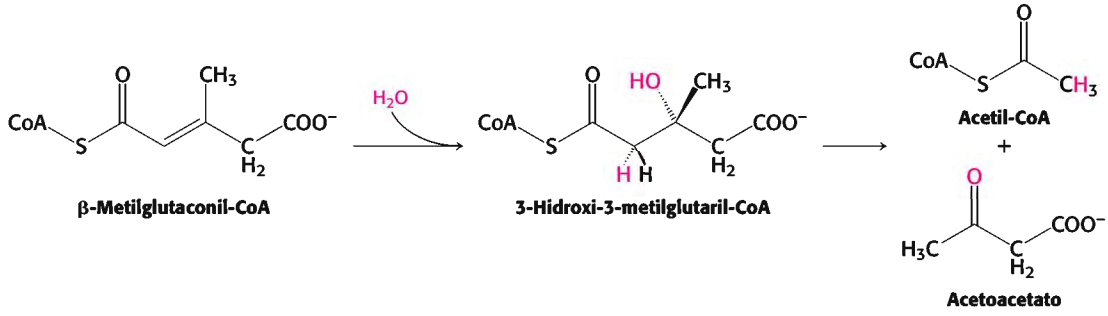
La degradación de los aminoácidos de cadena ramificada (leucina, isoleucina y valina) utiliza reacciones que ya hemos encontrado en el ciclo del ácido cítrico y en la oxidación de los ácidos grasos. La leucina se transamina al correspondiente α-cetoácido, el α-*cetoisocaproato*. Este α-cetoácido se descarboxila oxidativamente a *isovaleril-CoA* mediante el complejo *deshidrogenasa de α-cetoácidos de cadena ramificada*. Los α-cetoácidos de la valina y de la isoleucina, los otros aminoácidos con cadenas alifáticas ramificadas, así como el α-cetobutirato procedente de la metionina, también son sus sustratos. La descarboxilación oxidativa de estos α-cetoácidos es análoga a la del piruvato a acetil-CoA (p. 318) y a la del α-cetoglutarato a succinil-CoA (p. 333).



La isovaleril-CoA procedente de la leucina *se deshidrogena* generando *β-metilcrotonil-CoA*. El aceptor de hidrógeno es el FAD, como en la reacción análoga en la oxidación de los ácidos grasos (p. 469). Después, se forma *β-metilglutaconil-CoA* mediante la *carboxilación* de la β-metilcrotonil-CoA a expensas de lo hidrólisis de una molécula de ATP, en una reacción similar a la de la piruvato carboxilasa y a la de la acetil-CoA carboxilasa (pp. 302, 484).



A continuación, la β-metilglutaconil-CoA *se hidrata* formando *3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA*, que se escinde a *acetil-CoA* y *acetoacetato*. Esta reacción ya se ha estudiado en relación con la formación de cuerpos cetónicos a partir de ácidos grasos (p. 474).

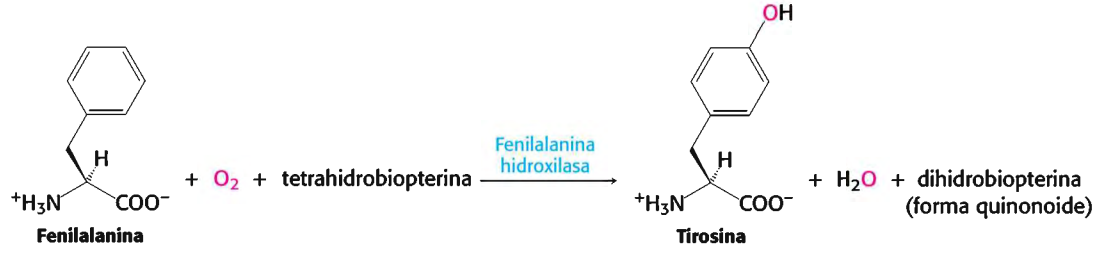


Las rutas degradativas de la valina y de la isoleucina son parecidas a la de la leucina. Tras la transaminación y la descarboxilación oxidativa que genera un derivado de la coenzima A, las reacciones posteriores son como las de la oxidación de los ácidos grasos. La isoleucina genera acetil-CoA y propionil-CoA, mientras que la valina genera CO_2 y propionil-CoA. Esta última se puede convertir en succinil-CoA, un intermediario del ciclo del ácido cítrico. La degradación de la leucina, valina e isoleucina confirman un aspecto comentado anteriormente (Capítulo 15): el número de reacciones del metabolismo es elevado, pero el número de *tipos* de reacciones es relativamente pequeño. La degradación de la leucina, valina e isoleucina ilustra a la perfección la simplicidad y elegancia que subyacen al metabolismo.

Para degradar los aminoácidos aromáticos se necesitan oxigenasas

La degradación de los aminoácidos aromáticos no se produce de forma tan directa como la de los aminoácidos considerados hasta ahora, aunque los productos finales —acetoacetato, fumarato y piruvato— son intermediarios abundantes. En el caso de los aminoácidos aromáticos *se utiliza el oxígeno molecular para romper el anillo aromático.*

La degradación de la fenilalanina comienza con su hidroxilación a tirosina, una reacción reversible catalizada por la *fenilalanina hidroxilasa*. Se dice que esta enzima es una *monooxigenasa* o una *oxigenasa de función mixta*, ya que uno de los átomos del O_2 aparece en el producto y el otro en el H_2O (p. 515).



En esta reacción, el reductor es la *tetrahidrobiopterina*, un cofactor de la fenilalanina hidroxilasa que se obtiene a partir del cofactor *biopterina*. Para regenerar la tetrahidrobiopterina a partir de la forma quinonoide que se produce en la reacción de hidroxilación se utiliza el NADH. La suma de la reacción es

$$\text{Fenilalanina} + H_2O + NADH + H^+ \longrightarrow \text{tirosina} + NAD^+ + H_2O$$

Hay que señalar que estas reacciones también se pueden utilizar para sintetizar tirosina a partir de fenilalanina.

El siguiente paso de la degradación de la fenilalanina y de la tirosina consiste en la transaminación de la tirosina a *p-hidroxifenilpiruvato* (**Figura 30.11**). A continuación, este α-cetoácido reacciona con el O_2 formando *homogentisato* para acabar formando, en última instancia, *fumarato* y *acetoacetato*.

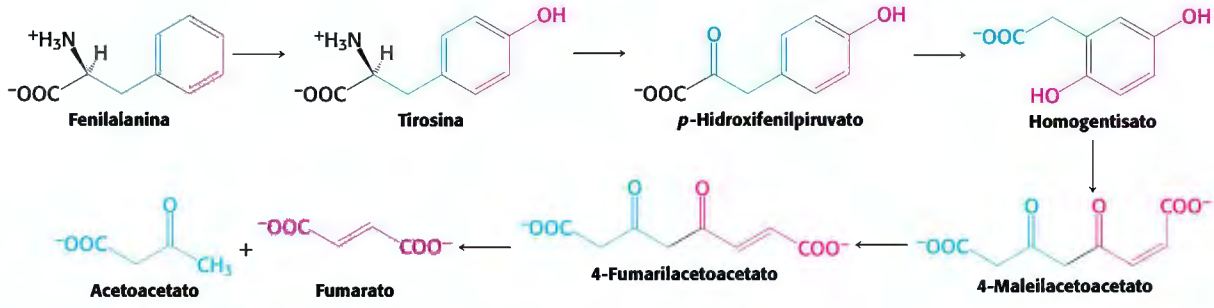


Figura 30.11 Degradación de la fenilalanina y de la tirosina. Ruta para la conversión de fenilalanina en acetoacetato y fumarato.

La degradación del triptófano requiere varias oxigenasas para romper sus dos anillos y generar acetoacetato como producto final (**Figura 30.12**). *En los sistemas biológicos, casi todas las rupturas de los anillos aromáticos están catalizadas por dioxigenasas.* A diferencia de las monooxigenasas, las dioxigenasas incorporan los dos átomos de oxígeno al producto de la reacción.

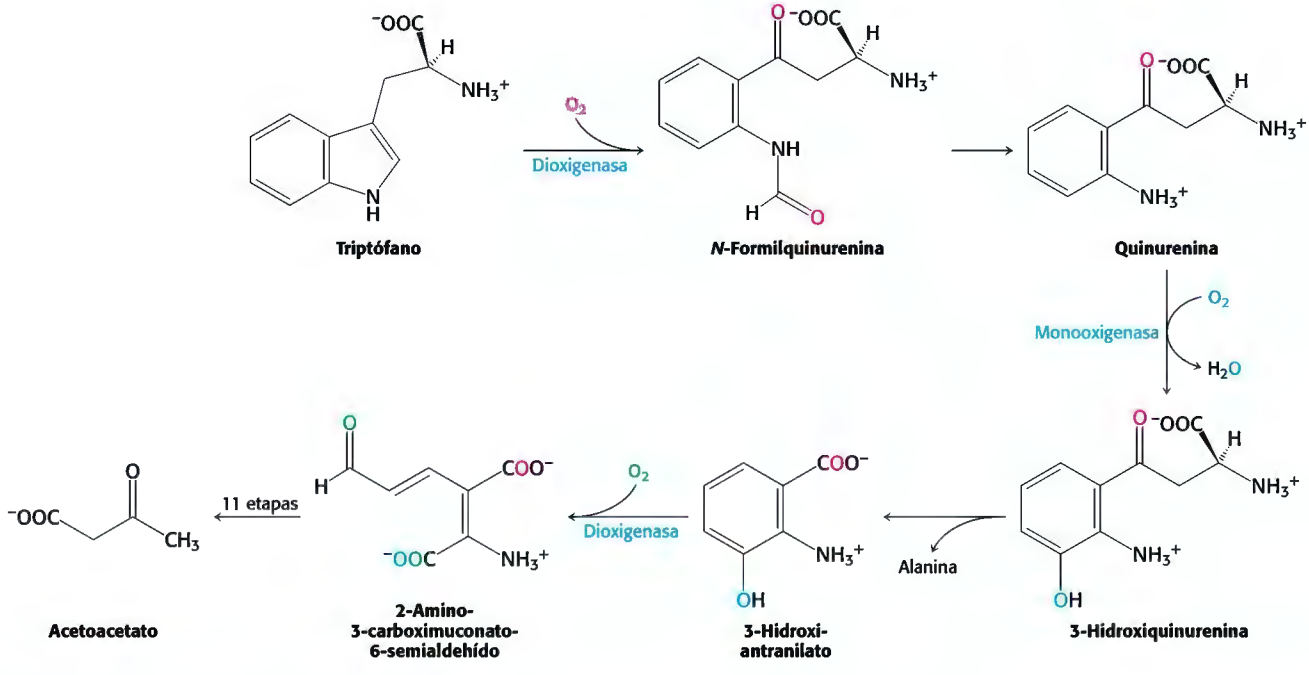


Figura 30.12 Degradación del triptófano. Ruta para la conversión de triptófano en alanina y acetoacetato.

La metionina se degrada a succinil-coenzima A

La metionina se convierte en succinil-CoA en nueve pasos (**Figura 30.13**). La primera reacción consiste en la adenilación de la metionina para formar *S*-adenosilmetionina (SAM). La donación de metilos y la desadenilación generan homocisteína, que se metaboliza a propionil-CoA que, a su vez, se convierte en succinil-CoA, tal y como se describió en la p. 533. Recordemos que la *S*-adenosilmetionina desempeña un papel clave en la bioquímica celular actuando habitualmente como donador de grupos metilo (Capítulo 29).

? PREGUNTA RÁPIDA 3 ¿Cuáles son las características comunes de los productos de la descomposición de los esqueletos carbonados de los aminoácidos?

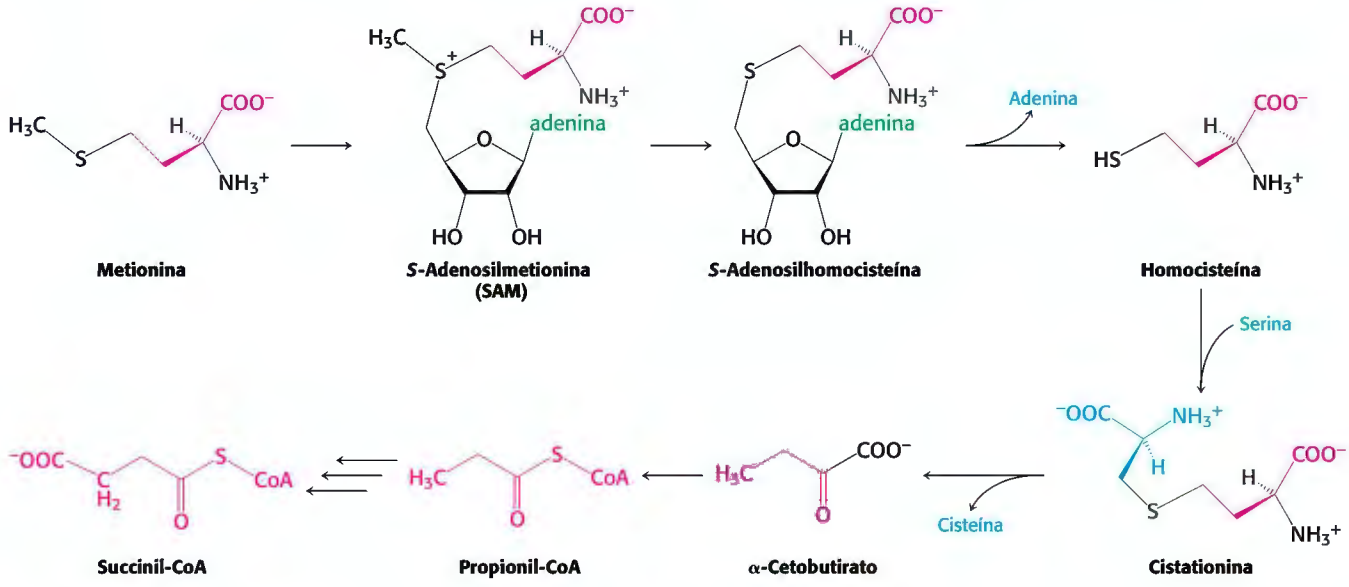


Figura 30.13 Metabolismo de la metionina. Ruta para la conversión de metionina en succinil-CoA. La *S*-adenosilmetionina, formada durante esta ruta, es una molécula importante a la hora de transferir grupos metilo.

Aspecto clínico

Errores congénitos del metabolismo pueden alterar la degradación de aminoácidos

Los errores en el metabolismo de los aminoácidos pusieron de manifiesto por primera vez la correlación entre defectos bioquímicos y estados patológicos (**Tabla 30.1**). La fenilcetonuria es, quizás, la enfermedad relacionada con el metabolismo de los aminoácidos que mejor se conoce. *La fenilcetonuria se debe a la ausencia o insuficiencia de fenilalanina hidroxilasa* o, en casos más raros, de su cofactor tetrahidrobiopterina. *La fenilalanina se acumula en todos los fluidos del organismo, ya que no se puede*

Tabla 30.1 Errores congénitos en el metabolismo de los aminoácidos

Enfermedad	Insuficiencia enzimática	Síntomas
Citrulinemia	Argininosuccinasa	Letargo, convulsiones, tensión muscular reducida
Tirosinemia	Diversas enzimas de la degradación de la tirosina	Debilidad, automutilaciones, daños hepáticos, retraso mental
Albinismo	Tirosinasa	Ausencia de pigmentación
Homocistinuria	Cistationina β-sintasa	Escoliosis, debilidad muscular, retraso mental, pelo rubio y fino
Hiperlisinemia	α-Aminoadípico semialdehído deshidrogenasa	Convulsiones, retraso mental, falta de tono muscular, ataxia

convertir en tirosina para su completa degradación. Normalmente, tres cuartas partes de las moléculas de fenilalanina se convierten en tirosina y la cuarta parte restante se incorpora a las proteínas. Como la principal ruta de salida se encuentra bloqueada en la fenilcetonuria, los niveles de fenilalanina en sangre alcanzan unos valores típicos 20 veces más altos que los de las personas no afectadas. En las personas no afectadas, los destinos minoritarios de la fenilalanina, como la formación de fenilpiruvarto, se convierten en los destinos principales de las personas con fenilcetonuria. De hecho, la primera descripción de la fenilcetonuria se realizó en 1934, tras observar que el fenilpiruvato presente en la orina de las personas afectadas reaccionaba con $FeCl_3$ originando un producto que hace que la orina se vuelva de un color verde oliva.

Casi todas las personas que padecen fenilcetonuria y no están en tratamiento padecen un grave retraso mental. De hecho, las estimaciones sugieren que, en los hospitales psiquiátricos, hasta un 1% de los pacientes padece fenilcetonuria. El peso del cerebro de estas personas está por debajo de lo normal, el revestimiento de mielina de sus nervios es defectuoso y sus reflejos son hiperactivos. La esperanza de vida de los pacientes no tratados disminuye drásticamente. La mitad de ellos muere antes de cumplir 20 años y el 75% antes de los 30. El fundamento bioquímico de su retraso mental es un misterio.

Al nacer, los pacientes con fenilcetonuria parecen normales pero, si no se les trata, al cumplir un año presentan graves defectos. La terapia para esta enfermedad consiste en una dieta baja en fenilalanina. El objetivo consiste en suministrar la fenilalanina justa para satisfacer las necesidades del crecimiento y la reposición. Para ello, las proteínas con un bajo contenido en fenilalanina, como la caseína de la leche, se hidrolizan y se elimina la fenilalanina mediante cromatografía de adsorción. Para evitar daños cerebrales irreversibles, se tiene que empezar la dieta baja en fenilalanina poco después del nacimiento. Así, en un estudio se ha visto que el promedio del coeficiente intelectual (CI) de las personas con fenilcetonuria que fueron tratadas a las pocas semanas del parto era de 93, mientras que el promedio del CI de un grupo control que comenzó el tratamiento a la edad de 1 año era de 53. Incluso en la etapa adulta, las personas con fenilcetonuria deben restringir el consumo de fenilalanina (**Figura 30.14**).

El diagnóstico precoz de la fenilcetonuria es esencial y se ha conseguido gracias a los programas de detección sistemática en la población. El nivel de fenilalanina en sangre es el criterio de diagnóstico preferido, ya que es más sensible y fiable que el test del $FeCl_3$. El diagnóstico prenatal de la fenilcetonuria con sondas de DNA es posible porque se ha clonado este gen y se han determinado las posiciones exactas de muchas mutaciones en la proteína. Curiosamente, mientras que algunas mutaciones reducen la actividad de la enzima, otras disminuyen su concentración.

La incidencia de la fenilcetonuria es de aproximadamente uno de cada 10.000 nacimientos. La enfermedad se hereda de forma *autosómica recesiva.* Los individuos heterocigóticos, que representan entre el 1% y el 1,5% de una población típica, tienen un aspecto normal. Los portadores del gen de la fenilcetonuria presentan niveles reducidos de fenilalanina hidroxilasa, lo que se traduce en un aumento en los niveles de fenilalanina en sangre. Sin embargo, este criterio no es absoluto, ya que los niveles de fenilalanina en sangre de los portadores y de las personas no afectadas se solapan parcialmente. Las medidas de la cinética de la desaparición de la fenilalanina administrada de forma intravenosa es un test más definitivo para la detección de los portadores. Un aspecto de particular importancia es que, en las mujeres embarazadas, los niveles elevados de fenilalanina en sangre pueden provocar un desarrollo anormal del feto, lo que constituye un claro ejemplo de las relaciones que, a nivel molecular, se establecen entre la madre y el feto. ■

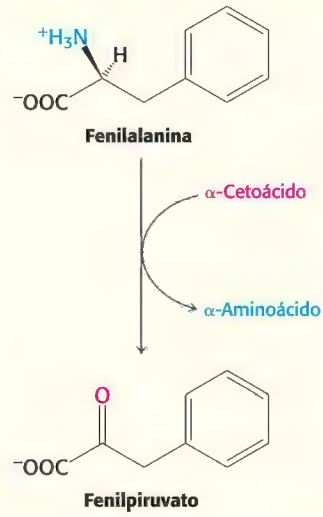




Figura 30.14 Etiquetas de advertencia. Las bebidas dietéticas en las que el aspartamo, un edulcorante artificial que contiene fenilalanina, sustituye al azúcar deben incluir en sus envases una advertencia que alerte a las personas con fenilcetonuria de que la bebida contiene fenilalanina. [AP Photo/Rob Carr.]

Resumen

30.1 La eliminación del nitrógeno es el primer paso de la degradación de aminoácidos

El exceso de aminoácidos se utiliza como combustible metabólico. El primer paso de su degradación consiste en la eliminación de sus grupos α-amino mediante transaminación, con lo que se generan α-cetoácidos. El grupo α-amino se incorpora al α-cetoglutarato formando glutamato que, posteriormente, se desamina oxidativamente por la glutamato deshidrogenasa formando NH_4^+ y α-cetoglutarato. En esta reacción, el aceptor de electrones es el NAD^+ o el $NADP^+$.

30.2 En la mayoría de los vertebrados terrestres, los iones amonio se convierten en urea

El primer paso de la síntesis de urea consiste en la formación de carbamilfosfato, que se sintetiza a partir de HCO_3^-, NH_3 y dos moléculas de ATP mediante la carbamilfosfato sintetasa. A continuación, la ornitina transcarbamilasa añade un grupo carbamilo a la ornitina, convirtiéndola en citrulina. Estas dos reacciones tienen lugar en las mitocondrias. La citrulina abandona la mitocondria y se condensa con el aspartato formando argininosuccinato, que se escinde generando arginina y fumarato. El otro átomo de nitrógeno de la urea procede del aspartato. La urea se forma mediante la hidrólisis de la arginina, un proceso que también regenera la ornitina.

30.3 Los átomos de carbono de los aminoácidos degradados aparecen en los principales intermediarios metabólicos

Los átomos de carbono de los aminoácidos degradados se convierten en piruvato, acetil-CoA, acetoacetato o en algún intermediario del ciclo del ácido cítrico. La mayoría de los aminoácidos son exclusivamente glucogénicos, dos son exclusivamente cetogénicos y unos pocos son tanto cetogénicos como glucogénicos. La alanina, serina, cisteína, glicina, treonina y triptófano se degradan a piruvato. La asparagina y el aspartato se convierten en oxalacetato. El α-cetoglutarato es el punto de entrada al metabolismo del glutamato y de otros cuatro aminoácidos (glutamina, histidina, prolina y arginina) que se pueden convertir en glutamato. La succinil-CoA es el punto de entrada para algunos de los átomos de carbono de tres aminoácidos (metionina, isoleucina y valina) que se degradan a través del intermediario metilmalonil-CoA. La leucina se degrada a acetoacetato y acetil-CoA. La descomposición de la valina y de la isoleucina es como la de la leucina. Los α-cetoácidos que se forman a partir de ellas se descarboxilan oxidativamente mediante la deshidrogenasa de α-cetoácidos de cadena ramificada.

Los anillos de los aminoácidos aromáticos se degradan mediante oxigenasas. La fenilalanina hidroxilasa, una monooxigenasa, utiliza la tetrahidrobiopterina como agente reductor. Cuatro de los átomos de carbono de la fenilalanina y de la tirosina se convierten en fumarato y cuatro aparecen en el acetoacetato.

Los errores en el metabolismo de los aminoácidos aportaron los primeros datos sobre la correlación que existe entre la patología y la bioquímica. La fenilcetonuria es consecuencia de la acumulación de elevados niveles de fenilalanina en los fluidos corporales. Mediante mecanismos que se desconocen, esta acumulación provoca retraso mental a menos que las personas afectadas se sometan a una dieta baja en fenilalanina inmediatamente después del parto.

Términos clave

aminotransferasa (transaminasa) (p. 524)
glutamato deshidrogenasa (p. 525)
ciclo de glucosa-alanina (p. 526)
ciclo de la urea (p. 526)
carbamilfosfato sintetasa (CPS I) (p. 527)
N-acetilglutamato (p. 527)
aminoácido cetogénico (p. 530)
aminoácido glucogénico (p. 530)
fenilcetonuria (p. 536)

Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Las aminotransferasas transfieren el grupo α-amino al α-cetoglutarato formando glutamato. El glutamato se desamina oxidativamente formando un ion amonio.

2. Carbamilfosfato y aspartato.

3. O son combustibles para el ciclo del ácido cítrico, o componentes del ciclo del ácido cítrico o moléculas que se pueden convertir en un combustible para el ciclo del ácido cítrico en un solo paso.

Problemas

1. *Análogos ceto.* Indique el nombre del α-cetoácido que se forma mediante la transaminación de cada uno de los siguientes aminoácidos. ✓ 1

(a) Alanina (d) Leucina
(b) Aspartato (e) Fenilalanina
(c) Glutamato (f) Tirosina

2. *Un material de construcción versátil.* (a) Escriba una reacción ajustada para la conversión de aspartato en glucosa a través del intermediario oxalacetato. ¿Qué coenzimas intervienen en estas transformaciones? (b) Escriba una reacción ajustada para la conversión de aspartato en oxalacetato a través del intermediario fumarato. ✓ 2

3. *No discrimina mucho.* Se considera que la glutamato deshidrogenasa es atípica porque no discrimina entre NADH y NADPH, al menos en algunas especies. Explique por qué es atípica esta falta de discriminación. ✓ 1

4. *Cooperación.* ¿Cómo cooperan las aminotransferasas y la glutamato deshidrogenasa en el metabolismo del grupo amino de los aminoácidos? ✓ 1

5. *Quitando el nitrógeno.* ¿Qué aminoácidos generan componentes del ciclo del ácido cítrico e intermediarios de la glucólisis cuando se desaminan? ✓ 1

6. *Solo una reacción.* ¿Qué aminoácidos se pueden desaminar directamente? ✓ 1

7. *Fuentes de nitrógeno.* ¿Cuáles son las fuentes bioquímicas inmediatas de los dos átomos de nitrógeno de la urea? ✓ 1

8. *Contrapuntos.* Asigne a cada compuesto bioquímico de la derecha una de las propiedades de la izquierda.

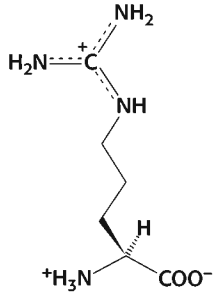
(a) Se forma a partir de NH_4^+ _____
(b) Se hidroliza generando urea _____
(c) Una segunda fuente de nitrógeno _____
(d) Reacciona con el aspartato _____
(e) Se escinde generando fumarato _____
(f) Acepta el primer nitrógeno _____
(g) Producto final _____

1. Aspartato
2. Urea
3. Ornitina
4. Carbamilfosfato
5. Arginina
6. Citrulina
7. Argininosuccinato

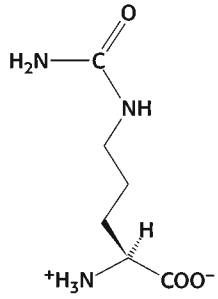
9. *Completando el ciclo.* Según la estequiometría mostrada en la p. 528, en la síntesis de urea se consumen cuatro grupos fosforilo con un elevado potencial de transferencia. En esta reacción, el aspartato se convierte en fumarato. Suponga que el fumarato se vuelve a convertir en aspartato. ¿Cuál sería la estequiometría resultante para la síntesis de urea? ¿Cuántos grupos fosforilo con un elevado potencial de transferencia se utilizarían? ✓ 1

10. *Una buena apuesta.* Un amigo le apuesta una millonada de euros a que no es capaz de demostrar que el ciclo de la urea está conectado con el ciclo del ácido cítrico y con otras rutas metabólicas. ¿Ganaría usted la apuesta? ✓ 1

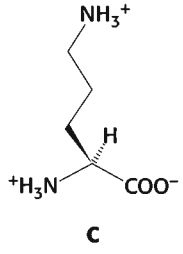
11. *Diagnóstico preciso.* La orina de un bebé da reacción positiva con la 2,4-dinitrofenilhidrazina. Este compuesto reacciona con los α-cetoácidos y sugiere la presencia de una elevada concentración de α-cetoácidos. Análisis más precisos indican que los niveles en sangre de piruvato, α-cetoglutarato y los α-cetoácidos de la valina, isoleucina y leucina son anormalmente elevados. Identifique el posible defecto molecular y proponga un test definitivo para su diagnóstico. ✓ 2



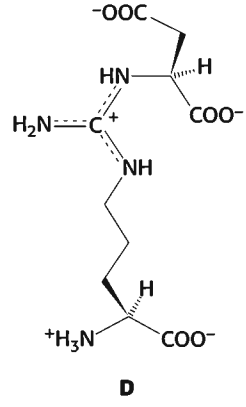
A



B



C



D

12. *A la cola.* Identifique las estructuras A-D de la figura anterior y colóquelas en el orden en que aparecen en el ciclo de la urea. ✓ 1

13. *Dulce riesgo.* ¿Por qué las personas que padecen fenilcetonuria deberían evitar la ingestión de aspartamo, un edulcorante artificial? (Pista: el aspartamo es el éster metílico de la L-aspartil-L-fenilalanina.) ✓ 1

14. *Déjà vu.* El *N*-acetilglutamato es un cofactor necesario para la síntesis de carbamilfosfato. ¿Cómo se podría sintetizar *N*-acetilglutamato a partir de glutamato? ✓ 1

15. *Precursores.* ¿Qué diferencias hay entre los aminoácidos cetogénicos y los aminoácidos glucogénicos? ✓ 2

16. *Líneas de suministro.* Los esqueletos carbonados de los 20 aminoácidos que forman parte de las proteínas se pueden degradar a un número limitado de productos finales. ¿Cuáles son estos productos finales? y ¿en qué ruta metabólica se les suele encontrar? ✓ 2

17. *Balance negativo del nitrógeno.* Una insuficiencia de tan solo un aminoácido puede dar lugar a un balance negativo del nitrógeno. En esta situación, se degrada más proteína de la que se sintetiza y, por tanto, se excreta más nitrógeno del que se ingiere. ¿Por qué se tendría que degradar proteína cuando falta un aminoácido?

18. *Aciduria argininosuccínica.* La aciduria argininosuccínica es una enfermedad que se produce cuando hay insuficiencia de argininosuccinasa, una enzima del ciclo de la urea. El argininosuccinato aparece en la sangre y en la orina. Sugiera cómo podría tratarse esta enfermedad al mismo tiempo que se sigue eliminando nitrógeno del organismo. ✓ 1

Problemas de integración de capítulos

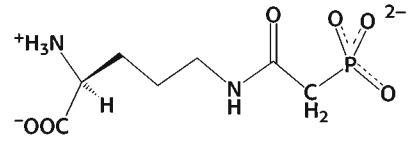
19. *Estrecha relación.* El complejo piruvato deshidrogenasa y el complejo α-cetoglutarato deshidrogenasa son enzimas enormes que presentan tres actividades enzimáticas distintas. Para degradar ciertos aminoácidos existe un complejo enzimático parecido. ¿Cómo se llama esta enzima? ¿Qué aminoácidos degrada? ✓ 2

20. *Toxicidad del amoniaco.* El glutamato es un importante neurotransmisor cuyos niveles tienen que controlarse con mucho cuidado en el cerebro. Explique cómo una elevada concentración de amoniaco podría desbaratar esta regulación. ¿Cómo podría una elevada concentración de amoniaco alterar el ciclo del ácido cítrico? ✓ 1

21. *Hígado dañado.* Tal y como se indicó en el Capítulo 28, el consumo excesivo de alcohol puede causar daños en el hígado (cirrosis). Con frecuencia, una de las consecuencias de los daños hepáticos es el envenenamiento por amoniaco. ¿Por qué? ✓ 1

Problemas para atrevidos

22. *Diseño de inhibidores.* Se ha sintetizado el compuesto A como posible inhibidor de una enzima del ciclo de la urea. ✓ 1



Compuesto A

¿Qué enzima podría inhibirse mediante el compuesto A?

23. *Selección del combustible.* A los pocos días de haber comenzado el ayuno, la excreción de nitrógeno se acelera, alcanzando niveles más altos de lo normal. A las pocas semanas, la velocidad de eliminación de nitrógeno disminuye hasta niveles más bajos y continúa con esta velocidad reducida. Sin embargo, una vez agotadas las reservas de grasa, la excreción de nitrógeno alcanza valores elevados. ✓ 2

(a) ¿Qué sucesos desencadenan la intensa excreción de nitrógeno inicial?
(b) ¿Por qué se reduce la excreción de nitrógeno tras varias semanas de ayuno?
(c) Explique el incremento de la excreción de nitrógeno una vez agotadas las reservas de grasa.

24. *Degradación de la isoleucina.* La isoleucina se degrada a acetil-CoA y succinil-CoA. Basándose en las reacciones que hemos visto en este capítulo, sugiera una posible secuencia de reacciones para esta ruta de degradación. ✓ 2

25. *Suficientes ciclos como para hacer una carrera.* El ciclo de la glucosa-alanina nos recuerda al ciclo de Cori, pero se puede afirmar que, desde el punto de vista energético, el ciclo de la glucosa-alanina es más eficiente. ¿Por qué?

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 31

Síntesis de aminoácidos

31.1 El complejo nitrogenasa fija el nitrógeno

31.2 Los aminoácidos se sintetizan a partir de intermediarios de las principales rutas

31.3 La retroinhibición regula la biosíntesis de aminoácidos



El nitrógeno es un componente clave de los aminoácidos. La atmósfera es rica en nitrógeno gaseoso (N_2), una molécula muy poco reactiva. Determinados organismos, como las bacterias que viven en los nódulos radicales del meliloto amarillo (*Melilotus officinalis*), pueden convertir el nitrógeno gaseoso en amoniaco, que se puede utilizar para sintetizar primero glutamato y, después, los demás aminoácidos. [Hugh Spencer/Science Source.]

Unos versos de *La balada del viejo marinero*, de Samuel Taylor Coleridge

Agua, agua, por todas partes,
Y todas las tablas se achicharraban
Agua, agua, por todas partes
Ni una sola gota para beber.

Del mismo modo en que el Viejo Marinero se encontraba rodeado de agua que no podía beber, nosotros estamos rodeados de nitrógeno del que no podemos disponer.

En la biosfera, la principal fuente de nitrógeno es el nitrógeno gaseoso (N_2), que constituye alrededor del 80% de la atmósfera de la Tierra. Sin embargo, para la mayoría de los seres vivos, esta forma de nitrógeno es prácticamente inutilizable. Solo unos pocos procariotas, principalmente las *bacterias que fijan el nitrógeno*, son capaces de convertir el N_2 gaseoso en NH_3 (amoniaco), una forma de nitrógeno que el resto de la biosfera sí puede utilizar. Este proceso, denominado *fijación del nitrógeno*, es una de las reacciones más extraordinarias de la bioquímica.

¿Qué tiene de complicado fijar el nitrógeno? El enlace N≡N es extremadamente fuerte, ya que su energía de enlace es de 940 kJ mol^{-1} (225 kcal mol^{-1}) y, por tanto, es muy resistente al ataque químico. Precisamente por ser tan poco reactivo, Antoine Lavoisier denominó a este gas "azote", que significa "inerte". Sin embargo, el nitrógeno se puede reducir mediante procesos industriales. De hecho, el procesamiento industrial es la fuente de la mayor parte del nitrógeno que se utiliza como fertilizante. El proceso industrial para la fijación del nitrógeno diseñado en 1910 por Fritz Haber todavía se sigue utilizando.

$$N_2 + 3\,H_2 \rightleftharpoons 2\,NH_3$$

Normalmente, la fijación del N_2 se lleva a cabo mezclándolo con H_2 gaseoso sobre un catalizador de hierro a unos 500 °C y a una presión de 300 atmósferas, condicio-



Figura 31.1 Fijación del nitrógeno por los rayos. [Richard Valdez/FeaturePics.]

nes que incluso los microorganismos más resistentes son incapaces de aguantar. De hecho, el 25% del nitrógeno fijado en la Tierra cada año se obtiene mediante procesos industriales. Los rayos y la radiación ultravioleta fijan otro 15% en forma de óxidos de nitrógeno (**Figura 31.1**).

Curiosamente, a pesar de las condiciones extremas del proceso de Haber y de las descargas de los rayos, la conversión de nitrógeno e hidrógeno en amoniaco es, de hecho, favorable desde el punto de vista termodinámico; cinéticamente, la reacción es difícil porque los intermediarios que aparecen en el transcurso de la reacción son inestables y se convierten rápidamente en moléculas bioquímicamente inútiles. Algunas bacterias y arqueobacterias, *microorganismos diazotróficos (que fijan nitrógeno)*, disponen de mecanismos para reducir la molécula inerte N≡N (nitrógeno gaseoso) a dos moléculas de amoniaco en condiciones compatibles con la vida. Un importante microorganismo diazotrófico es la bacteria simbiótica *Rhizobium*, que coloniza las raíces de las plantas leguminosas y forma nódulos radicales donde fijan el nitrógeno que utilizan tanto las bacterias como las plantas. Se ha estimado que la cantidad de N_2 fijado por los microorganismos diazotróficos es de 10^{11} kg por año, aproximadamente el 60% del nitrógeno fijado en la Tierra.

En este capítulo, estudiaremos primero el proceso de la fijación del nitrógeno y cómo se incorpora el nitrógeno al glutamato. Después, analizaremos cómo se convierte el glutamato en una fuente de nitrógeno para los demás aminoácidos y cómo se obtienen los esqueletos carbonados para la síntesis de los aminoácidos.

✓ 3 Explicar la crucial importancia de la fijación del nitrógeno para la vida y describir cómo se convierte el nitrógeno atmosférico en una forma de nitrógeno biológicamente útil.

31.1 El complejo nitrogenasa fija el nitrógeno

Para afrontar el desafío bioquímico que supone la fijación del nitrógeno, los organismos que lo fijan utilizan una enzima compleja que contiene múltiples centros de oxidación-reducción que les permiten reducir el N_2 gaseoso inactivo. El *complejo nitrogenasa*, que desempeña esta decisiva transformación, consta de dos proteínas; una *reductasa*, que suministra electrones con un elevado poder reductor, y la *nitrogenasa*, que utiliza estos electrones para reducir el N_2 a NH_3. La transferencia de electrones desde el componente reductasa al componente nitrogenasa requiere la hidrólisis del ATP por parte de la reductasa (**Figura 31.2**). El complejo nitrogenasa es extremadamente sensible a la desactivación por O_2. Las plantas leguminosas mantienen una concentración de O_2 libre muy baja en sus nódulos radicales uniendo el O_2 a la *leghemoglobina*, una proteína que se une al oxígeno, parecida a la hemoglobina. Recordemos que la fijación del carbono por parte de la rubisco también se inhibía por O_2. Irónicamente, dos procesos imprescindibles para la vida —la fijación del nitrógeno y la fijación del carbono— se inhiben por O_2, el gas que todos los organismos aeróbicos necesitan para vivir.

En principio, la reducción de N_2 a NH_3 es un proceso en el que intervienen seis electrones.

$$N_2 + 6\,e^- + 6\,H^+ \rightleftharpoons 2\,NH_3$$

Sin embargo, la reacción biológica siempre genera al menos un mol de H_2, además de dos moles de NH_3, por cada mol de N≡N. Por tanto, se necesita la intervención de otros dos electrones.

$$N_2 + 8\,e^- + 8\,H^+ \rightleftharpoons 2\,NH_3 + H_2$$

En la mayoría de los microorganismos que fijan nitrógeno, *los ocho electrones con un elevado potencial proceden de la ferredoxina reducida*. Por cada electrón transferido

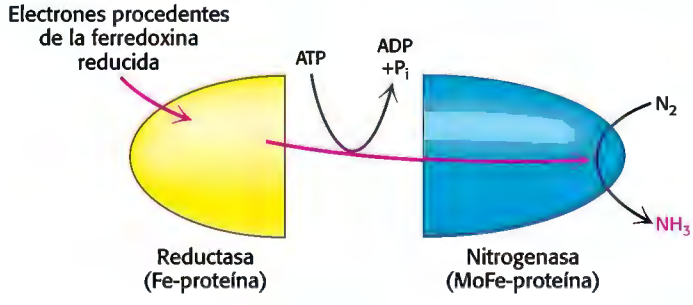


Figura 31.2 Fijación del nitrógeno. Para reducir el nitrógeno a amoniaco, los electrones fluyen desde la ferredoxina hacia la reductasa (ferroproteína, o Fe-proteína) y, después, hacia la nitrogenasa (molibdeno-ferroproteína, o MoFe-proteína). La hidrólisis del ATP que se produce en la reductasa impulsa los cambios conformacionales necesarios para que los electrones se transfieran de forma eficiente.

se hidrolizan dos moléculas de ATP. Por tanto, *por cada molécula de N_2 reducida se hidrolizan, al menos, 16 moléculas de ATP.*

$$N_2 + 8\,e^- + 8\,H^+ + 16\,ATP + 16\,H_2O \rightleftharpoons 2\,NH_3 + H_2 + 16\,ADP + 16\,P_i$$

De nuevo, la hidrólisis del ATP no es necesaria para hacer que la reducción del nitrógeno sea favorable desde el punto de vista termodinámico. En cambio, sí que resulta esencial para reducir la altura de las barreras de activación que surgen durante el transcurso de la reacción, haciendo así que la reacción sea factible desde el punto de vista cinético. En disolución acuosa, el producto de la reducción, el NH_3, es una base que atrae un protón formando NH_4^+.

El cofactor hierro-molibdeno de la nitrogenasa se une al nitrógeno atmosférico y lo reduce

Los componentes reductasa y nitrogenasa del complejo son *proteínas ferrosulfuradas*, un tipo de transportadores de electrones que hemos visto en numerosas ocasiones durante nuestro estudio de la bioquímica —p. ej., en las cadenas de transporte de electrones de la fosforilación oxidativa y de la fotosíntesis. La *reductasa* (también denominada *ferroproteína* o *Fe-proteína*) es un dímero de subunidades idénticas de 30 kDa, conectadas mediante una agrupación 4Fe-4S (**Figura 31.3**). El papel de la reductasa consiste en transferir electrones desde un donador apropiado, como la ferredoxina reducida, al componente nitrogenasa.

Los electrones fluyen desde la reductasa hacia la nitrogenasa en una región de la nitrogenasa denominada agrupación P, un lugar rico en hierro y azufre. Desde aquí, los electrones se dirigen hacia el *cofactor MoFe*, el centro redox de la nitrogenasa. Como esta agrupación contiene molibdeno, el componente nitrogenasa también se denomina *molibdeno-ferroproteína* o *proteína MoFe* (**Figura 31.4**). *El cofactor MoFe es el lugar donde se produce la fijación del nitrógeno —la conversión del N_2 en amoniaco.*

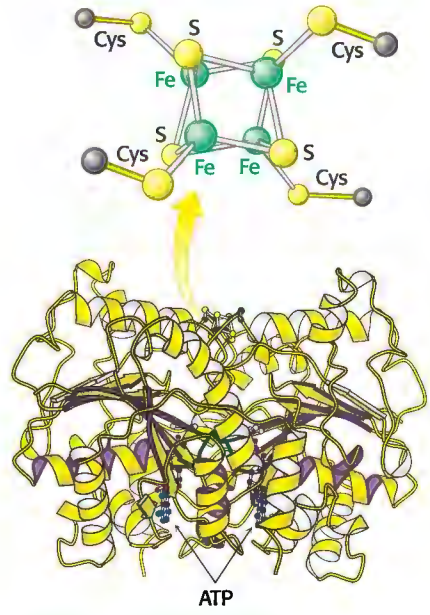
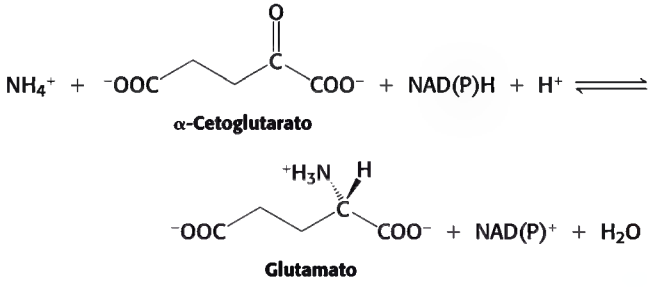


Figura 31.3 La Fe-proteína. Esta proteína es un dímero formado por dos cadenas polipeptídicas unidas mediante una agrupación 4Fe-4S. [Elaborada a partir de 1N2C.pdb.]

El ion amonio se incorpora a los aminoácidos a través del glutamato y la glutamina

En el proceso de asimilación del nitrógeno en las biomoléculas, el siguiente objetivo consiste en la incorporación del ion amonio (NH_4^+) a unos compuestos bioquímicos muy versátiles: los aminoácidos. El α-*cetoglutarato* y el *glutamato* desempeñan un papel decisivo como aceptores del ion amonio, formando glutamato y glutamina, respectivamente. El glutamato se sintetiza a partir de NH_4^+ y α-cetoglutarato, un intermediario del ciclo del ácido cítrico, gracias a la acción de la enzima *glutamato deshidrogenasa.*



Recordemos que la glutamato deshidrogenasa también desempeña un papel clave a la hora de eliminar el nitrógeno de los sistemas biológicos (p. 525).

Un segundo ion amonio se incorpora al glutamato para formar glutamina mediante la acción de la *glutamina sintetasa*. Esta amidación está impulsada por la hidrólisis del ATP.

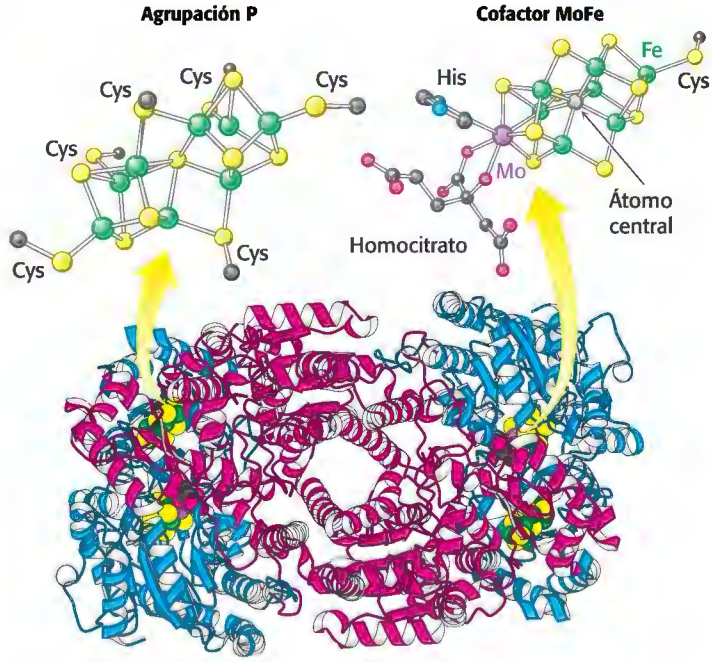
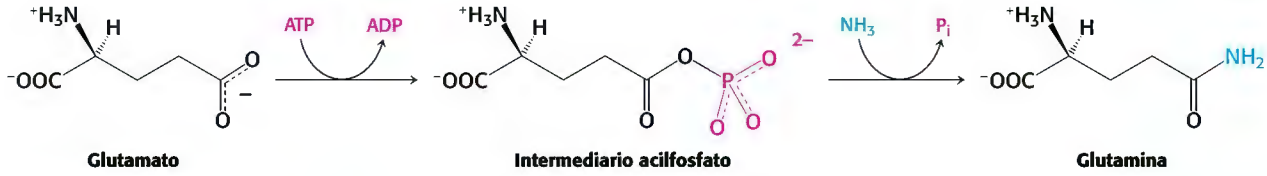


Figura 31.4 La MoFe-proteína. Esta proteína es un heterotetrámero formado por dos subunidades α (en color rojo) y dos subunidades β (en color azul). *Observe* que la proteína contiene dos copias de cada uno de los dos tipos de agrupación: agrupaciones P y cofactores MoFe. Cada agrupación P contiene ocho átomos de hierro (en color verde) y siete sulfuros conectados con la proteína mediante seis residuos de cisteinato. Cada cofactor MoFe contiene un átomo de molibdeno, siete átomos de hierro, nueve sulfuros, un átomo central y un homocitrato, y está conectado a la proteína mediante un residuo de cisteinato y un residuo de histidina. [Elaborada a partir de 1M1N.pdb.]



La amidación es una reacción en la que una amina reacciona con un ácido carboxílico dando lugar a una amida.

El ATP interviene directamente en la reacción fosforilando la cadena lateral del glutamato para formar un intermediario acilfosfato que, a continuación, reacciona con el amoniaco formando glutamina.

Posteriormente, el glutamato dona su grupo α-amino a diversos cetoácidos mediante reacciones de transaminación, con lo que se forman la mayoría de los aminoácidos. La glutamina, el otro donador de nitrógeno mayoritario, aporta su átomo de nitrógeno de la cadena lateral a la biosíntesis de una amplia gama de importantes compuestos.

? **PREGUNTA RÁPIDA 1** Describa la trayectoria del nitrógeno desde el N_2 atmosférico hasta la glutamina.

✓ 4 Identificar las fuentes de átomos de carbono para la síntesis de aminoácidos.

31.2 Los aminoácidos se sintetizan a partir de intermediarios de las principales rutas

Hasta ahora, hemos considerado la conversión de N_2 en NH_4^+ y la asimilación del NH_4^+ en el glutamato y en la glutamina. Ahora nos centramos en la biosíntesis de otros aminoácidos. Las rutas para la biosíntesis de aminoácidos son variadas. Sin embargo, tienen una importante característica en común: *sus esqueletos carbonados*

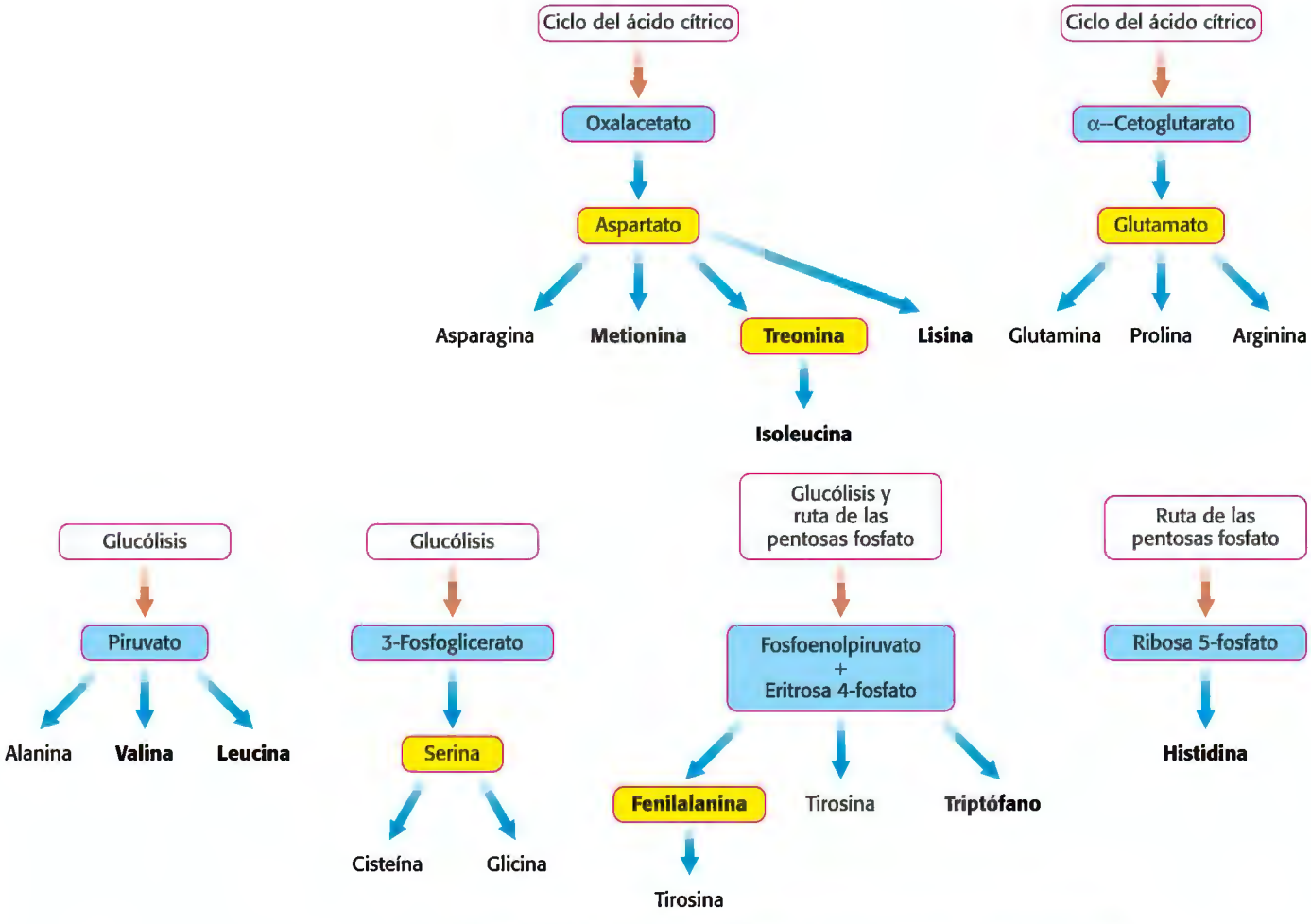


Figura 31.5 Familias biosintéticas de aminoácidos en bacterias y plantas. Los principales precursores metabólicos se muestran sobre fondo azul. Los aminoácidos que dan lugar a otros aminoácidos se muestran sobre fondo amarillo. Los aminoácidos esenciales aparecen en negrita.

proceden de unas pocas fuentes: intermediarios de la glucólisis, del ciclo del ácido cítrico o de la ruta de las pentosas fosfato. Basándonos en estos materiales de partida, los aminoácidos se pueden clasificar en seis familias biosintéticas (**Figura 31.5**).

Los seres humanos pueden sintetizar algunos aminoácidos pero tienen que conseguir otros a partir de la dieta

La mayoría de los microorganismos, como *E. coli*, pueden sintetizar los 20 aminoácidos fundamentales, mientras que los seres humanos solo pueden fabricar 11 de ellos. Los aminoácidos que tienen que ser suministrados en la dieta se denominan *aminoácidos esenciales*, mientras que los demás se denominan *aminoácidos no esenciales* (ver la Tabla 3.2). Una insuficiencia de tan solo uno de los aminoácidos compromete la capacidad del organismo para sintetizar cualquiera de las proteínas necesarias para vivir.

Los aminoácidos no esenciales se sintetizan mediante reacciones bastante sencillas, mientras que las rutas para la formación de los aminoácidos esenciales son bastante complejas. Por ejemplo, los aminoácidos no esenciales *alanina* y *aspartato* se sintetizan mediante un único paso a partir del piruvato y del oxalacetato, respectivamente. Por el contrario, las rutas para los aminoácidos esenciales requieren entre 5 y 16 reacciones (**Figura 31.6**). La única excepción a este patrón es la arginina, puesto que la síntesis *de novo* de este aminoácido no esencial requiere 10 pasos. Sin embargo, lo normal es que se fabrique en tan solo 3 pasos a partir de la ornitina, como parte del ciclo de la urea (p. 526). La tirosina, clasificada como aminoácido no esencial porque se puede sintetizar en un paso a partir de la fenilalanina, necesita 10 reacciones para sintetizarse partiendo de cero y resulta esencial cuando la fenilalanina no es abundante. Analizaremos tan solo algunas de las características importantes de la síntesis de aminoácidos sin detenernos a estudiar con detalle las rutas biosintéticas.

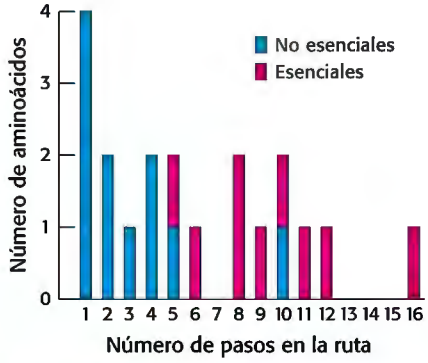


Figura 31.6 Aminoácidos esenciales y no esenciales. Algunos aminoácidos no son esenciales para los seres humanos porque se pueden sintetizar mediante un número de reacciones reducido. Los aminoácidos que precisan un elevado número de reacciones para su síntesis son esenciales en la dieta, ya que algunas de las enzimas que catalizan estas reacciones se han perdido en el transcurso de la evolución.

Algunos aminoácidos se pueden sintetizar mediante sencillas reacciones de transaminación

Tres cetoácidos —α-cetoglutarato, oxalacetato y piruvato— se pueden convertir en aminoácidos en un solo paso mediante la adición de un grupo amino. Ya hemos visto que el α-cetoglutarato se puede convertir en glutamato mediante aminación reductora (p. 543). El grupo amino del glutamato se puede transferir a otros α-cetoácidos mediante *reacciones de transaminación*. De este modo, el aspartato y la alanina se pueden generar a partir de la adición de un grupo amino al oxalacetato y al piruvato, respectivamente.

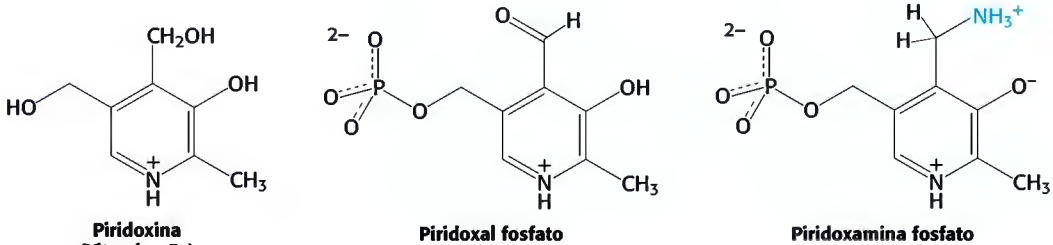
$$\text{Oxalacetato} + \text{glutamato} \rightleftharpoons \text{aspartato} + \alpha\text{-cetoglutarato}$$

$$\text{Piruvato} + \text{glutamato} \rightleftharpoons \text{alanina} + \alpha\text{-cetoglutarato}$$

Las transaminaciones se llevan a cabo mediante *transaminasas dependientes de piridoxal fosfato*. Las transaminasas también se denominan *aminotransferasas*. Las reacciones de transaminación intervienen en la síntesis de la mayoría de los aminoácidos. Todas las aminotransferasas contienen el grupo prostético *piridoxal fosfato* (PLP), que es un derivado de la *piridoxina* (vitamina B_6). Durante la transaminación, el piridoxal fosfato acepta un grupo amino formando un cofactor presente en muchas enzimas, la piridoxamina fosfato (PMP).

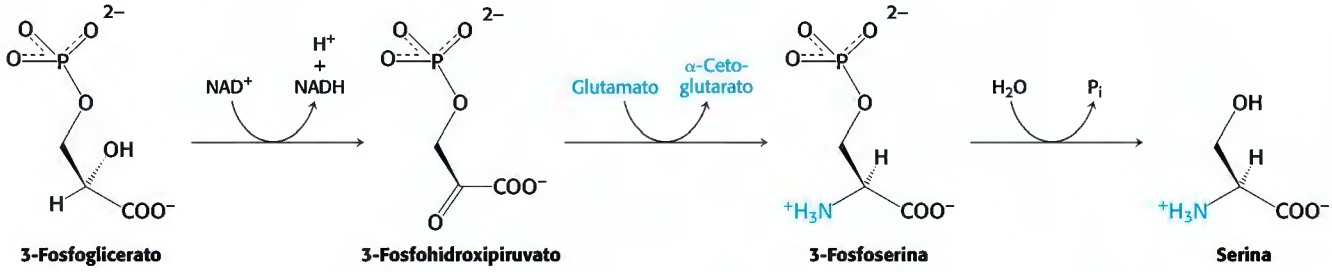


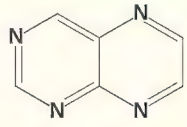
Piridoxina (vitamina B_6) Es un precursor del piridoxal fosfato (PLP) y de la piridoxamina fosfato (PMP) que también actúa como cofactor para un gran número de enzimas, entre las que se incluyen las transaminasas. La piridoxina se encuentra en las plantas, mientras que el PLP y el PMP abundan en el salmón y en la carne blanca de las aves. Una insuficiencia de vitamina B_6, que es muy poco frecuente en los Estados Unidos, da lugar a fatiga, fisuras en las comisuras de la boca (queilosis), inflamación de la lengua (glositis) e inflamación del revestimiento de la boca (estomatitis). [Fotografía de Og-vision/Dreamstime.com.]



Serina, cisteína y glicina se sintetizan a partir del 3-fosfoglicerato

La serina se sintetiza a partir del 3-fosfoglicerato, un intermediario de la glucólisis. El primer paso es una oxidación a 3-fosfohidroxipiruvato. Este α-cetoácido se transamina a 3-fosfoserina que, posteriormente, se hidroliza formando serina. La serina es el precursor de la *glicina* y de la *cisteína*. Durante la formación de glicina, el grupo metileno de la cadena lateral de la serina se transfiere al tetrahidrofolato, un transportador de unidades monocarbonadas.





El tetrahidrofolato transporta unidades monocarbonadas activadas

El *tetrahidrdofolato* es una coenzima esencial para la síntesis de muchos aminoácidos y nucleótidos. Esta coenzima, un transportador de unidades monocarbonadas activadas muy versátil, consta de tres grupos: una pteridina sustituida, *p*-aminobenzoato y una cadena de uno o más residuos de glutamato (**Figura 31.7**). Los mamíferos pueden sintetizar el anillo de pteridina, pero son incapaces de conjugarlo con los otros dos componentes, de manera que deben obtener el tetrahidrofolato a partir de la dieta o de microorganismos que habiten en su tracto intestinal.

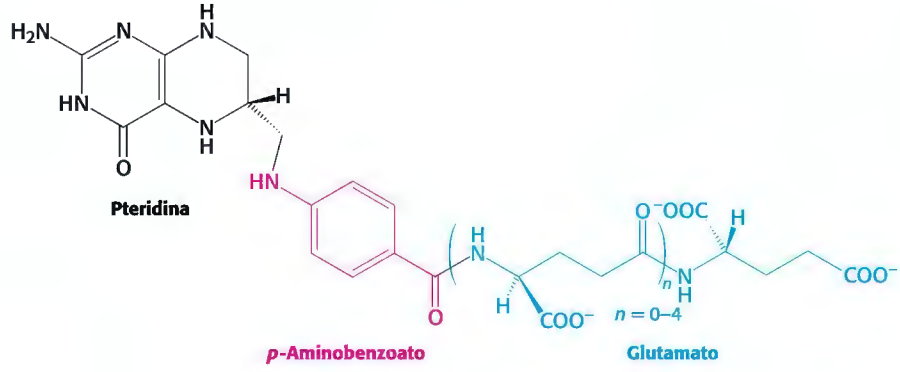


Figura 31.7 Tetrahidrofolato. Este cofactor consta de tres componentes; un anillo de pteridina, *p*-aminobenzoato y uno o más residuos de glutamato.

El grupo monocarbonado transportado por el tetrahidrofolato se une a su átomo de nitrógeno N-5, al N-10 (lo que se indica como N^5 o N^{10}) o a ambos (**Figura 31.8**). Esta unidad puede encontrarse en tres estados de oxidación (**Tabla 31.1**). La forma más reducida transporta un grupo *metilo*, mientras que la forma intermedia transporta un grupo *metileno*. Las formas más oxidadas transportan un grupo *formilo*,

Tabla 31.1 Grupos monocarbonados transportados por el tetrahidrofolato

Estado de oxidación	Grupo	
	Fórmula	Nombre
Más reducido (= metilo)	—CH_3	Metilo
Intermedio (= formaldehído)	—CH_2—	Metileno
Más oxidado (= ácido fórmico)	—CHO	Formilo
	—CHNH	Formimino
	—CH=	Metenilo

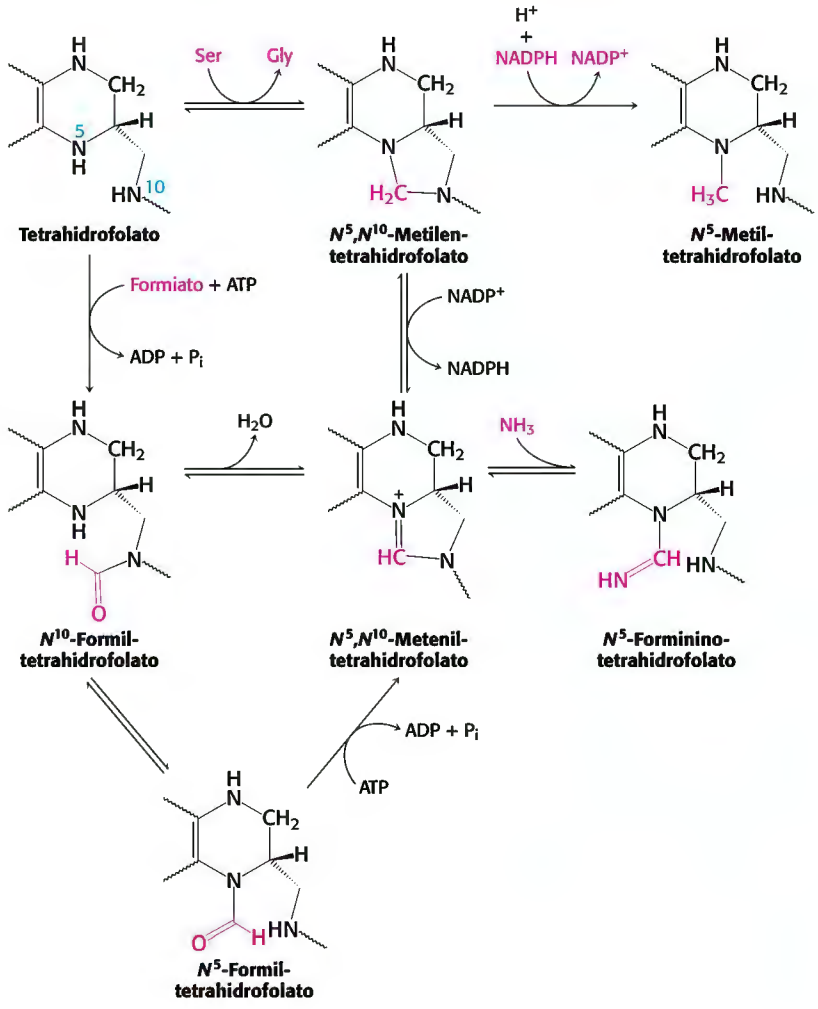


Figura 31.8 Conversiones entre las unidades monocarbonadas unidas al tetrahidrofolato.

formimino o *metenilo*. La unidad monocarbonada totalmente oxidada, el CO_2, se transporta mediante la biotina en vez de por el tetrahidrofolato. La importancia del tetrahidrofolato para la replicación del DNA y para el crecimiento celular se pone de manifiesto por el hecho de que los fármacos que inhiben la regeneración del tetrahidrofolato son eficaces a la hora de inhibir el crecimiento de las células cancerosas (Capítulo 32).

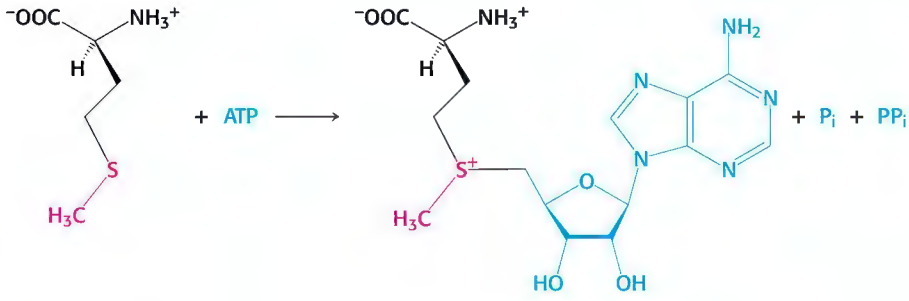
El tetrahidrofolato, un derivado del ácido fólico (vitamina B_9), desempeña un papel especialmente importante en el desarrollo del sistema nervioso durante las primeras etapas del embarazo. La insuficiencia de ácido fólico puede hacer que el tubo neural no llegue a cerrarse, lo que ocasiona enfermedades como la espina bífida (cierre defectuoso de la columna vertebral) y la anencefalia (falta de cerebro). El tubo neural se cierra en torno al vigésimo octavo día de la gestación, normalmente antes de que una mujer sepa que está embarazada. En consecuencia, algunos médicos recomiendan que todas las mujeres en edad de procrear suplementen su dieta con ácido fólico.



Ácido fólico (vitamina B_9) Es otra vitamina del grupo B, especialmente importante para el crecimiento. La falta de ácido fólico durante el desarrollo prenatal da lugar a defectos en la médula espinal. La insuficiencia de ácido fólico puede ocasionar anemia megaloblástica, que se caracteriza por la liberación a la sangre de grandes glóbulos rojos inmaduros. Los vegetales verdes, como la espinaca y el brécol, son buenas fuentes de ácido fólico. [Fotografía de Rob Owen-Wahl/stock.xchng.]

La *S*-adenosilmetionina es el principal donador de grupos metilo

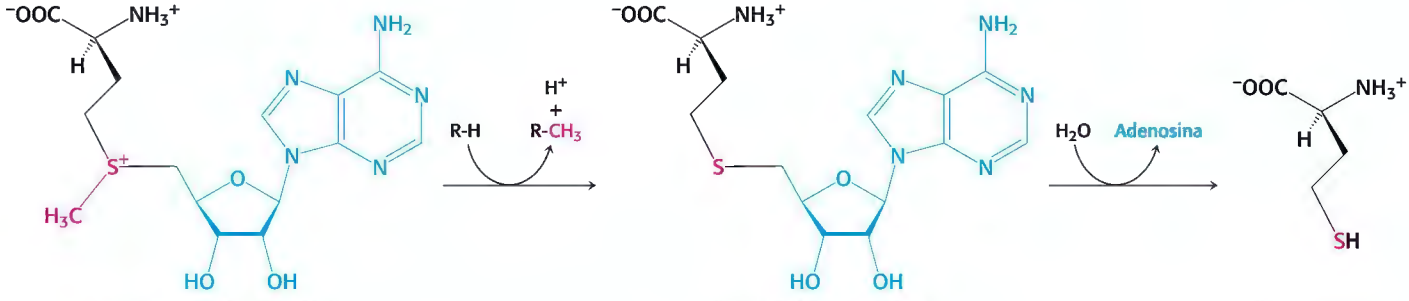
El tetrahidrofolato puede transportar un grupo metilo en su átomo N-5, pero su potencial de transferencia no es lo suficientemente alto para la mayoría de las metilaciones biosintéticas. Por ello, en este tipo de reacciones, el donador de metilos activados suele ser la *S-adenosilmetionina* (SAM), que se sintetiza mediante la transferencia de un grupo adenosilo desde el ATP al átomo de azufre de la metionina.



Metionina **S-Adenosilmetionina (SAM)**

El grupo metilo de la unidad metionina se encuentra activado gracias a la carga positiva del átomo de azufre adyacente, que hace que la molécula sea mucho más reactiva que el N^5-metiltetrahidrofolato. Recordemos que la *S*-adenosilmetionina es un donador de grupos metilos activados que interviene en la síntesis de fosfatidilcolina a partir de fosfatidiletanolamina (p. 500).

La síntesis de *S*-adenosilmetionina es atípica porque el grupo trifosfato del ATP se escinde en pirofosfato y ortofosfato; posteriormente, el pirofosfato se hidroliza a dos moléculas de P_i. Cuando el grupo metilo de la *S*-adenosilmetionina se transfiere a un aceptor, se forma *S*-adenosilhomocisteína que, posteriormente, se hidroliza a *homocisteína* y adenosina.



S-Adenosilmetionina (SAM) **S-Adenosilhomocisteína** **Homocisteína**

La metionina se puede regenerar mediante la transferencia de un grupo metilo desde el N^5-metiltetrahidrofolato a la homocisteína, una reacción catalizada por la *metionina sintasa* (también conocida como *homocisteína metiltransferasa*). La coenzima que interviene en esta transferencia de un grupo metilo es la *metilcobalamina*, un derivado de la vitamina B_{12}.

Estas reacciones constituyen el *ciclo de los metilos activados* (Figura 31.9). Los grupos metilo se incorporan al ciclo durante la conversión de homocisteína en metionina y después se vuelven altamente reactivos gracias a la adición de un grupo adenosilo. El elevado potencial de transferencia del grupo metilo de la *S*-adenosilmetionina hace posible que pueda ser transferido a una amplia gama de aceptores.

La *S*-adenosilmetionina también es un precursor del *etileno*, una hormona vegetal volátil que induce la maduración de los frutos. El filósofo griego Teofrasto se dio cuenta, hace más de 2.000 años, de que los higos del sicómoro no maduran a menos que se les haga un rasguño con un hierro afilado. Hoy en día sabemos por qué: *la formación de la herida desencadena la producción de etileno que, a su vez, induce la maduración*. Se están realizando grandes esfuerzos por comprender esta ruta bioquímica, ya que el etileno es uno de los responsables de que se estropee la fruta.

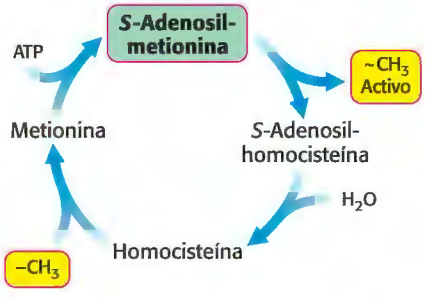


Figura 31.9 Ciclo del grupo metilo activado. El grupo metilo de la metionina se activa mediante la formación de *S*-adenosilmetionina.

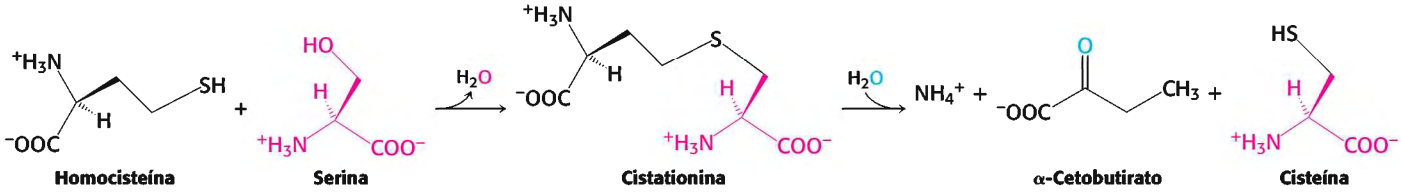
$H_2C = CH_2$
Etileno

Aspecto clínico

Los niveles elevados de homocisteína están correlacionados con la enfermedad vascular

Las personas con niveles elevados de homocisteína en el suero presentan un riesgo inusualmente elevado de padecer cardiopatías coronarias y ateroesclerosis. La causa genética más frecuente de los elevados niveles de homocisteína es una mutación en

el gen que codifica la *cistationina β-sintasa*, la enzima que combina homocisteína y serina para formar cistationina, un intermediario de la síntesis de cisteína.



El fundamento molecular de la acción de la homocisteína no se ha identificado con claridad, aunque parece que deteriora las células del revestimiento de los vasos sanguíneos, intensifica el crecimiento del músculo liso de los vasos e impide la vasorrelajación. El aminoácido también hace que aumente el estrés oxidativo. En algunas personas, los tratamientos a base de vitaminas son eficaces a la hora de reducir los niveles de homocisteína: estos tratamientos maximizan la actividad de dos de las principales rutas metabólicas que procesan la homocisteína. El piridoxal fosfato, un derivado de la vitamina B_6, es necesario para la actividad de la cistationina β-sintasa, y el tetrahidrofolato, al igual que la vitamina B_{12}, favorece la metilación de la homocisteína a metionina. ■

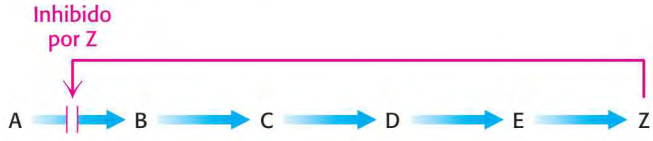
? **PREGUNTA RÁPIDA 2** Identifique las seis familias biosintéticas de los aminoácidos.

31.3 La retroinhibición regula la biosíntesis de aminoácidos

La velocidad de síntesis de aminoácidos depende, principalmente, de la *cantidad* de enzimas biosintéticas y de su *actividad*. Ahora vamos a analizar el control de la actividad enzimática. La regulación de la síntesis de enzimas se estudiará en la Sección 15.

El punto de regulación suele ser el paso comprometido

Como hemos visto en todas las rutas metabólicas estudiadas hasta el momento, la primera reacción irreversible, el *paso comprometido*, es, normalmente, un importante lugar de regulación. *A menudo, el producto final de la ruta (Z) inhibe la enzima que cataliza el paso comprometido* ($A \longrightarrow B$).



Este tipo de control es esencial para la conservación de los materiales de construcción y de la energía metabólica. Consideremos la biosíntesis de la serina. En esta ruta, el paso comprometido es la oxidación del 3-fosfoglicerato (p. 546), catalizada por la enzima *3-fosfoglicerato deshidrogenasa*. La enzima de *E. coli* es un tetrámero de cuatro subunidades idénticas, cada una con un dominio catalítico y un dominio regulador que se une a la serina (Figura 31.10). La unión de la serina a un lugar regulador reduce el valor de la $V_{máx}$ de la enzima; una enzima unida a cuatro moléculas de serina es prácticamente inactiva. De este modo, si la serina abunda en la célula, se inhibirá la actividad de la enzima y, por tanto, no se desperdicia el 3-fosfoglicerato, un material de construcción fundamental que se puede utilizar en otras rutas.

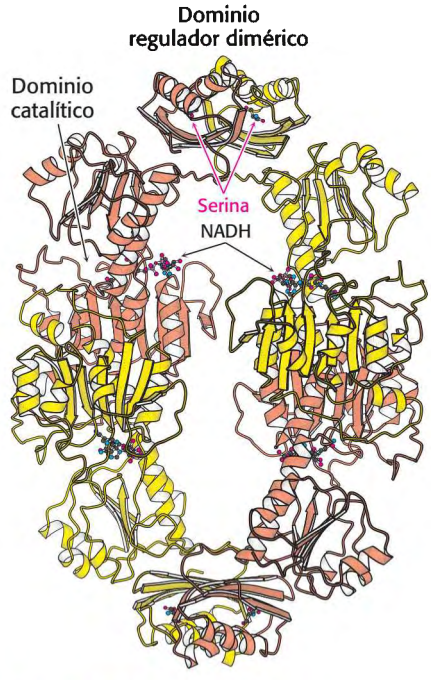


Figura 31.10 Estructura de la 3-fosfoglicerato deshidrogenasa. Esta enzima, que cataliza el paso comprometido de la ruta biosintética de la serina, se inhibe por serina. *Observe* los dos dominios reguladores diméricos que se unen a la serina —uno en la parte superior y otro en la parte inferior de la estructura. Necesita el cofactor NADH. [Elaborada a partir de 1PSD.pdb.]

Las rutas ramificadas necesitan una sofisticada regulación

La regulación de las rutas ramificadas es más complicada porque hay que tener en cuenta la concentración de dos productos. De hecho, en las rutas biosintéticas ramificadas se han descubierto varios mecanismos de retroinhibición complejos.

Retroinhibición y retroactivación Cuando dos rutas tienen una misma reacción inicial, cada una de ellas se puede inhibir por su propio producto y activar por el producto de la otra ruta. Consideremos, por ejemplo, la biosíntesis de los aminoáci-

dos valina, leucina e isoleucina (Figura 31.11). Un intermediario común, el hidroxietil-tiamina pirofosfato (hidroxietil-TPP) inicia las rutas que dan lugar a estos tres aminoácidos. En la reacción inicial de la ruta, el hidroxietil-TPP reacciona con el α-cetobutirato, dando lugar a la síntesis de isoleucina. El hidroxietil-TPP también puede reaccionar con el piruvato en el paso comprometido de las rutas para la síntesis de valina y de leucina. De este modo, las concentraciones relativas de α-cetobutirato y de piruvato determinan cuánta isoleucina se produce, en comparación con la valina y la leucina. ¿Cómo se regulan estas reacciones que compiten entre sí para que se sintetice la misma cantidad de isoleucina, valina y leucina? La *treonina desaminasa*, una enzima que contiene PLP y que cataliza la formación de α-cetobutirato, se inhibe alostéricamente por la isoleucina (ver la Figura 31.11). Esta enzima también se activa alostéricamente por la valina. Por tanto, esta enzima se inhibe por el producto final de la ruta a la que da comienzo y se activa por el producto final de una ruta rival. Este mecanismo equilibra las cantidades de los distintos aminoácidos que se van sintetizando.

Multiplicidad enzimática El paso comprometido se puede catalizar por dos o más enzimas con distintas propiedades reguladoras, una estrategia que se conoce

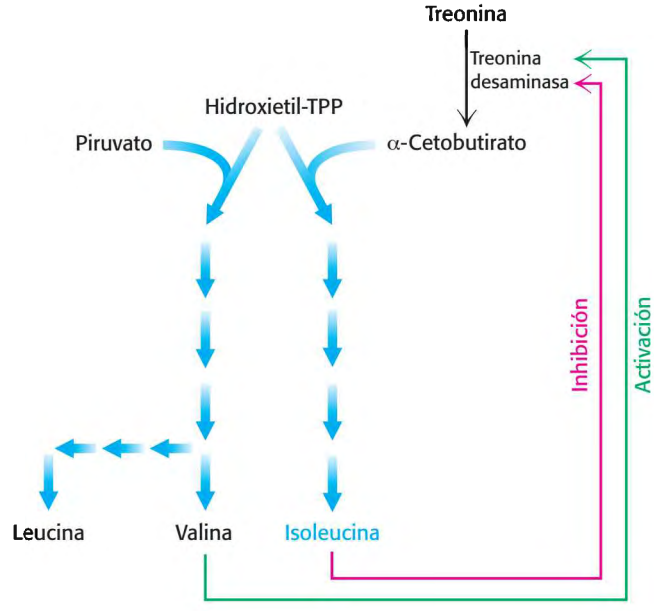


Figura 31.11 Regulación de la treonina desaminasa. En el paso comprometido, la treonina se convierte en α-cetobutirato, dando lugar a la síntesis de isoleucina. La enzima que cataliza este paso, la treonina desaminasa, se inhibe por isoleucina y se activa por valina, el producto de una ruta paralela.

como *multiplicidad enzimática* (Figura 31.12). Por ejemplo, la fosforilación del aspartato es el paso comprometido de la biosíntesis de treonina, metionina y lisina. En *E. coli*, tres aspartoquinasas distintas catalizan esta reacción. Aunque los mecanismos de la catálisis son prácticamente idénticos, sus actividades están reguladas de distinto modo: una enzima no está sujeta a retroinhibición, otra se inhibe por treonina y la tercera se inhibe por lisina.

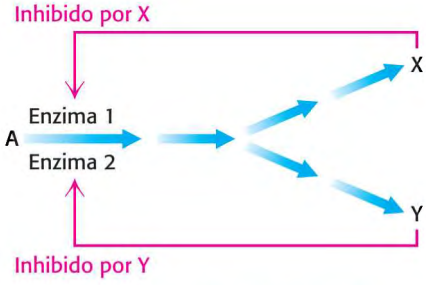


Figura 31.12 Multiplicidad enzimática. El paso comprometido de una ruta metabólica puede estar catalizado por varias enzimas que, desde el punto de vista catalítico, son idénticas o similares, pero que presentan distintas propiedades alostéricas.

Retroinhibición acumulativa En este caso, un paso común es inhibido parcialmente por cada uno de los productos finales, que actúan de forma independiente. La regulación de la glutamina sintetasa en *E. coli* es un claro ejemplo de esta *retroinhibición acumulativa*. Recordemos que la glutamina se sintetiza a partir de glutamato, NH_4^+ y ATP (p. 543). La *glutamina sintetasa* regula el flujo de nitrógeno y, por tanto, desempeña un papel clave a la hora de controlar el metabolismo bacteriano. El grupo amida de la glutamina es una fuente de nitrógeno para la biosíntesis de varios compuestos, como, por ejemplo, triptófano, histidina, carbamilfosfato, glucosamina 6-fosfato, citidina trifosfato y adenosina monofosfato. La glutamina sintetasa se retroinhibe de forma acumulativa por todos y cada uno de estos productos finales del metabolismo de la glutamina, así como por la alanina y la glicina. *En la inhibición*

acumulativa, cada inhibidor puede reducir la actividad de la enzima, incluso cuando los demás inhibidores estén ejerciendo su propia inhibición máxima. La actividad enzimática de la glutamina sintetasa solo se interrumpe casi por completo cuando todos los productos finales se encuentran unidos a la enzima.

Resumen

31.1 El complejo nitrogenasa fija el nitrógeno

Los microorganismos utilizan ATP y ferredoxina reducida, un potente reductor, para reducir el N_2 a NH_3. En la nitrogenasa, una agrupación molibdeno-hierro cataliza hábilmente la fijación del N_2, una molécula bastante inerte. Los organismos superiores consumen el nitrógeno fijado para sintetizar aminoácidos, nucleótidos y otras biomoléculas que contienen nitrógeno. En disoluciones acuosas, el amoniaco se encuentra en forma de ion amonio (NH_4^+). Los principales puntos de entrada del NH_4^+ al metabolismo son la glutamina o el glutamato.

31.2 Los aminoácidos se sintetizan a partir de intermediarios de las principales rutas

Los seres humanos pueden sintetizar 11 de los 20 aminoácidos fundamentales. Estos 11 aminoácidos se denominan no esenciales, a diferencia de los aminoácidos esenciales, que tienen que ser suministrados en la dieta. Las rutas para la síntesis de los aminoácidos no esenciales son bastante sencillas. La glutamato deshidrogenasa cataliza la aminación reductora del α-cetoglutarato a glutamato. En la síntesis de la mayoría de los aminoácidos se produce una reacción de transaminación. La alanina y el aspartato se sintetizan mediante la transaminación del piruvato y del oxalacetato, respectivamente.

El tetrahidrofolato, un transportador de unidades monocarbonadas activadas, desempeña un papel importante en el metabolismo de aminoácidos y nucleótidos. Esta coenzima transporta unidades monocarbonadas en tres estados de oxidación que son interconvertibles. El principal donador de grupos metilo activados es la *S*-adenosilmetionina, que se sintetiza mediante la transferencia de un grupo adenosilo del ATP al átomo de azufre de la metionina. Cuando el grupo metilo activado se transfiere a un aceptor se forma *S*-adenosilhomocisteína. Se hidroliza a adenosina y homocisteína y, a continuación, esta última se metila a metionina para completar el ciclo de los metilos activados.

31.3 La retroinhibición regula la biosíntesis de aminoácidos

La mayoría de las rutas para la biosíntesis de aminoácidos se regulan mediante retroinhibición, un proceso en el que el paso comprometido es inhibido alostéricamente por el producto final. La regulación de las rutas ramificadas requiere una interacción exhaustiva entre las diversas ramas, que incluye tanto regulación positiva como negativa.

Términos clave

fijación del nitrógeno (p. 541)
complejo nitrogenasa (p. 542)
aminoácidos esenciales (p. 545)
aminoácidos no esenciales (p. 545)
aminotransferasa (transaminasa) (p. 545)
piridoxal fosfato (PLP) (p. 545)
tetrahidrofolato (p. 546)
S-adenosilmetionina (SAM) (p. 547)
ciclo de los metilos activados (p. 548)
paso comprometido (p. 549)
multiplicidad enzimática (p. 550)
retroinhibición acumulativa (p. 550)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1.

$$N_2 \xrightarrow[\text{nitrogenasa}]{\text{Complejo}} NH_3/NH_4^+ \xrightarrow[\text{deshidrogenasa}]{\text{Glutamato}}$$

$$\text{glutamato} \xrightarrow[\text{sintetasa}]{\text{Glutamato}} \text{glutamina}$$

2. Asparagina, aspartato, metionina, treonina, isoleucina y lisina constituyen una familia que se obtiene a partir del oxalacetato. Fenilalanina, tirosina y triptófano constituyen otra familia que se obtiene a partir del fosfoenolpiruvato y de la eritrosa 4-fosfato. La familia del piruvato está formada por alanina, valina y leucina. La histidina, único miembro de su familia, procede de la ribosa 5-fosfato. La familia del α-cetoglutarato está formada por glutamato, glutamina, prolina y arginina. Por último, la familia que se obtiene a partir del 3-fosfoglicerato está formada por serina, cisteína y glicina.

Problemas

1. *De la nada.* Defina la fijación del nitrógeno. ¿Qué organismos pueden fijar nitrógeno? ✓ 3

2. *Fijando un problema.* Escriba la ecuación ajustada para la fijación del nitrógeno y explique el papel del ATP. ✓ 3 y 4

3. *Starsky y Hutch.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 3

(a) Fijación del nitrógeno _____
(b) Complejo nitrogenasa _____
(c) Glutamato _____
(d) Aminoácidos esenciales _____
(e) Aminoácidos no esenciales _____
(f) Aminotransferasa _____
(g) Piridoxal fosfato _____
(h) Tetrahidrofolato _____
(i) *S*-Adenosilmetionina _____
(j) Homocisteína _____

1. Se metila formando metionina
2. Importante donador de grupos metilo
3. Coenzima necesaria para las aminotransferasas
4. Conversión de N_2 en NH_3
5. Transportador de diversas unidades monocarbonadas
6. Aminoácidos que hay que tomar en la dieta
7. Aminoácidos que se sintetizan fácilmente
8. Responsable de la fijación del carbono
9. Transfiere grupos amino entre cetoácidos
10. Un donador habitual de aminoácidos

4. *Trabajo de equipo.* Identifique los dos componentes del complejo nitrogenasa y describa sus tareas específicas. ✓ 3

5. *Tiene trampa.* "La complejidad mecanística de la nitrogenasa es necesaria porque la fijación del nitrógeno es un proceso termodinámicamente desfavorable". ¿Es verdadero o falso este enunciado? ¿Por qué? ✓ 3

6. *Desviando recursos.* Las bacterias que fijan el nitrógeno en las raíces de algunas plantas pueden consumir hasta un 20% del ATP producido por la planta —un consumo que no parece muy beneficioso para la planta. Explique por qué las plantas toleran esta pérdida de recursos valiosos y qué hacen las bacterias con el ATP. ✓ 3

7. *Vital, en el sentido más estricto.* ¿Por qué se dice que determinados aminoácidos son esenciales para los seres humanos? ✓ 4

8. *De poco, mucho.* ¿Cuáles son los siete precursores de los 20 aminoácidos fundamentales? ✓ 4

9. *Componente común.* ¿Qué cofactor necesitan todas las transaminasas (aminotransferasas)? ✓ 4

10. *Recurso común.* Tras administrar aspartato marcado con N^{15} a un animal, aparecen muchos aminoácidos marcados con N^{15}. ¿Qué reacciones intervienen en la transferencia del marcaje radiactivo? ✓ 4

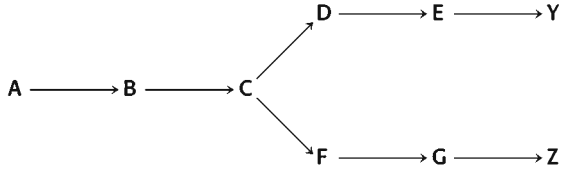
11. *Carbono a carbono.* ¿Cuál es la función del tetrahidrofolato en los sistemas biológicos?

12. *Igual, pero diferente.* ¿Qué diferencias hay entre la *S*-adenosilmetionina y el tetrahidrofolato?

13. *Marcaje revelador.* En la reacción catalizada por la glutamina sintetasa, se transfiere un átomo de oxígeno desde la cadena lateral del glutamato al ortofosfato, tal y como muestran los resultados de estudios de marcaje con O^{18}. Explique esta observación.

14. *Síntesis directa.* De los 20 aminoácidos fundamentales ¿cuáles se pueden sintetizar directamente a partir de intermediarios metabólicos corrientes mediante una reacción de transaminación? ✓ 4

15. *Líneas de comunicación.* En el siguiente ejemplo de una ruta ramificada, proponga un mecanismo de retroinhibición que dé lugar a la producción de cantidades iguales de Y y de Z. ✓ 4



16. *Retroinhibición acumulativa.* Considere la ruta ramificada del problema 15. La primera reacción común (A ⟶ B) se inhibe parcialmente por los dos productos finales, que actúan independientemente el uno del otro. Suponga que un nivel elevado de Y por sí solo reduce la velocidad del paso A ⟶ B de 100 a 60 s^{-1} y que un nivel elevado de Z por sí solo reduce la velocidad de 100 a 40 s^{-1}. ¿Cuál será la velocidad en presencia de niveles elevados de Y y de Z?

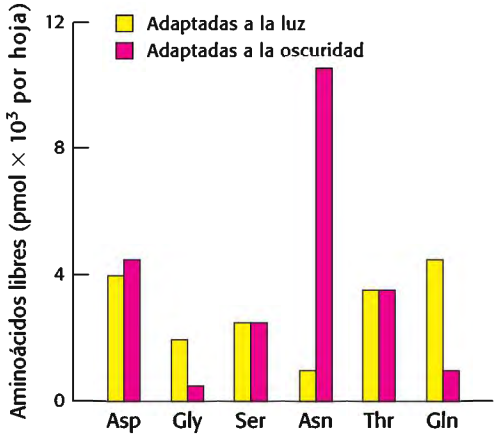
Problemas de integración de capítulos y de interpretación de datos

17. *Un carbono y solo uno.* Hemos identificado tres biomoléculas que transportan unidades monocarbonadas activadas de algún tipo. Cite estos tres transportadores.

18. *Esa cara me suena.* La metionina sintasa necesita vitamina B_{12} para regenerar la metionina a partir de la homocisteína. ¿Qué otra enzima hemos visto que también necesita vitamina B_{12}?

19. *Más ramificaciones.* Una persona sometida a una dieta carente de metionina no podría sintetizar la cantidad apropiada de proteínas. Sin embargo, la síntesis insuficiente de proteínas no sería el único problema bioquímico al que se enfrentaría esa persona. ¿Qué otras biosíntesis se verían afectadas por una ausencia de metionina en la dieta?

20. *Efectos de la luz.* El gráfico adjunto muestra la concentración de varios aminoácidos libres en plantas adaptadas a la luz y adaptadas a la oscuridad.



[Tomado de B. B. Buchanan, W. Gruissem y R. L. Jones. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants* (American Society of Plant Physiology, 2000), p. 363, Fig. 8.3.]

(a) De los aminoácidos mostrados, ¿cuáles son los más afectados por la adaptación luz-oscuridad?
(b) Sugiera una posible explicación bioquímica para las diferencias observadas.
(c) El espárrago blanco, una delicia gastronómica, es el resultado de cultivar las plantas del espárrago en la oscuridad. ¿Cuál es el compuesto químico que, en su opinión, intensifica el sabor del espárrago blanco?

Problemas para atrevidos

21. *De azúcar a aminoácido.* Escriba una ecuación ajustada para la síntesis de alanina a partir de glucosa. ✓ 4

22. *Conexiones.* ¿Cómo afectaría un aumento en la síntesis de aspartato y de glutamato a la producción de energía en la célula? ¿Cómo respondería la célula a esta situación? ✓ 4

23. *Comparando la K_M.* La glutamato deshidrogenasa (p. 543) y la glutamina sintetasa (p. 543) están presentes en todos los organismos. La mayoría de los procariotas contienen otra enzima, la *glutamato sintasa*, que cataliza la aminación reductora del α-cetoglutarato utilizando glutamina como donador de nitrógeno.

$$\alpha\text{-Cetoglutarato} + \text{glutamina} + \text{NADPH} + H^+ \xrightleftharpoons[\text{sintasa}]{\text{Glutamato}} 2\ \text{glutamato} + NADP^+$$

En el interior de la enzima, la amida de la cadena lateral de la glutamina se hidroliza generando amoniaco. Cuando el NH_4^+ es limitante, la mayor parte del glutamato se sintetiza mediante la acción secuencial de la glutamina sintetasa y de la glutamato sintetasa. La suma de estas reacciones es

$$NH_4^+ + \alpha\text{-Cetoglutarato} + \text{NADPH} + \text{ATP} \longrightarrow \text{glutamato} + NADP^+ + \text{ADP} + P_i$$

Hay que señalar que esta estequiometría difiere de la de la reacción de la glutamato deshidrogenasa porque se hidroliza ATP. ¿Por qué, a veces, los procariotas utilizan esta ruta más cara? (Pista: la K_M para el NH_4^+ de la glutamato deshidrogenasa es mayor que la K_M para el NH_4^+ de la glutamina sintasa.) ✓ 4

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 32

Metabolismo de nucleótidos

32.1 Panorámica general de la biosíntesis de nucleótidos y su nomenclatura

32.2 Una vez ensamblado el anillo de pirimidina, se une al azúcar ribosa

32.3 El anillo de purina se ensambla sobre la ribosa fosfato

32.4 Los ribonucleótidos se reducen a desoxirribonucleótidos

32.5 La biosíntesis de nucleótidos se regula mediante retroinhibición

32.6 Alteraciones en el metabolismo de los nucleótidos pueden dar lugar a estados patológicos



Carlos V, emperador del Sacro Imperio Romano (1519-1558), que también reinó bajo el nombre de Carlos I, rey de España (1516-1556), fue uno de los gobernantes más poderosos de Europa. Bajo su reinado, el imperio español conquistó los imperios azteca e inca del Nuevo Mundo. Carlos V padecía graves ataques de gota, un estado patológico causado por la alteración del metabolismo de los nucleótidos. Este retrato de Tiziano muestra la mano izquierda del emperador hinchada, que deja descansar con sumo cuidado sobre su regazo. Un análisis reciente de una parte de su dedo, que se ha conservado como una reliquia religiosa, confirma el diagnóstico de gota. [Erich Lessing/Art Resource, NY.]

Además de ser los materiales de construcción para péptidos y proteínas, los aminoácidos sirven de precursores para muchas clases de moléculas pequeñas que tienen importantes y variadas funciones biológicas. Repasemos brevemente algunas de las moléculas derivadas de los aminoácidos (**Figura 32.1**).

La *histamina*, un componente del sistema inmunitario cuya sobreproducción provoca una respuesta alérgica, se obtiene a partir de la his-

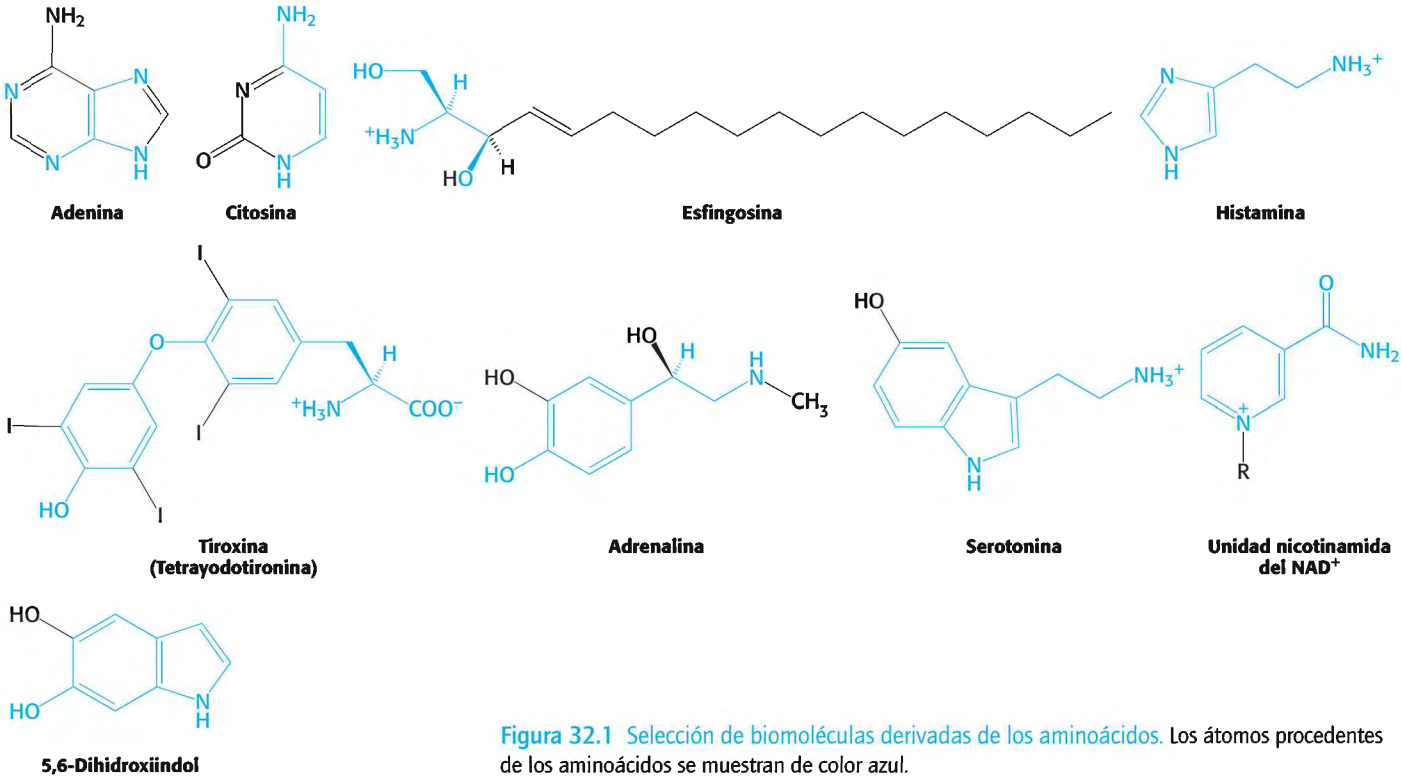


Figura 32.1 Selección de biomoléculas derivadas de los aminoácidos. Los átomos procedentes de los aminoácidos se muestran de color azul.

tidina por descarboxilación. La tirosina es un precursor de las hormonas *tiroxina* (tetrayodotironina), que controla la velocidad de los procesos metabólicos por todo el organismo, y *adrenalina*, la hormona del "lucha o huye". La adrenalina también es un precursor del 5,6-dihidroxiindol, un precursor de la melanina, un pigmento polimérico complejo que se forma durante la exposición al sol y que constituye la base química del bronceado. El neurotransmisor *serotonina* (5-hidroxitriptamina) y el *anillo de nicotinamida* del NAD^+ se sintetizan a partir del triptófano. El extremo reactivo de las *esfingosina*, un intermediario de la síntesis de esfingolípidos, procede de la serina. Ahora vamos a considerar con más detalle unos compuestos bioquímicos especialmente importantes que proceden de los aminoácidos: las bases de los nucleótidos. Las *purinas* y las *pirimidinas* se obtienen, principalmente, a partir de aminoácidos y son los precursores del DNA, del RNA y de varias coenzimas.

Comenzamos con un estudio de la síntesis de nucleótidos. Los productos iniciales de la síntesis de nucleótidos son los ribonucleótidos, y veremos cómo se convierten estos compuestos en desoxirribonucleótidos, los sustratos para la síntesis del DNA. Después, nos ocuparemos de la regulación de la síntesis de nucleótidos. Por último, consideraremos algunos estados patológicos ocasionados por alteraciones en el metabolismo de los nucleótidos.

✓ 5 Describir cómo se sintetizan los nucleótidos.

32.1 Panorámica general de la biosíntesis de nucleótidos y su nomenclatura

Las rutas para la biosíntesis de nucleótidos se clasifican en dos grupos: rutas *de novo* y rutas *de recuperación* (Figura 32.2). En las rutas *de novo*, las bases de los nucleótidos se ensamblan a partir de compuestos más sencillos. Primero, se ensambla el armazón para una base *pirimidínica* y, después, se incorpora a la ribosa. Por el contrario, el armazón de una base *púrica* se sintetiza paso a paso directamente sobre una estructura que contiene ribosa. En las rutas de recuperación se aprovechan bases ya formadas volviéndolas a unir a una unidad de ribosa.

La síntesis *de novo* y la mayoría de las rutas de recuperación dan lugar a la síntesis de *ribo*nucleótidos. Sin embargo, el DNA se construye a partir de desoxirribonucleó-

Tabla 32.1 Nomenclatura de las bases, nucleósidos y nucleótidos

RNA			DNA		
Base	Ribonucleósido	Ribonucleótido (5′-monofosfato)	Base	Desoxirribonucleósido	Desoxirribonucleótido (5′-monofosfato)
Adenina (A)	Adenosina	Adenilato (AMP)	Adenina (A)	Desoxiadenosina	Desoxiadenilato (dAMP)
Guanina (G)	Guanosina	Guanilato (GMP)	Guanina (G)	Desoxiguanosina	Desoxiguanilato (dGMP)
Uracilo (U)	Uridina	Uridilato (UMP)	Timina (T)	Desoxitimidina	Desoxitimidilato (TMP)*
Citosina (C)	Citidina	Citidilato (CMP)	Citosina (C)	Desoxicitidina	Desoxicitidilato (dCMP)

*Es raro encontrar el timidilato en la forma ribosa y, por tanto, por convención, se omite la "d" minúscula en la abreviatura.

tidos. Todos los desoxirribonucleótidos se sintetizan a partir de los correspondientes ribonucleótidos. El azúcar desoxirribosa se genera mediante la reducción de la ribosa integrada en un nucleótido completamente formado. Además, el grupo metilo que diferencia la timina del DNA del uracilo del RNA se añade en el último paso de esta ruta.

Un *nucleósido* está formado por una base púrica o pirimidínica unida a un azúcar, y un *nucleótido* es un éster fosfato de un nucleósido. Por ejemplo, la adenosina es un nucleósido formado por la base adenina y el azúcar ribosa. El ATP es un nucleótido, el éster fosfato (en esta caso, un trifosfato) de la adenosina. Los nombres de las principales bases del RNA y del DNA, así como los de los nucleósidos y nucleótidos que se obtienen a partir de ellas se incluyen en la Tabla 32.1.

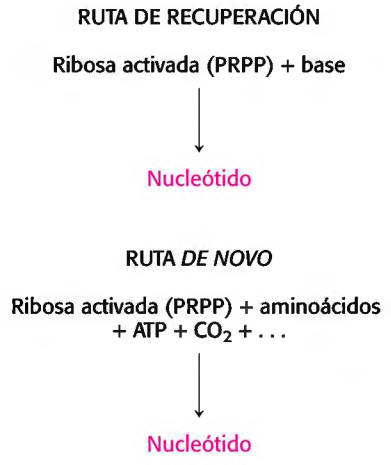
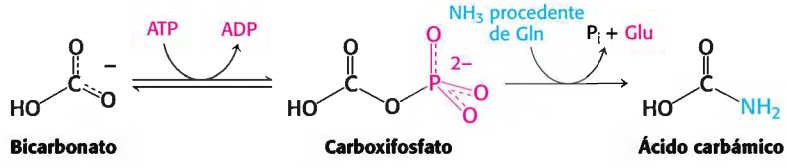


Figura 32.2 Rutas *de novo* y rutas de recuperación. En una ruta de recuperación, una base se une a una ribosa activada en forma de 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP). En la síntesis *de novo*, la propia base se sintetiza a partir de materiales de partida más sencillos, entres los que se incluyen los aminoácidos. La síntesis *de novo* requiere la hidrólisis del ATP.

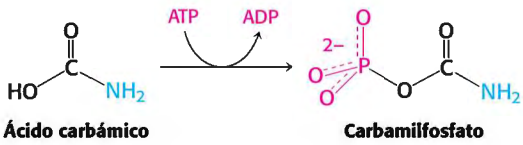
32.2 Una vez ensamblado el anillo de pirimidina, se une al azúcar ribosa

Los precursores de los anillos de pirimidina son el bicarbonato, el ácido aspártico y el amoniaco, que se suele generar a partir de la hidrólisis de la cadena lateral de la glutamina. En la síntesis *de novo* de las pirimidinas, primero se sintetiza el anillo y, después, se enlaza a la ribosa formando un *nucleótido de pirimidina* (Figura 32.3, en la p. 558).

La primera reacción de la biosíntesis *de novo* de las pirimidinas consiste en la síntesis de *carbamilfosfato* a partir de bicarbonato y amoniaco mediante un proceso que consta de tres pasos y que necesita la escisión de dos moléculas de ATP. Esta reacción está catalizada por la *carbamilfosfato sintetasa* (CPS, o también CPS II). En el primer paso de la ruta de la síntesis de carbamilfosfato, el bicarbonato es fosforilado por el ATP dando lugar al carboxifosfato, una forma activada del CO_2, y ADP. En el segundo paso, la glutamina es hidrolizada por la CPS formando glutamato y amoniaco que, a continuación, reacciona con el carboxifosfato generando ácido carbámico y fosfato inorgánico.



Posteriormente, el ácido carbámico es fosforilado por otra molécula de ATP dando lugar al carbamilfosfato.



El carbamilfosfato reacciona con el aminoácido aspartato formando carbamilaspartato, en una reacción catalizada por la *aspartato transcarbamilasa* (ATCasa). Esta

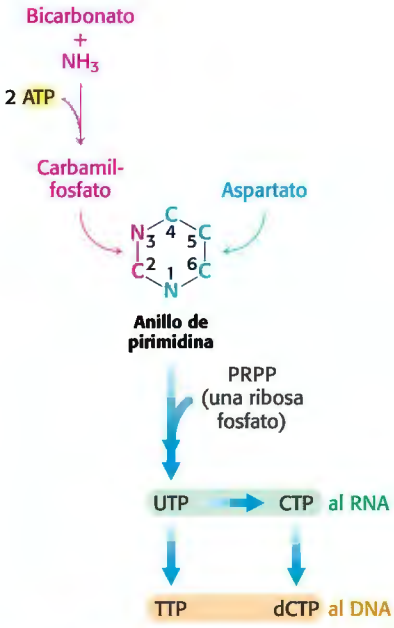
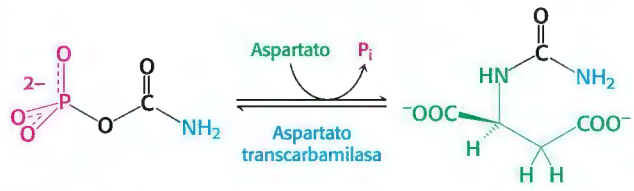


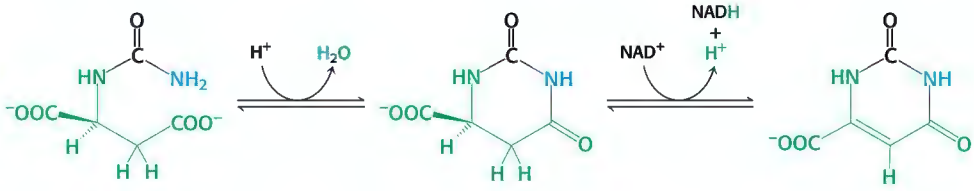
Figura 32.3 Ruta *de novo* para la síntesis de nucleótidos de pirimidina. Los átomos C-2 y N-3 del anillo de pirimidina proceden del carbamilfosfato, mientras que el resto de los átomos del anillo proceden del aspartato.

enzima alostérica regula la síntesis de nucleótidos de pirimidina, como veremos más adelante (p. 565). La reacción catalizada por la carbamilfosfato sintetasa (CPS II) es idéntica a la de la carbamilfosfato sintetasa (CPS I) que interviene en la síntesis de urea (p. 527). Sin embargo, la CPS II utiliza la glutamina, en vez del amoniaco, como fuente de nitrógeno y no necesita *N*-acetilglutamato.



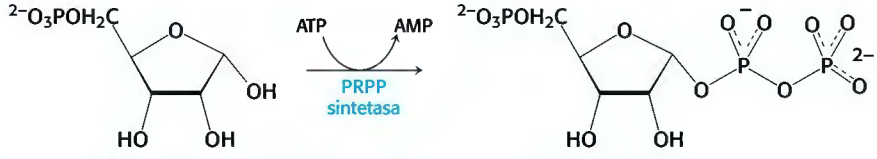
Carbamilfosfato **Carbamilaspartato**

Después, el carbamilaspartato se cierra sobre sí mismo formando dihidroorotato, que se oxida por el NAD^+ dando lugar al orotato.



Carbamilaspartato **Dihidroorotato** **Orotato**

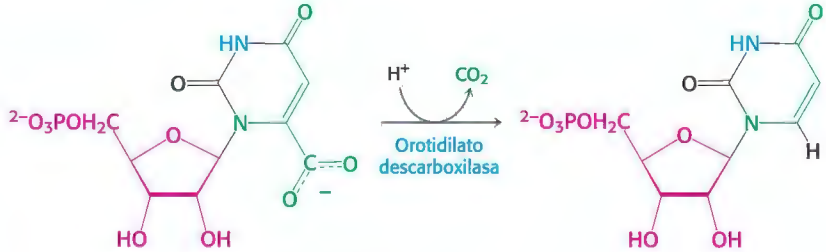
Llegados a este punto, el orotato se acopla al *5-fosforribosil-1-pirofosfato* (PRPP), una forma activada de la ribosa que puede aceptar bases de nucleótidos. El PRPP se sintetiza a partir de la ribosa 5-fosfato, formada durante la ruta de las pentosas fosfato, mediante la adición de pirofosfato procedente del ATP, en una reacción catalizada por la *PRPP sintetasa*.



Ribosa 5-fosfato **PRPP**

El orotato reacciona con PRPP formando *orotidilato*, un nucleótido de pirimidina, en una reacción impulsada por la hidrólisis del pirofosfato, tal y como se indica al margen.

A continuación, el orotidilato se descarboxila formando uridina monofosfato (UMP, o uridilato), uno de los dos principales nucleótidos de pirimidina precursores del RNA. Esta reacción está catalizada por la *orotidilato descarboxilasa*.



Orotidilato **Uridilato**

El CTP se forma mediante la aminación del UTP

¿Cómo se forma la citidina monofosfato (CMP, o citidilato), el otro ribonucleótido de pirimidina mayoritario? Se sintetiza a partir de la base uracilo del UMP pero, primero, el UMP se tiene que convertir en UTP para que la síntesis se pueda llevar a cabo.

Las quinasas convierten los nucleósidos monofosfato en nucleósidos trifosfato

Recordemos que, tanto en la biosíntesis como en las conversiones energéticas, las formas activas de los nucleótidos son los difosfatos y los trifosfatos. Los nucleósidos monofosfato se convierten en nucleósidos trifosfato paso a paso. En primer lugar, los nucleósidos monofosfato se convierten en difosfato por medio de *nucleósido monofosfato quinasas* específicas que utilizan ATP como donador de grupos fosforilo. Por ejemplo, la *UMP quinasa* fosforila el UMP para formar UDP.

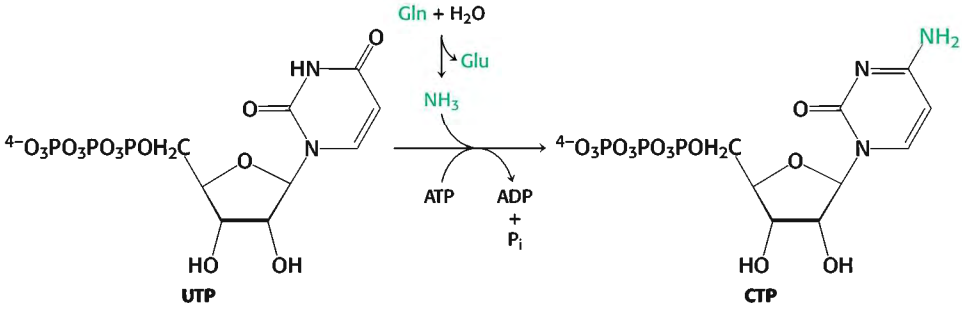
$$\text{UMP} + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{UDP} + \text{ADP}$$

Los nucleósidos difosfato y trifosfato son interconvertibles gracias a la *nucleósido difosfato quinasa*, una enzima de escasa especificidad, a diferencia de las monofosfato quinasas. Las letras X e Y pueden representar a varios ribonucleósidos o, incluso, a varios desoxirribonucleósidos:

$$\text{XDP} + \text{YTP} \rightleftharpoons \text{XTP} + \text{YDP}$$

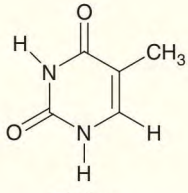
Una vez formada la uridina trifosfato, se puede transformar en *citidina trifosfato* (CTP) reemplazando un grupo carbonilo por un grupo amino. Como en la síntesis de carbamilfosfato, esta reacción necesita ATP y utiliza la glutamina como fuente de grupos amino. A continuación, la CTP puede utilizarse en multitud de procesos bioquímicos, entre los que se incluye la síntesis de RNA y la activación de moléculas para la síntesis de fosfolípidos (p. 499).

? PREGUNTA RÁPIDA 1 ¿Cuáles son los precursores de la síntesis *de novo* de las pirimidinas?



Las bases pirimidínicas se reciclan mediante rutas de recuperación

Las bases pirimidínicas se pueden recuperar a partir de los productos de la descomposición del DNA y del RNA utilizando las *rutas de recuperación*. En estas rutas, se incorporan bases ya formadas a los nucleótidos. Consideraremos la ruta de recuperación de la timina, una base pirimidínica. La timina se encuentra en el DNA y, en la doble hélice, forma pares de bases con la adenina. La timina procedente de la degradación del DNA se recupera en dos pasos. Primero, se convierte la timina en el nucleósido timidina mediante la *timidina fosforilasa*.



$$\text{Timina} + \text{desoxirribosa-1-fosfato} \rightleftharpoons \text{timidina} + P_i$$

Luego, la timidina se convierte en un nucleótido mediante la *timidina quinasa*.

$$\text{Timidina} + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{TMP} + \text{ADP}$$

La actividad de la timidina quinasa fluctúa con el ciclo celular, mostrando una actividad máxima durante la fase S, en la que se produce la síntesis de DNA. La timidina quinasa vírica es distinta de la enzima de los mamíferos y, por tanto, constituye una diana terapéutica. Por ejemplo, las infecciones por el herpes simple se tratan con aciclovir, un compuesto que la timidina quinasa vírica convierte en un inhibidor suicida que pone fin a la síntesis del DNA. Como veremos en breve, la timidina quinasa también desempeña un papel en la síntesis *de novo* del timidilato.

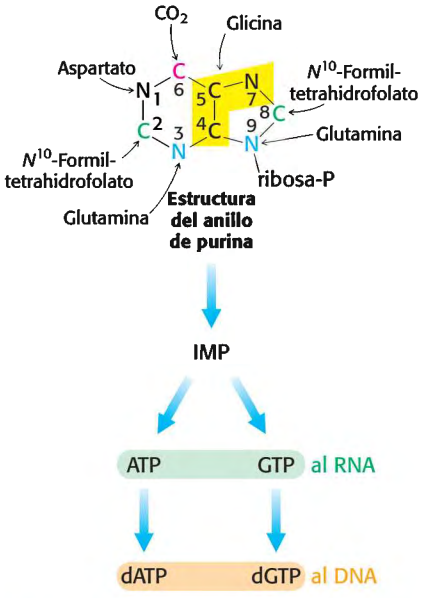


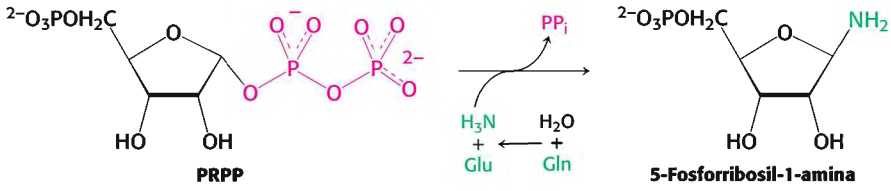
Figura 32.4 Ruta *de novo* para la síntesis de nucleótidos de purina. Se indica la procedencia de los átomos del anillo de purina.

En la forma cíclica del azúcar ribosa, la configuración β indica que el grupo unido al C-1 se encuentra del mismo lado del anillo que el grupo $-CH_2OH$. En la configuración α, el grupo unido al C-1 y el grupo $-CH_2OH$ se encuentran en lados opuestos del anillo.

? **PREGUNTA RÁPIDA 2** Identifique la procedencia de todos los átomos de un anillo de purina.

32.3 El anillo de purina se ensambla sobre la ribosa fosfato

Las *purinas*, al igual que las pirimidinas, se sintetizan *de novo* a partir de materiales de partida sencillos (Figura 32.4). A diferencia de la síntesis de pirimidina, el primer paso para el ensamblaje de la purina consiste en su unión a la ribosa. La síntesis *de novo* de la purina requiere PRPP, al igual que la biosíntesis de pirimidina pero, en el caso de la purina, el PRPP proporciona la plataforma sobre la que se van construyendo las bases paso a paso. El paso comprometido inicial es el desplazamiento del pirofosfato del PRPP por parte del amoniaco en vez de por una base previamente ensamblada, para producir *5-fosforribosil-1-amina*, con la amina en configuración β. En esta reacción, catalizada por la *glutamina fosforribosil amidotransferasa*, es la glutamina, de nuevo, la que aporta el amoniaco.



Para ensamblar el anillo de purina se necesitan otros nueve pasos. La biosíntesis *de novo* de la purina se lleva a cabo mediante reacciones sucesivas de activación por fosforilación, seguidas de un desplazamiento, tal y como se muestra en la Figura 32.5. El producto final es el nucleótido inosina monofosfato (IMP, o inosinato). Los aminoácidos glicina, glutamina y aspartato son importantes precursores. La síntesis de las purinas depende del tetrahidrofolato, un destacado transportador de unidades monocarbonadas activadas (p. 546).

El AMP y el GMP se forman a partir del IMP

El *inosinato*, aunque forma parte de algunas moléculas de RNA, actúa fundamentalmente como precursor de otras purinas. El inosinato se encuentra en la base de una ruta ramificada que da lugar tanto al AMP como al GMP (Figura 32.6, en la p. 562). El *adenilato* se sintetiza a partir del inosinato mediante la sustitución del átomo de oxígeno del grupo carbonilo en la posición C-6 por un grupo amino. La adición de aspartato seguida de la eliminación de fumarato proporciona el grupo amino. Durante la síntesis del intermediario adenilsuccinato a partir de inosinato y aspartato, se necesita GTP en vez de ATP.

La *guanosina monofosfato* (GMP, o guanilato) se sintetiza mediante la oxidación del inosinato a xantina monofosato (XMP, o xantilato), seguida de la incorporación de un grupo amino al C-2. Durante la oxidación del inosinato, el aceptor de hidrógeno es el NAD^+. El grupo carbonilo del xantilato se activa mediante la transferencia de un grupo AMP procedente del ATP. Posteriormente, el amoniaco generado por la hidrólisis de la glutamina desplaza el grupo AMP para formar guanilato, en una reacción catalizada por la *GMP sintasa*. Hay que señalar que la síntesis de adenilato requiere GTP, mientras que la síntesis de guanilato necesita ATP, una diferencia que, como ya veremos (p. 566), permite que el flujo a través de cada rama sea equilibrado.

In vivo, las enzimas de la ruta para la síntesis de purinas se asocian entre sí

Los bioquímicos creen que las enzimas de muchas rutas metabólicas, como la glucólisis y el ciclo del ácido cítrico, se encuentran físicamente asociadas entre sí. Estas asociaciones aumentarían la eficacia de las rutas facilitando el movimiento del producto de una enzima al centro activo de la siguiente enzima de la ruta. Las evidencias que sugieren este tipo de asociaciones proceden, fundamentalmente, de experimentos en los que uno de los componentes de una ruta, purificado con mucho cuidado a partir de la célula, se encuentra unido a otros componentes de la ruta. Sin embargo, estas asociaciones plantean la siguiente cuestión: ¿se asocian realmente las enzimas entre sí *in vivo* o se trata de un artefacto provocado por el protocolo de purificación? Evidencias obtenidas recientemente *in vivo* demuestran que, cuando hay que sintetizar purina, las enzimas de la ruta de la síntesis de purinas se asocian entre sí. Se fusiona-

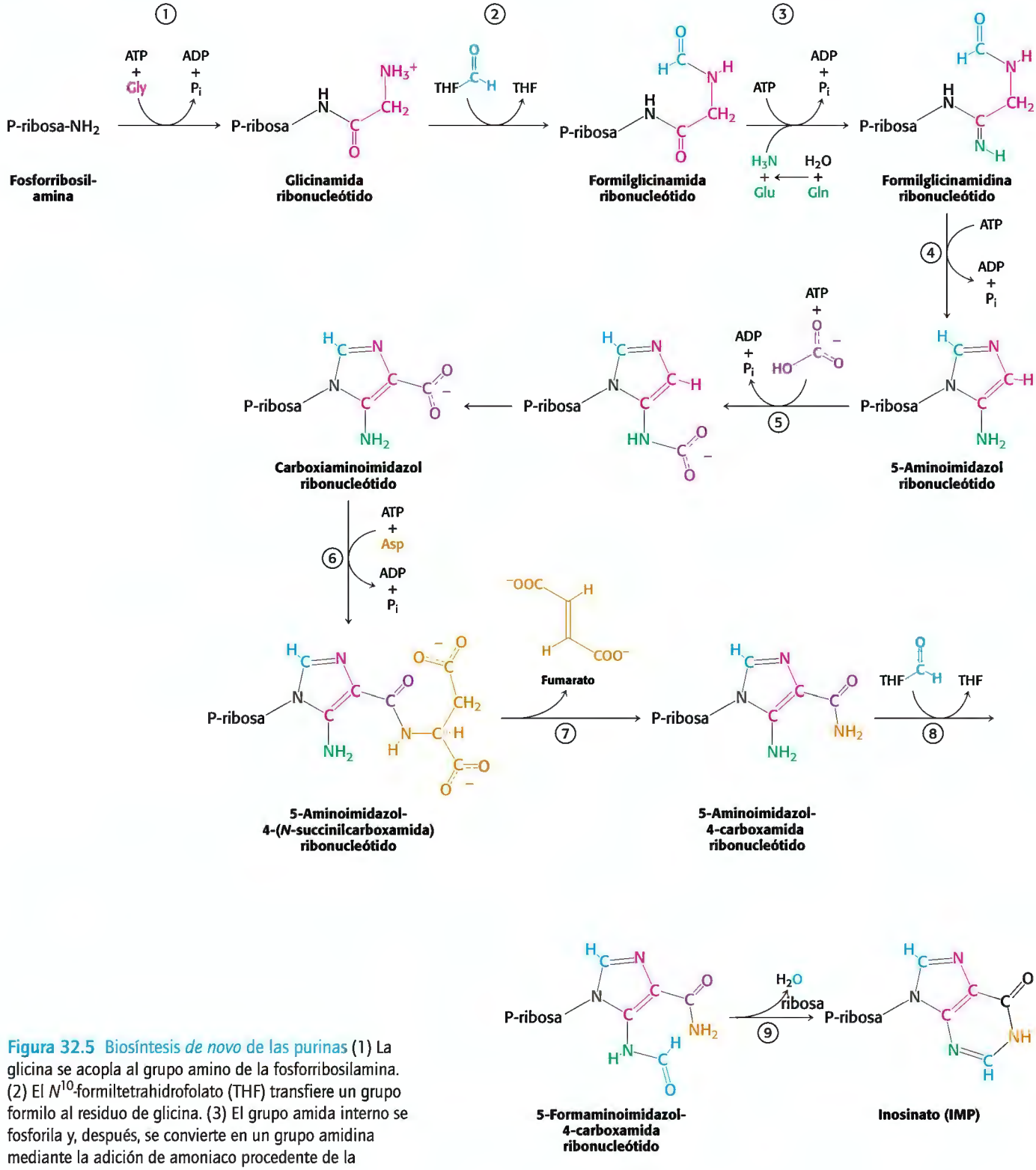


Figura 32.5 Biosíntesis *de novo* de las purinas (1) La glicina se acopla al grupo amino de la fosforribosilamina. (2) El N^{10}-formiltetrahidrofolato (THF) transfiere un grupo formilo al residuo de glicina. (3) El grupo amida interno se fosforila y, después, se convierte en un grupo amidina mediante la adición de amoniaco procedente de la glutamina. (4) Una reacción de acoplamiento intramolecular forma un anillo imidazol de cinco átomos. (5) El bicarbonato se une primero al grupo amino exocíclico y, después, a un átomo de carbono del anillo imidazol. (6) El carboxilato del imidazol se fosforila y el grupo fosforilo es desplazado por el grupo amino del aspartato. (7) Se libera fumarato y, después, (8) se añade un segundo grupo formilo procedente del N^{10}-formiltetrahidrofolato. (9) La formación de un anillo pone fin a la síntesis de inosinato, un nucleótido de purina. Abreviatura: la P representa el grupo fosforilo.

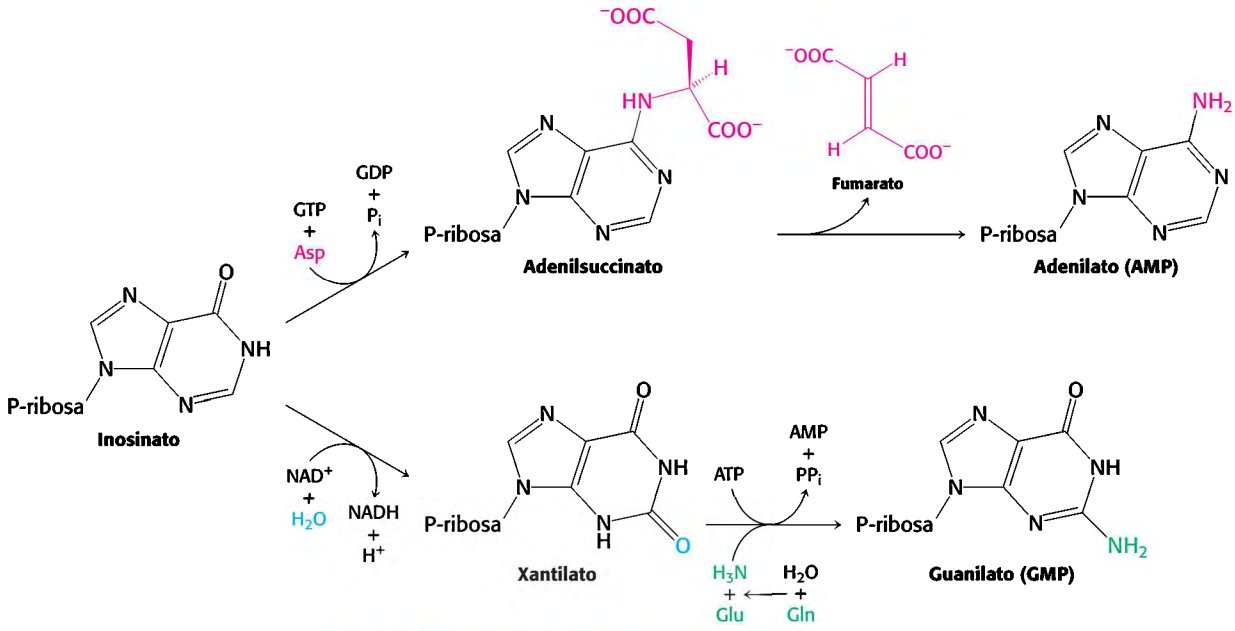


Figura 32.6 Generación de AMP y de GMP. El inosinato es el precursor del AMP y del GMP. El AMP se forma mediante la adición de aspartato seguida de la liberación de fumarato. El GMP se genera mediante la adición de agua, la deshidrogenación por NAD^+ y la sustitución del átomo de oxígeno del grupo carbonilo por un $-NH_2$ procedente de la hidrólisis de la glutamina.

ron los genes de varias enzimas de la ruta con el gen de la proteína fluorescente verde (GFP), que permite visualizar las enzimas, y se transfectaron en células. Cuando las células crecían en presencia de purina, la GFP se encontraba esparcida de forma difusa por todo el citoplasma (Figura 32.7A). Cuando las células fueron transferidas a un medio de crecimiento carente de purinas, comenzó la síntesis de purinas y las enzimas se asociaron entre sí formando unos complejos denominados *purinosomas* (Figura 32.7B). Se repitieron los experimentos con otras enzimas de la ruta de la síntesis de purinas y los resultados fueron idénticos: la síntesis de purinas se produce cuando las enzimas forman los purinosomas. ¿Qué es lo que induce la formación de los complejos? Aunque las causas todavía no están muy claras, parece ser que una fosfatasa, que presumiblemente responde de alguna manera a la ausencia de purinas, induce la formación del complejo, mientras que una quinasa, en respuesta a la presencia de purinas, parece provocar el desmantelamiento del purinosoma.

Las bases se pueden reciclar mediante rutas de recuperación

Los nucleótidos de purina, como los de pirimidina (p. 559), también se pueden sintetizar mediante la recuperación y reciclaje de purinas intactas liberadas durante la degradación hidrolítica de los ácidos nucleicos y nucleótidos. Estas rutas de recuperación se saltan la mayoría de los pasos que, en la síntesis *de novo* de los nucleótidos, necesitan energía, con lo que se ahorran cantidades considerables de ATP.

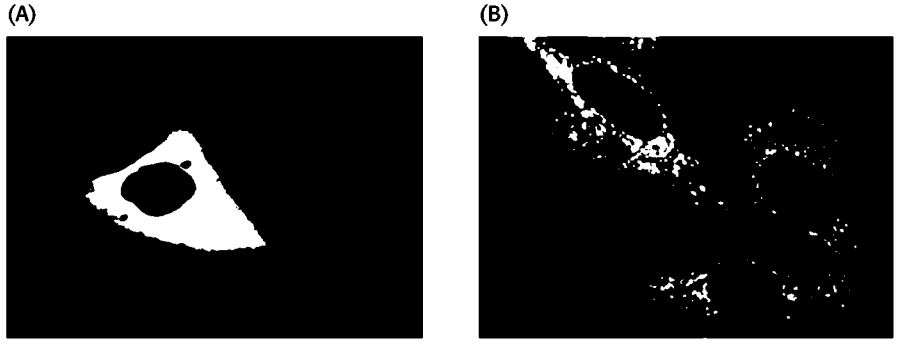


Figura 32.7 Formación de purinosomas. Se diseñó una construcción génica que codifica una proteína de fusión formada por la formilglicinamida sintasa y la proteína fluorescente verde (GFP) y se transfectó y expresó en células HeLa (una línea celular humana). (A) En presencia de purinas (no hay síntesis de purinas), la GFP aparece como una mancha difusa esparcida por todo el citoplasma. (B) Cuando se transfieren las células a un medio sin purinas, se forman purinosomas, que se pueden ver como gránulos citoplasmáticos, y se produce la síntesis de purinas. [Tomado de S. An, R. Kumar, E. D. Sheets y S. J. Benkovic, *Science* 320: 103-106, 2008, Fig. 2, partes C y D.]

Las bases de purina se recuperan mediante dos enzimas que presentan distintas especificidades. La *adenina fosforribosiltransferasa* cataliza la formación de adenilato,

$$\text{Adenina} + \text{PRPP} \longrightarrow \text{adenilato} + \text{PP}_i$$

mientras que la *hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa* (HGPRT) cataliza la formación de guanilato y de inosinato que, como ya hemos visto, es un precursor del guanilato y del adenilato.

$$\text{Guanina} + \text{PRPP} \longrightarrow \text{guanilato} + \text{PP}_i$$

$$\text{Hipoxantina} + \text{PRPP} \longrightarrow \text{inosinato} + \text{PP}_i$$

Las rutas de recuperación de las purinas son especialmente dignas de atención si se tienen en cuenta las asombrosas consecuencias derivadas de su ausencia (p. 569).

32.4 Los ribonucleótidos se reducen a desoxirribonucleótidos

Ahora centraremos nuestra atención en la síntesis de los desoxirribonucleótidos. Estos precursores del DNA se forman mediante la reducción de los ribonucleótidos. El grupo hidroxilo en posición 2' de la unidad de ribosa es sustituido por un átomo de hidrógeno. Los sustratos son ribonucleósidos difosfato y el reductor final es el NADPH (**Figura 32.8**). La misma enzima, la *ribonucleótido reductasa*, actúa sobre los cuatro ribonucleótidos. La estequiometría global es

$$\text{Ribonucleósido difosfato} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{Ribonucleótido reductasa}} \text{Desoxirribonucleósido difosfato} + \text{NADP}^+ + \text{H}_2\text{O}$$

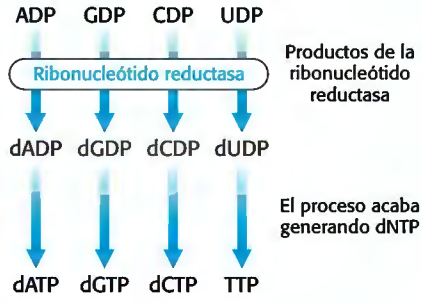
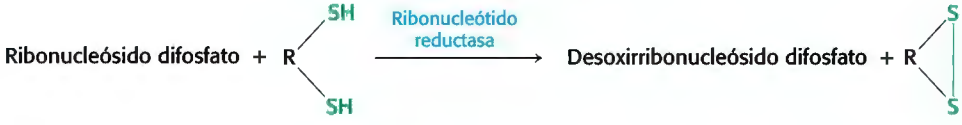
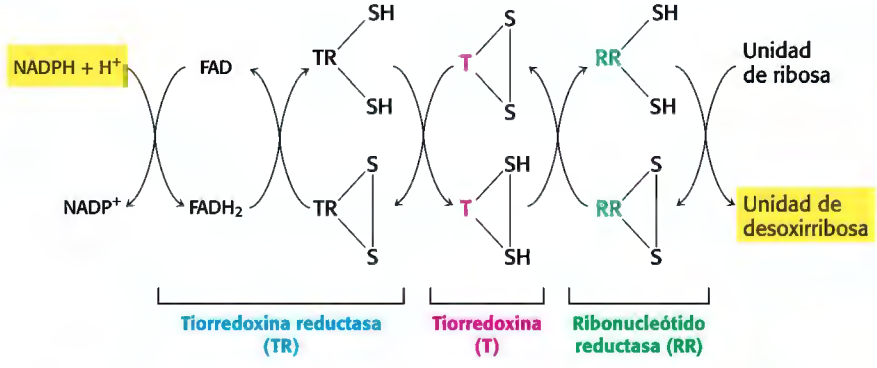


Figura 32.8 Formación de desoxirribonucleótidos. La ribonucleótido reductasa cataliza la formación de desoxiribonucleótidos a partir de ribonucleótidos.

El mecanismo de reacción es más complejo de lo que podría inferirse a partir de esta ecuación. La ribonucleótido reductasa solo cataliza el último paso de esta reacción. La propia reductasa tiene que reducirse para poder llevar a cabo otro ciclo catalítico y los electrones para esta reducción proceden del NADPH, pero no directamente. Uno de los transportadores del poder reductor que conecta el NADPH con la reductasa es la *tiorredoxina*, una proteína de 12 kDa que tiene dos residuos de cisteína expuestos muy cerca el uno del otro. Durante la reacción catalizada por la ribonucleótido reductasa, estos grupos sulfhidrilo se oxidan a disulfuro.



A su vez, la tiorredoxina reducida se regenera gracias al flujo de electrones procedentes del NADPH. Esta reacción está catalizada por la *tiorredoxina reductasa*, una flavoproteína. Los electrones fluyen desde el NADPH al FAD unido a la reductasa y, de allí, al disulfuro de la tiorredoxina reducida, a la ribonucleótido reductasa y, por último, a la unidad ribosa.



El timidilato se forma mediante la metilación del desoxiuridilato

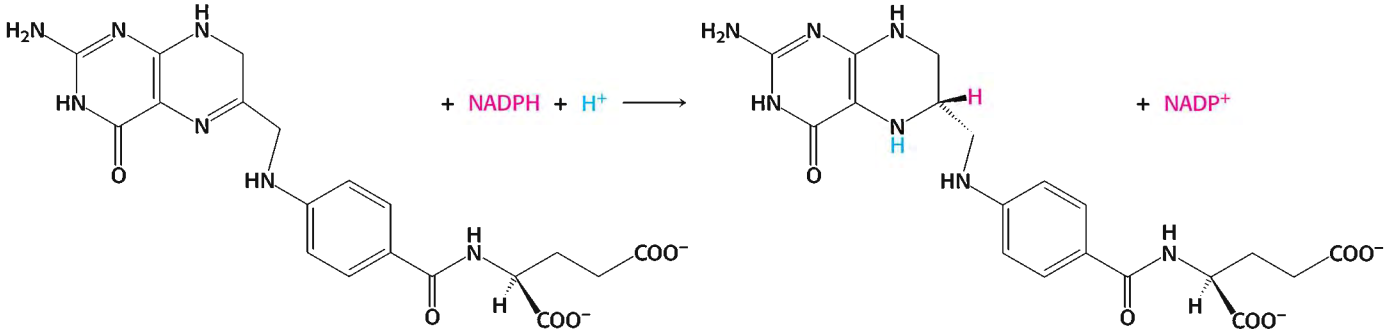
Las reacciones precedentes han generado desoxirribonucleótidos, incluyendo el dUDP. Sin embargo, los nucleótidos que contienen uracilo no forman parte del DNA. En vez de uracilo, el DNA contiene *timina*, una análogo metilado del uracilo. Se nece-

sita otro paso para generar timidilato a partir de uracilo. La *timidilato sintasa* cataliza el toque final: el desoxiuridilato (dUMP) se metila a timina monofsofato (TMP, o timidilato). En este reacción, el donador de metilos es el N^5,N^{10}-metilentetrahidrofolato (p. 547).



Desoxiuridina monofosfato (dUMP) **Timidilato (TMP)**

El tetrahidrofolato se regenera a partir del dihidrofolato producido durante la síntesis de timidilato. Esta regeneración se consigue gracias a la *dihidrofolato reductasa*, utilizando NADPH como reductor.



Dihidrofolato **Tetrahidrofolato**

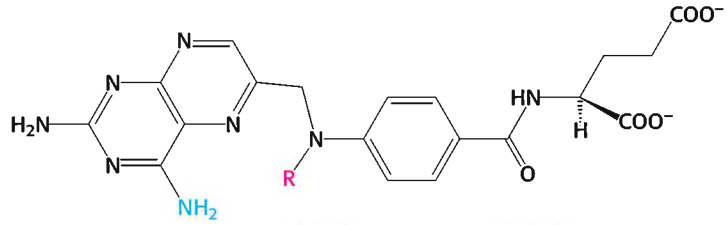
Aspecto clínico

Algunos fármacos anticancerosos muy eficaces bloquean la síntesis de timidilato

En las células que se dividen rápidamente, la síntesis de DNA necesita un abundante suministro de timidilato, el único nucleótido específico para el DNA. La vulnerabilidad de estas células a la inhibición de la síntesis de TMP ha sido aprovechada en la quimioterapia contra el cáncer. La timidilato sintasa y la tetrahidrofolato reductasa son las dianas elegidas para la quimioterapia (Figura 32.9).

El fluorouracilo, un fármaco anticancerosos, se convierte, *in vivo*, en *fluorodesoxiuridilato* (F-dUMP). Este análogo del dUMP actúa como un sustrato normal para la síntesis de TMP antes de inhibir de forma irreversible la timidilato sintasa. El F-dUMP constituye un ejemplo de *inhibición suicida*, en el que una enzima convierte un sustrato en un agente inhibidor que interrumpe la actividad catalítica de la enzima (p. 132).

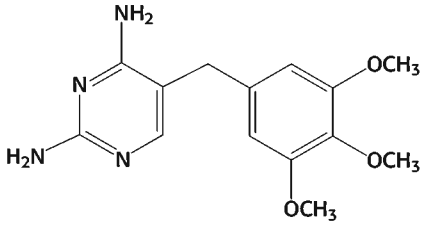
La síntesis de TMP también se puede bloquear inhibiendo la regeneración del tetrahidrofolato. Análogos del dihidrofolato, como la *aminopterina* y el *metotrexato* (ametopterina), son potentes inhibidores competitivos de la dihidrofolato reductasa.



Aminopterina (R = H) o metotrexato (R = CH_3)

El metotrexato es un fármaco muy eficaz para el tratamiento de muchos tumores de crecimiento rápido, como es el caso de la leucemia aguda o del coriocarcinoma, un cáncer que se origina en células de la placenta. Sin embargo, el metotrexato mata a las células que se están replicando rápidamente, sean malignas o no. Las células madre de la médula ósea, las células epiteliales del tracto intestinal y los folículos pilosos son sensibles a la acción de este antagonista del folato y dan cuenta de sus efectos secundarios tóxicos, entre los que se incluyen el debilitamiento del sistema inmunitario, náuseas y pérdida del cabello.

Los análogos del folato como la *trimetoprima* poseen una intensa actividad antibacteriana y antiprotozoaria. La trimetoprima se une a la dihidrofolato reductasa de mamíferos con una intensidad 10^5 veces menor que a las reductasas de los microorganismos sensibles a ella. Pequeñas diferencias en las hendiduras donde se localizan los centros activos de esas enzimas explican la actividad antimicrobiana tan selectiva de la trimetoprima. Para tratar infecciones se utiliza mucho una mezcla de trimetoprima y sulfametoxazol (un inhibidor de la síntesis de folato). ■



Trimetoprima

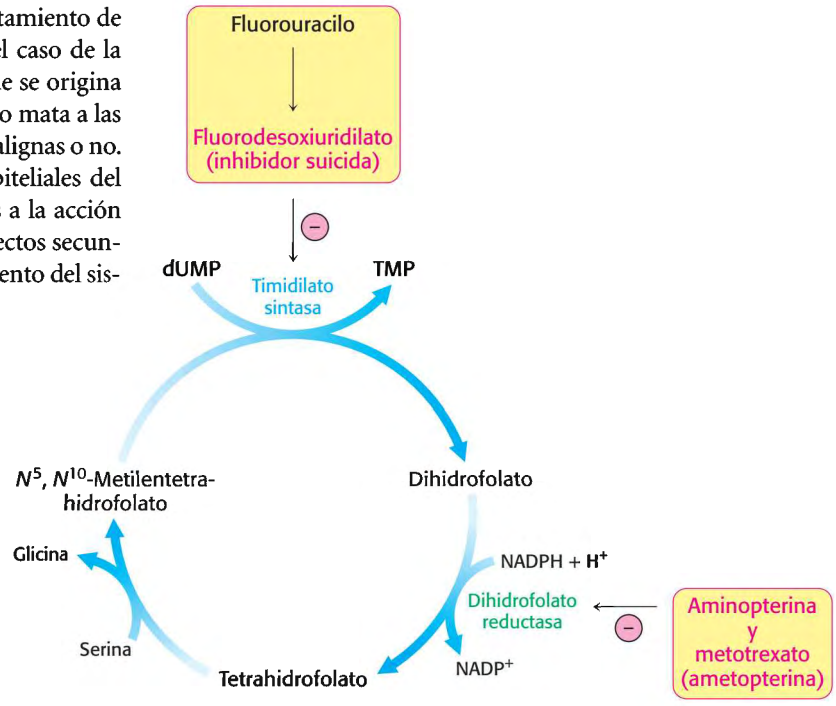


Figura 32.9 Dianas para los fármacos anticancerosos. La timidilato sintasa y la dihidrofolato reductasa son las dianas escogidas para la quimioterapia contra el cáncer, ya que las células cancerosas se dividen rápidamente y necesitan generar gran cantidad de precursores para la síntesis de DNA.

32.5 La biosíntesis de nucleótidos se regula mediante retroinhibición

✓ 6 Explicar cómo se regula la síntesis de nucleótidos.

La biosíntesis de nucleótidos se regula mediante retroinhibición, de manera parecida a la regulación de la biosíntesis de aminoácidos (p. 549). Estas rutas de regulación garantizan que los diversos nucleótidos se produzcan en las cantidades necesarias.

La biosíntesis de pirimidinas se regula mediante la aspartato transcarbamilasa

En bacterias, la aspartato transcarbamilasa (ATCasa) es una enzima clave en la regulación de la biosíntesis de pirimidinas. *La ATCasa se inhibe por CTP, el producto final de la biosíntesis de pirimidinas* y se activa por el ATP. Este acoplamiento entre la inhibición por un nucleótido de pirimidina y la estimulación por un nucleótido de purina permite equilibrar los dos reservorios de nucleótidos.



La carbamilfosfato sintetasa es otro punto donde también se produce retroinhibición, tanto en procariotas como en eucariotas.

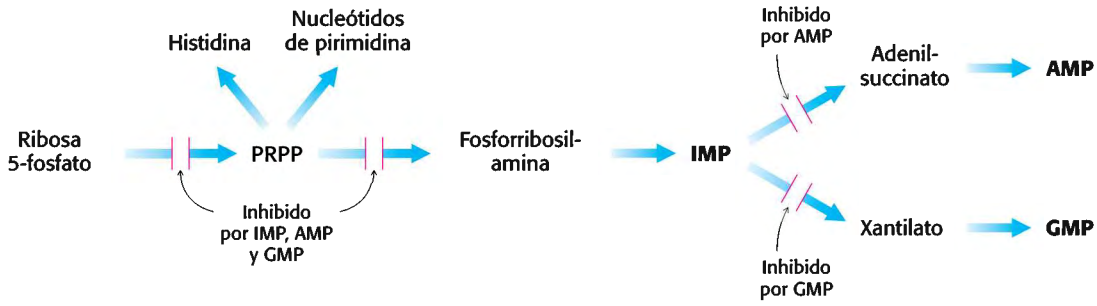


Figura 32.10 Control de la biosíntesis de purinas. La retroinhibición controla tanto la velocidad global de la biosíntesis de purinas como el equilibrio entre la producción de AMP y GMP.

La síntesis de nucleótidos de purina se controla en varios puntos mediante retroinhibición

El esquema de la regulación de los nucleótidos de purina es más complejo que el de los nucleótidos de pirimidina (Figura 32.10).

1. En la biosíntesis de nucleótidos de purina, el paso comprometido es la conversión de PRPP en fosforribosilamina mediante la *glutamina fosforribosil-amidotransferasa*. Esta importante enzima se retroinhibe por muchos ribonucleótidos de purina. Hay que destacar el hecho de que el AMP y el GMP, los productos finales de la ruta, actúan de manera sinérgica a la hora de inhibir la amidotransferasa.

2. El inosinato es el punto donde la síntesis se bifurca hacia el AMP o hacia el GMP. *Las reacciones que tienen lugar a partir del inosinato son puntos de retroinhibición.* El AMP inhibe la conversión del inosinato en adenilsuccinato, su precursor inmediato. Análogamente, el GMP inhibe la conversión de inosinato en xantilato, su precursor inmediato.

3. Como ya se ha indicado, el GTP es un sustrato para la síntesis de AMP mientras que el ATP es un sustrato para la síntesis de GMP (p. 560). Esta relación recíproca entre lo sustratos tiende a mantener el equilibrio entre la síntesis de los ribonucleótidos de adenina y de guanina.

La síntesis de desoxirribonucleótidos se controla mediante la regulación de la ribonucleótido reductasa

La reducción de ribonucleótidos a desoxirribonucleótidos se controla de manera precisa mediante interacciones alostéricas. La ribonucleótido reductasa de *E. coli* es una enzima homodimérica. Cada subunidad contiene dos centros alostéricos: uno de ellos controla la *actividad global* de la enzima, mientras que el otro regula la *especificidad hacia el sustrato* (Figura 32.11). La actividad catalítica global de la ribonucleótido reductasa disminuye cuando se une el dATP, una señal que indica abundancia de desoxirribonucleótidos. La unión de dATP o ATP al centro de control de la especificidad hacia el sustrato intensifica la reducción de UDP y CDP, nucleótidos de pirimidina, a los correspondientes desoxinucleótidos. La unión de timidina trifosfato (TTP) promueve la reducción del GDP e inhibe la reducción ulterior de los ribonucleótidos de pirimidina. El consiguiente incremento en los niveles de dGTP estimula la reducción de ADP a dADP. Este complejo patrón de regulación permite que los cuatro desoxirribonucleótidos necesarios para la síntesis del DNA se encuentren en las proporciones adecuadas.

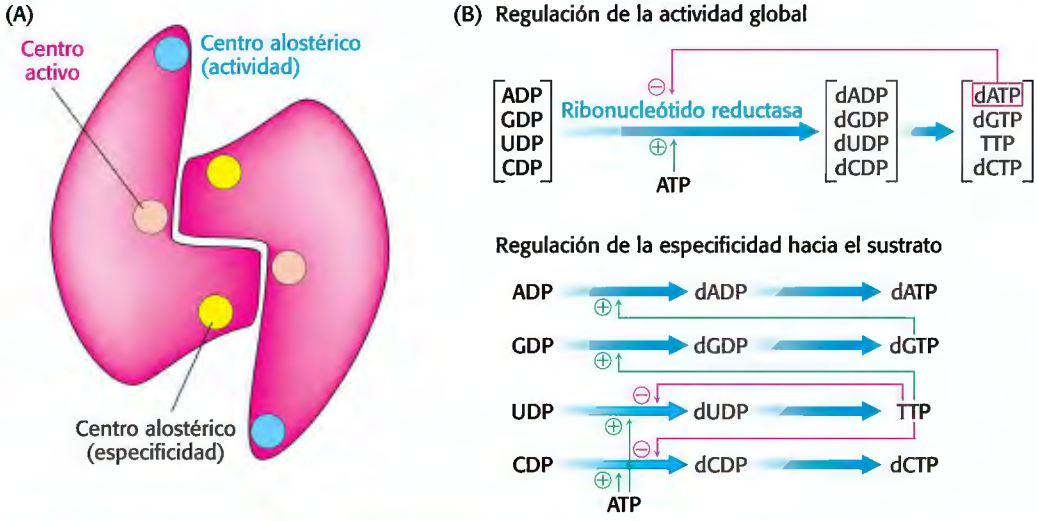


Figura 32.11 Regulación de la ribonucleótido reductasa. (A) Cada subunidad del dímero de la reductasa contiene dos centros alostéricos, además del centro activo. Uno de los centros alostéricos regula la actividad global y el otro regula la especificidad hacia el sustrato. (B) Patrones de regulación de la ribonucleótido reductasa por parte de los distintos nucleósidos difosfato.

32.6 Alteraciones en el metabolismo de los nucleótidos pueden dar lugar a estados patológicos

Los nucleótidos de una célula se están renovando continuamente. Los nucleótidos se degradan a nucleósidos mediante hidrólisis, gracias a las nucleotidasas. La ruptura fosforolítica de los nucleósidos para generar bases libres y ribosa-1-fosfato (o desoxirribosa-1-fosfato) está catalizada por las nucleósido fosforilasas. Como ya se ha comentado, algunas de las bases son reutilizadas para formar nucleótidos mediante las rutas de recuperación. Otras se degradan a productos que serán excretados (Figura 32.12). Una insuficiencia en una enzima puede alterar estas rutas, dando lugar a un estado patológico.

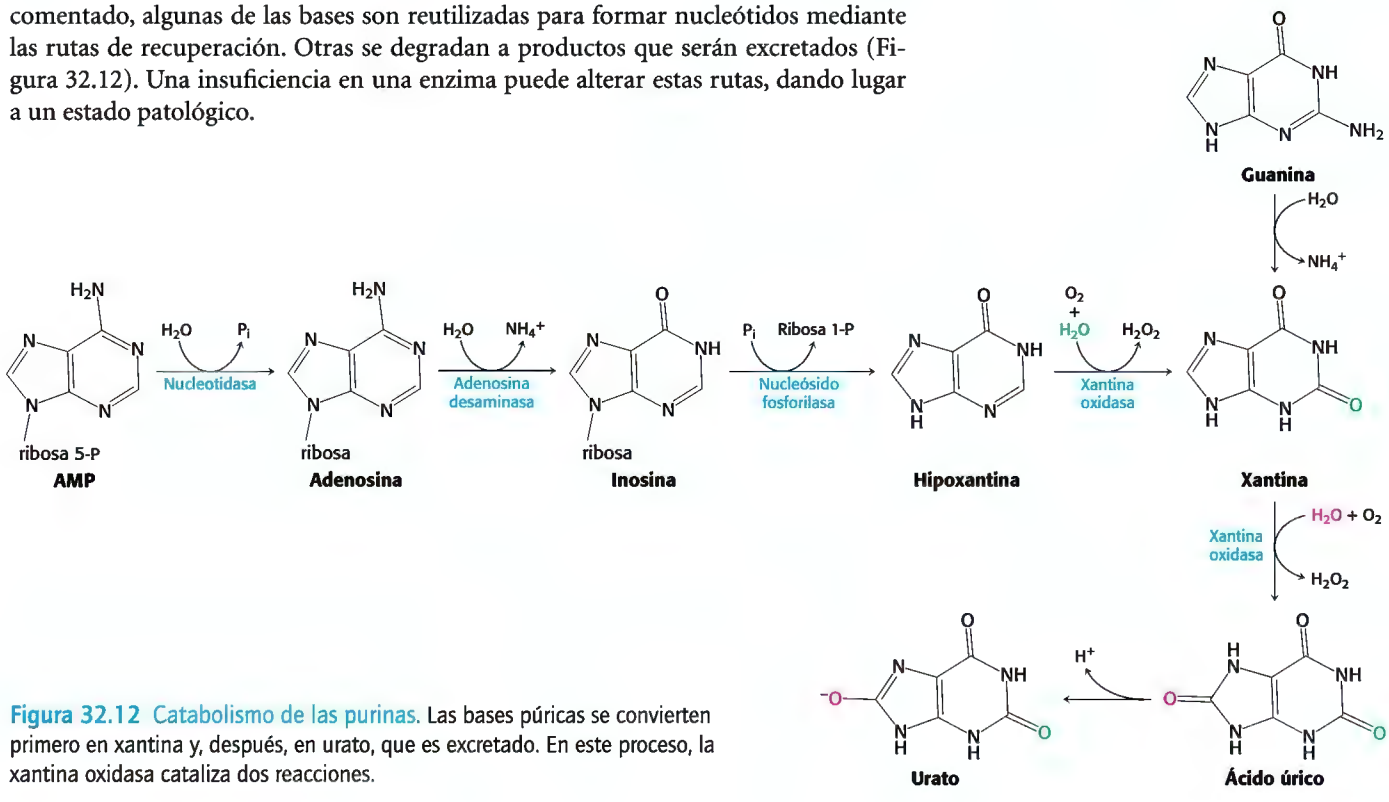


Figura 32.12 Catabolismo de las purinas. Las bases púricas se convierten primero en xantina y, después, en urato, que es excretado. En este proceso, la xantina oxidasa cataliza dos reacciones.

Aspecto clínico

La pérdida de la actividad adenosina desaminasa provoca la inmunodeficiencia combinada grave

Si la comparamos con la de otros nucleótidos, la ruta de la degradación del AMP incluye una etapa adicional. En primer lugar, se elimina el fosforilo por medio de una nucleotidasa para formar el nucleósido adenosina (ver la Figura 32.12). En la etapa adicional, la adenosina se desamina mediante la adenosina desaminasa formando inosina. Por último, se elimina la ribosa por medio de la nucleósido fosforilasa generando hipoxantina y ribosa-1-fosfato.

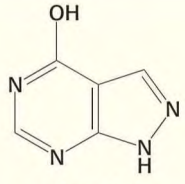
Algunas formas de la *inmunodeficiencia combinada grave* (SCID), una enfermedad inmunológica, están relacionadas con una insuficiencia en la actividad adenosina desaminasa. Las personas con este trastorno padecen graves infecciones recurrentes que, a menudo, provocan la muerte a una edad temprana. La SCID se caracteriza por una pérdida de células T, que son fundamentales para la respuesta inmunitaria. Aunque el fundamento bioquímico de la enfermedad no se ha determinado con claridad, la ausencia de adenosina desaminasa hace que los niveles de dATP aumenten hasta alcanzar valores entre 50 y 100 veces superiores a lo normal, lo que provoca la inhibición de la ribonucleótido reductasa y, en consecuencia, la síntesis de DNA. A menudo, la SCID se denomina "enfermedad del niño burbuja" porque los primeros tratamientos exigían aislar al paciente completamente del entorno. El tratamiento actual consiste en un trasplante de médula ósea. La insuficiencia de adenosina desaminasa ha sido la primera enfermedad genética que se ha tratado mediante terapia génica. ■

Aspecto clínico

Niveles elevados de urato en el suero inducen la gota

Durante la degradación del AMP se produce hipoxantina, que es oxidada por la *xantina oxidasa* primero a *xantina* y, posteriormente, a *ácido úrico*. En ambas reacciones, el oxidante es el oxígeno molecular, que se reduce a H_2O_2 que, posteriormente, se descompone en H_2O y O_2 por medio de la catalasa. A pH fisiológico, el ácido úrico pierde un protón dando lugar a *urato* (ver la Figura 32.12). *En los seres humanos, el urato es el producto final de la degradación de las purinas y se excreta por la orina.*

Niveles elevados de urato en el suero (hiperuricemia) provocan la *gota*, una dolorosa enfermedad de las articulaciones. En esta enfermedad, la sal sódica del urato cristaliza en el fluido y en el revestimiento de las articulaciones (**Figura 32.13**). Con frecuencia, el urato sódico se acumula en la pequeña articulación de la base del dedo gordo del pie, aunque también se acumula en otras articulaciones. Cuando las células del sistema inmunitario engullen los cristales de urato sódico, se produce una dolorosa inflamación. Los riñones también pueden resultar dañados por la precipitación de cristales de urato. La gota es un problema médico frecuente que afecta al 1% de la población de los países occidentales. Es nueve veces más frecuente en hombres que en mujeres.



Alopurinol

Uno de los tratamientos contra la gota consiste en la administración de *alopurinol*, un análogo de la hipoxantina. El mecanismo de acción del alopurinol es interesante: primero actúa como un sustrato y, posteriormente, como un inhibidor de la xantina oxidasa. La oxidasa hidroxila el alopurinol para formar *aloxantina* (oxipurinol) que, a continuación, permanece fuertemente unida al centro activo. Vemos aquí otro ejemplo de *inhibición suicida*.

La síntesis de urato a partir de hipoxantina y xantina disminuye poco después de la administración de alopurinol. Las concentraciones de hipoxantina y de xantina en el suero aumentan, mientras que la de urato diminuye.

En los seres humanos, los niveles medios de urato en el suero están muy próximos a su límite de solubilidad y son más elevados que los observados en otros primates. ¿Cuál es la ventaja selectiva de un nivel de urato tan elevado que sitúa a mucha gente al borde de un ataque de gota? Resulta que el urato provoca un efecto notablemente beneficioso: es muy eficaz a la hora de neutralizar especies reactivas del oxígeno. De hecho, el urato es un antioxidante casi tan eficaz como el ascorbato (vitamina C). El elevado nivel de urato en los seres humanos puede hacer que disminuya la incidencia



(A)



(B)

Figura 32.13 Gota. (A) La gota, "la reina de las enfermedades y la enfermedad de los reyes", era una enfermedad ya conocida en la Antigüedad. Se creía que la gota se debía al exceso de comida y bebida, algo que solo se podían permitir los ricos. El dolor de su pierna inflamada hace que el corpulento músico se sienta como si le estuviese torturando el mismo diablo. (B) Micrografía de cristales de urato sódico. La acumulación de estos cristales provoca daños en las articulaciones y en los riñones. [(A) El grabado a color procede de la Granger Collection, New York / The Granger Collection. La cita se ha extraído de R. L. Wortmann, Gout and hyperuricemia. En *Kelly's Textbook of Rheumatology*, 8.ª ed., G. S. Firestein, Ed. (Saunders Elsevier, 2008), pp. 1481-1524. (B) Lester V. Bergman/Corbis.]

del cáncer y, si lo comparamos con el de otros primates, puede contribuir de forma significativa a la mayor esperanza de vida de los humanos. ■

Aspecto clínico

El síndrome de Lesch-Nyhan es una dramática consecuencia de las mutaciones en una enzima de las rutas de recuperación

Las mutaciones en los genes que codifican enzimas de la biosíntesis de nucleótidos pueden reducir los niveles de los nucleótidos necesarios y pueden provocar la acumulación de intermediarios. Una ausencia prácticamente total de la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa, una enzima de la ruta de recuperación de guanilato e inosinato (p. 562), provoca inesperadas y devastadoras consecuencias. La manifestación más sorprendente de este defecto congénito del metabolismo, denominado *síndrome de Lesch-Nyhan*, es un *comportamiento autodestructivo compulsivo*. A la edad de 2 ó 3 años, los niños que presentan esta enfermedad empiezan a morderse los dedos y los labios y, si nadie se lo impide, pueden llegar a arrancárselos. Estos niños también se comportan de forma agresiva con otros niños. Otras características del síndrome de Lesch-Nyhan son el retraso mental y la espasticidad. Los elevados niveles de urato en el suero provocan la formación de piedras en el riñón durante la infancia y, algunos años después, aparecen los síntomas de la gota. La enfermedad se hereda como un trastorno recesivo ligado al cromosoma X y afecta principalmente a los varones.

Las consecuencias bioquímicas de la práctica ausencia de hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa son *una elevada concentración de PRPP, un notable aumento en la velocidad de biosíntesis de purinas mediante las rutas de novo y una producción excesiva de urato*. La relación entre la ausencia de la transferasa y los extraños síntomas neurológicos es un misterio, aunque evidencias recientes sugieren que la carencia de hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa provoca, mediante mecanismos aún no determinados, un desequilibrio en las concentraciones de neurotransmisores clave. El síndrome de Lesch-Nyhan demuestra que las rutas de recuperación para la síntesis de IMP y de GMP no son un capricho. Además, el síndrome de Lesch-Nyhan pone de manifiesto que *la ausencia de una sola enzima puede originar comportamientos anormales como la automutilación y la agresividad extrema*. Sin duda, el esclarecimiento de las bases moleculares de estos trastornos mentales beneficiará a la psiquiatría. ■

Aspecto clínico

La insuficiencia de ácido fólico provoca defectos al nacer, como la espina bífida

La *espina bífida* es un tipo de defecto congénito que se caracteriza por una formación incompleta o defectuosa del tubo neural durante las primeras etapas del desarrollo. En los Estados Unidos, la incidencia de los *defectos del tubo neural* es, aproximadamente, de uno por cada 1.000 nacimientos. Diversos estudios han demostrado que, si las mu-

jeres ingieren ácido fólico como suplemento dietético antes del embarazo y durante el primer trimestre de gestación, la incidencia de los defectos del tubo neural se reduce hasta en un 70%. Una de las hipótesis que explica este hecho es que, cuando aumenta la frecuencia de las divisiones celulares y se tienen que sintetizar cantidades considerables de DNA, se necesitan más derivados del folato para la síntesis de los precursores del DNA. ■

Resumen

32.1 Panorámica general de la biosíntesis de nucleótidos y su nomenclatura

En las rutas *de novo*, los nucleótidos se pueden sintetizar exclusivamente a partir de pequeñas moléculas precursoras mediante una serie de reacciones. Alternativamente, en las rutas de recuperación se pueden reciclar bases intactas para unirlas a la ribosa activada. Un nucleósido consta de una base unida a un azúcar ribosa o desoxirribosa, mientras que un nucleótido es un éster fosfato de un nucleósido.

32.2 Una vez ensamblado el anillo de pirimidina, se une al azúcar ribosa

Para formar un nucleótido de pirimidina, primero se forma el anillo de pirimidina y, después, se une a la ribosa fosfato. El 5-fosforribosil-1-pirofosfato es el donador de la unidad ribosa fosfato. La síntesis del anillo de pirimidina comienza con la formación de carbamilaspartato a partir de carbamilfosfato y aspartato, una reacción catalizada por la aspartato transcarbamilasa. Una deshidratación, la formación de un anillo y una oxidación dan lugar al orotato, que reacciona con PRPP formando orotidilato. La descarboxilación de este nucleótido de pirimidina genera UMP. A continuación, la aminación del UTP da lugar al CTP.

32.3 El anillo de purina se ensambla sobre la ribosa fosfato

El anillo de purina se ensambla a partir de diversos precursores: glutamina, glicina, aspartato, N^{10}-formiltetrahidrofolato y CO_2. El paso comprometido de la síntesis *de novo* de los nucleótidos de purina es la formación de 5-fosforribosilamina a partir de PRPP y glutamina. El anillo de purina se ensambla sobre la ribosa fosfato, a diferencia de la adición de ribosa a un anillo de pirimidina ya formado. La adición de glicina, seguida de una formilación, una aminación y la formación de un anillo, generan el 5-aminoimidazol ribonucleótido. Este intermediario contiene el anillo completo de cinco átomos que forma parte del esqueleto de purina. La adición de CO_2, del átomo de nitrógeno del aspartato y de un grupo formilo, seguida del cierre del anillo, generan inosinato, un ribonucleótido de purina. El AMP y el GMP se forman a partir del IMP. Los ribonucleótidos de purina también se pueden sintetizar mediante una ruta de recuperación en la que una base ya formada reacciona directamente con el PRPP.

32.4 Los ribonucleótidos se reducen a desoxirribonucleótidos

Los desoxirribonucleótidos, los precursores del DNA, se forman mediante la reducción de ribonucléosidos difosfato. Estas conversiones están catalizadas por la ribonucleótido reductasa. La tiorredoxina transfiere electrones desde el NADPH a los grupos sulfhidrilo de los centros activos de esta enzima. El TMP se forma por la metilación del dUMP. En esta reacción, el donador de un grupo metileno y de un hidruro es el N^5,N^{10}-metilentetrahidrofolato, que se convierte en dihidrofolato. El tetrahidrofolato se regenera mediante la reducción del dihidrofolato por el NADPH. La dihidrofolato reductasa, que cataliza esta reacción, se inhibe por análogos del folato como la aminopterina y el metotrexato. Estos compuestos, junto con el fluorouracilo, un inhibidor de la timidilato sintasa, se utilizan como fármacos anticancerosos.

32.5 La biosíntesis de nucleótidos se regula mediante retroinhibición

En *E. coli*, la biosíntesis de pirimidina se regula mediante la retroinhibición de la aspartato transcarbamilasa, la enzima que cataliza el paso comprometido. El CTP inhibe esta enzima, mientras que el ATP la estimula. La retroinhibición de la glutamina-PRPP amidotransferasa por nucleótidos de purina es importante a la hora de regular su biosíntesis.

32.6 Alteraciones en el metabolismo de los nucleótidos pueden dar lugar a estados patológicos

En los seres humanos, las purinas se degradan a urato. La incapacidad para desaminar la adenosina provoca la inmunodeficiencia combinada grave. La gota, una enfermedad que afecta a las articulaciones y que provoca artritis, está relacionada con una acumulación excesiva de urato. El síndrome de Lesch-Nyhan, una enfermedad genética que se caracteriza por automutilaciones, retraso mental y gota, se debe a una insuficiencia de hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa. Esta enzima es esencial para la síntesis de nucleótidos de purina a través de las rutas de recuperación. Los defectos en el tubo neural son más frecuentes cuando una mujer embarazada presenta insuficiencia de derivados del folato durante los primeros meses de gestación, lo que, probablemente, se debe al importante papel que desempeñan estos derivados en la síntesis de precursores del DNA.

Términos clave

nucleósido (p. 557)
nucleótido (p. 557)
nucleótido de pirimidina (p. 557)
carbamilfosfato sintetasa (CPS) (p. 557)
5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP) (p. 558)
orotidilato (p. 558)
purina (p. 560)
inosinato (p. 560)
hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (HGPRT) (p. 563)
ribonucleótido reductasa (p. 563)
timidilato sintasa (p. 564)
dihidrofolato reductasa (p. 564)
inmunodeficiencia combinada grave (SCID) (p. 568)
gota (p. 568)
síndrome de Lesch-Nyhan (p. 569)
espina bífida (p. 569)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Bicarbonato, amoniaco y aspartato. Ver la Figura 32.3.

2. Dióxido de carbono, aspartato, glutamina, N^{10}-formiltetrahidrofolato, glicina. Ver la Figura 32.4.

Problemas

1. *Desde el principio, o extraer, ahorrar y reutilizar.* ¿Qué diferencias hay entre la síntesis *de novo* de los nucleótidos y la síntesis mediante rutas de recuperación? ✓ 5

2. *Ribosa fosfato activada.* Escriba una reacción ajustada para la síntesis de PRPP a partir de glucosa a través de la rama oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato.

3. *Fabricando una pirimidina.* Escriba una reacción ajustada para la síntesis de orotato a partir de glutamina, CO_2 y aspartato. ✓ 5

4. *Identificando el donador.* ¿Cuál es el reactante activado durante la biosíntesis de cada uno de los siguientes compuestos? ✓ 5

(a) Fosforribosilamina
(b) Carbamilaspartato
(c) Orotidilato (a partir de orotato)

5. *Una "s" en lugar de una "t".* ¿Qué diferencias hay entre un nucleósido y un nucleótido?

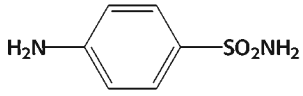
6. *Asócielos.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 5

(a) Exceso de urato _____
(b) Ausencia de adenosina desaminasa _____
(c) Ausencia de HGPRT _____
(d) Carbamilfosfato sintetasa _____
(e) Inosinato _____
(f) Ribonucleótido reductasa _____
(g) Ausencia de ácido fólico _____
(h) Glutamina fosforribosiltransferasa _____
(i) Un solo anillo _____
(j) Anillo bicíclico _____
(k) Precursor del CTP_____

1. Espina bífida
2. Precursor del ATP y del GTP
3. Purina
4. Síntesis de desoxinucleótidos
5. UTP
6. Síndrome de Lesch-Nyhan
7. Inmunodeficiencia
8. Pirimidina
9. Gota
10. Primera etapa de la síntesis de pirimidinas
11. Paso comprometido de la síntesis de purinas

7. *El precio de la metilación.* Escriba una reacción ajustada para la síntesis de TMP a partir de dUMP que esté acoplada a la conversión de serina en glicina.

8. *Acción de las sulfamidas.* La sulfanilamida y otras sulfamidas parecidas inhiben el crecimiento bacteriano, a la vez que se produce una acumulación de 5-aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleótido. La adición de *p*-aminobenzoato revierte esta inhibición.



Sulfanilamida

Proponga un mecanismo para el efecto inhibidor de la sulfanilamida.

9. *Un donador generoso.* ¿Qué importantes reacciones biosintéticas utilizan PRPP?

10. *Alcanzando el equilibrio.* ¿Cuál es la relación recíproca entre sustratos que tiene lugar durante la síntesis de ATP y de GTP? ✓ 6

11. *Siga el rastro del ATP.* ¿Cuántas moléculas de ATP se necesitan para sintetizar una molécula de CTP partiendo de cero?

12. *Encuentre el marcaje.* Supongamos que se cultivan células en presencia de aminoácidos cuyos átomos de carbono α han sido marcados con ^{13}C. Identifique los átomos de la citosina y de la guanina que estarán marcados con ^{13}C. ✓ 5

13. *Siga el rastro de los carbonos.* Se incubaron las células de un cultivo tisular con glutamina marcada con ^{15}N en el grupo amida. Posteriormente, se purificó el IMP y se observó que contenía algunos átomos de ^{15}N. ¿Qué átomos del IMP estaban marcados? ✓ 5

14. *Bloqueos.* Si una cepa bacteriana carece de los siguientes compuestos bioquímicos, ¿cuál es el intermediario de la síntesis de purina que se acumulará en cada caso? ✓ 5

(a) Aspartato
(b) Tetrahidrofolato
(c) Glicina
(d) Glutamina

15. *Mecanismo de acción.* ¿Cuál es el fundamento bioquímico del tratamiento de la gota con alopurinol? ✓ 6

16. *Terapia complementaria.* En algunos casos, a los pacientes con leucemia aguda que están siendo tratados con fármacos anticancerosos se les administra alopurinol. ¿Por qué se utiliza el alopurinol? ✓ 6

17. *Insuficiencia de folato.* Suponga que alguien padece una insuficiencia de folato. En su opinión, ¿cuáles serían las células más afectadas? Los síntomas pueden incluir diarrea y anemia.

18. *Corrigiendo insuficiencias.* Suponga que se encuentra una persona con insuficiencia de una de las enzimas necesarias para la síntesis de IMP. ¿Cómo habría que tratar a esa persona?

19. *Nitrógeno marcado.* Se lleva a cabo la biosíntesis de purinas en presencia de [^{15}N]-aspartato y se purifica el GTP y el ATP recién formados. ¿Qué posiciones aparecerán marcadas en los dos nucleótidos? ✓ 5

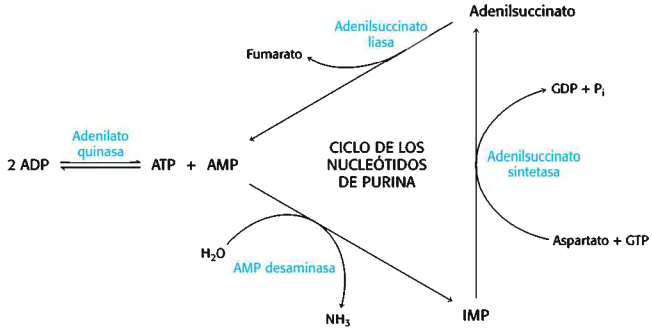
20. *Suministros necesarios.* ¿Por qué las células cancerosas son especialmente sensibles a los inhibidores de la síntesis de TMP? ✓ 6

Problemas de integración de capítulos

21. *¡Están en todas partes!* Los nucleótidos desempeñan diversas funciones en la célula. Dé un ejemplo de un nucleótido que participe en cada una de las funciones o procesos siguientes:

(a) Segundo mensajero
(b) Transferencia de grupos fosforilo
(c) Activación de carbohidratos
(d) Activación de grupos acetilo
(e) Transferencia de electrones
(f) Quimioterapia
(g) Efector alostérico

22. *Ejercitando el músculo.* En el tejido muscular tienen lugar algunas reacciones interesantes que facilitan la generación de ATP para la contracción. ✓ 6



Durante la contracción muscular, el ATP se convierte en ADP. La adenilato quinasa convierte dos moléculas de ADP en una molécula de ATP y otra de AMP.

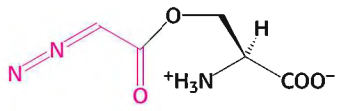
(a) ¿Por qué esta reacción resulta beneficiosa para el músculo que se contrae?
(b) ¿Por qué la constante de equilibrio para la adenilato quinasa es aproximadamente igual a 1?
El músculo puede metabolizar AMP utilizando el ciclo de los nucleótidos de purina. la reacción inicial de este ciclo, catalizada por la AMP desaminasa, consiste en la conversión de AMP en IMP.
(c) ¿Cómo podría la desaminación del AMP facilitar la formación del ATP en el músculo?
(d) ¿Cómo puede el ciclo de los nucleótidos de purina contribuir a la generación aeróbica de ATP?

23. *Estilos distintos.* Los seres humanos tienen dos enzimas carbamilfosfato sintetasa distintas. Una utiliza como sustrato el glutamato, mientras que la otra utiliza amoniaco. ¿Cuáles son las funciones de estas dos enzimas?

24. *Su pato mascota.* Usted sospecha que su pato mascota tiene gota. ¿Por qué se lo tendría que pensar dos veces antes de administrarle una dosis de alopurinol camuflada en el pan?

Problemas para atrevidos

25. *Inhibiendo la biosíntesis de purinas.* Las amidotransferasas se inhiben por el antibiótico y agente antitumoral azaserina (*O*-diazoacetil-L-serina), que es un análogo de la glutamina. ✓ 5



Azaserina

En células tratadas con azaserina, ¿qué intermediarios de la biosíntesis de purinas se acumularían?

26. *El medio HAT.* Las células mutantes incapaces de sintetizar nucleótidos mediante las rutas de recuperación son herramientas muy útiles en biología molecular y celular. Suponga que la célula A carece de la timidina quinasa, la enzima que cataliza la fosforilación de timidina a timidilato, y que la célula B carece de hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa.

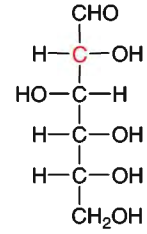
(a) Las células A y B no proliferan en un medio HAT, que contiene *h*ipoxantina, *a*minopterina o *a*metopterina (metotrexato) y *t*imina. Sin embargo, la célula C, formada mediante la fusión de las células A y B sí crece en este medio. ¿Por qué?

(b) Suponga que se quieren introducir genes foráneos en la célula A. Diseñe un sencillo método que le permita distinguir las células que han captado el DNA foráneo de las que no. ✓ 5

27. *Hiperuricemia.* Muchos pacientes con insuficiencia de glucosa-6-fosfatasa presentan niveles elevados de urato en el suero. La hiperuricemia se puede inducir en personas normales mediante la ingestión de alcohol o mediante un ejercicio extenuante. Proponga un mecanismo común que explique estas observaciones.

28. *Carbono marcado.* Se añade succinato marcado uniformemente con ^{14}C a células que están participando activamente en la biosíntesis de pirimidinas. Proponga un mecanismo mediante el cual, los átomos de carbono del succinato se puedan incorporar a la pirimidina. ¿En qué posiciones estará marcada la pirimidina? ✓ 5

29. *Aquí pasa algo raro.* Se incubaron células con glucosa marcada con ^{14}C en el carbono 2, mostrado en rojo en la figura inferior. Después, se purificó el uracilo y se observó que contenía ^{14}C en los carbonos 4 y 6. Explique este patrón de marcaje. ✓ 5



En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.



Capítulo 33: Estructura de las macromoléculas que contienen información: DNA y RNA



Capítulo 34: Replicación del DNA



Capítulo 35: Reparación y recombinación del DNA

SECCIÓN **14**

Estructura de los ácidos nucleicos y replicación del DNA

Hasta ahora, en nuestro estudio de la bioquímica, nos hemos centrado en la extracción de energía a partir de combustibles y en el almacenamiento de la energía para su uso posterior. Hemos analizado el metabolismo de muchas moléculas pequeñas, entre las que se incluyen carbohidratos, aminoácidos y nucleótidos. En esta sección y en las siguientes, estudiaremos cómo se utilizan la energía y las moléculas pequeñas para construir las macromoléculas de la bioquímica. Los ácidos nucleicos —DNA y RNA— son las moléculas de la célula que contienen información. El DNA es la información genética estable que se transmite de una generación a la siguiente, mientras que el RNA, una copia biológicamente accesible del DNA, es una copia transitoria de esta información. La información contenida en los ácidos nucleicos se representa mediante una secuencia de tan solo cuatro letras: A, G, C y T en el caso del DNA; y A, G, C y U en el caso del RNA. La disposición de estas cuatro letras en secuencias de diversa longitud proporciona los planos de construcción para cualquier organismo vivo en la Tierra.

Para conservar la información codificada en el DNA durante muchas divisiones celulares y evitar la introducción de mutaciones, la copia de la información genética tiene que ser extremadamente precisa: se necesita una tasa de error de menos de un par de bases (pb) por cada 3×10^9 pb. Esta extraordinaria precisión se consigue mediante un sistema multinivel que consta de una síntesis precisa del DNA, la corrección de errores durante la síntesis del DNA y la reparación posterior a la replicación.

Incluso después de haber replicado el DNA, el genoma todavía no está a salvo. Diversos elementos ambientales pueden dañar el DNA introduciendo cambios en la

secuencia (mutaciones), o provocar lesiones que puedan bloquear la replicación del DNA. Todos los organismos disponen de sistemas de reparación del DNA que detectan los daños y actúan para mantener la secuencia original. Las mutaciones en los genes que codifican componentes de los sistemas de reparación del DNA son factores decisivos en el desarrollo del cáncer.

Comenzaremos nuestro estudio de los ácidos nucleicos centrando nuestra atención en la estructura. Es especialmente digna de mención la estructura en forma de doble hélice del DNA y cómo esta estructura facilita la transferencia de información genética de una generación a la siguiente. Tras este estudio estructural, emprenderemos el estudio de los mecanismos de replicación y reparación del DNA.

✓ Al final de esta sección, usted debería ser capaz de:

✓ 1 Enumerar los componentes de los ácidos nucleicos.

✓ 2 Describir cómo se empaqueta el DNA para que pueda caber dentro de la célula.

✓ 3 Identificar las enzimas que intervienen en el proceso de replicación del DNA.

✓ 4 Describir cómo se organiza la replicación y distinguir entra la replicación eucariótica y la replicación bacteriana.

✓ 5 Explicar los mecanismos que garantizan la fidelidad de la replicación del DNA.

CAPÍTULO 33

Estructura de las macromoléculas que contienen información: DNA y RNA

33.1 Un ácido nucleico está formado por bases unidas a un esqueleto azúcar-fosfato

33.2 Las hebras de los ácidos nucleicos pueden formar una estructura de doble hélice

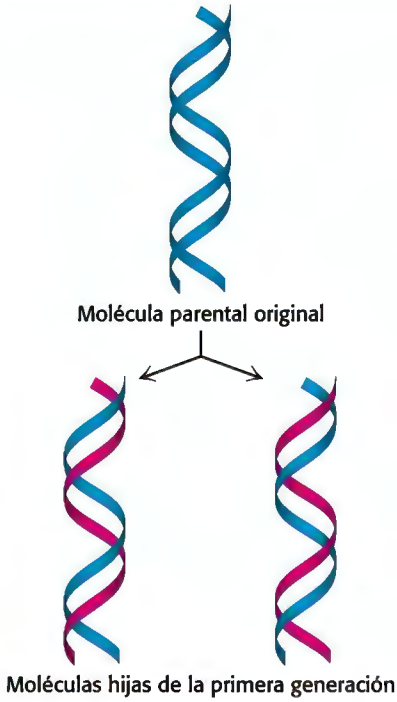
33.3 Las dobles hélices del DNA pueden adoptar múltiples formas

33.4 El DNA eucariótico está asociado a proteínas específicas

33.5 El RNA puede adoptar estructuras complejas



Para la mayoría de los seres vivos, el DNA es la molécula hereditaria. El interés mutuo mostrado por Jane Goodall y el chimpancé refleja el parentesco entre primates. De hecho, este parentesco se extiende hasta la secuencia del DNA. Los chimpancés y los seres humanos comparten casi el 99% de su material genético. [Kennan Ward/Corbis.]



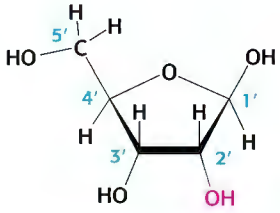
En la década de 1950, se conocía la composición del DNA. Los científicos sabían que se compone de cuatro bases —A, T, G y C— y que la proporción entre adenina (A) y timina (T) y entre guanina (G) y citosina (C) siempre es uno. Sin embargo, la estructura real de la molécula de DNA era un misterio. El esclarecimiento de la estructura del DNA constituye uno de los hallazgos clave en la historia de las ciencias biológicas. Quizás el aspecto más fascinante de la estructura del DNA deducida por James Watson y Francis Crick en 1953 fue que, según sus propias palabras, "el emparejamiento específico que hemos postulado sugiere inmediatamente un posible mecanismo de copia para el material genético". Una *doble hélice* separada en dos hebras sencillas se puede replicar porque cada hebra sirve de molde sobre el que poder ensamblar su hebra complementaria (Figura 33.1). En este capítulo, analizaremos la estructura del DNA y cómo se empaqueta en el interior de la célula.

Figura 33.1 Replicación del DNA. Cada hebra de una doble hélice (mostrada en color azul) actúa como molde para la síntesis de una nueva hebra complementaria (mostrada en color rojo).

✓ 1 Enumerar los componentes de los ácidos nucleicos.

33.1 Un ácido nucleico está formado por bases unidas a un esqueleto azúcar-fosfato

Gracias a sus estructuras, los ácidos nucleicos DNA y RNA son muy apropiados para desempeñar la función de portadores de la información genética. Estas macromoléculas son *polímeros lineales* formados a partir de unidades similares enlazadas por sus extremos (Figura 33.2). Cada unidad monomérica del polímero consta de tres componentes: un azúcar, un fosfato y una base. *Es la secuencia de bases la que caracteriza de forma exclusiva a un ácido nucleico y la que representa una forma de información lineal.*



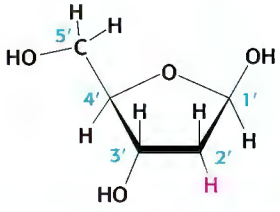


Figura 33.3 Ribosa y desoxirribosa. Los átomos de las unidades de azúcar se numeran con apóstrofos para distinguirlos de los átomos de las bases.

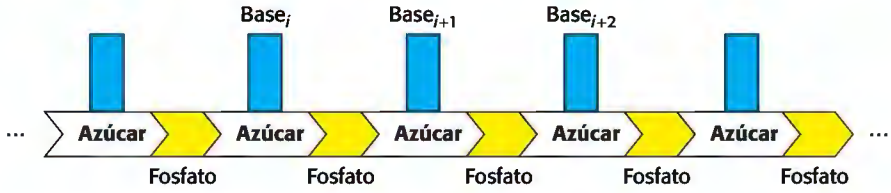


Figura 33.2 Estructura polimérica de los ácidos nucleicos.

El DNA y el RNA se diferencian en el azúcar que contienen y en una de las bases

En el *ácido desoxirribonucleico* (DNA) el azúcar es la *desoxirribosa*. El prefijo desoxi indica que el átomo de carbono en la posición 2′ del azúcar carece del átomo de oxígeno que se encuentra unido al átomo de carbono en posición 2′ de la *ribosa* (el azúcar presente en el ácido ribonucleico o RNA), tal y como se muestra en la Figura 33.3. En los ácidos nucleicos, los azúcares se unen entre sí mediante puentes fosfodiéster. Concretamente, el grupo hidroxilo en posición 3′ (3′-OH) del azúcar que forma parte de un nucleótido se encuentra unido a un grupo fosforilo que, a su vez, está unido al grupo hidroxilo en posición 5′ del azúcar adyacente, formando un puente fosfodiés-

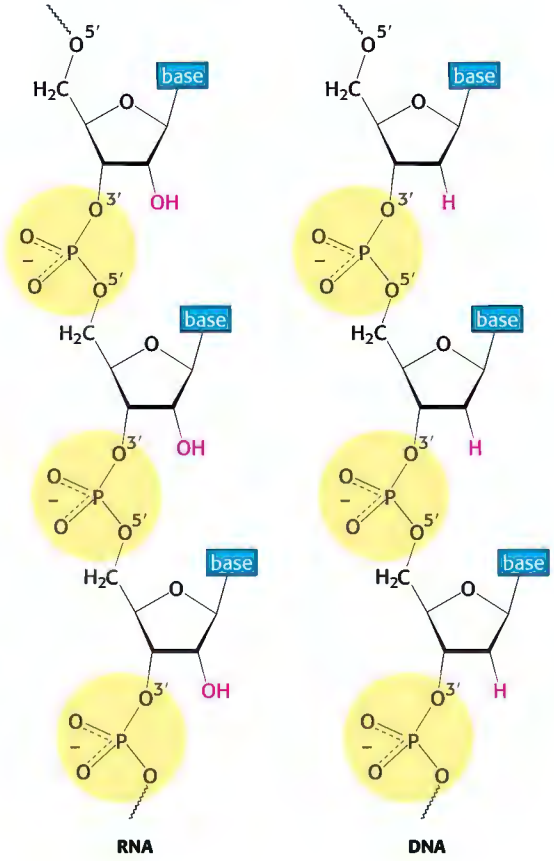


Figura 33.4 Esqueletos del DNA y del RNA. Los esqueletos de los ácidos nucleicos están formados por enlaces 3′ → 5′ fosfodiéster. La diferencia en el azúcar que forma parte del RNA y del DNA se resalta en color rojo.

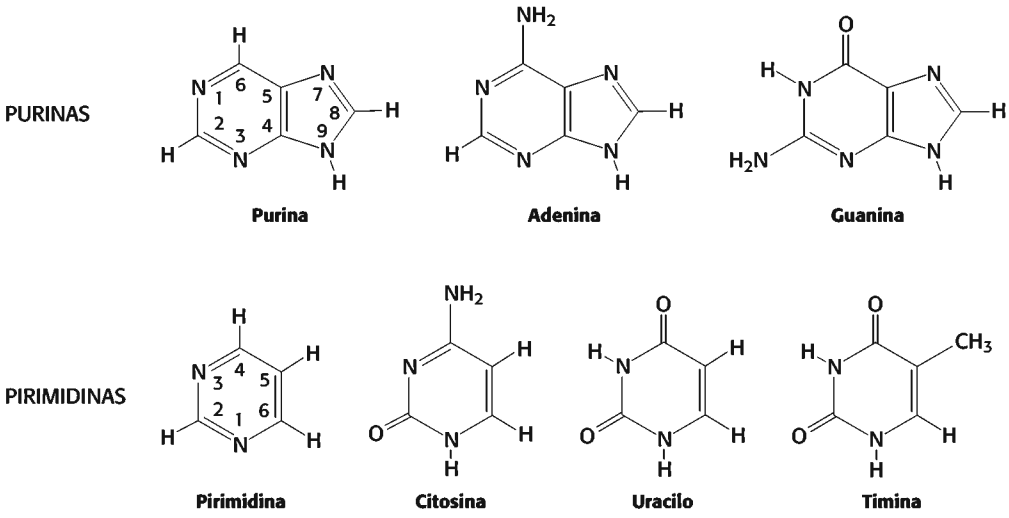


Figura 33.5 Purinas y pirimidinas. Los átomos de las bases se numeran sin apóstrofo. El RNA contiene uracilo en vez de timina.

ter. La cadena de azúcares enlazadas mediante puentes fosfodiéster se conoce como el *esqueleto* del ácido nucleico (Figura 33.4). En el DNA y en el RNA, el esqueleto es constante, pero las bases varían de un monómero a otro. Dos de las bases son derivados de la *purina* —la adenina y la guanina— y dos son derivados de la *pirimidina* —la citosina y la timina (en el caso del DNA) o el uracilo (en el caso del RNA), tal y como se muestra en la Figura 33.5. La síntesis de estas bases se estudió en el Capítulo 31.

El *ácido ribonucleico* (RNA), al igual que el DNA, es un largo polímero no ramificado que está formado por nucleótidos unidos mediante enlaces fosfodiéster 3′→5′ (ver la Figura 33.4). La estructura del RNA se diferencia de la del DNA en dos aspectos: (1) las unidades de azúcar del RNA son ribosas en lugar de desoxirribosas y (2) una de las cuatro bases mayoritarias del RNA es el uracilo en vez de la timina (ver la Figura 33.5).

Hay que señalar que, tanto en el DNA como en el RNA, cada enlace fosfodiéster del esqueleto tiene una carga negativa. Esta carga negativa repele especies nucleofílicas como los iones hidróxido, capaces de escindir hidrolíticamente las uniones fosfodiéster del esqueleto de los ácidos nucleicos. Esta resistencia es crucial para mantener la integridad de la información almacenada en los ácidos nucleicos. En el DNA, la ausencia del grupo hidroxilo en posición 2′ aumenta aún más su resistencia a la hidrólisis. En presencia de especies nucleofílicas, un grupo hidroxilo en posición 2′ hidrolizaría el enlace fosfodiéster y rompería el esqueleto del ácido nucleico. La mayor estabilidad del DNA es una de las razones por las que esta molécula, y no el RNA, se utiliza como material hereditario en todas las células modernas y en muchos virus.

Los nucleótidos son las unidades monoméricas de las ácidos nucleicos

En el Capítulo 31 estudiamos la síntesis de nucleótidos, los materiales de construcción de los ácidos nucleicos. Repasemos la nomenclatura de estas biomoléculas tan importantes. Una unidad formada por una base unida a un azúcar se denomina *nucleósido*. En el DNA, las cuatro unidades nucleósido se denominan *desoxiadenosina*, *desoxiguanosina*, *desoxicitidina* y *timidina*. Hay que destacar el hecho de que la timidina contiene desoxirribosa y, sin embargo, por convención, se omite el prefijo desoxi porque en el RNA es muy raro encontrar nucleótidos que contengan timina. En el RNA, las unidades nucleósido se denominan *adenosina*, *guanosina*, *citidina* y *uridina*. En cada caso, el N-9 de una purina o el N-1 de una pirimidina se encuentra unido al átomo de carbono en posición 1′ (C-1′) del azúcar (Figura 33.6). Al representar la estructura con la orientación estándar, la base se encuentra por encima del plano del azúcar; es decir, la configuración del enlace *N*-glicosídico es β.

Un *nucleótido* es un nucleósido unido a uno o más grupos fosforilo mediante un enlace éster, y la forma más frecuente de nombrarlos es utilizando el nombre del nucleósido e indicando el número de grupos fosforilo que contiene. Por ejemplo, un

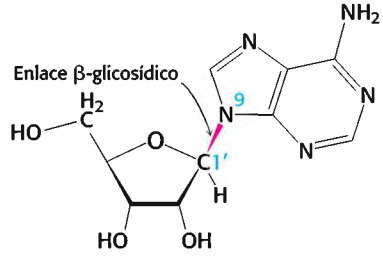


Figura 33.6 Enlace β-glicosídico en un nucleótido de purina.

nucleósido monofosfato es un nucleótido. *Los nucleósidos trifosfato son los monómeros —los materiales de construcción— que se unen para formar el RNA y el DNA*. Las cuatro unidades nucleótido que forman parte del DNA son los nucleósidos monofosfato denominados *desoxiadenilato*, *desoxiguanilato*, *desoxicitidilato* y *timidilato*.

Si el nombre de la base solo tiene el sufijo "ato", se trata de un nucleótido, pero se desconoce el número de grupos fosforilo unidos a un átomo de carbono no especificado de la ribosa. Lo habitual es utilizar una nomenclatura más precisa. Un compuesto formado por la unión de un grupo fosforilo al C-5′ del azúcar de un nucleósido (el lugar donde con más frecuencia se produce la esterificación del fosfato) se denomina *nucleósido 5′-fosfato* o *nucleótido 5′*. En este sistema de nomenclatura para los nucleótidos, se indica el número de grupos fosforilo y el lugar al que se encuentran unidos. Por ejemplo, el ATP es la *adenosina 5′-trifosfato*. Otro ejemplo de nucleótido es la desoxiguanosina 3′-monofosfato (3′-dGMP; Figura 33.7). Este nucleótido se diferencia del ATP en varios aspectos: contiene guanina en vez de adenina, desoxirribosa en lugar de ribosa (lo que se indica mediante el prefijo "d"), tiene un grupo fosforilo en vez de tres, y tiene el grupo fosforilo esterificado al grupo hidroxilo situado en posición 3′ en lugar de en posición 5′.

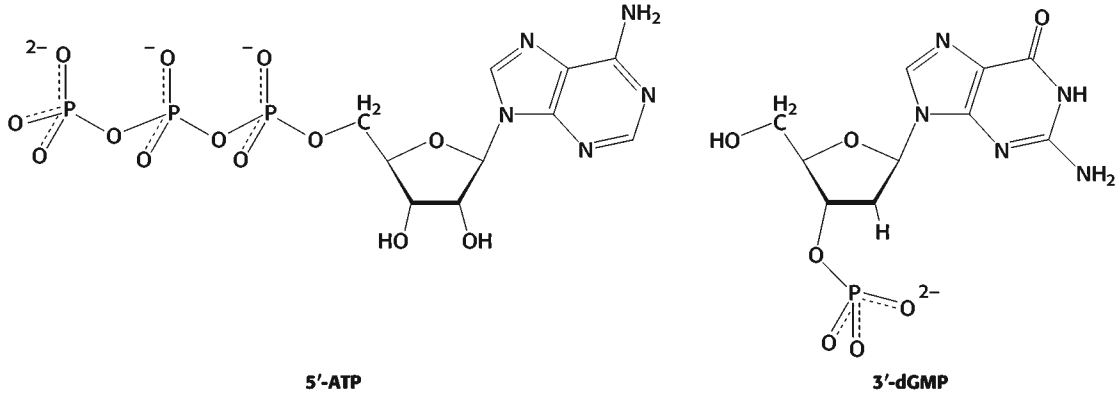


Figura 33.7 Los nucleótidos adenosina 5′-trifosfato (5′-ATP) y desoxiguanosina 3′-monofosfato (3′-dGMP).

Las moléculas de DNA son muy largas y tienen direccionalidad

A menudo, la comunicación científica requiere que se ponga por escrito la secuencia de un ácido nucleico —en algunos casos, una secuencia con una longitud de miles de nucleótidos. En vez de escribir las engorrosas estructuras químicas, los científicos han adoptado el uso de abreviaturas. Las notaciones abreviadas pApCpG, pACG o, sobre todo, ACG representan a un trinucleótido. Si se trata del DNA, el trinucleótido consta de desoxiadenilato monofosfato, desoxicitidilato monofosfato y desoxiguanilato monofosfato unidos entres sí mediante enlaces fosfodiéster, ya que la "p" representa un grupo fosforilo. Las estructuras químicas de los trinucleótidos también se abrevian, tal y como se muestra en la Figura 33.8. A menudo, el extremo 5′ tendrá un grupo fosforilo unido al grupo 5′-OH, lo que significa que *una cadena de DNA o de RNA tiene direccionalidad*. Un extremo de la cadena tiene un grupo 5′-OH libre (o un grupo 5′-OH unido a un grupo fosforilo), mientras que el otro extremo tiene un grupo 3′-OH y ninguno de los dos extremos se encuentra unido a otro nucleótido. Por convención, *la secuencia de bases se escribe en la dirección 5′→3′*. Por tanto, el símbolo ACG indica que el grupo 5′-OH, fosforilado o no, se encuentra en el desoxiadenilato (o adenilato), mientras que el grupo 3′-OH no fosforilado se encuentra en el desoxiguanilato (o guanilato). Gracias a esta direccionalidad, ACG y GCA corresponden a compuestos distintos.

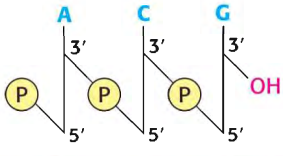


Figura 33.8 Estructura de una cadena de DNA. La cadena tiene un extremo 5′, que normalmente se encuentra unido a un grupo fosforilo, y un extremo 3′, que normalmente es un grupo hidroxilo libre.

Una característica llamativa de las moléculas de DNA presentes en la naturaleza es su longitud. Una molécula de DNA tiene que estar formada por muchos nucleótidos para albergar la información genética necesaria para incluso el más sencillo de los organismos. Por ejemplo, el DNA de un virus como el polioma, que puede provocar cáncer en determinados organismos, tiene una longitud de 5.100 nucleótidos.

El genoma de *E. coli* es una única molécula de DNA formada por dos cadenas de 4,6 millones de nucleótidos (**Figura 33.9**).

Las moléculas de DNA de los organismos superiores pueden ser mucho más grandes. El genoma humano consta de aproximadamente 3.000 millones de pares de bases distribuidas entre 24 moléculas distintas de DNA —22 autosomas más dos cromosomas sexuales (X e Y)— de diferente tamaño. Una de las moléculas de DNA más largas que se conocen se encuentra en el muntjac indio (*Muntiacus muntjak*), un ciervo asiático; su genoma es casi tan grande como el del genoma humano pero está repartido en tan solo 3 cromosomas (**Figura 33.10**). El mayor de estos cromosomas tiene cadenas de más de 1.000 millones de pares de bases. Si esta molécula tan grande de DNA se pudiese extender por completo, tendría una longitud de más de 30 cm. Algunas plantas contienen moléculas de DNA aún más grandes.

La mayoría de las células humanas contienen 6.000 millones de pares de bases de información. Si las moléculas que contienen todas estas bases se uniesen por sus extremos, tendrían una longitud de 3,6 metros. Los seres humanos están formados por, aproximadamente, 10 billones de células. Si se uniese todo su DNA por sus extremos alcanzaría una longitud equivalente a 65 veces la distancia de ida y vuelta entre la Tierra y el Sol.



Figura 33.9 Micrografía electrónica de parte del genoma de *E. coli*. Tras provocar la lisis en células de *E. coli*, el DNA puede salir al exterior. [Dr. Gopal Murti/Science Photo Library/Photo Researchers.]



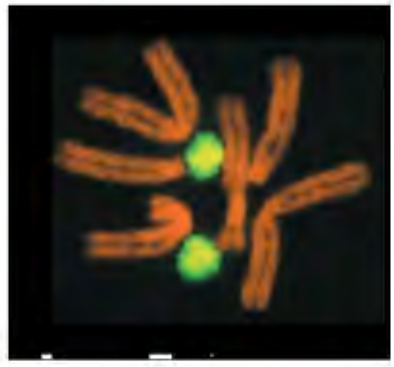


Figura 33.10 El muntjac indio y sus cromosomas. Las células de una hembra del muntjac indio (Muntiacus muntjak) contienen tres pares de cromosomas muy grandes (teñidos de color naranja en la micrografía). La célula mostrada es un híbrido que contiene un par de cromosomas humanos (teñidos de color verde) para poder compararlos. [(Izquierda) ©Hugh Lansdown/Shutterstock. (Derecha) Reproducida con el permiso de Macmillan Publishers Ltd: *Nature Genetics*, J-Y Lee, M. Koi, E.J. Stanbridge,M. Oshimura, A.T. Kumamoto, & A.P. Feinberg, Simple purification of human chromosomes to homogeneity using muntjac hybrid cells, vol. 7, p.30, ©1994.]

33.2 Las hebras de los ácidos nucleicos pueden formar una estructura de doble hélice

La estructura covalente de los ácidos nucleicos les confiere la capacidad de albergar información en forma de una secuencia de bases a lo largo de una hebra de ácido nucleico. Otras características de las estructura de los ácidos nucleicos facilitan el proceso de *replicación* —es decir, la generación de dos copias de un ácido nucleico a partir de una. La replicación del DNA es la base de la duplicación celular, del crecimiento y, en última instancia, de la reproducción. La replicación depende de la capacidad de las bases que componen los ácidos nucleicos para formar *pares de bases específicos* de manera que se adopte una estructura helicoidal compuesta por dos hebras.

La doble hélice se estabiliza mediante puentes de hidrógeno y el efecto hidrofóbico

El descubrimiento de la doble hélice del DNA se ha descrito en multitud de artículos, libros e, incluso, en una película. James Watson y Francis Crick, utilizando datos obtenidos por Maurice Wilkins y Rosalind Franklin y sencillos modelos moleculares, dedujeron un modelo estructural para el DNA que ha permitido esclarecer algunas de las extraordinarias características funcionales de los ácidos nucleicos (**Figura 33.11**).

Las características del modelo del DNA de Watson y Crick son:

1. Dos hebras helicoidales de polinucleótido se enrollan en torno a un mismo eje, formando una doble hélice dextrógira. Las hebras están orientadas en direcciones opuestas; es decir, tienen distinta direccionalidad. Una hebra está orientada en la dirección 5′→3′ y se empareja con la otra hebra, que está orientada en la dirección 3′→5′.

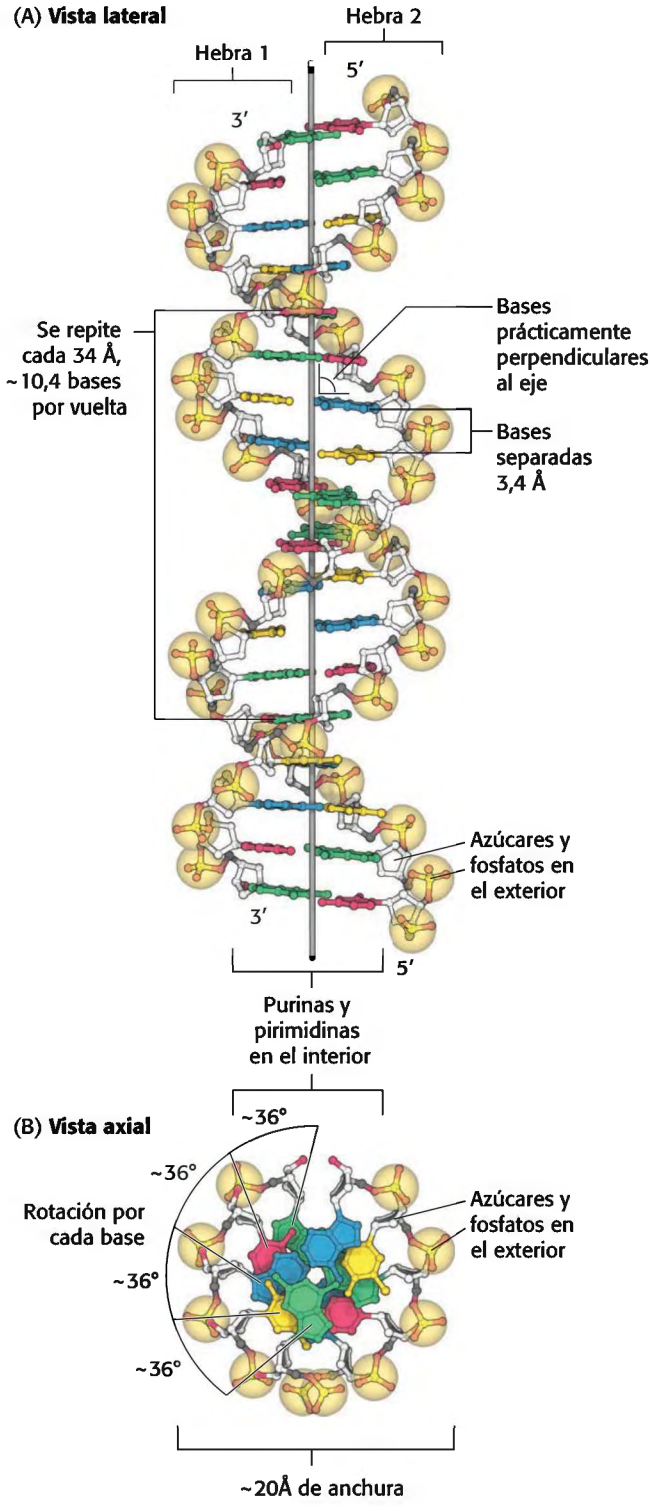


Figura 33.11 La representación esquemática de la doble hélice refleja las propiedades de la hélice. (A) Vista lateral. La separación entre bases adyacentes es de 3,4 Å. La estructura se repite a lo largo del eje de la hélice (vertical) a intervalos de 34 Å, lo que corresponde a 10 nucleótidos de cada hebra. (B) La vista axial, a lo largo del eje de la hélice, muestra una rotación de aproximadamente 36° por base y permite observar cómo se apilan las bases una encima de la otra. [Elaborada por Adam Steinberg.]

2. Los esqueletos azúcar-fosfato se disponen en la parte externa de la hélice, de manera que las bases púricas y pirimidínicas se encuentran en el interior.
3. Las bases se disponen de manera prácticamente perpendicular al eje de la hélice y las bases adyacentes se encuentran separadas por una distancia de, aproximadamente, 3,4 Å. La estructura helicoidal se repite más o menos cada 34 Å, de modo que cada vuelta de la hélice corresponde a unas 10,4 bases. Hay una rotación de casi 36 grados por cada base (360 grados por cada vuelta completa/10,4 bases por vuelta).
4. El diámetro de la hélice es de unos 20 Å.

¿Cómo es capaz este tipo de estructura regular de acomodar una secuencia arbitraria de bases, teniendo en cuenta las diferencia en tamaño y forma que hay entre las purinas y las pirimidinas? Esta cuestión se puede resolver limitando el número de combinaciones

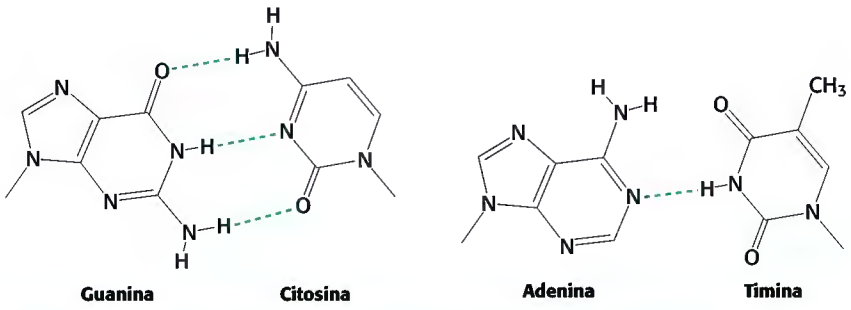


Figura 33.12 Estructuras de los pares de bases propuestos por Watson y Crick.

en que se pueden emparejar las bases de hebras opuestas —la A con la T y la C con la G. Cuando la guanina se empareja con la citosina y la adenina con la timina para formar pares de bases, estas parejas tienen prácticamente la misma forma (**Figura 33.12**). Estos pares de bases, a menudo denominados pares de bases de tipo Watson-Crick, se mantienen unidos mediante puentes de hidrógeno. Estas reglas en el emparejamiento de las bases implican que, *si se conoce la secuencia de una de las hebras, la secuencia de la otra queda perfectamente definida*. Más adelante y en el Capítulo 34 veremos las repercusiones de este hecho. El emparejamiento de las bases también ayuda a estabilizar la doble hélice.

La disposición de las bases, apilándose una enzima de la otra, también contribuye a la estabilidad de la doble hélice, y lo hace de dos formas (**Figura 33.13**). En primer lugar, la doble hélice se estabiliza mediante el efecto hidrofóbico (p. 22): las interacciones hidrofóbicas entre las bases las llevan a recluirse en el interior de la hélice, de manera que las superficies más polares queden expuestas al agua circundante. Esta disposición nos recuerda al plegamiento de las proteínas, con los aminoácidos hidrofóbicos ocupando el interior de la proteína y los aminoácidos hidrofílicos dispuestos en el exterior (p. 56). Además, las bases adyacentes se atraen entre sí mediante fuerza de van der Waals (p. 21), un fenómeno conocido como *apilamiento de las bases*. Las energías asociadas a las interacciones de van der Waals son bastante pequeñas, ya que una interacción de este tipo aporta normalmente entre 2 y 4 kJ mol^{-1} (entre 0,5 y 1,0 kcal mol^{-1}) por cada pareja de átomos. Sin embargo, en la doble hélice, hay un gran número de átomos implicados en contactos de van der Waals y el efecto neto, la suma de todas esas parejas de átomos, es considerable. Como ya se ha indicado, la secuencia de bases determina la información contenida en los ácidos nucleicos. Hay que destacar el hecho de que, en el DNA, esta información está guardada en el relativamente seguro interior de la doble hélice.

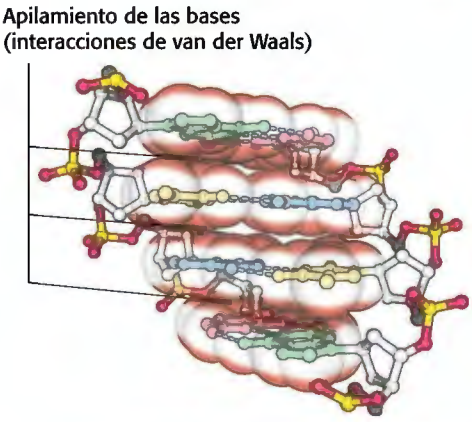


Figura 33.13 Vista lateral del DNA. En la doble hélice, los pares de bases están apilados, prácticamente uno encima del otro. Las bases apiladas interaccionan mediante fuerzas de van der Waals. Estas fuerzas provocadas por el apilamiento ayudan a estabilizar la doble hélice. [Elaborada por Adam Steinberg.]

La doble hélice facilita la transmisión precisa de la información hereditaria

El modelo de doble hélice del DNA y la presencia de pares de bases específicos inmediatamente sugiere cómo se podría replicar el material genético. *La secuencia de bases de una de las hebras de la doble hélice determina exactamente la secuencia de la otra hebra*; una base guanina en una hebra siempre está emparejada con una base citosina en la otra hebra, y así, sucesivamente. Por tanto, la separación de una doble hélice en sus dos hebras componentes generaría dos moldes de una sola hebra sobre los cuales se podrían construir dos nuevas dobles hélices, cada una de ellas con la misma secuencia de bases que la doble hélice parental. En consecuencia, a medida que el DNA se replica, una de las hebras de cada molécula de DNA hija habría sido recién sintetizada, mientras que la otra habría pasado de la molécula parental a la molécula hija sin sufrir ningún tipo de variación. Esta distribución de los átomos parentales se consigue por medio de una *replicación semiconservativa* (**Figura 33.14**). En el Capítulo 34 estudiaremos con detalle la replicación del DNA.

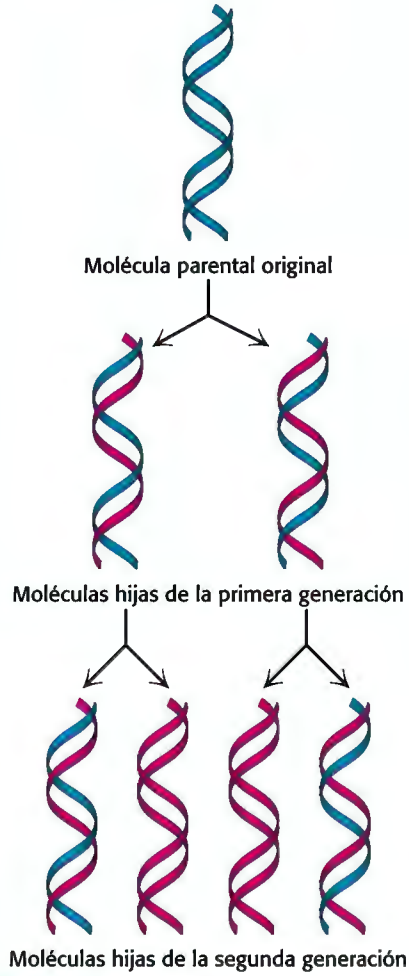


Figura 33.14 Esquema de la replicación semiconservativa. El DNA parental se muestra de color azul y el DNA recién sintetizado de color rojo. [Tomado de M. Meselson y F. W. Stahl. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 44: 671-682, 1958.]

Meselson y Stahl demostraron que la replicación es semiconservativa

¿Cómo sabemos que la replicación del DNA es semiconservativa? Matthew Meselson y Franklin Stahl llevaron a cabo un ingenioso experimento para esclarecer este asunto fundamental. Marcaron el DNA parental con ^{15}N, un isótopo pesado del nitrógeno, para hacer que sea más denso que el DNA normal. El DNA marcado se generó cultivando *E. coli* durante muchas generaciones en un medio que contenía $^{15}NH_4Cl$ como única fuente de nitrógeno. Cuando se completó la incorporación del nitrógeno pesado, se transfirieron

repentinamente las bacterias a un medio que contenía ^{14}N, el isótopo común, más ligero del nitrógeno. La cuestión que se planteó fue la siguiente: después de varias rondas sucesivas de replicación, ¿cómo se distribuyen el ^{14}N y el ^{15}N en las moléculas de DNA?

La distribución del ^{14}N y del ^{15}N se determinó mediante la técnica de *sedimentación, en condiciones de equilibrio, en un gradiente de densidad*. Se disolvió una pequeña cantidad de DNA en una disolución concentrada de cloruro de cesio con una densidad similar a la del DNA (1,7 g cm^{-3}). Se centrifugó esta disolución hasta prácticamente alcanzar las condiciones de equilibrio, en las que las fuerzas opuestas de sedimentación y de difusión crearon un gradiente en la concentración de cloruro de cesio a lo largo del tubo de centrífuga. El resultado fue la creación de un gradiente de densidad estable comprendido entre 1,66 y 1,76 g cm^{-3}. En este gradiente de densidad, las moléculas de DNA son arrastradas por la fuerza centrífuga hacia la región donde la densidad de la disolución es igual a la suya, generando una estrecha banda de DNA que se puede detectar gracias a su absorción de luz ultravioleta. En una mezcla control formada por moléculas de ^{14}N DNA y ^{15}N DNA, sus densidades difieren en tan solo un 1%, lo suficiente como para distinguir claramente los dos tipos de DNA (Figura 33.15).

A continuación, se extrajo el DNA de las bacterias a distintos tiempos después de haber sido transferidas desde el medio ^{15}N al medio ^{14}N y se centrifugó. El análisis de estas muestras demostró que, al cabo de una generación, había una única banda de DNA. La densidad de esta banda estaba, precisamente, a mitad de camino entre la densidad de la banda del ^{14}N DNA y la densidad de la banda del ^{15}N DNA (Figura 33.16). La ausencia de ^{15}N DNA indicaba que el DNA parental no se conservaba como una unidad intacta tras la replicación. La ausencia de ^{14}N DNA indicaba que todas las moléculas hijas de DNA obtenían parte de sus átomos del DNA parental. Esa parte tenía que ser la mitad, ya que la densidad de la banda de DNA híbrido estaba a medio camino entre la densidad de la bandas del ^{14}N DNA y del ^{15}N DNA.

Al cabo de dos generaciones, aparecieron cantidades iguales de dos bandas de DNA. Una correspondía al DNA híbrido, mientras que la otra era ^{14}N DNA. Las conclusiones que sacaron Meselson y Stahl de estos contundentes experimentos fueron que "en una molécula de DNA, el nitrógeno se divide a partes iguales entre dos subunidades físicamente continuas; que, después de la replicación, cada molécula hija recibe una de ellas; y que las subunidades se conservan durante muchas duplicaciones".

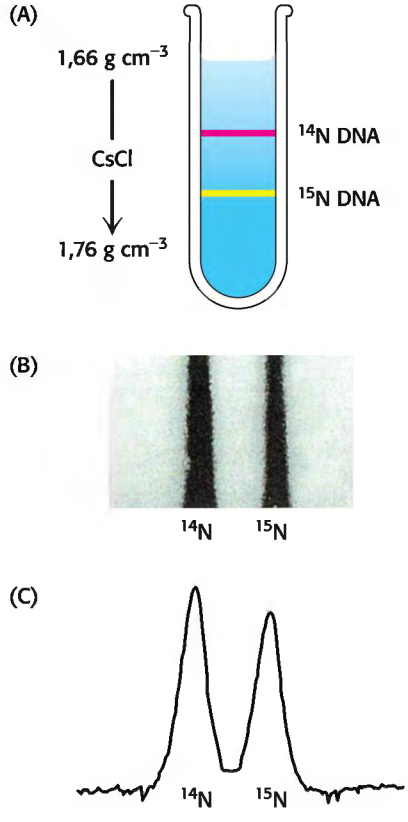


Figura 33.15 Separación del ^{14}N DNA y del ^{15}N DNA mediante centrifugación en gradiente de densidad. (A) Representación esquemática del tubo de centrífuga después de la centrifugación en gradiente de densidad. El CsCl es cloruro de cesio. (B) Fotografía de la absorción ultravioleta de un tubo de centrífuga que muestra las dos bandas distintas de DNA. (C) Perfil densitométrico de la fotografía de la absorción. [B y C) Tomado de M. Meselson y F. W. Stahl. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 44: 671-682, 1958.]

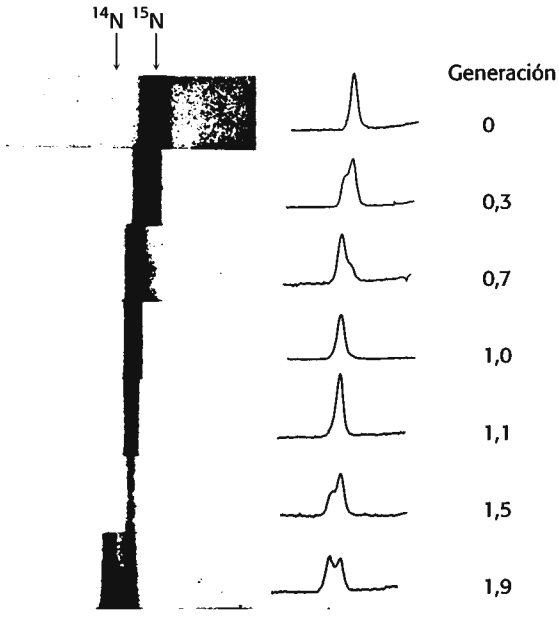


Figura 33.16 Detección de la replicación semiconservativa del DNA de E. coli mediante centrifugación en gradiente de densidad. La posición de una banda de DNA depende de su contenido de ^{14}N y de ^{15}N. Al cabo de una generación, todas las moléculas de DNA eran híbridos que contenían igual cantidad de ^{14}N y de ^{15}N. [Tomado de M. Meselson y F. W. Stahl *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 44: 671-682,1958.]

Sus resultados concordaban perfectamente con el modelo de Watson-Crick para la replicación del DNA (ver la Figura 33.14).

Las hebras de la doble hélice se pueden separar de manera reversible

Durante la replicación y transcripción del DNA, las dos hebras de la doble hélice se tienen que separar una de otra, al menos en una región local. En otras palabras, a veces, la información archivada tiene que estar accesible para que sea útil. En el laboratorio, las dos hebras de la doble hélice se pueden separar calentando una disolución de DNA. La energía térmica hace que las moléculas de DNA se muevan hasta tal punto que las débiles fuerzas que mantienen la hélice unida, como los puentes de hidrógeno entre las bases, se desvanecen. A menudo, la disociación de la doble hélices se denomina *fusión* o *desnaturalización*, y ocurre de manera relativamente brusca a partir de cierta temperatura. La *temperatura de fusión* (T_m) se define como la temperatura a la que se pierde la mitad de la estructura helicoidal. Las hebras también se pueden separar añadiendo ácidos o bases para ionizar las bases de los nucleótidos y deshacer los emparejamientos.

Cuando la temperatura desciende por debajo de la T_m, las hebras complementarias de los ácidos nucleicos que se han separado se vuelven a asociar de manera espontánea formando una doble hélice. Este proceso de renaturalización se denomina, a veces, *atemperación*. La facilidad con que las dobles hélices se pueden fundir y volverse a asociar es decisiva para las funciones de los ácidos nucleicos.

? PREGUNTA RÁPIDA 1 ¿Cuáles son las fuerzas químicas que estabilizan la doble hélice?

33.3 Las dobles hélices del DNA pueden adoptar múltiples formas

El modelo de DNA de Watson y Crick se denomina *DNA-B*. En condiciones fisiológicas, la mayor parte del DNA se encuentra en la forma B. Sin embargo, esta estructura no es la única que puede formar el DNA. Estudios sobre el DNA han demostrado que, cuando el DNA está menos hidratado, adopta una forma distinta, denominada *DNA-A*. Este DNA, al igual que el DNA-B, es una doble hélice dextrógira formada por hebras antiparalelas unidas entre sí mediante pares de bases del tipo Watson-Crick. La hélice A es más ancha y más corta que la hélice B, y sus pares de bases están inclinados, en vez de perpendiculares al eje de la hélice (Figura 33.17).

Si la hélice A fuese una mera característica del DNA deshidratado, tendría escasa importancia. Sin embargo, las regiones del RNA de doble hebra y, por lo menos, algunos híbridos RNA-DNA, adoptan una doble hélice muy parecida a la del DNA-A. Como veremos más adelante (pp. 592 y 634), las regiones del RNA de doble hebra y los híbridos RNA-DNA juegan un papel relevante en relación con el funcionamiento del RNA y el procesamiento de la información.

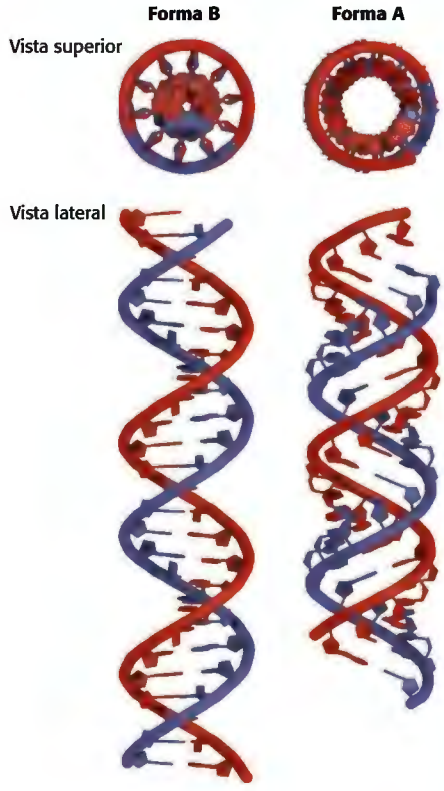


Figura 33.17 Formas A y B del DNA. Los modelos de 10 pares de bases de DNA de la forma B y de la forma A muestran sus estructuras dextrógiras. *Observe* que la hélice de la forma B es más larga que la de la forma A y que el surco mayor del DNA de la forma A es más profundo que el del DNA de la forma B, mientras que el surco menor es menos profundo. [Elaborada por Adam Steinberg a partir de 1BNA.pdb y 1DNZ.pdb.]

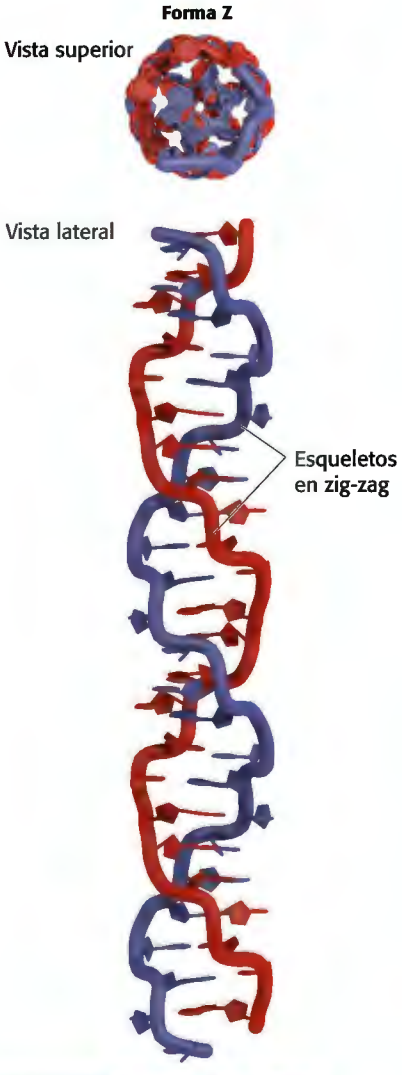


Figura 33.18 Forma Z del DNA. En determinadas circunstancias, el DNA puede adoptar una conformación alternativa que se denomina DNA-Z porque los grupos fosforilo se disponen en zigzag a lo largo del esqueleto. [Elaborada por Adam Steinberg a partir de 131D.pdb.]

El DNA-Z es una doble hélice levógira en la que los grupos fosforilo del esqueleto se disponen en zigzag

Un tercer tipo de doble hélice es *levógiro*, a diferencia del sentido de giro *dextrógiro* de las hélices A y B. Además, los grupos fosforilo del esqueleto *se disponen en zigzag*; de ahí que a esta forma de DNA se la denomine *DNA-Z* (**Figura 33.18**).

La existencia del DNA-Z demuestra que el DNA es una molécula flexible y dinámica. Aunque todavía se está investigando la función biológica del DNA-Z, en la familia de los poxvirus, a la que pertenece el virus variola, el agente causante de la viruela, se han purificado proteínas que se unen al DNA-Z. En la **Tabla 33.1** se comparan las propiedades de las formas A, B y Z del DNA.

Tabla 33.1 Comparación de las formas A, B y Z del DNA.

	Tipo de hélice		
	A	B	Z
Forma	La más ancha	Intermedia	La más estrecha
Separación entre cada par de bases	2,3 Å	3,4 Å	3,8 Å
Diámetro de la hélice	~26 Å	~20 Å	~18 Å
Sentido de giro	Dextrógiro	Dextrógiro	Levógiro
Enlace glicosídico*	*anti*	*anti*	Alternan *anti* y *sin*
Pares de bases por cada vuelta de hélice	11	10,4	12
Longitud de una vuelta completa de la hélice	25,3 Å	35,4 Å	45,6 Å
Inclinación de los pares de bases con respecto al plano perpendicular al eje de la hélice	19 grados	1 grado	9 grados

**Sin* y *anti* hacen referencia a la orientación del enlace *N*-glicosídico entre la base y la desoxirribosa. En la orientación *sin*, la base se encuentra por encima de la desoxirribosa. Las pirimidinas solo pueden estar en la orientación *anti*, mientras que las purinas pueden estar en *anti* o en *sin*.

Los surcos mayor y menor están revestidos por grupos que forman puentes de hidrógeno específicos para cada secuencia

Tal y como se muestra en la Figura 33.17, un análisis de la molécula de DNA en la forma B pone de manifiesto la presencia de dos surcos distintos, denominados *surco mayor* y *surco menor*. Estos surcos aparecen porque los enlaces glicosídicos de un par de bases no están situados de forma diametralmente opuesta entre sí (**Figura 33.19**). En el DNA-B, el surco mayor es más ancho (12 Å, frente a 6 Å) y más profundo (8,5 Å, frente a 7,5 Å) que el surco menor (**Figura 33.20**).

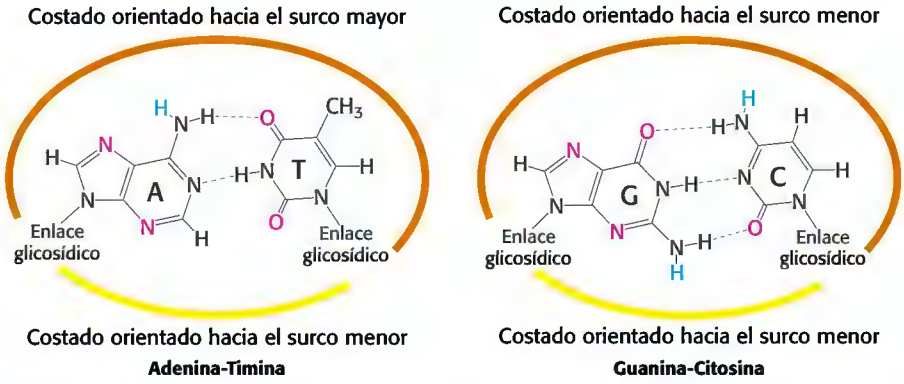


Figura 33.19 Un costado se orienta hacia el surco mayor y otro hacia el surco menor. Como los dos enlaces glicosídicos no están situados de forma diametralmente opuesta entre sí, cada par de bases tiene un costado más largo, que se orienta hacia el surco mayor y un costado más corto que se orienta hacia el surco menor. Ambos surcos están recubiertos de posibles donadores (en azul) y aceptores (en rojo) de puentes de hidrógeno.

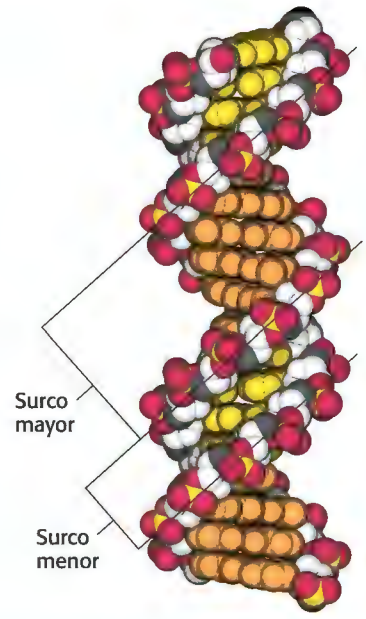


Figura 33.20 Surcos mayor y menor en el DNA-B. *Observe* la presencia del surco mayor (mostrado de color naranja) y del surco menor, más estrecho (mostrado de color amarillo). Los átomos de carbono del esqueleto se muestran de color blanco. [Elaborada por Adam Steinberg.]

Cada surco está revestido de átomos capaces de actuar como donadores o aceptores de puentes de hidrogeno, lo que permite establecer interacciones específicas con las proteínas. Estas interacciones son esenciales para la replicación y la transcripción, ya que, para catalizar estos procesos, proteínas específicas se unen al DNA reconociendo donadores y aceptores de puentes de hidrogeno específicos sobre la superficie de los surcos (Capítulos 34, 36 y 37). En el surco menor, el N-3 de la adenosina o de la guanina y el O-2 de la timina o de la citosina pueden actuar como aceptores de hidrógeno y el grupo amino unido al C-2 de la guanina puede actuar como donador de hidrógeno. En el surco mayor, el N-7 de la guanina o de la adenina es un posible aceptor, igual que el O-4 de la timina y el O-6 de la guanina. Los grupos amino unidos al C-6 de la adenina y al C-4 de la citosina pueden actuar como donadores de hidrógeno. El grupo metilo de la timina también se encuentra en el surco mayor. Hay que destacar el hecho de que el surco mayor ofrece más características que permiten distinguir un par de bases de otro que el surco menor. En el DNA-B, el tamaño del surco mayor es más grande, lo que le hace más accesible a la hora de establecer interacciones con proteínas capaces de reconocer secuencias específicas del DNA.

El DNA de doble hebra se puede enrollar sobre sí mismo generando estructuras superenrolladas

Previamente hemos visto la enorme cantidad de DNA presente en una célula, lo que plantea una importante cuestión: ¿Cómo puede caber todo el DNA en el interior de un núcleo celular? En los cromosomas humanos, las moléculas de DNA son lineales. Sin embargo, estudios llevados a cabo mediante microscopía electrónica, entre otros, han demostrado que las moléculas intactas de DNA procedentes de otros organismos son circulares (**Figura 33.21**A). El término *circular* hace referencia a la continuidad de las cadenas de DNA, no a su forma geométrica. En el interior de las células, las moléculas de DNA adoptan, necesariamente, una forma muy compacta. Hay que tener en cuenta que el cromosoma de *E. coli*, totalmente extendido, sería unas 1.000 veces más largo que el diámetro mayor de la bacteria.

Por tanto, los cromosomas bacterianos tienen que que aprovecharse de alguna propiedad estructural para ajustarse a las dimensiones de la célula. El eje de la do-

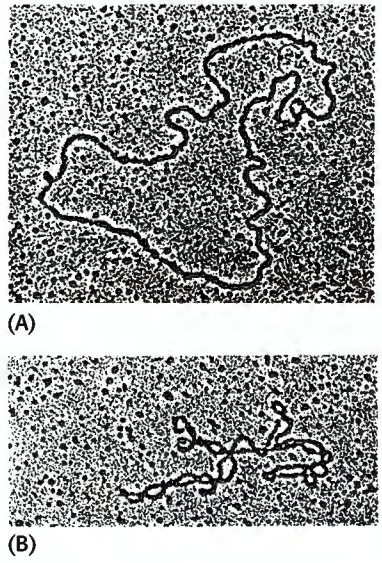


Figura 33.21 Micrografías electrónicas de DNA circular obtenido a partir de mitocondrias. (A) Forma relajada. (B) Forma superenrollada. [Cortesía del Dr. David Clayton.]

ble hélice puede enrollarse sobre sí mismo formando una *superhélice*, un proceso denominado *superenrollamiento* (Figura 33.21B). Consideremos una doble hélice de DNA de 260 pb en la forma B (Figura 33.22A). Como el número de residuos por vuelta en una molécula de DNA relajada es 10,4, esta molécula de DNA lineal tiene 25 (260/10,4) vueltas. Los extremos de esta hélice se pueden unir para formar un DNA circular *relajado* (Figura 33.22B). Se puede formar un DNA circular distinto si, antes de unir sus extremos, se desenrollan dos vueltas de la doble hélice lineal (Figura 33.22C). ¿Cuál es la consecuencia estructural del desenrollamiento previo a la ligación? Hay dos conformaciones límite posibles. En primer lugar, el DNA se puede plegar adoptando una estructura que contenga 23 vueltas de la hélice B y un bucle desenrollado (Figura 33.22D). Sin embargo, las bases del bucle no forman pares de bases y los pares de bases estabilizan la doble hélice; de modo que esta estructura es algo inestable. La segunda posibilidad estructural consiste en que el DNA adopte

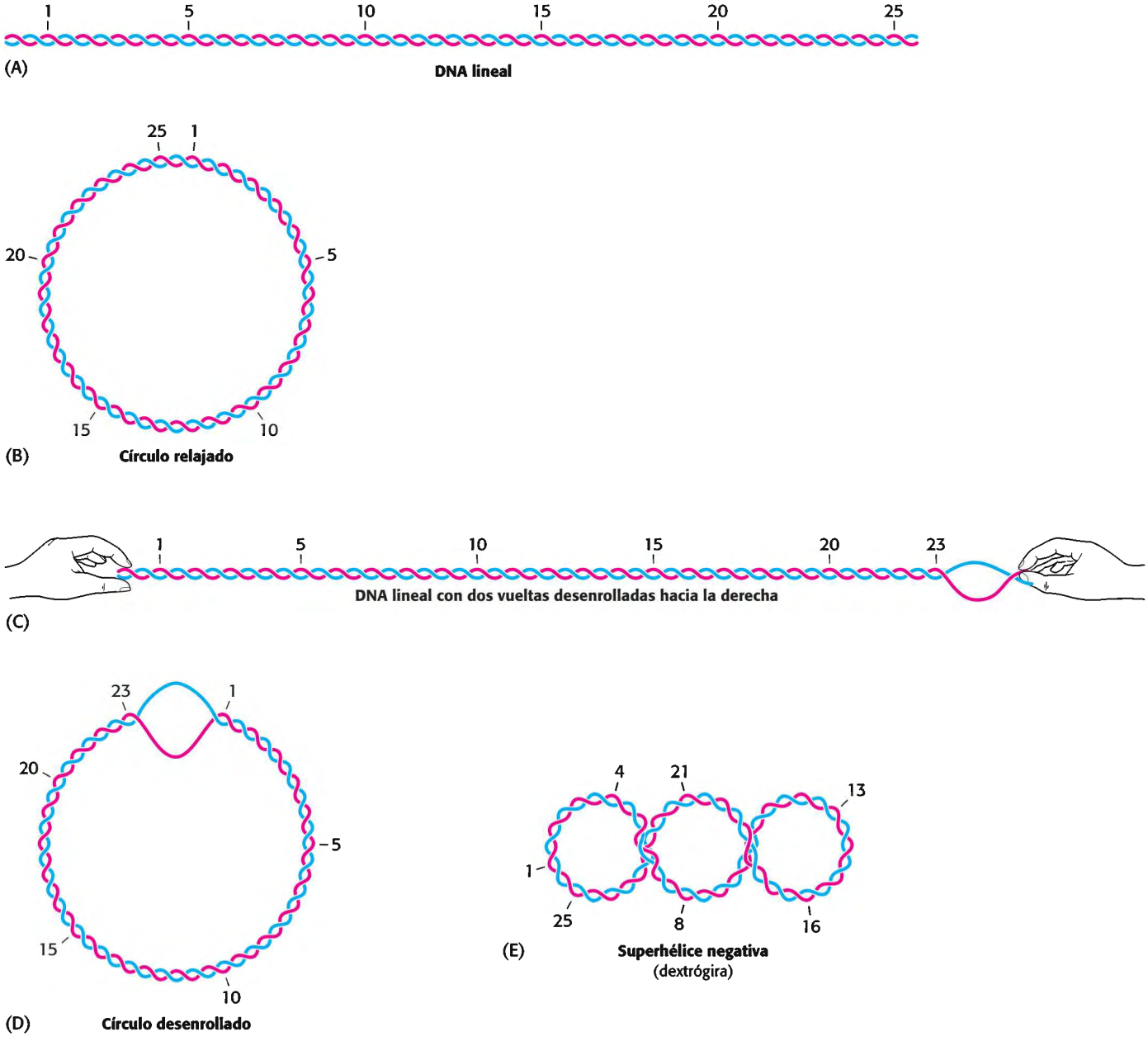


Figura 33.22 Superenrollamiento del DNA. El desenrollamiento parcial de una molécula circular de DNA permite el superenrollamiento. [Tomado de W. Saenger, *Principles of Nucleic Acid Structure* (Springer, 1984), p. 452.]

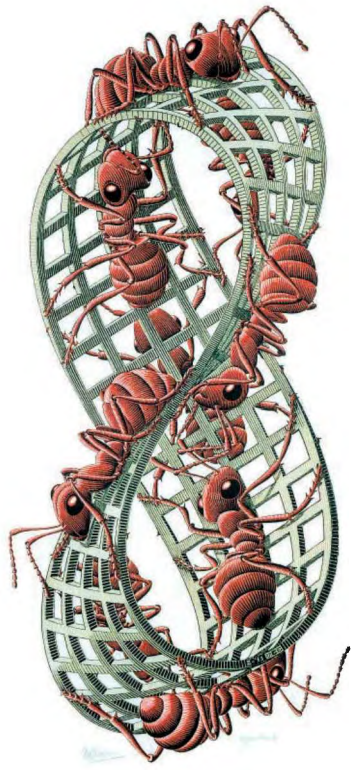


Figura 33.23 La cinta de Möbius. El estudio de las estructuras del DNA se ha beneficiado mucho de una rama de las matemáticas denominada topología, que estudia las propiedades estructurales que no cambian tras deformaciones como doblamientos o estiramientos. La cinta de Möbius, que solo tiene una cara, es un ejemplo de estructura topológica. El artista gráfico holandés M. C. Escher reflejó esta característica singular de la cinta de Möbius dibujando hormigas avanzando a lo largo de la cinta y volviendo siempre al punto de partida tras haber recorrido toda la longitud de la cinta, por los dos lados, sin haber atravesado el borde en ningún momento. [M. C. Escher's "Mobius Strip II" © 2008. The M. C. Escher Company–Holland. Todos los derechos reservados. www.mcescher.com.]

una estructura *superenrollada* con 23 vueltas de hélice de tipo B y dos vueltas de una superhélice *dextrógira* (denominada *negativa*) (Figura 33.22E). En la superhélice no hay bases sin emparejar. El DNA desenrollado y el DNA superenrollado son *isómeros topológicos* o *topoisómeros*; es decir, tienen la misma secuencia pero tienen distinta estructura, debido a las diferencias en el enrollamiento de las moléculas de DNA (Figura 33.23). Una molécula de DNA superenrollada tiene una forma más compacta que la de su homóloga relajada.

La mayoría de las moléculas de DNA que se encuentran en la naturaleza están superenrolladas negativamente. ¿Cuál es el fundamento de esta predominancia? El superenrollamiento negativo surge cuando se desenrolla el DNA o cuando se encuentra menos enrollado de lo normal. Básicamente, el superenrollamiento negativo prepara el DNA para procesos que requieren la separación de las hebras, como la replicación o la transcripción. El superenrollamiento positivo es igual de efectivo a la hora de condensar el DNA, pero hace que la separación de las hebras sea más difícil.

El superenrollamiento no solo es una propiedad del DNA circular. También se puede dar en moléculas lineales de DNA que tengan una configuración forzada, como cuando el DNA se encuentra empaquetado en los cromosomas (ver más adelante). La separación de las dos hebras del DNA durante la replicación requiere el desenrollamiento local de la doble hélice. Este desenrollamiento local tiene que provocar o bien un superenrollamiento de las regiones cercanas o bien la formación de superhélices. Para evitar la tensión inducida por el superenrollamiento, existe un conjunto especializado de enzimas que introducen superhélices que faciliten la separación de las hebras (Capítulo 34).

33.4 El DNA eucariótico está asociado a proteínas específicas

✓ 2 Describir cómo se empaqueta el DNA para que pueda caber dentro de la célula.

En cada célula humana hay alrededor de 3,6 metros de DNA, que se encuentran empaquetados en 46 cromosomas, todos ellos en el interior de un núcleo que tiene un diámetro de unas 5 micras. Obviamente, la longitud del DNA y el tamaño del núcleo plantean un problema de empaquetamiento. El superenrollamiento ayuda a compactar el DNA. Sin embargo, hay que hacerlo todavía más compacto y, al mismo tiempo, seguir teniendo acceso a la información codificada en la secuencia de bases. ¿Qué otros métodos hay, además del superenrollamiento, para compactar la enorme cantidad de DNA en un núcleo eucariótico? Con la ayuda de determinadas proteínas se puede hacer que se compacte aún más. El complejo DNA-proteína resultante se denomina cromosoma. Estudiaremos una importante clase de proteínas que intervienen en las etapas iniciales de la compactación.

Los nucleosomas son complejos formados por DNA e histonas

El DNA eucariótico se encuentra fuertemente unido a un grupo de pequeñas proteínas básicas denominadas *histonas*. De hecho, las histonas constituyen la mitad de la masa de un cromosoma eucariótico. La totalidad del complejo formado por el DNA de una célula y las proteínas asociadas se denomina *cromatina*. Básicamente, la cromatina está formada por cromosomas aislados, aunque la relación exacta que hay entre los dos todavía está por determinar. En la cromatina hay cinco tipos principales de histonas: cuatro de ellas, denominadas H2A, H2B, H3 y H4, se asocian entre sí; la otra

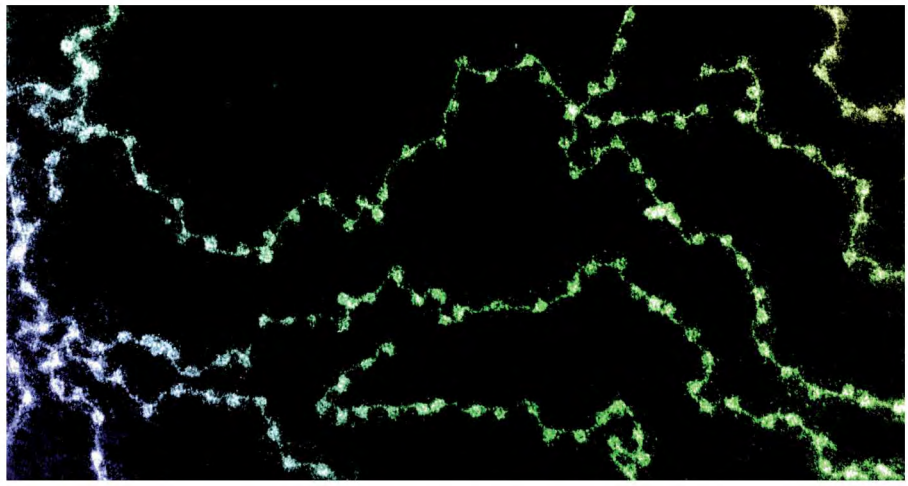


Figura 33.24 Estructura de la cromatina. Micrografía electrónica de la cromatina que muestra su parecido con un "collar de cuentas". [©Don. W. Fawcett/Science Source.]

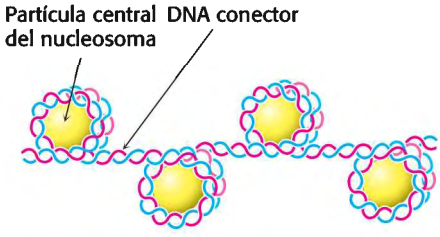


Figura 33.25 Partículas centrales unidas entre sí. Las partículas centrales se unen entre sí mediante el DNA conector. [Tomado de D. L. Nelson y M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 5.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2008), p. 963.]

histona, se denomina H1. Las histonas tienen unas propiedades extremadamente básicas, puesto que la cuarta parte de los residuos de cada histona son lisina o arginina.

La cromatina se compone de unidades repetidas, cada una formada por 200 pb de DNA y dos copias de las histonas H2A, H2B, H3 y H4, que constituyen el denominado *octámero de histonas*. Estas unidades repetidas se conocen con el nombre de *nucleosomas*. Cuando la cromatina se estira por completo de modo que el DNA y los nucleosomas asociados se pueden observar al microscopio electrónico, tiene el aspecto de un collar de cuentas; cada una con un diámetro aproximado de 100 Å (Figura 33.24). La digestión parcial de la cromatina por medio de la DNAsa, una enzima que hidroliza el esqueleto fosfodiéster del DNA, produce cuentas aisladas. Estas partículas están formadas por fragmentos de DNA con una longitud de ~200 pb unidos a las ocho histonas. Una digestión más exhaustiva genera un fragmento de DNA más corto, de 145 pb, unido al octámero de histonas. Este complejo más pequeño, formado por el fragmento de DNA de 145 pb y el octámero de histonas constituye la *partícula central del nucleosoma*. El DNA que, en la cromatina intacta, une las partículas centrales entre sí se denomina *DNA conector* (Figura 33.25). La histona H1 se une parcialmente al DNA conector.

El DNA eucariótico se enrolla alrededor de las histonas formando nucleosomas

Diversos estudios han permitido conocer la estructura de la partícula central del nucleosoma. Las ocho histonas se disponen en forma de un tetrámero $(H3)_2(H4)_2$ y una pareja de dímeros H2A-H2B (Figura 33.26). El tetrámero y los dímeros se asocian formando un complejo en torno al cual se enrolla el DNA. Además, cada histona posee una cola amino-terminal que se proyecta hacia el exterior de la estructura de la partícula central. Estas colas son flexibles y contienen cierto número de residuos de lisina y arginina. Como veremos más adelante, *las modificaciones covalentes de estas colas desempeñan un papel fundamental a la hora de modular la accesibilidad del DNA para la transcripción* (p. 654).

El DNA forma una superhélice levógira a medida que se enrolla alrededor de la superficie exterior del octámero de histonas. El núcleo proteico establece contactos con multitud de puntos de la superficie interna de la superhélice del DNA, especialmente a lo largo del esqueleto fosfodiéster y del surco menor. La histona H1, que tiene una estructura distinta a la de las otras histonas, marca los límites del nucleosoma, que queda comprendido entre la región por donde el DNA conector accede al nucleosoma y la región por donde el DNA conector abandona el nucleosoma. Desde las levaduras hasta los seres humanos, las secuencias de aminoácidos de las histonas, incluyendo sus colas amino-terminales, están extraordinariamente conservadas.

El enrollamiento del DNA en torno a la partícula central del nucleosoma contribuye al empaquetamiento del DNA, ya que acorta su longitud. Un segmento de 200 pb de DNA extendido tendría una longitud de unos 680 Å. El enrollamiento de

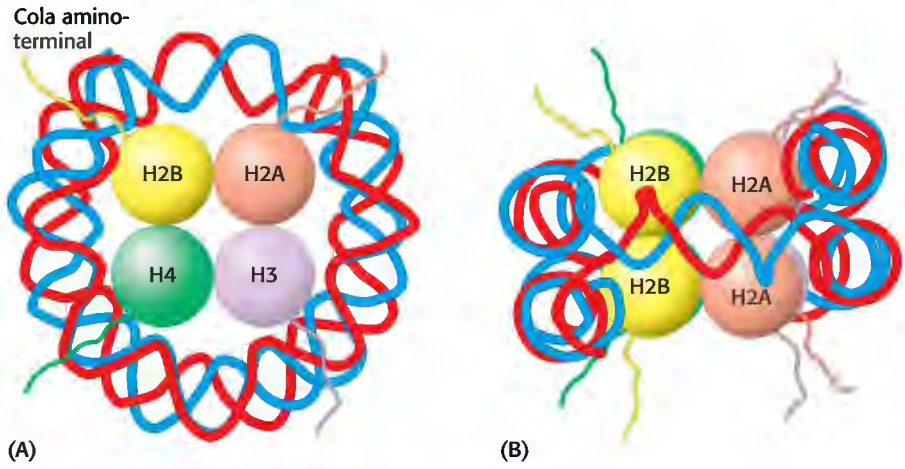


Figura 33.26 Partícula central del nucleosoma. Representaciones esquemáticas de un núcleo de ocho proteínas histonas rodeado por DNA. (A) Perspectiva que muestra cómo se enrolla el DNA alrededor del núcleo de histonas. (B) Rotación de 90 grados de la perspectiva mostrada en la parte A.

este DNA en torno al octámero de histonas reduce su longitud a aproximadamente 100 Å, lo que mide la distancia más larga del nucleosoma. Por tanto, el DNA se hace siete veces más compacto. Sin embargo, los cromosomas humanos en metafase, en la que están muy condensados, son 10^4 veces más compactos. Obviamente, el nucleosoma constituye tan solo la primera etapa de la compactación del DNA. ¿Cuál es la siguiente etapa? Los propios nucleosomas adoptan una disposición helicoidal de aproximadamente 360 Å de diámetro, formando una serie de capas apiladas separadas unas de otras por unos 110 Å (**Figura 33.27**).

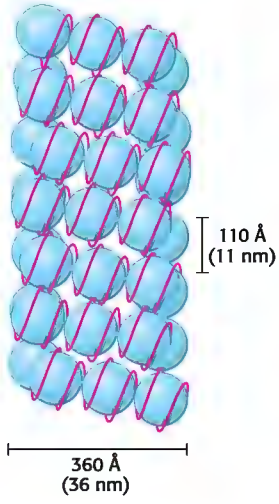


Figura 33.27 Estructura de la cromatina, a un nivel superior. Modelo propuesto para la cromatina, según el cual, adopta una disposición helicoidal en el que cada vuelta de la hélice contiene seis nucleosomas. La doble hélice de DNA (mostrada en color rojo) se enrolla alrededor de cada octámero de histonas (mostrado en color azul). [Tomado de J. T. Finch y A. Klug. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 73: 1897-1901, 1976.]

? PREGUNTA RÁPIDA 2 ¿Por qué el superenrollamiento y la formación de nucleosomas son importantes para la estructura del DNA en el interior de una célula?

El plegamiento de estas fibras de nucleosomas formando bucles compacta aún más el DNA (**Figura 33.28**).

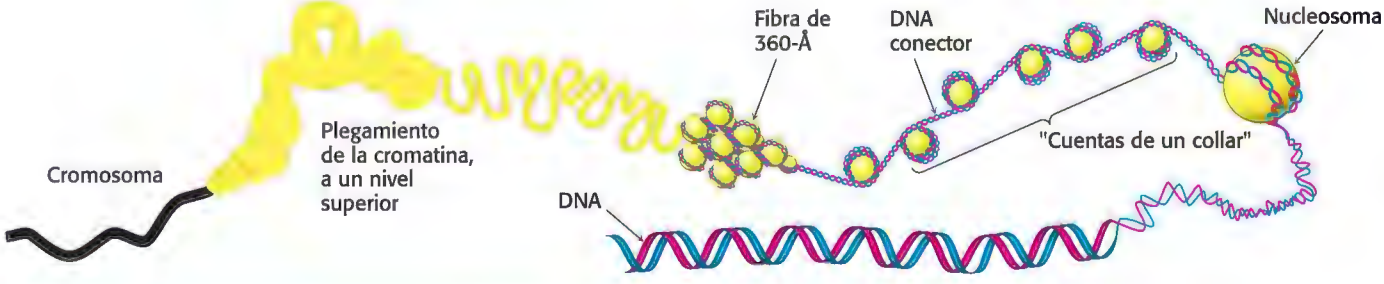


Figura 33.28 Compactación del DNA en un cromosoma eucariótico. [Tomado de H. Lodish, A. Berk, P. Matsudaria, C. A. Kaiser, M. Krieger, M. P. Scott, S. L. Zipursky y J. Darnell, *Molecular Cell Biology*, 5.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2004), p. 406.]

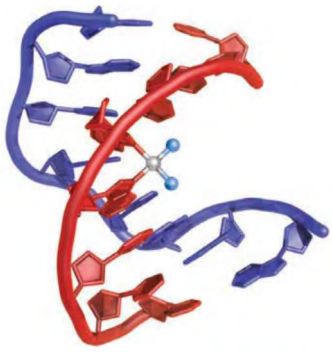
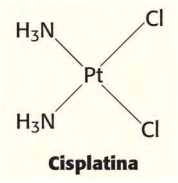


Figura 33.29 El cisplatino altera la estructura del DNA. El medicamento anticanceroso cisplatino se une al DNA y desorganiza su estructura, dando lugar a la muerte celular. [Elaborada por Adam Steinberg; tomada de Michael, J. Hannon, *Chem. Soc. Rev.* 36: 280-295, 2007.]

Aspecto clínico

Los daños en el DNA pueden inhibir el crecimiento de las células cancerosas

Algunos fármacos utilizados en la quimioterapia contra el cáncer actúan modificando la estructura del DNA, inhibiendo así la replicación y la transcripción. Como las células cancerosas crecen y se dividen más rápidamente que la mayoría de las células no malignas, los fármacos utilizados en la quimioterapia provocan un efecto más acusado en las células cancerosas. Un ejemplo de este tipo de medicamentos es el cisplatino, que se utiliza para tratar varios tipos de cáncer, entre los que se incluyen el cáncer de testículos y el cáncer de ovarios. Cuando el cisplatino reacciona con el DNA, los ligandos cloruro son desplazados por los átomos de nitrógeno de dos bases púricas adyacentes, normalmente guaninas, situadas en la misma hebra. La formación de estos enlaces provoca un pronunciado acodamiento en la estructura del DNA (Figura 33.29). Esta alteración estructural impide la replicación y la transcripción. Además, los resultados de las investigaciones sugieren que determinadas proteínas del núcleo se unen al DNA dañado por el cisplatino y evitan el acceso de las enzimas que reparan el DNA (Capítulo 35). El efecto neto del tratamiento con cisplatino es que la célula experimenta una muerte celular programada, o apoptosis, que termina matando la célula cancerosa. Por desgracia, el cisplatino no es específico para las células cancerosas y, en consecuencia, muchas células normales también mueren, lo que provoca graves efectos secundarios, como náuseas, vómitos y lesiones en los riñones y en el sistema nervioso. ■



Cisplatina

33.5 El RNA puede adoptar estructuras complejas

Como ya se ha visto, el DNA no suele encontrarse en forma de una sencilla hélice sino que adopta una estructura más compleja y compacta. Con frecuencia, incluso los ácidos nucleicos de hebra sencilla, normalmente moléculas de RNA, se pliegan sobre sí mismos formando estructuras bien definidas que pueden llegar a ser complejas. Estas estructuras permiten al RNA desempeñar un gran número de funciones que la molécula de DNA de doble hebra es incapaz de llevar a cabo. De hecho, la complejidad de algunas moléculas de RNA es comparable a la de las proteínas, y estas moléculas de RNA realizan una serie de funciones que, anteriormente, se pensaba que eran desempeñadas exclusivamente por proteínas. Por ejemplo, uno de los RNA que forman parte de los ribosomas —asociaciones de gran tamaño formadas por RNA y proteínas en donde se sintetizan las proteínas— es el verdadero catalizador de la síntesis de proteínas (Capítulo 40).

El motivo estructural más sencillo y el más frecuente es un *tallo-bucle*, que se forma cuando dos secuencias complementarias de una misma hebra sencilla se juntan formando una estructura de doble hélice (Figura 33.30). En muchos casos, estas dobles hélices están formadas en su totalidad por pares de bases de tipo Watson-Crick. Sin embargo, en otros casos, las estructuras contienen pares de bases mal emparejadas o bases sin emparejar que dan lugar a protuberancias que sobresalen de la hélice. Estos emparejamientos defectuosos desestabilizan la estructura local pero introducen variaciones que se alejan de la estructura estándar de la doble hélice y que pueden ser importantes para adoptar plegamientos de orden superior o para su función.

Las interacciones entre bases más alejadas en la secuencia permite a los ácidos nucleicos de hebra sencilla adoptar estructuras más complejas que los simples tallo-bucle. A menudo, tres o más bases interaccionan para estabilizar estas estructuras. En estos casos, los donadores y aceptores de puentes de hidrógeno que no forman parte de pares de bases estándar de tipo Watson-Crick establecen puentes de hidrógeno en emparejamientos de otros tipos (Figura 33.31). Con frecuencia, los iones metálicos como el ion magnesio (Mg^{2+}) ayudan a estabilizar estas estructuras más complejas.

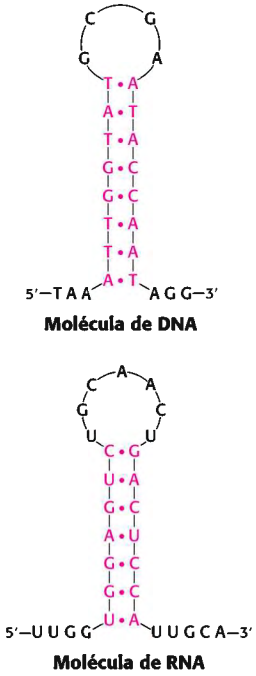


Figura 33.30 Estructuras tallo-bucle. A partir de un DNA o de un RNA de hebra sencilla se puede formar una estructura tallo-bucle.

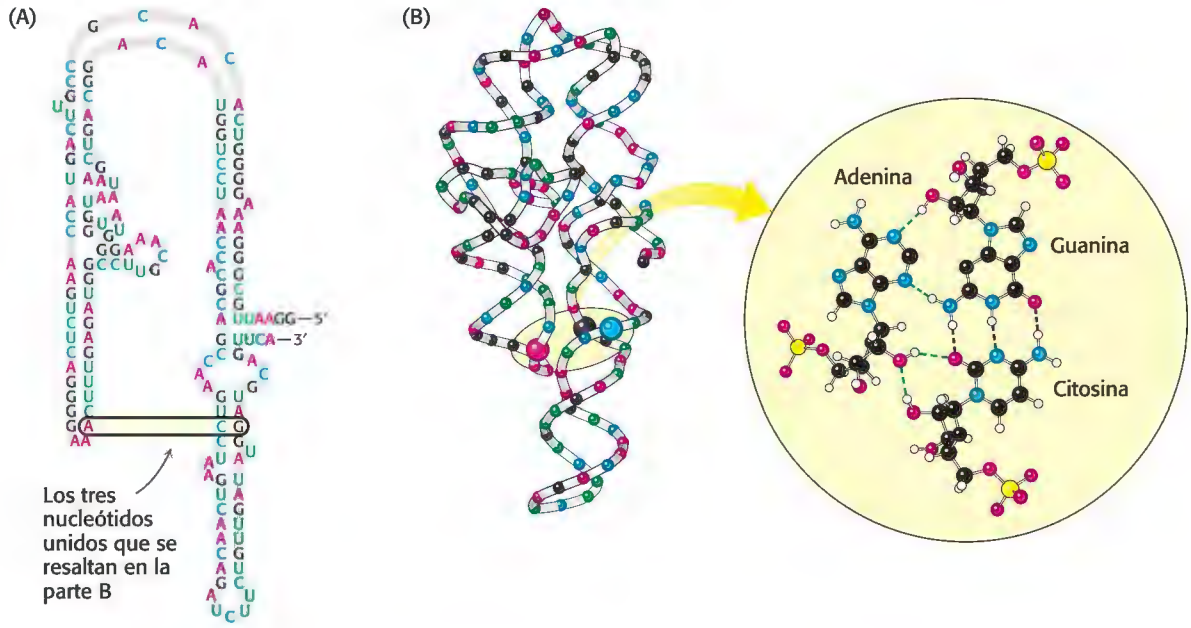


Figura 33.31 Estructura compleja de una molécula de RNA. Una molécula de RNA de hebra sencilla se puede plegar sobre sí misma formando una estructura compleja. (A) Secuencia de nucleótidos que muestra pares de bases estándar de tipo Watson-Crick y otros emparejamientos de distinto tipo en estructuras tallo-bucle. (B) Estructura tridimensional en la que se resalta una importante interacción de largo alcance que se establece entre tres bases. En la estructura tridimensional de la izquierda, los nucleótidos citidina se muestran de color azul, la adenosina en rojo, la guanosina en negro y la uridina en verde. En la región ampliada, los puentes de hidrógeno de tipo Watson-Crick entre pares de bases se muestran como líneas negras discontinuas; los puentes de hidrógeno de otro tipo se muestran como líneas verdes discontinuas.

Resumen

33.1 Un ácido nucleico está formado por bases unidas a un esqueleto azúcar-fosfato

El DNA y el RNA son polímeros lineales creados a partir de un limitado número de monómeros. En el caso del DNA, las unidades repetitivas son nucleótidos en los que el azúcar es una desoxirribosa y las bases son adenina, timina, guanina y citosina. En el caso del RNA, el azúcar es una ribosa y se utiliza la base uracilo en lugar de la timina. En todos los organismos, tanto eucarióticos como procarióticos, el DNA es la molécula de la herencia.

33.2 Las hebras de los ácidos nucleicos pueden formar una estructura de doble hélice

Todo el DNA celular consta de dos hebras helicoidales muy largas de polinucleótidos enrolladas en torno a un mismo eje. El esqueleto azúcar-fosfato de cada hebra se localiza en el exterior de la doble hélice, mientras que las bases púricas y pirimidínicas se sitúan en el interior. Las dos hebras de la doble hélice se orientan en direcciones opuestas. Las dos hebras se mantienen unidas mediante puentes de hidrógeno entre los pares de bases: la adenina siempre se empareja con la timina y la guanina siempre se empareja con la citosina. De este modo, la secuencia de una hebra determina la secuencia de la otra. Esta determinación de la secuencia convierte al DNA en una molécula especialmente apropiada para almacenar la información genética, que es la secuencia de bases exacta a lo largo de una hebra. Las hebras se pueden separar y cada hebra separada puede utilizarse para fabricar una doble hélice idéntica a la molécula original.

33.3 Las dobles hélices del DNA pueden adoptar múltiples formas

Desde el punto de vista estructural, el DNA es una molécula dinámica que puede adoptar diversas formas helicoidales: DNA-A, DNA-B (la clásica hélice de Watson-Crick) y DNA-Z. El DNA se puede torcer, doblar y desenrollar. En el DNA de tipo A, B y Z, las dos hebras antiparalelas se mantienen unidas mediante pares de bases de tipo Watson-Crick y mediante las interacciones que se establecen como consecuencia del apilamiento de las bases de una misma hebra. El esqueleto azúcar-fosfato se localiza en el exterior de la hélice y las bases en el interior. El DNA-A y el DNA-B son hélices dextrógiras. En el DNA-B, las bases se disponen de manera prácticamente perpendicular al eje de la hélice. Una característica estructural importante de la hélice B es la presencia de los surcos mayor y menor que, en función de la secuencia de bases, exponen diversos grupos capaces de actuar como aceptores o donadores de puentes de hidrógeno. El DNA-Z es una hélice levógira. La mayor parte del DNA de una célula se encuentra en la forma B.

El DNA de doble hebra también se puede enrollar sobre sí mismo para formar estructuras superenrolladas. El superenrollamiento del DNA tiene dos consecuencias importantes. El superenrollamiento compacta el DNA y, como es levógiro, el DNA se desenrolla parcialmente y resulta más accesible para procesos como la replicación o la transcripción.

33.4 El DNA eucariótico está asociado a proteínas específicas

El DNA eucariótico se encuentra fuertemente unido a proteínas, sobre todo a un grupo de pequeñas proteínas básicas denominadas histonas. La totalidad del complejo formado por el DNA de una célula y las proteínas asociadas se denomina cromatina. En la cromatina se pueden encontrar cinco tipos principales de histonas: cuatro de ellas —H2A, H2B, H3 y H4— se asocian entre sí; la otra histona es la H1. La cromatina se compone de nucleosomas —unidades repetidas, cada una formada por 200 pb de DNA y dos copias de cada histona H2A, H2B, H3 y H4. A medida que el DNA se enrolla en torno a la superficie externa de un nucleosoma va formando una superhélice levógira. El enrollamiento del DNA en torno a la partícula central del nucleosoma contribuye a su empaquetamiento. A su vez, los propios nucleosomas adoptan una disposición helicoidal.

33.5 El RNA puede adoptar estructuras complejas

Aunque, normalmente, el RNA consta de una sola hebra, esta puede plegarse sobre sí misma formando estructuras complejas. La estructura más sencilla es el tallo-bucle, que se estabiliza mediante pares de bases de tipo Watson-Crick. En otros casos, los donadores y aceptores de puentes de hidrógeno que no participan en los pares de bases estándar de tipo Watson-Crick forman puentes de hidrógeno que dan lugar a otros emparejamientos distintos.

Términos clave

doble hélice (p. 577)
ácido desoxirribonucleico (DNA) (p. 578)
desoxirribosa (p. 578)
ribosa (p. 578)
purina (p. 579)
pirimidina (p. 579)
ácido ribonucleico (RNA) (p. 579)
nucleósido (p. 579)
nucleótido (p. 579)
replicación semiconservativa (p. 583)
DNA-B (p. 585)
DNA-A (p. 585)
DNA-Z (p. 586)
surco mayor (p. 587)
surco menor (p. 587)
superenrollamiento (p. 587)
histona (p. 589)
cromatina (p. 589)
nucleosoma (p. 589)
partícula central del nucleosoma (p. 590)
tallo-bucle (p. 592)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Los puentes de hidrógeno entre los pares de bases y las interacciones de van der Waals entre las bases. Las interacciones de van der Waals intervienen a causa del efecto hidrofóbico, que obliga a las bases a situarse en el interior de la hélice.

2. El superenrollamiento y la formación de nucleosomas ayudan a compactar el DNA

Problemas

1. *¿Una "t" en lugar de una "s"?* ¿Qué diferencias hay entre un nucleósido y un nucleótido? ✓ 1

2. *Una pareja adorable.* ¿Qué es un par de bases de tipo Watson-Crick? ✓ 1

3. *Casi como los pares de bases.* Asigne a cada término la descripción correspondiente.

(a) Apilamiento de las bases _____
(b) DNA-B _____
(c) DNA-A _____
(d) DNA-Z _____
(e) Topoisómeros _____
(f) Superenrollamiento _____
(g) Histona _____
(h) Cromatina _____
(i) Nucleosoma _____
(j) Partícula central del nucleosoma _____

1. Moléculas de DNA con la misma secuencia pero distinto enrollamiento
2. DNA que forma una hélice levógira
3. Torsión del eje de una doble hélice de DNA que genera una superhélice
4. Constituyen la mitad de la masa de un cromosoma
5. Está formado por 200 pares de bases de DNA y 8 histonas
6. Estabilización de la doble hélice mediante fuerzas de van der Waals
7. Es el resultado de una digestión exhaustiva de la cromatina por parte de la DNAsa
8. La forma más habitual del DNA
9. DNA y proteínas asociadas
10. Forma del DNA que se observa en condiciones de deshidratación

4. *¡La ley de Chargaff!* El bioquímico Erwin Chargaff fue el primero en darse cuenta de que, en el DNA, [A]=[T] y [G]=[C], igualdades que hoy en día se conocen como la ley de Chargaff. Utilizando esta ley, determine los porcentajes de cada base en un DNA que contiene un 20% de timina. ✓ 1

5. *Pero no siempre.* Una hebra sencilla de RNA contiene un 20% de U. ¿Qué se puede pronosticar en relación con el porcentaje de las demás bases?

6. *El tamaño importa.* ¿Por qué GC y AT son los únicos pares de bases permitidos en la doble hélice? ✓ 1

7. *Complementarias.* Escriba la secuencia complementaria (utilizando la notación estándar 5′→3′) de (a) GATCAA, (b) TCGAAC, (c) ACGCGT, y (d) TACCAT.

8. *Limitada por la composición.* La composición (expresada en fracciones de la unidad) de una de las hebras de una molécula de DNA de doble hebra es [A]= 0,30 y [G]=0,24. (a) ¿Qué se puede decir de [T] y [C] en la misma hebra? (b) ¿Qué se puede decir de [A], [G], [T] y [C] en la hebra complementaria? ✓ 1

9. *Proporción axial.* ¿Cuál es la proporción axial (longitud: diámetro) de una molécula de DNA con una longitud de 20 μm?

10. *Fuerte, pero no lo suficiente.* ¿Por qué el calor desnaturaliza, o funde, el DNA en disolución?

11. *Ir y venir.* ¿Qué significa la afirmación de que las dos hebras de una doble hélice de DNA tienen distinta direccionalidad?

12. *DNA perdido.* El DNA de un mutante del bacteriófago λ que ha sufrido una deleción tiene una longitud de 15 μm en lugar de 17 μm. ¿Cuántos pares de bases le faltan a este mutante?

13. *Un patrón que no se ha visto.* ¿Qué resultado hubiesen obtenido Meselson y Stahl si la replicación del DNA fuese conservativa (es decir, si la doble hélice parental permaneciese junta)? Describa la distribución esperada de las moléculas de DNA en caso de replicación conservativa al cabo de 1 y de 2 generaciones.

14. *Sobrecargado.* El DNA en forma de doble hélice se tiene que asociar a cationes, normalmente al Mg^{2+}. ¿A qué se debe este requisito? ✓ 2

15. *Empaquetándolo.* ¿Explica el empaquetamiento del DNA en los nucleosomas el grado de compactación observado en los cromosomas en metafase (momento en el que el cromosoma está más condensado)? ✓ 2

16. *Es inútil resistirse.* La cromatina observada al microscopio electrónico tiene el aspecto de un collar de cuentas. La digestión parcial de la cromatina con DNAsa produce cuentas aisladas, formadas por fragmentos de DNA con una longitud de aproximadamente 200 pb unidos a las ocho histonas. Una digestión más exhaustiva produce un fragmento de DNA más corto, de 145 pb, unido al octámero de histonas. ¿Por qué se necesita una digestión más exhaustiva para generar el fragmento de 145 pb? ✓ 2

17. *Neutralización de cargas.* A partir de las secuencias de aminoácidos de las histonas mostradas más abajo, calcule la carga de un octámero de histonas a pH 7. Considere que, a este pH, los residuos de histidina carecen de carga. ¿Cómo es esta carga en comparación con la carga de 150 pares de bases del DNA? ✓ 2

Histone H2A

MSGRGKQGGKARAKAKTRSSRAGLQFPVGRVHRLLRKGNYSERVGAGAPVYLAAVLEYLTAEILELAGNA

ARDNKKTRIIPRHLQLAIRNDEELNKLLGRVTIAQGGVLPNIQAVLLPKKTESHHKAKGK

Histone H2B

MPEPAKSAPAPKKGSKKAVTKAQKKDGKKRKRSRKESYSVYVYKVLKQVHPDTGISSKAMGIMNSFVNI

FERIAGEASRLAHYNKRSTITSREIQTAVRLLLPGELAKHAVSEGTKAVTKYTSSK

Histone H3

MARTKQTARKSTGGKAPRKQLATKAARKSAPSTGGVKKPHRYRPGTVALREIRRYQKSTELLIRKLPFQR

LVREIAQDFKTDLRFQSAAIGALQEASEAYLVGLFEDTNLCAIHAKRVTIMPKDIQLARRIRGERA

Histone H4

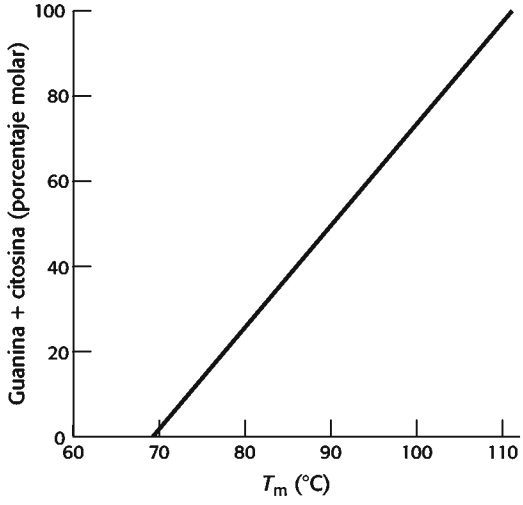
MSGRGKGGKGLGKGGAKRHRKVLRDNIQGITKPAIRRLARRGGVKRISGLIYEETRGVLKVFLENVIRDA

VTYTEHAKRKTVTAMDVVYALKRQGRTLYGFGG

18. *Dando vueltas.* Suponiendo que 145 pares de bases de DNA dan 1¾ vueltas en torno al octámero de histonas, calcule el radio del octámero de histonas. Considere que cada par de bases ocupa 3,4 Å y simplifique el cálculo asumiendo que el enrollamiento tiene lugar en dos dimensiones en vez de en tres, y sin tener en cuenta el grosor del DNA. ✓ 2

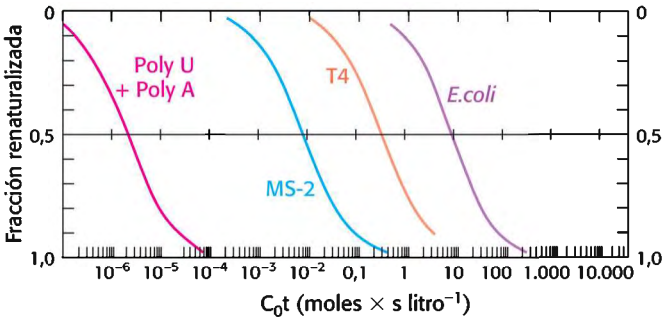
Problemas de interpretación de datos

19. *3 es mayor que 2.* La figura inferior representa la relación entre el porcentaje de pares de bases GC en el DNA y la temperatura de fusión. Sugiera una posible explicación para estos resultados.



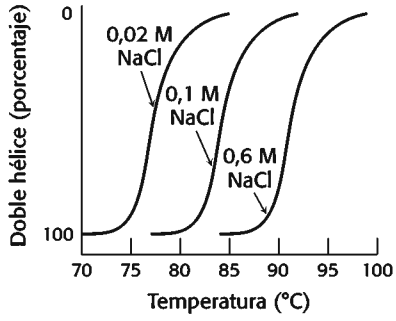
[Tomado de R. J. Britten y D. Kohne, Science 161: 529-540, 1968.]

20. *Reminiscencias del pasado.* La figura inferior es un gráfico denominado curva C_0t (se pronuncia "cot"). El eje *y* representa el porcentaje de DNA que se encuentra en forma de doble hebra. El eje *x* representa el producto de la concentración de DNA por el tiempo que se necesita para que se formen las moléculas de doble hebra. Explique por qué el valor C_0t (el punto en el que la mitad de las moléculas son de doble hebra) necesario para la completa renaturalización de la mezcla de poli A y poli U y de los tres DNA mostrados es distinto. Las curvas MS-2 y T4 corresponden a genomas de virus bacterianos (bacteriófagos) cuyo tamaño es de 3.569 y 168.903 pb, respectivamente. El genoma de *E. coli* tiene $4{,}6 \times 10^6$ pb.



[Tomado de J. Marmur y P. Doty, *J. Mol. Biol.* 5: 120, 1962.]

21. *Degustación de sal.* El gráfico inferior muestra el efecto de la concentración de sal sobre la temperatura de fusión de DNA bacteriano. ¿Cómo afecta la concentración de sal a la temperatura de fusión de DNA? Explique este efecto.



Problemas para atrevidos

22. *Exclusividad.* El genoma humano contiene 3.000 millones de pares de bases dispuestos en un gran número de secuencias. ¿Cuál es la longitud mínima que debe tener una secuencia de DNA para que lo más probable sea que solo aparezca una vez en el genoma humano? Tiene que considerar una sola hebra y puede suponer que los cuatro nucleótidos tienen la misma probabilidad de aparición.

23. *Cuantificando la información.* (a) ¿Cuántas secuencias de DNA distintas con una longitud de 8 nucleótidos hay? (Pista: hay 16 dinucleótidos posibles y 64 trinucleótidos posibles). Podemos cuantificar la capacidad de los ácidos nucleicos para almacenar información del siguiente modo. En cada posición podemos encontrar una de las cuatro bases distintas, lo que corresponde a una información de dos bits ($2^2 = 4$). Por tanto, una cadena de 5.100 nucleótidos equivale a $2 \times 5.100 = 10.200$ bits o 1.275 *bytes* (1 *byte* = 8 bits). (b) ¿Cuántos bits de información hay almacenados en una secuencia de DNA de 8 nucleótidos? y ¿en el genoma de *E. coli*? y ¿en el genoma humano? (c) Compare cada uno de estos valores con la cantidad de información que se puede almacenar en un CD (alrededor de 700 *megabytes*).

24. *Una cadena más resistente.* Las sustancias alcalinas hidrolizan fácilmente el RNA pero no el DNA. ¿Por qué?

25. *Una imagen vale más que mil palabras.* Escriba una secuencia de reacciones que muestre por qué el RNA es más susceptible al ataque nucleofílico que el DNA.

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 34

Replicación del DNA



34.1 Las polimerasas replican el DNA

34.2 La replicación del DNA está muy coordinada

La copia exacta es esencial para el almacenamiento de la información genética. Con la misma precisión de un diligente monje del siglo XV copiando un manuscrito ilustrado, una DNA polimerasa copia las hebras del DNA, manteniendo la secuencia de bases exacta con muy pocos errores. [The Art Archive Picture Desk.]

En el Capítulo 33, vimos que el DNA es la forma en que se archiva la información genética. Un archivo es un registro histórico o un documento, de manera que referirse al DNA como un archivo o como información archivada resulta especialmente adecuado; el DNA contiene la información necesaria para generar un nuevo organismo individual —ya sea una bacteria, un ficus o un ser humano, en función de su procedencia. En otras palabras, el DNA contiene los planos para el desarrollo de un organismo, así como su historial evolutivo.

Si el DNA es el archivo de la información, ¿quiénes son los encargados del archivo en la célula? Esta información tan importante se tiene que manejar con cuidado. Del mismo modo en que el monje de la ilustración superior copiaba manuscritos con sumo cuidado para su conservación, sus homólogos moleculares copian y con-

servan el DNA. El equivalente, a nivel molecular, de estos archiveros son unas enzimas denominadas DNA polimerasas. Tal y como se comentó en el Capítulo 33, la doble hélice de DNA es una estructura estable, como tiene que ser, al tratarse de un archivo de información. Gracias a esta estabilidad, la velocidad a la que las hebras se separan de forma espontánea es insignificante. Sin embargo, para sintetizar copias de la información genética para la próxima generación de células, se tienen que separar las hebras. Por lo tanto, este proceso necesita energía, así como otras moléculas que ayuden a la DNA polimerasa a acceder a la información en forma de nucleótidos. Otras enzimas y proteínas separan las hebras y preparan el DNA para que sea copiado por las principales responsables del archivo, las DNA polimerasas.

Comenzaremos este capítulo estudiando las enzimas que intervienen en la replicación del DNA. A continuación, veremos cómo se coordinan estas enzimas para completar el complejo proceso de la replicación del DNA. Por último, analizaremos algunas de las especiales dificultades que plantea la replicación eucariótica.

✓ 3 Identificar las enzimas que intervienen en el proceso de replicación del DNA.

34.1 Las polimerasas replican el DNA

En una célula, la maquinaria completa de la replicación consta de más de 20 proteínas, entre las cuales se tienen que establecer complejas interacciones de forma coordinada. Las enzimas clave se denominan *DNA polimerasas*, y son las que promueven la formación de los enlaces que conectan las unidades del esqueleto del DNA. La bacteria *E. coli* tiene cinco DNA polimerasas, designadas mediante números romanos, que intervienen en la replicación y en la reparación del DNA (**Tabla 34.1**). En este capítulo centraremos nuestra atención en dos polimerasas clave: la DNA polimerasa I y la DNA polimerasa III.

Tabla 34.1 DNA polimerasas de *E. coli*

Enzima	Función	Otras actividades enzimáticas	Tipo de daño en el DNA
Polimerasa I	Eliminación del cebador y reparación del DNA	Exonucleasa 5′ → 3′	
		Exonucleasa 5′ → 3′	
Polimerasa II	Reparación	Exonucleasa 5′ → 3′	Unión de hidrocarburos voluminosos a las bases
Polimerasa III	Replicación	Exonucleasa 5′ → 3′	
Polimerasa IV	Reparación		Unión de hidrocarburos voluminosos a las bases
Polimerasa V	Reparación		Unión de hidrocarburos voluminosos a las bases
			Lugares que carecen de bases
			Bases unidas covalentemente

Nota: las polimerasas II, IV y V pueden replicar regiones del DNA dañadas (Capítulo 35). Se denominan polimerasas que reparan lesiones o polimerasas propensas a cometer errores.

La DNA polimerasa cataliza la formación de enlaces fosfodiéster

Las DNA polimerasas catalizan la adición, paso a paso, de unidades de desoxirribonucleótidos a una hebra de DNA (**Figura 34.1**). En su versión más sencilla, la reacción catalizada es

$$(\text{DNA})_n + \text{dNTP} \rightleftharpoons (\text{DNA})_{n+1} + \text{PP}_i$$

donde dNTP representa cualquier desoxirribonucleótido y PP_i es el ion pirofosfato. La síntesis de DNA presenta las siguientes características:

1. La reacción necesita los cuatro precursores activados —es decir, *los desoxinucleótidos 5′-trifosfato dATP, dGTP, dCTP y dTTP*— así como el ion Mg^{2+}.

Un molde es una secuencia de ácidos nucleicos que determina la secuencia de un ácido nucleico complementario.

2. *La nueva hebra de DNA se ensambla directamente sobre el DNA molde preexistente.* Las DNA polimerasas solo catalizan de manera eficaz la formación de un enlace fosfodiéster si la base del nucleósido trifosfato entrante es complementaria a la base

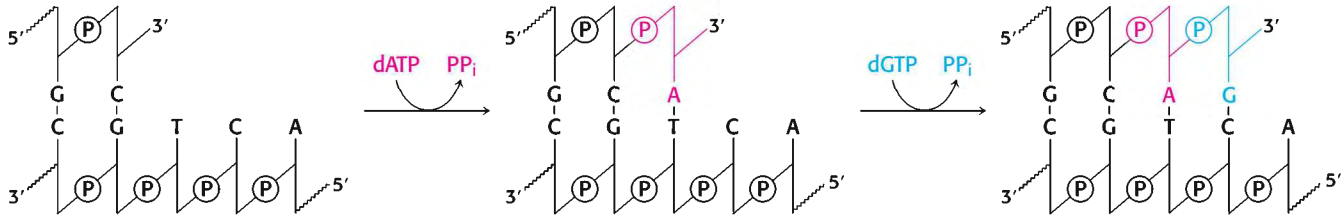


Figura 34.1 Reacción de polimerización catalizada por las DNA polimerasas.

de la hebra *molde*. Por tanto, *la DNA polimerasa es una enzima dirigida por el molde* que sintetiza un producto con una secuencia de bases complementaria a la del molde.

3. *Para comenzar la síntesis, las DNA polimerasas necesitan un cebador*. Una hebra *cebadora* con un grupo 3′-OH libre tiene que encontrarse ya unida a la hebra molde. La reacción de elongación de la hebra catalizada por las DNA polimerasas es un ataque nucleofílico por parte del extremo 3′-OH de la hebra que está creciendo sobre el átomo de fósforo más interno del desoxinucleósido trifosfato (**Figura 34.2**). Se forma un puente fosfodiéster y se libera pirofosfato. Posteriormente, la pirofosfatasa hidroliza el pirofosfato generando dos iones ortofosfato (P_i), contribuyendo así a impulsar el proceso de polimerización. *La elongación de la hebra de DNA tiene lugar en la dirección 5′ → 3′*.

Un cebador es el segmento inicial de un polímero que va a ser alargado y del que depende la elongación.

4. *Muchas DNA polimerasas son capaces de corregir errores en el DNA eliminando los nucleótidos mal emparejados*. Estas polimerasas tienen, además, una actividad nucleasa que les permite escindir las bases incorrectas mediante una reacción distinta. Por ejemplo, la DNA polimerasa I posee tres centros activos diferentes: el centro polimerasa, un centro exonucleasa 3′ → 5′ y un centro exonucleasa 5′ → 3′. La actividad nucleasa 3′ → 5′ contribuye a la extraordinaria fidelidad de la replicación del DNA, que presenta una tasa de error por cada par de bases menor de 10^{-8}. En breve, estudiaremos la función de la actividad nucleasa 5′ → 3′.

Se conocen las estructuras tridimensionales de varias enzimas DNA polimerasa. La primera de estas estructuras resuelta se correspondía con un fragmento de la DNA polimerasa I de *E. coli*, denominado fragmento de Klenow, que estaba formado por la polimerasa y la exonucleasa 3′ → 5′. Su forma es parecida a la de una mano derecha con dominios denominados dedos, pulgar y palma (**Figura 34.3**). Los dominios

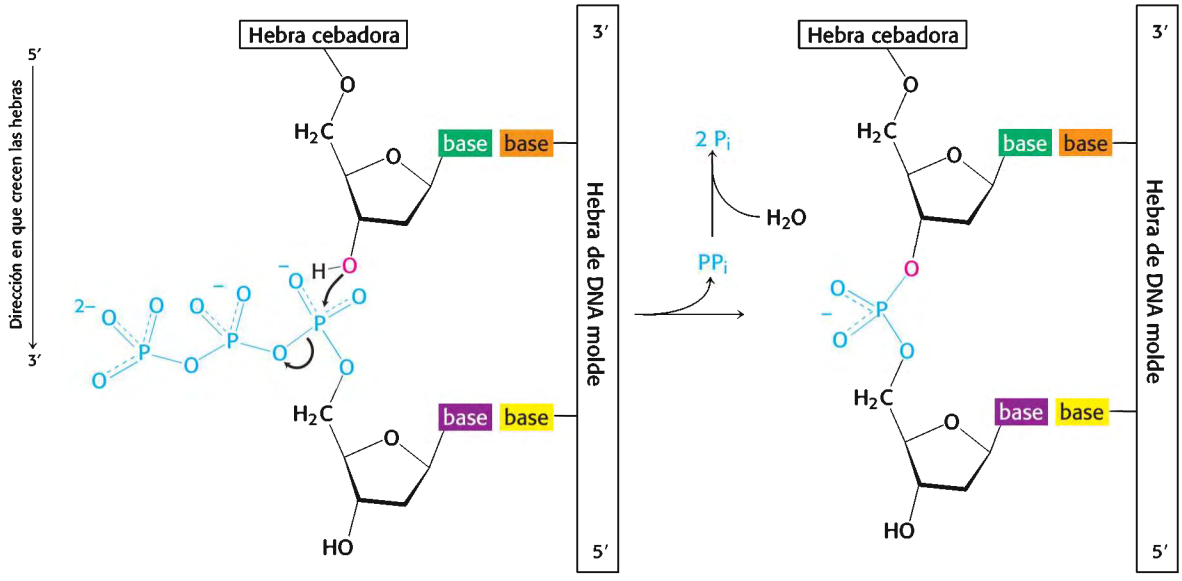


Figura 34.2 Reacción de elongación de la hebra. Las DNA polimerasas catalizan la formación de un puente fosfodiéster. La elongación de la hebra de DNA avanza en la dirección 5′ → 3′.

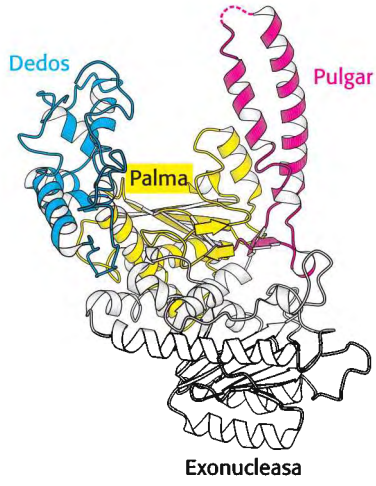


Figura 34.3 Estructura de la DNA polimerasa. La primera estructura de una DNA polimerasa resuelta fue la de un fragmento de la DNA polimerasa I de *E. coli* denominado fragmento de Klenow. *Observe* que, al igual que otras polimerasas, la unidad polimerasa se asemeja a una mano derecha con los dedos (en color azul), la palma (en color amarillo) y el pulgar (en color rojo). El fragmento de Klenow también incluye un dominio exonucleasa que elimina las bases de los nucleótidos incorrectas. [Elaborada a partir de 1DPI.pdb.]

dedos y pulgar rodean el DNA —del mismo modo en el que sus propios dedos rodearían un bate de béisbol— y lo mantienen firmemente sujeto a lo largo del centro activo de la enzima, que está situado en el dominio de la palma.

La especificidad de la replicación está determinada por la complementariedad de las bases

Como el DNA es el lugar donde se almacena la información genética, se tiene que replicar con gran precisión. Cada base añadida a la hebra en crecimiento tendría que ser la base complementaria, según los emparejamientos de Watson-Crick, a la base correspondiente de la hebra molde. La unión del dNTP que presente la base apropiada se ve favorecida por la formación de un par de bases, que se estabiliza mediante puentes de hidrógeno específicos. La unión de una base no complementaria es menos probable porque las interacciones son más débiles desde el punto de vista energético. Aunque los puentes de hidrógeno que se establecen entre dos bases complementarias contribuyen de forma significativa a la fidelidad de la replicación del DNA, la complementariedad global de la forma también resulta decisiva. Hay estudios que demuestran que un nucleótido con una base con una forma muy parecida a la adenina pero incapaz de formar los puentes de hidrógenos característicos del par de bases sigue siendo capaz de dirigir la incorporación de la timina, tanto *in vitro* como *in vivo* (**Figura 34.4**). Sin embargo, las DNA polimerasas replican el DNA con mucha más fidelidad de la que se puede explicar únicamente mediante este tipo de interacciones.

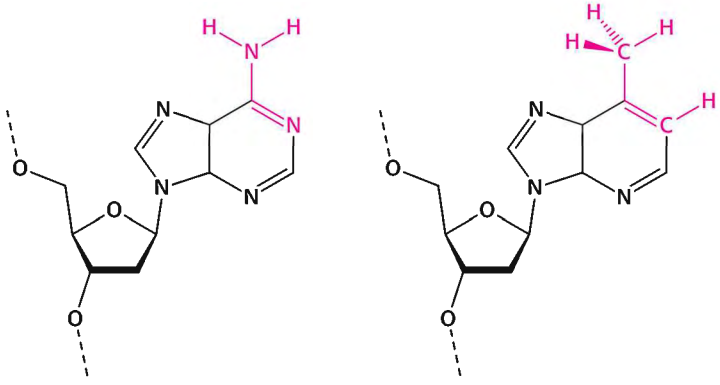


Figura 34.4 Complementariedad de formas. El análogo de una base (estructura de la derecha) tiene la misma forma que la adenosina, pero los grupos que forman puentes de hidrógeno entre pares de bases han sido sustituidos por grupos incapaces de formar puentes de hidrógeno (mostrados en color rojo). No obstante, las investigaciones ponen de manifiesto que, una vez incorporado a la hebra molde, este análogo dirige la inserción de la timidina durante la replicación del DNA.

¿Cuál es el fundamento de la baja tasa de error de la DNA polimerasa? La respuesta a esta cuestión es compleja, pero un factor importante es el ajuste inducido —el cambio en la estructura de la enzima que tiene lugar cuando se une al nucleótido correcto. Las DNA polimerasas se cierran en torno al desoxinucleósido trifosfato (dNTP) entrante, tal y como se muestra en la **Figura 34.5**. La unión de un dNTP al centro activo de una DNA polimerasa desencadena un cambio conformacional: el domino dedos rota formando un estrecho bolsillo en el que solo se puede acomodar fácilmente un par de bases que tenga la forma apropiada.

Aspecto clínico

La separación de las hebras del DNA requiere helicasas específicas y la hidrólisis del ATP

Para que una molécula de DNA de doble hebra se replique, las dos hebras de la doble hélice se tienen que separar, al menos en el lugar de la replicación. Esta separación permite que cada hebra actúe como un molde sobre el que se pueda ensamblar una

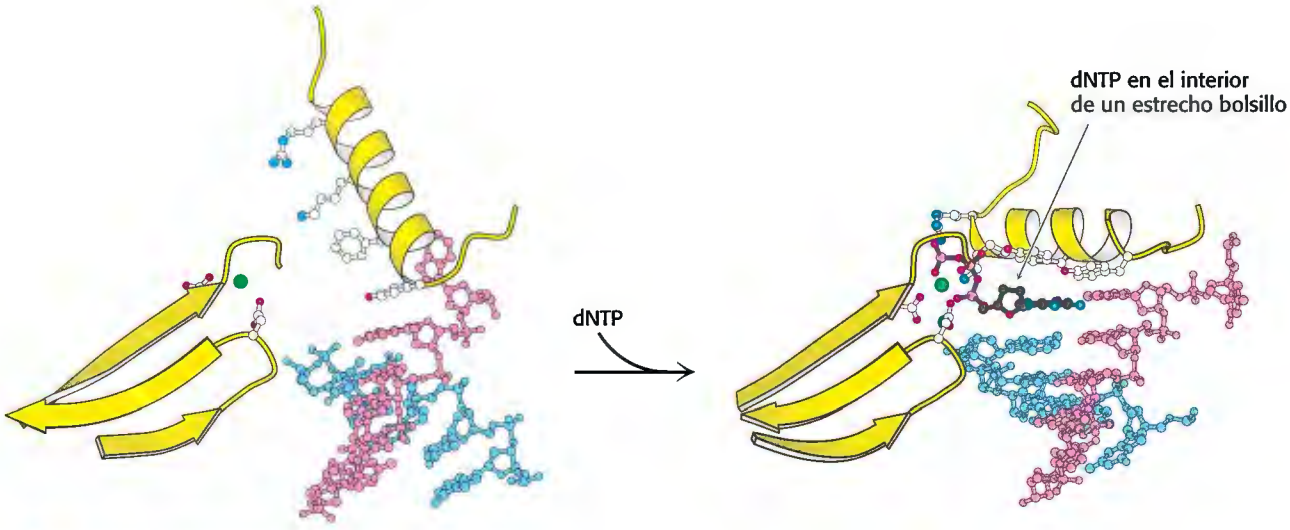


Figura 34.5 Selectividad de formas. La unión de un desoxirribonucleósido trifosfato (dNTP) a la DNA polimerasa induce un cambio conformacional, que genera un estrecho bolsillo para el par de bases formado por el dNTP y su pareja en la hebra molde. Este cambio conformacional solo es posible cuando el dNTP establece un emparejamiento de tipo Watson-Crick con la base del molde. Solo se muestra la región de la polimerasa que interviene directamente en la unión a nucleótidos (lazos de color amarillo). La bola verde representa al ion Mg^{2+}. [Elaborada a partir de 1T7P.pdb.]

nueva cadena de polinucleótidos. Unas enzimas específicas, denominadas *helicasas*, utilizan la energía de la hidrólisis del ATP para impulsar la separación de las hebras. Los estados patológicos que surgen como consecuencia de fallos en la actividad helicasa dan fe de la importancia de estas enzimas. Por ejemplo, el síndrome de Werner, que se caracteriza por un envejecimiento prematuro, se debe a un defecto en la actividad helicasa (**Figura 34.6**).

Las helicasas son una familia amplia y variada de enzimas que intervienen en muchos procesos biológicos. Normalmente, las helicasas que participan en la replicación del DNA son oligómeros que contienen seis subunidades que adoptan una estructura en forma de anillo. Cada subunidad tiene un bucle que se extiende hacia el centro del anillo y que interacciona con el DNA. La **Figura 34.7** muestra un posible mecanismo de acción de una helicasa. Dos subunidades se encuentran unidas al ATP, dos al ADP y al P_i y otras dos, al principio, se encuentran libres de nucleótidos. Una de las hebras de la doble hélice pasa a través del agujero central de la helicasa, uniéndose a los bucles de dos subunidades adyacentes, una de las cuales está unida



Figura 34.6 Síndrome de Werner. El síndrome de Werner es una enfermedad muy rara que se caracteriza por un envejecimiento prematuro. (A) Las personas afectadas por el síndrome de Werner se desarrollan con normalidad hasta la adolescencia y, a partir de entonces, comienzan a envejecer rápidamente. (B) A los 40 años parece que son varias décadas más viejos. [Cortesía del International Registry of Werner Syndrome, www.wernersyndrome.org.]

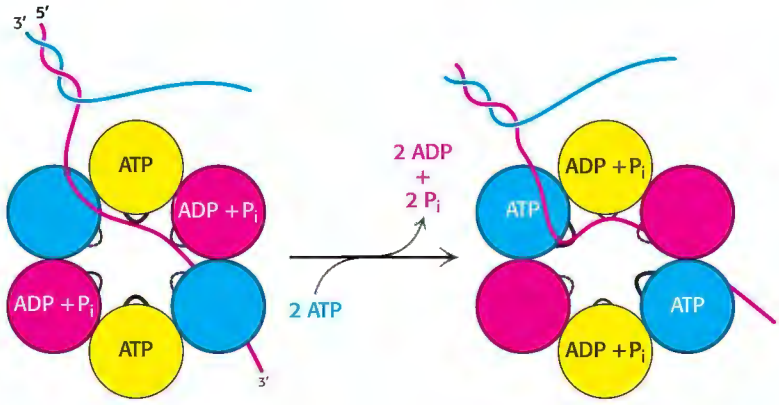


Figura 34.7 Mecanismo de la helicasa. Una de las hebras de la doble hélice pasa a través del orificio central de la helicasa y se une a los bucles de dos subunidades adyacentes. Dos de las subunidades no se encuentran unidas a nucleótidos. Al unirse el ATP a estas dos subunidades y liberarse el ADP + P_i de otras dos subunidades, el hexámero de la helicasa experimenta un cambio conformacional que tira del DNA hacia la helicasa. La helicasa actúa como una cuña que fuerza la separación de las dos hebras del DNA.

al ATP y la otra al ADP + P_i. La unión de ATP a los dominios que, al principio, no estaban unidos a nucleótidos, da lugar a un cambio conformacional en la totalidad del hexámero, provocando la liberación del ADP + P_i de las dos subunidades y la unión del DNA de hebra sencilla a uno de los dominios que se acaba de unir al ATP. Este cambio conformacional va tirando del DNA, haciéndolo pasar por el centro del hexámero. La proteína actúa como una cuña que obliga a las dos hebras de la doble hélice a separarse. Este ciclo se repite una y otra vez, haciendo que, en cada ciclo, se avance la distancia correspondiente a dos bases de la hebra del DNA. ■

Las topoisomerasas preparan el DNA para su desenrollamiento

La mayoría de las moléculas de DNA que hay en la naturaleza están superenrolladas negativamente. ¿A qué se debe este predominio? Como se comentó en el Capítulo 33, el superenrollamiento negativo surge como consecuencia de un desenrollamiento o de un enrollamiento insuficiente del DNA. Básicamente, el superenrollamiento negativo prepara el DNA para los procesos que requieren la separación de las hebras, como es el caso de la replicación. Sin embargo, la presencia de superenrollamientos en las inmediaciones de las regiones que se están desenrollando dificultaría el desenrollamiento (**Figura 34.8**). Por tanto, es preciso ir eliminando continuamente los superenrollamientos negativos, y relajar el DNA, a medida que la hélice se va desenrollando.



Figura 34.8 Consecuencias de la separación de las hebras. El DNA se tiene que desenrollar localmente para dejar expuestos los moldes de hebra sencilla para su replicación. Este desenrollamiento impone un estrés en la molécula, ya que provoca el superenrollamiento de las regiones adyacentes.

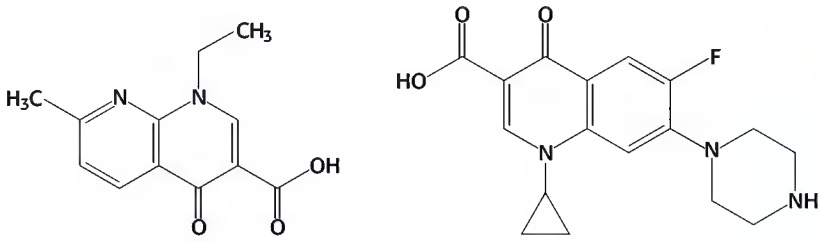
Unas enzimas denominadas *topoisomerasas* introducen o eliminan superenrollamientos provocando escisiones transitorias en el DNA. Las *topoisomerasas de tipo I* catalizan la relajación del DNA superenrollado, un proceso favorable desde el punto de vista termodinámico. Las *topoisomerasas de tipo II* utilizan la energía libre de la hidrólisis del ATP para introducir superenrollamientos negativos en el DNA. En bacterias, la topoisomerasa de tipo II se denomina *DNA girasa*.

Girar consiste en moverse de forma circular o espiral o dar vueltas, normalmente, en torno a un punto fijo o a un eje.

Aspecto clínico

La topoisomerasa bacteriana es una diana terapéutica

La DNA girasa es la diana de varios antibióticos que inhiben esta topoisomerasa bacteriana en mayor medida que a la eucariótica. La *novobiocina* bloquea la unión del ATP a la girasa. Por el contrario, el *ácido nalidíxico* y la *ciprofloxacina* interfieren con la ruptura y posterior unión de las hebras de DNA. Estos dos inhibidores de la girasa se utilizan mucho para tratar las infecciones del tracto urinario, entre otras.



Ácido nalidíxico **Ciprofloxacina**

La ciprofloxacina, más conocida como "cipro", se hizo "famosa" en los Estados Unidos a causa de los envenenamientos por ántrax que tuvieron lugar en otoño de 2001 (**Figura 34.9**). Es un potente antibiótico de amplio espectro que impide el envenenamiento por ántrax evitando el crecimiento de *Bacillus anthracis*, siempre y cuando se administre poco después de la infección. ■



Figura 34.9 Envenenamiento por ántrax en los Estados Unidos en 2001. Un buzón de correos en Hamilton, New Jersey, cubierto de plástico debido a una posible contaminación con esporas de *B. anthracis*. Al fondo, la bandera ondea a media asta en honor a dos empleados de correos de Hamilton que murieron envenenados por el ántrax. [William Thomas Cain/Getty Images.]

Muchas polimerasas comprueban las bases recién añadidas y escinden los errores

Muchas polimerasas incrementan aún más la fidelidad de la replicación utilizando mecanismos de corrección de errores. Así, la *DNA polimerasa I* de *E. coli*, utilizada en la replicación y reparación del DNA, presenta, además de la actividad polimerasa, una actividad exonucleasa. La *exonucleasa* elimina los nucleótidos mal emparejados del extremo 3′ del DNA por medio de hidrólisis. Si se inserta un nucleótido incorrecto, el producto erróneamente formado no se puede mantener con la misma firmeza en el centro activo de la polimerasa. Es probable que fluctúe, debido a la mayor debilidad de sus puentes de hidrógeno, y lo abandone para ir a parar al centro activo de la exonucleasa, donde se elimina el nucleótido intruso (**Figura 34.10**). Esta fluctuación es resultado del movimiento browniano (p. 18).

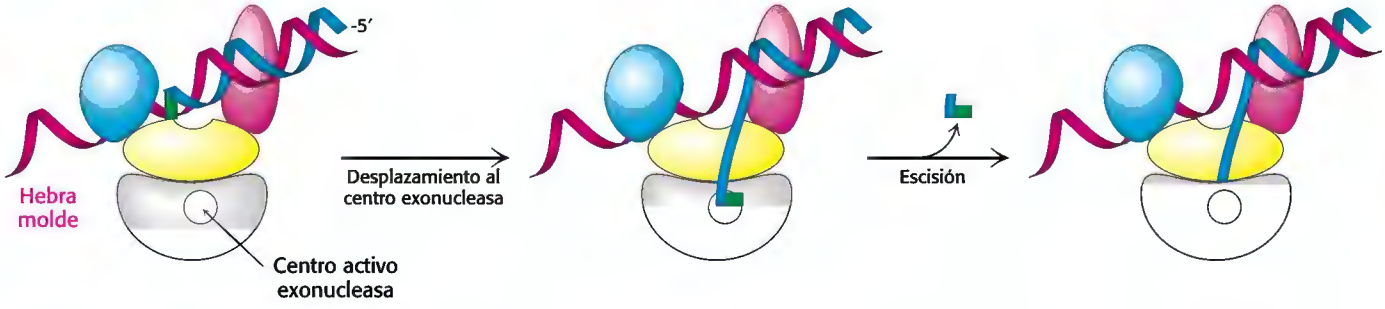


Figura 34.10 Corrección de errores. A veces, la hebra de polinucleótido que se está sintetizando abandona el centro activo polimerasa, especialmente si hay un emparejamiento de bases incorrecto, y migra hacia el centro activo de la exonucleasa. Una vez allí, se escinden uno o más nucleótidos de la hebra recién sintetizada, eliminando posibles bases incorrectas.

¿Cómo detecta la enzima si una base recién añadida es la correcta? En primer lugar, una base incorrecta no se emparejará adecuadamente con la hebra molde y será poco probable que se una a la nueva hebra. En segundo lugar, incluso si se inserta una base incorrecta en la nueva hebra, es probable que sea eliminada. Tras la adición de un nuevo nucleótido, el DNA avanza un par de bases hacia la enzima. Si se ha incorporado una base incorrecta, la enzima se atasca por culpa de la alteración estructural provocada por la presencia de un par de bases que no es del tipo Watson-Crick y la pausa concede más tiempo para que la hebra acceda al centro exonucleasa. Sin embargo, esta función de corrección tiene un coste: la DNA polimerasa I elimina aproximadamente un nucleótido correcto de cada 20. Aunque la eliminación de nucleótidos correctos supone un ligero derroche energético, la corrección de errores incrementa la precisión de la replicación en un factor cercano a 1.000.

? **PREGUNTA RÁPIDA 1** ¿Cuáles son las tres enzimas clave necesarias para la síntesis de DNA? ¿A qué tipo de desafíos bioquímicos se tienen que enfrentar durante la replicación?

✓ 4 Describir cómo se organiza la replicación y distinguir entra la replicación eucariótica y la replicación bacteriana.

34.2 La replicación del DNA está muy coordinada

La replicación del DNA tiene que ser muy rápida, teniendo en cuenta el tamaño de los genomas y la velocidad de la división celular. El genoma de *E. coli* contiene 4,6 millones de pares de bases y se copia en menos de 40 minutos. Por tanto, se tienen que incorporar 2.000 bases por segundo. Las actividades enzimáticas tienen que estar muy bien coordinadas para replicar genomas enteros de forma precisa y rápida.

Comenzaremos nuestro estudio de la coordinación de la replicación del DNA con *E. coli*, ya que es el que más se ha investigado. En este organismo, que tiene un genoma pequeño, la replicación comienza en un único lugar y prosigue a lo largo del cromosoma circular. La coordinación de la replicación del DNA eucariótico es más compleja porque hay múltiples lugares de iniciación repartidos por todo el genoma y porque se necesita una enzima adicional para replicar los extremos de los cromosomas lineales.

En *Escherichia coli*, la replicación del DNA comienza en un único lugar

En *E. coli*, la replicación del DNA comienza en un único lugar de su genoma de $4{,}6 \times 10^6$ pb. Este *origen de la replicación*, que se denomina *locus oriC*, es una región de 245 pb que presenta varias características singulares (Figura 34.11).

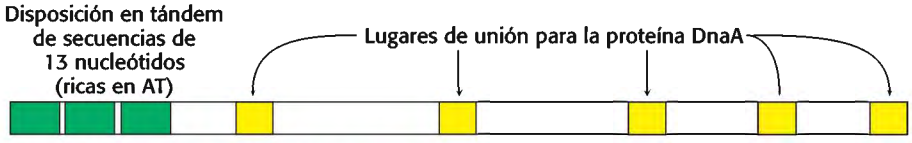


Figura 34.11 Origen de la replicación en *E. coli*. El locus *oriC* tiene una longitud de 245 pb. Contiene una disposición en serie de tres regiones prácticamente idénticas ricas en AT (en color verde) y cinco lugares de unión para la proteína DnaA (en color amarillo).

El *locus oriC* contiene cinco copias de una secuencia que corresponde al lugar preferido para la unión de la proteína *DnaA*, que es la que reconoce el origen de la replicación. Además, el *locus* contiene una disposición en serie de secuencias de 13 pb ricas en pares de bases AT. La unión de las moléculas de DnaA inicia la construcción del complejo de replicación (Figura 34.12A). A continuación, otras proteínas, como *DnaB*, se unen a DnaA. La proteína DnaB es una helicasa que utiliza la hidrólisis del ATP para desenrollar la doble hélice, incluyendo las regiones ricas en AT. Después, la *proteína de unión a hebras sencillas* (SSB) se une a las regiones de hebra sencilla recién creadas evitando que las dos hebras complementarias vuelvan a formar la doble hélice (Figura 34.12B). El resultado de este proceso es la generación de una estructura denominada el *complejo precebador*, que facilita el acceso de otras enzimas al DNA de hebra sencilla para iniciar la síntesis de las hebras complementarias.

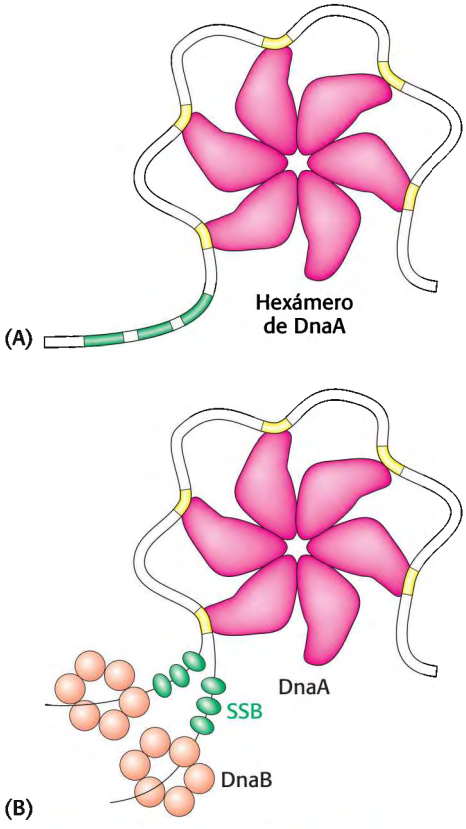


Figura 34.12 Ensamblaje del DnaA y formación del complejo precebador. (A) Monómeros de DnaA se unen a sus lugares de unión (mostrados en color amarillo) en *oriC* y se asocian formando una estructura compleja, probablemente un hexámero cíclico como el que se muestra en la figura. Esta estructura marca el origen de la replicación y favorece la separación de las hebras del DNA en los lugares ricos en AT (en color verde). (B) Las regiones ricas en AT se desenrollan mediante la DnaB y se mantienen separadas gracias a las proteínas de unión a hebras sencillas (SSB). En este momento, el complejo está listo para la síntesis de los RNA cebadores y para el ensamblaje de la holoenzima de la DNA polimerasa III.

La primasa sintetiza un RNA cebador que permite dar comienzo a la síntesis de DNA

Incluso con el molde de DNA expuesto y el complejo precebador ensamblado sigue habiendo obstáculos para la síntesis del DNA. Las DNA polimerasas solo pueden añadir nucleótidos si hay un grupo hidroxilo libre; son incapaces de comenzar una hebra partiendo de cero. Por lo tanto, se necesita un cebador. ¿Cómo se origina este cebador? Una pista importante surgió a raíz de la observación de que para iniciar la síntesis del DNA se necesita la síntesis de RNA. De hecho, *el RNA es el cebador para la síntesis del DNA*. Una RNA polimerasa especializada denominada *primasa* se une al complejo precebador formando un ensamblaje multienzimático denominado *primosoma*. La primasa sintetiza un fragmento corto de RNA (de unos diez nucleótidos) complementario a una de las hebras molde de DNA (Figura 34.13). El RNA cebador es eliminado por una exonucleasa 5′ → 3′; en *E. coli*, la exonucleasa está presente en el tercer centro activo de la DNA polimerasa I.

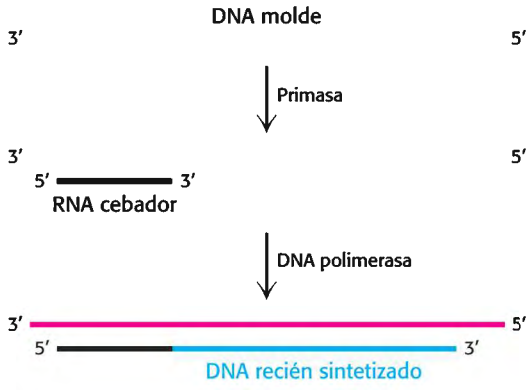


Figura 34.13 Síntesis del cebador. El cebador para la replicación del DNA es un corto fragmento de RNA sintetizado por la primasa, una RNA polimerasa. En una etapa posterior de la replicación se elimina el RNA cebador.

Una hebra del DNA se sintetiza de forma continua y la otra hebra se sintetiza de forma fragmentada

Las dos hebras del DNA parental actúan como moldes para la síntesis de nuevo DNA. El lugar donde se produce la síntesis se denomina *horquilla de replicación*, porque el complejo formado por las hebras hijas recién sintetizadas surgiendo a partir de la doble hélice parental se asemeja a un tenedor de dos puntas (**Figura 34.14**). Recordemos que las dos hebras son antiparalelas; es decir, están orientadas en direcciones opuestas. A simple vista, parece que las dos hebras hijas crecen en la misma dirección, tal y como se muestra en la Figura 34.13. Sin embargo, esta impresión de que crecen en la misma dirección plantea un enigma, ya que todas las DNA polimerasas conocidas sintetizan DNA en la dirección 5′ → 3′, no en la dirección 3′ → 5′. Entonces, ¿por qué da la sensación de que una de las dos hebras hijas del DNA crece en la dirección 3′ → 5′?

Este misterio se resolvió cuando una investigación meticulosa descubrió que *una fracción significativa del DNA recién sintetizado se encuentra en forma de pequeños fragmentos*. Estas unidades de aproximadamente mil nucleótidos, denominados *fragmentos de Okazaki* (en honor a Reiji Okazaki, que fue el primero en identificarlos), se pueden encontrar de forma transitoria en las proximidades de la horquilla de replicación (**Figura 34.15**). A medida que avanza la replicación, estos fragmentos se van uniendo covalentemente gracias a la acción de la *DNA ligasa*, una enzima que utiliza la hidrólisis del ATP para impulsar la unión de los fragmentos de DNA para formar una de las hebras hijas. La otra hebra de nueva creación se sintetiza de forma continua. La hebra formada a partir de los fragmentos de Okazaki se denomina *hebra retardada*, mientras que la hebra que se sintetiza de forma ininterrumpida se denomina *hebra conductora*. Tanto los fragmentos de Okazaki como la hebra conductora se sintetizan en la dirección 5′ → 3′. *El ensamblaje discontinuo de la hebra retardada permite que la polimerización, que a nivel de los nucleótidos transcurre en la dirección 5′ → 3′, dé lugar a un crecimiento neto en la dirección 3′ → 5′.*

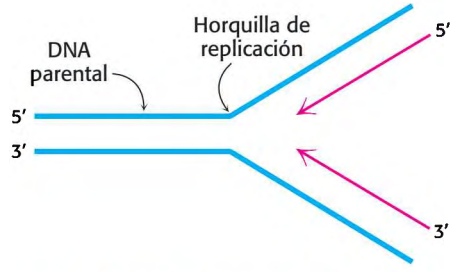


Figura 34.14 Replicación del DNA a poca resolución. A primera vista, da la impresión de que las dos hebras de DNA molde se replican de forma continua en la misma dirección.

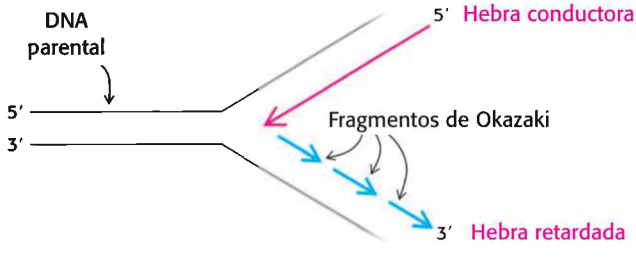


Figura 34.15 Fragmentos de Okazaki. En una horquilla de replicación, las dos hebras se sintetizan en dirección 5′ → 3′. La hebra conductora se sintetiza de manera continua, mientras que la hebra retardada se sintetiza mediante cortos segmentos denominados fragmentos de Okazaki.

La replicación del DNA requiere polimerasas con elevada procesividad

Ya nos hemos familiarizado con las enzimas que intervienen en la replicación del DNA. Entre ellas se incluyen las helicasas y las topoisomerasas, y hemos estudiado las propiedades generales de las polimerasas centrándonos en la DNA polimerasa I. Ahora vamos a estudiar la enzima responsable de la síntesis rápida y precisa del DNA

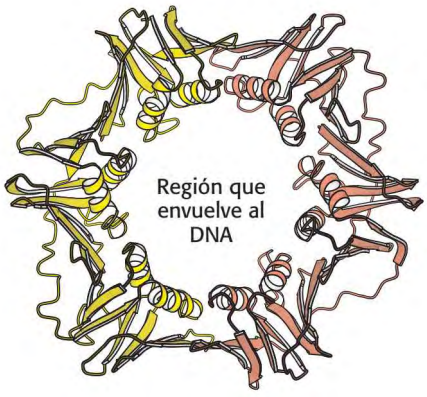


Figura 34.16 Estructura de una abrazadera de DNA deslizante.
Un dímero de subuniudades β_2 de la DNA polimerasa III forma un anillo que rodea la doble hélice de DNA. *Observe* la cavidad central por la que se desliza el DNA molde. Cuando la molécula de DNA queda sujeta por el anillo, la enzima polimerasa es capaz de moverse sin desprenderse del DNA sustrato. [Elaborada a partir de 2POL.pdb.]

en *E. coli* —la holoenzima *DNA polimerasa III*. Las características que definen a esta asociación de múltiples subunidades son: su fidelidad, su elevado potencial catalítico y su procesividad. El término *procesividad* hace referencia a la capacidad de la enzima para catalizar múltiples reacciones consecutivas sin desprenderse del sustrato. La holoenzima cataliza la formación de muchos miles de enlaces fosfodiéster antes de separarse del molde, en comparación con los tan solo 20 enlaces que forma la DNA polimerasa I. La holoenzima DNA polimerasa III se aferra a su molde y no se desprende de él hasta haberlo replicado por completo. Otra característica distintiva de la holoenzima es su destreza catalítica: se añaden 1.000 nucleótidos por segundo, en comparación con los tan solo 10 nucleótidos por segundo de la DNA polimerasa I. Esta aceleración se consigue sin perder precisión. La mayor destreza catalítica de la polimerasa III se debe, en gran medida, a su procesividad; no se pierde el tiempo en unirse y separarse una y otra vez del molde.

El origen de la procesividad —la capacidad para permanecer "en el tajo"— se encuentra en la subunidad β_2, que tiene la forma de un anillo estrellado (**Figura 34.16**). Su orificio central de 35 Å de diámetro puede acomodar fácilmente una molécula de DNA de doble hélice y dejar espacio suficiente entre el DNA y la proteína para permitir que se deslice y gire rápidamente en el transcurso de la replicación. Una velocidad catalítica de 1.000 nucleótidos polimerizados por segundo requiere el desplazamiento de 100 vueltas de la doble hélice de DNA (una longitud de 3.400 Å, ó 0,34 μm) a través del orificio central de β_2 por segundo. Por tanto, *β_2 desempeña un papel fundamental en la replicación, ya que actúa como una abrazadera que se desliza sobre el DNA.*

¿Cómo se queda atrapado el DNA en el interior de la *abrazadera deslizante*? Las polimerasas también incluyen asociaciones de subunidades que actúan a modo de *sistema de cierre de la abrazadera*. Estas enzimas se unen a la abrazadera deslizante y, utilizando la energía del ATP, separan las dos subunidades de la abrazadera deslizante por uno de sus lados. El DNA puede pasar a través del hueco e introducirse en el orificio central. A continuación, la hidrólisis del ATP libera la abrazadera, con lo que ya se puede cerrar en torno al DNA.

La hebra conductora y la hebra retardada se sintetizan de forma coordinada

En la horquilla de replicación, las polimerasas encargadas de la replicación, como la DNA polimerasa III, sintetizan las hebras conductora y retardada de forma simultánea (**Figura 34.17**). La DNA polimerasa III comienza la síntesis de la hebra conductora partiendo del RNA cebador sintetizado por la primasa. La doble hélice de DNA situada por delante de la polimerasa se ha desenrollado gracias a una helicasa. Las proteínas de unión a hebras sencillas se unen a las hebras desenrolladas, manteniéndolas separadas

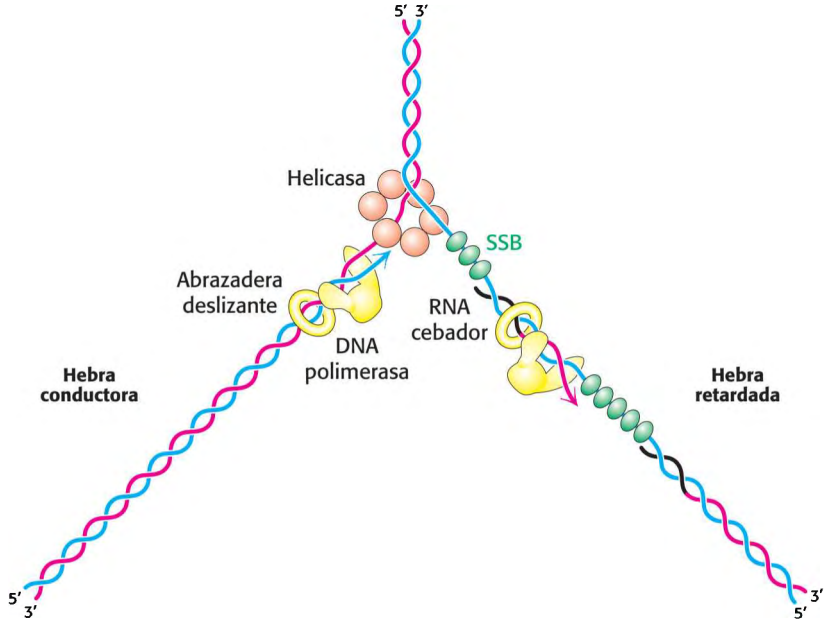


Figura 34.17 Horquilla de replicación.
Representación esquemática de la disposición de la DNA polimerasa III, las enzimas asociadas y las proteínas presentes en la horquilla de replicación. La helicasa separa las dos hebras de la doble hélice parental, permitiendo a las DNA polimerasas utilizar cada una de las hebras como molde para la síntesis de DNA. Abreviaturas: SSB, proteínas de unión a hebras sencillas (*single-strand-binding protein*).

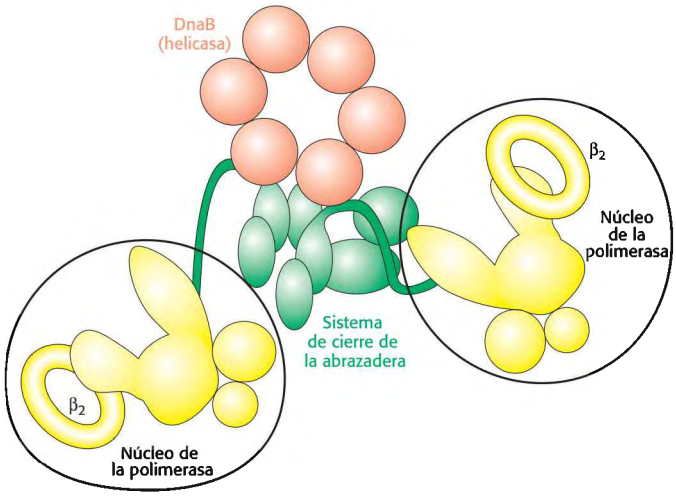


Figura 34.18 Holoenzima de la DNA polimerasa. Cada holoenzima está formada por dos copias del núcleo de la enzima polimerasa unidas a una estructura central. Esta estructura incluye el sistema de cierre de la abrazadera, que se une a la helicasa DnaB hexamérica.

para que ambas puedan actuar como moldes. La hebra conductora se sintetiza de forma continua por medio de la polimerasa III. Al mismo tiempo, la topoisomerasa II introduce superenrollamientos negativos para evitar una crisis topológica.

La forma de sintetizar la hebra retardada es, necesariamente, más compleja. Como ya se ha mencionado, la hebra retardada se sintetiza a base de fragmentos, de modo que la polimerización 5′ → 3′ dé lugar a un crecimiento global en la dirección 3′ → 5′. Sin embargo, la síntesis de la hebra retardada está coordinada con la síntesis de la hebra conductora. ¿Cómo se consigue esta coordinación? El análisis de las subunidades que componen la holoenzima DNA polimerasa III revela una elegante solución (**Figura 34.18**). La holoenzima incluye dos copias del núcleo de la enzima polimerasa, que consta de la propia DNA polimerasa, una exonucleasa 3′ → 5′ para corregir errores (ver la p. 599), dos copias de la abrazadera deslizante formada por un dímero de subunidades β_2, y otras proteínas. Las enzimas del núcleo se encuentran unidas a una estructura central que está formada por el sistema de cierre de la abrazadera y por unas subunidades que interaccionan con la proteína de unión a hebras sencillas (SSB, *single-strand-binding protein*). La totalidad de la estructura central interacciona con la helicasa DnaB.

El molde de la hebra retardada se encuentra formando un bucle que pasa a través del centro activo polimerasa de una de las subunidades de la polimerasa III en la dirección 3′ → 5′. Tras añadir aproximadamente 1.000 nucleótidos, la DNA polimerasa III se disocia del molde de la hebra retardada abriendo la abrazadera deslizante. A continuación, se forma un nuevo bucle, se introduce en la abrazadera deslizante y la primasa vuelva a sintetizar un pequeño fragmento de RNA cebador para iniciar la síntesis de otro fragmento de Okazaki. Esta forma de replicación se conoce con el nombre de *modelo del trombón* porque el tamaño del bucle se alarga y se acorta como la vara de un trombón (**Figura 34.19**). Los huecos entre los fragmentos de la hebra retardada en crecimiento se rellenan gracias a la DNA polimerasa I. Esta enzima clave también utiliza su actividad exonucleasa 5′ → 3′ para eliminar el RNA cebador situado por delante del centro activo polimerasa. El cebador no puede ser eliminado por la DNA polimerasa III porque la enzima carece de actividad correctora en la dirección 5′ → 3′. Por último, la DNA ligasa conecta los fragmentos. *La DNA ligasa cataliza la formación de un enlace fosfodiéster entre el grupo hidroxilo en posición 3′ del extremo de una cadena de DNA y el grupo fosfato en posición 5′ del extremo de la otra* (**Figura 34.20**). Normalmente, se utiliza el ATP como fuente de energía para impulsar esta reacción, que es desfavorable desde el punto de vista termodinámico.

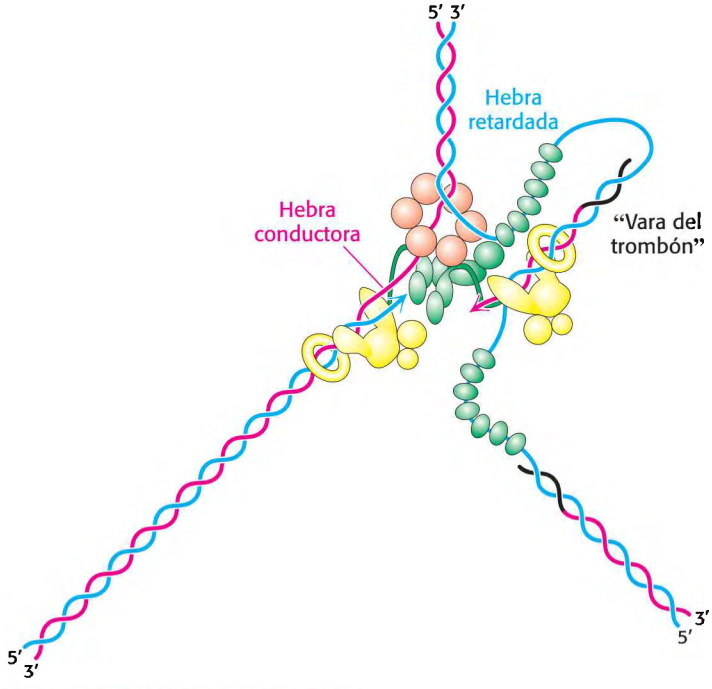


Figura 34.19 Modelo del trombón. La replicación de las hebras conductora y retardada se coordina mediante la formación de un bucle externo en la hebra retardada que da lugar a una estructura que funciona como si fuese la vara de un trombón, haciéndose más grande a medida que avanza la horquilla de replicación. Cuando la polimerasa de la hebra retardada alcanza una región que ya ha sido replicada, la abrazadera deslizante se suelta y se forma un nuevo bucle.

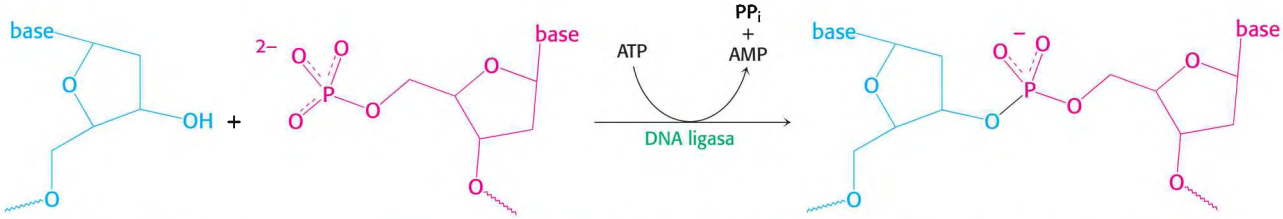


Figura 34.20 Reacción de la DNA ligasa. La DNA ligasa cataliza la unión de una hebra de DNA con un grupo hidroxilo libre en posición 3′ con otra hebra que tenga un grupo fosforilo libre en posición 5′. En eucariotas y en arqueobacterias, para impulsar esta reacción, el ATP se escinde a AMP y PP_i.

? PREGUNTA RÁPIDA 2 ¿Por qué la procesividad es una propiedad crucial para la DNA polimerasa III?

La síntesis de DNA es más compleja en eucariotas que en bacterias

En eucariotas, el mecanismo de la replicación es similar al de las bacterias aunque, en tres aspectos concretos, presenta un mayor grado de dificultad. Uno de ellos es, sencillamente, el tamaño: *E. coli* tiene que replicar 4,6 millones de pares de bases, mientras que una célula humana diploide tiene que replicar 6.000 millones de pares de bases. La segunda complicación se debe al hecho de que, en el caso de *E. coli*, la información genética está contenida en un cromosoma, mientras que, en los seres humanos se tienen que replicar 23 pares de cromosomas. Por último, mientras el cromosoma de *E. coli* es circular, los cromosomas humanos son lineales. Debido a la naturaleza de la síntesis del DNA en la hebra retardada, los cromosomas lineales experimentan un acortamiento con cada ronda de replicación, a menos que se adopten medidas para evitarlo.

Los dos primeras complicaciones se pueden resolver utilizando múltiples orígenes de replicación, a una distancia uno de otro de entre 30 y 300 kilopares de bases (kbp). En los seres humanos, la replicación del genoma completo requiere unos 30.000 orígenes de replicación, es decir, varios cientos en cada cromosoma. Cada origen de replicación representa una unidad de replicación, o *replicón*. El uso de múltiples orígenes de replicación requiere mecanismos que garanticen que cada secuencia se replique una sola vez. ¿Cómo se controlan los replicones para que cada uno se replique una sola vez en cada división celular? Los denominados *factores permisivos*, unas proteínas que permiten (autorizan) la formación del complejo de iniciación de la síntesis del DNA, se unen al origen de replicación. Estas proteínas garantizan que cada replicón se replica una vez, y solo una, en cada ronda de síntesis del DNA. Una vez ensamblado el complejo de iniciación, estos factores permisivos se destruyen. El permiso es válido solo una vez.

Se necesitan dos polimerasas distintas para copiar un replicón eucariótico. La replicación comienza con una polimerasa iniciadora denominada *polimerasa* α. Esta enzima contiene una subunidad primasa, que se utiliza para sintetizar el RNA cebador, así como una DNA polimerasa activa. Cuando esta polimerasa ha añadido un fragmento de aproximadamente 20 desoxinucleótidos al cebador, es reemplazada por la DNA *polimerasa* δ, una enzima con mayor procesividad que, en eucariotas, es la principal encargada de la replicación. Este proceso se denomina *cambio de polimerasas*, ya que una polimerasa es sustituida por otra.

Los telómeros son estructuras singulares localizadas en los extremos de los cromosomas lineales

Mientras que los genomas de prácticamente todas las bacterias son circulares, los cromosomas de los seres humanos y de otros eucariotas son lineales. Los extremos libres de las moléculas de DNA dan lugar a varias complicaciones. En primer lugar, en los extremos de un cromosoma, la región terminal del DNA está desprotegida y, si se deja colgando libremente de los extremos del cromosoma, es probable que, durante la replicación, sea más susceptible a la digestión por exonucleasas. En segundo lugar, la replicación completa de los extremos del DNA es complicada porque las polimerasas solo funcionan en la dirección 5′ → 3′. Tras eliminar el RNA cebador, la hebra retardada tendría un extremo 5′ incompleto. Cada ronda de replicación acortaría aún más el cromosoma que, al igual que el gato de Cheshire, desaparecería lentamente (**Figura 34.21**).

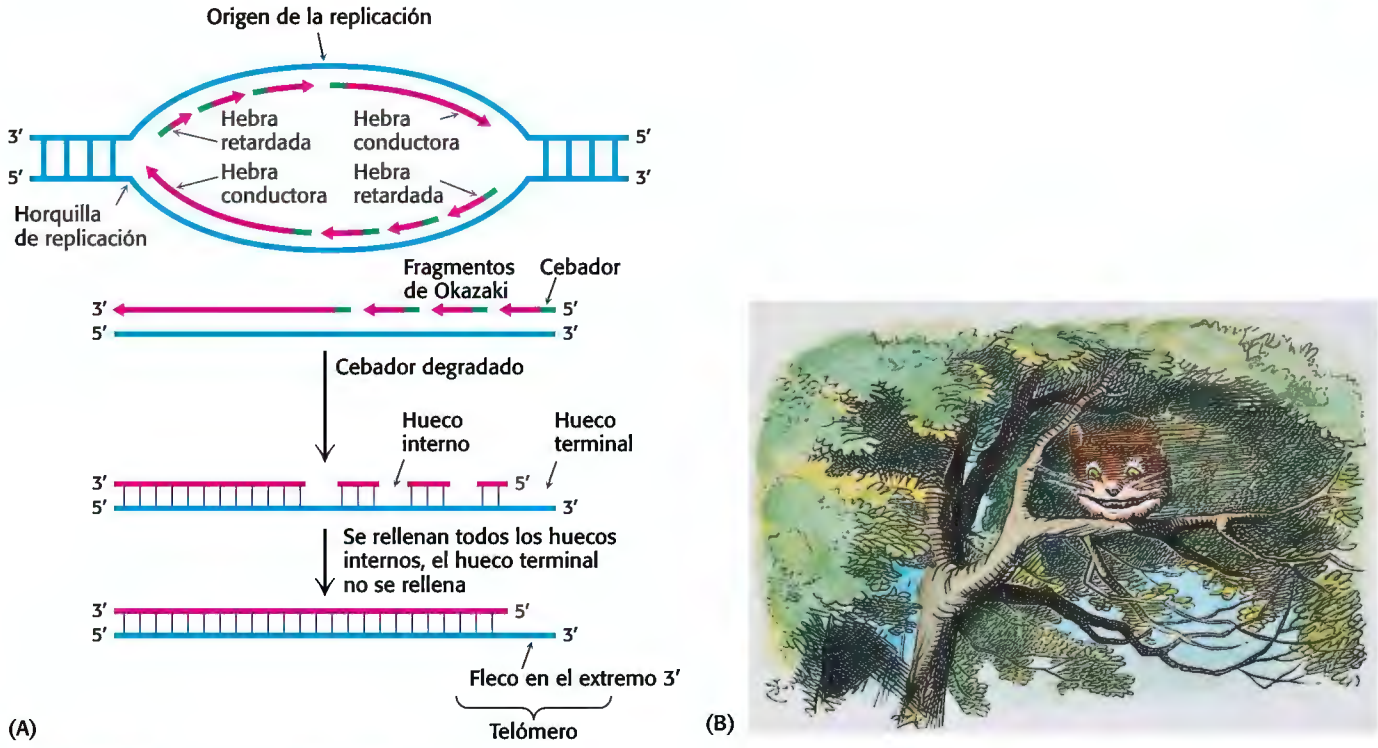


Figura 34.21 Acortamiento de los telómeros. (A) Tras muchos ciclos de replicación, el DNA de los telómeros se iría acortando continuamente. (B) Si no se adoptasen medidas para evitarlo, los telómeros desaparecerían como el gato de Cheshire. [(A) Tomado de A. J. F. Griffiths, S. R. Wessler, R. C. Lewontin y S. B. Carroll, *Introduction to Genetic Analysis* 9.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2008), p. 288. (B) The Granger Collection, New York.]

¿Qué características de los extremos de los cromosomas, denominados *telómeros* (del griego *telos*, que significa "final"), mitigan estos dos problemas? La característica más destacada del DNA telomérico es que contiene cientos de repeticiones en serie de una secuencia de seis nucleótidos. Una de las hebras es ligeramente más larga que la otra y su extremo 3′ es rico en G. En los seres humanos, la secuencia repetida rica en G es AGGGTT. Esta simple repetición descarta la posibilidad de que esta secuencia codifique algún tipo de información pero facilita la formación de grandes bucles en la doble hélice (**Figura 34.22**). Se ha sugerido que la región de hebra sencilla del extremo de la estructura se dobla sobre sí misma y forma una doble hélice con otra región de la secuencia repetida de esa misma hebra, desplazando parte de la doble hélice original del telómero. Esta estructura con forma de lazo se genera y se estabiliza gracias a unas proteínas específicas que se unen a los telómeros. Estas estructuras podrían muy bien ser capaces de proteger los extremos de los cromosomas de la degradación.



Figura 34.22 Modelo propuesto para los telómeros. En el extremo del telómero, la hebra rica en G se extiende formando un segmento de hebra sencilla. En uno de los modelos del telómero, esta región de hebra sencilla invade la doble hélice formando una gran molécula de doble hebra con forma de lazo.

Aspecto clínico

Los telómeros se replican mediante la telomerasa, una polimerasa especializada que tiene su propio molde de RNA

Hoy en día sabemos que los telómeros ayudan a proteger los extremos del DNA, pero sigue sin resolverse la cuestión de cómo se replican los extremos. ¿Qué medidas se toman para evitar que desaparezca la hebra retardada tras repetidos ciclos de repli-

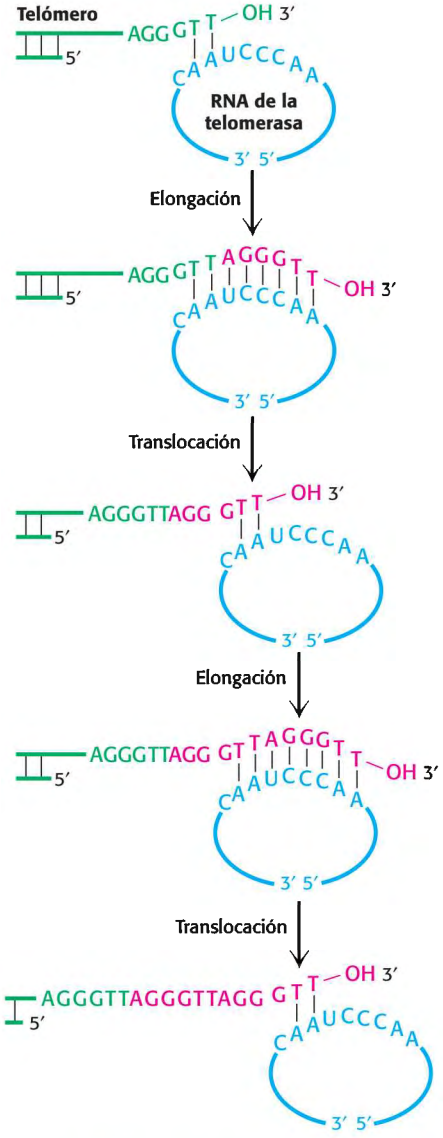


Figura 34.23 Formación de telómeros. Mecanismo para la síntesis de la hebra rica en G del DNA de los telómeros. El RNA molde de la telomerasa se muestra de color azul y los nucleótidos que se añaden a la hebra rica en G del telómero se muestran de color rojo. [Tomado de E. H. Blackburn, *Nature* 350: 569-573, 1991.]

cación? La solución consiste en añadir nucleótidos a la hebra conductora de manera que la hebra retardada tenga siempre, más o menos, la misma longitud. La encargada de realizar esta tarea es la enzima *telomerasa*, que contiene una molécula de RNA que actúa como molde para la extensión de la hebra conductora. La hebra conductora alargada actúa como molde para la elongación de la hebra retardada, garantizando así que el cromosoma no se acorte tras muchas rondas de replicación (Figura 34.23).

En la mayoría de las células humanas, la actividad telomerasa es muy reducida o nula. En consecuencia, a medida que las células se dividen, los telómeros se acortan. En algún momento, la división celular se detiene porque los telómeros son demasiado cortos y se pone en marcha la muerte celular programada. De este modo, el acortamiento de los telómeros actúa como un contador que limita la proliferación celular. De hecho, el acortamiento de los telómeros puede tener algo que ver con el envejecimiento y con el desarrollo de estados patológicos. Entonces, si en los seres humanos la actividad telomerasa es baja, ¿por qué los humanos pueden desarrollar el cáncer, que se caracteriza por una proliferación celular ilimitada? *Una de las características distintivas del cáncer es la reactivación de la telomerasa.* Como las células cancerosas presentan elevados niveles de expresión de la telomerasa, y la mayoría de las células normales no, la telomerasa es una posible diana para las terapias contra el cáncer. Se están investigando diversas estrategias para bloquear la expresión de la telomerasa, o para impedir su actividad, que puedan ser utilizadas para el tratamiento y la prevención del cáncer. ■

Resumen

34.1 Las polimerasas replican el DNA

Las DNA polimerasas son enzimas dirigidas por un molde que catalizan la formación de enlaces fosfodiéster mediante el ataque nucleofílico del grupo hidroxilo en posición 3′ sobre el átomo de fósforo más interno de un desoxinucleósido 5′-trifosfato. No pueden empezar la síntesis partiendo de cero; se necesita un cebador con un grupo hidroxilo libre en posición 3′. Muchas DNA polimerasas comprueban el producto recién creado: su actividad exonucleasa 3′ → 5′ es capaz de corregir el resultado de cada paso de la polimerización. Si hay un nucleótido mal emparejado, se elimina antes de proceder al siguiente paso. En *E. coli*, la DNA polimerasa I repara el DNA e interviene en la replicación. La fidelidad puede aumentar aún más mediante el ajuste inducido que solo da lugar a una conformación catalíticamente activa cuando se forma el complejo enzima, DNA y dNTP correcto.

Las helicasas preparan el camino para la replicación del DNA utilizando la hidrólisis del ATP para separar las hebras de la doble hélice. Las proteínas de unión a hebras sencillas se unen a las hebras separadas del DNA para evitar que se vuelvan a emparejar. La separación del DNA en hebras sencillas genera un estrés por torsión en la región del DNA situada más allá de la zona separada. La topoisomerasa alivia el estrés introduciendo superenrollamientos.

34.2 La replicación del DNA está muy coordinada

En *E. coli*, la replicación del DNA comienza en un único lugar (*oriC*) y prosigue, de forma secuencial, en ambas direcciones. Se necesitan más de 20 proteínas para la replicación. Una helicasa impulsada por ATP desenrolla la región *oriC* creando una horquilla de replicación. En esta horquilla, las dos hebras del DNA parental actúan como moldes para la síntesis de nuevo DNA. Un corto fragmento de RNA sintetizado por la primasa, una RNA polimerasa, pone en marcha la síntesis del DNA. Una hebra del DNA (la hebra conductora) se sintetiza de forma continua, mientras que la otra hebra (la hebra retardada) se sintetiza de forma discontinua, mediante fragmentos de Okazaki de una longitud de 1 kb. Las dos nuevas hebras se sintetizan a la vez gracias a las actividades coordinadas de la holoenzima de la DNA polimerasa III, un dímero asimétrico con gran procesividad. El ensamblaje discontinuo de la hebra retardada permite que una polimerización que, a nivel molecular, se produce en la dirección 5′ → 3′, dé lugar a un crecimiento neto de esta hebra en la dirección 3′ → 5′. El fragmento de RNA cebador se hidroliza gracias a la actividad nucleasa 5′ → 3′ de la DNA polimerasa I, que también se encarga de rellenar los huecos. Por último, los fragmentos de DNA recién sintetizados se unen mediante una DNA ligasa en una reacción impulsada por el ATP.

En eucariotas, la síntesis de DNA es más compleja que en bacterias. Los eucariotas necesitan miles de orígenes de replicación para completar la replicación en un tiempo razonable. La telomerasa, una DNA polimerasa especial dependiente de RNA, es la responsable de replicar los extremos de los cromosomas lineales.

Términos clave

DNA polimerasa (p. 598)
molde (p. 598)
cebador (p. 599)
helicasa (p. 600)
topoisomerasa (p. 602)
exonucleasa (p. 603)
origen de la replicación (p. 604)
primasa (p. 604)
horquilla de replicación (p. 605)
fragmento de Okazaki (p. 605)
DNA ligasa (p. 605)
hebra retardada (p. 605)
hebra conductora (p. 605)
procesividad (p. 606)
abrazadera deslizante (p. 606)
modelo del trombón (p. 607)
telómero (p. 608)
telomerasa (p. 610)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. DNA polimerasas, helicasas y topoisomerasas. Las polimerasas replican de manera fidedigna el DNA. Las helicasas desenrollan la doble hélice, permitiendo el acceso de las polimerasas a la secuencia de las bases. Las topoisomerasas relajan el DNA eliminando superenrollamientos negativos.

2. La DNA polimerasa III se encarga de copiar la totalidad del genoma en un tiempo limitado. Gracias a la procesividad —es decir, la capacidad para permanecer unida al DNA durante miles de pasos de elongación—, la replicación rápida es factible.

Problemas

1. *Guía y punto de partida.* Defina molde y cebador, en relación con la síntesis del DNA. ✓ 3

2. *Cooperación entre polimerasas.* Explique por qué la síntesis del DNA depende de la síntesis del RNA. ✓ 4

3. *Uno de muchos.* ¿Qué es un fragmento de Okazaki? ✓ 4

4. *El primero y el rezagado.* En la síntesis del DNA, ¿qué diferencias hay entre las hebras conductora y retardada? ✓ 4

5. *Homer y Marge.* Asigne a cada término la descripción correspondiente.

(a) DNA polimerasa _____
(b) Molde _____
(c) Cebador _____
(d) Helicasa _____
(e) Topoisomerasa _____
(f) Exonucleasa _____
(g) Primasa _____
(h) Fragmento de Okazaki _____
(i) DNA ligasa _____
(j) Telomerasa _____

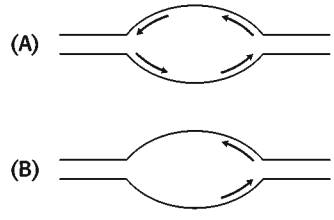
1. Desenrolla la doble hélice
2. Esencial para corregir errores
3. Utiliza ATP para unir fragmentos de DNA
4. Determina la secuencia de un ácido nucleico complementario
5. Replica fielmente el DNA
6. Sintetiza un fragmento de RNA
7. Se encuentra sobre la hebra retardada
8. Segmento inicial de un polímero que se hará más largo
9. Evita la desaparición de la hebra retardada
10. Relaja o introduce superenrollamientos

6. *¿Por dónde?* Explique, basándose en la estructura de los nucleótidos, por qué la síntesis del DNA se lleva a cabo en la dirección 5′ → 3′. ✓ 3

7. *La fuerza radica en los números.* En las moléculas largas de DNA de doble hebra, la tasa de separación espontánea de las hebras es insignificante en condiciones fisiológicas, a pesar de que las hebras se mantienen unidas únicamente por medio de débiles enlaces reversibles. Explique por qué.

8. *Con un solo remo.* En *E. coli*, la replicación del DNA comienza en un único lugar del cromosoma circular, denominado origen de la replicación, y prosigue en ambas direcciones, tal y como se muestra en la parte A de la figura inferior.

¿Qué efecto tendría una mutación que generase una única horquilla de replicación funcional en cada lugar de origen de la replicación (parte B)? ✓ 4

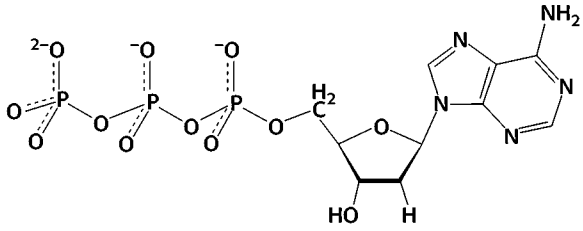


9. *Fuertemente enrollado.* ¿Por qué se detendría la replicación en ausencia de la topoisomerasa II? ✓ 4

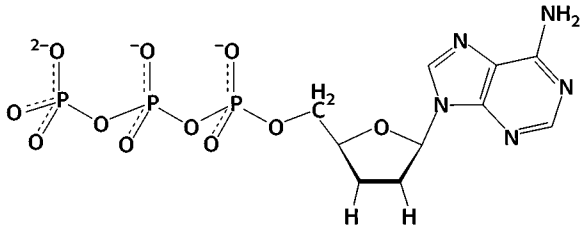
10. *Y así, como si nada, ¡zas! Desaparece.* En la mayoría de las células humanas, la telomerasa es inactiva. Algunos biólogos del cáncer han sugerido que uno de los requisitos para que una célula se vuelva cancerosa sería la activación del gen de la telomerasa. Explique por qué. ✓ 4

11. *Me tengo que desenrollar.* Suponiendo que el promedio de la energía necesaria para romper un par de bases en el DNA es de 10 kJ mol^{-1} (2,4 kcal mol^{-1}), calcule el número máximo de pares de bases que se podrían romper por cada ATP hidrolizado por una helicasa que esté funcionando en condiciones estándar. ✓ 3

12. *El terminador.* (a) ¿Qué efecto tendría la adición de didesoxiadenosina trifosfato (ddATP) a la reacción de replicación de DNA si la desoxiadenosina trifosfato (dATP) se encuentra a una concentración mucho mayor? (b) ¿Qué ocurriría si se añadiese una concentración de ddATP que fuese el 10% de la del dATP?



5′-dATP



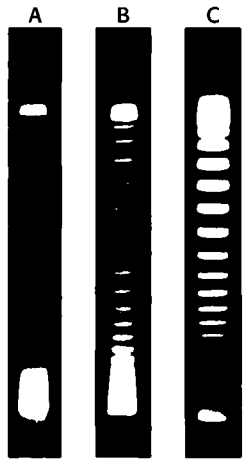
5′-ddATP

Problema de integración de capítulos

13. *Vida en una bañera caliente. Sulfolobus acidocaldarius* es una arqueobacteria que vive en manantiales de agua caliente con pH ácido y que contiene una topoisomerasa que utiliza la energía del ATP para catalizar la introducción de superenrollamientos positivos en el DNA. ¿Qué ventajas aporta esta enzima a este organismo tan singular? ✓ 3

Problema de interpretación de datos para atrevidos

14. *Parece una escalera.* Se extrajo el DNA circular del virus SV40 y se sometió a electroforesis en gel. Los resultados se muestran en la calle A (el control) de los patrones electroforéticos mostrados en la figura. ✓ 3



[Tomado de W. Keller, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* 72: 2553, 1975.]

(a) ¿Por qué se separan las moléculas de DNA en una electroforesis en gel de agarosa? ¿En qué se diferencia el DNA de cada banda?

Posteriormente, se incubó el DNA con la topoisomerasa I durante 5 minutos y, de nuevo, se analizó mediante electroforesis en gel. Los resultados se muestran en la calle B.

(b) ¿A qué tipos de DNA corresponden las diversas bandas observadas?

Se incubó otra muestra de DNA con la topoisomerasa I durante 30 minutos y se analizó igual que en el caso anterior. Los resultados se muestran en la calle C.

(c) ¿A qué se debe el hecho de que haya más DNA presente en las formas con menor movilidad?

Problemas para atrevidos

15. *Sin apresurarse.* La tasa de precisión de la DNA polimerasa disminuye cuando el siguiente nucleótido que se tiene que polimerizar se encuentra a una concentración elevada. Por el contrario, aumenta cuando el siguiente nucleótido se encuentra a baja concentración. Este fenómeno se conoce como el "efecto del siguiente nucleótido". Sugiera una explicación para este efecto. ✓ 3

16. *Horquilla veloz.* (a) ¿A qué velocidad gira el molde de DNA (expresada en revoluciones por segundo) en una horquilla de replicación de *E. coli*? (b) ¿A qué velocidad se mueve (en micras por segundo) la holoenzima de la DNA polimerasa III en relación al molde?

17. *Nick translation.* Suponga que quiere fabricar una muestra muy radiactiva de DNA de doble hebra para utilizarla como una sonda. Dispone de una DNA endonucleasa que escinde internamente el DNA generando grupos 3′-OH y 5′-fosforilo, de una DNA polimerasa I intacta y de dNTP radiactivos. Sugiera un método para la fabricación de DNA radiactivo. ✓ 3

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 35

Reparación y recombinación del DNA

35.1 La replicación del DNA puede generar errores

35.2 Los daños en el DNA se pueden detectar y reparar

35.3 La recombinación del DNA desempeña importantes funciones tanto en la replicación como en la reparación



Si no se reparan los daños del DNA puede surgir un cáncer. El médico griego Hipócrates utilizó el término carcinoma (del griego *karcinos*, que significa "cangrejo") para describir los tumores. Al igual que los cangrejos, algunos tumores presentan una superficie que parece un caparazón y filamentos a modo de patas. Con frecuencia, los tumores están asociados a dolores agudos, como si fuesen los pellizcos de un cangrejo. [The Art Archive/Biblioteca Estense Modena/Gianni Dagli Orti.]

Hemos estudiado cómo incluso los genomas más grandes y complejos pueden, en principio, replicarse con una fidelidad considerable. Sin embargo, el DNA se deteriora, tanto en el transcurso de la replicación como durante otros procesos. Los daños que sufre el DNA pueden ser tan simples como la incorporación errónea de una sola base o puede consistir en alteraciones más complicadas, como la modificación química de las bases, los entrecruzamientos químicos entre las dos hebras de la doble hélice o rupturas en uno o en los dos esqueletos fosfodiéster. Las consecuencias pueden ser la muerte o transformación celular, cambios en la secuencia de DNA que pueden ser heredados por las generaciones futuras o el bloqueo de la propia replicación del DNA. A lo largo de la evolución han surgido varios sistemas de reparación del DNA que pueden reconocer estos defectos y, en muchos casos, devolver la molécula de DNA a su

forma correcta. Primero estudiaremos algunas de las causas de los daños en el DNA y, después, examinaremos los mecanismos que reparan el DNA dañado.

35.1 La replicación del DNA puede generar errores

Los errores introducidos durante el proceso de replicación son la causa más simple de los daños en la doble hélice. Al añadir cada base, existe la posibilidad de incorporar una base que sea incorrecta y que forme un par de bases que no es del tipo Watson-Crick. Estos pares de bases atípicos pueden distorsionar localmente la doble hélice de DNA. Además, estos emparejamientos incorrectos pueden ser *mutagénicos*, es decir, pueden dar lugar a cambios permanentes en la secuencia del DNA. Cuando se replica una doble hélice que contiene un par de bases que no es del tipo Watson-Crick, las dos dobles hélices hijas tendrán secuencias diferentes porque lo más probable es que la base mal emparejada se empareje según el modelo de Watson-Crick. Además de los emparejamientos incorrectos, los errores pueden deberse a inserciones, deleciones y escisiones en una hebra o en las dos. Este tipo de errores son especialmente dañinos porque las polimerasas encargadas de la replicación se pueden atascar o, incluso, se pueden desprender por completo de un molde dañado. En consecuencia, la replicación del genoma se puede interrumpir antes de haberse completado.

Durante la evolución han surgido diversos mecanismos para encargarse de este tipo de interrupciones, entre los que se incluye la incorporación de DNA polimerasas especializadas, denominadas *polimerasas que reparan lesiones* o *polimerasas propensas a cometer errores*, en las regiones del DNA que contienen lesiones (ver la Tabla 34.1). Dado que estas máquinas moleculares no son tan precisas como las polimerasas encargadas de la replicación, pueden replicar muchas de las regiones lesionadas del DNA. Sin embargo, un inconveniente que presenta el uso de estas enzimas es que, a la hora de replicar el DNA normal, este tipo de polimerasas son considerablemente más propensas a cometer errores que las polimerasas que normalmente se encargan de la replicación. No obstante, estas polimerasas propensas a cometer errores permiten completar un esbozo de la secuencia de la región dañada del genoma que pueda ser reparada, al menos en parte, por los procesos de reparación del DNA. La recombinación del DNA (Sección 35.3) proporciona un mecanismo adicional para subsanar las interrupciones que puedan haber surgido durante la replicación del DNA.

Aspecto clínico

Algunas enfermedades genéticas se deben a la extensión de repeticiones de tres nucleótidos

Algunas enfermedades genéticas se deben a la presencia de secuencias de DNA que son intrínsecamente propensas a generar errores durante el transcurso de la replicación. Una clase particularmente importante de este tipo de enfermedades se caracteriza por la presencia de largas disposiciones en serie de repeticiones de una secuencia de tres nucleótidos. Un ejemplo es la *enfermedad de Huntington*, un trastorno neurológico autosómico dominante que puede comenzar a manifestarse a diversas edades. Los síntomas de la enfermedad de Huntington incluyen movimientos incontrolados (corea), pérdida de las facultades cognitivas y alteraciones de la personalidad. En esta enfermedad, el gen mutado expresa una proteína del cerebro denominada huntingtina, que contiene un segmento con residuos de glutamina consecutivos. Estos residuos están codificados por una disposición en serie de secuencias CAG dentro del gen. En las personas sanas, esta secuencia se repite entre 6 y 31 veces, mientras que en las personas afectadas por la enfermedad, el número de repeticiones es de entre 36 y 82, o más. Además, el número de repeticiones tiende a ser mayor de una generación a la siguiente. La consecuencia es un fenómeno que se denomina *anticipación*: los hijos de un progenitor afectado tienden a mostrar los síntomas de la enfermedad a edades más tempranas que su padre o madre.

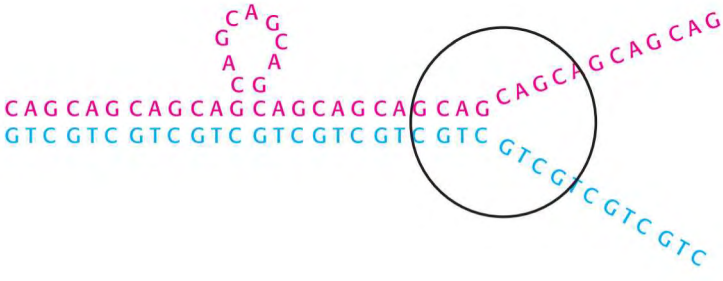


Figura 35.1 Expansión de los tripletes repetidos. Las secuencias que contienen repeticiones en serie de una secuencia de tres nucleótidos se pueden alargar ampliando el número de repeticiones si algunas de las repeticiones forman un bucle externo antes de la replicación. La doble hélice formada a partir de la hebra molde de color rojo presentará secuencias adicionales que incluirán la región que ha formado el bucle externo. El círculo representa la maquinaria de replicación.

La tendencia de las *repeticiones de trinucleótidos* a extenderse se explica mediante la formación de estructuras alternativas durante la replicación del DNA (Figura 35.1). En la hebra molde, parte de la región repetida puede formar un bucle sin que se interrumpa el emparejamiento de las bases fuera de esa región. Durante la replicación, la DNA polimerasa alarga el resto de la región repetida extendiendo la hebra mediante un mecanismo que no se conoce con detalle, pero que da lugar a un aumento del número de copias de la secuencia del trinucleótido.

Hay otras enfermedades neurológicas que se caracterizan por la extensión de regiones que contienen repeticiones de trinucleótidos. ¿Cómo provocan la enfermedad estos largos segmentos de aminoácidos repetidos? En el caso de la huntingtina, parece ser que, a medida que se alargan los segmentos de poliglutamina, son cada vez más propensos a agregarse; las consecuencias adicionales de este tipo de agregación todavía están siendo objeto de investigación. Por tanto, la enfermedad de Huntington puede considerarse como otro ejemplo de enfermedad relacionada con la agregación de proteínas (p. 61). ■

Las bases se pueden dañar por agentes oxidantes, por agentes alquilantes y por la luz

La integridad del DNA está continuamente en peligro, no solo por los errores cometidos durante la replicación, sino también por un conjunto de agentes químicos. De hecho, se estima que, en una sola célula humana, cada día se producen entre 10^4 y 10^6 eventos que dañan el DNA. Los agentes químicos que modifican bases específicas del DNA tras haberse completado la replicación se denominan *mutágenos* y, entre ellos, se encuentran las especies reactivas del oxígeno como el radical hidroxilo. Por ejemplo, el radical hidroxilo reacciona con la guanina formando 8-oxoguanina. Este compuesto es mutagénico porque, a menudo, durante la replicación del DNA se empareja con la adenina en vez de con la citosina (Figura 35.2).

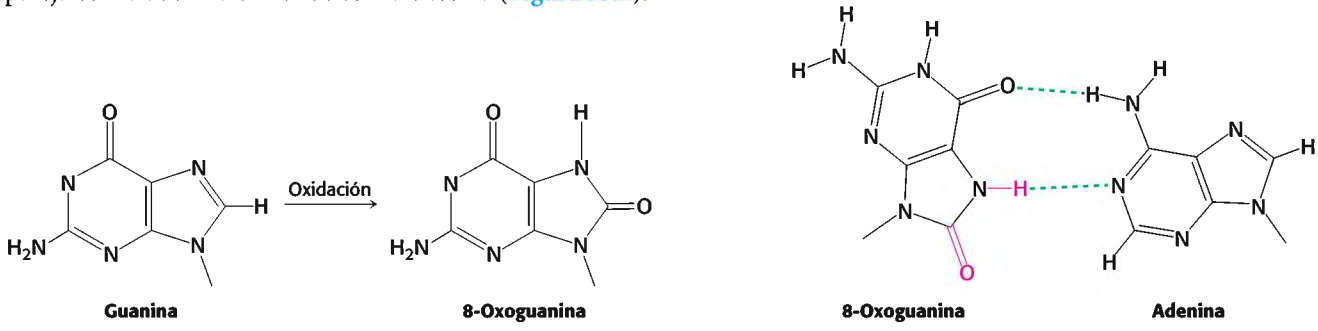


Figura 35.2 Oxidación de la guanina. (A) Guanina, la base que forma parte del dGMP en el DNA, se puede oxidar a 8-oxoguanina. (B) La 8-oxoguanina puede formar un par de bases con la adenina.

Tras la replicación, una de las hélices replicadas tendrá un par de bases A–T en lugar de un par de bases G–C. La desaminación es otro proceso potencialmente dañino. Por ejemplo, la adenina se puede desaminar formando hipoxantina (Figura 35.3). Este proceso es mutagénico porque la hipoxantina se empareja con la citosina en vez de con la timina. La guanina y la citosina también se pueden desaminar generando bases que se emparejan de forma distinta que las bases originales.

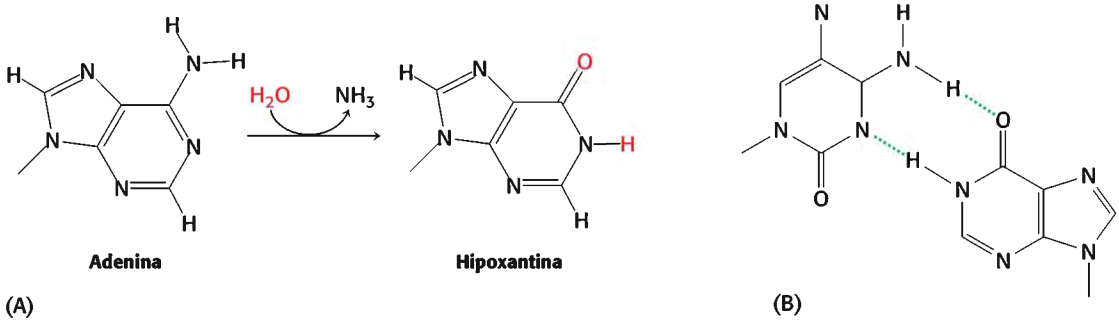


Figura 35.3 Desaminación de la adenina. (A) La base adenina se puede desaminar formando hipoxantina. (B) La hipoxantina forma pares de bases con la citosina de forma similar a la guanina, de manera que la reacción de desaminación puede dar lugar a una mutación.

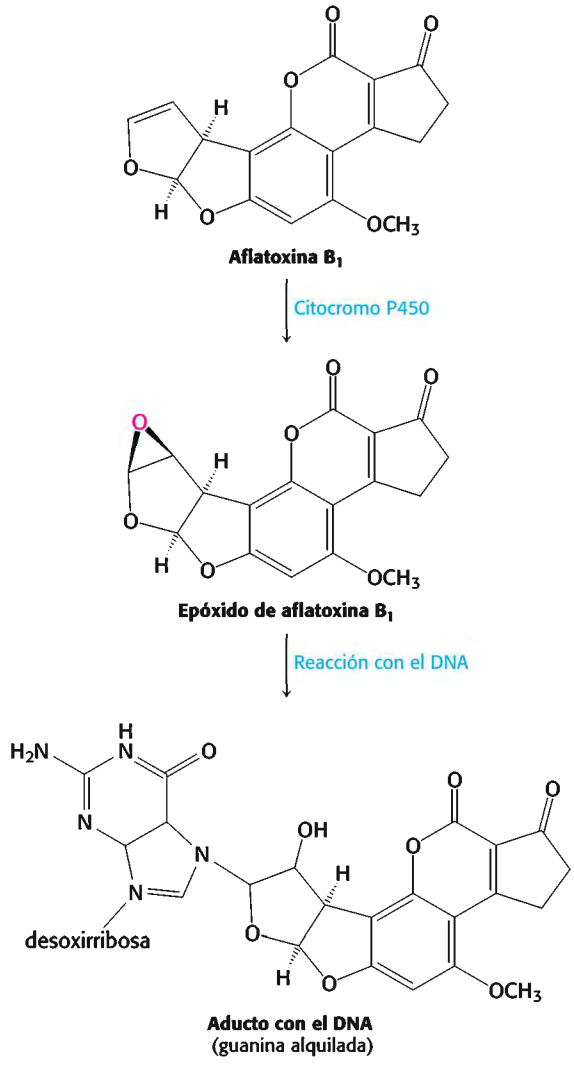


Figura 35.4 Activación de la aflatoxina B_1. Este compuesto, producido por hongos que crecen en los cacahuetes y en otros granos, se activa mediante el citocromo P450, formando una especie muy reactiva que modifica bases del DNA, como la guanina, dando lugar a mutaciones.

Un epóxido es un átomo de oxígeno unido a dos átomos de carbono y también se le denomina éter cíclico. Debido a la tensión del anillo, los epóxidos son particularmente reactivos.

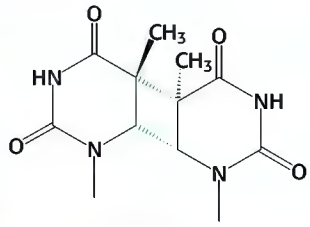
Además de la oxidación y la desaminación, las bases de los nucleótidos pueden ser objeto de la adición de una molécula hidrocarbonada, una reacción que se denomina alquilación. Un llamativo ejemplo es el de la aflatoxina B_1, un compuesto producido por hongos que crecen en los cacahuetes y en otros alimentos. Una enzima citocromo P450 (p. 515) convierte este compuesto en un epóxido muy reactivo (Figura 35.4). Este agente reacciona con el átomo N-7 de la guanina formando un compuesto mutagénico que, con frecuencia, da lugar a la conversión de un par de bases G–C en un par de bases T–A. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos, presentes en los gases del tubo de escape de los coches y en el humo de los cigarrillos, también se convierten en epóxidos reactivos por medio de una enzima citocromo P450. Estos epóxidos alquilan el DNA, lo que explica, en parte, los efectos carcinogénicos de estos contaminantes.

El componente ultravioleta de la luz del Sol es un agente ubicuo que provoca daños en el DNA (Figura 35.5). Su principal efecto consiste en unir covalentemente bases pirimidínicas adyacentes en una misma hebra de DNA (Figura 35.6). Este tipo de dímeros de pirimidina no se puede acomodar en una doble hélice, de modo que la replicación y la expresión génica se bloquean hasta que se repare la lesión.

La radiación electromagnética de alta energía (radiación ionizante) como, por ejemplo, los rayos X, puede dañar el DNA produciendo concentraciones elevadas de especies reactivas. La exposición a los rayos X también puede provocar varios tipos de lesiones en el DNA, entre las que se incluyen las escisiones en una o en las dos hebras del DNA.



Figura 35.5 Tomando el sol. La luz ultravioleta aumenta la pigmentación de la piel y provoca daños en el DNA. [David R. Frazier Photolibrary/Alamy.]



Dímero de timina

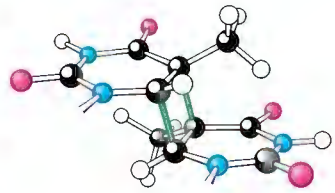


Figura 35.6 Dímero formado por el entrecruzamiento de dos bases timina. La luz ultravioleta induce la formación de entrecruzamientos entre dos pirimidinas adyacentes en una de las hebras del DNA.

35.2 Los daños en el DNA se pueden detectar y reparar

✓ 5 Explicar los mecanismos que garantizan la fidelidad de la replicación del DNA.

Para proteger la integridad del mensaje genético, en la mayoría de los organismos existe una amplia gama de sistemas de reparación del DNA. Muchos sistemas reparan el DNA utilizando la información contenida en la secuencia de la hebra que no ha resultado dañada. Todos estos sistemas de reparación de una sola hebra se ajustan a un mecanismo similar:

1. Reconocen la(s) base(s) afectadas.
2. Eliminan la(s) base(s) afectadas.
3. Reparan el hueco resultante con una DNA polimerasa y una DNA ligasa.

Estudiaremos brevemente algunos ejemplos de varios sistemas de reparación que se ajustan a este esquema básico. Aunque muchos de estos ejemplos están tomados de *E. coli*, en la mayoría de los organismos, incluido el ser humano, existen los sistemas de reparación correspondientes.

Las mismas DNA polimerasas encargadas de la replicación son capaces de corregir muchos de los emparejamientos incorrectos que se producen durante el transcurso de la replicación. Por ejemplo, una subunidad de la DNA polimerasa III de *E. coli* funciona como una exonucleasa 3′ → 5′, tal y como se describió en el Capítulo 34. Este dominio elimina los nucleótidos mal emparejados a partir del extremo 3′ del DNA mediante hidrólisis. ¿Cómo detecta esta enzima si la base recién añadida es la correcta? A medida que se sintetiza una nueva hebra de DNA, *se va corrigiendo*. Si se inserta una base incorrecta, la síntesis de DNA se ralentiza y el par de bases incorrecto, con sus bases unidas débilmente, es capaz de fluctuar y cambiar de posición. El retraso provocado por la ralentización deja tiempo para que esas fluctuaciones hagan que la hebra recién sintetizada salga del centro activo de la polimerasa y vaya a parar al centro activo de la exonucleasa (ver la Figura 34.9). Una vez allí, el DNA se va degradando hasta que regresa al centro activo de la polimerasa para que la síntesis continúe.

En prácticamente todas las células, existe un segundo mecanismo para corregir los errores cometidos durante la replicación que no hayan sido corregidos por la exonucleasa que corrige los errores (**Figura 35.7**). Los sistemas de *reparación de emparejamientos incorrectos* constan de, al menos, dos proteínas, una para detectar el emparejamiento defectuoso y la otra para incorporar una endonucleasa que escinde la hebra de DNA recién sintetizada por un lugar próximo a la lesión. A partir de ahí, una exonucleasa puede eliminar la base incorrecta y una polimerasa puede rellenar el hueco. En *E. coli*, las proteínas que reparan emparejamientos erróneos se denominan MutS y MutL, y la endonucleasa se denomina MutH.

¿Cómo determina la maquinaria de reparación de emparejamientos defectuosos cuál de las bases es la incorrecta? En el caso de los organismos superiores, la respuesta no está muy clara; sin embargo, en *E. coli*, algunas bases de adenina de la hebra parental de DNA se encuentran metiladas, mientras que la hebra hija recién sintetizada aún está sin metilar. Por tanto, la maquinaria de reparación considera que la base unida al DNA metilado es la correcta y elimina la base incorrecta de la hebra hija.

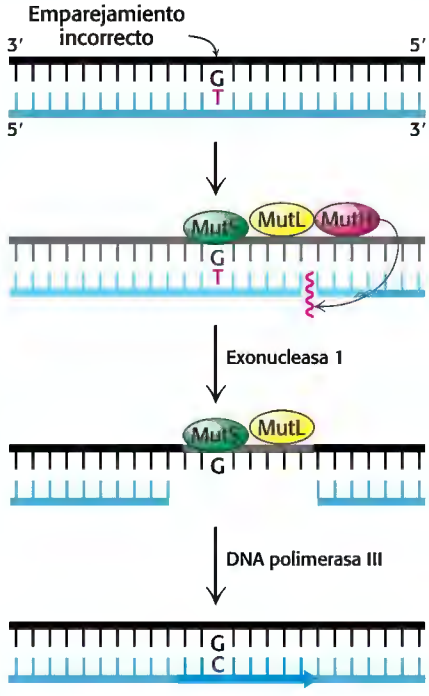


Figura 35.7 Reparación de emparejamientos incorrectos. En *E. coli*, la reparación de emparejamientos incorrectos comienza con las interacciones que se establecen entre las proteínas MutS, MutL y MutH. La proteína MutS reconoce un emparejamiento incorrecto G-T. Entonces, MutH escinde el esqueleto en las proximidades del error. La exonucleasa I elimina un segmento de la hebra de DNA que contiene la T incorrecta y la DNA polimerasa III vuelve a sintetizar el segmento. [Tomado de R. F. Service, *Science* 263: 1559-1560, 1994.]

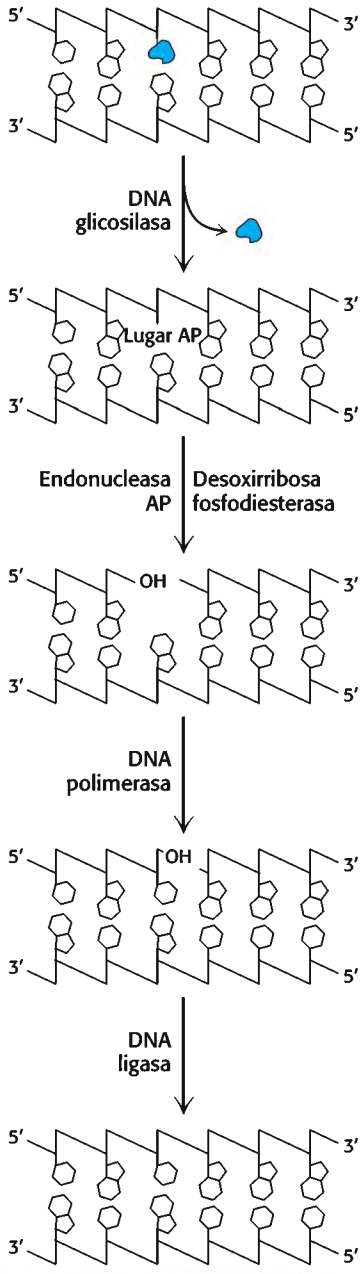


Figura 35.8 Reparación mediante escisión de bases. El proceso de reparación mediante escisión de bases identifica una base modificada y la elimina. A continuación, se sustituye el nucleótido completo. [Tomado de B. A. Pierce, *Genetics: A Conceptual Approach*, 3.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2008), p. 493.]

? **PREGUNTA RÁPIDA 1** ¿Qué propiedad de la estructura del DNA permite la reparación de las bases dañadas por una mutación?

A veces, el daño en el DNA se puede reparar directamente, sin tener que eliminar ningún fragmento de la molécula de DNA, un proceso que se denomina *reparación directa*. Un ejemplo de reparación directa es la escisión fotoquímica de los dímeros de timina mediante una *enzima fotorreactiva* denominada *DNA fotoliasa*. En *E. coli*, esta enzima es una proteína de 35 kDa que se encuentra unida a los cofactores N^5, N^{10}-meteniltetrahidrofolato y dinucleótido de flavina y adenina (FAD) y que se asocia a la región distorsionada del DNA. La enzima utiliza la energía de la luz —concretamente, la absorción de un fotón por parte de la coenzima N^5, N^{10}-meteniltetrahidrofolato— dando lugar a un estado excitado que escinde el dímero en sus bases componentes.

En *E. coli*, las bases modificadas, como la 8-oxoguanina o la 3-metiladenina, se escinden mediante la enzima *AlkA*, un ejemplo de *reparación mediante escisión de bases*. La unión de esta enzima al DNA dañado hace que la base afectada abandone su posición en la doble hélice de DNA y se coloque en el centro activo de la enzima. Entonces, la enzima funciona como una *glicosilasa*, rompiendo el enlace glicosídico para liberar la base dañada. En este momento, el esqueleto del DNA está intacto, pero falta una base. Este hueco se denomina *lugar AP* porque es *ap*úrico (no hay ni A ni G) o *ap*irimidínico (no hay ni C ni T). Una *endonucleasa AP* reconoce este defecto y hace un corte en el esqueleto en un lugar adyacente a la base ausente. La *desoxirribosa fosfodiesterasa* escinde la unidad residual de desoxirribosa fosfato y la DNA polimerasa I inserta un nucleótido intacto, que vendrá determinado por la base existente en la hebra complementaria intacta. Por último, se cierra el corte practicado en la hebra reparada mediante la DNA ligasa (**Figura 35.8**).

La reparación mediante escisión de bases corrige la mutación puntual más frecuente en los seres humanos: C → T. En el DNA eucariótico, es frecuente que la citosina se metile en la posición 5, ya que es una forma de regulación de la transcripción. Cuando la 5-metilcitosina se desamina de forma espontánea, se genera timina, dando lugar a un par de bases T–G (**Figura 35.9**). Teniendo en cuenta que la T y la G son bases normales del DNA, ¿cómo sabe la maquinaria de reparación qué base hay que mantener y cuál debe eliminar? Dado que la mutación C → T es tan frecuente, la T del par de bases T–G se considera siempre como la base incorrecta y es eliminada por las proteínas de la maquinaria de reparación mediante escisión de bases.

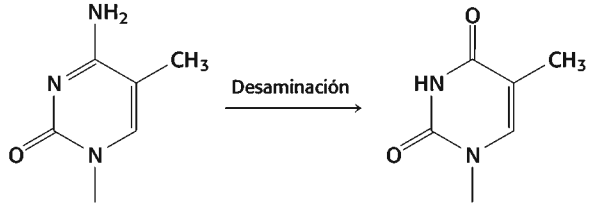


Figura 35.9 La desaminación de la 5-metilcitosina genera timina.

La reparación mediante escisión de bases tiene que reconocer una base modificada. Sin embargo, no todas las bases dañadas son reconocidas por la DNA glicosilasa. ¿Qué sistema reconoce las parejas incorrectas de nucleótidos que se escapan al sistema de reparación mediante escisión de bases? El sistema de *reparación mediante escisión de nucleótidos* reconoce las distorsiones provocadas en la doble hélice de DNA por la presencia de una base dañada. Uno de los ejemplos más estudiados de reparación mediante escisión de nucleótidos es el que se utiliza para la escisión de dímeros de pirimidina. En *E. coli*, este proceso de reparación consta de tres actividades enzimáticas esenciales (**Figura 35.10**). En primer lugar, un complejo enzimático formado por las proteínas codificadas por los genes *uvrABC* detecta las distorsiones que la lesión provoca en el DNA. A continuación, la enzima UvrABC, una escinucleasa (del latín *exci*, que significa "cortar"), corta la hebra de DNA dañada por dos lugares, uno situado a una distancia de ocho nucleótidos del extremo 5′ del lugar dañado y el otro situado a una distancia de cuatro nucleótidos del extremo 3′ del lugar dañado. La DNA polimerasa I se introduce en el hueco así formado para llevar a cabo la síntesis que repare la lesión. El extremo 3′ de la hebra cortada actúa como cebador y la hebra complementaria intacta es el molde. Por último, el extremo 3′ del fragmento que se acaba de sintetizar y el extremo de la cadena original de DNA se unen por medio de la DNA ligasa.

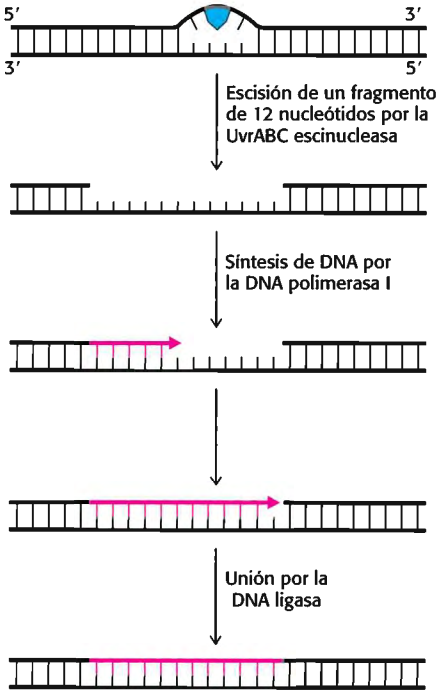


Figura 35.10 Reparación mediante escisión de nucleótidos. Reparación de una región del DNA que contiene un dímero de timina mediante la acción secuencial de una escinucleasa específica, una DNA polimerasa y una DNA ligasa. El dímero de timina se muestra en color azul y la nueva región del DNA en color rojo. [Tomado de P. C. Hanawalt. *Endeavour* 31: 83, 1982.]

En el DNA, la presencia de timina en lugar de uracilo permite reparar las citosinas desaminadas

La presencia en el DNA de timina en lugar de uracilo fue un misterio durante muchos años. Las dos bases se emparejan con la adenina. La única diferencia entre ellas es un grupo metilo en la timina que ocupa el lugar del átomo de hidrógeno del C-5 del uracilo. ¿Por qué se utiliza una base metilada en el DNA y no en el RNA? La existencia de un sistema de reparación activo para corregir la desaminación de la citosina sugiere una explicación convincente a este enigma.

En el DNA, la citosina se desamina espontáneamente a una velocidad apreciable, dando lugar a uracilo. La desaminación de la citosina puede resultar mutagénica porque el uracilo se empareja con la adenina, de modo que una de las hebras hijas tendría un par de bases U–A en lugar del par de bases original C–G. Esta mutación se evita gracias a un sistema de reparación mediante escisión de bases que identifica el uracilo como algo ajeno al DNA (Figura 35.11). La enzima a cargo de la reparación, la uracilo DNA glicosilasa, hidroliza el enlace glicosídico entre el uracilo y la unidad de desoxirribosa, pero no actúa sobre los nucleótidos que contienen timina. El lugar AP que se genera se repara para volver a introducir una cisteína. De esta forma, *el grupo metilo de la timina es una etiqueta que permite diferenciar la timina de la citosina desaminada.* Si no se utilizase timina en el DNA, el uracilo correctamente colocado sería indistinguible del uracilo formado por desaminación. El defecto pasaría desapercibido y haría que un par de bases C–G mute necesariamente a un par U–A en una de las moléculas hijas del DNA. *En el DNA se utiliza timina en vez de uracilo para preservar la fidelidad del mensaje genético.*

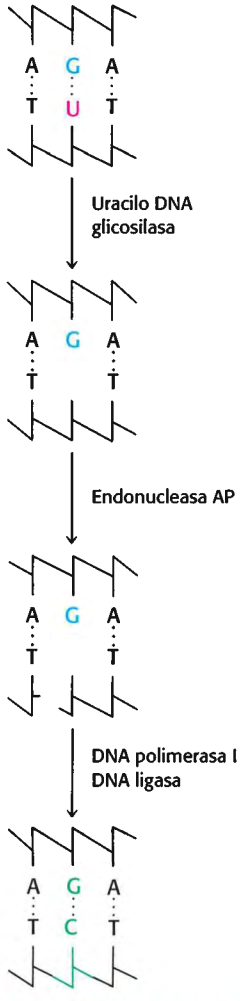


Figura 35.11 Reparación del uracilo. Las bases de uridina que se forman en el DNA por la desaminación de la citidina se escinden y se sustituyen por citidina.

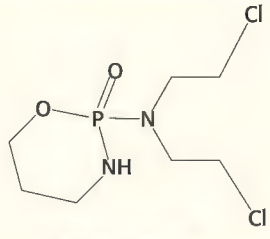
Aspecto clínico

Muchos tipos de cáncer se deben a una reparación defectuosa del DNA

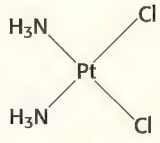
Tal y como se describió en el Capítulo 13, las mutaciones en genes asociados con el control del crecimiento dan lugar al cáncer. Los defectos en los sistemas de reparación del DNA aumentan la frecuencia global de las mutaciones y, por tanto, la probabilidad de las mutaciones causantes del cáncer. De hecho, la sinergia entre los estudios de las mutaciones que predisponen a las personas a padecer cáncer y los estudios de la reparación de DNA en organismos modelo ha resultado de enorme importancia a la hora de esclarecer la bioquímica de las rutas de reparación del DNA. Con frecuencia, los genes que codifican proteínas que reparan el DNA son *genes supresores de tumores*; es decir, evitan el desarrollo de tumores cuando al menos una copia del gen está exenta de mutaciones deletéreas. Sin embargo, cuando las dos copias del gen están mutadas, los tumores se desarrollan a velocidades



Figura 35.12 Xeroderma pigmentoso. En las personas que padecen xeroderma pigmentoso, aparecen numerosas manchas hiperpigmentadas, sobre todo en las regiones de la piel expuestas al sol. Estas manchas pueden progresar y convertirse en bultos con una superficie áspera (queratosis solares) y, por último, en tumores malignos de la piel. [ISM/Phototake.]



Ciclofosfamida



Cisplatina

mayores que las de la población en general. Las personas que heredan defectos en un único alelo supresor de tumores no desarrollan necesariamente el cáncer, pero son más susceptibles a la hora de desarrollar la enfermedad porque solo tiene que producirse un nuevo defecto en la copia normal que les queda del gen para que se inicie el desarrollo del cáncer.

Consideremos, por ejemplo, el *xeroderma pigmentoso*, una rara enfermedad humana de la piel (Figura 35.12). En las personas afectadas, la piel es extremadamente sensible a la luz del Sol o a la luz ultravioleta. Durante la infancia, se ponen de manifiesto graves cambios en la piel, que empeoran con el tiempo. La piel se reseca y presentan una atrofia considerable de la dermis. Aparecen queratosis, cicatrices en los párpados y úlceras en la córnea. Normalmente, se desarrolla el cáncer de piel en varios sitios. Muchos pacientes mueren antes de cumplir los 30 años a causa de las metástasis de estos tumores malignos de la piel. Estudios llevados a cabo con pacientes de xeroderma pigmentoso han puesto de manifiesto la existencia de mutaciones en genes que codifican diversas proteínas. Estas proteínas forman parte de la ruta de reparación mediante escisión de nucleótidos en humanos, en la que intervienen componentes parecidos a las subunidades UvrABC.

Los defectos en otros sistemas de reparación pueden incrementar la frecuencia de otros tumores. Por ejemplo, el *cáncer colorrectal hereditario sin poliposis* (HNPCC, o *síndrome de Lynch*) surge como consecuencia de una reparación defectuosa de los emparejamientos incorrectos del DNA. El HNPCC no es tan raro —una de cada 200 personas puede llegar a desarrollar este tipo de cáncer. Las mutaciones en dos genes, denominados *hMSH2* y *hMLH1*, son responsables de la mayoría de los casos de esta predisposición hereditaria al cáncer. Es probable que estos genes mutados permitan la acumulación de mutaciones por todo el genoma. Con el tiempo, los genes importantes para el control de la proliferación celular se ven alterados, lo que da lugar a la aparición del cáncer.

La ausencia de mecanismos de reparación y la elevada velocidad de duplicación celular en las células cancerosas representan una oportunidad terapéutica. Algunos de los agentes más utilizados en la quimioterapia contra el cáncer, como la ciclofosfamida y el cisplatino (p. 591), actúan dañando el DNA. En teoría, las células cancerosas se deterioran de forma irreparable y mueren. ■

Aspecto clínico

Muchos posibles carcinógenos se pueden detectar gracias a sus efectos mutagénicos en bacterias

Muchos cánceres humanos se deben a la exposición a productos químicos que provocan mutaciones. Es importante identificar los compuestos que pueden causar mutaciones y determinar su potencia de forma que se pueda minimizar la exposición de los seres humanos a este tipo de sustancias. Bruce Ames diseñó un test sencillo y sensible para la detección de mutágenos químicos. En el *test de Ames*, se coloca en una placa de Petri una fina lámina de agar-agar que contiene unas 10^9 bacterias de una cepa de *Salmonella* especialmente diseñada. Estas bacterias son incapaces de crecer en ausencia de histidina porque presentan una mutación en uno de los genes para la biosíntesis de este aminoácido. La adición de un mutágeno químico a esta placa da lugar a multitud de nuevas mutaciones. Una pequeña proporción de ellas revierten la mutación original, haciendo que se pueda sintetizar histidina. Estos *revertientes* se multiplican en ausencia de una fuente externa de histidina y, después de incubar la placa a 37 °C durante dos días, aparecen en forma de colonias discretas (Figura 35.13). Por ejemplo, una muestra de 2-aminoantraceno, un conocido agente carcinógeno, genera 11.000 colonias revertientes, en comparación con los escasos 30 revertientes espontáneos que aparecen en su ausencia. Se puede analizar fácilmente una serie de concentraciones de un compuesto químico para generar una curva dosis-respuesta. Normalmente, estas curvas son lineales, lo que sugiere que no hay una concentración umbral para la mutagénesis.

Una característica clave de este sistema de detección es la inclusión de un *homogenado de hígado de mamífero*. Recordemos que algunos posibles carcinógenos, como la aflatoxina, se convierten en sus formas activas mediante sistemas enzimáticos del hígado o de otros tejidos de mamífero (p. 616). Las bacterias carecen de estas enzimas y, por tanto, la placa donde se realiza el test requiere unos pocos miligramos de un homogenado de hígado para activar este grupo de mutágenos.

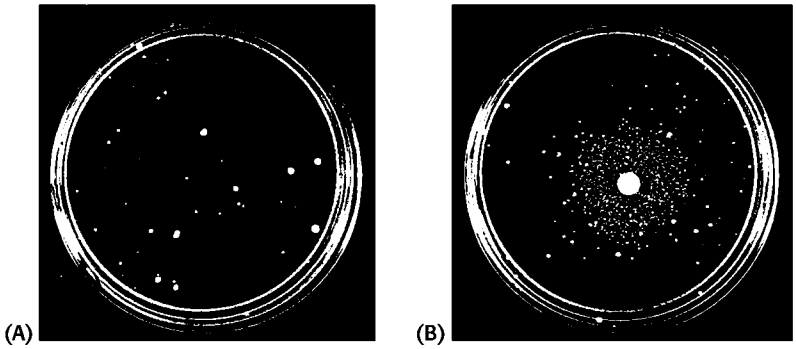


Figura 35.13 Test de Ames. (A) Una placa de Petri que contiene alrededor de 10^9 bacterias *Salmonella* que no pueden sintetizar histidina. (B) La misma placa de Petri, a la que se la ha añadido un disco de papel de filtro impregnado con un mutágeno, que produce un gran número de revertientes que sí pueden sintetizar histidina. A los dos días, los revertientes se manifiestan como anillos de colonias en torno al disco. El pequeño número de colonias visibles en la placa A corresponde a revertientes espontáneos. [Reproducida de Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects, 31, B.N. Ames, J McCann y E. Yamasaki, Methods for detecting carcinogens and mutagens with the salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test, p. 347, ©1975, con el premiso de Elsevier.]

El test de la *Salmonella* se usa mucho porque ayuda a evaluar el riesgo mutagénico y carcinogénico de un gran número de compuestos químicos. Este ensayo bacteriano para evaluar la capacidad mutagénica es rápido y barato, y complementa los estudios epidemiológicos y los experimentos realizados con animales que, necesariamente, son más lentos, más laboriosos y mucho más caros. ■

35.3 La recombinación del DNA desempeña importantes funciones tanto en la replicación como en la reparación

La mayoría de los procesos asociados a la replicación del DNA operan para copiar el mensaje genético da la forma más exacta posible. Sin embargo, varios procesos bioquímicos requieren la *recombinación* de material genético entre dos moléculas de DNA. En la recombinación genética, se forman dos moléculas hijas de DNA mediante el intercambio de material genético entre dos moléculas parentales. ¿En qué circunstancias se necesitará la recombinación para reparar el DNA?

Las lesiones que se suelen reparar mediante recombinación son los cortes que se producen en las dos hebras de una hélice de DNA. Los cortes en ambas hebras se producen cuando se atasca la replicación, como cuando la polimerasa se encuentra con una muesca sin reparar en una de las hebras molde de la horquilla de replicación (Figura 35.14). La horquilla de replicación se colapsa, dejando un corte en las dos hebras de una de las hélices hijas. Los cortes en ambas hebras también pueden ser el resultado de la exposición a radiaciones ionizantes. Las radiaciones de la región del espectro electromagnético correspondiente a las longitudes de onda corta —especialmente los rayos X y los rayos gamma— son lo suficientemente energéticas como para romper el esqueleto del DNA. Veamos cómo se puede reparar mediante recombinación un corte en las dos hebras causado por una radiación ionizante.

La recombinación es más eficaz cuando tiene lugar entre segmentos del DNA con una secuencia parecida. En la recombinación homóloga, las dobles hélices de DNA parental se alinean por las regiones con secuencias similares y se forman nuevas moléculas de DNA mediante la ruptura y unión de los segmentos homólogos.

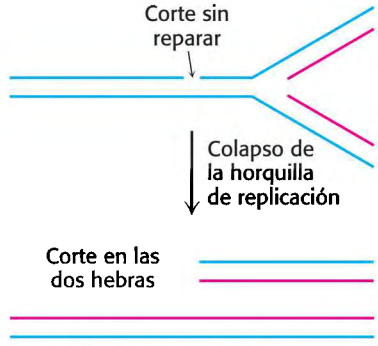


Figura 35.14 Generación de un corte en las dos hebras. La replicación del DNA se produce en la horquilla de replicación. Cuando la maquinaria de replicación de una hebra se encuentra con un corte en el DNA, la replicación se atasca. La horquilla de replicación puede colapsar dando lugar a una hebra incompleta con un corte en las dos hebras.

Los cortes en ambas hebras se pueden reparar mediante recombinación

La recombinación es un proceso complejo que requiere docenas de proteínas. En los seres humanos, una proteína clave en la recombinación es RAD51, una ATPasa que se une al DNA de hebra sencilla. ¿Cómo se generan regiones de hebra sencilla en el lugar donde se ha producido un corte en ambas hebras?

El proceso de reparación comienza con la digestión de los extremos 5′ del lugar donde se ha producido el corte, generando regiones de DNA de hebra sencilla que, en ese momento, se unen a multitud de copias de RAD51. A continuación, el DNA de hebra sencilla desplaza una de las hebras de la doble hélice intacta mediante un proceso dependiente de ATP que se denomina *invasión de la hebra*. El resultado es una estructura formada por tres hebras que se conoce como *bucle de desplazamiento* o *bucle D*. Se lleva a cabo la síntesis de DNA, utilizando la hebra intacta como molde. A continuación, se produce una segunda invasión de la hebra para completar la reparación de la hebra dañada, dando lugar a la formación de dos estructuras con forma de aspa denominadas *uniones de Holliday* (Figura 35.35). La escisión de las uniones de Holliday, seguida de una ligación, genera dos dobles hélices de DNA intactas.

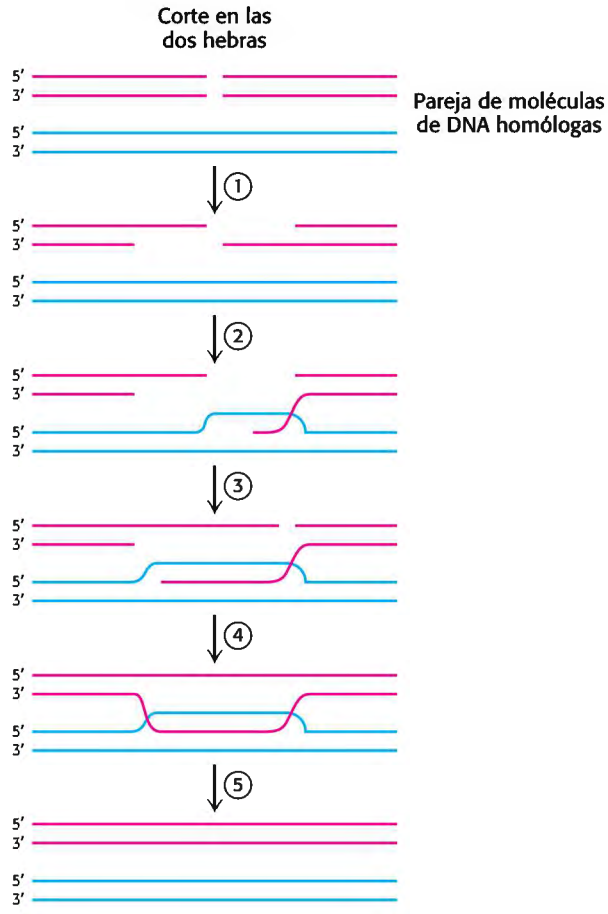


Figura 35.15 Reparación de un corte en ambas hebras utilizando la recombinación. 1. Una exonucleasa 5′ genera DNA de hebra sencilla en el lugar donde se ha producido el corte. 2. Cuando la hebra del DNA dañado forma pares de bases con la hebra complementaria del DNA intacto se produce la denominada invasión de la hebra, en la que se forma un bucle de desplazamiento o bucle D. 3. Se lleva a cabo la síntesis de DNA. 4. Se produce una segunda invasión de la hebra, dando lugar a la formación de dos uniones de Holliday. 5. Se escinden las uniones de Holliday y, tras una ligación, se forman dos moléculas intactas de DNA.

La recombinación es importante para diversos procesos biológicos

En el ejemplo que ilustra el uso de la recombinación para reparar el DNA, consideramos, para simplificar, que las secuencias de DNA, de las hebras homólogas eran idénticas. Sin embargo, es raro que se trate de secuencias idénticas. Entre las moléculas de DNA homólogas que corresponden a alelos de un mismo gen existen diferencias —que pueden ser ligeras, pero también pueden ser considerables. En consecuencia, cuando se produce la recombinación, se generan nuevas secuencias de DNA. Durante la meiosis, el limitado intercambio de material genético entre cromosomas emparejados proporciona un sencillo mecanismo para generar diversidad genética en una población. La recombinación también desempeña un papel crucial a la hora de generar diversidad molecular en anticuerpos y en algunas otras moléculas del sistema inmunitario. Así mismo, algunos virus utilizan mecanismos de recombinación para integrar su material genético en el DNA de una célula huésped.

La meiosis es un tipo especial de división celular necesaria para la reproducción sexual. En animales, la meiosis da lugar a la producción de espermatozoides y óvulos.

La recombinación constituye el fundamento de una herramienta bioquímica muy poderosa. Se utiliza la recombinación para mover, extraer o insertar genes durante, por ejemplo, la generación de ratones con genes "*knockout*" (que han sido eliminados) o "*knock in*" (que han sido insertados). Se ha comprobado que este tipo de ratones modificados pueden utilizarse como valiosas herramientas experimentales.

Por ejemplo, la estrategia de los genes *knockout* se ha empleado con los genes que codifican factores de transcripción que controlan la diferenciación de las células musculares. Cuando se inutilizan las dos copias del gen que codifica la proteína reguladora *miogenina*, el animal muere al nacer porque carece de músculo esquelético funcional. El análisis microscópico pone de manifiesto que los tejidos a partir de los cuales se forma normalmente el músculo contienen células precursoras que no han conseguido diferenciarse por completo (Figura 35.16). Los ratones heterocigóticos, que contienen un gen normal para la miogenina y un gen alterado, tienen un aspecto normal, lo que sugiere que el nivel de expresión génica no es esencial para su función. Mediante investigaciones análogas se ha determinado la función de muchos otros genes y se han podido generar animales modelo para el estudio de algunas enfermedades genéticas humanas conocidas.

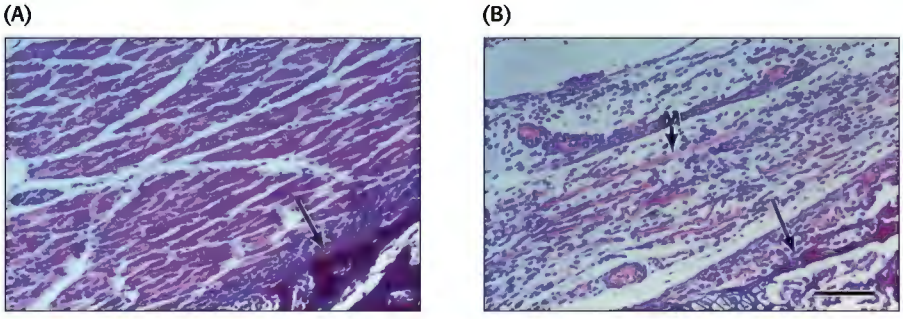


Figura 35.16 Consecuencias de la inutilización de genes por recombinación. Secciones de músculo de ratones (A) normales y (B) con genes inutilizados por recombinación, observadas con un microscopio óptico. En los ratones que tienen inutilizados los dos genes para la miogenina, los músculos no se desarrollan de manera correcta. Las flechas indican los huesos de la pelvis, lo que permite asegurar que las dos micrografías muestran la misma región anatómica. La M de la parte B señala una fibra muscular del ratón "*knockout*". [Tomada de P. Hasty, A. Bradley, J. H. Morris, D. G. Edmonson, J. M. Venuti, E. N. Olson y W. H. Klein, *Nature* 364: 501–506, 1993.]

? PREGUNTA RÁPIDA 2 ¿Cuántas hebras de DNA hay en una estructura de Holliday?

Resumen

35.1 La replicación del DNA puede generar errores

El DNA se puede dañar de varias formas. Por ejemplo, en el transcurso de la replicación del DNA se pueden incorporar bases emparejadas de forma incorrecta o algunas bases individuales pueden resultar dañadas, después de la replicación del DNA, por oxidación o por la adición de hidrocarburos. Otros tipos de lesiones son la formación de entrecruzamientos o la generación de cortes en el esqueleto de una de las hebras del DNA o de las dos.

35.2 Los daños en el DNA se pueden detectar y reparar

Diversos sistemas de reparación detectan y reparan los daños en el DNA. La reparación comienza con el proceso de corrección de errores durante la replicación del DNA: las bases mal emparejadas que se incorporaron en el transcurso de la síntesis se eliminan gracias a la actividad exonucleasa que presentan las polimerasas encargadas de la replicación. Algunas lesiones del DNA, como los dímeros de timina, se pueden corregir directamente mediante la actividad de enzimas específicas. Otros mecanismos de reparación del DNA eliminan una única base dañada (reparación mediante escisión de bases) o fragmentos cortos de nucleótidos (reparación mediante escisión de nucleótidos). Los defectos en los componentes de los sistemas de reparación del DNA están relacionados con la predisposición a contraer muchos tipos distintos de cáncer. Estos defectos son una diana habitual para los tratamientos contra el cáncer. Muchos posibles carcinógenos se pueden detectar gracias a su acción mutagénica en bacterias (test de Ames).

35.3 La recombinación del DNA desempeña importantes funciones tanto en la replicación como en la reparación

Recombinación es el intercambio de fragmentos entre dos moléculas de DNA. Es importante en algunos tipos de reparación del DNA, así como en otros procesos, como la meiosis, la generación de diversidad en los anticuerpos y en el ciclo vital de algunos virus. Algunos mecanismos de recombinación comienzan con una invasión de la hebra, en la que una hebra sencilla del extremo de una doble hélice de DNA forma pares de bases con una hebra de DNA de otra doble hélice y desplaza a la hebra complementaria. Un intermediario frecuente de esta ruta, que también se forma en otras rutas de recombinación, es la unión de Holliday, que consta de cuatro hebras de DNA que se unen entre sí formando una estructura con forma de aspa.

Términos clave

repetición de un trinucleótido (p. 614)
mutágeno (p. 615)
reparación de emparejamientos incorrectos (p. 617)
reparación directa (p. 618)
reparación mediante escisión de bases (p. 618)
reparación mediante escisión de nucleótidos (p. 618)
gen de supresión de tumores (p. 619)
test de Ames (p. 620)
RAD51 (p. 621)
unión de Holliday (p. 621)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. La propiedad del DNA de ser una doble hélice. El daño en una hebra del DNA se puede reparar utilizando la otra hebra como molde.

2. Cuatro.

Problemas

1. *Se cometieron errores.* Enumere algunas formas de introducir mutaciones en el DNA.

2. *Ofensa molecular.* Enumere los factores comentados en este capítulo que pueden provocar daños en el DNA.

3. *Tan sencillo como sumar 2 y 2.* ¿Cuáles son los pasos requeridos por todos los mecanismos de reparación del DNA? ✓ 5

4. *Servicio de reparación del DNA.* Enumere los servicios de reparación responsables de mantener la integridad del DNA. ✓ 5

5. *Triste, pero cierto.* Varias generaciones de niños han oído decir a sus madres: "sal de casa y ve a jugar a la calle. Es bueno que te dé el sol". ¿Por qué hoy en día se considera que quizás no sea un buen consejo?

6. *Arrancada de cuajo.* Describa el proceso de reparación de bases mediante escisión, que elimina las bases modificadas.

7. *Hora T.* Explique las ventajas de utilizar en el DNA timina en vez de uracilo. ✓ 5

8. *¿Coincidencia? Creo que no.* En el DNA eucariótico, es frecuente que la citosina se metile en la posición 5, ya que es una forma de regular la transcripción. Las células eucarióticas también disponen de un sistema de reparación especializado que reconoce los emparejamientos incorrectos G–T y los repara convirtiéndolos en pares de bases G–C. ¿Por qué este sistema de reparación es útil para la célula? ✓ 5

9. *Correcciones.* En la mayoría de los casos, la incorporación incorrecta de un nucleótido durante la síntesis de DNA en *E. coli* no da lugar a una progenie mutada. ¿Cuál es el mecanismo que explica tanta buena suerte?

10. *No me extraña que estés tan cansado.* Un tipo de lesión del DNA muy frecuente en las células de mamífero es la escisión espontánea de la adenina o de la guanina, un proceso denominado depurinación espontánea. Se ha calculado que la velocidad de depurinación espontánea es de 3×10^9 por purina y por minuto. Estos daños tienen que ser reparados. Una célula humana diploide contiene 6×10^9 pb. ¿Cuántas depurinaciones espontáneas se tienen que reparar por célula y por día? ✓ 5

11. *Espectro inducido.* Las DNA fotoliasas convierten la energía de la luz de la región del ultravioleta cercano o de la región visible (300-500 nm) en energía química para romper el anillo de ciclobutano de los dímeros de pirimidina. En ausencia de sustrato, estas enzimas fotorreactivas no absorben luz con una longitud de onda mayor de 300 nm. ¿Por qué resulta ventajosa la banda de absorción inducida por el sustrato? ✓ 5

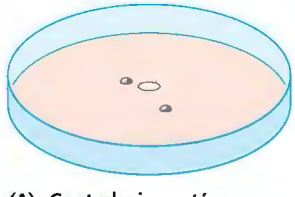
12. *Lewis y Clark.* Asigne a cada término la descripción correspondiente.

(a) Repetición de un trinucleótido _____
(b) Mutágeno _____
(c) Reparación de emparejamientos incorrectos _____
(d) Reparación directa _____
(e) Reparación mediante escisión de bases _____
(f) Reparación mediante escisión de nucleótidos _____
(g) Gen supresor de tumores _____
(h) RAD51 _____
(i) Unión de Holliday _____
(j) Recombinación _____

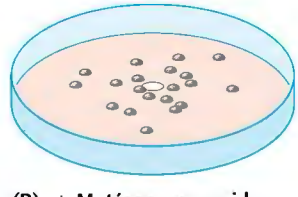
1. Reparación del DNA sin que se elimine ningún fragmento del DNA
2. Con frecuencia, se trata de genes que reparan el DNA
3. Una ATPasa que se une al DNA de hebra sencilla
4. Intercambio de información genética
5. Agentes químicos que alteran el DNA
6. Requiere actividad glicosilasa
7. Mecanismo de reparación codificado en *E. coli* por *uvrABC*
8. Intermediario de la recombinación
9. Su expansión provoca la enfermedad de Huntington
10. Requiere MutS, MutL y MutH

Problemas de interpretación de datos para atrevidos

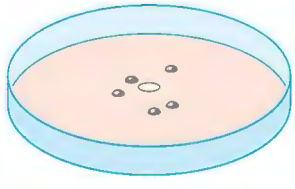
13. *Test de Ames.* La ilustración adjunta muestra cuatro placas de Petri de las que se utilizan para el test de Ames. Se empapó un trozo de papel de filtro (el círculo de color blanco situado en el centro de cada placa) en cada una de las cuatro preparaciones que se querían ensayar y, después, se colocó sobre la placa de Petri.



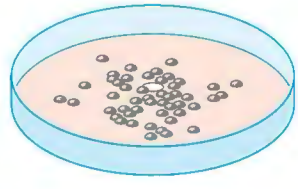
(A) Control: sin mutágeno



(B) + Mutágeno conocido



(C) + Muestra experimental

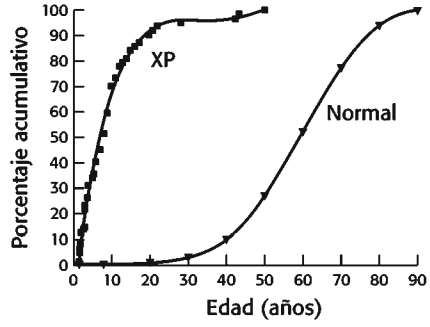


(D) + Muestra experimental, después de ser tratada con un homogenado de hígado

Las cuatro preparaciones consistían en: (A) agua pura (control), (B) un conocido mutágeno, (C) un compuesto químico cuya capacidad mutagénica se está investigando y (D) el mismo compuesto químico después de ser tratado con un homogenado de hígado. En cada caso se determinó el número de revertientes, que se manifiestan en forma de colonias visibles sobre las placas de Petri.

(a) ¿Para qué sirve la placa control, expuesta simplemente al agua?
(b) ¿Por qué es una buena idea utilizar un mutágeno conocido en este sistema experimental?
(c) ¿Cómo interpretaría los resultados obtenidos con el compuesto experimental?
(d) ¿Qué componentes del hígado son responsables de los efectos observados en la preparación D?

14. *Ya sale el Sol, pero yo digo que no es bueno.* Entre los caucasianos, el tipo de cáncer más frecuente es el cáncer de piel, ya que representa casi la mitad de todos los casos de cáncer que se producen cada año en los Estados Unidos. Se espera que, este año, más de dos millones de personas desarrollen un cáncer de piel de tipo no melanoma. Por suerte, este tipo de cáncer de piel se trata fácilmente. La exposición al sol es el principal agente ambiental implicado en la inducción del cáncer de piel de tipo no melanoma. El gráfico adjunto muestra el porcentaje acumulativo de pacientes con cáncer de piel de tipo no melanoma en función de la edad a la que aparece este tipo de cáncer en pacientes normales y en pacientes con xeroderma pigmentoso (XP). ✓ 5



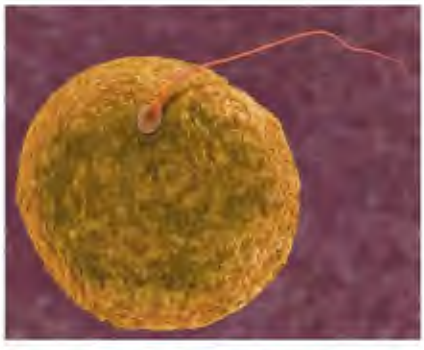
[Tomado de K. H. Kramer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94: 11-14, 1997.]

(a) De los dos grupos de pacientes, ¿cuál es el más susceptible al cáncer de piel?
(b) Explique la respuesta al apartado *a*.
(c) Sugiera una hipótesis de por qué en las personas normales el cáncer de piel tarda aproximadamente seis décadas en desarrollarse.

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.



Capítulo 36: Síntesis y regulación del RNA en bacterias



Capítulo 37: Expresión génica en eucariotas



Capítulo 38: Maduración del RNA en eucariotas

SECCIÓN **15**

Síntesis, maduración y regulación del RNA

Se puede considerar al DNA como la información archivada que, al copiarse en forma de RNA, se transfiere a un formato útil y manejable. Este proceso se denomina transcripción o síntesis de RNA. La transcripción es la etapa inicial de la expresión de la información genómica. Es un proceso análogo al de hacer fotocopias de determinadas partes de un libro raro y descatalogado para ser utilizadas en una clase particular. Tras haber cumplido con su cometido, las copias se pueden destruir, pero el libro —el equivalente genómico— permanece intacto, sin daños.

La síntesis precisa del RNA es tan solo una parte de la historia. Incluso en un organismo tan sencillo como *E. coli*, no todos los genes se expresan en un momento determinado. El patrón de genes que se transcriben en DNA cambia en función de las condiciones ambientales, como, por ejemplo, cuando la bacteria se encuentra en presencia del disacárido lactosa como fuente de carbono en vez de glucosa. La transcripción se tiene que regular para satisfacer las necesidades bioquímicas de la célula.

Esta regulación se hace más compleja en los organismos superiores. En ellos, la transcripción puede cambiar no solo en respuesta a la dieta, como en *E. coli*, sino también en respuesta a hormonas o, incluso, al comportamiento. Por ejemplo, el ejercicio produce sus efectos beneficiosos, al menos en parte, alterando los patrones de transcripción en el músculo, el hígado y las células adiposas. Quizás el ejemplo más espectacular de la regulación de la expresión génica sea el desarrollo, a partir de un óvulo fertilizado unicelular, de un ser humano completamente funcional con billones de células, cientos de tipos celulares y docenas de tejidos. Cada célula contiene el repertorio

completo de información genética, pero la regulación de la transcripción permite los procesos de crecimiento y desarrollo.

En eucariotas, el proceso de la transcripción es aún más complejo que en bacterias, ya que el producto inicial de la transcripción de la mayoría de los genes que codifican proteínas no corresponde al producto final, es decir, a un RNA funcional. En realidad, la mayoría de los genes que codifican proteínas son mosaicos de secuencias ricas en información que serán expresadas (exones) interrumpidas por secuencias que no serán expresadas (intrones). Después de la transcripción, hay que entresacar las regiones ricas en información presentes en el RNA producido inicialmente por la síntesis de RNA y unirlas entre sí dando lugar a un producto final que pueda ser utilizado, mediante un proceso denominado maduración del RNA (*splicing*).

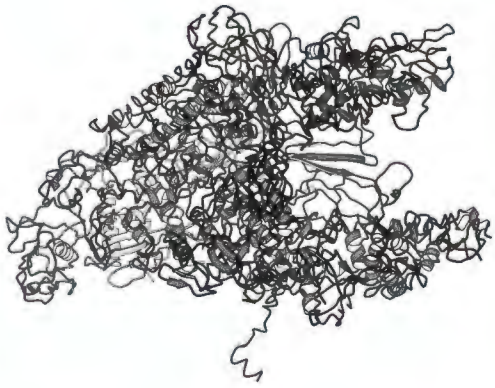
Por tanto, la transcripción es el primer paso que hay que dar para acceder a la información contenida en el genoma. En primer lugar, estudiaremos este proceso y su control en bacterias y, después, en eucariotas. La sección finaliza con el estudio de la maduración del RNA.

✓ Al final de esta sección, usted debería ser capaz de:

- ✓ 1 Identificar la enzima clave necesaria para la transcripción.
- ✓ 2 Describir cómo se controla la transcripción en bacterias.
- ✓ 3 Describir cómo se regula la transcripción en eucariotas.
- ✓ 4 Explicar cómo se modifica el RNA después de su transcripción en eucariotas.

CAPÍTULO 36

Síntesis y regulación del RNA en bacterias





36.1 El RNA celular se sintetiza mediante RNA polimerasas

36.2 La síntesis del RNA consta de tres etapas

36.3 El operón *lac* ilustra el control de la expresión génica en bacterias

Los videojuegos permiten a los jugadores asumir un impresionante número de roles —desde atletas a famosos guitarristas de rock. La empresa Spongelab Interactive utiliza el programa *Transcription Hero* para enseñar ciencias a los estudiantes de secundaria. La verdadera heroína de la transcripción es la enzima RNA polimerasa, mostrada en la parte izquierda de la figura, que cataliza la síntesis de RNA a partir de un DNA molde. (www.spongelab.com.)

Para empezar, estudiaremos la síntesis y regulación del RNA en nuestro inseparable compañero de viaje —la bacteria intestinal *E. coli*. Como ya hemos visto en numerosas ocasiones, los estudios llevados a cabo con este organismo modelo son una excelente fuente de conocimientos sobre los procesos bioquímicos básicos que comparten todos los seres vivos.

36.1 El RNA celular se sintetiza mediante RNA polimerasas

✓ 1 Identificar la enzima clave necesaria para la transcripción.

La síntesis de RNA a partir de un DNA molde se denomina *transcripción* y está catalizada por la *RNA polimerasa*, una enzima de gran tamaño que está presente en todas las formas de vida (Figura 36.1). La RNA polimerasa necesita los siguientes componentes:

1. *Un molde.* Uno de los sustratos para la síntesis del RNA es el DNA de doble hebra. Sin embargo, lo más normal es que solo se transcriba una de las hebras. Se pueden diferenciar las dos hebras del DNA en base a su relación con el RNA producido. *La secuencia de la hebra molde del DNA es complementaria a la del RNA transcrito*

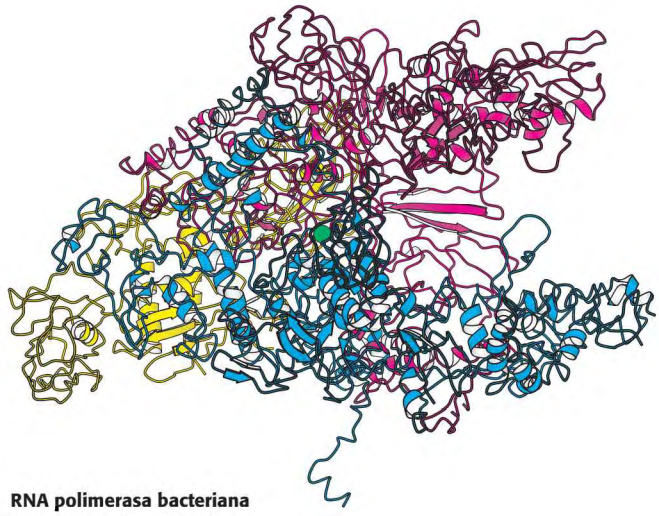


Figura 36.1 RNA polimerasa. Esta enzima es de gran tamaño y está formada por muchas subunidades, entre las que se incluyen β (en color azul) y β′ (en color rojo), que forman una "garra" que sujeta el DNA para que se transcriba. *Observe* que el centro activo incluye un ion magnesio (en color verde) situado en el centro de la estructura. [Elaborada a partir de IL9Z.pdb.]

(**Figura 36.2**). Por el contrario, *la hebra codificante del DNA tiene la misma secuencia que la del RNA transcrito*, salvo por la presencia de timina (T) en lugar de uracilo (U). La hebra codificante también se conoce como *hebra con sentido* (+) y la hebra molde como *hebra sin sentido* (−).

2. *Precursores activados.* Además del DNA, los otros sustratos que se necesitan son los materiales de construcción para sintetizar el RNA: *los ribonucleósidos trifosfato* ATP, GTP, UTP y CTP.

3. *Un ion metálico divalente.* La RNA polimerasa necesita un catión divalente como cofactor. El Mg^{2+} o el Mn^{2+} pueden servir.

5′—GCGGCGACGCGCAGUUAAUCCCACAGCCGCCAGUUCCGCUGGCGGCAU—3′ **mRNA**
3′—CGCCGCTGCGCGTCAATTAGGGTGTCGGCGGTCAAGGCGACCGCCGTA—5′ **Hebra molde (sin sentido) del DNA**
5′—GCGGCGACGCGCAGTTAATCCCACAGCCGCCAGTTCCGCTGGCGGCAT—3′ **Hebra codificante (con sentido) del DNA**

Figura 36.2 Complementariedad entre el mRNA y el DNA. La secuencia de bases del mRNA (en color verde) es complementaria a la de la hebra molde del DNA. La otra hebra del DNA se denomina hebra codificante, porque tiene la misma secuencia que el transcrito de RNA, salvo por la presencia de timina (T) en vez de uracilo (U).

La RNA polimerasa cataliza la iniciación y la elongación de las hebras de RNA. La reacción catalizada por esta enzima es

$$(\text{RNA})_{n\ \text{residuos}} + \text{ribonucleósido trifosfato} \rightleftharpoons (\text{RNA})_{n+1\ \text{residuos}} + PP_i$$

La síntesis del RNA es similar a la del DNA en varios aspectos (**Figura 36.3**). En primer lugar, la dirección de la síntesis es 5′→ 3′. En segundo lugar, el mecanismo de elongación es parecido: el grupo OH en posición 3′ del extremo de la cadena que está creciendo ataca al grupo fosforilo más interno del ribonucleósido trifosfato entrante. En tercer lugar, la síntesis se impulsa hacia adelante gracias a la hidrólisis del pirofosfato. Sin embargo, a diferencia de la DNA polimerasa, la RNA polimerasa no necesita un cebador.

Los genes representan las unidades transcripcionales

Hay muchos tipos de RNA, y todos ellos son productos de la RNA polimerasa. Los segmentos del DNA que codifican las diversas especies de RNA se denominan *genes*. La RNA polimerasa reconoce el comienzo y el final de un gen mediante mecanismos que analizaremos en breve.

En todas las células se producen tres tipos principales de RNA. El RNA mensajero (mRNA) codifica la información necesaria para sintetizar una proteína, mientras que el RNA de transferencia (tRNA) y el RNA ribosómico (rRNA) son componentes

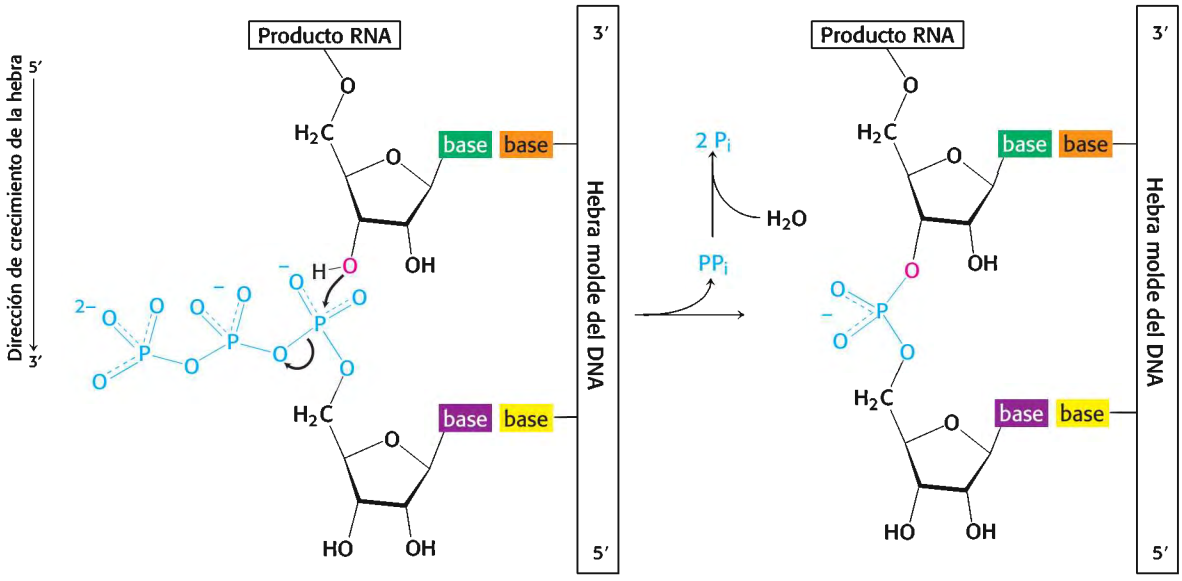


Figura 36.3 Reacción de elongación de la hebra de RNA.

esenciales de la maquinaria que traduce el mRNA en una proteína. En *E. coli*, todos los tipos de RNA celular son sintetizados por la misma RNA polimerasa, siguiendo las instrucciones dictadas por el DNA molde. En células de mamífero, este trabajo se divide entre las distintas clases de RNA polimerasa (Capítulo 37), aunque la química es igual en todas ellas.

La RNA polimerasa está formada por múltiples subunidades

Como ya se ha mencionado, en todos los organismos, la enzima responsable de la transcripción es la RNA polimerasa. En *E. coli*, la RNA polimerasa es una enzima muy grande (~500 kDa) y compleja que está formada por cinco tipos de subunidades (Tabla 36.1). Las subunidades que componen la enzima completa, que se denomina *holoenzima*, son $\alpha_2\beta\beta'\sigma\omega$. La *subunidad sigma* ($\sigma$) ayuda a encontrar el lugar donde comienza la transcripción, interviene en la iniciación de la síntesis del RNA y, posteriormente, se disocia del resto de la enzima. A la RNA polimerasa carente de esta subunidad ($\alpha_2\beta\beta'\omega$) se la denomina *núcleo de la enzima*, ya que contiene el centro activo.

Tabla 36.1 Subunidades de la RNA polimerasa de *E. coli*

Subunidad	Gen	Número	Masa (kDa)	Función
α	*rpoA*	2	37	Necesaria para ensamblar el núcleo de la enzima; interacciona con factores reguladores
β	*rpoB*	1	151	Interviene en todas las etapas de la catálisis
β'	*rpoC*	1	155	Se une al DNA; interviene en la catálisis
ω	*rpoZ*	1	10	Necesaria para devolver la polimerasa desnaturalizada a su estado nativo
σ^{70}	*rpoD*	1	70	Interviene en el reconocimiento del promotor

36.2 La síntesis del RNA consta de tres etapas

La síntesis de RNA, como casi todas las reacciones biológicas de polimerización, se lleva a cabo en tres etapas: *iniciación*, *elongación* y *terminación*.

La transcripción se inicia en los lugares promotores del DNA molde

Consideremos el problema de la iniciación. En un genoma hay miles de millones de bases, organizadas en miles de genes. ¿Cómo determina la RNA polimerasa dónde tiene que comenzar la transcripción? Unas secuencias especiales del DNA, denomi-

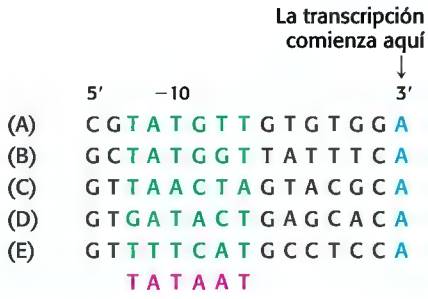


Figura 36.4 Secuencias de promotores bacterianos. Al comparar cinco secuencias de promotores bacterianos se pone de manifiesto la existencia de una secuencia recurrente TATAAT centrada en la posición −10. La secuencia consenso de la región −10 (en color rojo) se ha deducido a partir de un gran número de secuencias de promotores.

nadas *promotores*, dirigen a la RNA polimerasa hasta el lugar apropiado para la iniciación de la transcripción. Por el lado 5′ (corriente arriba) del lugar de inicio es frecuente encontrar dos secuencias de DNA que actúan como promotores de muchos genes bacterianos. Se conocen con los nombres de *secuencia −10* (o también, *caja Pribnow*) y *secuencia −35*, porque están centradas, aproximadamente, 10 y 35 nucleótidos corriente arriba (*upstream*) del lugar de inicio. Cada secuencia tiene una longitud de 6 pb. Sus *secuencias consenso* (promedio) se deducen a partir del análisis de un gran número de promotores (**Figura 36.4**) y son



Al primer nucleótido (el lugar de inicio) de una secuencia de DNA transcrita (un gen) se le asigna la posición +1 y, al segundo, +2; al nucleótido anterior al lugar de inicio se le asigna la posición −1. Estas asignaciones corresponden a la hebra codificante del DNA.

No todos los promotores son igual de eficientes. Los genes con promotores fuertes se transcriben con frecuencia —en *E. coli*, pueden transcribirse cada dos segundos. Por el contrario, los genes con promotores muy débiles se transcriben aproximadamente una vez cada 10 minutos. Por tanto, *la eficacia, o fortaleza, de una secuencia promotora sirve para regular la transcripción*. Las regiones −10 y −35 de los promotores más fuertes tienen secuencias que se parecen mucho a las secuencias consenso, mientras que los promotores débiles tienen tendencia a presentar múltiples sustituciones en estos lugares. De hecho, la mutación de una única base en la secuencia −10 o en la secuencia −35 puede reducir la actividad del promotor. La distancia entre estas secuencias conservadas también es importante; la separación óptima es de 17 nucleótidos. Las proteínas reguladoras, denominadas *factores de transcripción*, que se unen a secuencias especificas próximas a los lugares promotores e interaccionan con la RNA polimerasa (Capítulo 37) también afectan notablemente a la frecuencia de transcripción de muchos genes.

En un subconjunto de genes que se expresan con mucha frecuencia, se encuentra, fuera del promotor, el *elemento situado corriente arriba*, también denominado elemento UP (del inglés, *up*stream element). Esta secuencia se encuentra entre 40 y 60 nucleótidos corriente arriba del lugar de inicio de la transcripción. La unión de la subunidad α de la RNA polimerasa al elemento UP permite aumentar la eficiencia de la transcripción, ya que genera otro lugar de unión para la polimerasa.

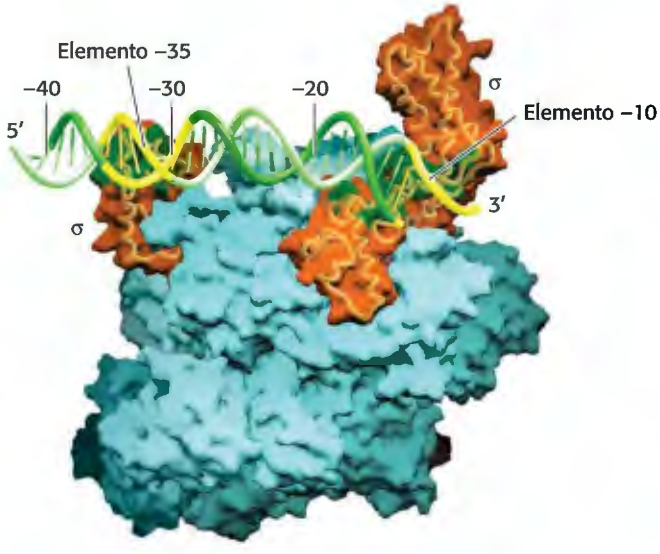


Figura 36.5 Complejo de la holoenzima de la RNA polimerasa. *Observe* que la subunidad σ (en naranja) de la holoenzima de la RNA polimerasa bacteriana establece contactos específicos con las secuencias −10 y −35 del promotor (en amarillo). [Tomada de K. S. Murakami, S. Masuda, E. A. Campbell, O. Muzzin, y S. A. Darst. *Science* 296: 1285–1290, 2002.]

Las subunidades sigma de la RNA polimerasa reconocen los lugares promotores

El núcleo $\alpha_2\beta\beta'\omega$ de la RNA polimerasa de *E. coli* es incapaz de comenzar la transcripción en los lugares promotores. El primer paso de la iniciación consiste en encontrar el lugar de inicio de la transcripción. La iniciación correcta depende de la *subunidad* σ, que ayuda a la polimerasa a localizar el lugar de inicio exacto. La subunidad σ lo consigue de dos formas. Primero, aunque parezca paradójico, *reduce en un factor de 10^4 la afinidad de la RNA polimerasa hacia las regiones generales del DNA*. Esta disminución tiene el efecto de dejar que la enzima se una a la doble hélice de DNA y se deslice rápidamente a lo largo de ella, en busca del promotor. En ausencia de la subunidad σ, el núcleo de la enzima se une fuertemente, y de manera indiscriminada, al DNA. En segundo lugar, *la subunidad σ permite a la RNA polimerasa reconocer los lugares promotores* (**Figura 36.5**). La subunidad σ se libera cuando la nueva cadena de RNA (la cadena *naciente*) alcanza una longitud de nueve o diez nucleótidos. Tras producirse esta liberación, la subunidad σ puede ayudar en la iniciación de otro núcleo de la enzima. De este modo, *la subunidad σ actúa de forma catalítica* (**Figura 36.6**).

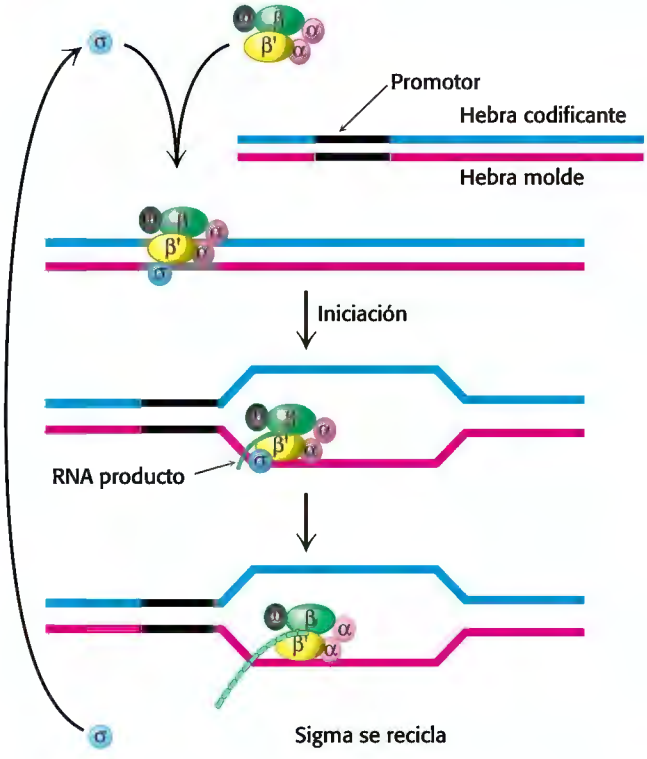


Figura 36.6 Los factores sigma actúan de forma catalítica. El factor σ ayuda a la polimerasa a encontrar el lugar promotor correcto y, después, se disocia de la enzima activa para ayudar a otra polimerasa a encontrar el promotor apropiado. De este modo, el factor σ puede ayudar a muchas polimerasas a localizar los promotores.

La bacteria *E. coli* tiene muchos tipos de factores σ capaces de reconocer varios tipos de secuencias promotoras en su DNA. El tipo que reconoce las secuencias consenso descritas anteriormente se denomina σ^{70}, porque tiene una masa de 70 kDa. Otros factores σ ayudan a las bacterias a soportar periodos de temperaturas elevadas, escasez de nitrógeno y otras condiciones ambientales.

Las hebras de RNA crecen en sentido 5′→ 3′

Después de producirse la unión de la RNA polimerasa al promotor y antes de que comience la síntesis, se tiene que desenrollar un segmento de la doble hélice de DNA para que los nucleótidos de la hebra molde puedan dirigir la síntesis del producto, el RNA. Cada molécula de polimerasa unida desenrolla un segmento de 17 pb del DNA (**Figura 36.7**).

La transición del *complejo promotor cerrado* (con el DNA en forma de doble hélice) al *complejo promotor abierto* (con un segmento del DNA desenrollado) es un acontecimiento decisivo en la transcripción. Una vez se ha producido esta transición, todo está listo para la formación del primer enlace fosfodiéster de la nueva cadena de RNA.

A diferencia de la síntesis del DNA, *la síntesis de RNA puede comenzar de novo, sin necesidad de un cebador*. En bacterias, la mayoría de las hebras de RNA recién sintetizadas portan una marca muy característica en su extremo 5′: por ese lado, la primera base es *pppG* o *pppA*, lo que confirma que las hebras de RNA, al igual que las de DNA, crecen en la dirección 5′→ 3′ (**Figura 36.8**).

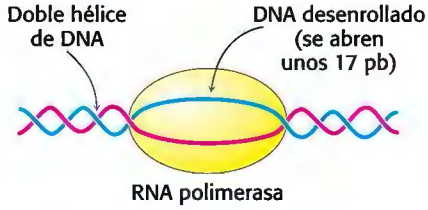


Figura 36.7 Desenrollamiento del DNA. La RNA polimerasa desenrolla unos 17 pares de bases de la doble hélice de DNA para formar un complejo promotor abierto.

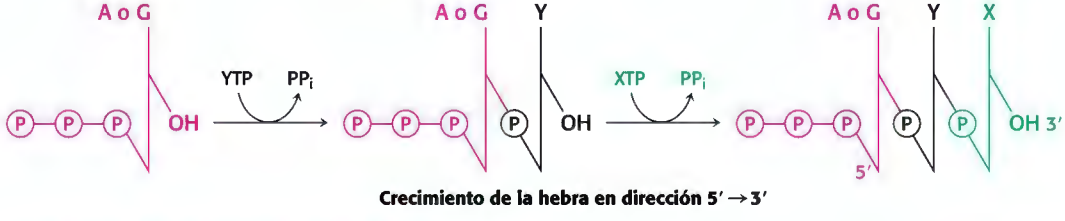


Figura 36.8 Crecimiento de la hebra de RNA. El RNA recién sintetizado crece en la dirección 5′ → 3′, y el primer nucleótido es pppA o pppG. YTP y XTP representan a cualquier otro nucleótido.

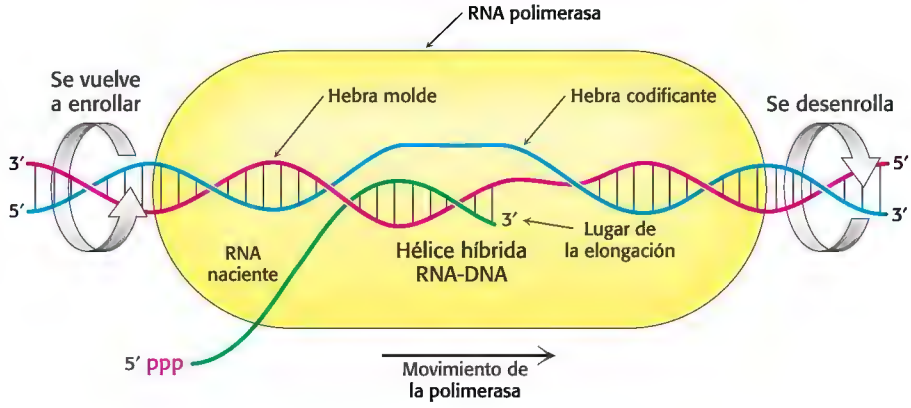


Figura 36.9 Burbuja de transcripción. Representación esquemática de una burbuja de transcripción durante la elongación de un RNA transcrito. La doble hélice de DNA se desenrolla por el extremo más adelantado de la RNA polimerasa y se vuelve a enrollar en su extremo posterior. Durante la elongación se produce la rotación del híbrido RNA-DNA.

La elongación tiene lugar en las burbujas de transcripción que se desplazan a lo largo del DNA molde

La fase de elongación de la síntesis de RNA comienza tras la formación del primer enlace fosfodiéster. Un importante cambio consiste en la pérdida de la subunidad σ poco después de la iniciación. La pérdida de σ permite al núcleo de la enzima unirse fuertemente al DNA molde (p. 632). De hecho, la RNA polimerasa prosigue con la transcripción hasta encontrar una señal de terminación. La región que contiene la RNA polimerasa, el DNA y el RNA naciente se denomina *burbuja de transcripción* porque contiene una "burbuja" de DNA desnaturalizado localmente (**Figura 36.9**). Durante la fase de elongación, al igual que en la fase de iniciación, hay, en todo momento, unos 17 pb del DNA desenrollados. El RNA recién sintetizado forma una hélice híbrida con aproximadamente 8 pb de la hebra molde de DNA. En esta hélice híbrida, el grupo hidroxilo en posición 3′ del RNA está situado de manera que puede atacar al átomo de fósforo α de un ribonucleósido trifosfato entrante. La burbuja de transcripción se desplaza una distancia de 170 Å (17 nm) por segundo, lo que corresponde a una velocidad de elongación de unos 50 nucleótidos por segundo, y el RNA recién sintetizando va asomando por uno de los costados de la polimerasa (**Figura 36.10**). Aunque es una velocidad rápida, es mucho más lenta que la de la síntesis de DNA, que es de casi 1.000 nucleótidos por segundo.

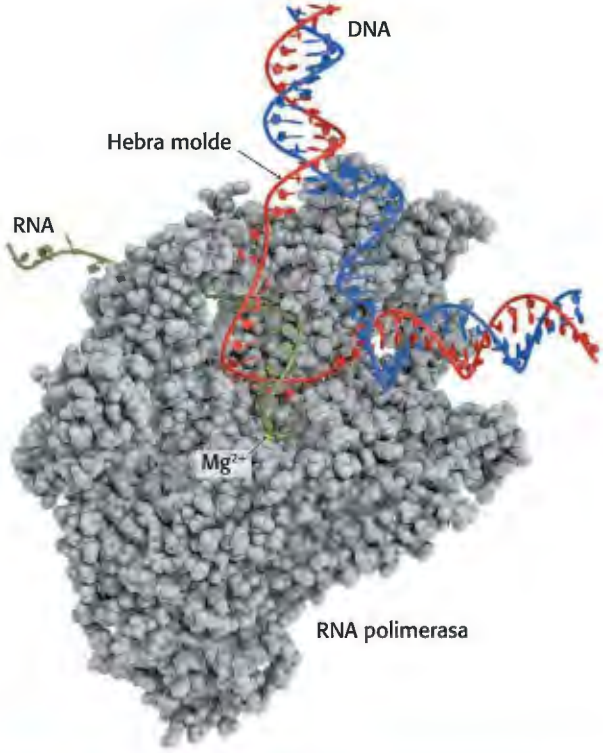


Figura 36.10 Separación del híbrido RNA-DNA. Un modelo basado en la estructura cristalina de la holoenzima de la RNA polimerasa muestra el DNA desenrollado que forma parte de la burbuja de transcripción. *Observe* cómo se desprende el RNA del molde y su extrusión del enzima. [Elaborada por Adam Steinberg a partir de 1CDW.pdb.]

Como en todos los procesos de la vida real, la RNA polimerasa, a veces, comete errores. La tasa de error es del orden de uno por cada 10^4 ó 10^5 nucleótidos, mayor que la de la replicación del DNA, teniendo en cuenta todos los mecanismos de corrección de errores. La menor fidelidad de la síntesis de RNA es tolerable porque los errores no se transmiten a la progenie. En la mayoría de los genes, se sintetizan muchos transcritos de RNA; es poco probable que unos pocos transcritos defectuosos sean perjudiciales. Investigaciones recientes han demostrado que las RNA polimerasas poseen actividad nucleasa para la corrección de errores, especialmente en presencia de proteínas accesorias. Estudios llevados a cabo con una única molécula de RNA polimerasa han puesto de manifiesto que las enzimas dudan y retroceden para corregir errores en la síntesis de RNA.

Una horquilla de RNA seguida de varios residuos de uracilo pone fin a la transcripción de algunos genes

Como ya hemos comentado, la subunidad σ permite a la RNA polimerasa bacteriana iniciar la transcripción en lugares específicos. A continuación, tiene lugar la elongación, pero ¿cómo determina la enzima cuándo debe parar la transcripción? La terminación de la transcripción se controla con la misma precisión que su ini-

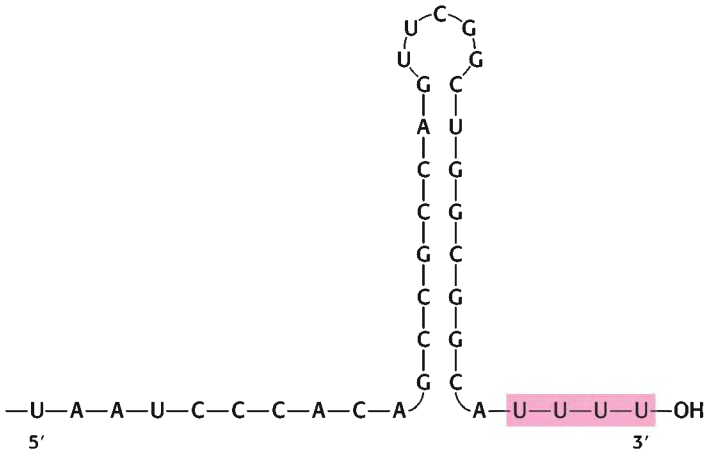


Figura 36.11 Señal de terminación. Una señal de terminación que se encuentra en el extremo 3′ del RNA transcrito consta de una serie de bases que forman una estructura tallo-bucle estable y una serie de residuos de U.

ciación. En la fase de terminación de la transcripción, la formación de enlaces fosfodiéster se detiene, el híbrido RNA-DNA se disocia, la región del DNA que tiene sus hebras separadas vuelve a formar la doble hélice y la RNA polimerasa libera el DNA. ¿Cuál es la señal para la terminación de la transcripción? Curiosamente, aunque las regiones transcritas del DNA contienen señales de parada, *es el producto transcrito de estas señales de parada el que pone fin a la transcripción.* En el DNA, la señal de parada más sencilla es una región palindrómica (repetición invertida) rica en GC, seguida de una secuencia de residuos de T. El RNA transcrito a partir de este DNA palindrómico es complementario consigo mismo (Figura 36.11). Por tanto, sus bases se pueden emparejar dando lugar a una estructura en forma de horquilla con un tallo y un bucle. Esta horquilla estable va seguida de una secuencia de cuatro, o más, residuos de uracilo, que también son decisivos para la terminación. El transcrito de RNA acaba en ellos o justo después de ellos.

Un palíndromo, término derivado de la palabra griega *palindromos*, que significa "volver sobre sus pasos", es una palabra, frase o verso que se lee igual de derecha a izquierda que de izquierda a derecha, como, por ejemplo, "radar" o "la ruta natural".

¿Cómo pone fin a la terminación esta combinación de una horquilla y una estructura oligo(U)? En primer lugar, parece ser que la RNA polimerasa se detiene inmediatamente después de sintetizar un fragmento de RNA que se pliega en forma de horquilla. En segundo lugar, la hélice híbrida RNA-DNA que forma la cola de oligo(U) es inestable porque los pares de bases rU-dA son los más débiles de los tres pares de bases de tipo Watson-Crick. Por tanto, la pausa en la transcripción provocada por la horquilla permite que el RNA naciente débilmente unido se disocie del DNA molde y, después, de la enzima. La hebra del DNA molde que se queda sola se vuelve a emparejar con su compañera para formar la doble hélice, cerrando así la burbuja de transcripción.

La proteína rho ayuda a terminar la transcripción de algunos genes

Cuando la RNA polimerasa se encuentra con una horquilla seguida de varios residuos de U, no necesita ayuda para terminar la transcripción. Sin embargo, en otros lugares, la terminación requiere la participación de una proteína adicional con actividad ATPasa denominada *rho* (ρ). Este tipo de terminación se denomina terminación dependiente de proteína.

Hexámeros de ρ se unen de manera específica a un tramo de 72 nucleótidos del RNA de hebra sencilla. La proteína rho se une al RNA de manera que el RNA pasa a través del centro de la estructura (Figura 36.12). La proteína rho se pone en acción gracias a unas secuencias situadas en el RNA naciente que son ricas en citosina y pobres en guanina. La actividad ATPasa de ρ permite a la proteína tirar del RNA naciente. Básicamente, lo que hace es desplazarse rápidamente a lo largo de la hebra de RNA, dirigiéndose hacia la RNA polimerasa. Cuando ρ colisiona con la RNA polimerasa en la burbuja de transcripción, la hélice híbrida RNA-DNA se rompe y, al desenrollarse, se detiene la transcripción. *Una característica común de la terminación independiente de proteína y de la terminación dependiente de proteína es que las señales funcionales se encuentran en el RNA recién sintetizado en vez de en el DNA molde.*

? **PREGUNTA RÁPIDA 1** ¿Cómo se controla la iniciación de la transcripción en *E. coli*? ¿Cuál es el mecanismo de la terminación?

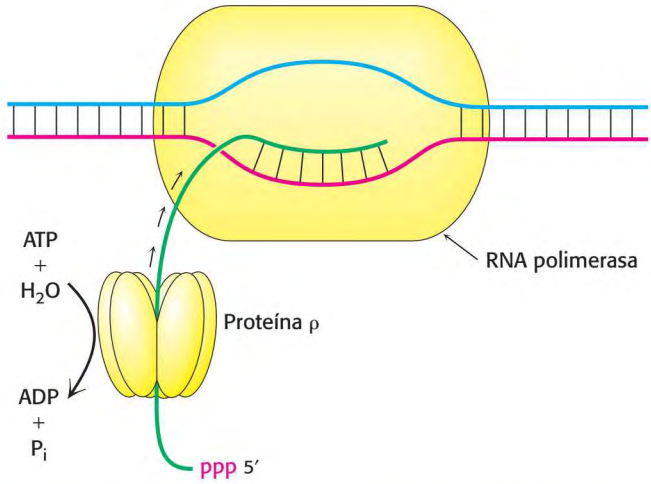


Figura 36.12 Mecanismo de terminación de la transcripción mediante la proteína ρ. Esta proteína es una helicasa dependiente del ATP que se une a la hebra de RNA naciente y tira de ella alejándola de la RNA polimerasa y del DNA molde.

Después de la transcripción, los precursores del RNA de transferencia y del RNA ribosómico se escinden y se modifican químicamente

El producto de la síntesis de RNA no siempre corresponde a la molécula madura de RNA. Aunque, en bacterias, las moléculas de RNA mensajero experimentan pocas modificaciones, o ninguna, después de ser sintetizadas por la RNA polimerasa y, de hecho, pueden ser traducidas mientras se están transcribiendo, no es este el caso cuando se trata de moléculas de RNA de transferencia o de RNA ribosómico. *Las moléculas de RNA de transferencia y de RNA ribosómico se generan mediante la escisión y otros tipos de modificaciones del producto de la transcripción.* Por ejemplo, en *E. coli*, tres tipos de moléculas de rRNA y uno de tRNA se escinden del transcrito primario único de RNA, que también contiene regiones no codificantes denominadas *regiones espaciadoras* (Figura 36.13). Otros transcritos contienen disposiciones en serie de varios tipos de tRNA o de varias copias de un mismo tRNA. Las nucleasas que escinden y recortan los extremos de estos precursores del rRNA o del tRNA son muy precisas. Por ejemplo, en *E. coli*, la *ribonucleasa P* genera el extremo 5′ terminal correcto de todas las moléculas de tRNA. Esta interesante enzima contiene una molécula de RNA catalíticamente activa integrada en sus cadenas polipeptídicas (Capítulo 37). La *ribonucleasa III* escinde los precursores de los rRNA de 5S, de 16 S y de 23S a partir del transcrito primario cortando en lugares específicos de las regiones que forman horquillas de doble hélice. Los RNA se nombran en función de la rapidez con que se desplazan en un campo centrífugo; cuanto mayor sea el valor de S, más rápidamente se desplaza la molécula (Capítulo 5).

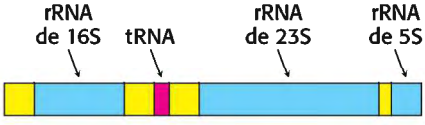


Figura 36.13 Transcrito primario. La escisión de este transcrito da lugar a las moléculas de rRNA de 5S, 16S y 23S y a una molécula de tRNA. Las regiones espaciadoras se muestran en color amarillo.

La escisión a partir de un precursor no es la única forma de procesamiento de los rRNA y de los tRNA. *Una segunda forma de procesamiento, muy frecuente en las moléculas de tRNA, es la adición de nucleótidos a los extremos de algunas hebras de RNA.* Por ejemplo, la secuencia terminal CCA, necesaria para el funcionamiento de todos los tRNA, se añade a los extremos 3′ de las moléculas de tRNA que no la tengan previamente. *Una tercera forma de alterar el rRNA o el tRNA consiste en modificar las bases o las unidades de ribosa.* En bacterias, algunas bases del rRNA están metiladas. Análogamente, en todas las moléculas de tRNA se generan bases atípicas mediante la modificación enzimática de un ribonucleótido estándar del tRNA precursor. Por ejemplo, los residuos de uridilato se modifican después de la transcripción para formar *ribotimidilato* o *pseudouridilato* (Figura 36.14). Estas modificaciones generan diversidad, lo que permite una mayor versatilidad tanto estructural como funcional.

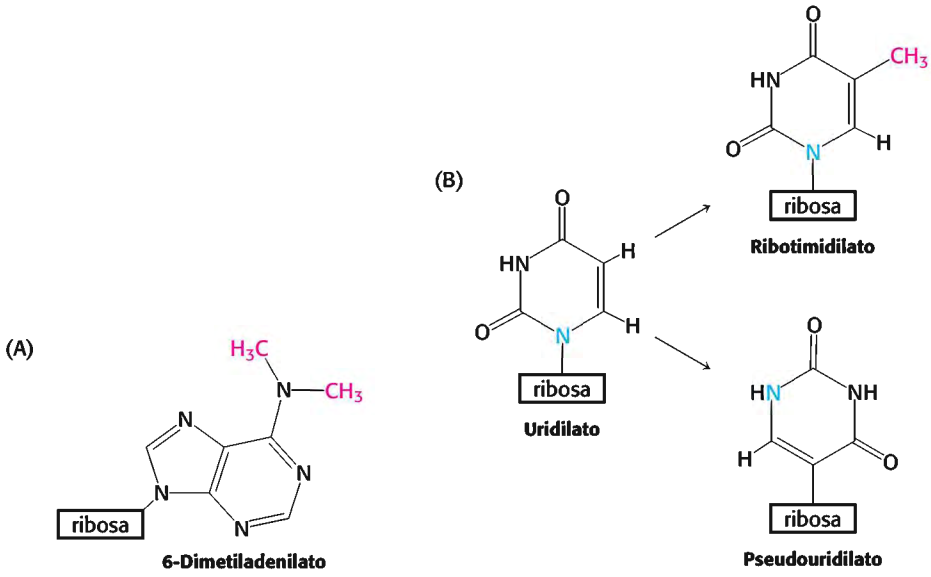
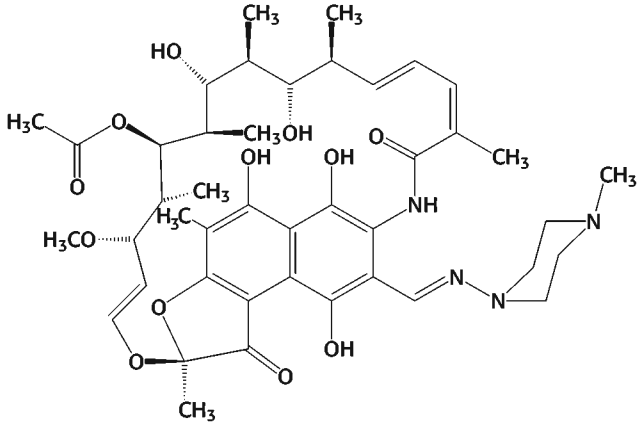


Figura 36.14 Modificación de las bases del RNA. (A) Un adenilato modificado. (B) Dos ejemplos de uridilato modificado.

Aspecto clínico

Algunos antibióticos inhiben la transcripción

Todos somos conscientes de las ventajas de los antibióticos, inhibidores muy específicos de procesos biológicos, que son sintetizados por muchas bacterias. La rifampicina y la actinomicina son dos antibióticos que inhiben la transcripción, aunque de formas muy distintas. La *rifampicina* es un derivado semisintético de las *rifamicinas*, que se obtienen a partir de una cepa de *Amycolatopsis*.



Rifampicina

Este antibiótico inhibe de manera específica la iniciación de la síntesis de RNA. La rifampicina interfiere con la formación de los primeros enlaces fosfodiéster de la hebra de RNA bloqueando el canal por el que debe pasar el híbrido RNA-DNA generado por la enzima (Figura 36.15).

La *actinomicina D*, un antibiótico procedente de una cepa de *Streptomyces* y que contiene un polipéptido, inhibe la transcripción por medio de un mecanismo totalmente distinto. *La actinomicina D se une fuertemente y de manera específica a la doble hélice de DNA y, de este modo, evita que pueda convertirse en un molde eficaz para la síntesis de RNA*. Parte de la molécula de actinomicina D se inserta entre pares de bases adyacentes en el DNA, una modalidad de unión denominada *intercalación*. A bajas

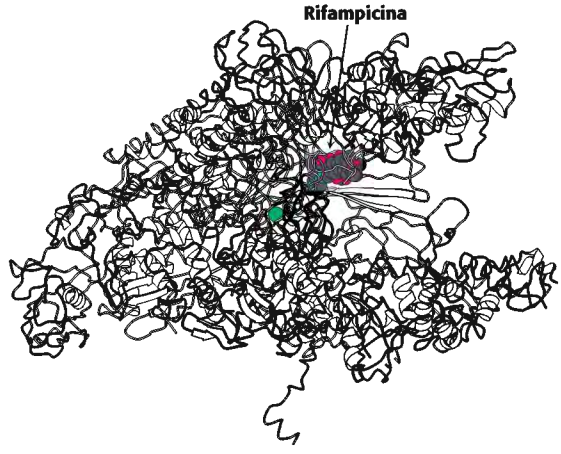


Figura 36.15 Acción de un antibiótico. La rifampicina, mostrada en color rojo, se une a una cavidad situada en el canal que normalmente está ocupado por el híbrido RNA-DNA recién formado. De este modo, el antibiótico bloquea la elongación después de que se hayan añadido dos o tres nucleótidos.

concentraciones, la actinomicina D inhibe la transcripción sin afectar de manera significativa a la replicación del DNA. Por tanto, *la actinomicina D se usa mucho como inhibidor altamente específico de la formación de nuevo RNA, tanto en células procarióticas como eucarióticas*. Su capacidad para inhibir el crecimiento de las células que se están dividiendo con rapidez le convierte en un agente terapéutico eficaz para el tratamiento de algunos tipos de cáncer, entre los que se incluye el cáncer de mama y el cáncer de testículos. ■

✓ 2 Describir cómo se controla la transcripción en bacterias.

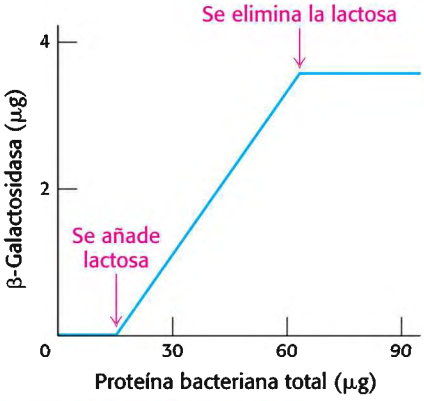
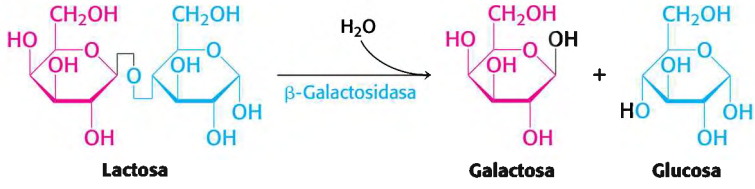


Figura 36.16 Inducción de la β-galactosidasa. La adición de lactosa a un cultivo de *E. coli* hace que se produzca β-galactosidasa, cuya concentración, que era muy baja, aumenta hasta valores mucho mayores. El incremento de la cantidad de enzima está acompañado de un incremento en el número de células que crecen en el cultivo. La β-galactosidasa representa el 6,6% de toda la proteína que se sintetiza en presencia de lactosa.

36.3 El operón *lac* ilustra el control de la expresión génica en bacterias

Veamos ahora cómo responde la transcripción bacteriana a la información ambiental. Un ejemplo especialmente claro es la regulación de los genes que codifican las enzimas que catabolizan el disacárido lactosa. Normalmente, las bacterias como *E. coli* utilizan glucosa como fuente de carbono y de energía. Sin embargo, cuando la glucosa escasea, *E. coli* puede utilizar lactosa como fuente de carbono aunque este disacárido no forme parte de ninguna de las principales rutas metabólicas. Una enzima esencial del metabolismo de la lactosa es la *β-galactosidasa*, que hidroliza la lactosa generando galactosa y glucosa. A continuación, estos productos se metabolizan mediante las rutas estudiadas en el Capítulo 16.



Una célula de *E. coli* que esté creciendo utilizando glucosa o glicerol como fuente de carbono contiene menos de 10 moléculas de β-galactosidasa. Por el contrario, la misma célula creciendo en un medio que contenga lactosa tendrá varios miles de moléculas de la enzima (Figura 36.16).

Curiosamente, siempre que se sintetiza *β*-galactosidasa se sintetizan otras dos proteínas: la *galactósido permeasa* y la *tiogalactósido transacetilasa*. La permeasa es necesaria para transportar la lactosa a través de la membrana celular bacteriana. La transacetilasa no es esencial para el metabolismo de la lactosa, pero parece que juega un papel en la desintoxicación de otros compuestos que también pueden ser transportados por la permeasa. *Los niveles de expresión de un conjunto de enzimas que contribuyen a la adaptación a un cambio específico del entorno cambian a la vez*. Esta unidad coordinada de expresión génica se denomina *operón*.

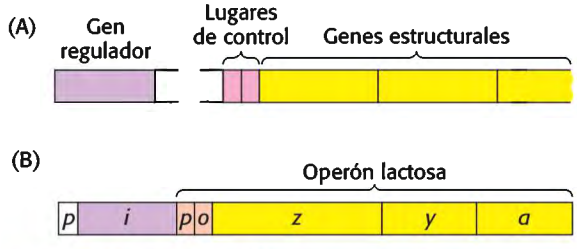


Figura 36.17 Operones. (A) Estructura general de un operón, tal y como fue concebida por Jacob y Monod. (B) Estructura del operón lactosa. Además del promotor, *p*, incluido en el operón, hay un segundo promotor antes del gen regulador, *i*, para dirigir la síntesis del regulador.

Un operón está formado por elementos reguladores y por genes que codifican proteínas

La regulación paralela de la β-galactosidasa, la permeasa y la transacetilasa sugiere que la expresión de los genes que codifican estas enzimas está controlada por un único mecanismo (Figura 36.17). Los componentes del DNA del sistema regulador son un *gen regulador*, un *lugar operador* y un *conjunto de genes estructurales* que, en el caso de la galactosidasa, codifica las tres enzimas. El gen regulador codifica una *proteína represora* que se une al lugar operador. Como su nombre indica, la unión del represor al lugar operador reprime la transcripción de los genes estructurales. El operador y sus genes estructurales asociados constituyen el operón.

En el caso del *operón lactosa (lac)*, el gen que codifica el represor se denomina *i*, el que codifica el lugar operador es *o*, y los que codifican los genes estructurales de la β-galactosidasa, la permeasa y la transacetilasa se denominan *z*, *y* y *a*, respectivamente. El operón también contiene un lugar promotor (que se denomina *p*), que dirige la RNA polimerasa al lugar correcto para iniciar la transcripción. Los genes *z*, *y* y *a* se transcriben dando lugar a una única molécula de mRNA que codifica las tres proteínas. Una molécula de mRNA que codifica más de una proteína es un transcrito *poligénico* o *policistrónico*.

¿Cómo inhibe el *represor lac* la expresión del operón *lac*? En ausencia de lactosa, el represor se une muy fuertemente y de manera rápida al operador, evitando que la RNA polimerasa unida pueda utilizar el DNA como un molde. El fundamento bioquímico es que, en ausencia de lactosa, no hay necesidad de transcribir los genes que codifican las enzimas necesarias para su degradación.

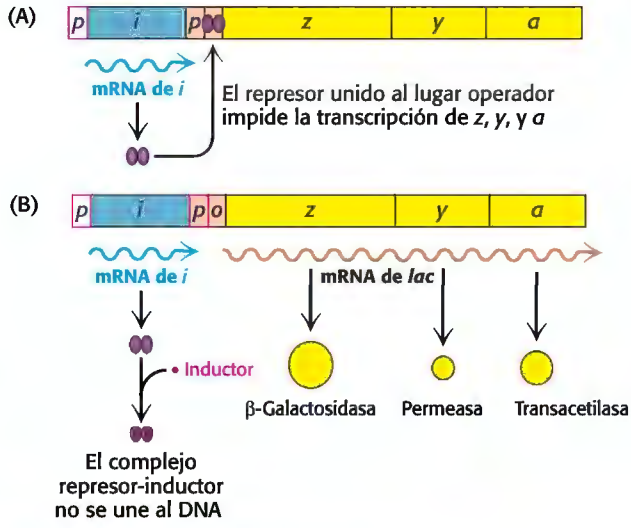
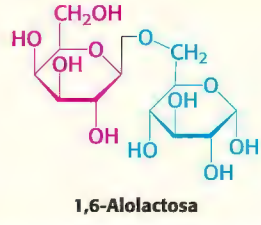


Figura 36.18 Inducción del operón *lac*. (A) En ausencia de lactosa, el represor *lac* se une al DNA y reprime la transcripción del operón *lac*. (B) La alolactosa u otro inductor se une al represor *lac*, provocando su disociación del DNA y la producción del mRNA de *lac*.

La unión a ligandos puede inducir cambios estructurales en las proteínas reguladoras

¿Cómo se disocia el represor del operador? Esta cuestión equivale a preguntar qué señal desencadena la expresión del operón *lac*. Una molécula señal, denominada *inductor*, se une al represor *lac*, *provocando un cambio estructural en el represor que reduce en gran medida la afinidad del represor hacia el lugar operador del DNA*. El complejo represor-inductor abandona el DNA y permite la transcripción del operón (**Figura 36.18**).

¿Quién es el inductor? Intuitivamente, esperaríamos que fuese la propia lactosa. Curiosamente, sin embargo, no es la lactosa la que anuncia su presencia sino la *alolactosa*, una combinación de galactosa y glucosa unidas por en enlace α-1,6 en vez de por un enlace α-1,4, como en la lactosa. La alolactosa es un producto secundario de la reacción de la β-galactosidasa que es producido a baja concentración por las pocas moléculas de β-galactosidasa que estaban presentes antes de la inducción. Muchas otras redes reguladoras de genes funcionan de manera análoga a la del operón *lac*.



1,6-Alolactosa

Se puede estimular la transcripción mediante proteínas que entran en contacto con la RNA polimerasa

El represor *lac* funciona inhibiendo la transcripción hasta que la lactosa esté presente. También existen unas proteínas que se unen a secuencias específicas del DNA y estimulan la transcripción del operón *lac* cuando el suministro de glucosa es reducido. Un caso particularmente bien estudiado es el de la *proteína activadora de catabolitos* (CAP), también conocida como proteína receptora de AMP cíclico (CRP). Cuando se encuentra unida al AMP cíclico (cAMP), CAP estimula la transcripción de los genes para la lactosa. Cuando la concentración de glucosa disminuye, la concentración de cAMP aumenta, con lo que se activa el operón *lac* para ayudar a *E. coli* a utilizar la lactosa como combustible.

Dentro del operón *lac*, el complejo CAP-cAMP se une a un lugar que está centrado cerca de la posición −61 en relación con el lugar de inicio de la transcripción. Esta unión multiplica por un factor aproximado de 50 la frecuencia con que se inicia la transcripción, ya que incorpora la RNA polimerasa a aquellos promotores a los que se ha unido CAP (**Figura 36.19**). El complejo CAP-cAMP establece contactos proteína -proteína con la RNA polimerasa que incrementan la probabilidad de que se inicie la transcripción. De este modo, en el caso del operón *lac*, la expresión génica es máxima cuando la unión de la alolactosa elimina la inhibición llevada a cabo por el represor *lac*, y el complejo CAP-cAMP estimula la unión de la RNA polimerasa. Por otra parte, la glucosa inhibe la expresión del operón *lac* mediante un proceso denominado *represión por catabolito*. Un aumento de la concentración de glucosa en la célula da lugar a una disminución de la concentración intracelular de cAMP.

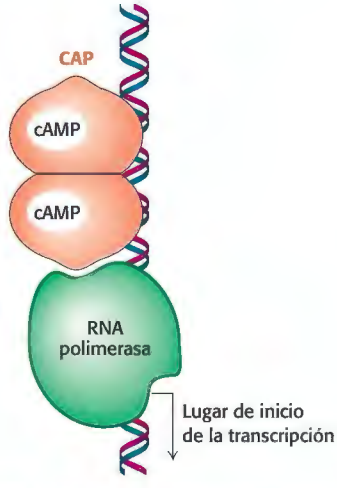


Figura 36.19 Lugar de unión para la proteína activadora de catabolitos (CAP). Esta proteína se une en forma de dímero a una repetición invertida situada en la posición −61 en relación con el lugar de inicio de la transcripción. En el DNA, el lugar de unión a CAP es adyacente a la posición a la que se une la RNA polimerasa.

? PREGUNTA RÁPIDA 2 Describa cómo se combinan la alolactosa y el cAMP para regular el operón *lac*.

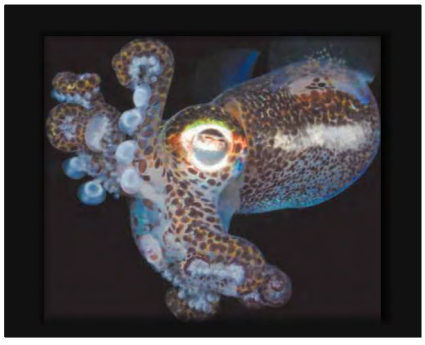


Figura 36.20 Calamar sepiólido. El calamar sepiólido, con una longitud de entre 1 y 8 cm, habita las aguas costeras del Pacífico y proporciona un entorno seguro para la bacteria *Vibrio fischeri*. [David Fleetham/Alamy Images.]

Aspecto clínico y biológico

Muchas células bacterianas liberan señales químicas que regulan la expresión génica en otras células

Tradicionalmente, se creía que las células bacterianas eran células solitarias, individuales. Sin embargo, cada vez se tiene más claro que, en muchas circunstancias, las células bacterianas viven en comunidades complejas, interaccionando con otras células de su misma o de distinta especie. Estas interacciones sociales cambian los patrones de expresión génica en el interior de las células.

Un importante tipo de interacción se denomina *sensibilidad al quórum*. Este fenómeno se descubrió en *Vibrio fischeri*, una especie de bacteria que puede vivir en el interior de un órgano luminoso especializado de los calamares sepiólidos (Figura 36.20). Los sepiólidos viven en aguas someras y cazan durante la noche. Durante la noche, a la luz de la luna, el calamar sería visible para los depredadores que merodean por debajo de él. El calamar ajusta la luz que emite su órgano luminoso para equipararla a la del ambiente, con lo que resulta menos visible para los depredadores. En esta relación simbiótica, las bacterias producen la enzima luciferasa que genera bioluminiscencia, proporcionando así protección para el calamar. A cambio, las bacterias disponen de un lugar protegido para vivir y reproducirse. Curiosamente, cuando estas bacterias crecen en cultivos con una baja densidad celular, no son bioluminiscentes. Sin embargo, cuando la densidad celular alcanza un valor crítico, se expresa el gen de la luciferasa y las células emiten bioluminiscencia. ¿Cómo detectan estas células la densidad de su población?

Las células de *V. fischeri* liberan un *autoinductor* en su entorno y otras células de *V. fischeri* absorben el compuesto químico. Cuando la concentración intracelular del inductor ha aumentado hasta alcanzar un valor apropiado, el inductor se une a una proteína reguladora. A continuación, el complejo inductor-proteína reguladora se une a los lugares promotores, aumentando la velocidad de transcripción del operón que codifica el gen de la polimerasa y el gen del autoinductor. Como cada célula produce una pequeña cantidad del autoinductor, este sistema regulador permite a cada célula de *V. fischeri* determinar la población de estas bacterias en su entorno —de ahí que este proceso se denomine *sensibilidad al quórum*.

Parece ser que la sensibilidad al quórum desempeña un papel fundamental en la formación de comunidades bacterianas con una determinada composición de especies. Se pueden encontrar muchas especies de bacterias en unas estructuras especializadas denominadas *biopelículas*, que se pueden formar sobre una superficie. Algunos genes controlados por mecanismos de sensibilidad al quórum promueven la formación de moléculas específicas que actúan para dar soporte a la biopelícula. Desde el punto de vista médico, las biopelículas tienen una importancia considerable porque, con frecuencia, los organismos presentes en ellas son bastante resistentes a la respuesta inmunitaria del huésped, así como a los antibióticos. La placa dental y la costra que se forma en la ducha son ejemplos típicos de biopelículas. ■

Algunos RNA mensajeros detectan directamente las concentraciones de algunos metabolitos

Un mecanismo de control de la regulación de la expresión génica que se ha descubierto recientemente depende de la extraordinaria capacidad de algunas moléculas de mRNA para formar un tipo especial de estructuras secundarias, algunas de las cuales son capaces de unirse directamente a moléculas pequeñas. Estas estructuras se denominan *ribointerruptores*. Consideremos un RNA que contiene un ribointerruptor y que codifica los genes que intervienen en la biosíntesis de riboflavina (p. 261) en bacterias. Mientras se está sintetizando, el RNA puede adoptar dos estructuras alternativas —una que es capaz de unirse al mononucleótido de flavina (FMN), un intermediario clave de la síntesis de flavina, y otra que no. La unión del FMN fija el transcrito de RNA en una conformación que favorece la terminación de la síntesis de RNA, evitando la producción de un mRNA funcional. Desde el punto de vista bioquímico, esta estrategia tiene lógica: si el precursor está presente, no es necesario fabricar enzimas que sinteticen ese precursor. Sin embargo, si el FMN no está presente, se adopta una estructura alternativa que permite la producción del mRNA completo.

Los ribointerruptores son un claro ejemplo de cómo el RNA es capaz de formar complicadas estructuras funcionales, a pesar de que tendemos a describirlo como un tipo de molécula lineal carente de información específica.

Resumen

36.1 El RNA celular se sintetiza mediante RNA polimerasas

Todas las moléculas de RNA de la célula son sintetizadas por RNA polimerasas, siguiendo las instrucciones dictadas por los DNA molde. Los sustratos monoméricos activados son ribonucleósidos trifosfato. La dirección de la síntesis de RNA es 5′→ 3′, como en la síntesis de DNA. Las RNA polimerasas, a diferencia de las DNA polimerasas, no necesitan un cebador. La RNA polimerasa de *E. coli* es una enzima que consta de múltiples subunidades. Las subunidades que componen la holoenzima de ~500 kDa son $\alpha_2\beta\beta'\sigma\omega$ y las del núcleo de la enzima son $\alpha_2\beta\beta'\omega$.

36.2 La síntesis del RNA consta de tres etapas

La transcripción se inicia en los lugares promotores, que están formados por dos secuencias, una centrada cerca de la posición −10 y la otra cerca de la posición −35; es decir, a una distancia de 10 y 35 nucleótidos, respectivamente, del lugar de inicio, en dirección 5′ (corriente arriba). La secuencia consenso de la región −10 es TATAAT. La subunidad σ permite a la holoenzima reconocer los lugares promotores. Para que se pueda llevar a cabo la transcripción, la RNA polimerasa tiene que desenrollar la doble hélice del molde. Este desenrollamiento expone unas 17 bases de la hebra molde y crea las condiciones necesarias para la formación del primer enlace fosfodiéster. Normalmente, las cadenas de RNA comienzan por pppG o pppA. Después de haberse iniciado la nueva cadena, la subunidad σ se disocia de la holoenzima. La elongación se lleva a cabo en las burbujas de transcripción que se desplazan a lo largo del DNA molde a una velocidad de aproximadamente 50 nucleótidos por segundo. La cadena de RNA naciente contiene señales de parada para poner fin a la transcripción. Una señal de parada es una horquilla de RNA seguida de varios residuos de U. La proteína rho, una ATPasa, detecta una señal de parada diferente.

Aunque, en bacterias, el mRNA experimenta ligeras modificaciones postranscripcionales, el rRNA y el tRNA son sometidos a un procesamiento intenso. En *E. coli*, los precursores de los RNA de transferencia y de los RNA ribosomales se escinden y se modifican químicamente después de su transcripción.

36.3 El operón *lac* ilustra el control de la expresión génica en bacterias

El operón *lac* es un ejemplo muy conocido de la regulación génica en *E. coli*. Un operón es una unidad de expresión génica coordinada, que consta de elementos reguladores y de genes que codifican proteínas. En el caso del operón *lac*, tres enzimas —β-galactosidasa, permeasa y transacetilasa— facilitan el uso de la lactosa como combustible. Los componentes reguladores incluyen un gen regulador que codifica la proteína represora *lac* y una secuencia de DNA denominada lugar operador. En ausencia de lactosa, el represor se une al lugar operador, evitando la transcripción de los genes que codifican proteínas. En presencia de lactosa, la alolactosa, un metabolito de la lactosa, se une al represor haciendo que se disocie del operador y sea posible la transcripción.

El operón *lac* se estimula cuando la proteína activadora de catabolitos, también conocida como proteína receptora de cAMP, se une cerca del promotor del operón *lac* y estimula la iniciación de la transcripción. La unión solo se produce cuando hay escasez de glucosa.

Otro ejemplo de regulación de la expresión génica que se observa en algunas especies bacterianas es la sensibilidad al quórum. Este proceso incluye la liberación de unos compuestos químicos denominados autoinductores al medio que rodea las células. Los autoinductores son absorbidos por las células circundantes y activan la expresión génica, incluyendo la de los genes que promueven la síntesis de más autoinductor. Estas interacciones sociales mediadas por compuestos químicos permiten a estas bacterias cambiar sus patrones de expresión génica en respuesta al número de células que haya en su entorno. Las biopelículas son comunidades complejas de bacterias que se forman y se organizan gracias a mecanismos de sensibilidad al quórum.

Términos clave

transcripción (p. 629)
RNA polimerasa (p. 629)
subunidad sigma (σ) (p. 631)
promotor (p. 632)
secuencia consenso (p. 632)
factor de transcripción (p. 632)
burbuja de transcripción (p. 634)
rho (ρ) (p. 635)
β-galactosidasa (p. 638)
operón (p. 638)
operador (p. 638)
represor (p. 638)
represor *lac* (p. 639)
inductor (p. 639)
proteína activadora de catabolitos (p. 639)
represión por catabolito (p. 639)
sensibilidad al quórum (p. 640)
ribointerruptor (p. 640)

Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. El factor σ reconoce el lugar promotor. Cuando comienza la transcripción, σ se disocia de la enzima para ayudar a la iniciación de otra polimerasa. Normalmente, hay dos maneras de llevar a cabo la terminación. Si el RNA producto forma una horquilla seguida de varios residuos de uracilo, la polimerasa se detiene y se desprende del molde. Alternativamente, la ATPasa rho se une al RNA producto y empuja a la polimerasa para que se separe del molde.

2. La alolactosa se une a la proteína represora, evitando que el represor se una al operador y permitiendo el acceso de la polimerasa al gen para que se pueda llevar a cabo la transcripción. El AMP cíclico se une a CAP. Este complejo se une al operón *lac* corriente arriba del promotor y estimula la unión de la polimerasa al promotor.

Problemas

1. *El proceso de grabación.* Defina transcripción. ✓ 1

2. *Hebras diferentes.* ¿Qué diferencias hay entre la hebra codificante y la hebra molde del DNA? ✓ 1

3. *Válido para muchos procesos.* ¿Cuáles son las tres etapas de la síntesis de RNA? ✓ 1

4. *Ingredientes necesarios.* ¿Qué componentes necesita la RNA polimerasa para la síntesis de RNA? ✓ 1

5. *Localización, localización, localización.* ¿Cuál es la función de la subunidad sigma en la transcripción? ✓ 1

6. *Estalactitas y estalagmitas.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 1

(a) Transcripción _____
(b) RNA polimerasa _____
(c) Factor sigma (σ) _____
(d) Promotor _____
(e) Secuencia consenso _____
(f) Rho (ρ) _____
(g) Operón _____
(h) Operador _____
(i) Represor _____
(j) Inductor _____

1. Reconoce los lugares promotores
2. Orden más frecuente en el que se disponen los nucleótidos
3. Lugar de unión del represor
4. Síntesis de RNA
5. Secuencias del DNA que determinan el lugar donde se inicia la transcripción
6. Consta de elementos reguladores y de genes que codifican proteínas
7. En el caso del operón *lac*, la alolactosa
8. Evita la transcripción de los genes estructurales
9. Proteína para la terminación de la síntesis de RNA
10. Maquinaria transcripcional

7. *Comparaciones.* Compare la transcripción con la replicación.

8. *Abogado defensor del gen.* ¿Qué es un promotor?

9. *Cerrada/Abierta.* ¿Qué es lo que distingue a un complejo promotor cerrado de un complejo promotor abierto?

10. *Complementarias.* La secuencia de parte de un mRNA es

5′-AUGGGGAACAGCAAGAGUGGGGCCCUGUCCAA-GGAG-3′

¿Cuál es la secuencia de la hebra codificante del DNA? ¿Y la de la hebra molde?

11. *En busca de errores.* ¿Por qué durante la síntesis del RNA no se comprueba la existencia de errores con tanto cuidado como durante la síntesis del DNA?

12. *No es una cuestión de velocidad.* ¿Por qué resulta ventajoso que la síntesis de DNA sea más rápida que la síntesis de RNA?

13. *Bala perdida.* La proteína σ, por sí misma, no se une a los lugares promotores. Pronostique el efecto de una mutación que permita la unión de σ a la región −10 en ausencia de otras subunidades de la RNA polimerasa. ✓ 1

14. *Sigma enganchada.* ¿Cuál sería la consecuencia más probable de una mutación que evitase la disociación de σ del núcleo de la RNA polimerasa? ✓ 1

15. *Duración de la transcripción.* ¿Cuál es el tiempo mínimo necesario para que la polimerasa de *E. coli* sintetice un mRNA que codifique una proteína de 100 kDa? ✓ 1

16. *Entre burbujas.* ¿Cuál es la distancia que separa las burbujas de transcripción en los genes de *E. coli* que se están transcribiendo a la velocidad máxima?

17. *¿Igual que Robocop?* Defina un ribointerruptor y explique el papel que desempeña en la regulación de la síntesis de RNA. ✓ 2

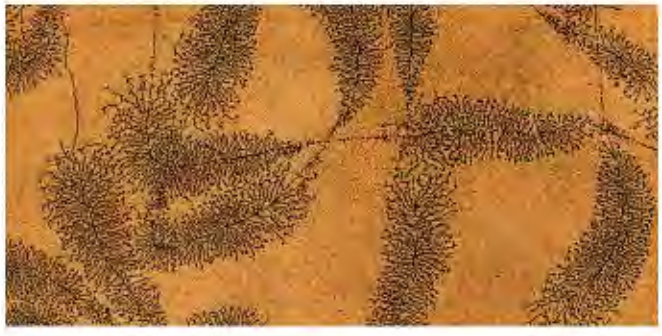
18. *Genes que faltan.* Pronostique los efectos de la deleción de las siguientes regiones del DNA: (a) El gen que codifica el represor *lac*; (b) el operador *lac*; (c) el gen que codifica CAP. ✓ 2

19. *Recursos no disponibles.* Existen mutantes del operón *lac* que carecen de la actividad permeasa. En estos mutantes, aunque el gen de la β-galactosidasa se encuentra intacto, esta enzima no se induce al añadir lactosa al medio en que se están cultivando las bacterias. ¿Por qué? ✓ 2

20. *Un paseo no tan aleatorio.* La RNA polimerasa es una enzima de gran tamaño. Uno de sus sustratos, el DNA, es una biomolécula enorme con miles de millones de bases. Sin embargo, la RNA polimerasa puede localizar una secuencia promotora del DNA en menos tiempo del que tardan dos moléculas pequeñas en colisionar en disolución. Explique esta aparente paradoja. ✓ 1

21. *Alteraciones.* ¿Qué tres tipos de modificaciones del tRNA se observan en *E. coli*?

22. *Árboles de navidad.* La imagen inferior muestra varios genes bacterianos en pleno proceso de transcripción. Identifique el DNA. ¿Qué son esas hebras de longitud creciente? ¿Dónde se ubica el comienzo de la transcripción? ¿Y el final? Sobre la página, ¿en qué dirección transcurre la síntesis de RNA? ¿Qué se puede concluir en relación con el número de enzimas que intervienen en la síntesis de RNA en un momento dado? ✓ 1



[Dr. Thomas Broker/Phototake.]

Problemas para atrevidos

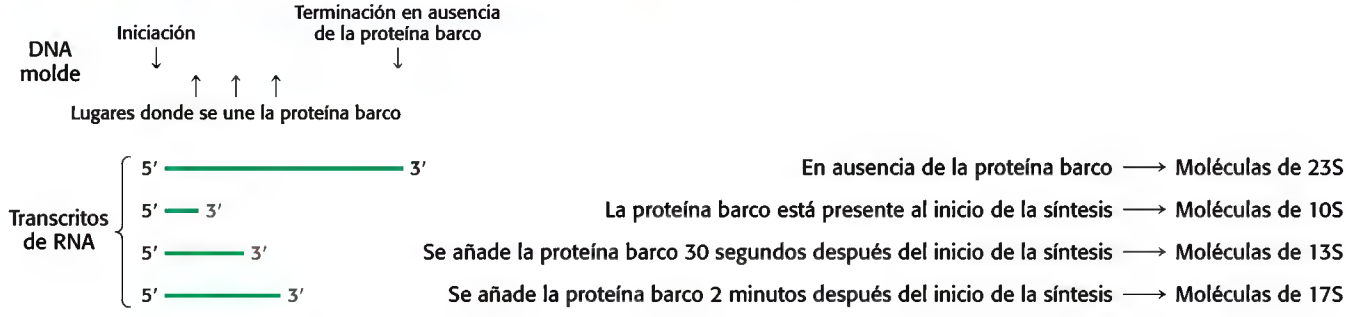
23. *Potente inhibidor.* La heparina, un glicosaminoglicano (p. 169), inhibe la transcripción uniéndose a la RNA polimerasa. ¿Qué propiedades de la heparina le permiten unirse a la RNA polimerasa tan eficazmente?

24. *Concentración mínima.* Calcule la concentración del represor *lac*, suponiendo que hay una molécula por célula. Considere que cada célula de *E. coli* tiene un volumen de 10^{-12} cm^3. ¿Cómo esperaría encontrar esa única molécula?, ¿libre o unida al DNA? La constante de disociación del complejo represor-DNA es de 10^{-13} M. ✓ 2

25. *La dirección opuesta.* Algunos compuestos, denominados anti-inductores, se unen a represores, como el represor *lac*, e inhiben la acción de los inductores; es decir, se reprime la transcripción y se necesitan concentraciones más elevadas de inductor para inducir la transcripción. Proponga un mecanismo de acción para los anti-inductores. ✓ 2

26. *Ciclo abortivo.* De vez en cuando, justo al inicio de la transcripción se liberan dinucleótidos y trinucleótiodos de la RNA polimerasa, un proceso que se denomina ciclo abortivo. Este proceso obliga a reiniciar la transcripción. Sugiera una posible explicación para el ciclo abortivo.

27. *Científicos trabajando.* Se acaba de hacer un experimento en el que se investiga la síntesis de RNA *in vitro*. Curiosamente, las moléculas de RNA sintetizadas *in vitro* por la RNA polimerasa actuando sola son *más largas* que las sintetizadas *in vivo*. Como se trata de científicos brillantes, llegan a la conclusión de que en el sistema *in vitro* falta algo que sí está presente *in vivo*. Para comprobar esta hipótesis, añaden un extracto celular y descubren que entonces sí se produce la terminación correcta. Se purifica esta proteína, a la que denominan "barco" haciendo referencia a la afición de estos científicos por la navegación a vela. Se lleva a cabo un experimento en el que se añade la proteína barco a la mezcla de síntesis de RNA a distintos tiempos, después de haberse iniciado la síntesis de RNA. Los resultados se muestran en la figura inferior. Explique estos resultados. ✓ 2



En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 37

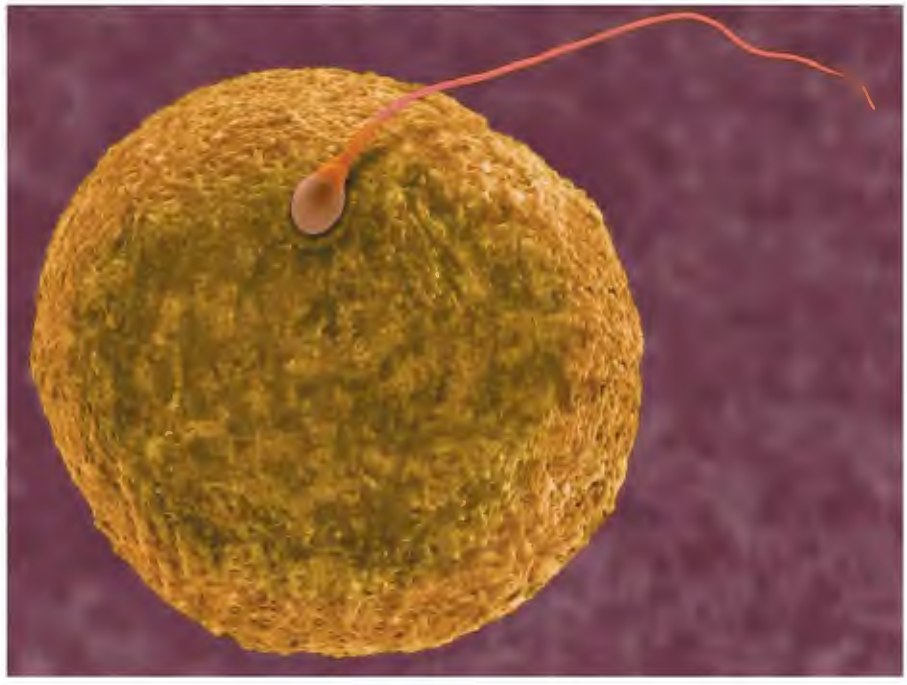
Expresión génica en eucariotas

37.1 Las células eucarióticas poseen tres tipos de RNA polimerasas

37.2 La RNA polimerasa II necesita una regulación compleja

37.3 La expresión génica se regula mediante hormonas

37.4 La acetilación de histonas da lugar a la remodelación de la cromatina



En la fertilización, dos células haploides se unen formando una única célula diploide. Esta unión inicia un proceso bioquímico asombroso —la expresión de la información genética, durante el proceso del desarrollo, para construir, por ejemplo, a la persona que está leyendo estas palabras. La regulación de la transcripción génica es un componente clave del desarrollo. [Alamy Images.]

Los fundamentos básicos de la síntesis de RNA explicados en el Capítulo 36 se aplican a todos los reinos de la vida. Ahora nos centraremos en la *transcripción* en eucariotas, que es mucho más complicada que en procariotas debido a la presencia de un genoma mucho más grande que requiere una mayor complejidad a la hora de regular la transcripción. Aunque las células eucarióticas de cualquier organismo contienen el mismo DNA, poseen una extraordinaria capacidad para regular de forma precisa qué genes se expresan, en qué momento se transcribe cada gen y cuánto RNA se produce. Esta capacidad ha permitido a algunos eucariotas evolucionar hasta organismos pluricelulares, con tejidos diferentes. Es decir, *los eucariotas pluricelulares utilizan la regulación de la transcripción del DNA común a todas las células para crear diferentes tipos celulares.*

La expresión génica está influenciada por tres características importantes, exclusivas de los eucariotas: una regulación más compleja de la transcripción, la maduración del RNA y la membrana nuclear.

1. *Regulación más compleja de la transcripción.* En eucariotas, la síntesis del RNA la llevan a cabo tres *RNA polimerasas* distintas. Al igual que en las bacterias, estas RNA polimerasas dependen de secuencias promotoras en el DNA para regular la iniciación de la transcripción. Pero no todos los *promotores* son reconocidos por todas las polimerasas. La presencia de muchos tipos distintos de elementos promotores añade complejidad a la regulación. Las bacterias, por el contrario, solo tienen tres elementos promotores (la secuencia −10, la secuencia −35 y los elementos UP). Los elementos

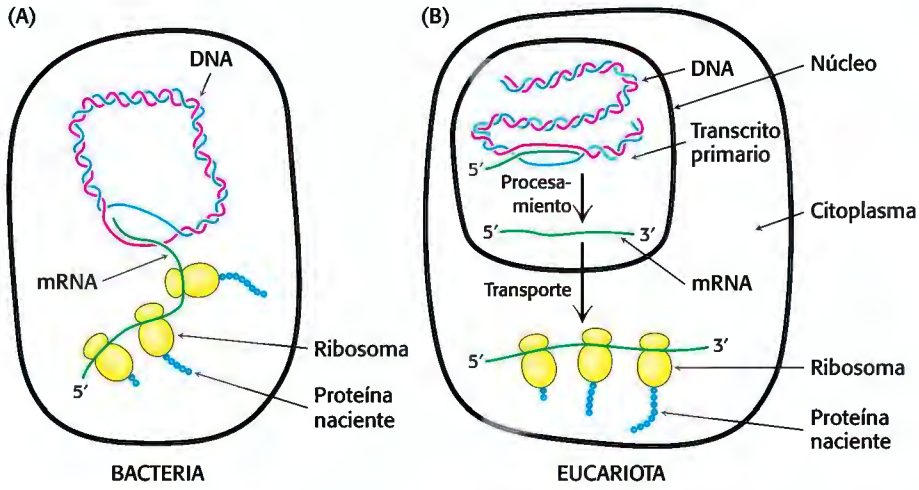


Figura 37.1 Transcripción y traducción. (A) En bacterias, el transcrito primario actúa como un mRNA y se utiliza inmediatamente como molde para la síntesis de proteínas. (B) En eucariotas, antes de ser transportados al citoplasma para su traducción, los precursores del mRNA se procesan en el núcleo mediante una serie de cortes y empalmes. [Tomada de J. Darnell, H. Lodish y D. Baltimore, *Molecular Cell Biology*, 2.ª ed. (Scientific American Books, 1990), p. 230.]

promotores eucarióticos se pueden combinar de múltiples formas, aumentando enormemente el número de tipos de promotores.

2. *Maduración del RNA.* Aunque tanto los procariotas como los eucariotas modifican el RNA, *los eucariotas someten el RNA naciente que está destinado a convertirse en mRNA a un procesamiento considerable.* Este procesamiento incluye modificaciones en ambos extremos y, sobre todo, la extracción de segmentos del transcrito primario (*splicing*). El procesamiento del RNA se detalla en el Capítulo 38.

3. *La membrana nuclear. En eucariotas, la transcripción y la traducción se llevan a cabo en compartimentos celulares distintos:* la transcripción tiene lugar en el núcleo, rodeado de membrana, mientras que la traducción tiene lugar fuera del núcleo, en el citoplasma. En procariotas, los dos procesos están estrechamente ligados (**Figura 37.1**). De hecho, la traducción del mRNA bacteriano comienza mientras todavía se está sintetizando el transcrito. La separación espacial y temporal de la transcripción y la traducción permite a los eucariotas regular la expresión génica de formas mucho más complicadas, lo que contribuye a la profusión de funciones y formas eucarióticas.

37.1 Las células eucarióticas poseen tres tipos de RNA polimerasas

En procariotas, el RNA se sintetiza por medio de un único tipo de polimerasa. Por el contrario, el núcleo de un eucariota contiene tres tipos de RNA polimerasas que se diferencian en su especificidad hacia el sustrato, en su localización dentro del núcleo y en su susceptibilidad a la α-amanitina (**Tabla 37.1**), una toxina producida por el hongo *Amanita phalloides* (**Figura 37.2**). La α-amanitina se une con mucha fuerza a la RNA polimerasa II bloqueando la fase de elongación de la síntesis de RNA. A concentraciones elevadas inhibe la polimerasa III, mientras que la polimerasa I es insensible a esta toxina. Este patrón de sensibilidad está muy conservado en los reinos animal y vegetal.

Todas estas polimerasas son proteínas grandes, que contienen entre 8 y 14 subunidades y cuya masa molecular es mayor de 500 kDa. La *RNA polimerasa I* se localiza en los nucleolos, donde transcribe los tres RNA ribosómicos, 18S, 5,8S y 28S, en un único transcrito. La *RNA polimerasa II* se localiza en el nucleoplasma, el fluido y los componentes estructurales del núcleo que rodean a los cromosomas y a los nucleolos. La RNA polimerasa II sintetiza los precursores del RNA mensajero, así como



Figura 37.2 Veneno para la RNA polimerasa. La seta venenosa *Amanita phalloides*, también denominada *sombrero de la muerte* o *ángel destructor*, produce α-amanitina. Cada año se producen más de cien muertes en todo el mundo por el consumo de setas venenosas. [Jacana/Science Source.]

Tabla 37.1 RNA polimerasas eucarióticas

Tipo	Localización	Transcritos celulares	Efecto de la α-amanitina
I	Nucleolo	rRNA de 18S, de 5,8S y de 28S	Insensible
II	Nucleoplasma	Precursores del mRNA y del snRNA	Inhibición intensa
III	Nucleoplasma	tRNA y rRNA de 5S	Inhibición a concentraciones elevadas

Tabla 37.2 Otros tipos de RNA

RNA	Tamaño (nucleótidos)	Función
RNA pequeño nuclear (snRNA)	Menos de 300	Forma parte de la maquinaria de maduración
RNA pequeño nucleolar (snoRNA)	Menos de 300	Biogénesis y modificación del rRNA
MicroRNA (miRNA)	20-25	Regula el uso del mRNA
RNA interferente pequeño (siRNA)	20-25	Defensa antivírica, degradación del mRNA
RNA que interaccióna con piwi (piRNA)	29-30	Regulación génica
RNA largo no codificante (lncRNA)	Más de 200	Regulación génica

varias moléculas pequeñas de RNA, como las del aparato de maduración. La otra molécula de RNA ribosómico (el rRNA de 5S, Capítulo 39) y todas las moléculas de RNA de transferencia son sintetizadas por la *RNA polimerasa III*, que también se localiza en el nucleoplasma. Además del mRNA, rRNA y tRNA, hay otros tipos de RNA (Tabla 37.2). La función de algunos de estos RNA se estudiará en la Sección 16.

Aunque todas las RNA polimerasas eucarióticas son parecidas entre sí y a la RNA polimerasa bacteriana en cuanto a estructura y función, la RNA polimerasa II contiene un exclusivo *dominio en el extremo carboxilo* de la subunidad de 220 kDa denominado CTD; este dominio es singular porque contiene múltiples repeticiones de la secuencia consenso de aminoácidos YSPTSPS. La actividad de la RNA polimerasa II se regula mediante fosforilación, principalmente en los residuos de serina del CTD. La fosforilación de CTD intensifica la transcripción y recluta otros factores necesarios para procesar el producto de la RNA polimerasa II.

Los genes eucarióticos, al igual que los procarióticos, necesitan promotores para iniciar la transcripción. Como en el caso de los promotores procarióticos, los promotores eucarióticos están formados por secuencias que sirven para atraer a las polimerasas a los lugares de inicio. Como vimos en el caso de los procariotas, un promotor y el gen que regula se encuentran siempre en la misma molécula de DNA. En consecuencia, se dice que los promotores son elementos que actúan en *cis*. Los promotores eucarióticos se diferencian entre sí en cuanto a su secuencia y a su posición en relación con los genes que regulan, factores que dependen del tipo de RNA polimerasa al que se unen (Figura 37.3).

Los elementos que actúan en *cis* son secuencias del DNA que regulan la expresión de un gen situado en la misma molécula de DNA.

Los elementos que actúan en *trans* son proteínas que reconocen a los elementos que actúan en *cis* y regulan la síntesis de RNA. Se les denomina normalmente factores de transcripción.

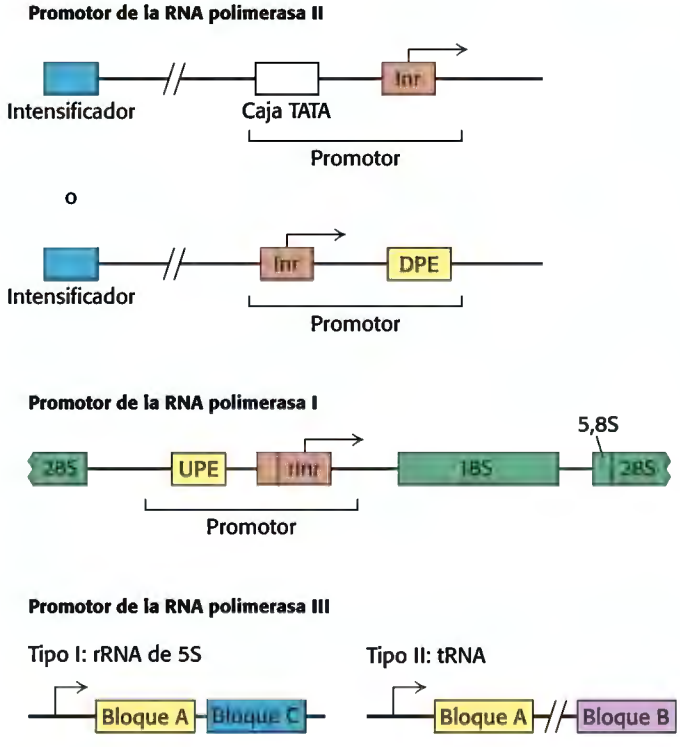


Figura 37.3 Elementos promotores eucarióticos frecuentes. Cada RNA polimerasa eucariótica reconoce un conjunto de elementos promotores, secuencias del DNA que promueven la transcripción. El promotor de la RNA polimerasa II incluye un elemento iniciador (Inr) y también puede incluir o bien una caja TATA o un elemento promotor situado corriente abajo (DPE). Separados de las regiones promotoras, los elementos intensificadores se unen a factores de transcripción (*enhancer*) específicos. El promotor de la RNA polimerasa I también consta de un iniciador ribosómico (rInr) y de un elemento promotor situado corriente arriba (UPE). Los promotores de la RNA polimerasa III constan de secuencias conservadas situadas dentro de los genes transcritos.

La capacidad para reconocer promotores específicos explica la especificidad hacia el molde de las diversas RNA polimerasas eucarióticas.

1. *RNA polimerasa I.* El DNA ribosómico (rDNA) transcrito por la polimerasa I se dispone en forma de varios cientos de repeticiones en serie, cada una con una copia de los tres genes rRNA. Las secuencias promotoras se localizan en segmentos de DNA que separan las repeticiones de genes. En el lugar de inicio de la transcripción hay una secuencia denominada *elemento iniciador ribosómico* (rInr). Corriente arriba, a una distancia de entre 150 y 200 pb del lugar de inicio, se encuentra el *elemento promotor situado corriente arriba* (UPE). Ambos elementos ayudan a la transcripción uniéndose a proteínas que reclutan la RNA polimerasa I.
2. *RNA polimerasa II.* Los promotores de la RNA polimerasa II, al igual que los promotores procarióticos, incluyen un conjunto de elementos con secuencias conservadas que definen el lugar de inicio y reclutan a la polimerasa. Sin embargo, el promotor puede contener cualquier posible combinación de elementos. La variada disposición de los elementos promotores también incluye elementos intensificadores (*enhancer*), exclusivos de los eucariotas, que pueden estar muy alejados (a más de 1 kb) del lugar de inicio (p. 649).
3. *RNA polimerasa III.* Los promotores de la RNA polimerasa III se encuentran *dentro* de la secuencia transcrita, corriente abajo del lugar de inicio. Hay dos tipos de promotores para la RNA polimerasa III. Los promotores de tipo I, que se encuentran en el gen 5S rRNA, contienen dos secuencias cortas que se denominan bloque A y bloque C. Los promotores de tipo II, que se encuentran en los genes de tRNA, están formados por dos secuencias de 11 pb, el bloque A y el bloque B, situados a unos 15 pb de cualquiera de los extremos del gen.

✓ 3 Describir cómo se regula la transcripción en eucariotas.

37.2 La RNA polimerasa II necesita una regulación compleja

La compleja regulación de la RNA polimerasa II explica la diferenciación celular y el desarrollo en los organismos superiores. Por tanto, centraremos nuestra atención en esta enzima fundamental. Los promotores de la RNA polimerasa II, como los de las polimerasas bacterianas, se localizan normalmente en el lado 5′ del lugar de inicio de la transcripción. El elemento que actúa en *cis* que se reconoce con más frecuencia en los genes transcritos por la RNA polimerasa II se denomina *caja TATA*, en base a su secuencia consenso (Figura 37.4). Normalmente, la caja TATA está centrada entre las posiciones −24 y −32. Hay que destacar el hecho de que la caja TATA eucariótica se parece mucho a la secuencia −10 bacteriana (TATAAT), pero se encuentra más alejada del lugar de inicio. La mutación de una única base de la caja TATA obstaculiza notablemente la actividad del promotor. Por tanto, la secuencia exacta resulta esencial, no se trata solo de que tenga un elevado contenido de pares de bases AT.

5′ T_{82} A_{97} T_{93} A_{85} A_{63} A_{88} A_{50} 3′
Caja TATA

Figura 37.4 La caja TATA. La secuencia consenso mostrada se ha obtenido comparando las secuencias de más de 100 promotores eucarióticos. Los subíndices indican la frecuencia (%) con que la base aparece en esa posición.

A menudo, la caja TATA va acompañada de un *elemento iniciador* (Inr), una secuencia que se encuentra en el lugar de inicio de la transcripción, entre las posiciones −3 y +5. Esta secuencia define el lugar de inicio porque los otros elementos promotores se encuentran a distancias variables de ese sitio. Su presencia incrementa la actividad transcripcional.

Un tercer elemento, el *elemento promotor central situado corriente abajo* (DPE), se encuentra normalmente junto a Inr en los transcritos que carecen de caja TATA. A diferencia de la caja TATA, el DPE se encuentra corriente abajo del lugar de inicio, entre las posiciones +28 y +32.

Otras secuencias reguladores se encuentran entre −40 y −150. Muchos promotores contienen una *caja CAAT* y algunos una *caja GC* (Figura 37.5). Los genes constitutivos (genes que se expresan continuamente, no de forma regulada) suelen presentar cajas GC en sus promotores. Estas secuencias se sitúan corriente arriba, en posiciones que varían de un promotor a otro, a diferencia de lo que ocurre con la región –35 de las bacterias, que ocupa una posición prácticamente constante. Otra diferencia consiste en que la caja CAAT y la caja GC pueden ser eficaces cuando están ubicadas en la hebra molde (sin sentido), a diferencia de la región –35, que tiene que estar situada en la hebra codificante (con sentido). Estas diferencias entre bacterias y eucariotas obedecen a mecanismos fundamentalmente distintos a la hora de reconocer los elementos que actúan

5′ GGNCAATCT 3′
Caja CAAT

5′ GGGCGG 3′
Caja GC

Figura 37.5 Las cajas CAAT y GC. Secuencias consenso de las cajas CAAT y GC de los promotores eucarióticos para los precursores del mRNA. La N indica que cualquier nucleótido puede ocupar esa posición.

en *cis*. En los promotores bacterianos, las secuencias –10 y –35 son lugares de unión para la RNA polimerasa y su factor σ asociado. Por el contrario, en los promotores eucarióticos, las cajas TATA, CAAT y GC, así como otros elementos que actúan en *cis*, no son reconocidas por la propia RNA polimerasa, sino por otras proteínas.

El complejo proteico TFIID inicia el ensamblaje del complejo de transcripción activo

Los elementos que actúan en *cis* constituyen tan solo una parte del rompecabezas que supone la expresión génica en eucariotas. También se necesitan *factores de transcripción* que se unan a dichos elementos. Por ejemplo, la RNA polimerasa II es guiada hacia el lugar de inicio por medio de un conjunto de factores de transcripción que se denominan, colectivamente, *TFII* (*TF* hace referencia a factores de transcripción, y *II* a la RNA polimerasa II). Los distintos factores TFII se denominan TFIIA, TFIIB y así sucesivamente. La iniciación comienza con la unión de TFIID a la caja TATA (Figura 37.6).

En los promotores que poseen caja TATA, el acontecimiento clave inicial es el reconocimiento de la caja TATA por parte de la proteína que se une a la caja TATA (TBP), un componente de 30 kDa perteneciente al complejo TFIID de 700 kDa. En los promotores que carecen de caja TATA, otras proteínas del complejo TFIID se unen a los elementos centrales del promotor, pero, como se sabe menos acerca de estas interacciones, consideraremos únicamente la interacción de unión entre la caja TATA y TBP. La TBP es una proteína con forma de silla de montar que contiene dos dominios similares (Figura 37.7). La caja TATA del DNA se une a la superficie cóncava de TBP provocando grandes cambios conformacionales en el DNA unido. La doble hélice se desenrolla de forma sustancial para ensanchar su *surco menor*, permitiéndole así establecer un extenso contacto con la parte cóncava de TBP por medio de interacciones hidrofóbicas.

La TBP unida a la caja TATA constituye el núcleo primordial del complejo de iniciación (ver la Figura 37.6). La superficie con forma de silla de montar de TBP proporciona lugares de anclaje para la unión de otros componentes. Sobre esta plataforma se ensamblan otros factores de transcripción siguiendo un orden establecido para formar un complejo denominado *aparato de transcripción basal.*

Durante la formación del aparato de transcripción basal, el dominio carboxilo terminal (CTD) no está fosforilado y se une a otras proteínas que facilitan la transcripción. *La fosforilación del CTD por parte de TFIIH marca la transición de la fase de iniciación a la fase de elongación.* El CTD fosforilado estabiliza la fase de elongación de la transcripción por parte de la RNA polimerasa II y recluta las enzimas que intervienen en el procesamiento del RNA en el transcurso de la elongación (Capítulo 38). La mayoría de los factores se desprenden antes de que la polimerasa abandone el promotor y pueden, por tanto, intervenir en otra ronda de iniciación.

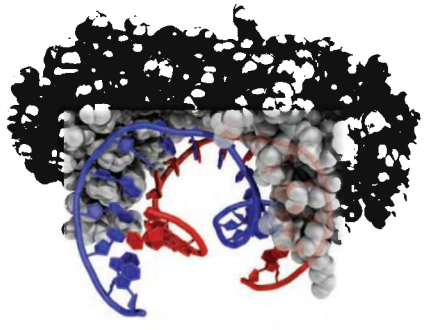


Figura 37.7 Complejo formado por la proteína que se une a la caja TATA y el DNA. La estructura en forma de silla de montar de la proteína se acomoda sobre un fragmento de DNA. Observe que se produce un desenrollamiento significativo en el DNA y que, además, está curvado. [Elaborada por Adam Steinberg a partir de 1CDW.pdb.]

Las secuencias intensificadoras pueden estimular la transcripción en lugares de inicio situados a miles de bases de distancia

En eucariotas superiores, la actividad de muchos promotores aumenta enormemente gracias a otro tipo de elemento que actúa en *cis* denominado *intensificador*. *Las secuencias intensificadoras no tienen actividad promotora por sí mismas, a pesar de que pueden ejercer su efecto estimulador a distancias de varios miles de pares de bases.* Pueden estar situadas corriente arriba, corriente abajo o en mitad de un gen transcrito. Además, los intensificadores son eficaces *independientemente de la hebra de DNA en que estén si-*

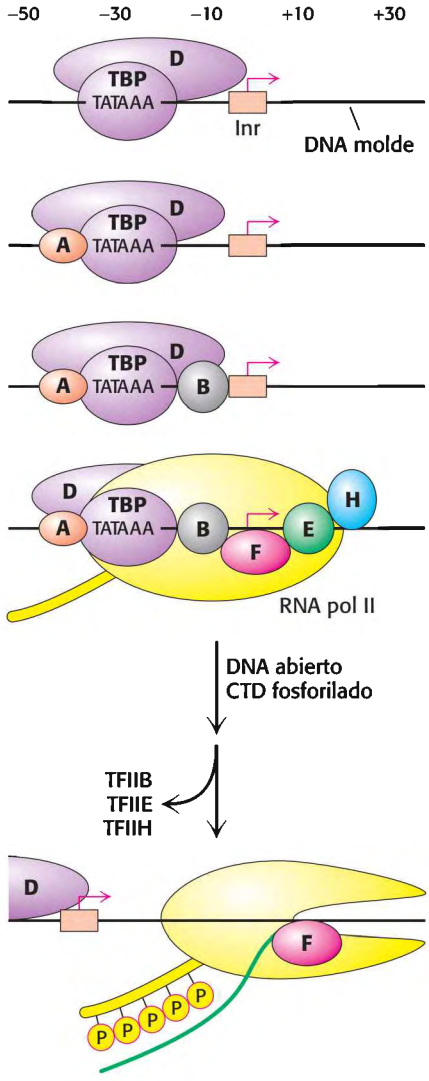


Figura 37.6 Iniciación de la transcripción. Los factores de transcripción TFIIA, B, D, E, F y H son esenciales para que la RNA polimerasa inicie la transcripción. El ensamblaje, paso a paso, de estos factores de transcripción generales comienza con la unión de TFIID (en color púrpura) a la caja TATA. La proteína que se une a la caja TATA, o TBP, que forma parte de TFIID, reconoce la caja TATA. A continuación, TFIIA se une al complejo, seguida de TFIIB. Luego, TFIIF, la RNA polimerasa II, TFIIE y TFIIH se unen al complejo por ese orden. Una vez ensamblados, TFIIH abre la doble hélice de DNA y fosforila el dominio carboxilo terminal (CTD), permitiendo a la polimerasa abandonar el promotor y comenzar la transcripción. La flecha roja indica el lugar de inicio de la transcripción. [Extraído de 1 CDW.pdb por Adam Steinberg.]

tuados. Como ocurre en el caso de las secuencias promotoras, los intensificadores son el lugar de unión para proteínas que intervienen en la regulación de la transcripción.

Aspecto clínico

Un uso inapropiado de los intensificadores puede provocar cáncer

Las secuencias intensificadoras son importantes a la hora de establecer la especificidad de la expresión génica de cada tejido, ya que *un intensificador concreto solo es eficaz en determinadas células*. Por ejemplo, el intensificador de las inmunoglobulinas funciona en los linfocitos B pero no en otras células. Si se altera la relación entre genes e intensificadores, puede surgir un cáncer. En el linfoma de Burkitt y en la leucemia de las células B, una translocación cromosómica sitúa al proto-oncogén *myc* (que codifica un factor de transcripción) bajo el control de un potente intensificador de las inmunoglobulinas. Se cree que el desajuste resultante en la regulación del gen *myc* desempeña un papel en la progresión del cáncer.

? PREGUNTA RÁPIDA 1 ¿Qué diferencias hay entre un promotor y un intensificador?

Multitud de factores de transcripción interaccionan con los promotores e intensificadores eucarióticos

El complejo de transcripción basal descrito en la página 649 inicia la transcripción con una frecuencia reducida. Para conseguir una elevada velocidad de síntesis de RNA y para estimular determinados genes de forma selectiva, se necesitan otros factores de transcripción que se unen a otros lugares. De hecho, se han purificado muchos factores de transcripción. A menudo, estos factores de transcripción se expresan de manera específica en cada tejido.

A diferencia de los que intervienen en la transcripción procariótica, son pocos los factores de transcripción eucarióticos que pueden, por sí mismos, provocar efectos en la transcripción. En vez de ello, *cada factor recluta otras proteínas para construir grandes complejos que interaccionan con la maquinaria transcripcional para activar o reprimir la transcripción*. Estas proteínas intermediarias actúan como puente entre los factores de transcripción y la polimerasa. Un intermediario importante al que se unen muchos factores de transcripción es el *mediador*, un complejo formado por entre 25 y 30 subunidades que forma parte de la maquinaria de transcripción antes de que se produzca la iniciación. El mediador actúa como puente entre los activadores unidos a los intensificadores y la RNA polimerasa II unida al promotor (**Figura 37.8**).

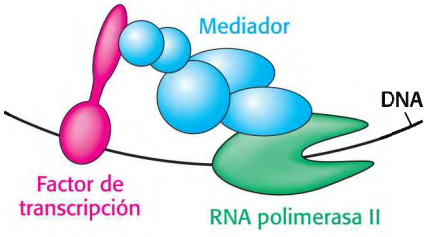


Figura 37.8 Mediador. El mediador es un gran complejo formado por subunidades proteicas que actúa como puente entre los factores de transcripción que contienen dominios de activación y la RNA polimerasa II. Estas interacciones ayudan a reclutar y estabilizar la RNA polimerasa II cerca de genes específicos que, a continuación, serán transcritos.

Los factores de transcripción y otras proteínas que se unen a los lugares reguladores del DNA se pueden considerar como contraseñas que, de forma cooperativa, abren múltiples cerrojos para que la RNA polimerasa pueda acceder a determinados genes. Una de las principales ventajas de esta forma de regulación es que una proteína reguladora concreta puede tener distintos efectos, dependiendo de qué otras proteínas estén presentes en la misma célula. Este fenómeno, que se denomina *control combinatorio*, es crucial para los organismos pluricelulares que poseen muchos tipos de célula distintos. Una comparación entre los seres humanos y *Caenorhabditis elegans*, un sencillo gusano cilíndrico, nos sirve de ejemplo para ilustrar el poder del control combinatorio. Los seres humanos poseen tan solo un tercio más de genes que el gusano, pero tenemos muchos más tipos celulares y el espectacular aumento de la complejidad en ausencia de un correspondiente aumento en el número de genes puede deberse a una regulación más sofisticada, que es posible gracias al control combinatorio.

Las células pluripotentes son células madre que pueden desarrollarse para convertirse en cualquier tipo de célula fetal o adulta. Las células madre totipotentes no solo pueden dar lugar a cualquier tipo de célula fetal o adulta sino que también pueden desarrollar tejidos extraembrionarios y, por tanto, dar lugar a un organismo completo.

Aspecto clínico

Se pueden generar células madre pluripotentes inducidas introduciendo cuatro factores de transcripción en células diferenciadas

Una importante aplicación que ilustra el poder de los factores de transcripción es el desarrollo de las *células madre pluripotentes inducidas* (iPS). Con el tratamiento adecuado, la células madre pluripotentes tienen capacidad para diferenciarse en muchos tipos de célula distintos. Las células que se obtenían antes a partir de embriones

muestran un grado de pluripotencialidad muy elevado. Con el paso del tiempo, los investigadores han identificado en las células madre embrionarias docenas de genes que, una vez expresados, contribuyen a esta pluripotencialidad. Recientes experimentos han demostrado que, de todo este conjunto, tan solo cuatro genes, que codifican factores de transcripción, pueden inducir la pluripotencialidad en células de la piel ya diferenciadas. Cuando los genes que codifican los cuatro factores de transcripción se introducen en unas células de la piel denominadas fibroblastos, estas células se desdiferencian dando lugar a células que parecen presentar características prácticamente idénticas a las de las células madre embrionarias (**Figura 37.9**).

Estas células iPS son nuevas herramientas de investigación muy poderosas y podrían convertirse en una nueva clase de agentes terapéuticos. En principio, se podría extraer fácilmente una muestra de fibroblastos de un paciente y convertirlos en células iPS. Después, estas células madre podrían ser tratadas para que se diferencien en el tipo celular deseado que pueda ser transplantado al paciente. Por ejemplo, esta estrategia se podría utilizar para restablecer un tipo concreto de células nerviosas que puedan haber desaparecido a causa de una enfermedad neurodegenerativa o que puedan haber sido destruidas tras una lesión en la médula espinal. Aunque el campo de la investigación con células iPS se encuentra todavía en su fase inicial, ha despertado grandes esperanzas como posible estrategia para el tratamiento de muchas enfermedades frecuentes y de difícil tratamiento. ■

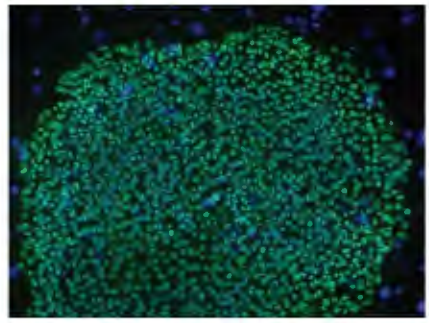
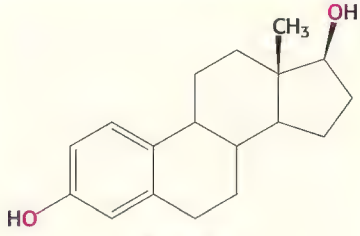


Figura 37.9 Células madre pluripotentes inducidas. Micrografía de células madre pluripotentes inducidas humanas teñidas de verde gracias a un factor de transcripción exclusivo de las células pluripotentes. [Tomada de K. Takahashi y col., *Cell* 131: 861–872, 2007; con permiso de Elsevier, cortesía de Shinya Yamanaka, Universidad de Kyoto.]

37.3 La expresión génica se regula mediante hormonas

Del mismo modo en que los procariotas pueden ajustar sus patrones de expresión génica en respuesta a la presencia de compuestos químicos en su entorno, los eucariotas disponen de muchos sistemas para responder a los estímulos ambientales. Como primer paso en el control de la expresión génica, la iniciación de la transcripción por parte de la RNA polimerasa II está en el punto de mira de muchas rutas de transducción de señales. A modo de ejemplo, analizaremos un sistema que detecta y responde a los estrógenos. Sintetizados y liberados por los ovarios, los *estrógenos*, como el estradiol, son hormonas esteroides derivadas del colesterol (p. 512). Son necesarios para el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios femeninos y, junto con la progesterona, intervienen en el ciclo ovárico.

Como son moléculas señal de naturaleza hidrofóbica, los estrógenos difunden fácilmente a través de las membranas celulares. Una vez en el interior de una célula, los estrógenos se unen a proteínas receptoras muy específicas. Los receptores de estrógenos son miembros de una gran familia de proteínas que actúan como receptores de una amplia gama de moléculas hidrofóbicas. Los receptores de esteroides se diferencian de los receptores estudiados hasta ahora por el hecho de ser solubles y por estar localizados en el citoplasma o en el nucleoplasma en vez de estar unidos a membranas. Esta familia de receptores incluye receptores para otras hormonas esteroideas como la testosterona (un andrógeno), así como para hormonas tiroideas y retinoides derivados de la vitamina A. Todos estos receptores, frecuentes en los organismos pluricelulares, operan de forma similar. Al unirse a la molécula señal (denominada, genéricamente, *ligando*), el complejo receptor-ligando modifica la expresión de genes específicos uniéndose a los elementos de control del DNA. El genoma humano codifica aproximadamente 50 miembros de esta familia a la que se suele denominar *receptores hormonales nucleares*.



Estradiol
(un estrógeno)

Los receptores hormonales nucleares poseen una estructura de dominios similar

Los receptores hormonales nucleares se unen a lugares específicos del DNA denominados *elementos de respuesta*. En el caso del receptor de estrógenos, los *elementos de respuesta a estrógenos* (ERE) contienen la secuencia consenso 5′-AGGTCANNNTGACCT-3′. Como era de esperar a partir de la simetría de esta secuencia, un receptor de estrógenos se une a estos lugares en forma de dímero.

Una comparación de la secuencia de aminoácidos de miembros de la familia de receptores hormonales nucleares pone de manifiesto la existencia de dos dominios

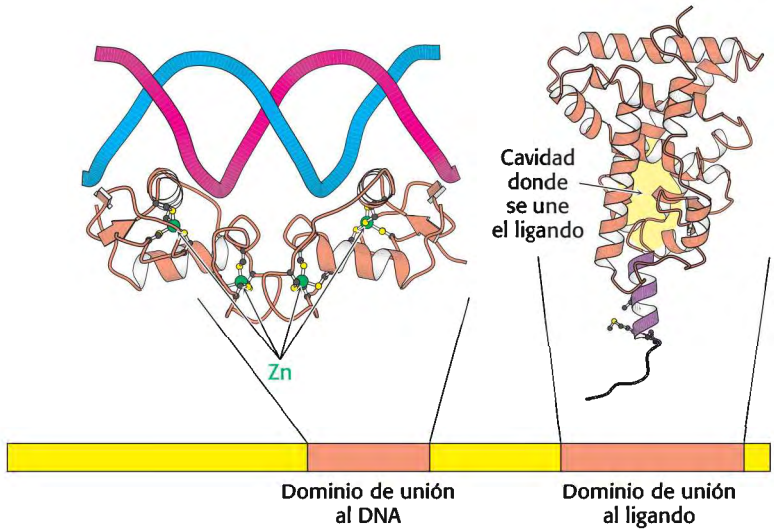


Figura 37.10 Estructura de dos dominios de los receptores hormonales nucleares. Los receptores hormonales nucleares contienen dos dominios esenciales, que están conservados: (1) un dominio de unión al DNA en la parte central de la secuencia y (2) un dominio de unión al ligando cerca del extremo carboxilo. Se muestra la estructura de un dímero del dominio de unión al DNA unido al DNA y la estructura de un monómero del dominio de unión al ligando, que normalmente se encuentra formando un dímero. [Elaborada a partir de 1HCQ y 1LBD.pdb.]

muy conservados: un dominio de unión al DNA y un dominio de unión al ligando (Figura 37.10). El dominio de unión al DNA se sitúa hacia el centro de la estructura primaria e incluye nueve residuos de cisteína conservados. Este dominio dota a estos receptores de la capacidad para unirse a secuencias específicas del DNA. Ocho de los residuos de cisteína se unen a iones zinc formando dominios de unión al DNA que se denominan *dominios de dedo de zinc*.

La segunda región muy conservada de un receptor hormonal nuclear se encuentra cerca del extremo carboxilo. Esta región del receptor forma una cavidad hidrofóbica que es el lugar de unión al ligando. La unión del ligando da lugar a un reordenamiento estructural considerable (Figura 37.11). ¿Cómo se producen los cambios en la expresión génica tras la unión del ligando al receptor? Intuitivamente, podríamos pensar que la unión del ligando permite al receptor unirse al DNA. Curiosamente, la unión del ligando afecta muy poco a la capacidad del receptor para unirse a su elemento de respuesta. En vez de ello, la unión al ligando permite al receptor reclutar otras proteínas que facilitan la transcripción.

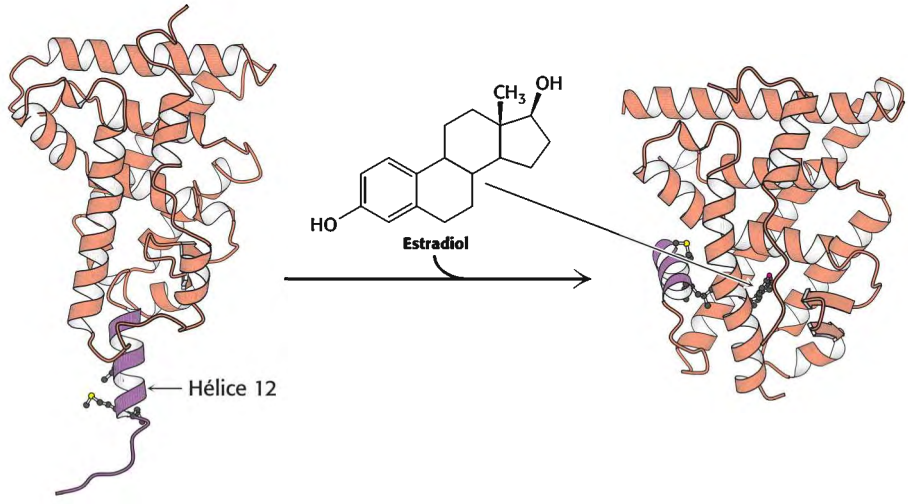


Figura 37.11 Unión del ligando al receptor hormonal nuclear. La unión del ligando provoca una alteración estructural en el receptor que hace que la hormona se encuentre totalmente rodeada en el interior de una cavidad situada en el dominio de unión al ligando. *Observe* que, al unirse el ligando, la hélice 12 (en color púrpura) se acomoda en una hendidura situada en uno de los costados de la estructura. [Elaborada a partir de 1LDB y 1ERE.pdb.]

Los receptores hormonales nucleares reclutan coactivadores y correpresores

Aunque el receptor se puede unir al DNA en ausencia de ligando, el receptor no puede llevar a cabo su función de reclutamiento si no se ha unido primero al ligando. Las proteínas que solo se unen al receptor después de que este se haya unido a un esteroide se denominan *coactivadores*. El lugar por donde se establece la interacción entre el

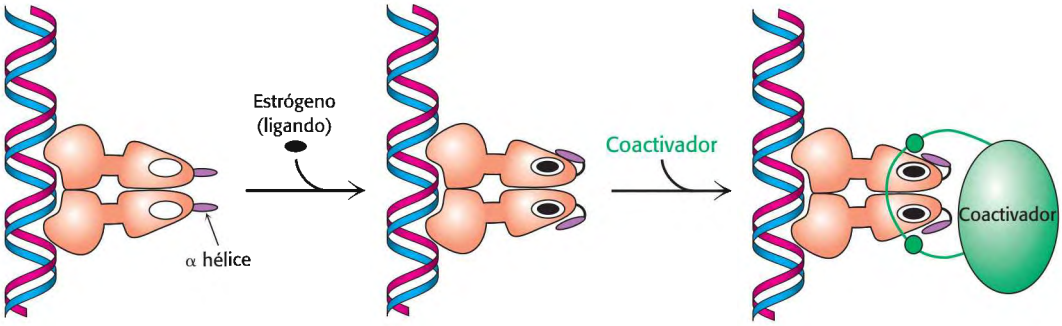


Figura 37.12 Incorporación del coactivador. La unión del ligando a un receptor hormonal nuclear induce un cambio de conformación en el dominio de unión del ligando. Este cambio de conformación genera lugares que favorecen la unión de un coactivador.

receptor hormonal nuclear y los coactivadores solo se forma por completo cuando el ligando se encuentra unido (Figura 37.12). Estos coactivadores pertenecen a una familia que se denomina p160, debido a su tamaño (~160 kDa).

Aunque el receptor de estrógenos es inactivo en ausencia de estrógenos, otros miembros de la familia de receptores hormonales nucleares, como los receptores de hormonas tiroideas o de ácido retinoico, reprimen la transcripción en ausencia del ligando. Esta represión también está mediada por el dominio de unión al ligando. En sus formas no unidas, los dominios de unión al ligando de estos receptores se unen a *proteínas correpresoras*. Los correpresores se unen a un lugar del dominio de unión al ligando que se solapa con el lugar de unión al coactivador. La unión del ligando desencadena la liberación del correpresor y libera el dominio de unión al ligando, con lo que el receptor ya se puede unir a un coactivador.

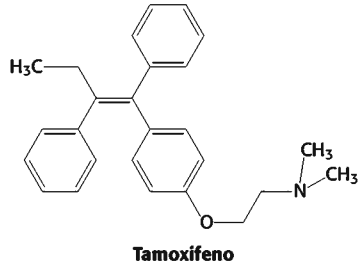
Aspecto clínico

Los receptores de hormonas esteroideas son la diana de algunos medicamentos

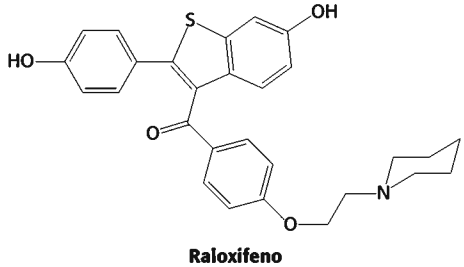
Las moléculas como el estradiol, que se unen a un receptor y desencadenan rutas de señalización se denominan *agonistas*. Tal y como se comentó en el Capítulo 29, algunos deportistas ingieren agonistas naturales o sintéticos del receptor de andrógenos, un miembro de la familia de receptores hormonales nucleares, ya que su unión al receptor de andrógenos estimula la expresión de genes que intensifican el desarrollo de masa muscular magra. Un consumo excesivo de estos compuestos, denominados *esteroides anabólicos*, da lugar a numerosos efectos secundarios (p. 514).

Otras moléculas se unen a los receptores hormonales nucleares pero no son eficaces a la hora de desencadenar rutas de señalización. Estos compuestos se denominan *antagonistas* y son, desde muchos puntos de vista, parecidos a los inhibidores competitivos de las enzimas. Algunos fármacos importantes son antagonistas que actúan sobre el receptor de estrógenos. Por ejemplo, el *tamoxifeno* y el *raloxifeno* se utilizan para el tratamiento y prevención del cáncer de mama, ya que algunos tumores de mama dependen para su crecimiento de las rutas mediadas por estrógenos. A veces, a estos compuestos se les denomina *moduladores selectivos de los receptores de estrógenos* (SERM). ■

? **PREGUNTA RÁPIDA 2** Resuma el mecanismo de acción del estradiol.



Tamoxifeno



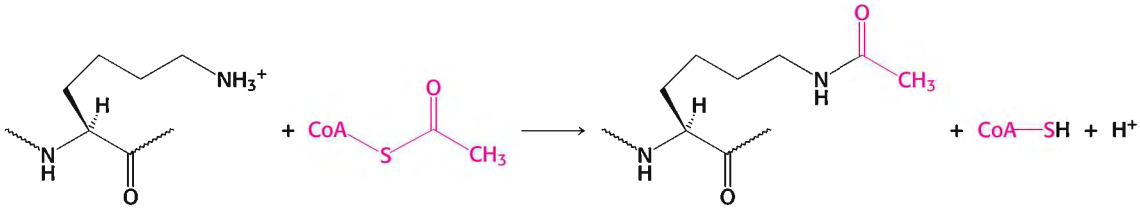
Raloxifeno

37.4 La acetilación de histonas da lugar a la remodelación de la cromatina

Hemos visto que los receptores nucleares responden a las moléculas señal reclutando coactivadores. Ahora nos podemos preguntar, ¿cómo modulan los coactivadores la actividad transcripcional? Recordemos que, en eucariotas, el molde para la síntesis de RNA no es un simple DNA desnudo sino un complejo de DNA e *histonas* denominado *cromatina*. *Algunas proteínas que estimulan la transcripción actúan facilitando la disociación del complejo de histonas del DNA, dejando expuestas nuevas regiones del DNA a la maquinaria de transcripción*. Una forma de llevar a cabo esta disociación consiste en la adición enzimática de grupos acetilo a las histonas.

El metabolismo en su contexto: la acetil-CoA desempeña un papel fundamental en la regulación de la transcripción

Hasta ahora, en nuestro estudio de la bioquímica solo hemos visto a la acetil-CoA en el contexto del metabolismo intermediario, por ejemplo, como combustible para el ciclo del ácido cítrico o como precursor para la síntesis de ácidos grasos o de esteroides. Sin embargo, la acetil-CoA también desempeña un papel en la regulación de la expresión génica. Recordemos que el citrato es transportado fuera de las mitocondrias y se escinde en el citoplasma por medio de la ATP-citrato liasa generando oxalacetato y acetil-CoA. Recientes investigaciones demuestran que el citrato también puede entrar en el núcleo, donde una ATP-citrato liasa nuclear genera acetil-CoA para que sirva como sustrato para las enzimas que modifican histonas. Por ejemplo, algunos de los coactivadores p160 y de las proteínas reclutadas por estos modifican covalentemente las colas amino-terminales de las histonas catalizando la transferencia de grupos acetilo desde la acetil-CoA a determinados residuos de lisina de estas colas amino-terminales.



Lisina en la cola de histona **Acetil-CoA**

Los enzimas que catalizan estas reacciones reciben el nombre de *acetiltransferasas de histonas* (HAT). Las colas de las histonas están muy extendidas; de manera que pueden acomodarse en el centro activo de HAT y ser acetiladas (Figura 37.13).

¿Qué consecuencias tiene la acetilación de las histonas? A pH neutro, la lisina presenta un grupo amonio cargado positivamente. La adición de un grupo acetilo neutraliza el grupo amonio, ya que genera un grupo amida. Este cambio reduce drásticamente la afinidad de la cola hacia el DNA y reduce la afinidad de la totalidad del complejo de histonas hacia el DNA, facilitando su disociación del DNA.

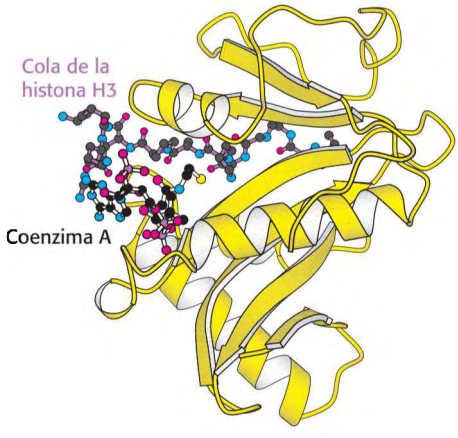


Figura 37.13 Estructura de la acetiltransferasa de histonas. La cola amino-terminal de la histona 3 se proyecta hacia una cavidad en la que una cadena lateral de lisina puede aceptar un grupo acetilo procedente de la acetil-CoA unida a un lugar adyacente. [Elaborada a partir de 1QSN.pdb.]

Además, los residuos de lisina acetilados interaccionan con un *dominio de unión a acetil-lisina* específico, denominado *bromodominio*, que está presente en muchas de las proteínas que regulan la transcripción eucariótica. Estos dominios actúan como plataformas a las que se van incorporando proteínas que desempeñan diversas funciones en la transcripción y en la remodelación de la cromatina. Las proteínas que contienen bromodominios forman parte de dos grandes complejos esenciales para la transcripción. Uno de ellos es un complejo de más de 10 polipéptidos que se une a TBP, la proteína que se une a la caja TATA. Recordemos que TBP es un factor de transcripción esencial para muchos genes (p. 649). Las proteínas que se unen a TBP se denominan *TAF* (*factores asociados a la proteína que se une a la caja TATA*). Concretamente, TAF1 contiene un par de bromodominios cerca de su extremo carboxilo. Los dos dominios se orientan de tal forma que cada uno se puede unir a uno de los dos residuos de acetil-lisina localizados en las posiciones 5 y 12 de la cola de la histona H4. De esta forma, *la acetilación de las colas de histonas proporciona un mecanismo para el reclutamiento de otros componentes a la maquinaria de transcripción.*

Los bromodominios también están presentes en algunos de los componentes de los grandes complejos conocidos como *motores de remodelación de la cromatina*. Estos complejos, que también contienen dominios parecidos a los de las helicasas, utilizan la energía libre de la hidrólisis del ATP para modificar las posiciones de los nucleosomas a lo largo del DNA y para inducir otros cambios conformacionales en la cromatina que puedan exponer lugares para la unión de otros factores (**Figura 37.14**). Por tanto, *la acetilación de las histonas puede activar la transcripción mediante una combinación de tres mecanismos:* reduciendo la afinidad de las histonas hacia el DNA, reclutando otros componentes de la maquinaria de transcripción y poniendo en marcha la remodelación de la estructura de la cromatina. La acetilación no es la única manera de modificar histonas. Otros métodos incluyen la fosforilación y la metilación (**Tabla 37.3**).

Recordemos que los receptores hormonales nucleares también contienen regiones que interaccionan con los componentes de los coactivadores. De este modo, dos mecanismos de regulación génica pueden actuar de forma concertada. La modificación de histonas y la remodelación de la cromatina pueden exponer regiones de la cromatina a las que se puede incorporar el complejo de transcripción por medio de interacciones proteína-proteína.

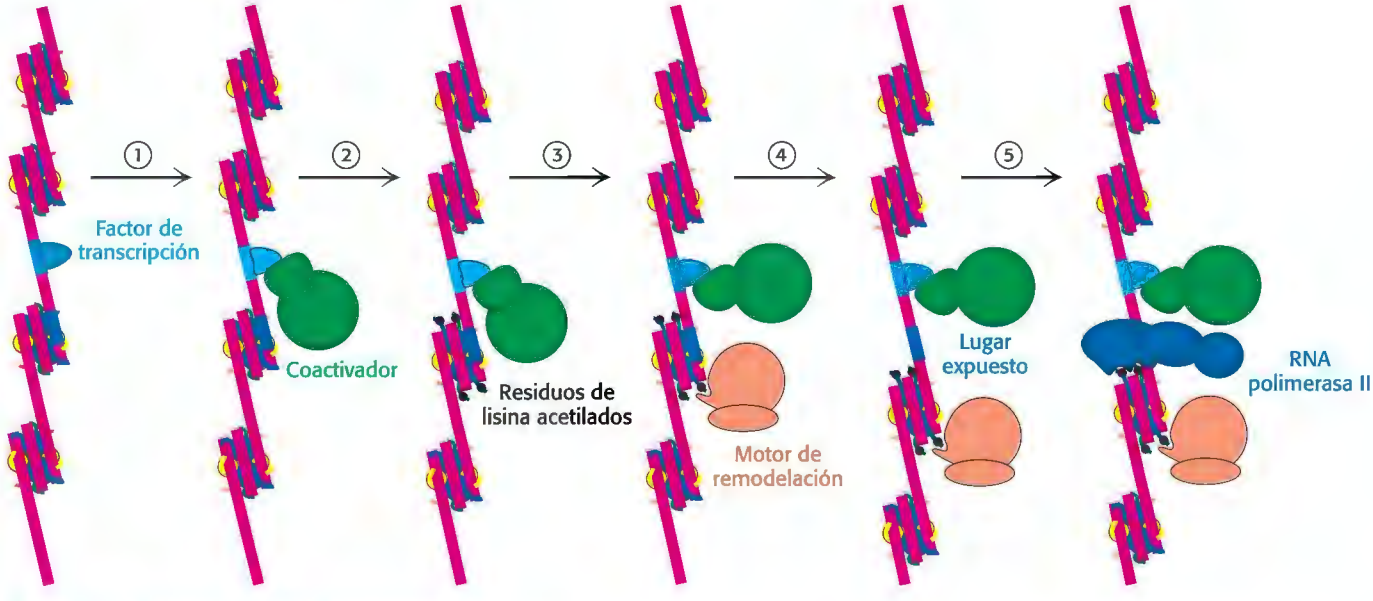


Figura 37.14 Remodelación de la cromatina. La regulación génica eucariótica comienza con un factor de transcripción activado unido a un lugar específico del DNA. Un esquema de la iniciación de la transcripción por parte de la RNA polimerasa II necesita cinco pasos: (1) incorporación de un coactivador, (2) acetilación de los residuos de lisina de las colas de histona, (3) unión de un complejo de remodelación de la cromatina a los residuos de lisina acetilados, (4) remodelación, dependiente del ATP, de la estructura de la cromatina para exponer un lugar de unión para la RNA polimerasa o para otros factores, y (5) incorporación de la RNA polimerasa II. Solo se muestran dos subunidades de cada complejo, a pesar de que los complejos reales son mucho más grandes.

Tabla 37.3 Algunas modificaciones de las histonas

Histona modificada*		Modificación de los aminoácidos	Efecto
H4	K8	Acetilación	Activación de la transcripción
H3	K14	Acetilación	Activación de la transcripción
H3	K27	Metilación	Activación de la transcripción
H3	R17	Metilación	Activación de la transcripción
H2B	S14	Fosforilación	Inicio de la apoptosis

*Las letras K, R y S son las abreviaturas, de una letra, de la lisina (K), arginina (R) y serina (S). Los números que acompañan a la letra indican su posición en la estructura primaria.

Las desacetilasas de histonas contribuyen a la represión de la transcripción

Al igual que en procariotas, ciertos cambios en el entorno de una célula dan lugar a la represión de genes que habían estado activos. De nuevo, la modificación de las colas de las histonas desempeña un importante papel. Sin embargo, una de las reacciones claves en la represión parece ser la desacetilación de las lisinas acetiladas, catalizada por unas enzimas específicas: las *desacetilasas de histonas*. De hecho, todas las modificaciones covalentes de las colas de las histonas son reversibles.

Desde muchos puntos de vista, la acetilación y la desacetilación de residuos de lisina en las colas de las histonas es análoga a la fosforilación y desfosforilación de residuos de serina, treonina y tirosina que tiene lugar en otras etapas de los procesos de señalización. Al igual que la adición de grupos fosforilo, la adición de grupos acetilo puede provocar cambios conformacionales y generar nuevos lugares de unión. Sin embargo, si no hubiese una forma de retirar estos grupos, estos interruptores de la señalización quedarían bloqueados en una posición y perderían su eficacia. Como en el caso de las fosfatasas, las desacetilasas ayudan a colocar los interruptores en su estado inicial.

Resumen

37.1 Las células eucarióticas poseen tres tipos de RNA polimerasas

En el núcleo hay tres tipos de RNA polimerasa: la RNA polimerasa I sintetiza precursores de los RNA ribosómicos, la II sintetiza precursores de los RNA mensajeros y la III sintetiza precursores de los RNA de transferencia. Los promotores eucarióticos son complejos y están formados por varios elementos distintos.

37.2 La RNA polimerasa II necesita una regulación compleja

Los promotores de la RNA polimerasa II pueden estar situados en el lado 5' o en el lado 3' del lugar de inicio de la transcripción. Un tipo frecuente de promotor eucariótico consta de una caja TATA centrada entre las posiciones −30 y −100 junto a un elemento iniciador. Los elementos de los promotores eucarióticos son reconocidos por unas proteínas denominadas factores de transcripción en lugar de por la RNA polimerasa II. La proteína que se une a la caja TATA, que tiene la forma de una silla de montar, desenrolla el DNA en las secuencias de la caja TATA y lo dobla de forma abrupta, convirtiéndolo así en un punto en el que se irá ensamblando el complejo de transcripción. La proteína que se une a la caja TATA inicia el ensamblaje del complejo de transcripción activo. La actividad de muchos promotores aumenta enormemente gracias a secuencias intensificadoras que, por sí mismas, carecen de actividad promotora. Los intensificadores son elementos del DNA que pueden modular la expresión génica a una distancia de más de 1.000 pb del lugar de inicio de la transcripción. A menudo, los intensificadores son específicos para determinados tipos celulares, ya que dependen de qué proteínas de unión al DNA estén presentes.

La mayoría de los genes eucarióticos no se expresan a menos que se activen mediante la unión de factores de transcripción específicos a determinados lugares del DNA. Estas proteínas que se unen al DNA de forma específica interaccionan directa o indirectamente con las RNA polimerasas o con sus proteínas asociadas.

37.3 La expresión génica se regula mediante hormonas

El receptor de estradiol es un miembro de la familia de receptores hormonales nucleares, un grupo de receptores que regulan la expresión génica en respuesta a la unión de hormonas. Estos receptores son modulares: están formados por dominios distintos para la unión al DNA y para la unión a hormonas. El receptor reconoce secuencias concretas del DNA, denominadas elementos de respuesta, situadas corriente arriba de los genes que regulan. Al unirse la hormona, el receptor de hormonas recluta coactivadores que alteran la actividad de la RNA polimerasa II.

37.4 La acetilación de histonas da lugar a la remodelación de la cromatina

El DNA eucariótico está fuertemente unido a unas proteínas básicas denominadas histonas; la combinación se conoce con el nombre de cromatina. Los cambios en la estructura de la cromatina desempeñan un papel fundamental a la hora de regular la expresión génica. Entre las funciones más importantes de los coactivadores se encuentra la de catalizar la adición de grupos acetilo a los residuos de lisina de las colas de las histonas. La acetilación de histonas reduce la afinidad de las histonas hacia el DNA, facilitando el acceso a otros genes para su transcripción. Además, las histonas acetiladas son la diana para proteínas que contienen unas regiones de unión específicas denominadas bromodominios. Los bromodominios forman parte de dos clases de complejos de gran tamaño: (1) los motores de remodelación de la cromatina y (2) los factores asociados a la RNA polimerasa II. Estos complejos exponen lugares de la cromatina e inician la transcripción.

Términos clave

transcripción (p. 645)
RNA polimerasa (p. 645)
dominio carboxilo terminal (CTD) (p. 647)
caja TATA (p. 648)
factor de transcripción (p. 649)
intensificador (p. 649)
mediador (p. 650)
control combinatorio (p. 650)
receptor hormonal nuclear (p. 651)
elemento de respuesta a estrógenos (ERE) (p. 651)
dominio de dedo de zinc (p. 652)
coactivador (p. 652)
agonista (p. 653)
antagonista (p. 653)
modulador selectivo de los receptores de estrógeno (SERM) (p. 653)
histona (p. 654)
cromatina (p. 654)
acetiltransferasa de histonas (HAT) (p. 654)
dominio de unión a acetil-lisina (p. 655)
bromodominio (p. 655)
factor asociado a la proteína que se une a la caja TATA (TAF) (p. 655)
motor de remodelación de la cromatina (p. 655)
nucleosoma (p. 655)
desacetilasa de histonas (p. 656)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Un promotor es una secuencia de DNA que atrae la polimerasa al lugar de inicio de la transcripción. Normalmente, los promotores están situados justo corriente arriba del gen. Un intensificador es una secuencia de DNA que, por sí misma, carece de actividad promotora, pero que incrementa enormemente la actividad de un promotor asociado. Los intensificadores pueden ejercer sus efectos a una distancia de varios miles de pares de bases.

2. El estradiol difunde hacia el interior de la célula. Se une a una proteína receptora específica. Una vez unido a la hormona, el receptor recluta otras proteínas denominadas coactivadores, que estimulan la RNA polimerasa.

Problemas

1. *Características definitorias.* Identifique las tres características que diferencian la transcripción eucariótica de la transcripción bacteriana.

2. *Trío.* ¿Qué diferencias hay entre los tres tipos de RNA polimerasas eucarióticas?

3. *Promotor para dos.* Describa las principales características de un promotor para la RNA polimerasa II.

4. *Característica distintiva.* ¿Qué característica estructural de la RNA polimerasa II la distingue de las RNA polimerasas I y III?

5. *¿A distintos lados de un enlace?* ¿Qué diferencia hay entre los elementos que actúan en *cis* y los que actúan en *trans*?

6. *¿Necesita expandirse?* ¿Qué es un intensificador? ¿Cómo funciona?

7. *En su mundo.* ¿Por qué los promotores de la RNA polimerasa II son necesariamente más complejos que los promotores de las RNA polimerasas I y III? ✓ 3

8. *Emparejamientos incombustibles.* Asigne a cada RNA polimerasa las propiedades que le correspondan.

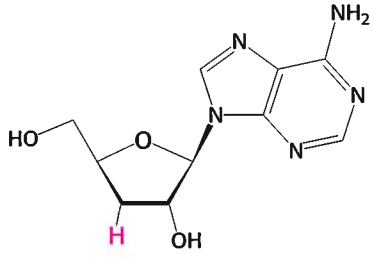
(a) RNA polimerasa I _____

(b) RNA polimerasa II _____

(c) RNA polimerasa III _____

1. Sintetiza precursores del mRNA
2. Insensible a la α-amanitina
3. Sintetiza el tRNA
4. Se localiza en el nucleoplasma
5. Contiene un dominio carboxilo terminal
6. Se localiza en el nucleolo
7. TATA es una secuencia promotora
8. Muy sensible a la α-amanitina
9. Sintetiza el rRNA
10. Sensibilidad moderada a la α-amanitina

9. *Un extremo que encaja.* La cordicepina inhibe la síntesis de RNA.



Cordicepina (3'-desoxiadenosina)

¿De qué ribonucleótido es análogo la cordicepina? ¿Por qué inhibe la síntesis de RNA?

10. *Saliendo de la estación.* ¿Cuál es la consecuencia funcional de la fosforilación del dominio carboxilo terminal de la RNA polimerasa II?

11. *Desplazamiento de la burbuja.* Las longitudes del híbrido RNA-DNA y de la región desenrollada del DNA se mantienen prácticamente constantes a medida que la RNA polimerasa se desplaza a lo largo del DNA molde. ¿Qué indica este hecho en relación con la velocidad de enrollamiento y desenrollamiento del DNA en el transcurso de la transcripción?

12. *Harry Potter y Lord Voldemort.* Asigne a cada término la descripción correspondiente.

(a) Factor de transcripción _____

(b) Intensificador _____

(c) Mediador _____

(d) Control combinatorio _____

(e) Dominio de dedo de zinc _____

(f) Coactivador _____

(g) Modulador selectivo del receptor de estrógenos _____

(h) Acetiltransferasa de histonas _____

(i) Dominio de unión a la acetil-lisina _____

(j) Motor de remodelación de la cromatina _____

1. Depende de la ATP-citrato liasa para obtener su sustrato
2. Actúa como puente entre los factores de transcripción y la RNA polimerasa II
3. Se basa en el hecho de que las propiedades reguladoras de una proteína dependen de qué otras proteínas estén presentes
4. Facilita la acción del receptor de estrógenos
5. Se une a elementos que actúan en *cis*
6. Bromodominio
7. Modifica la ubicación de los nucleosomas
8. Tamoxifeno
9. En algunas proteínas es un dominio de unión al DNA
10. Elemento que actúa en *cis* que puede estar muy alejado del gen que regula

13. *Trabajo en equipo.* ¿Qué relación hay entre los receptores hormonales nucleares y los coactivadores? ✓ 3

14. *Creando complejidad.* ¿Cuál es la ventaja del control combinatorio? ✓ 3

15. *Cambios de carga.* Teniendo en cuenta que las histonas son proteínas muy básicas, ¿cómo afecta la acetilación a estas moléculas? ✓ 3

16. *Ángel exterminador.* La α-amanitina es un veneno mortal y un potente inhibidor de la RNA polimerasa II. Esta toxina es producida por una especie de *Amanita*. Los primeros síntomas del envenenamiento por α-amanitina son molestias gastroin-

testinales, pero estos síntomas normalmente remiten. Al cuarto día de la ingestión, ya es evidente la citolisis de las células hepáticas. La muerte por fallo hepático sobreviene a los 10 días. Sugiera algunas posibles razones que expliquen por qué este potente veneno tarda días en provocar el fallo hepático y la muerte.

17. *Receptor híbrido.* Mediante métodos que utilizan DNA recombinante se obtuvo un receptor de hormonas tiroideas modificado que consistía en un receptor de estrógenos al que se le había reemplazado su dominio de unión al ligando por el dominio de unión al ligando de un receptor de progesterona. Pronostique cómo respondería la expresión génica en células tratadas con estrógeno o con progesterona. ✓ 3

Problemas de integración de capítulos

18. *Acción hormonal.* ¿En qué se diferencia la acción del estradiol de la acción de las hormonas que se unen a receptores acoplados a proteínas G? ✓ 3

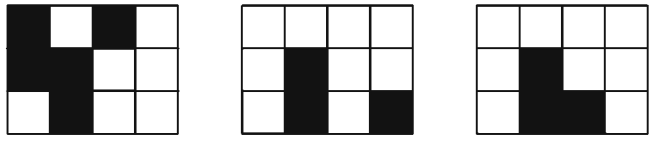
19. *Especificidad.* Si el estradiol puede difundir a través de las membranas celulares, ¿por qué no todos los tipos celulares son sensibles a la presencia de estradiol? ✓ 3

20. *CRD.* La cantidad diaria recomendada (CDR) de zinc es de entre 9 y 11 mg. Sugiera uno de los principales usos del zinc en los seres humanos.

Problemas de interpretación de datos para atrevidos

21. *La accesibilidad importa.* La accesibilidad de la cromatina varía según el tipo celular. Por ejemplo, si las células que sintetizan el mRNA de la globina se tratan brevemente con DNAasa (una enzima que digiere el DNA), los genes que codifican la globina se destruyen, pero el gen de la ovoalbúmina permanece intacto. Y a la inversa, si se aplica un tratamiento similar al oviducto, el gen de la ovoalbúmina se destruye sin provocar daños en los genes que codifican globina. Explique estos resultados. ✓ 3

22. *Experimento de desempate.* Se aislaron núcleos de cerebro, hígado y músculo. A continuación, los núcleos se incubaron con α-[^{32}P]UTP en condiciones que permitían la síntesis de RNA, aunque en presencia de un inhibidor de la iniciación de la síntesis del RNA. Se extrajo el RNA radiactivo y se hibridó con varias secuencias de DNA que estaban unidas a un chip de genes (más información sobre chips de genes en el Capítulo 41). En los gráficos adjuntos, la intensidad del sombreado indica aproximadamente cuánto mRNA se ha unido a cada secuencia de DNA. ✓ 3



(a) ¿Por qué la intensidad de la hibridación difiere de unos genes a otros?
(b) ¿Qué significa el hecho de que algunas moléculas de RNA muestren perfiles de hibridación diferentes en tejidos distintos?
(c) Algunos genes se expresan en los tres tejidos. ¿Cuál cree que es la naturaleza de estos genes?
(d) Sugiera una razón para incluir un inhibidor de la iniciación en la mezcla de reacción.

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 38

Maduración del RNA en eucariotas

38.1 El RNA ribosómico maduro se genera mediante la escisión de una molécula precursora

38.2 El RNA de transferencia se procesa de forma intensiva

38.3 El RNA mensajero se modifica y experimenta una serie de cortes y empalmes

38.4 El RNA puede funcionar como un catalizador



Jorge III fue rey de Inglaterra durante la Revolución Americana y se opuso duramente a la independencia de las colonias. Padecía ataques de locura que podrían haber sido provocados por la porfiria intermitente aguda, una enfermedad que puede ser el resultado de defectos en la maduración de una enzima que interviene en el metabolismo del grupo hemo. [The Art Archive/Superstock.]

En eucariotas, prácticamente todos los productos iniciales de la transcripción son sometidos a un proceso ulterior de maduración. Por ejemplo, los transcritos primarios producidos por la actividad de la RNA polimerasa II (las moléculas de pre-mRNA) incorporan un capuchón (*cap*) en sus extremos 5′ y una cola de poli(A) en sus extremos 3′. Y, sobre todo, *en los eucariotas superiores, la maduración de prácticamente todos los precursores del mRNA requiere una serie de cortes y empalmes (splicing)*. En eucario-

tas, la mayoría de los genes son mosaicos discontinuos de regiones que codifican aminoácidos, denominadas *exones*, y regiones no codificantes, denominadas *intrones*, que son eliminadas durante el proceso de maduración. Los intrones pueden representar la mayor parte del transcrito primario; algunos mRNA acaban teniendo una décima parte del tamaño de sus precursores.

Comenzaremos examinando la maduración del rRNA y del tRNA. A continuación, nos centraremos en la maduración del mRNA y en cómo se pueden generar múltiples mRNA a partir de un único gen mediante procesos de maduración alternativos. El capítulo termina con el estudio de las propiedades catalíticas del RNA.

38.1 El RNA ribosómico maduro se genera mediante la escisión de una molécula precursora

La transcripción de la RNA polimerasa I da lugar a un único precursor (de 45S, en mamíferos) que codifica tres de los RNA que componen el ribosoma: el rRNA de 18S, el rRNA de 28S y el rRNA de 5,8S (Figura 38.1). El rRNA de 18S es el RNA que forma parte de la subunidad pequeña del ribosoma (la de 40S), y los rRNA de 28S y de 5,8S son dos RNA que forman parte de la subunidad grande del ribosoma (la de 60S). El otro RNA de la subunidad grande del ribosoma, el rRNA de 5S, lo transcribe la RNA polimerasa III como un transcrito aparte.

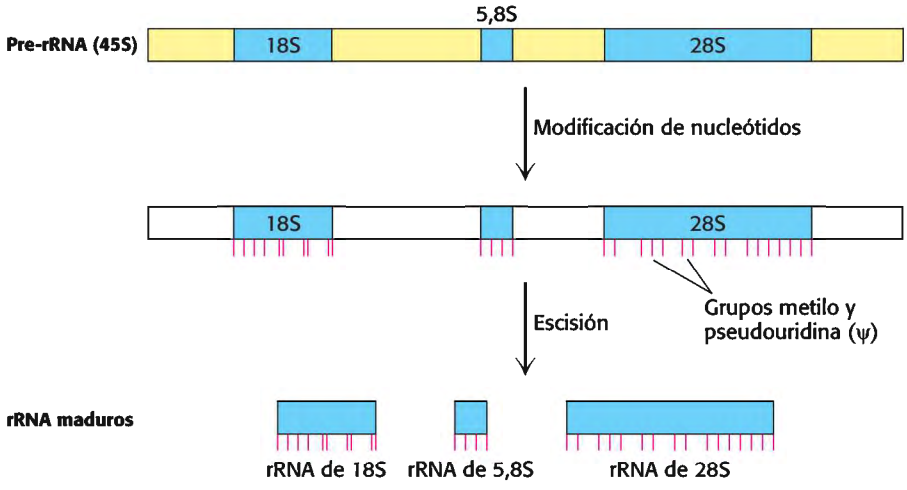


Figura 38.1 Maduración del pre-rRNA eucariótico. El transcrito pre-rRNA de mamíferos contiene las secuencias de RNA destinadas a convertirse en los rRNA de 18S, de 5,8S y de 28S de las subunidades grande y pequeña de los ribosomas. En primer lugar, se modifican los nucleótidos (se indica mediante líneas rojas). A continuación, se escinde el pre-rRNA y se ensamblan los ribosomas maduros mediante un proceso muy regulado en el que participan más de 200 proteínas.

En realidad, la escisión del precursor en tres rRNA distintos es el último paso de su maduración. En primer lugar, los nucleótidos de las secuencias de pre-rRNA destinadas a formar parte del ribosoma son sometidos a una modificación intensiva, tanto en la ribosa como en las bases, orquestada por multitud de *ribonucleoproteínas nucleolares pequeñas* (snoRNP), cada una de las cuales está formada por un RNA pequeño nucleolar (snoRNA) y varias proteínas. El pre-rRNA se asocia a proteínas ribosomales formando una ribonucleoproteína grande. La escisión del pre-rRNA (que algunas veces va acompañada de otros pasos de maduración) libera los rRNA maduros asociados a las proteínas ribosomales en forma de ribosomas. Como ocurre con la propia transcripción por parte de la RNA polimerasa I, la mayoría de los pasos de este proceso de maduración tienen lugar en el nucleolo celular, un subcompartimento del núcleo.

38.2 El RNA de transferencia se procesa de forma intensiva

Los precursores del RNA de transferencia, que son sintetizados por la RNA polimerasa III, se procesan de varias formas para dar lugar a la molécula madura de tRNA. Como ocurre con los tRNA bacterianos, los nucleótidos del extremo 5′ del precursor (la secuencia líder 5′) se escinden por medio de la ribonucleasa P, se eliminan los nucleótidos del extremo 3′ (la secuencia remolque 3′) y se añade el trinucleótido CCA mediante la enzima que añade CCA (Figura 38.2). Los tRNA eucarióticos también se someten a una modificación considerable tanto en las bases como en las unidades

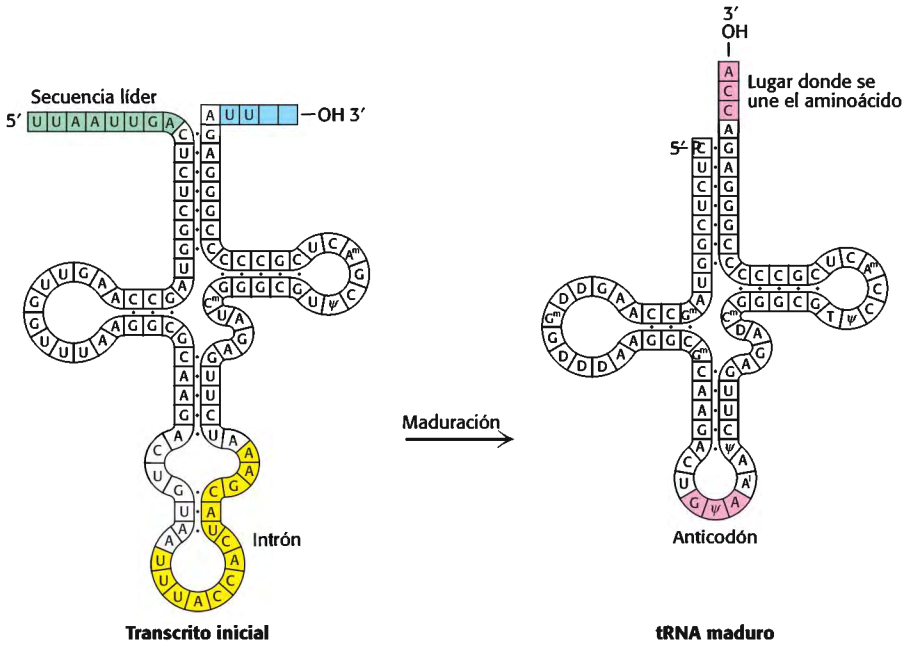


Figura 38.2 Procesamiento del precursor del RNA de transferencia. En levaduras, para convertir un precursor de tRNA en un tRNA maduro hay que eliminar un intrón de 14 nucleótidos (amarillo), escindir la secuencia líder del extremo 5′ (verde), eliminar la secuencia remolque del extremo 3′ (azul) y añadir la secuencia CCA al extremo 3′ (rojo). Además, se modifican varias bases.

de ribosa; estas modificaciones son importantes para la función. Muchos pre-tRNA eucarióticos también contienen un intrón, que se elimina por medio de una endonucleasa, generando unos productos que se unen gracias a una ligasa.

38.3 El RNA mensajero se modifica y experimenta una serie de cortes y empalmes

✓ 4 Explicar cómo se modifica el RNA después de su transcripción en eucariotas.

El producto de la transcripción que más se modifica es el de la RNA polimerasa II: la mayor parte de este RNA experimentará un proceso de maduración que dará lugar a un mRNA. A veces, el producto inmediato de la RNA polimerasa II se denomina *pre-mRNA*. Se modifican los extremos 5′ y 3′ del pre-mRNA, y la mayoría de las moléculas de pre-mRNA son sometidas a un proceso de corte y empalme que elimina los intrones.

El extremo 5′ trifosfato de la cadena de RNA naciente se modifica inmediatamente después de la iniciación. En primer lugar, se libera un grupo fosforilo mediante hidrólisis. A continuación, el extremo 5′ difosfato ataca al átomo de fósforo α de una molécula de GTP formando un enlace atípico 5′-5′ trifosfato. A este nucleótido terminal característico se le denomina *capuchón 5′* (Figura 38.3). A continuación, el átomo de nitrógeno N-7 de la guanina terminal es metilado por la *S*-adenosilmetionina (p. 547), con lo que se forma el *capuchón 0*. Las ribosas adyacentes se pueden metilar, dando lugar al *capuchón 1* o al *capuchón 2*. Los capuchones contribuyen a la estabilidad de los mRNA, ya que protegen sus extremos 5′ de la acción de las fosfatasas y de las nucleasas. Además, los capuchones incrementan la traducción de los mRNA por parte de los sistemas eucarióticos que sintetizan proteínas (Capítulo 40).

Tal como se ha mencionado anteriormente, el pre-mRNA también se modifica en el extremo 3′. *La mayoría de los mRNA eucarióticos presentan en ese extremo una cola de poliadenilato, o poli(A)*, que ha sido añadida una vez finalizada la transcripción. Por tanto, el DNA no codifica esta *cola de poli(A)*. De hecho, el nucleótido que precede al lugar donde se añade la secuencia poli(A) no es el último nucleótido que se ha transcrito. Algunos transcritos primarios presentan cientos de nucleótidos que se extienden más allá del extremo 3′ del mRNA maduro, que son eliminados antes de añadir la cola de poli(A).

¿Cómo adquiere el extremo 3′ del pre-mRNA su forma final? *El extremo 3′ del pre-mRNA se genera mediante una endonucleasa específica que reconoce la secuencia*

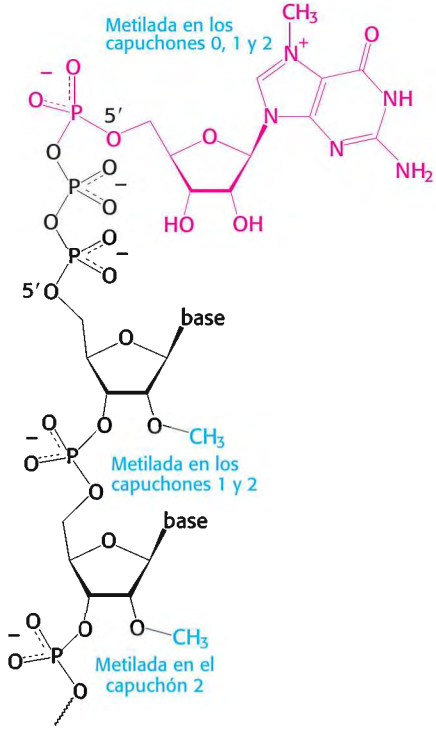


Figura 38.3 Colocación del capuchón en el extremo 5′. Los capuchones del extremo 5′ del mRNA eucariótico incluyen un 7-metilguanilato (en color rojo) unido mediante un enlace trifosfato a la ribosa del extremo 5′. Ninguna de las ribosas se encuentra metilada en el capuchón 0, una está metilada en el capuchón 1 y ambas están metiladas en el capuchón 2.

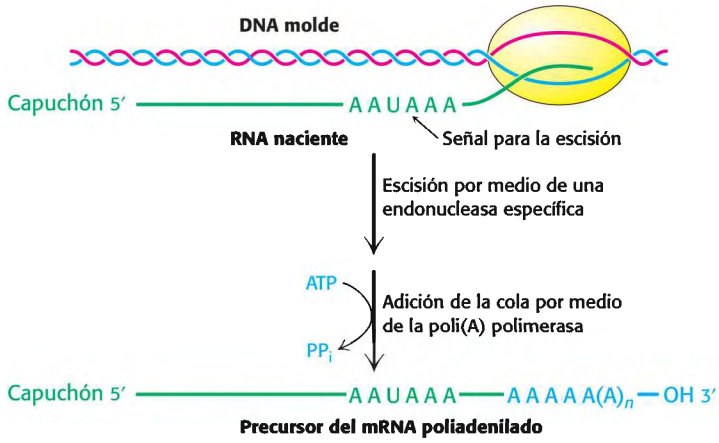


Figura 38.4 Poliadenilación de un transcrito primario. Una endonucleasa específica escinde el RNA corriente abajo de la secuencia AAUAAA. Posteriormente, la poli(A) polimerasa añade unos 250 residuos de adenilato.

AAUAAA (Figura 38.4). La presencia de secuencias AAUAAA internas en algunos mRNA maduros indica que AAUAAA es tan solo una parte de la señal de escisión; su contexto también es importante. Después de la escisión del pre-RNA por parte de la endonucleasa, una *poli(A) polimerasa* añade unos 250 residuos de adenilato al extremo 3′ del transcrito; en esta reacción interviene el ATP como donador.

A pesar de los muchos esfuerzos realizados, aún no se ha determinado de manera definitiva la función de la cola de poli(A). Sin embargo, se están acumulando evidencias que indican que aumenta la eficacia de la traducción y la estabilidad del mRNA. El RNA mensajero desprovisto de la cola de poli(A) se puede transportar fuera del núcleo. Sin embargo, por regla general, una molécula de mRNA carente de una cola de poli(A) es un molde mucho menos efectivo para la síntesis de proteínas que otro que sí la tenga. La vida media de una molécula de mRNA puede estar determinada, al menos en parte, por la velocidad de degradación de su cola de poli(A).

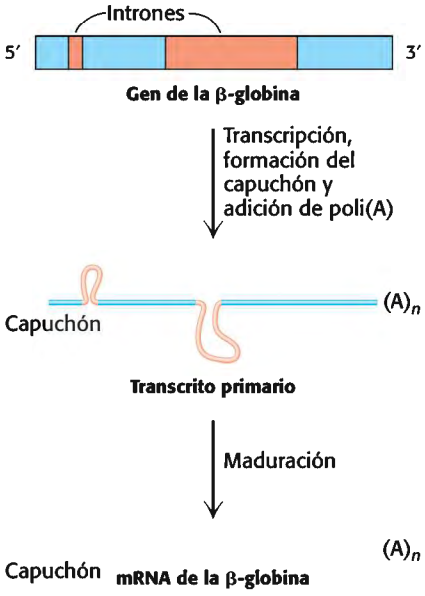


Figura 38.5 Transcripción y procesamiento del gen de la β-globina. El gen se transcribe generando el transcrito primario, que se modifica mediante la adición del capuchón y de la cola de poli(A). Para formar el mRNA se extraen los intrones del transcrito primario.

En los precursores del mRNA, unas secuencias localizadas al final de los intrones especifican los lugares de corte

El proceso de maduración que experimentan los extremos de la molécula de pre-mRNA no son las únicas modificaciones que se producen en estas moléculas. En los eucariotas superiores, la mayoría de los genes están formados por intrones y exones —regiones no codificantes y regiones codificantes, respectivamente. Para formar el mRNA final hay que escindir los intrones y empalmar los exones mediante un proceso denominado *maduración* (*splicing*) (Figura 38.5). Para poder extraer los intrones de forma precisa, el lugar de corte exacto tiene que estar claramente indicado. ¿Hay una secuencia concreta que identifique el lugar de corte y empalme? Se conocen las secuencias de miles de conexiones intrón-exón en los transcritos de RNA. En eucariotas, desde las levaduras hasta los mamíferos, estas secuencias poseen un motivo estructural común: *el intrón comienza con la secuencia GU y termina con AG*. En vertebrados, la secuencia consenso del lugar de corte y empalme del extremo 5′ es AG*G*U*A*AGU, en la que GU permanece invariable (Figura 38.6). En el extremo 3′ de un intrón la secuencia consenso consiste en un segmento de *10 pirimidinas* (U o C), denominado *tramo de polipirimidinas*, seguido de una base cualquiera, después una C y, finalmente, de una secuencia AG, que permanece invariable. Los intrones también poseen un lugar interno importante situado entre 20 y 50 nucleótidos corriente arriba del lugar de corte y empalme del extremo 3′; se le denomina *lugar de ramificación*, por razones que pronto resultarán evidentes.

Los lugares de corte y empalme de los extremos 5′ y 3′, así como el lugar de ramificación son esenciales para determinar por dónde hay que cortar. Mutaciones en cualquiera de estas tres regiones cruciales dan lugar a una maduración aberrante. La longitud de los intrones varía entre 50 y 10.000 nucleótidos, de modo que la maquinaria de maduración debe ser capaz de encontrar el lugar de corte y empalme del extremo 3′ a una distancia de varios miles de nucleótidos.

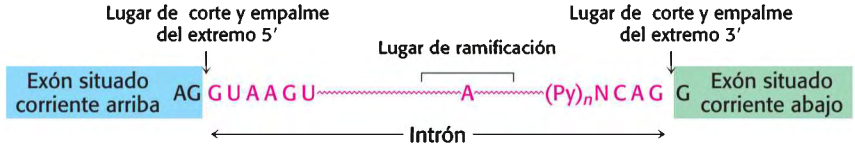


Figura 38.6 Lugares de corte y empalme. Se muestran las secuencias consenso de los lugares de corte y empalme de los extremos 5′ y 3′. Py representa una pirimidina.

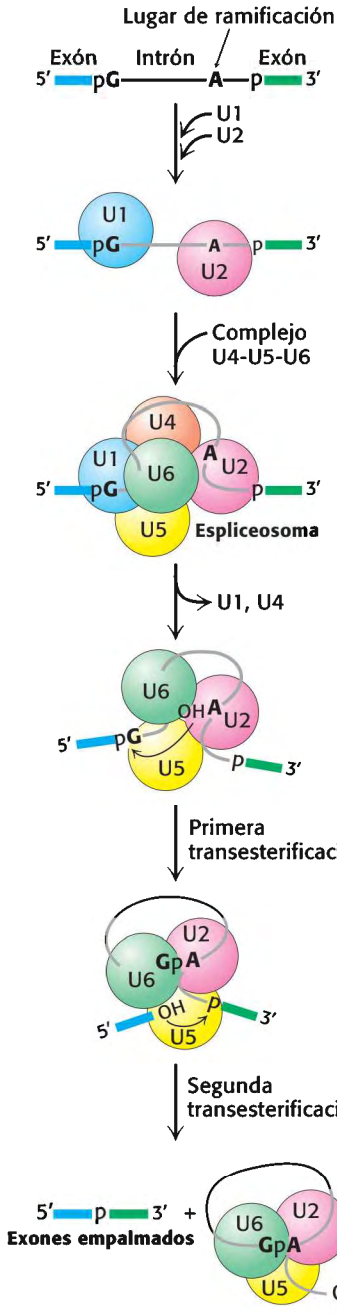


Figura 38.7 Ensamblaje y actividad del espliceosoma. U1 se une al lugar de corte y empalme del extremo 5′ y U2 se une al lugar de ramificación. A continuación, se incorpora un complejo U4-U5-U6 formado previamente, con lo que se forma el espliceosoma completo. Las numerosas interacciones que se establecen entre U6 y U2 desplazan a U1 y a U4. Posteriormente, en la primera etapa de transesterificación, la adenosina del lugar de ramificación ataca el lugar de corte y empalme del extremo 5′, generando un intermediario con forma de lazo. U5 mantiene los dos exones muy juntos y se produce la segunda transesterificación, en la que el grupo hidroxilo del lugar de corte y empalme del extremo 5′ ataca el lugar de corte y empalme del extremo 3′. Estas reacciones dan lugar al mRNA maduro y a un intrón con forma de lazo al que se unen U2, U5 y U6. [Tomada de T. Villa, J. A. Pleiss y C. Guthrie, *Cell* 109: 149–152, 2002.]

Este proceso de corte y empalme tiene que ser exquisitamente preciso, ya que la información contenida en los nucleótidos se convierte en información proteica mediante secuencias de tres nucleótidos que no se solapan y que se denominan codones (Capítulo 39). Por tanto, un desplazamiento de un solo nucleótido en el transcurso del proceso de maduración alteraría la información contenida en los nucleótidos a partir del lugar de corte y empalme del extremo 3′, dando lugar a una secuencia de aminoácidos totalmente distinta que, probablemente, incluirá algún codón stop que ponga fin de forma prematura a la síntesis proteica. Secuencias específicas situadas cerca de los lugares de corte y empalme (tanto en los intrones como en los exones) desempeñan un importante papel a la hora de regular la maduración, especialmente a la hora de especificar los lugares de corte y empalme, sobre todo cuando existen muchas alternativas (p. 667). A pesar de nuestros conocimientos sobre las secuencias de los lugares de corte y empalme, la predicción de los pre-mRNA y de sus productos proteicos a partir de la información contenida en la secuencia del DNA genómico sigue siendo todo un desafío.

En los espliceosomas, los RNA pequeños nucleares catalizan la maduración de los precursores del mRNA

¿Cuáles son las maquinarias moleculares que escinden los intrones y empalman los exones de forma tan precisa? Un grupo de moléculas de RNA especiales y de proteínas se asocian al pre-mRNA formando un gran complejo de maduración que se denomina *espliceosoma*. Veamos cuáles son los componentes del espliceosoma.

El núcleo contiene muchos tipos de moléculas pequeñas de RNA (ver la Tabla 37.2). Una clase concreta de estos RNA, los denominados *snRNA (RNA nucleares pequeños)*, que se designan como U1, U2, U4, U5 y U6, son esenciales para la maduración de los precursores del mRNA. Estas moléculas de RNA se asocian a proteínas específicas formando complejos que reciben el nombre de *snRNP (partículas de ribonucleoproteína pequeñas nucleares)*; a menudo los investigadores se refieren a ellas como "snurps". En las células de mamífero, el primer paso de la maduración consiste en el reconocimiento del lugar de corte y empalme del extremo 5′ por medio de la snRNP U1 (Figura 38.7). De hecho, el RNA que forma parte de la snRNP U1 contiene una secuencia de seis nucleótidos que se empareja mediante pares de bases con el lugar de corte y empalme del extremo 5′ del pre-mRNA. Esta unión marca el comienzo del ensamblaje del espliceosoma sobre la molécula de pre-mRNA. A continuación, la snRNP U2 se une al lugar de ramificación del intrón. Después, una tri-snRNP U4-U5-U6 previamente ensamblada se une al complejo formado por U1, U2 y el precursor del mRNA, formando el espliceosoma.

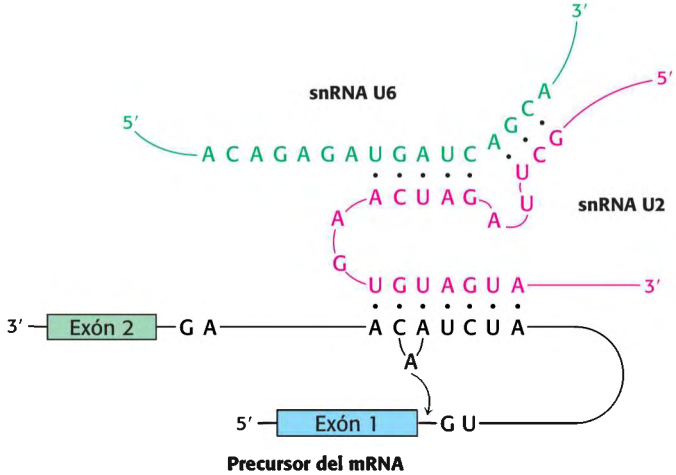
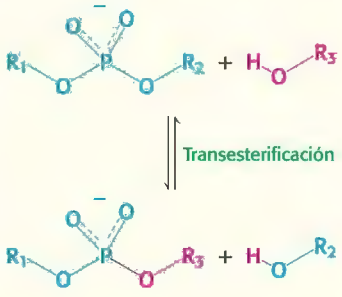


Figura 38.8 Centro catalítico donde se produce el corte y empalme. El centro catalítico del espliceosoma está formado por el snRNA U2 (en rojo) y el snRNA U6 (en verde), cuyas bases están apareadas. U2 también forma pares de bases con el lugar de ramificación del precursor del mRNA. [Tomada de H. D. Madhani y C. Guthrie, *Cell* 71: 803–817, 1992.]

La reacción de transesterificación es la reacción de un alcohol con un éster para formar un alcohol diferente y un éster diferente.



El proceso de maduración prosigue cuando U5 interacciona con secuencias del exón contiguo al lugar de corte y empalme del extremo 5′ y, posteriormente, con el exón situado en 3′. A continuación, U6 se disocia de U4 e interacciona con U2 y con el extremo 5′ del intrón, desplazando a U1 del espliceosoma. *Los snRNA U2 y U6 constituyen el centro catalítico del espliceosoma* (**Figura 38.8**). U4 actúa como un inhibidor que enmascara a U6 hasta que los lugares de corte y empalme específicos se encuentran alineados. Estas reorganizaciones acercan los extremos de los intrones y dan lugar a una *reacción de transesterificación*. Se produce un corte en el exón situado en 5′ y el resto de la molécula de pre-mRNA genera un intermediario con forma de lazo, en el que el primer nucleótido del intrón (G) se encuentra unido a una A de la región de ramificación mediante un enlace 5′-2′ fosfodiéster atípico.

Reorganizaciones ulteriores del RNA en el espliceosoma facilitan la segunda transesterificación. En estas reestructuraciones, U5 mantiene el exón 5′ libre y el exón 3′ muy juntos para facilitar la segunda transesterificación, generando el producto maduro. Para completar el proceso de maduración, se liberan las moléculas de U2, U5 y U6 unidas al intrón escindido con forma de lazo.

Muchos de los pasos del proceso de maduración requieren la hidrólisis de ATP. ¿Cómo se utiliza la energía libre asociada a la hidrólisis del ATP para impulsar la maduración? Para conseguir que las reestructuraciones necesarias para la maduración tengan lugar en el orden correcto, unas RNA helicasas dependientes del ATP tienen que desenrollar las hélices de RNA y permitir que se formen emparejamientos de bases alternativos. Por tanto, el proceso de maduración presenta dos características dignas de mención. En primer lugar, *las moléculas de RNA desempeñan papeles fundamentales tanto a la hora de dirigir el alineamiento de los lugares de corte y empalme como a la hora de llevar a cabo la catálisis*. En segundo lugar, *las helicasas dependientes del ATP desenrollan las dobles hélices de los RNA intermediarios que facilitan la catálisis e inducen la liberación de las snRNP del mRNA*.

? PREGUNTA RÁPIDA Describa el papel de las diversas snRNP que intervienen en el proceso de maduración.

Aspecto clínico

Las mutaciones que afectan a la maduración del pre-mRNA provocan enfermedades

Las mutaciones en el pre-mRNA (elementos que actúan en *cis*) o en los factores de maduración (elementos que actúan en *trans*) pueden ser la causa de una maduración defectuosa del pre-mRNA. Las mutaciones en el pre-mRNA provocan algunas formas de talasemia, un grupo de anemias hereditarias que se caracterizan por la síntesis defectuosa de la hemoglobina. El gen de la cadena β de la hemoglobina consta de tres exones y dos intrones. Las mutaciones que actúan en *cis* que provocan una maduración aberrante pueden producirse en los lugares de corte y empalme del extremo 5′ o del extremo 3′ de cualquiera de los dos intrones o en sus exones. Generalmente, las mutaciones dan lugar a un pre-mRNA que ha madurado de forma incorrecta y que no puede codificar una proteína completa porque contiene una señal de terminación prematura. Normalmente, el pre-mRNA defectuoso, en vez de ser traducido, se de-

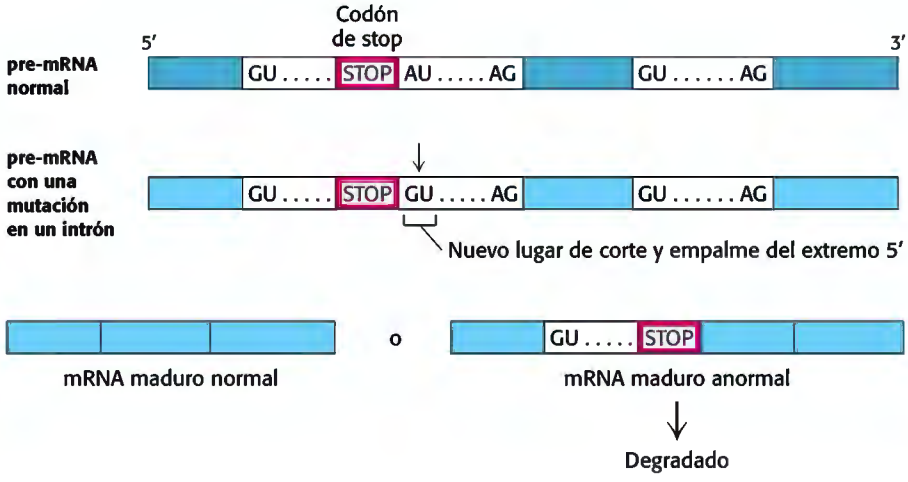


Figura 38.9 Mutación que altera la maduración y provoca talasemia. Una mutación que convierte una A en una G en el primer intrón del gen que codifica la cadena β de la hemoglobina humana genera un nuevo lugar de corte y empalme del extremo 5′ (GU). El mRNA maduro anormal presenta ahora un codón stop prematuro y se degrada.

grada (Figura 38.9). *Se ha estimado que las mutaciones que afectan a la maduración provocan, al menos, el 15% de todas las enfermedades genéticas.*

Las mutaciones que causan enfermedades también pueden producirse en factores de maduración de naturaleza proteica. La retinitis pigmentosa es una enfermedad descrita por primera vez en 1857 que provoca ceguera y cuya incidencia es de un caso por cada 3.500 personas. Es probable que alrededor del 5% de la forma autosómica dominante de la retinitis pigmentosa se deba a mutaciones en un factor de maduración del pre-mRNA que forma parte de la tri-snRNP U4-U5-U6. No está claro cómo una mutación en un factor de maduración que está presente en todas las células puede provocar la enfermedad únicamente en la retina; no obstante, la retinitis pigmentosa es un buen ejemplo de cómo las mutaciones que impiden el funcionamiento del espliceosoma pueden provocar una enfermedad. ■

Aspecto clínico

La mayoría de los pre-mRNA humanos pueden madurar de formas alternativas para producir proteínas diferentes

La *maduración alternativa* es un mecanismo generalizado para crear diversidad proteica. A partir de un mismo gen se pueden cortar y empalmar distintas combinaciones de exones para crear un RNA maduro, produciendo así versiones distintas de una proteína en función del tipo de tejido concreto, del estado de desarrollo o de las vías de señalización. Por ejemplo, un precursor de una célula productora de anticuerpos forma un anticuerpo que se encuentra unido a la membrana plasmática de la célula (Figura 38.10). El anticuerpo unido reconoce a un antígeno foráneo específico, lo que da lugar a la diferenciación celular y a la proliferación. Posteriormente, las células productoras de anticuerpos activadas procesan sus RNA recién transcritos de una forma alternativa para generar moléculas solubles del anticuerpo que, en lugar de quedar retenidas sobre la superficie celular, se excretan. Vemos aquí un claro ejemplo de una de las ventajas derivadas de la compleja disposición de intrones y exones en los organismos superiores.

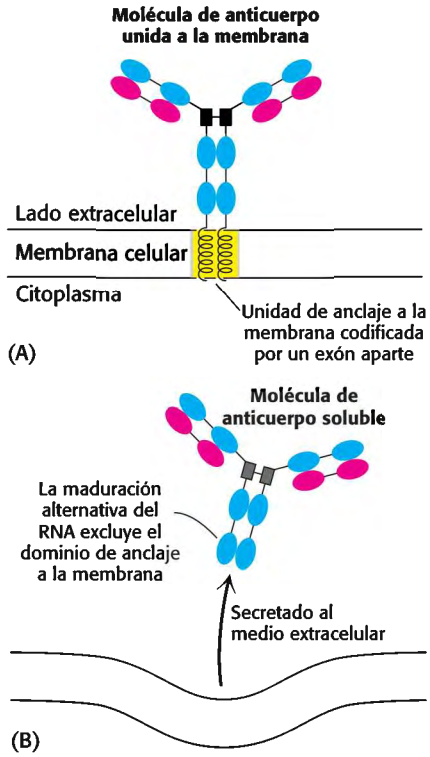


Figura 38.10 Maduración alternativa. La maduración alternativa genera diversos mRNA que sirven de molde para distintas formas de una proteína: (A) un anticuerpo sobre la superficie de un linfocito, unido a la membrana y (B) su homólogo soluble, exportado fuera de la célula. El anticuerpo unido a la membrana se encuentra anclado en la membrana plasmática gracias a una región formada por α-hélices (resaltada en color amarillo) que está codificada por su propio exón.

¿Qué es lo que controla la selección de los lugares de corte y empalme? La selección se determina mediante la unión de factores de maduración que actúan en *trans* a secuencias que actúan en *cis* del pre-mRNA. La mayor parte de los procesos de maduración alternativa dan lugar a cambios en la secuencia codificante que generan proteínas con funciones distintas. Para comprender mejor el poder de la maduración alternativa, consideremos un gen con cinco posiciones en las que se pueda producir maduración alternativa. Suponiendo que estas rutas de maduración alternativa se puedan regular de forma independiente, se pueden generar un total de $2^5 = 32$ mRNA distintos. *La maduración alternativa proporciona un poderoso mecanismo para ampliar la versatilidad de las secuencias genómicas mediante control combinatorio.* La Tabla 38.1 recoge algunas enfermedades humanas que pueden ser atribuidas a defectos en la maduración alternativa. ■

Tabla 38.1 Algunas enfermedades humanas atribuidas a una maduración alternativa defectuosa

Trastorno	Gen o producto del gen
Porfiria intermitente aguda	Desaminasa del porfobilinógeno
Cáncer de mama y de ovarios	*BRCA*1
Fibrosis quística	CFTR
Demencia frontotemporal	Proteína τ
Hemofilia A	Factor VIII
Deficiencia de HGRPT (síndrome de Lesch-Nyhan)	Hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa
Encefalomielopatía necrotizante de Leigh	Piruvato deshidrogenasa E1α
Inmunodeficiencia combinada grave	Adenosina desaminasa
Atrofia muscular espinal	*SMN*1 o *SMN*2

La transcripción y la maduración del mRNA están acopladas

Aunque en este libro la transcripción y la maduración del mRNA se han descrito como si fuesen dos procesos separados durante la expresión génica, las evidencias experimentales indican que ambos procesos están coordinados por medio del dominio carboxilo terminal de la RNA polimerasa II. Ya hemos visto que el CTD consta de una única secuencia de siete aminoácidos repetida: YSPTSPS. En cada una de las repeticiones, la segunda serina, la quinta serina, o ambas, pueden estar fosforiladas. El estado de fosforilación del CTD se controla por medio de diversas quinasas y fosfatasas, y determina la unión de CTD a muchas de las proteínas que intervienen en la transcripción y maduración del RNA. El CTD

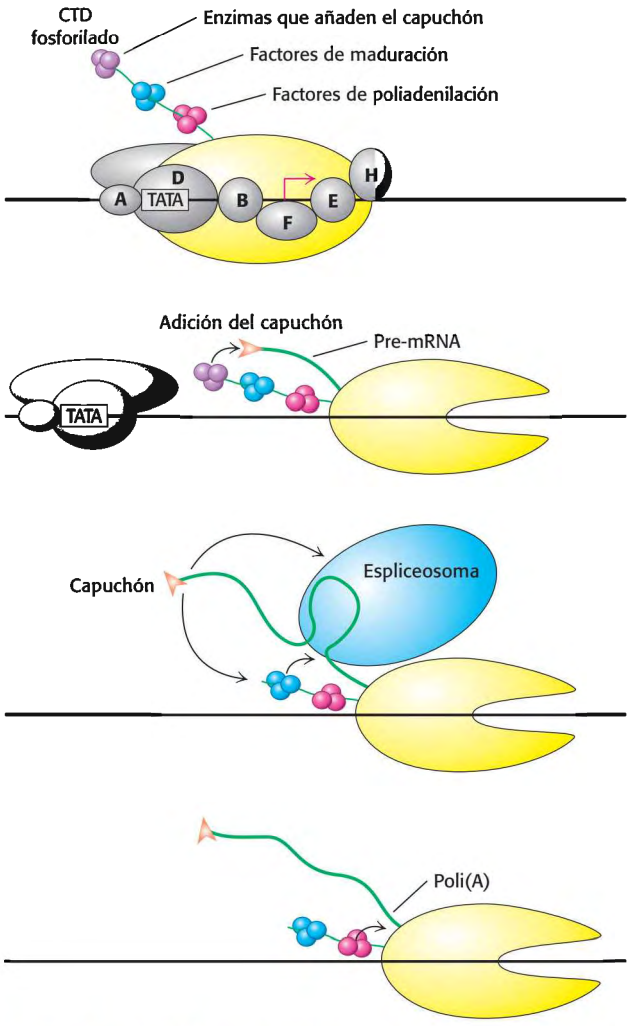


Figura 38.11 El CTD: acoplamiento entre la transcripción y la maduración del pre-mRNA. El factor de transcripción TFIIH fosforila el dominio carboxilo terminal (CTD) de la RNA polimerasa II, dando la señal para que la transcripción pase de la fase de iniciación a la fase de elongación. Los CTD fosforilados se unen a los factores necesarios para la adición del capuchón, para los procesos de corte y empalme y para la poliadenilación que experimenta el pre-mRNA. Estas proteínas son atraídas hacia las cercanías de sus lugares de acción sobre el pre-mRNA naciente a medida que este se va transcribiendo durante la fase de elongación. [Tomada de P. A. Sharp. *Trends Biochem. Sci.* 30: 279–281, 2005.]

contribuye a que la transcripción sea eficiente incorporando estas proteínas al pre-mRNA (Figura 38.11), entre las que se incluyen:

1. Enzimas que añaden el capuchón, las cuales metilan el nucleótido guanina del extremo 5′ del pre-mRNA nada más comenzar la transcripción.
2. Componentes de la maquinaria de maduración, que inician la escisión de cada intrón a medida que se va sintetizando.
3. Una endonucleasa que rompe el transcrito en el lugar donde hay que añadir la poli(A), creando un grupo OH libre en el extremo 3′ que resulta ser la diana para la adenilación en 3′.

Estos eventos tienen lugar de forma secuencial, dirigidos por el estado de fosforilación del CTD.

Las correcciones en el RNA cambian las proteínas codificadas por el mRNA

La maduración alternativa no es la única forma de generar proteínas diversas a partir de un mismo gen. Por extraordinario que parezca, la secuencia de aminoácidos codificada por algunos mRNA se modifica después de la transcripción. El término *corrección del RNA* es el que se aplica a cualquier cambio que se produzca en la secuencia de un RNA después de la transcripción mediante procesos distintos a la maduración del RNA. La corrección del RNA es especialmente importante en la síntesis de las apolipoproteínas (ver la Tabla 29.1). La *apolipoproteína B* (apo B) juega un papel importante en el transporte de triacilgliceroles y colesterol, ya que forma parte de las partículas de lipoproteína. La apo B puede estar de dos formas, una *apo B-100* de 512 kDa y una *apo B-48* de 240 kDa. La forma mayor, sintetizada en el hígado, interviene en el transporte de los lípidos sintetizados en la célula. La forma más pequeña, sintetizada en el intestino delgado, transporta las grasas de la dieta en forma de quilomicrones. La apo B-48 contiene los 2.152 residuos del extremo amino de la proteína apo B-100, que contiene 4.536 residuos. ¿Qué relación existe entre estas dos formas de apo B? Los experimentos han desvelado que estamos ante un mecanismo que genera diversidad totalmente inesperado: *el cambio de la secuencia de nucleótidos del mRNA después de su síntesis* (Figura 38.12). Un residuo de citidina específico del mRNA se desamina a uridina, lo que cambia el

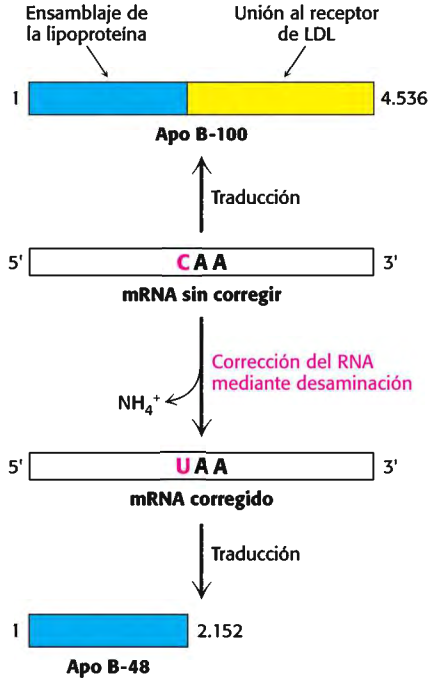


Figura 38.12 Corrección del RNA. La desaminación, catalizada por una enzima, de un residuo de citidina específico del mRNA que codifica la apolipoproteína B-100 cambia un codón para la glutamina (CAA) por un codón stop (UAA). Mediante este cambio postranscripcional en la secuencia del mRNA, se genera la apolipoproteína B-48, una versión truncada de la proteína que carece del dominio de unión al receptor de LDL. [Tomada de P. Hodges y J. Scott. *Trends Biochem. Sci.* 17: 77, 1992.]

codón del residuo 2.153 de CAA (Gln) a UAA (stop). La desaminasa que cataliza esta reacción está presente en el intestino delgado, pero no en el hígado y solo se expresa en determinadas etapas del desarrollo.

Probablemente, la corrección del RNA es mucho más frecuente de lo que se creía. La reactividad química de las bases de los nucleótidos, incluyendo su susceptibilidad a la desaminación, que necesita complejos mecanismos de reparación del DNA, ha sido aprovechada para generar un motor que genera diversidad molecular en el RNA y, por tanto, a nivel de las proteínas.

38.4 El RNA puede funcionar como un catalizador

Los RNA constituyen una clase de moléculas sorprendentemente versátil. Tal y como hemos visto, la maduración está catalizada principalmente por moléculas de RNA, y las proteínas desempeñan un papel secundario. El RNA es un componente clave de otra enzima, la ribonucleasa P, que escinde nucleótidos a partir del extremo 5′ de las moléculas precursoras de los tRNA. Por último, como veremos en el Capítulo 40, el RNA que forma parte de los ribosomas es el catalizador que lleva a cabo la síntesis de proteínas. El descubrimiento del *RNA catalítico* ha revolucionado el concepto de catálisis biológica.

La primera vez que se vio con claridad la versatilidad del RNA fue a partir de estudios sobre la maduración del RNA ribosómico en un eucariota unicelular, *Tetrahymena* —un protozoo ciliado (Figura 38.13). En esta reacción, se elimina un intrón de 414 nucleótidos de un precursor para producir la molécula madura de rRNA (Figura 38.14). En una elegante serie de estudios sobre esta reacción de maduración, Thomas Cech y sus colaboradores establecieron que el RNA se cortaba y empalmaba a sí mismo para escindir de forma precisa el intrón, en ausencia de proteínas. De hecho, el RNA por sí solo posee actividad catalítica en determinadas circunstancias y, por tanto, puede actuar como una enzima. Los RNA catalíticos se denominan *ribozimas*. Antes se creía que las biomoléculas catalíticas eran exclusivamente proteínas, pero hoy en día, incluyen a ciertas moléculas de RNA. Desde entonces se han descubierto más de 1.500 intrones parecidos en especies muy dispersas, desde bacterias hasta eucariotas, aunque no en vertebrados. En conjunto, reciben el nombre de *intrones del grupo I*.

La reacción de *automaduración* de los intrones del grupo I requiere la adición de un nucleótido de guanosina o de guanina. La guanosina no actúa como fuente de energía sino como un grupo atacante que se incorpora de forma transitoria al RNA (ver la Figura 38.14). La guanosina se asocia al RNA y, posteriormente, ataca al lugar de corte y empalme del extremo 5′ para formar un enlace fosfodiéster con el extremo 5′ del intrón, generando un grupo OH en el extremo 3′ del exón situado corriente arriba. A continuación, este grupo OH recién creado en el extremo 3′ ataca al lugar de corte y empalme del extremo 3′, uniendo los dos exones y liberando el intrón. La automaduración depende de la integridad estructural del RNA precursor. Esta molécula, al igual que muchos RNA, posee una estructura plegada formada por multitud de tallos y bucles que adoptan una estructura de doble hélice (Figura 38.15), con una cavidad bien definida a la que se une la guanosina.

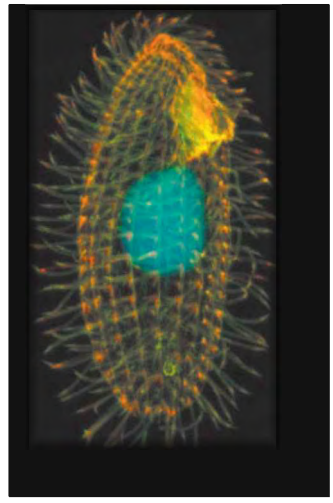


Figura 38.13 *Tetrahymena*. [Tomada de R. Robinson, *PLoS Biol.* 4(9): e304, 2006.]

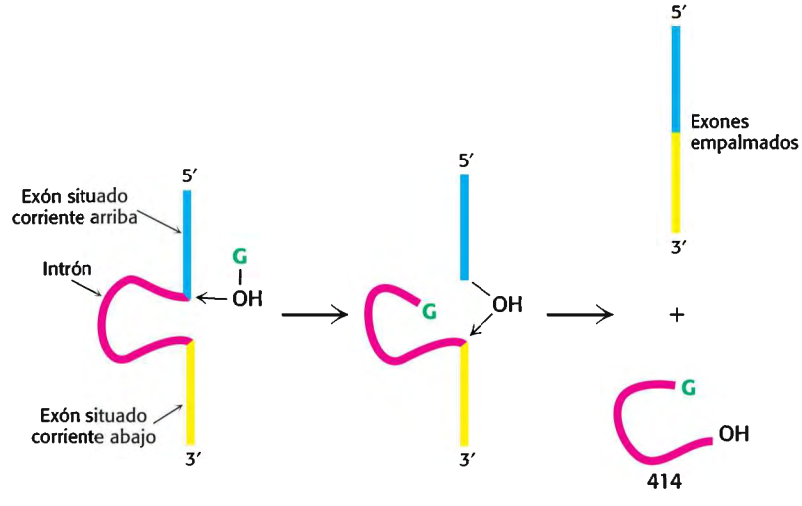


Figura 38.14 Automaduración. Un precursor del RNA ribosómico de *Tetrahymena* se corta y empalma a sí mismo en presencia de un cofactor guanosina (G, mostrada en verde). En la primera reacción de corte y empalme se libera un intrón (en rojo). A continuación, este intrón vuelve a experimentar otras dos reacciones de corte y empalme para producir un RNA lineal. [Tomada de T. Cech, RNA as *an enzyme*. Copyright © 1986 por Scientific American, Inc. Todos los derechos reservados.]

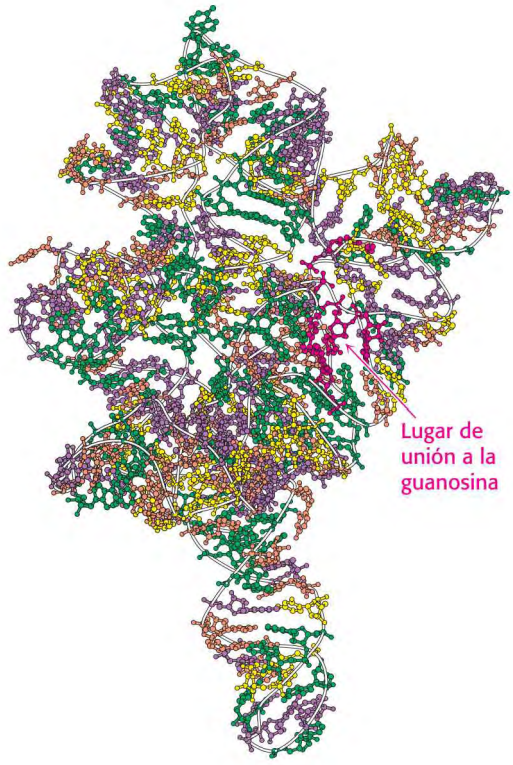


Figura 38.15 Estructura de un intrón capaz de automadurar. La estructura de un fragmento de gran tamaño del intrón capaz de automadurar procedente de *Tetrahymena* pone de manifiesto un complicado patrón de plegamiento formado por hélices y bucles. Las bases aparecen representadas del siguiente modo: A en verde, C en amarillo, G en púrpura y U en naranja.

En las mitocondrias de levaduras y hongos, los precursores del RNA mensajero también experimentan automaduración, al igual que algunos RNA precursores presentes en los cloroplastos de organismos unicelulares como *Chlamydomonas*. Las reacciones de automaduración se pueden clasificar en función de la naturaleza de la unidad que ataca al lugar de corte y empalme situado corriente arriba. En la automaduración del grupo I interviene un cofactor guanosina, como en el caso de *Tetrahymena*. En la automaduración del grupo II, la unidad atacante es el grupo OH en posición 2′ de un adenilato específico del intrón.

Resumen

38.1 El RNA ribosómico maduro se genera mediante la escisión de una molécula precursora

La RNA polimerasa I transcribe los genes de tres de los cuatro tipos de moléculas de rRNA. El rRNA de 18S, el rRNA de 28S y el rRNA de 5,8S se forman mediante el procesamiento de un transcrito inicial de 45S. Además, tanto las unidades de ribosa como las bases que forman parte de los rRNA sufren modificaciones. La síntesis y el procesamiento tienen lugar en el nucleolo. El otro rRNA, el de 5S, es sintetizado por la RNA polimerasa II.

38.2 El RNA de transferencia se procesa de forma intensiva

Los tRNA eucarióticos son los productos de la RNA polimerasa III. Se escinden los extremos 5′ y 3′ y se añade CCA al extremo 3′. Los intrones, presentes en algunas moléculas de pre-tRNA, se eliminan por medio de una endonucleasa y de una ligasa. Además, se modifican algunas bases y algunas ribosas.

38.3 El RNA mensajero se modifica y experimenta una serie de cortes y empalmes

En el transcurso de la transcripción, los extremos 5′ de los precursores del mRNA forman un capuchón y se metilan. A la mayoría de los precursores del mRNA se les añade una cola de poli(A) en el extremo 3′ después de escindir la cadena recién transcrita por medio de una endonucleasa.

La maduración de los precursores del mRNA se lleva a cabo en los espliceosomas, que están formados por partículas de ribonucleoproteína pequeñas nucleares. En los precursores del mRNA, los lugares de corte y empalme están especificados por medio de secuencias situadas en los extremos de los intrones y de lugares de ramificación próximos a los extremos 3′. El grupo OH en posición 2′ de un residuo de adenosina del lugar de ramificación ataca al lugar de corte y empalme del extremo 5′ dando lugar a un intermediario con forma de lazo.

Después, el grupo OH recién formado en el extremo 3′ del exón situado corriente arriba ataca al lugar de corte y empalme del extremo 3′ para acabar uniéndose al exón situado corriente abajo. Por tanto, la maduración consiste en dos reacciones de transesterificación, durante las cuales, el número de enlaces fosfodiéster permanece constante. Los RNA pequeños nucleares del espliceosoma catalizan los cortes y empalmes que se producen en los precursores del mRNA. Concretamente, los snRNA U2 y U6 forman los centros activos de los espliceosomas.

Los acontecimientos que tienen lugar durante el procesamiento postranscripcional del mRNA están controlados por el estado de fosforilación del dominio carboxilo terminal que forma parte de la RNA polimerasa II. La corrección del RNA, que cambia la secuencia de nucleótidos del mRNA, es otro mecanismo que modifica el mRNA.

38.4 El RNA puede funcionar como un catalizador

Algunas moléculas de RNA, como las que contienen el intrón del grupo I, experimentan una automaduración en ausencia de proteínas. Una versión automodificada de este intrón del rRNA muestra una verdadera actividad catalítica y se trata, por tanto, de una ribozima.

Términos clave

exón (p. 662)
intrón (p. 662)
ribonucleoproteína pequeña nucleolar (snoRNP) (p. 662)
pre-mRNA (p. 663)
capuchón 5′ (p. 663)
cola de poli(A) (p. 663)
maduración (p. 664)
espliceosoma (p. 665)
RNA pequeño nuclear (snRNA) (p. 665)
partículas de ribonucleoproteínas pequeñas nucleares (snRNP) (p. 665)
transesterificación (p. 666)
maduración alternativa (p. 667)
corrección del RNA (p. 668)
RNA catalítico (p. 669)
automaduración (p. 669)

? Respuesta a la PREGUNTA RÁPIDA

La snRNP U1 se une al lugar de corte y empalme del extremo 5′, iniciando la formación del espliceosoma. A continuación, la snRNP U2 se une al lugar de ramificación. Luego, se une la tri-snRNP U4-U5-U6, completando así la formación del espliceosoma. U5 interacciona con el lugar de corte y empalme del extremo 5′ y con el exón situado en 3′. U6 se disocia de U4 y se asocia a U2. Estas reorganizaciones dan lugar a la escisión del exón en 5′ y a la formación de un intermediario con forma de lazo. U5 facilita el alineamiento del exón 5′ para que ataque el lugar de corte y empalme del extremo 3′, dando lugar al producto final.

Problemas

1. *Jordan y Pippen.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 4

(a) Exón _____
(b) Intrón _____
(c) Pre-mRNA _____
(d) Capuchón 5′ _____
(e) Cola de poli(A) _____
(f) Maduración _____
(g) Espliceosoma _____
(h) snRNA _____
(i) snRNP _____
(j) Maduración alternativa _____

1. Es eliminado del transcrito inicial
2. Posee un enlace 5′–5′ característico
3. Complejo que coordina dos reacciones de transesterificación
4. Permite a un gen codificar varios mRNA
5. Extrae los intrones y empalma los exones
6. Partículas de proteína-RNA importantes para la maduración
7. Producto inicial de la RNA polimerasa II
8. Adición postranscripcional en el extremo 3′
9. Codifica parte del mRNA final
10. Componente catalítico de la maquinaria de maduración

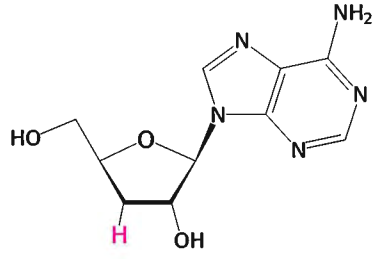
2. *Bonito sombrero.* Describa el capuchón 5′.

3. *Historias del final.* ¿Cuáles son los pasos necesarios para la formación de una cola de poli(A) en una molécula de mRNA?

4. *Madurando.* ¿Cuáles son las tres modificaciones más frecuentes que permiten convertir los transcritos primarios en un mRNA maduro?

5. *Dispositivo de acoplamiento.* ¿Cuál es el componente estructural de la RNA polimerasa II del que carecen las RNA polimerasas I y III y que permite la modificación del RNA recién sintetizado?

6. *Inhibición de la polimerasa.* La cordicepina inhibe la síntesis de poli(A) a bajas concentraciones y la síntesis de RNA a concentraciones más elevadas.



Cordicepina (3′-desoxiadenosina)

(a) ¿En qué se basa la inhibición por cordicepina?
(b) ¿Por qué la síntesis de poli(A) es más sensible a la presencia de cordicepina?
(c) ¿Hay que modificar la cordicepina para que ejerza sus efectos?

7. *Trabajo en equipo.* ¿Qué es un espliceosoma? ¿Cuál es su composición?

8. *Reclutando el equipo correcto.* ¿Cuál es el papel del dominio carboxilo terminal de la RNA polimerasa II a la hora de acoplar la síntesis de RNA y la maduración?

9. *De unos pocos, mucho.* Explique por qué la maduración alternativa incrementa de manera eficaz el tamaño del genoma.

10. *Maduración alternativa.* Un gen contiene ocho lugares donde puede haber maduración alternativa. Suponiendo que el patrón de maduración de cada lugar es independiente del de los demás, ¿cuántos productos de maduración se pueden formar? ✓ 4

11. *Era una buena idea.* George Beadle y Edward Tatum fueron galardonados con el Premio Nobel por sus investigaciones sobre la relación entre genes y enzimas. En un artículo publicado en 1941, propusieron la hipótesis de "un gen, una enzima", según la cual, cada gen codifica una única enzima o, en términos más generales, una única proteína. Aunque esta hipótesis fue muy aceptada, hoy en día sabemos que es una simplificación excesiva. Explique por qué.

12. *Buscando parecidos.* Compare la automaduración con la maduración catalizada por el espliceosoma.

Problemas de integración de capítulos

13. *Complejidad del proteoma.* ¿Cuáles de los procesos estudiados en este capítulo hacen que el proteoma sea más complejo que el genoma? ¿Qué procesos podrían aumentar todavía más esta complejidad? ✓ 4

14. *Técnica de separación.* Sugiera un método mediante el que se pueda separar el mRNA de otros tipos de RNA en una célula eucariótica.

15. *Es una cuestión del ciclo celular.* Los genes de histonas se diferencian de la mayoría de los genes eucarióticos en varios aspectos. Los genes se disponen en grupos repetidos en serie en las que cada repetición contiene un gen para cada una de las cinco histonas. Además, los genes de las histonas carecen de intrones. Por último, los RNA mensajeros codificados por los genes de las histonas carecen de las colas de poli(A) que se añaden después de la transcripción. Proponga una explicación para estas características excepcionales que esté relacionada con la función de las histonas.

Problemas para atrevidos

16. *Un fragmento extra.* En un tipo de mutación que provoca una forma de talasemia, la mutación de una única base (G → A) genera un nuevo lugar de corte y empalme del extremo 3′ (sombreado en color azul en la figura adjunta), idéntico al lugar normal (sombreado en color amarillo), pero situado corriente arriba.



¿Cuál es la secuencia de aminoácidos del fragmento extra de la proteína que se sintetiza en un paciente con talasemia que sea portador de una mutación que dé lugar a una maduración aberrante? Después del lugar de corte y empalme, la pauta de lectura comienza con TCT.

17. *Un mensajero de larga cola.* Otro paciente con talasemia tenía una mutación que daba lugar a la producción de un mRNA para la cadena β de la hemoglobina con 900 nucleótidos más de lo normal. La cola de poli(A) de este mRNA mutante estaba localizada unos pocos nucleótidos después de la única secuencia AAUAAA de la secuencia adicional. Proponga una mutación que dé lugar a la producción de este mRNA modificado.

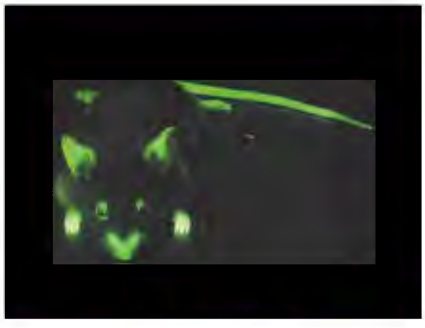
En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.



Capítulo 39: El código genético



Capítulo 40: El mecanismo de la síntesis de proteínas



Capítulo 41: Tecnología del DNA recombinante

SECCIÓN 16

Síntesis de proteínas y tecnología del DNA recombinante

En las secciones 14 y 15 vimos cómo se replica y se transcribe la información genética. Completaremos nuestro estudio del dogma central investigando la última etapa: la *síntesis de proteínas*, o *traducción*. La síntesis de proteínas se denomina traducción porque es el proceso bioquímico que traduce la información contenida en los ácidos nucleicos en la información contenida en una secuencia de aminoácidos. La piedra Rosetta del proceso de traducción es el código genético, un código que establece una correspondencia entre una secuencia de tres bases de nucleótidos, denominada codón, y un aminoácido determinado. La traducción es un paso decisivo del dogma central, ya que las proteínas desempeñan prácticamente todas las funciones bioquímicas, incluyendo la síntesis del DNA y del RNA.

Como corresponde a su papel de enlace entre el lenguaje de los ácidos nucleicos y el lenguaje de las proteínas, el proceso de síntesis de proteínas depende por completo tanto de los ácidos nucleicos como de factores proteicos. La síntesis de proteínas tiene lugar en los *ribosomas* —enormes complejos que están formados por tres moléculas grandes de RNA y más de 50 proteínas. Curiosamente, *el ribosoma es una ribozima*; es decir, los RNA que componen el ribosoma son los que desempeñan las funciones más importantes.

Las moléculas de RNA de transferencia, el RNA mensajero y muchas proteínas intervienen, junto a los ribosomas, en la síntesis de proteínas. La primera conexión entre los aminoácidos y los ácidos nucleicos la llevan a cabo unas enzimas denominadas aminoacil-tRNA sintetasas. Al enlazar de manera específica un aminoácido concreto a cada tRNA, estas enzimas son los verdaderos traductores del código genético.

Comenzaremos nuestro estudio de la traducción investigando, en primer lugar, el código que enlaza el alfabeto de los ácidos nucleicos con el alfabeto de los aminoácidos. A continuación, estudiaremos algunos de los principales protagonistas del proceso de traducción. Completaremos nuestro estudio de la traducción aprendiendo cómo cooperan todos los componentes para orquestar la síntesis de proteínas de forma precisa y controlada.

En el último capítulo de esta sección, y del propio libro, completaremos nuestro estudio de las técnicas bioquímicas, una tarea que ya comenzamos en el Capítulo 5, analizando la tecnología del DNA recombinante. A pesar de que en este libro solo dedicamos dos capítulos a las herramientas de la bioquímica, todo lo que hemos aprendido, y todo lo que los futuros estudiantes de bioquímica van a aprender, se ha conseguido gracias al uso creativo de técnicas como las estudiadas en el Capítulo 5 y las que se van a estudiar en el Capítulo 41.

✓ Al final de esta sección, usted debería ser capaz de:

- ✓ 1 Describir el código genético.
- ✓ 2 Identificar el paso de la síntesis de proteínas en el que se lleva a cabo la traducción.
- ✓ 3 Enumerar los componentes clave de la maquinaria de la síntesis de proteínas.
- ✓ 4 Describir las funciones del RNA y de las proteínas en la síntesis de proteínas.
- ✓ 5 Explicar el papel del ribosoma en la síntesis de proteínas.
- ✓ 6 Comparar y contrastar la síntesis de proteínas bacteriana y eucariótica.
- ✓ 7 Explicar cómo se regula la síntesis de proteínas.
- ✓ 8 Enumerar las herramientas clave de la tecnología del DNA recombinante y explicar cómo se utilizan para clonar el DNA.

CAPÍTULO 39

El código genético

39.1 El código genético conecta la información de los ácidos nucleicos con la de las proteínas

39.2 Los aminoácidos se activan uniéndose al RNA de transferencia

39.3 Un ribosoma es una partícula de ribonucleoproteína que consta de dos subunidades



La piedra Rosetta tiene grabado un decreto promulgado durante la dinastía ptolemaica, que gobernó Egipto entre los años 305 a. C. y 30 a. C. El texto contiene tres traducciones del mismo pasaje —una en griego y dos en egipcio (jeroglíficos y escritura demótica)— y permitió a los investigadores descifrar los jeroglíficos. El código genético, descifrado por los bioquímicos, permite traducir la información de los ácidos nucleicos en la secuencia de una proteína. [The Bridgeman Art Library.]

Mucha gente se pasa horas haciendo pesas con el fin de esculpir sus cuerpos. El entrenamiento intensivo con pesas puede duplicar o triplicar el tamaño de un músculo. Estas personas están alterando su comportamiento para cambiar la bioquímica de sus músculos; están estimulando la síntesis de proteínas musculares.

La síntesis de proteínas se denomina *traducción* porque el alfabeto de cuatro letras de los ácidos nucleicos se traduce en el alfabeto completamente distinto, de 20 letras, de las proteínas. Comenzaremos nuestro estudio de la síntesis de proteínas analizando el código que conecta estos dos alfabetos y la maquinaria que se necesita para interpretar el código.

✓ 1 Describir el código genético.

39.1 El código genético conecta la información de los ácidos nucleicos con la de las proteínas

Para poder traducir cualquier cosa, tiene que haber un diccionario —una piedra Rosetta— que relacione los dos lenguajes. El *código genético* es la conexión que relaciona la secuencia de bases del DNA (o de sus transcritos de RNA) con la secuencia de aminoácidos de las proteínas. ¿Cuáles son las características de este código?

1. *Tres nucleótidos codifican un aminoácido.* Las proteínas se construyen a partir de un conjunto básico de 20 aminoácidos, pero en los ácidos nucleicos solo hay cuatro bases. Un simple cálculo demuestra que se necesita un mínimo de tres bases para codificar, por lo menos, 20 aminoácidos. Experimentos genéticos han demostrado que, de hecho, *un aminoácido está codificado por un grupo de tres bases, denominado codón.*

2. *El código no se solapa.* Consideremos una secuencia de bases ABCDEF. En un código que se solape, ABC especificaría el primer aminoácido, BCD el segundo, CDE el tercero, y así sucesivamente. En un código que no se solapa, ABC designa el primer aminoácido, DEF el segundo, y así sucesivamente. De nuevo, experimentos genéticos han demostrado que el código que no se solapa.

3. *El código carece de signos de puntuación.* En principio, una base (a la que designamos Q) podría funcionar como una "coma" entre codones.

   . . . QABCQDEFQGHIQJKLQ . . .

   Sin embargo, no es este el caso, ya que *la secuencia de bases se lee de forma secuencial desde un punto de partida fijo y sin signos de puntuación.*

4. *El código genético tiene direccionalidad.* El código se lee desde el extremo 5′ del RNA mensajero hacia su extremo 3′.

5. *El código genético está degenerado.* En el contexto del código genético, degeneración significa que algunos aminoácidos están codificados por más de un codón, puesto que hay 64 posibles tripletes de bases y solo 20 aminoácidos. De hecho, 61 de los 64 posibles tripletes especifican aminoácidos concretos y tres tripletes (los denominados codones stop) designan la terminación de la traducción. Por tanto, *para la mayoría de los aminoácidos hay más de un codón.* Los codones que especifican el mismo aminoácido son *sinónimos.* Por ejemplo, CAU y CAC son sinónimos para la histidina.

Se han descifrado los 64 codones (Tabla 39.1). Tan solo el triptófano y la metionina están codificados por un solo triplete. Los otros 18 aminoácidos están codificados por dos o más. De hecho, leucina, arginina y lisina están codificados por seis codones cada uno.

¿Cuál es el significado biológico de la intensa degeneración del código genético? Si el código no estuviese degenerado, 20 codones designarían a los aminoácidos y 44 codones darían lugar a la terminación de la cadena. Por lo tanto, la probabilidad de que una mutación diese lugar a la terminación de la cadena sería mucho mayor en el caso de un código no degenerado. Normalmente, las mutaciones que dan lugar a la terminación de la cadena generan proteínas inactivas. La degeneración permite que haya mutaciones que no cambian el aminoácido codificado, como cuando un codón muta a un sinónimo, o que las mutaciones generen el codón para otro aminoácido. Este último tipo de mutaciones se denominan sustituciones, muchas de las cuales son inofensivas. Por tanto, *la degeneración minimiza los efectos perjudiciales de las mutaciones.*

El código genético es, prácticamente, universal

La mayoría de los organismos utilizan el mismo código genético. Esta universalidad explica el hecho de que una proteína humana, como la insulina, se pueda sintetizar en la bacteria *E. coli* y ser utilizada posteriormente para el tratamiento de la diabetes. Sin embargo, los estudios de secuenciación de genomas han demostrado que no todos los genomas se traducen mediante el mismo código. Por ejemplo, los protozoos

Tabla 39.1 El código genético

Primera posición (Extremo 5′)	Segunda posición				Tercera posición (Extremo 3′)
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Stop	Stop	A
	Leu	Ser	Stop	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

Nota: esta tabla identifica el aminoácido codificado por cada triplete. Por ejemplo, el codón 5′-AUG-3′ del mRNA especifica la metionina, mientras que CAU especifica la histidina. Los codones UAA, UAG y UGA son señales de terminación. Además de codificar los residuos internos de metionina, AUG forma parte de la señal de iniciación.

ciliados se diferencian de los demás organismos porque, en ellos, los codones UAA y UGA no son señales de terminación sino que codifican aminoácidos; la única señal de terminación que tienen es UGA. Las primeras variantes del código genético se descubrieron en las mitocondrias de una serie de especies, seres humanos incluidos (Tabla 39.2). El código genético de las mitocondrias puede ser distinto del código del resto de la célula, ya que el DNA mitocondrial codifica un conjunto distinto de moléculas de RNA de transferencia, moléculas adaptadoras que reconocen los codones alternativos. Por tanto, el código genético no es del todo universal, pero casi.

Tabla 39.2 Codones característicos de las mitocondrias humanas

Codón	Código estándar	Código mitocondrial
UGA	Stop	Trp
UGG	Trp	Trp
AUA	Ile	Met
AUG	Met	Met
AGA	Arg	Stop
AGG	Arg	Stop

Las moléculas de RNA de transferencia tienen un diseño común

La fidelidad de la síntesis de proteínas requiere el reconocimiento exacto de los codones de tres bases en el RNA mensajero. Un aminoácido, por sí solo, no presenta la suficiente complejidad estructural como para reconocer un codón. En consecuencia, se necesita algún tipo de adaptador. *El RNA de transferencia (tRNA) actúa como molécula adaptadora entre el codón y el aminoácido que especifica.* El tRNA funciona como adaptador uniéndose a un codón específico y llevando consigo un aminoácido para que sea incorporado a la cadena polipeptídica.

Hay por lo menos una molécula de tRNA para cada aminoácido. Estas moléculas tienen muchas características estructurales en común, como cabría esperar, ya que todas las moléculas de tRNA tienen que ser capaces de interaccionar casi de igual forma con los ribosomas, con los mRNA y con los factores proteicos que intervienen en la traducción.

Todas las moléculas de RNA de transferencia conocidas presentan las siguientes características:

1. Cada una de ellas es una única hebra que contiene entre 73 y 93 ribonucleótidos (~25 kDa).
2. La estructura tridimensional de la molécula tiene forma de L (Figura 39.1).
3. Contienen muchas bases atípicas, normalmente entre 7 y 15 por cada tRNA. Algunas son derivados metilados o dimetilados de A, U, C o G. La metilación evita

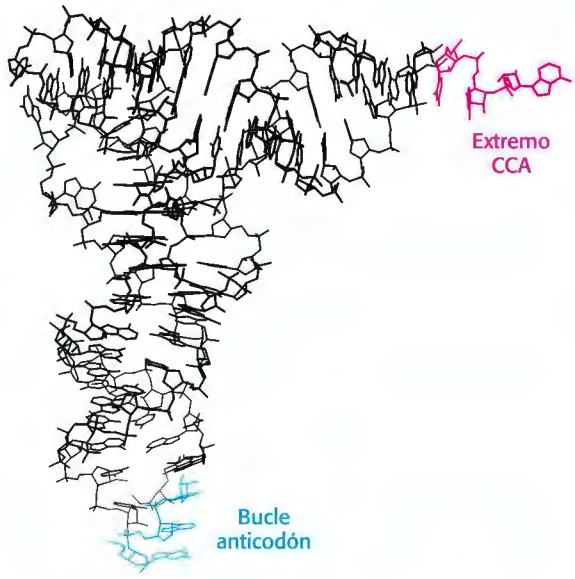
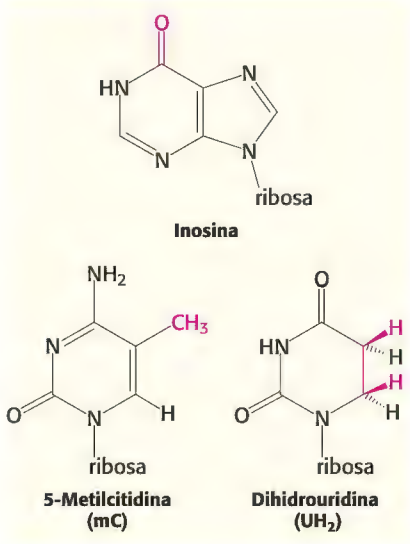


Figura 39.1 Estructura del RNA de transferencia. *Observe* la estructura en forma de L de este modelo esquemático del fenilalanil-tRNA de levadura. La región CCA se encuentra al final de uno de los brazos y el bucle anticodón está situado al final del otro. [Elaborada a partir de 1EHZ.pdb.]



la formación de determinados pares de bases, permitiendo así que algunas de las bases estén accesibles y puedan establecer interacciones con otros componentes de la maquinaria de traducción. Además, la metilación confiere cierto carácter hidrofóbico a algunas regiones de los tRNA, lo que puede ser importante a la hora de interaccionar con las proteínas necesarias para la síntesis de proteínas. Bases modificadas, como la inosina, también forman parte del tRNA. En el tRNA, las inosinas se forman mediante la desaminación de la adenosina, que se produce después de haberse sintetizado el transcrito primario.

4. Cuando se dibujan en dos dimensiones, todas las moléculas de tRNA se pueden representar mediante un patrón en forma de hoja de trébol, en el que aproximadamente la mitad de los nucleótidos del tRNA están formando dobles hélices con bases emparejadas (**Figura 39.2**). Hay cinco grupos de bases que no están formando pares de bases: en el extremo 3′, *la región CCA terminal*, que

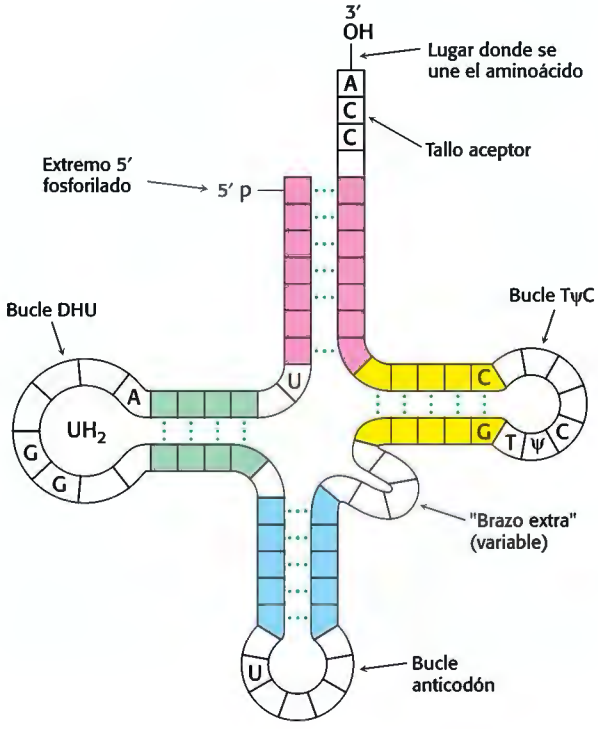


Figura 39.2 Estructura general de las moléculas de RNA de transferencia. Se representa la estructura de la molécula de tRNA según el modelo de hoja de trébol. Al comparar las secuencias de bases de muchos tRNA se pone de manifiesto una serie de características conservadas.

forma parte de una zona denominada *tallo aceptor*; el *bucle TψC*, que debe su nombre a la secuencia ribotimina-pseudouracilo-citosina; el "*brazo extra*", que contiene un número variable de residuos; el *bucle DHU*, que contiene varios residuos de dihidrouracilo, y el *bucle anticodón*. La diversidad estructural generada por esta combinación de hélices y bucles que contienen bases modificadas garantiza que cada tRNA se pueda distinguir de manera inequívoca de los demás, a pesar de que su estructura global sea similar

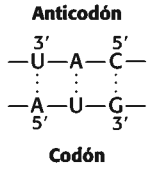
5. El extremo 5′ de un tRNA está fosforilado. Normalmente, el residuo del extremo 5′ es pG.

6. El aminoácido activado se une a un grupo hidroxilo del residuo de adenosina situado al final de la secuencia CCA del extremo 3′, que forma parte del tallo aceptor. Esta región es una única hebra flexible situada en el extremo 3′ de los tRNA maduros.

7. El *anticodón* está ubicado en un bucle próximo al centro de la secuencia.

Algunas moléculas de RNA de transferencia reconocen más de un codón debido al balanceo de las bases emparejadas

¿Qué reglas dirigen el reconocimiento de un codón por parte del anticodón de un tRNA? Una sencilla hipótesis afirma que cada una de las bases del codón forma un par de bases de tipo Watson-Crick con una base complementaria del anticodón. Entonces, el codón y el anticodón se encontrarían alineados de forma antiparalela. Recordemos que, por convención, las secuencias de nucleótidos se escriben en el sentido 5′ → 3′, a menos que se especifique lo contrario. Por tanto, el anticodón de AUG se escribe CAU, pero el emparejamiento real con el codón sería



Según este modelo, cada anticodón particular solo puede reconocer un codón.

Sin embargo, las cosas no son tan sencillas. *Algunas moléculas de tRNA pueden reconocer más de un codón*. Por ejemplo, consideremos el alanil-tRNA de levadura, con el anticodón IGC, donde I representa al nucleósido inosina. Este anticodón se une a *tres* codones: GCU, GCC y GCA. Las primeras dos bases de estos codones son las mismas, mientras que la tercera es diferente. ¿Podría ser que, a veces, el reconocimiento de la tercera base de un codón fuese menos exigente que el reconocimiento de las otras dos? El patrón de degeneración del código genético indica que ese podría ser el caso. Miremos de nuevo la Tabla 39.1. En términos generales, XYU y XYC siempre codifican el mismo aminoácido; XYA y XYG casi siempre. Esta mayor libertad de apareamiento de la tercera posición se denomina *balanceo*. Asumiendo cierta libertad estérica (balanceo) en el emparejamiento de la tercera base del codón, los anticodones del tRNA se pueden unir a los codones del mRNA de la forma reflejada en la Tabla 39.3.

Tabla 39.3 Emparejamientos permitidos en la tercera base del codón, según la hipótesis del balanceo

Primera base del anticodón	Tercera base del codón
C	G
A	U
U	A o G
G	U o C
I	U, C o A

Se pueden establecer dos generalizaciones relacionadas con la interacción codón-anticodón:

1. Las primeras dos bases de un codón se emparejan de forma estándar. El reconocimiento es exacto. Por tanto, *los codones que se diferencian en cualquiera de las dos primeras bases tienen que ser reconocidos por distintos tRNA*. Por ejemplo, tanto UUA como CUA codifican la leucina, pero son leídos por distintos tRNA.

2. La primera base de un anticodón determina si una molécula de tRNA concreta es capaz de leer uno, dos o tres tipos de codones: C o A (un codón), U o G (dos codones) o I (tres codones). Por tanto, *parte de la degeneración del código genético surge*

de la imprecisión (balanceo) en el emparejamiento de la tercera base del codón con la primera base del anticodón. Vemos aquí una razón de peso para la frecuente aparición de la inosina, uno de los nucleótidos atípicos, en los anticodones. *La inosina maximiza el número de codones que pueden ser leídos por una determinada molécula de tRNA*.

La síntesis de proteínas grandes requiere que la frecuencia de los errores sea baja

El proceso de la transcripción es análogo a copiar, palabra por palabra, una página de un libro. No hay cambios en el alfabeto ni en el vocabulario; por tanto, la probabilidad de que se altere el significado es pequeña. La traducción de la secuencia de bases de una molécula de mRNA en una secuencia de aminoácidos es similar a traducir la página de un libro a otro idioma. La traducción es un proceso complejo, que implica muchos pasos y docenas de moléculas. En cada paso existe la posibilidad de cometer un error. La complejidad de la traducción crea un conflicto entre dos requisitos: el proceso no solo tiene que ser preciso sino también lo suficientemente rápido como para satisfacer las necesidades de una célula. ¿Cómo de rápido es "lo suficientemente rápido"? En *E. coli*, la traducción se lleva a cabo a una velocidad de 40 aminoácidos por segundo, una velocidad verdaderamente impresionante teniendo en cuenta la complejidad del proceso.

¿Cómo de precisa tiene que ser la síntesis de proteínas? La longitud media de una proteína de *E. coli* es de 300 aminoácidos, y hay algunas docenas de proteínas con más de 1.000 aminoácidos. Consideremos posibles tasas de error a la hora de sintetizar proteínas de este tamaño. Tal y como muestra la Tabla 39.4, una frecuencia de error de 10^{-2} (un aminoácido incorrecto por cada 100 incorporados correctamente a una proteína) sería intolerable, incluso para proteínas pequeñas. Normalmente, una tasa de error de 10^{-3} daría lugar a la síntesis sin errores de proteínas de 300 residuos (~33 kDa) pero no de proteínas de 1.000 residuos (~110 kDa). Por tanto, para producir de manera eficiente las proteínas de mayor tamaño, la frecuencia de los errores no debe superar un valor aproximado de 10^{-4}. Se pueden concebir frecuencias de error más reducidas; sin embargo, salvo en el caso de las proteínas más grandes, no incrementarían de forma espectacular el porcentaje de proteínas que se sintetizan con la secuencia exacta. Además, es probable que estas bajas tasas de error solo se puedan conseguir a costa de una disminución de la velocidad de la síntesis de proteínas, ya que se necesitaría más tiempo para corregir los errores. *De hecho, las tasas de error observadas se acercan a 10^{24}*. En el transcurso de la evolución, se ha seleccionado una frecuencia de error en torno a 10^{-4} por residuo de aminoácido para poder sintetizar de manera precisa proteínas formadas por hasta 1.000 aminoácidos, manteniendo al mismo tiempo una rápida velocidad de síntesis de proteínas.

Table 39.4 Precisión de la síntesis de proteínas

Frecuencia de la inserción de un aminoácido incorrecto	Probabilidad de sintetizar una proteína sin errores		
	Número de residuos de aminoácido		
	100	300	1.000
10^{-2}	0,366	0,049	0,000
10^{-3}	0,905	0,741	0,368
10^{-4}	0,990	0,970	0,905
10^{-5}	0,999	0,997	0,990

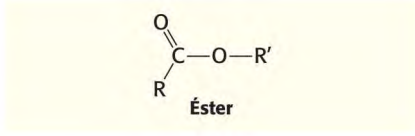
Nota: la probabilidad p de formar una proteína sin errores depende de n, el número de aminoácidos y de ε, la frecuencia de la inserción de un aminoácido incorrecto; $p = (1 - \varepsilon)^n$.

✓ 2 Identificar el paso de la síntesis de proteínas en el que se lleva a cabo la traducción.

39.2 Los aminoácidos se activan uniéndose al RNA de transferencia

Los aminoácidos necesarios para la síntesis de proteínas primero se tienen que unir a moléculas de tRNA específicas. Esta reacción es decisiva, ya que empareja un aminoácido con el tRNA que contiene el anticodón apropiado. Básicamente, la unión de un aminoácido a un tRNA concreto es el paso de traducción de la síntesis de proteínas.

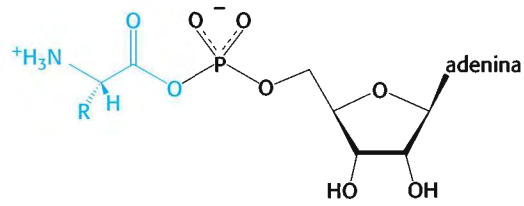
Estas moléculas de tRNA unidas a aminoácidos son los verdaderos sustratos para la síntesis de proteínas. Cuando un aminoácido se ha unido a un tRNA, se podrá incorporar a una cadena polipeptídica naciente en la posición dictada por el anticodón del tRNA. Sin embargo, la formación de un enlace peptídico entre aminoácidos libres no es favorable desde el punto de vista termodinámico y, por tanto, hay que aportar energía para hacer que esta reacción sea exergónica. Para que se lleve a cabo la síntesis de proteínas, primero hay que activar el aminoácido. En la síntesis de proteínas, los intermediarios activados son aminoácidos unidos mediante un enlace éster al grupo hidroxilo en posición 2′ o 3′ de la unidad de ribosa del extremo 3′ del tRNA. Un éster formado entre un aminoácido y un tRNA se denomina *aminoacil-tRNA* o, a veces, *tRNA cargado* (Figura 39.3). Para cada aminoácido hay, normalmente, una enzima activadora y, por lo menos, un tipo de tRNA.



Los aminoácidos se activan primero mediante adenilación

La activación de los aminoácidos está catalizada por *aminoacil-tRNA sintetasas* específicas. El primer paso consiste en la formación de un *aminoacil-adenilato* a partir de un aminoácido y ATP. En esta molécula, el grupo carboxilo del aminoácido se encuentra unido al grupo fosforilo del AMP; por tanto, también se le denomina *aminoacil-AMP*.

$$\text{Aminoácido} + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{aminoacil-AMP} + PP_i$$



Aminoacil-adenilato

El siguiente paso consiste en la transferencia del grupo aminoacilo del aminoacil-AMP a una molécula de tRNA concreta para formar un *aminoacil-tRNA*.

$$\text{Aminoacil-AMP} + \text{tRNA} \rightleftharpoons \text{aminoacil- tRNA} + \text{AMP}$$

La suma de los pasos de activación y de transferencia es

$$\text{Aminoácido} + \text{ATP} + \text{tRNA} \rightleftharpoons \text{aminoacil- tRNA} + \text{AMP} + PP_i$$

El $\Delta G^{\circ\prime}$ de esta reacción está cercano a cero porque la energía libre de la hidrólisis del enlace éster del aminoacil- tRNA es parecido al de la hidrólisis del ATP a AMP y PP_i. Como ya hemos visto en muchas ocasiones, la reacción está impulsada por la hidrólisis del pirofosfato. La suma de estas tres reacciones es muy exergónica:

$$\text{Aminoácido} + \text{ATP} + \text{tRNA} + H_2O \longrightarrow \text{aminoacil- tRNA} + \text{AMP} + 2\ P_i$$

Por tanto, *durante la síntesis de cada aminoacil-tRNA se consume el equivalente a dos moléculas de ATP*.

Para un aminoácido concreto, los pasos de activación y de transferencia están catalizados por la misma aminoacil-tRNA sintetasa. De hecho, *el intermediario aminoacil-AMP no se disocia de la sintetasa*, sino que se encuentra fuertemente unido al centro activo de la enzima mediante interacciones no covalentes. La traducción se lleva a cabo mediante la formación de un enlace éster entre un aminoácido y un tRNA específico. Por lo tanto, las aminoacil-tRNA sintetasas son los verdaderos traductores del código genético.

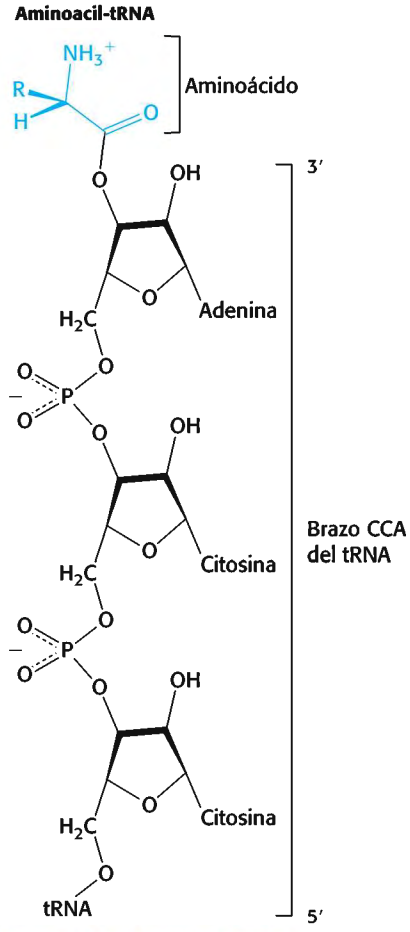
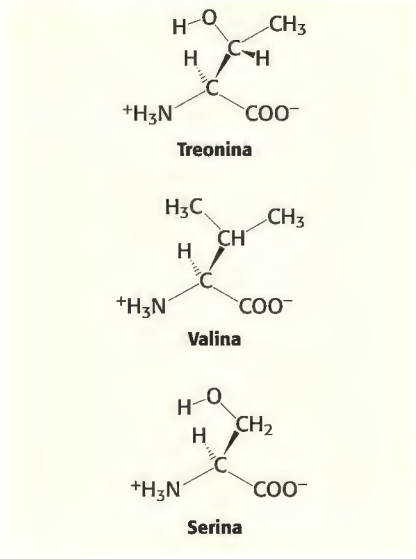


Figura 39.3 Aminoacil-tRNA. Los aminoácidos se acoplan a los tRNA por medio de enlaces éster con el grupo hidroxilo en posición 2′ o 3′ del residuo de adenosina del extremo 3′. Se muestra un enlace con el grupo hidroxilo en posición 3′.



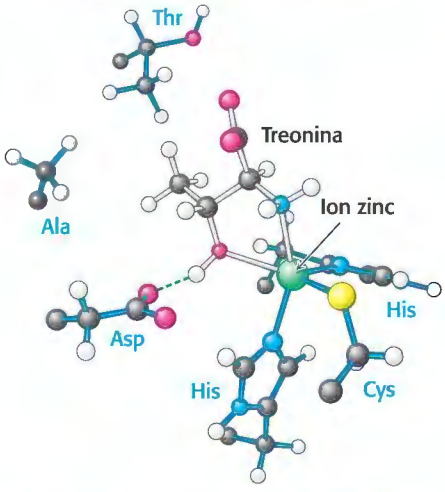


Figura 39.4 Centro activo de la treonil-tRNA sintetasa. *Observe* que el lugar para la unión del aminoácido incluye un ion zinc (bola de color verde) que está coordinado con la treonina por medio de sus grupos amino e hidroxilo.

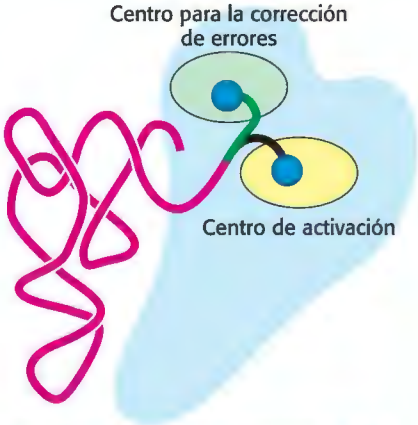


Figura 39.5 Corrección de errores en el aminoacil-tRNA. El brazo CCA de un aminoacil-tRNA es flexible y puede desplazar el aminoácido desde el centro de activación al centro para la corrección de errores. Si el aminoácido encaja bien en el centro para la corrección de errores, se escinde el aminoácido mediante hidrólisis.

Las aminoacil-tRNA sintetasas poseen lugares para la activación de los aminoácidos con gran capacidad discriminatoria

Para que la síntesis de proteínas sea precisa, el aminoácido correcto se tiene que unir al tRNA correcto. Cada aminoacil-tRNA sintetasa es muy específica para un aminoácido concreto. De hecho, una sintetasa solo incorporará un aminoácido incorrecto en una de cada 10^4 ó 10^5 reacciones catalíticas. ¿Cómo se consigue este nivel de especificidad? Cada aminoacil-tRNA sintetasa se aprovecha de las propiedades del aminoácido que utiliza como sustrato. Consideremos, por ejemplo, el reto al que se enfrenta la treonil-tRNA sintetasa. La treonina se parece a otros dos aminoácidos —concretamente, a la valina y a la serina. La forma de la valina es casi exactamente igual a la de la treonina, salvo por la presencia de un grupo metilo en lugar de un grupo hidroxilo. Al igual que la treonina, la serina posee un grupo hidroxilo, pero carece del grupo metilo. ¿Cómo puede la treonil-tRNA sintetasa evitar el acoplamiento de estos aminoácidos incorrectos al treonil-tRNA (en forma abreviada, $tRNA^{Thr}$)?

La estructura del lugar de unión al aminoácido de la treonil-tRNA sintetasa pone de manifiesto cómo se evita el acoplamiento con la valina (**Figura 39.4**). El centro activo de la enzima contiene un ion zinc. La treonina se une al ion zinc por medio de su grupo amino y del grupo hidroxilo de su cadena lateral. El grupo hidroxilo de la cadena lateral también es reconocido por un residuo de aspartato que se une a él mediante un puente de hidrógeno. El grupo metilo presente en la valina en el lugar de este grupo hidroxilo no puede participar en estas interacciones; no se unirá al centro activo y, por tanto, no se adenilará y no será transferido al treonil-tRNA.

El lugar del zinc no está tan bien capacitado para discriminar contra la serina, ya que este aminoácido posee un grupo hidroxilo que se puede unir al zinc. De hecho, cuando solo se dispone de este mecanismo, la treonil-tRNA sintetasa acopla erróneamente la serina al treonil-tRNA a una velocidad que es entre 10^{-2} y 10^{-3} veces la de la treonina. Como ya se ha comentado (p. 680), es probable que esta tasa de error dé lugar a multitud de errores en la traducción. ¿Cómo se evita la formación de $Ser\text{-}tRNA^{Thr}$?

La corrección de errores por parte de las aminoacil-tRNA sintetasas aumenta la fidelidad de la síntesis de proteínas

Además de su centro activo, la treonil-tRNA sintetasa posee un centro para la corrección de errores situado a 20 Å del centro activo. Este centro acepta la serina unida al $tRNA^{Thr}$ e hidroliza el enlace entre la serina y el $tRNA^{Thr}$, proporcionando a la sintetasa una oportunidad para corregir sus errores y mejorar su precisión para que llegue a ser de menos de un error por cada 10^4. El brazo CCA con la serina unida puede oscilar hacia fuera del centro activo y adentrarse en el centro para la corrección de errores (**Figura 39.5**). De este modo, el aminoacil-tRNA se puede corregir sin disociarse de la sintetasa.

¿Qué evita la hidrólisis del $Thr\text{-}tRNA^{Thr}$? La discriminación entre la serina y la treonina es relativamente sencilla porque la treonina contiene un grupo metilo *extra*, y este grupo metilo evita que el $Thr\text{-}tRNA^{Thr}$ encaje en el centro para la corrección de errores. La mayoría de las aminoacil-tRNA sintetasas contienen centros para corregir errores, además de los centros de acilación. Estas parejas de centros que se complementan entre sí actúan como un *doble filtro* para garantizar una fidelidad muy elevada. En general, el centro activo rechaza los aminoácidos que sean *más grandes* que el correcto porque no hay espacio suficiente para ellos, mientras que los centros para la corrección de errores escinden las especies activadas que sean *más pequeñas* que la correcta.

Las sintetasas reconocen los bucles del anticodón y los tallos aceptores de las moléculas de RNA de transferencia

¿Cómo seleccionan las sintetasas a los tRNA que utilizan como sustrato? Este paso, de enorme importancia, es el punto en el que tiene lugar la "traducción" —en el que se establece la correlación entre el vocabulario de los aminoácidos y el de los ácidos nucleicos. En cierto modo, las aminoacil-tRNA sintetasas son las únicas moléculas de la biología que "se saben" el código genético. El reconocimiento preciso de los tRNA es tan importante para la elevada fidelidad de la síntesis de proteínas como la selección exacta de los aminoácidos.

A priori, el anticodón del tRNA parecería ser un buen identificador, ya que cada tipo de tRNA tiene uno distinto. De hecho, algunas sintetasas reconocen sus tRNA sustrato, principalmente, en base a sus anticodones, aunque también pueden reconocer otros aspectos de la estructura del tRNA. La evidencia más directa de cómo tiene lugar el reconocimiento procede de estudios cristalográficos de los complejos formados entre las sintetasas y los tRNA que reconocen. La Figura 39.6 muestra los aspectos de la molécula de tRNA que son reconocidos por las aminoacil-tRNA sintetasas. Hay que destacar el hecho de que muchos de los lugares de reconocimiento son bucles ricos en bases atípicas que pueden proporcionar identificadores estructurales.

? PREGUNTA RÁPIDA 1 ¿Por qué la síntesis de los aminoacil-tRNA es el paso decisivo en la síntesis de proteínas?

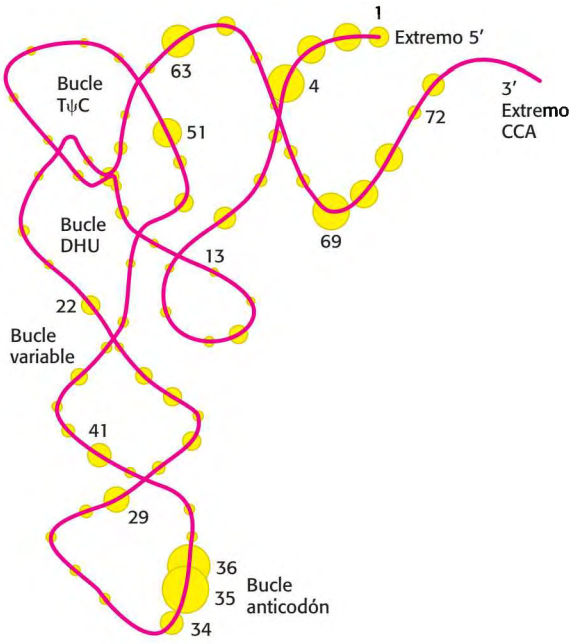


Figura 39.6 Lugares reconocidos en el tRNA. Los círculos representan nucleótidos, y el tamaño de los círculos representa la frecuencia con que son utilizados como lugares de reconocimiento por parte de las aminoacil-tRNA sintetasas. Los números indican las posiciones de los nucleótidos en la secuencia de bases, comenzando por el extremo 5′ de la molécula de tRNA. [Tomada de M. Ibba y D. Söll, *Annu. Rev. Biochem.* 69: 617-650, 1981, p. 636.]

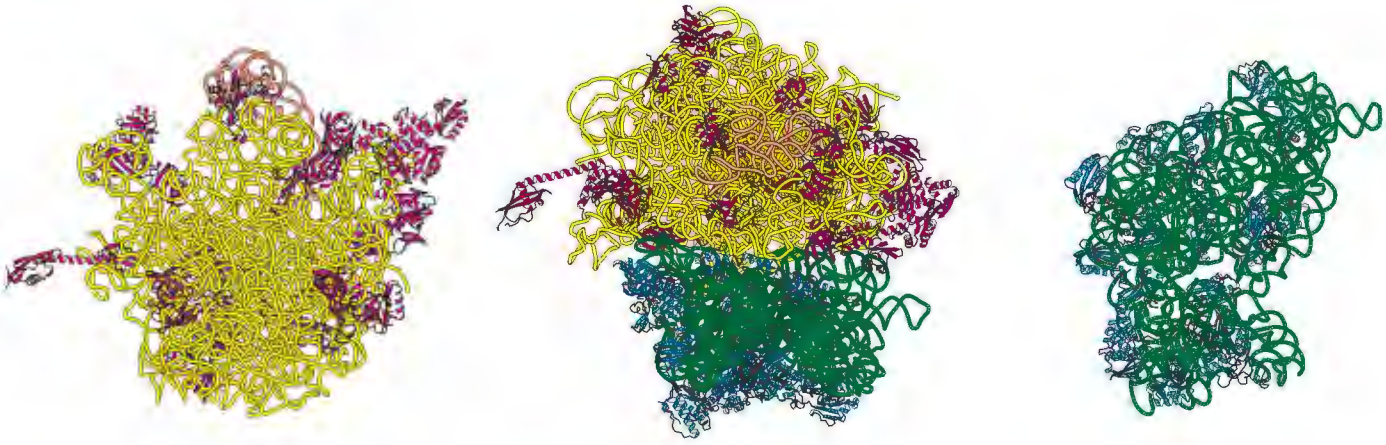
39.3 Un ribosoma es una partícula de ribonucleoproteína que consta de dos subunidades

Ahora nos centraremos en los ribosomas, las máquinas moleculares que coordinan la interacción entre los tRNA cargados, el mRNA y las proteínas para que se lleve a cabo la síntesis de proteínas. Un ribosoma de *E. coli* es un ensamblaje de ribonucleoproteína con una masa de aproximadamente 2.700 kDa, un diámetro de unos 250 Å, y un coeficiente de sedimentación (p. 76) de 70S. Los 20.000 ribosomas de una célula bacteriana representan casi la cuarta parte de su masa.

Un *ribosoma* se puede descomponer en una *subunidad grande* (50S) y *una subunidad* pequeña (30S) (Figura 39.7). Estas subunidades se pueden disociar aún más, con lo que se obtienen los RNA y las proteínas de que se componen. La subunidad pequeña consta de 21 proteínas diferentes (denominadas de S1 a S21) y una molécula de RNA de 16S. La subunidad grande contiene 34 proteínas diferentes (denominadas de L1 a L34) y dos moléculas de RNA, una de 23S y otra de 5S.

Los RNA ribosómicos desempeñan un papel central en la síntesis de proteínas

El prefijo *ribo* del término *ribosoma* es apropiado, ya que el RNA representa casi las dos terceras partes de la masa de estos grandes ensamblajes moleculares. Los tres RNA presentes —el de 5S, el de 16S y el de 23S— son decisivos para la arquitectura



Subunidad de 50S | Ribosoma de 70S | Subunidad de 30S

Figura 39.7 El ribosoma, a alta resolución. Modelos detallados del ribosoma basados en los resultados de estudios cristalográficos del ribosoma de 70S y de las subunidades de 30S y de 50S. (Izquierda) Vista de la región de la subunidad de 50S que interacciona con la subunidad de 30S; (centro) vista lateral del ribosoma de 70S; (derecha) vista de la región de la subunidad de 30S que interacciona con la subunidad de 50S. El RNA de 23S se muestra de color amarillo, el RNA de 5S de color naranja, el RNA de 16S de color verde, las proteínas de la subunidad de 50S de color rojo y las proteínas de la subunidad de 30S de color azul. *Observe* que la interfaz entre las subunidades de 50S y de 30S está formada, exclusivamente, por RNA. [Elaborada a partir de 1GIX.pdb y 1GIY.pdb.]

y función de los ribosomas. Estos *RNA ribosómicos* (rRNA) se pliegan adoptando estructuras complejas con muchas regiones cortas de doble hélice (**Figura 39.8**).

Durante muchos años, se creía que las proteínas que formaban parte de los ribosomas eran las que orquestaban la síntesis de proteínas y que los RNA actuaban principalmente como plataformas estructurales. Pero esta idea planteaba una desconcertante cuestión evolutiva del tipo de la del "huevo o la gallina": concretamente, ¿cómo se pueden sintetizar proteínas complejas si se necesitan proteínas complejas para la síntesis de proteínas? El descubrimiento del RNA catalítico (p. 668) hizo que los bioquímicos fuesen más receptivos ante la posibilidad de que el RNA desempeñase un papel mucho más activo en la función de los ribosomas. Análisis estructurales más detallados permitieron determinar que los centros catalíticos clave de los ribosomas están formados casi exclusivamente por RNA. El papel de las proteínas es secundario. La casi ineludible conclusión es que en un principio, en las primeras etapas de la evolución de la vida, el ribosoma estaba formado tan solo por RNA y que las proteínas se fueron incorporando más tarde para hacer un ajuste fino de sus propiedades funcionales. Esta conclusión tiene la agradable consecuencia de esquivar la cuestión del huevo y la gallina.

El RNA mensajero se traduce en dirección 5′ → 3′

La secuencia de aminoácidos de una proteína se traduce a partir de la secuencia de nucleótidos de un mRNA, y *la dirección de la traducción es 5′ → 3′*. La dirección de la traducción tiene consecuencias importantes. Recordemos que la transcripción también se produce en la dirección 5′ → 3′ (p. 630). Si la dirección de la traducción fuese contraria a la de la transcripción, solo se podrían traducir moléculas de mRNA sintetizadas por completo. Por el contrario, como las direcciones son iguales, el mRNA se puede traducir mientras todavía se está sintetizando. En procariotas, casi no se pierde tiempo entre la transcripción y la traducción. El extremo 5′ del mRNA interacciona con los ribosomas muy poco después de haberse creado, mucho antes de que se termine de sintetizar el extremo 3′ de la molécula de mRNA. *Una característica importante de la expresión génica en procariotas es que la traducción y la transcripción están íntimamente acopladas tanto en el tiempo como en el espacio.* Muchos ribosomas pueden estar traduciendo una molécula de mRNA de forma simultánea. Esta síntesis en paralelo aumenta notablemente la eficacia de la traducción del mRNA. El grupo de ribosomas que se encuentra unido a una molécula de mRNA se denomina *polirribosoma* o *polisoma* (**Figura 39.9**, en la p. 686).

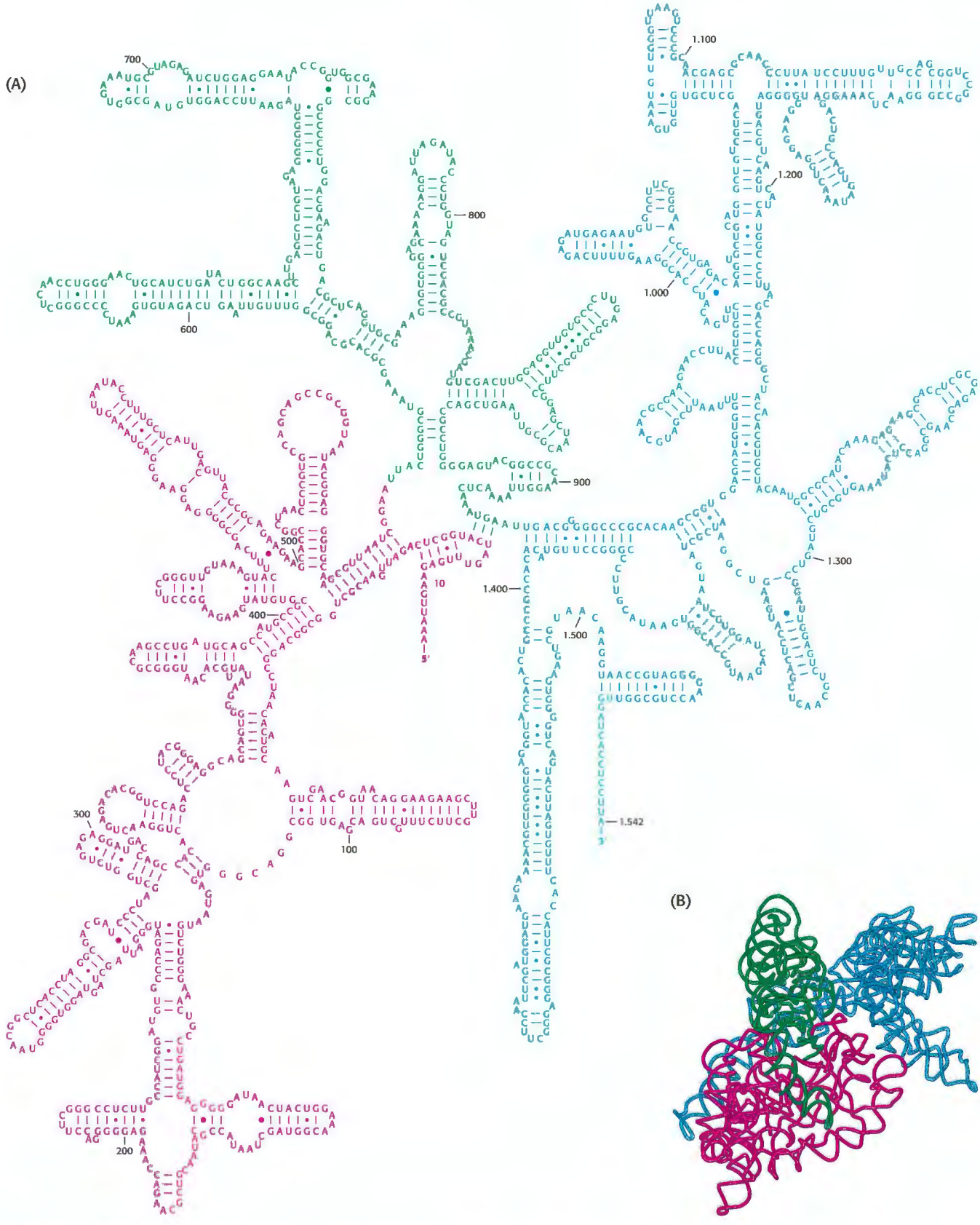


Figura 39.8 Patrón de plegamiento del RNA ribosómico. (A) Estructura secundaria del RNA ribosómico de 16S deducida a partir de la comparación de secuencias y de los resultados obtenidos mediante estudios químicos. (B) Estructura terciaria del RNA de 16S determinada por cristalografía de rayos X. [(A) Cortesía del Dr. Bryn Weiser y del Dr. Harry Noller; (B) elaborada a partir de 1FJG.pdb.]

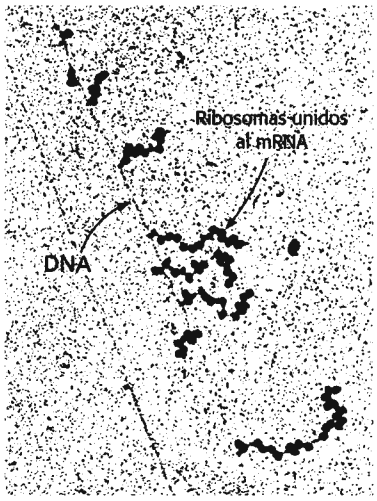


Figura 39.9 Polisomas. La transcripción de un segmento de DNA de *E. coli* genera moléculas de mRNA que son traducidas inmediatamente por multitud de ribosomas. [Tomada de O. L. Miller, Jr., B. A. Hamkalo y C. A. Thomas, Jr. Science 169: 392–395, 1970.]

? PREGUNTA RÁPIDA 2 ¿Cuáles son los componentes principales que se necesitan para la síntesis de proteínas y que se han comentado en este capítulo?

Resumen

39.1 El código genético conecta la información de los ácidos nucleicos con la de las proteínas

La síntesis de proteínas se denomina traducción porque la información presente en forma de una secuencia de ácido nucleico se traduce a un lenguaje distinto, la secuencia de aminoácidos de una proteína. El código genético es la relación que existe entre la secuencia de bases de un DNA (o de su transcrito en forma de RNA) y la secuencia de aminoácidos de una proteína. Los aminoácidos están codificados por grupos de tres bases (denominados codones) comenzando a partir de un punto fijo. De los 64 codones, 61 codifican aminoácidos concretos, mientras que los otros tres codones son señales para la terminación de la cadena. Por tanto, para la mayoría de los aminoácidos hay más de una palabra del código. En otras palabras, el código está degenerado. El código genético es prácticamente igual en todos los organismos. Los RNA mensajeros contienen señales de inicio y de parada para la traducción, como ocurre en los genes, que tienen señales para indicar dónde empieza y dónde termina la transcripción.

La traducción está mediada por la interacción coordinada de más de un centenar de macromoléculas entre las que se incluyen el mRNA, los rRNA, los tRNA, aminoacil-tRNA sintetasas y factores proteicos. Dado que las proteínas suelen estar formadas por entre 100 y 1.000 aminoácidos, la frecuencia con la que se incorpora un aminoácido incorrecto en el transcurso de la síntesis de proteínas debe ser inferior a 10^{-4}. Los RNA de transferencia son los adaptadores que establecen la conexión entre un ácido nucleico y un aminoácido. Estas moléculas, hebras sencillas de unos 80 nucleótidos, tienen una estructura en forma de L.

39.2 Los aminoácidos se activan uniéndose al RNA de transferencia

Cada aminoácido se activa y se une a un RNA de transferencia específico por medio de una enzima denominada aminoacil-tRNA sintetasa. Esta enzima forma un enlace éster entre el grupo carboxilo de un aminoácido y el grupo hidroxilo en posición 2′ o 3′ de la unidad de adenosina de una secuencia CCA situada en el extremo 3′ del tRNA. Para cada aminoácido hay, al menos, una aminoacil-tRNA sintetasa específica y al menos un tRNA específico. Una sintetasa utiliza los grupos funcionales y la forma del aminoácido que reconoce para evitar la incorporación de un aminoácido incorrecto a un tRNA. Algunas sintetasas tienen un centro adicional para corregir errores, en donde los aminoácidos incorporados erróneamente se eliminan mediante hidrólisis. Una sintetasa reconoce el anticodón, el tallo aceptor y, a veces, otras partes de su tRNA sustrato. Mediante el reconocimiento específico tanto de los aminoácidos como de los tRNA, las aminoacil-tRNA sintetasas implementan las instrucciones del código genético.

39.3 Un ribosoma es una partícula de ribonucleoproteína que consta de dos subunidades

La síntesis de proteínas se lleva a cabo en los ribosomas —partículas de ribonucleoproteína (unos dos tercios de RNA y un tercio de proteína) que están formados por una subunidad grande y por una subunidad pequeña. En *E. coli*, el ribosoma de 70S (2.700 kDa) está formado por una subunidad de 30S y otra de 50S. La subunidad de 30S consta de un RNA ribosómico de 16S y 21 proteínas distintas; la subunidad de 50S consta de un RNA ribosómico de 23S, otro de 5S y 34 proteínas distintas.

Las proteínas se sintetizan en la dirección amino-carboxilo, y el ribosoma lee el mRNA en la dirección 5′ → 3′. Como el RNA también se transcribe en la dirección 5′ → 3′, en procariotas, la traducción del mRNA puede comenzar antes de completarse la transcripción.

Términos clave

traducción (p. 675)
código genético (p. 676)
codón (p. 676)
RNA de transferencia (tRNA) (p. 677)
bucle anticodón (p. 679)
balanceo (p. 679)
aminoacil-tRNA sintetasa (p. 681)
ribosoma (p. 683)
subunidad de 50S (p. 683)
subunidad de 30S (p. 683)
RNA ribosómico (rRNA) (p. 683)
polisoma (p. 684)

Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Las moléculas de aminoacil-tRNA son los verdaderos sustratos para la síntesis de proteínas. Además, la síntesis de los aminoacil-tRNA es el paso en el que se lleva a cabo la traducción de la información de los ácidos nucleicos en la información de los aminoácidos.

2. Ribosomas, tRNA, mRNA y aminoacil-tRNA sintetasas.

Problemas

1. *Código mínimo.* ¿Cuál es el mínimo número de bases contiguas que se necesitan para codificar 20 aminoácidos? Razone su respuesta. ✓ 1

2. *Casi universal.* ¿Por qué el código ha permanecido casi invariable durante los miles de millones de años de la evolución, desde las bacterias a los seres humanos? ✓ 1

3. *Pooh y Christopher Robin.* Asigne a cada término la descripción correspondiente.

(a) Traducción _____
(b) Código genético _____
(c) Codón _____
(d) tRNA _____
(e) Bucle anticodón _____
(f) Balanceo _____
(g) Aminoacil-tRNA sintetasa _____
(h) Ribosoma _____
(i) Subunidad de 50S _____
(j) Subunidad de 30S _____

1. El lector del código
2. Libertad de apareamiento
3. Síntesis de proteínas
4. Tres nucleótidos
5. Contiene un RNA de 16S
6. Interacciona con el codón
7. Portador de aminoácidos activados
8. Contiene un RNA de 28S y otro de 5S
9. Lugar donde se lleva a cabo la síntesis de proteínas
10. Convierte la información de ácidos nucleicos en información de proteínas

4. *Un código por el que vivir.* ¿Cuáles son las características fundamentales del código genético? ✓ 1

5. *Degeneración.* Normalmente, la degeneración es algo que se debería evitar salvo, quizás, en circunstancias muy bien controladas. Sin embargo, para el código genético, estar degenerado representa una ventaja. ¿Qué significa la afirmación de que el código genético está degenerado? Expliqué por qué un código degenerado es útil. ✓ 1

6. *La probabilidad de que salga bien.* Calcule la probabilidad de sintetizar sin errores una proteína de 50 aminoácidos y una proteína de 300 aminoácidos si la frecuencia con que se inserta un aminoácido incorrecto es de 10^{-2}. Repita los cálculos con frecuencias de error de 10^{-4} y de 10^{-6}.

7. *Cuidado, pero no demasiado.* ¿Por qué resulta crucial que la síntesis de proteínas tenga una tasa de error de 10^{-4}?

8. *Dando tumbos.* Explique cómo es posible que algunas moléculas de tRNA reconozcan más de un codón. ✓ 1

9. *Secuencias codificadas.* (a) Escriba la secuencia de una molécula de mRNA sintetizada a partir de una hebra molde de DNA que tenga la siguiente secuencia. ✓ 1

5′-ATCGTACCGTTA-3′

(b) ¿Qué secuencia de aminoácidos está codificada en la siguiente secuencia de bases de una molécula de mRNA? Suponga que la pauta de lectura comienza en el extremo 5′.

5′-UUGCCUAGUGAUUGGAUG-3′

(c) ¿Cuál es la secuencia del polipéptido formado al añadir poli(UUAC) a un sistema libre de células que está sintetizando proteínas y que no necesita un codón de inicio?

10. *Descifrando el código, 1.* Las moléculas de RNA sintéticas con una secuencia definida fueron cruciales a la hora de descifrar el código genético. Para sintetizarlas, primero se tenían que sintetizar moléculas de DNA que sirviesen de molde. H. Gobind Khorana sintetizó, mediante métodos de química orgánica, dos desoxirribonucleótidos complementarios, cada uno de ellos con nueve residuos: $d(TAC)_3$ y $d(GTA)_3$. Posteriormente, las dobles hélices parcialmente solapadas que se formaron al mezclar estos oligonucleótidos sirvieron de molde para la síntesis, por parte de la DNA polimerasa, de largas moléculas repetitivas de DNA de doble hélice. El siguiente paso consistía en obtener largas hebras de polirribonucleótidos con una secuencia complementaria a tan solo una de las dos hebras del DNA. ¿Cómo consiguió Khorana obtener únicamente poli(UAC)? ¿Y solo poli(GUA)? ✓ 1

11. *Descifrando el código, 2.* La palabra GGG del código no se puede descifrar del mismo modo que las palabras UUU, CCC y AAA, porque la poli(G) no actúa como molde para la síntesis de proteínas. La poli(G) forma una estructura helicoidal de triple hebra. ¿Por qué no se puede utilizar como molde? ✓ 1

12. *Solapado, o no.* En un código de tripletes que no se solapan, cada grupo de tres bases en una secuencia ABCDEF... especifica solo un aminoácido —ABC especifica el primero, DEF el segundo, y así sucesivamente— mientras que en un código de tripletes que se solapa por completo, ABC especifica el primer aminoácido, BCD el segundo, CDE el tercero, y así sucesivamente. Suponga que puede mutar un nucleótido individual de un codón y detectar la mutación en la secuencia de aminoácidos. Diseñe un experimento que permita establecer si el código genético se solapa o no. ✓ 1

13. *Tres significados.* El RNA transcrito a partir de una región del DNA del fago T4 contiene la secuencia 5′-AAAUGAGGA-3′. En teoría, esta secuencia es capaz de codificar tres polipéptidos distintos. ¿Cuáles son? ✓ 1

14. *Sinónimos valiosos.* Normalmente, las proteínas tienen un bajo contenido en Met y Trp, contenido intermedio de His y Cys y contenido elevado de Leu y Ser. ¿Qué sugiere esta observación sobre la relación que hay entre el número de codones para un aminoácido y la frecuencia con que aparece en las proteínas? ¿Cuál podría ser la ventaja selectiva de esta relación?

15. *Una nueva traducción.* Un RNA de transferencia con un anticodón UGU se conjuga enzimáticamente con cisteína marcada con ^{14}C. A continuación, la unidad de cisteína se modifica químicamente a alanina. El aminoacil-tRNA modificado se añade a un sistema que está sintetizando proteínas que contiene los componentes normales, excepto este tRNA. El mRNA añadido a esta mezcla contiene la siguiente secuencia:

5′-UUUUGCCAUGUUUGUGCU-3′

¿Cuál es la secuencia del correspondiente péptido marcado radiactivamente?

16. *Cosas en común.* ¿Qué características comparten todas las moléculas de tRNA? ✓ 2

17. *El viejo baile de los dos pasos.* ¿Cuáles son las dos reacciones que se necesitan para formar un aminoacil-tRNA? ✓ 2

18. *El mismo, pero distinto.* ¿Por qué las moléculas de tRNA tienen que tener unas características estructurales exclusivas y otras características estructurales comunes? ✓ 2

19. *Cárgalo.* En el contexto de la síntesis de proteínas, ¿qué quiere decir que un aminoácido está activado? ✓ 2

20. *1 = 2, para valores suficientemente grandes de 1.* Para activar un aminoácido, se utiliza el equivalente energético de dos moléculas de ATP, a pesar de que solo se utiliza una molécula de ATP. Explique por qué.

21. *Tamices.* Poniendo la treonil-tRNA sintetasa como ejemplo, explique la especificidad en el caso de la formación de treonil-tRNA. ✓ 2

22. *Sabiduría.* Las aminoacil-tRNA sintetasas son los únicos componentes de la maquinaria de expresión génica que conocen el código genético. Explique por qué. ✓ 2

Problemas para atrevidos

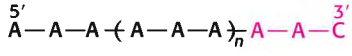
23. *Una hebra más resistente.* El RNA se hidroliza fácilmente en un medio alcalino, mientras que el DNA no. ¿Por qué?

24. *Mecanismo de la sintetasa.* La formación de isoleucil-tRNA tiene lugar mediante la formación reversible de un intermediario Ile-AMP unido a la enzima. Pronostique si se formaría ATP marcado con ^{32}P a partir de $^{32}PP_i$ cuando se incuba cada uno de los siguientes conjuntos de componentes con la enzima activadora específica. ✓ 2

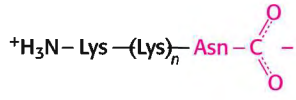
(a) ATP y $^{32}PP_i$
(b) tRNA, ATP y $^{32}PP_i$
(c) Isoleucina, ATP y $^{32}PP_i$

25. *Encontrando la dirección.* Se llevó a cabo una serie de experimentos para establecer la dirección en que crece la cadena durante la síntesis de proteínas. Se trataron reticulocitos (glóbulos rojos jóvenes) que estaban sintetizando hemoglobina activamente con [^{3}H]-leucina. En un periodo de tiempo más corto del necesario para sintetizar una cadena completa, se tomaron muestras de hemoglobina, se separaron las cadenas α y β, y se analizó la distribución de ^3H en sus secuencias. En las primeras muestras, solo las regiones próximas a los extremos carboxilo contenían radiactividad. En muestras tomadas más tarde, la radiactividad también aparecía en los extremos amino. Explique cómo, a partir de estos resultados, se puede determinar la dirección del crecimiento de la cadena en la síntesis de proteínas.

26. *Misión posible.* Su misión, en caso de que la acepte, consiste en determinar la dirección en que se lee el mRNA durante la síntesis de proteínas. Se le proporciona el siguiente polinucleótido sintético



como molde para un sistema libre de células que está sintetizando proteína, que también hemos tenido la amabilidad de suministrarle. El polipéptido producido fue



¿Qué indica la naturaleza de este producto en relación con la dirección en que se lee el mRNA? ✓ 1

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

CAPÍTULO 40

El mecanismo de la síntesis de proteínas

40.1 La síntesis de proteínas descodifica la información del mRNA

40.2 La peptidiltransferasa cataliza la síntesis de enlaces peptídicos

40.3 Las bacterias y los eucariotas difieren en la iniciación de la síntesis de proteínas

40.4 Diversas biomoléculas pueden inhibir la síntesis de proteínas

40.5 Los ribosomas unidos al retículo endoplasmático sintetizan proteínas de membrana y proteínas que van a ser secretadas

40.6 La síntesis de proteínas se regula mediante diversos mecanismos



La estrategia de las cadenas de montaje permite producir de manera rápida y precisa muchos objetos, automóviles incluidos. Esta estrategia también se utiliza durante la síntesis de proteínas, donde incluso las cadenas polipeptídicas muy largas se pueden ensamblar rápidamente y con una precisión impresionante. [Images of Birmingham Premium/Alamy.]

La síntesis de proteínas es un proceso complicado y, desde el punto de vista energético, caro, que consta de tres partes: iniciación, elongación y terminación. Durante la iniciación, la maquinaria de traducción tiene que localizar el codón de inicio (el codón Start) correcto. Durante la elongación, a medida que se va sintetizando la proteína desde su extremo amino hasta su extremo carboxilo, los codones se leen secuencialmente en dirección 5′ → 3′. Cuando se llega a un codón de terminación, unas proteínas especiales hidrolizan el enlace que une el polipéptido al último RNA de transferencia, liberando así la proteína completa. La maquinaria de traducción se desmonta y está lista para comenzar otra ronda de síntesis de proteínas.

Comenzaremos nuestro estudio de la síntesis de proteínas analizando este proceso en procariotas. Después, compararemos la síntesis de proteínas procariótica con la eucariótica. Por último, examinaremos cómo afectan los factores ambientales a la síntesis de proteínas y cómo se regula este proceso.

✓ 3 Enumerar los componentes clave de la maquinaria de la síntesis de proteínas.

✓ 4 Describir las funciones del RNA y de las proteínas en la síntesis de proteínas.

40.1 La síntesis de proteínas descodifica la información del mRNA

El primer paso de la síntesis de proteínas es la iniciación. Este paso requiere la cooperación del ribosoma, del tRNA, del mRNA y de varios factores proteicos. Comenzaremos el estudio de este proceso analizando los lugares de unión a los tRNA que hay en los ribosomas.

Los ribosomas tienen tres lugares de unión a moléculas de tRNA que conectan las subunidades de 30S y de 50S

Los tres lugares de unión a moléculas de tRNA de los ribosomas están dispuestos de modo que permiten la formación secuencial de enlaces peptídicos entre los aminoácidos codificados por los codones del mRNA (**Figura 40.1**). El fragmento de mRNA que se está traduciendo en un momento dado se encuentra unido a la subunidad de 30S. Cada una de las moléculas de tRNA está en contacto con la *subunidad de 30S* y con la *subunidad de 50S*. En el extremo correspondiente a la subunidad de 30S, dos de las tres moléculas de tRNA están unidas al mRNA mediante pares de bases anticodón-codón. Estos lugares de unión se denominan lugar A (de *a*minoacil) y lugar P (de *p*eptidil). La tercera molécula de tRNA está unida a un lugar adyacente denominado lugar E (de *e*xit, que en inglés significa "salida").

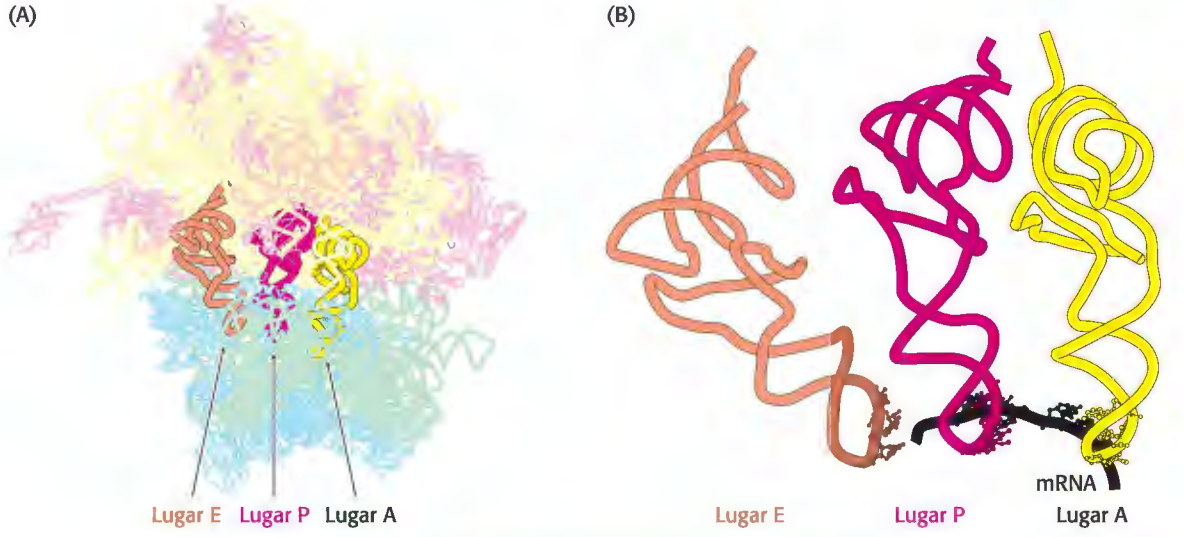


Figura 40.1 Lugares de unión para los RNA de transferencia. (A) Se muestran tres moléculas de tRNA en los lugares de unión para los tRNA del ribosoma de 70S. Estos lugares se denominan A (de aminoacil), P (de peptidil) y E (de salida, "exit" en inglés). Cada molécula de tRNA establece contactos con la subunidad de 30S y con la de 50S. (B) Las moléculas de tRNA en los lugares A y P forman pares de bases con el mRNA. [(B) Elaborada a partir de 1JGP.pdb.]

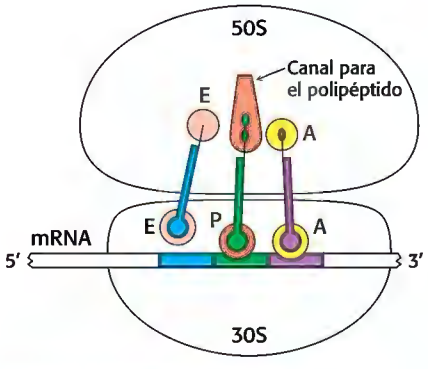


Figura 40.2 Ribosoma activo. Esta representación esquemática muestra las relaciones que se establecen entre los componentes clave de la maquinaria de traducción.

El otro extremo de cada molécula de tRNA interacciona con la subunidad de 50S. Los tallos aceptores de las moléculas de tRNA que ocupan los lugares A y P convergen en un lugar, que es donde se forma el enlace peptídico. Un túnel conecta este lugar con la parte posterior del ribosoma, que es por donde va pasando la cadena polipeptídica durante su síntesis (**Figura 40.2**).

La señal de inicio es AUG (o GUG) precedida de varias bases que se emparejan con el RNA ribosómico de 16S

¿Cómo comienza la síntesis de proteínas? O en otras palabras, ¿cómo se colocan los codones apropiados en los lugares A y P? La posibilidad más sencilla sería que los tres primeros nucleótidos de cada mRNA actuasen como el primer codón; no se necesitaría ninguna señal especial de inicio. Sin embargo, los experimentos indican que, en procariotas, la traducción no comienza inmediatamente después del extremo 5′ del mRNA. De hecho, el primer codón que se traduce se encuentra, casi siempre, a más de 25 nucleótidos de distancia del extremo 5′. Además, en procariotas, muchas moléculas de mRNA son *policistrónicas*, o poligénicas —es decir, codifican dos o más cadenas polipeptídicas. Recordemos que, en el operón *lac*, el mRNA producido codifica tres enzimas (p. 638). Cada una de estas tres proteínas tiene sus propias señales de inicio y de parada en el mRNA. De hecho, *todas las moléculas de mRNA conocidas contienen señales que definen el inicio y el final de cada cadena polipeptídica codificada.*

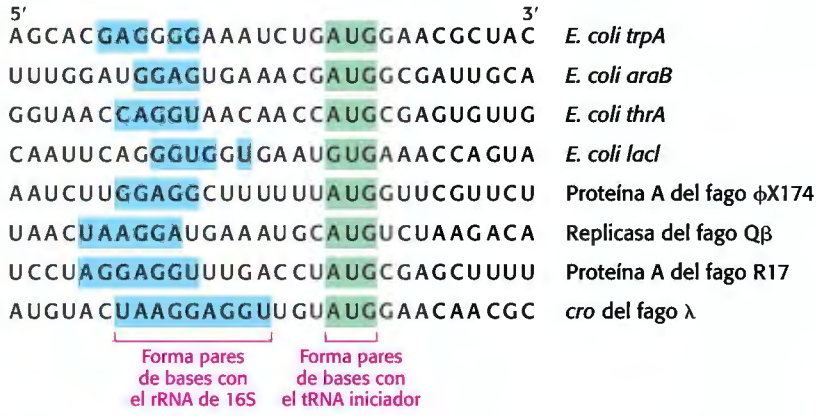


Figura 40.3 Lugares de iniciación. Secuencias de algunas moléculas de mRNA bacterianas y víricas que contienen los lugares de iniciación para la síntesis de proteínas. La comparación de estas secuencias pone de manifiesto algunas características recurrentes.

Una pista relacionada con el mecanismo de iniciación fue el descubrimiento de que, en *E. coli*, casi la mitad de los residuos del extremo amino de las proteínas son metioninas. De hecho, el codón de inicio (codón Start) del mRNA es AUG (metionina) o, con mucha menor frecuencia, GUG (valina). Sin embargo, la tarea de iniciar la síntesis de proteínas no recae únicamente en el codón de inicio. Además, cada región iniciadora contiene una secuencia rica en purinas, denominada *secuencia de Shine-Dalgarno*, centrada aproximadamente a unos 10 nucleótidos de distancia, por el lado 5′, del codón iniciador (Figura 40.3). En el mRNA, las secuencias de nucleótidos que no se traducen, como la secuencia de Shine-Dalgarno, se denominan *regiones no traducidas* (UTR) y pueden estar en el extremo 5′ del mRNA (5′-UTR) o en el extremo 3′ (3′-UTR). Normalmente, las regiones no traducidas funcionan regulando el uso de las moléculas de mRNA.

La secuencia de Shine-Dalgarno interacciona con una secuencia complementaria localizada en el extremo 3′ del rRNA de 16S que forma parte de la subunidad pequeña del ribosoma. De este modo, *en procariotas, dos tipos de interacciones determinan dónde comienza la síntesis de proteínas: (1) el emparejamiento de las bases del mRNA con el extremo 3′ del rRNA de 16S y (2) el emparejamiento del codón iniciador del mRNA con el anticodón de una molécula de tRNA iniciador.*

La síntesis de proteínas bacteriana comienza con el formilmetionil-RNA de transferencia

Como ya se ha comentado, en muchas proteínas de *E. coli*, el primer aminoácido es metionina. Sin embargo, el residuo de metionina situado en el extremo amino de las proteínas de *E. coli* suele estar modificado. De hecho, *en bacterias, la síntesis de proteínas comienza con el aminoácido modificado N-formilmetionina* (fMet). Un tRNA especial lleva la formilmetionina al ribosoma para iniciar la síntesis de proteínas. Este *tRNA iniciador* (en forma abreviada, $tRNA_f$) es distinto del tRNA que inserta la metionina en posiciones internas (en forma abreviada, $tRNA_m$). El subíndice "f" indica que la metionina unida al tRNA iniciador se puede formilar, algo que no es posible cuando se encuentra unida al $tRNA_m$. Aunque prácticamente todas las proteínas que se sintetizan en *E. coli* comienzan con formilmetionina, en aproximadamente la mitad de las proteínas se elimina la *N*-formilmetionina cuando la cadena naciente tiene una longitud de 10 aminoácidos.

La misma aminoacil-tRNA sintetasa une la metionina a estos dos tipos de tRNA. A continuación, una enzima específica formila el grupo amino de la molécula de metionina unida al $tRNA_f$ (Figura 40.4). En esta reacción, el donador de formilos activados es el N^{10}-formiltetrahidrofolato, un derivado del folato que transporta unidades monocarbonadas activadas (p. 546). La metionina libre y el metionil-$tRNA_m$ no son sustratos para esta transformilasa.

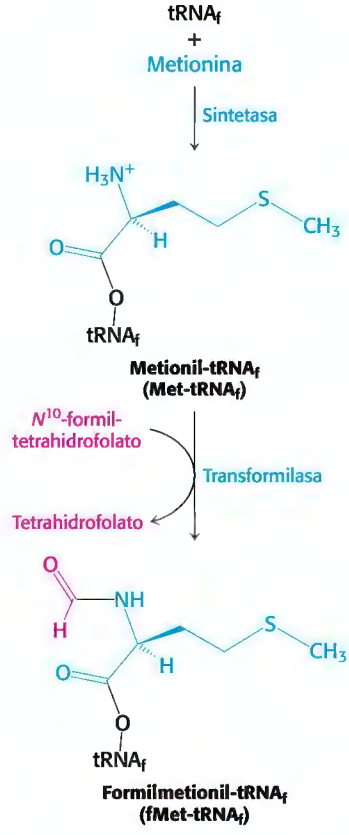
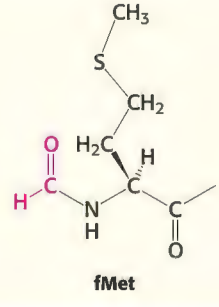


Figura 40.4 Formilación del metionil-tRNA. En primer lugar, el tRNA iniciador ($tRNA_f$) se carga con metionina y, después, se transfiere un grupo formilo desde el N^{10}-formiltetrahidrofolato al metionil-$tRNA_f$.



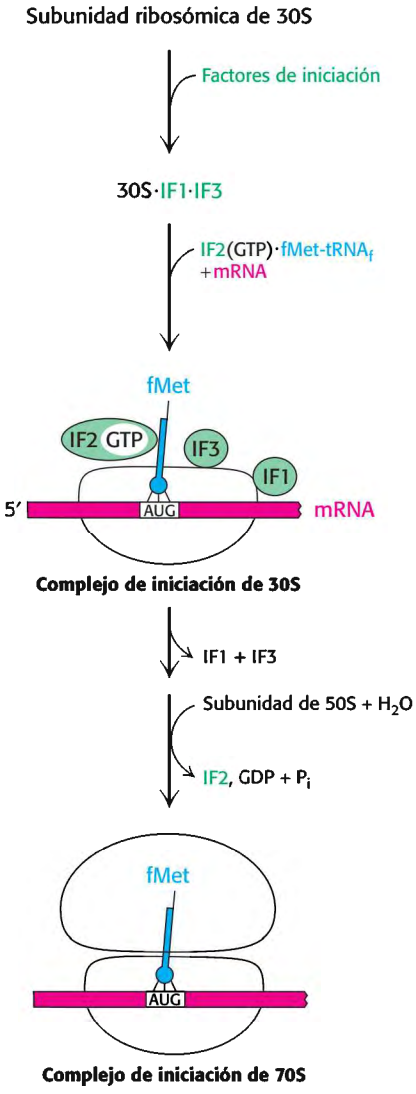


Figura 40.5 Iniciación de la traducción en procariotas. Primero, los factores de iniciación ayudan al ensamblaje del complejo de iniciación de 30S y, después, al del complejo de iniciación de 70S.

Durante la formación del complejo de iniciación de 70S, el formilmetionil-tRNA$_f$ se sitúa en el lugar P del ribosoma

Para que comience la síntesis de proteínas, el mRNA y el formilmetionil-tRNA$_f$ tienen que acceder al ribosoma. ¿Cómo se lleva a cabo esta tarea? Tres *factores de iniciación* de naturaleza proteica son esenciales: IF1, IF2 y IF3. En primer lugar, la subunidad de 30S del ribosoma forma un complejo con IF1 y con IF3 (Figura 40.5). La unión de estos factores a la subunidad de 30S evita que se una de forma prematura a la subunidad de 50S formando un complejo de 70S carente de mRNA y de tRNA$_f$, que no es funcional. El factor de iniciación 2, una GTPasa, se une a GTP y el consiguiente cambio de conformación permite a IF2 asociarse con el formilmetionil-tRNA$_f$. El complejo IF2-GTP-tRNA iniciador se une a la posición correcta del mRNA (gracias a la interacción entre la secuencia de Shine-Dalgarno y el rRNA de 16S) y a la subunidad de 30S formando el *complejo de iniciación de 30S*. Cuando se une la subunidad de 50S, se hidroliza el GTP unido a IF2, dando lugar a la liberación de los factores de iniciación. El resultado es el *complejo de iniciación de 70S*.

Cuando se ha formado el complejo de iniciación de 70S, el ribosoma está listo para la fase de elongación de la síntesis de proteínas. La molécula de fMet-tRNA$_f$ ocupa el lugar P del ribosoma, orientada de forma que su anticodón esté formando pares de bases con el codón de iniciación del mRNA. Los otros dos lugares de unión a moléculas de tRNA, el lugar A y el lugar E, se encuentran vacíos. Esta interacción establece la *pauta de lectura* para la traducción de la totalidad del mRNA. Una vez localizado el codón iniciador, se definen grupos de tres nucleótidos que no se solapan y que, posteriormente, serán traducidos a medida que se lleva a cabo la síntesis de proteínas.

Los factores de elongación suministran los aminoacil-tRNA al ribosoma

Llegados a este punto, el fMet-tRNA$_f$ ocupa el lugar P, y el lugar A está vacante, como ya hemos comentado. La molécula concreta que se inserte en el lugar A vacío depende del codón del mRNA en el lugar A. Sin embargo, el aminoacil-tRNA apropiado no se limita a disociarse de la sintetasa y difundir hasta el lugar A sino que es llevado a ese lugar mediante una proteína de 43 kDa denominada *factor de elongación Tu* (EF-Tu), que necesita GTP para su actividad. El factor de elongación Tu solo se une al aminoacil-tRNA en su forma unida al GTP (Figura 40.6). La unión del EF-Tu al aminoacil-tRNA desempeña una función doble. En primer lugar, EF-Tu protege el delicado enlace éster del aminoacil-tRNA de la hidrólisis. En segundo lugar, el GTP del EF-Tu solo se hidroliza a GDP cuando el complejo EF-Tu-aminoacil-tRNA y el ribosoma se han unido de forma correcta. Si el anticodón no está correctamente emparejado con el codón, no se produce la hidrólisis y el aminoacil-tRNA no se transfiere al ribosoma.

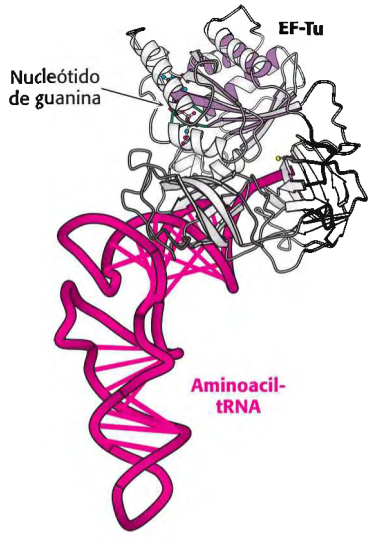


Figura 40.6 Estructura del factor de elongación Tu. Estructura de un complejo formado por el factor de elongación Tu (EF-Tu) y un aminoacil-tRNA. *Observe* el dominio GTPasa (sombreado de color púrpura) en el extremo amino de EF-Tu. Este dominio GTPasa es parecido al de otras proteínas G. [Elaborada a partir de 1B23.pdb.]

Este mecanismo permite que la energía libre de la hidrólisis del GTP contribuya a la precisión de la síntesis de proteínas.

A continuación, EF-Tu vuelve a su forma GTP gracias a un segundo factor de elongación, el *factor de elongación Ts*. El EF-Ts induce la disociación del GDP. El GTP se une a EF-Tu y, al mismo tiempo, se libera el EF-Ts. Hay que destacar el hecho de que *EF-Tu no interacciona con el fMet-tRNA$_f$*. Por tanto, este tRNA iniciador no es conducido hasta el lugar A. Por el contrario, el Met-tRNA$_m$, al igual que los demás aminoacil-tRNA, se une a EF-Tu. Estos descubrimientos explican el hecho de que *los codones AUG internos no sean leídos por el tRNA iniciador*. Por el contrario, IF2 reconoce al fMet-tRNA$_f$ pero no a los demás tRNA. El ciclo de elongación prosigue hasta llegar a un codón de terminación.

40.2 La peptidiltransferasa cataliza la síntesis de enlaces peptídicos

✓ 5 Explicar el papel del ribosoma en la síntesis de proteínas.

Cuando el lugar P y el lugar A se encuentran ocupados por moléculas de aminoacil-tRNA, todo está listo para la formación de un enlace peptídico: la molécula de formilmetionina unida al tRNA iniciador será transferida al grupo amino del aminoácido que ocupa el lugar A. La formación del enlace peptídico, una de las reacciones más importantes de la vida, es un reacción espontánea, desde el punto de vista termodinámico, y está catalizada por una región del rRNA de 23S de la subunidad de 50S denominada *centro peptidiltransferasa*. Este centro catalítico está situado en un lugar profundo de la subunidad de 50S, cerca del túnel que permite a la cadena naciente abandonar el ribosoma.

El ribosoma, que multiplica la velocidad de formación de enlaces peptídicos por un factor de 10^7, debe gran parte de su poder catalítico a lo que se denomina *catálisis por proximidad y orientación*. El ribosoma posiciona y orienta los dos sustratos de modo que estén situados de forma que se aproveche la reactividad intrínseca entre un grupo amino y un éster. El grupo amino del aminoacil-tRNA del lugar A está en una posición idónea para atacar el enlace éster que hay entre el tRNA iniciador y la molécula de formilmetionina en el lugar P. El centro peptidiltransferasa también incluye bases que promueven esta reacción ayudando a formar un grupo —NH_2 en el aminoacil-tRNA del lugar A y ayudando a estabilizar el intermediario tetraédrico que se forma. Desde muchos puntos de vista, esta reacción es análoga a la reacción catalizada por serinproteasas como la quimotripsina (Capítulo 8), pero en sentido inverso. El peptidil-tRNA es análogo a la forma acil-enzima de una serinproteasa, que se genera utilizando la energía libre asociada a la ruptura de un enlace amida. En el ribosoma, la energía libre necesaria para formar la especie análoga, un aminoacil-tRNA, procede del ATP que se escinde mediante la aminoacil-tRNA sintetasa, antes de la llegada del tRNA al ribosoma.

La formación de un enlace peptídico va seguida de una translocación de los tRNA y del mRNA, impulsada por el GTP

Con la formación del enlace peptídico, la cadena peptídica se encuentra ahora unida al tRNA cuyo anticodón se encuentra en el lugar A de la subunidad de 30S. Un cambio en la interacción con la subunidad de 50S ha colocado el extremo CCA de ese mismo tRNA, junto con su péptido, en el lugar P de la subunidad grande (**Figura 40.7**). El tRNA del lugar P de la subunidad de 30S está ahora descargado. Para que prosiga la traducción, el mRNA se tiene que *translocar* (desplazar) de forma que el codón para el siguiente aminoácido ocupe el lugar A. Esta translocación tiene lugar mediante la acción de una enzima denominada *factor de elongación G* o *translocasa* (**Figura 40.8**). El EF-G utiliza la energía de la hidrólisis del GTP para forzar su entrada en el lugar A de la subunidad de 30S y obligar a los tRNA y al mRNA a moverse a lo largo del ribosoma la distancia equivalente a un codón. Posteriormente, el EF-G se disocia del ribosoma. Al completarse este paso, el peptidil-tRNA se encuentra ahora ocupando por completo el lugar P y el tRNA iniciador descargado se ha disociado del mRNA y

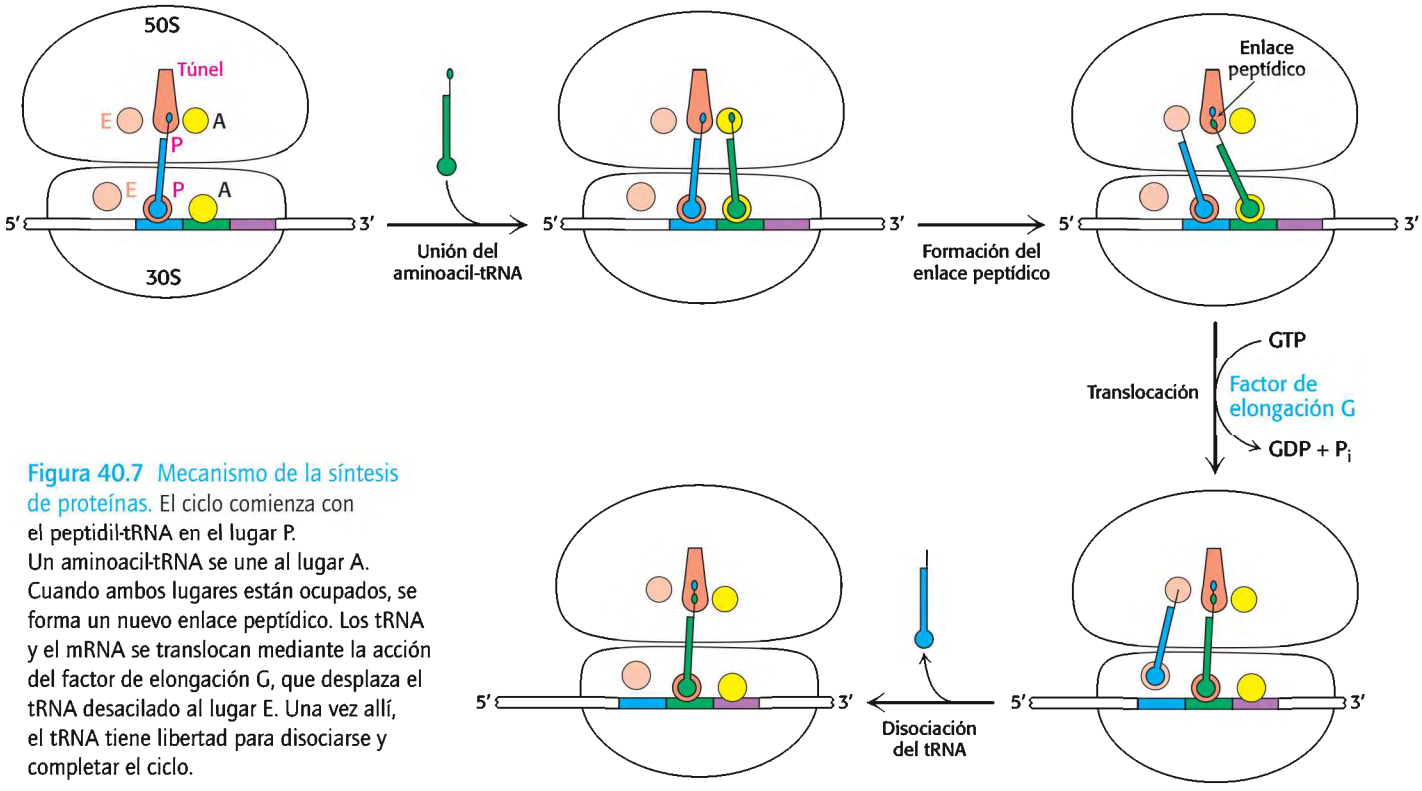


Figura 40.7 Mecanismo de la síntesis de proteínas. El ciclo comienza con el peptidil-tRNA en el lugar P. Un aminoacil-tRNA se une al lugar A. Cuando ambos lugares están ocupados, se forma un nuevo enlace peptídico. Los tRNA y el mRNA se translocan mediante la acción del factor de elongación G, que desplaza el tRNA desacilado al lugar E. Una vez allí, el tRNA tiene libertad para disociarse y completar el ciclo.

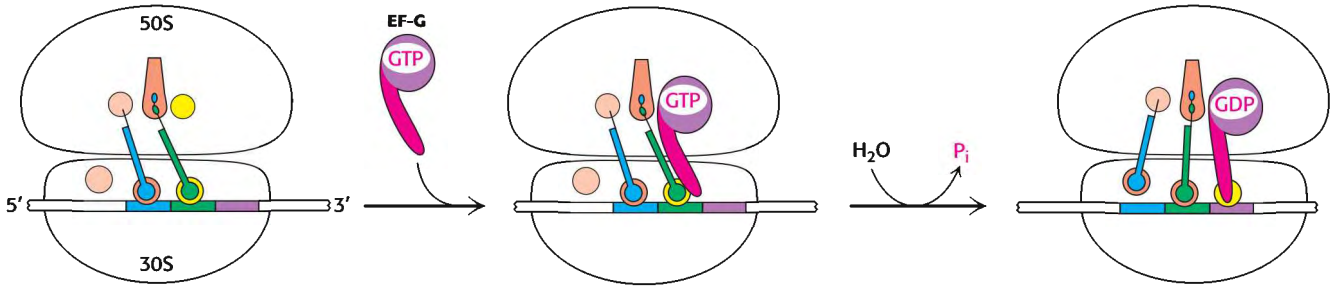


Figura 40.8 Mecanismo de la translocación. En su forma unida a GTP, el EF-G se une al lugar de unión para EF-Tu de la subunidad de 50S. Esta unión estimula la hidrólisis del GTP, que provoca un cambio conformacional en EF-G que obliga a los tRNA y al mRNA a moverse a través del ribosoma la distancia correspondiente a un codón.

ocupa el lugar E. Al disociarse del tRNA iniciador, el ribosoma ha vuelto a su estado inicial, salvo por el hecho de que la cadena peptídica se encuentra unida a un tRNA distinto (ver la Figura 40.8). Hay que señalar que, *a lo largo de este ciclo, la cadena peptídica permanece en el lugar P de la subunidad de 50S*, creciendo en dirección al túnel de salida. Este ciclo se repite a medida que nuevos aminoacil-tRNA llegan al lugar A, permitiendo la elongación del polipéptido de forma indefinida. No olvidemos que toda esta actividad se lleva a cabo 40 veces por segundo y que *el polipéptido se sintetiza en la dirección extremo amino → extremo carboxilo* (**Figura 40.9**). Muchos ribosomas pueden estar traduciendo una molécula de mRNA de forma simultánea, formando un *polirribosoma* o *polisoma* (ver la Figura 39.3).

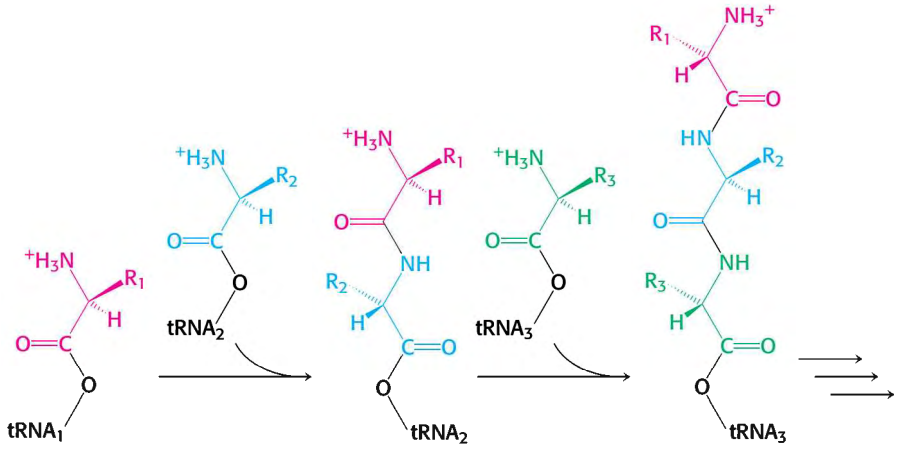


Figura 40.9 Crecimiento de la cadena polipeptídica. Las proteínas se sintetizan mediante la adición sucesiva de aminoácidos al extremo carboxilo.

La síntesis de proteínas finaliza mediante factores de liberación que leen los codones Stop

La fase final de la traducción es la terminación. ¿Cómo finaliza la síntesis de una cadena polipeptídica cuando se llega a un codón Stop? En las células normales, no hay moléculas de tRNA con anticodones complementarios a los codones Stop —UAA, UGA o UAG. En vez de eso, *estos codones Stop son reconocidos por proteínas denominadas factores de liberación* (RF). Uno de estos factores de liberación, RF1, reconoce UAA o UAG. Un segundo factor, RF2, reconoce UAA o UGA. Un tercer factor, RF3, otra GTPasa, participa en las interacciones que se establecen entre RF1 o RF2 y el ribosoma.

Los RF1 y RF2 son proteínas compactas que, cuando están unidas al ribosoma, se despliegan para rellenar el hueco que hay entre el codón Stop del mRNA y el centro peptidiltransferasa de la subunidad de 50S (Figura 40.10). El RF interacciona con el centro peptidiltransferasa por medio de un bucle que contiene una secuencia glicina-glicina-glutamina (GGQ) muy conservada, cuya glutamina está metilada en el átomo de nitrógeno del grupo amida de la cadena lateral. Esta glutamina modificada es decisiva a la hora de promover, con la ayuda de la peptidiltransferasa, el ataque de una molécula de agua al enlace éster que hay entre el tRNA y la cadena polipeptídica, para dejarla libre. El polipéptido liberado abandona el ribosoma. El RNA de transferencia y el RNA mensajero permanecen unidos brevemente al ribosoma 70S hasta que la totalidad del complejo se disocia gracias a la hidrólisis del GTP, que se produce en respuesta a la unión de EF-G y de otro factor denominado *factor liberador del ribosoma* (RRF).

? PREGUNTA RÁPIDA 1 ¿Cuáles son las funciones de los factores proteicos necesarios para la síntesis de proteínas?

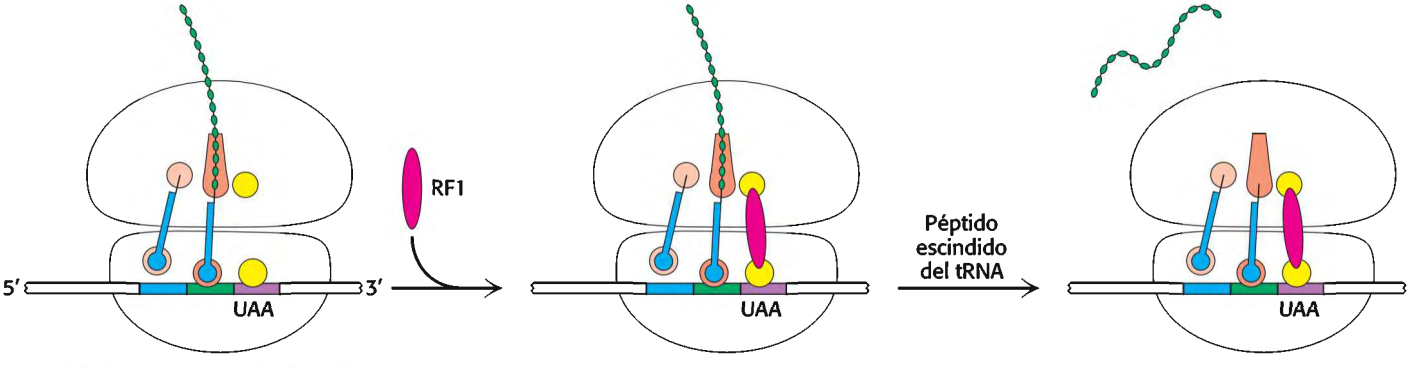


Figura 40.10 Terminación de la síntesis de proteínas. Un factor de liberación reconoce un codón Stop en el lugar A y estimula la liberación de la proteína completa del tRNA situado en el lugar P.

✓ 6 Comparar y contrastar la síntesis de proteínas bacteriana y eucariótica.

40.3 Las bacterias y los eucariotas difieren en la iniciación de la síntesis de proteínas

En eucariotas y en arqueobacterias, el esquema básico de las síntesis de proteínas es similar al de las bacterias. Los principales aspectos estructurales y mecanísticos se repiten en todos los dominios de la vida. Sin embargo, la síntesis de proteínas eucariótica requiere más componentes proteicos que la síntesis de proteínas bacteriana y algunos pasos son más complejos. Algunas de las similitudes y diferencias que merece la pena destacar son:

1. *Ribosomas.* Los ribosomas eucarióticos son más grandes. Están formados por una subunidad grande de 60S y una subunidad pequeña de 40S que, al juntarse, forman un complejo de 80S con una masa de 4.200 kDa, en comparación con los 2.700 kDa del ribosoma bacteriano de 70S. La subunidad de 40S contiene un RNA de 18S homólogo al RNA bacteriano de 16S. La subunidad de 60S contiene tres RNA: el RNA de 5S, homólogo al rRNA bacteriano de 5S, el RNA de 28S, homólogo a la molécula bacteriana de 23S; y el RNA de 5,8S, homólogo al extremo 5′ del RNA bacteriano de 23S.
2. *tRNA iniciador.* En eucariotas, el aminoácido iniciador es la metionina en vez de la *N*-formilmetionina. Sin embargo, como ocurre en bacterias, hay un tRNA especial que interviene en la iniciación. Este aminoacil-tRNA se denomina Met-tRNA$_i$ o Met-tRNA$_f$ (el subíndice "i" significa iniciación, y el "f" indica que se puede formilar *in vitro*).
3. *Iniciación.* En eucariotas, el codón de iniciación siempre es AUG. A diferencia de las bacterias, los eucariotas no tienen una secuencia específica rica en purinas en el lado 5′ para distinguir los AUG iniciadores de los internos. En vez de ello, se suele seleccionar como punto de partida el AUG más próximo al extremo 5′ del mRNA. Una subunidad de 40S del ribosoma, unida a la Met-tRNA$_i$ se une al capuchón del extremo 5′ del mRNA eucariótico (p. 663) y busca un codón AUG moviéndose paso a paso en dirección 3′ (Figura 40.11). Este proceso de escaneado está catalizado por helicasas que se desplazan a lo largo del mRNA impulsadas por la hidrólisis del ATP. El emparejamiento del anticodón del Met-tRNA$_i$ con el codón AUG del mRNA es la señal de que se ha encontrado el objetivo. En casi todos los casos, el mRNA eucariótico solo tiene un lugar de inicio y, por tanto, sirve de molde para la síntesis de una única proteína. Por el contrario, un mRNA bacteriano puede tener múltiples secuencias de Shine-Dalgarno y, por tanto, múltiples lugares de inicio, de manera que puede servir de molde para la síntesis de varias proteínas.

   Los eucariotas utilizan muchos más factores de iniciación que las bacterias y sus interacciones son mucho más complejas. Un factor iniciador eucariótico se representa por *eIF*. Por ejemplo, el eIF-4E es una proteína que se une directamente al capuchón 7-metilguanosina (capuchón 5′, p. 663), mientras que el eIF-2, asociado al GTP, suministra el Met-tRNA$_i$ al ribosoma. La diferencia en el mecanismo de iniciación entre bacterias y eucariotas es, en parte, consecuencia del distinto procesamiento del RNA. En bacterias, el extremo 5′ del mRNA es fácilmente reconocible por los ribosomas inmediatamente después de la transcripción. Por el contrario, en eucariotas, el pre-mRNA se tiene que procesar y transportar hasta el citoplasma antes de iniciar la traducción. El capuchón 5′ proporciona un punto de partida fácilmente reconocible.
4. *La estructura del mRNA.* El mRNA eucariótico es circular. La proteína eIF-4E que se une a la estructura del capuchón del mRNA también se une a la cola de poli(A) mediante dos intermediarios proteicos. La proteína eIF-4E se une primero a la proteína eIF-4G que, a su vez, se une a una proteína asociada a la cola de poli(A), la proteína que se une a poli(A) (PABP1; Figura 40.12). De este modo, el capuchón y la cola se acercan formando un círculo de mRNA. La estructura circular puede hacer más fácil que se vuelvan a unir los ribosomas después de haber terminado la síntesis de la proteína. Tanto en condiciones normales como patológicas, la regulación de la actividad de eIF-4G es un punto de control clave. Tanto el síndrome X-frágil, la forma más frecuente de discapacidad mental hereditaria, como el cáncer de próstata y otros tipos de cáncer están relacionados con una alteración en el funcionamiento del eIF-4G.

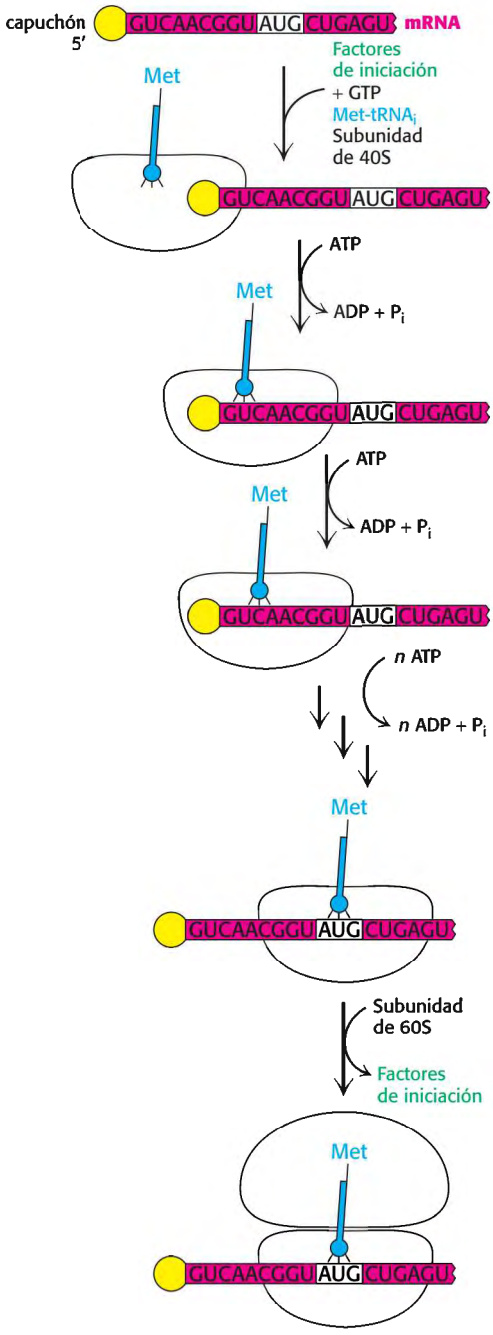


Figura 40.11 Iniciación de la traducción en eucariotas. En eucariotas, la iniciación de la traducción comienza con el ensamblaje de un complejo sobre el capuchón 5′ que incluye la subunidad de 40S y el Met-tRNA$_i$. Impulsado por la hidrólisis del ATP, este complejo escanea el mRNA hasta encontrar el primer AUG. Entonces, se incorpora la subunidad de 60S para formar el complejo de iniciación de 80S.

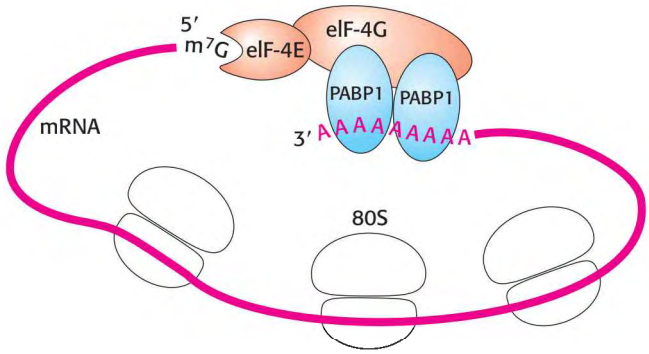


Figura 40.12 El mRNA eucariótico forma un círculo gracias a sus interacciones con proteínas. [Tomada de H. Lodish y col., *Molecular Cell Biology*, 6.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2008), Fig. 4.28.]

5. *Elongación y terminación.* Los factores de elongación eucarióticos EF1α y EF1βγ son los homólogos de los factores bacterianos EF-Tu y EF-Ts, mientras que el factor eucariótico EF2 se corresponde con el EF-G bacteriano (la translocasa). En eucariotas, la terminación la lleva a cabo un único factor de liberación, eRF1, a diferencia de los dos que operan en bacterias. Por último, el eIF-3, al igual que su homólogo bacteriano IF3, evita la reasociación de las subunidades ribosómicas en ausencia de un complejo de iniciación.
6. *Organización.* En los eucariotas superiores, los componentes de la maquinaria de traducción se organizan en forma de grandes complejos asociados al citoesqueleto. Se cree que esta asociación favorece la eficacia de la síntesis de proteínas. Recordemos que la organización de los procesos bioquímicos complejos en complejos físicos es un aspecto recurrente de la bioquímica.

Aspecto clínico

Mutaciones en el factor de iniciación 2 provocan un curioso estado patológico

Las mutaciones en el factor de iniciación 2 eucariótico dan lugar a una misteriosa enfermedad denominada enfermedad de la sustancia blanca evanescente (VWM), en la que las células nerviosas del cerebro desaparecen y son sustituidas por líquido cerebroespinal (Figura 40.13). La sustancia blanca del cerebro está formada fundamentalmente por axones nerviosos que conectan la sustancia gris del cerebro con el resto del organismo. La muerte, que sobreviene a causa de la fiebre o del coma generalizado, puede producirse en cualquier momento en un intervalo comprendido entre unos pocos años y décadas después de aparecer la enfermedad. Un aspecto particularmente enigmático de la enfermedad es su especificidad tisular. Es de esperar que una mutación en un proceso bioquímico tan importante para la vida como lo es la iniciación de la síntesis de proteínas sea letal o que, por lo menos, afecte a todos los tejidos del organismo. Las enfermedades como la VWM muestran de manera gráfica que, aunque se han realizado grandes avances en bioquímica, todavía se necesita mucha más investigación para comprender la complejidad de la salud y de la enfermedad. ■

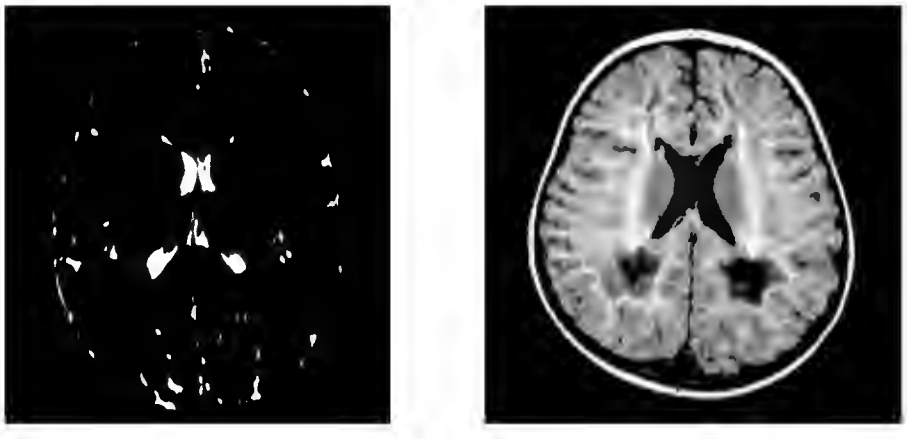
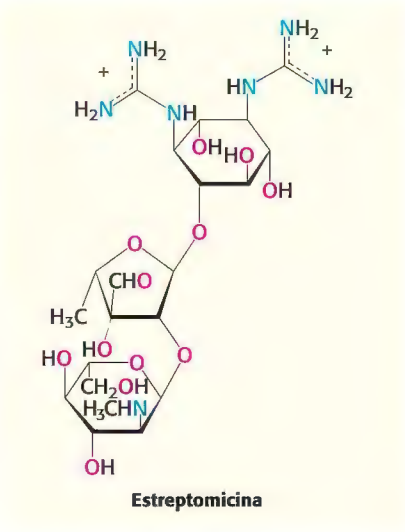


Figura 40.13 Efectos de la enfermedad de la sustancia blanca evanescente. (A) En el cerebro normal, las imágenes obtenidas mediante resonancia magnética (MRI) permiten visualizar la sustancia blanca, que aparece en color gris oscuro. (B) En el cerebro enfermo, la MRI pone de manifiesto que la sustancia blanca es reemplazada por el fluido cerebroespinal, que aparece de color blanco. [Cortesía de Marjo S. van der Knaap, M.D., Ph.D., (A) Du Cane Medical Imaging Ltd./Science Source. (B) VU University Medical Center, Holanda.]

40.4 Diversas biomoléculas pueden inhibir la síntesis de proteínas

Se han identificado muchos compuestos químicos que inhiben diversos aspectos de la síntesis de proteínas. Estos compuestos químicos constituyen potentes herramientas experimentales y pueden actuar como eficaces fármacos desde el punto de vista clínico.



Estreptomicina

Aspecto clínico

Algunos antibióticos inhiben la síntesis de proteínas

Las diferencias entre los ribosomas eucarióticos y bacterianos se puede aprovechar para el desarrollo de antibióticos (Tabla 40.1). Por ejemplo, el antibiótico *estreptomicina*, un trisacárido muy alcalino, interfiere con la unión del formilmetionil-tRNA a los ribosomas y, por tanto, evita la correcta iniciación de la síntesis de proteínas. Otros *antibióticos aminoglicósidos*, como la neomicina, la kanamicina y la gentamicina, interfieren con la interacción entre el tRNA y el rRNA de 16S de la subunidad de 30S (p. 683). El *cloranfenicol* actúa inhibiendo la actividad de la peptidiltransferasa. La *eritromicina* se une a la subunidad de 50S y bloquea la translocación.

Tabla 40.1 Antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas

Antibiótico	Acción
Estreptomicina y otros aminoglicósidos	Inhibe la iniciación y provoca la lectura errónea del mRNA (en bacterias)
Tetraciclina	Se une a la subunidad de 30S e inhibe la unión de los aminoacil-tRNA (en bacterias)
Cloranfenicol	Inhibe la actividad peptidiltransferasa de la subunidad ribosómica de 50S (en bacterias)
Cicloheximida	Inhibe la translocación (en eucariotas)
Eritromicina	Se une a la subunidad de 50S e inhibe la translocación (en bacterias)
Puromicina	Provoca la terminación prematura de la cadena actuando como un análogo del aminoacil-tRNA (en bacterias y en eucariotas)

El antibiótico *puromicina* inhibe la síntesis de proteínas tanto en bacterias como en eucariotas haciendo que las cadenas polipeptídicas nacientes se liberen antes de completar su síntesis. La puromicina es un análogo de la parte terminal del aminoacil-tRNA (Figura 40.14). Se une al lugar A del ribosoma e inhibe la entrada del aminoacil-tRNA. Además, la puromicina contiene un grupo α-amino. Este grupo amino, como el del aminoacil-tRNA, forma un enlace peptídico con el grupo carboxilo de la cadena peptídica en crecimiento. El producto, un péptido unido covalentemente a un residuo de puromicina en su extremo carboxilo, se disocia del ribosoma. Aunque ya no se utiliza en medicina, la puromicina se usa fundamentalmente como herramienta experimental para la investigación de la síntesis de proteínas. La *cicloheximida*, otro antibiótico, bloquea la translocación en los ribosomas eucarióticos, lo que le convierte en una valiosa herramienta de laboratorio para bloquear la síntesis de proteínas en células eucarióticas. ■

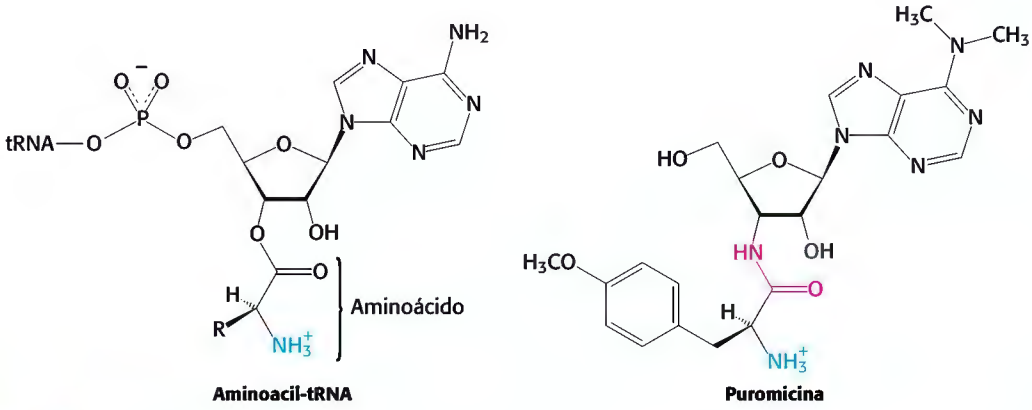


Figura 40.14 Acción antibiótica de la puromicina. La puromicina se parece al extremo aminoacilo de un aminoacil-tRNA. Su grupo amino se une al grupo carboxilo de la cadena polipeptídica naciente formando un aducto que se disocia del ribosoma. Este aducto es estable porque la puromicina posee un enlace amida (mostrado de color rojo) en vez de un enlace éster.

Aspecto clínico

En eucariotas, la toxina de la difteria bloquea la síntesis de proteínas inhibiendo la translocación

Muchos antibióticos, obtenidos a partir de bacterias con fines medicinales, son inhibidores de la síntesis de proteínas bacteriana. Sin embargo, algunas bacterias producen inhibidores de la síntesis de proteínas que también inhiben la síntesis de proteínas eucariótica, dando lugar a enfermedades como la difteria, que fue una de las principales causas de mortalidad infantil antes de la llegada de estrategias de inmunización eficaces. Los síntomas incluyen graves dolores de garganta, ronquera, fiebre y dificultades respiratorias. Los efectos letales de esta enfermedad se deben, principalmente, a una toxina de naturaleza proteica producida por *Corynebacterium diphtheriae*, una bacteria que crece en el tracto respiratorio superior de las personas infectadas. Normalmente, unos pocos microgramos de la toxina de la difteria son letales para una persona no inmunizada porque la toxina inhibe la síntesis de proteínas. Poco después de entrar en una célula diana, la toxina es escindida en un fragmento A de 21 kDa y un fragmento B de 40 kDa.

En el citoplasma, un único fragmento A de la toxina puede matar una célula. ¿Por qué es tan letal? La diana del fragmento A es EF2, el factor de elongación que cataliza la translocación en la síntesis de proteínas eucariótica. El EF2 contiene *diftamida*, un residuo de aminoácido atípico, de función desconocida, que se forma mediante la modificación postraduccional de la histidina. El fragmento A de la toxina de la difteria cataliza la transferencia de la unidad ADP-ribosa del NAD^+ al anillo de la diftamida (**Figura 40.15**).

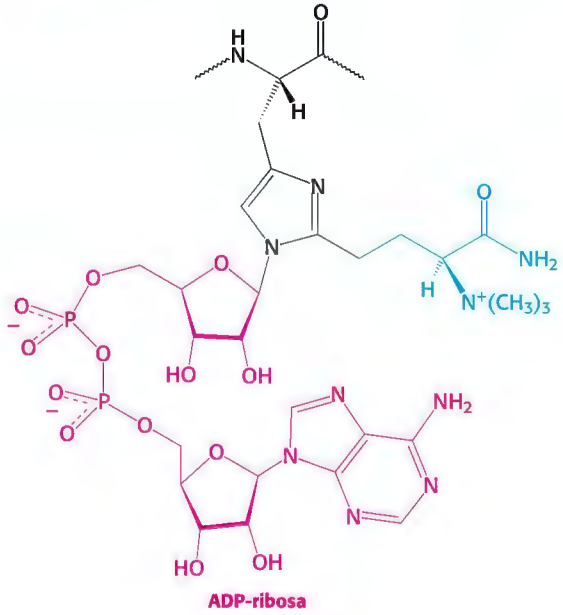


Figura 40.15 Bloqueo de la translocación provocado por la toxina de la difteria. La toxina de la difteria bloquea la síntesis de proteínas en eucariotas catalizando la transferencia de una unidad ADP-ribosa desde el NAD^+ a la diftamida, un residuo de aminoácido modificado del factor de elongación 2 (translocasa). La diftamida se forma mediante la modificación postraduccional (en azul) de un residuo de histidina.



Pierre Paul Émile Roux (1853–1933), médico francés, colaborador de Louis Pasteur y cofundador del Instituto Pasteur, desarrolló una de las primeras vacunas contra la difteria que tuvo éxito. [Fotografía procedente de Archives Charme/Bridgeman Art Library.]

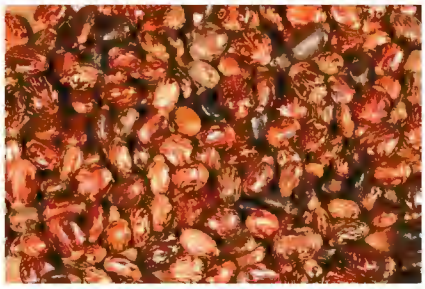


Figura 40.16 Semillas de ricino. Las semillas del ricino (*Ricinus communis*) son una fuente abundante de aceites que tienen muchas aplicaciones, entre las que se incluye la producción de biodiesel. Las semillas también son ricas en la toxina ricina. [Ted Kinsman/Photo Researchers.]

El 7 de septiembre de 1978, un agente del Departamento de Seguridad del Estado de la Unión Soviética (KGB), utilizando un arma construida en un paraguas, introdujo un perdigón impregnado de ricina en el muslo del disidente búlgaro Georgi Markov, mientras cruzaba el puente de Waterloo en Londres. El Sr. Markov sintió un fuerte pinchazo, como si le hubiese picado un insecto. Murió cuatro días después.

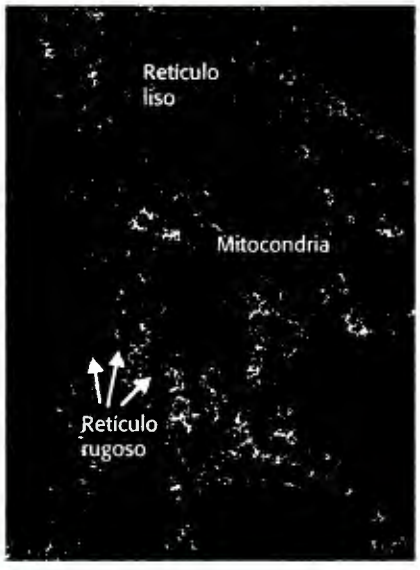


Figura 40.17 Ribosomas unidos al retículo endoplasmático. En esta micrografía electrónica, los ribosomas aparecen como pequeños puntos negros unidos al lado citoplasmático del retículo endoplasmático que le confieren una apariencia rugosa. Por el contrario, el retículo endoplasmático liso está desprovisto de ribosomas. [Reproducida con el permiso de Macmillan Publishers Ltd: EMBO REPORTS, Voeltz, G.K., Rolls, M.M. y Rapoport, T.A., Structural organization of the endoplasmic reticulum. Vol. 3, 944-950, © 2002.]

Esta ADP-ribosilación de una única cadena lateral de EF2 bloquea su capacidad para llevar a cabo la translocación de la cadena polipeptídica en crecimiento. La síntesis de proteínas se detiene, lo que explica la extraordinaria toxicidad de la toxina de la difteria. ■

Aspecto clínico

La ricina modifica de forma letal el RNA ribosómico de 28S

La ricina es una biomolécula que aparece frecuentemente en las noticias por su potencial uso como agente bioterrorista. La ricina es una proteína pequeña (65 kDa) que se encuentra en las semillas (en las habas) del ricino, *Ricinus communis* (**Figura 40.16**). Se trata, de hecho, de una molécula mortal, ya que una cantidad tan pequeña como 500 μg es letal para un ser humano adulto y una única molécula puede inhibir toda la síntesis de proteínas en una célula, dando lugar a la muerte celular.

La ricina es una proteína heterodimérica compuesta por una cadena catalítica A unida mediante un único puente disulfuro a una cadena B. La cadena B permite a la toxina unirse a la célula diana y esta unión da lugar a la absorción del dímero por endocitosis, lo que acaba produciendo la liberación de la cadena A en el citoplasma. La cadena A es una *N*-glicosidasa que escinde la adenina de un nucleósido de adenosina concreto del rRNA de 28S. La eliminación de la base adenina desactiva por completo el ribosoma, ya que evita la unión de los factores de elongación. Por tanto, tanto la ricina como la toxina de la difteria actúan inhibiendo la fase de elongación de la síntesis de proteínas; la ricina lo hace modificando covalentemente el rRNA y la toxina de la difteria lo hace modificando covalentemente el factor de elongación. ■

40.5 Los ribosomas unidos al retículo endoplasmático sintetizan proteínas de membrana y proteínas que van a ser secretadas

No todas las proteínas recién sintetizadas están destinadas a funcionar en el citoplasma. En *E. coli*, una proteína recién sintetizada puede permanecer en el citoplasma o puede ser enviada a la membrana plasmática, a la membrana externa, al espacio que hay entre ellas o al medio extracelular. Las células eucarióticas pueden dirigir las proteínas a destinos internos como las mitocondrias, el núcleo y el retículo endoplasmático, un proceso denominado *tráfico intracelular de proteínas* o *envío de las proteínas a su punto de destino*. ¿Cómo se consigue enviar proteínas a su punto de destino? Hay dos mecanismos generales que permiten enviar las proteínas a su destino. En un mecanismo, la proteína se sintetiza en el citoplasma y, después, la proteína completa se envía a su destino intracelular de forma postraduccional. Las proteínas destinadas al núcleo, cloroplastos, mitocondrias y peroxisomas son enviadas mediante este proceso general. El otro mecanismo, conocido como la *ruta secretora*, dirige las proteínas al *retículo endoplasmático* (RE), el extenso sistema de membranas que representa aproximadamente la mitad de las membranas de una célula, de forma cotraduccional —es decir, mientras se está sintetizando la proteína. Las proteínas enviadas a su destino por la ruta secretora incluyen las proteínas de secreción, las residentes en el RE, en el aparato de Golgi, en los lisosomas, las proteínas integrales de la membrana de estos orgánulos, así como las proteínas integrales de la membrana plasmática. Centraremos nuestra atención únicamente en la ruta secretora.

En las células eucarióticas, un ribosoma se encuentra libre en el citoplasma a menos que sea dirigido hacia el retículo endoplasmático. La región que se une a ribosomas se denomina *RE rugoso* debido a su apariencia granulosa, como ya se comentó en el Capítulo 1, que le diferencia del *RE liso*, que está desprovisto de ribosomas (**Figura 40.17**).

La síntesis de proteínas comienza en ribosomas que se encuentran libres en el citoplasma

La síntesis de proteínas enviadas a su destino por medio de la ruta secretora comienza en un ribosoma libre, pero, poco después de comenzar, la síntesis se detiene hasta que el ribosoma es conducido al lado citoplasmático del retículo endoplasmático. Cuando el ribosoma se adhiere a la membrana, la síntesis de proteínas se reanuda. A medida que la cadena polipeptídica recién formada abandona el ribosoma, es trasportada a través de la membrana hacia el *lumen* del retículo endoplasmático. Los ribosomas libres que están sintetizando las proteínas que se van a utilizar dentro de la células son idénticos a los que están unidos al RE. ¿Qué proceso es el que hace que los ribosomas que están sintetizando una proteína destinada al interior del RE se unan al RE?

Las secuencias señal identifican las proteínas que tienen que ser translocadas a través de la membrana del retículo endoplasmático

La maquinaria necesaria para dirigir un ribosoma hacia el RE y translocar la proteína naciente a través del RE consta de cuatro componentes.

1. *La secuencia señal. La secuencia señal es una secuencia de entre 9 y 12 residuos de aminoácidos hidrofóbicos que, algunas veces, contiene aminoácidos cargados positivamente.* Normalmente, esta secuencia se encuentra cerca del extremo amino de la cadena polipeptídica naciente. La presencia de la secuencia señal identifica al péptido naciente como uno que debe atravesar la membrana del RE. Algunas secuencias señal se mantienen en la proteína madura, mientras que otras son escindidas por medio de una *peptidasa de la señal* en el lado de la membrana del RE orientado hacia el *lumen* (ver la Figura 40.18).

2. *La partícula que reconoce la señal (SRP).* La SRP reconoce la secuencia señal y se une a la secuencia y al ribosoma tan pronto como la secuencia señal asoma por fuera del ribosoma. A continuación, la SRP conduce el ribosoma y su cadena polipeptídica naciente hacia la membrana del RE. Al igual que las proteínas G consideradas anteriormente, la SRP es una proteína que se une al GTP y que tiene actividad GTPasa. La SRP se une a todos los ribosomas, pero solo se une con fuerza a los ribosomas que muestran la secuencia señal. Por tanto, la SRP chequea todos los ribosomas hasta que localiza uno que presenta la secuencia señal. Cuando la SRP se encuentra unida a la secuencia señal, las interacciones entre el ribosoma y la SRP ocluyen el lugar de unión al EF, deteniendo así la síntesis de proteínas.

3. *El receptor de SRP.* El complejo ribosoma-SRP difunde hacia el retículo endoplasmático, donde SRP se une al receptor de SRP (SR), una proteína integral de la membrana que consta de dos subunidades, una de las cuales es, al igual que SRP, una GTPasa.

4. *El translocón.* El complejo SRP-SR conduce el ribosoma hasta la maquinaria de translocación, denominada *translocón*, un ensamblaje de múltiples subunidades de proteínas integrales de la membrana y de proteínas periféricas. El translocón es un canal por el que se introducen proteínas. Este canal se abre cuando el translocón y el ribosoma se encuentran unidos. La síntesis de proteínas se reanuda, y la cadena polipeptídica naciente pasa hacia el *lumen* del RE a través del canal que forma el translocón.

La **Figura 40. 18** muestra las interacciones entre los componentes de la maquinaria de translocación. Tanto SRP como SR contienen moléculas de GTP que, cuando se unen las dos proteínas, se encuentran alineadas en un centro activo compartido. Cuando el ribosoma ha sido entregado al translocón, las moléculas de GTP se hidrolizan, SRP y SR se disocian y la SRP queda libre para buscar otra secuencia señal y comenzar un nuevo ciclo. De este modo, la SRP actúa de forma catalítica. La peptidasa de la señal, que se encuentra asociada al translocón en el *lumen* del RE, escinde la secuencia señal de la mayor parte de las proteínas. Posteriormente, las proteínas que ahora se encuentran en el *lumen* del retículo endoplasmático serán introducidas en vesículas de transporte. Las vesículas de transporte emergen del retículo endoplasmático y son dirigidas hacia diversos lugares de la célula.

? PREGUNTA RÁPIDA 2 ¿Qué cuatro componentes son necesarios para la translocación de proteínas a través de la membrana del retículo endoplasmático?

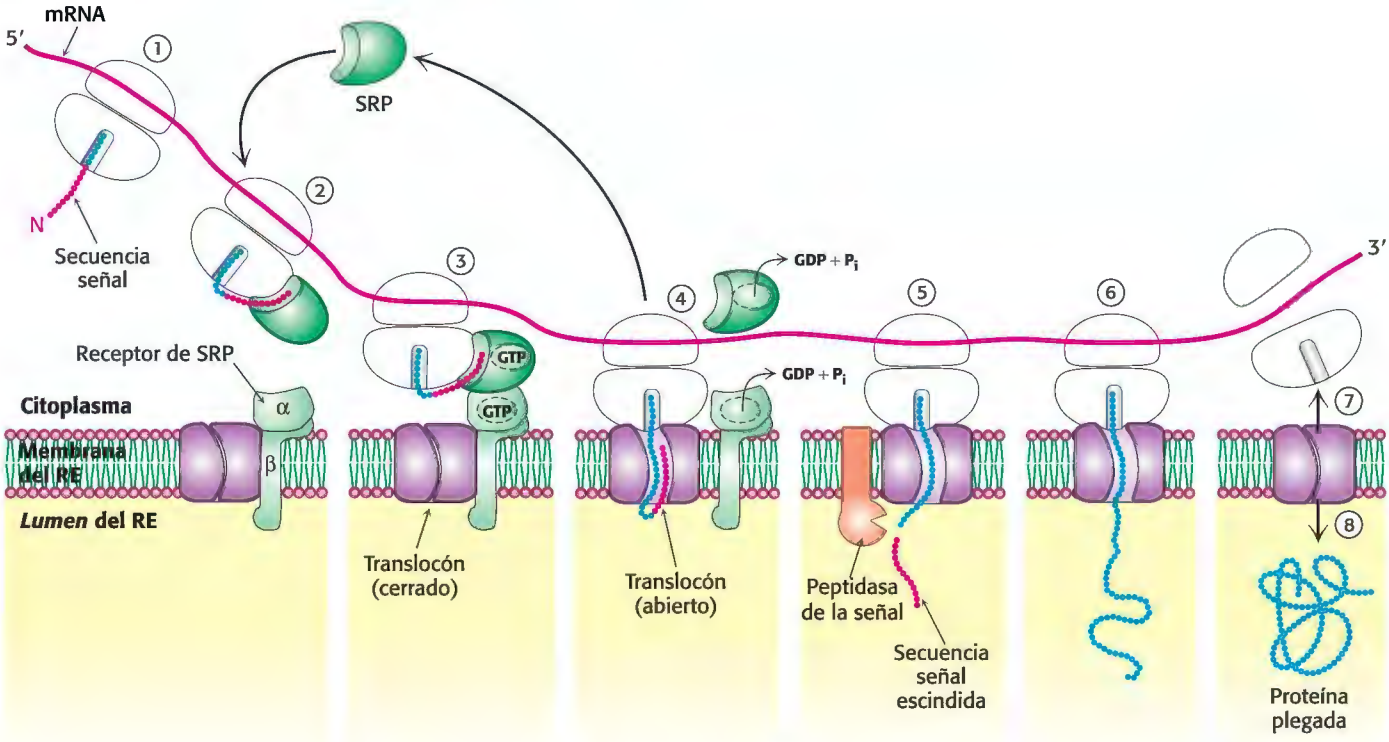


Figura 40.18 El ciclo de la SRP. (1) La síntesis de proteínas comienza en los ribosomas libres. (2) Cuando la secuencia señal asoma por el ribosoma, se une a la partícula que reconoce la señal (SRP) y la síntesis de proteínas se detiene. (3) El complejo SRP-ribosoma se acopla al receptor de SRP integrado en la membrana del RE. (4) El complejo ribosoma-polipéptido naciente se transfiere al translocón. La SRP y el receptor de SRP hidrolizan de forma simultánea el GTP que tienen unido. Se reanuda la síntesis de proteínas y la SRP queda libre para unirse a otra secuencia señal. (5) La peptidasa de la señal puede eliminar la secuencia señal a medida que se interna en el *lumen* del RE. (6) La síntesis de proteínas prosigue y la proteína se sintetiza directamente en el interior del RE. (7) Al completarse la síntesis de proteínas, el ribosoma se libera y el túnel para proteínas del translocón se cierra. [Tomada de H. Lodish y col., *Molecular Cell Biology*, 6.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2008), Fig. 13.6.]

✓ 7 Explicar cómo se regula la síntesis de proteínas.

40.6 La síntesis de proteínas se regula mediante diversos mecanismos

La síntesis de proteínas se puede controlar en varias etapas del proceso de traducción. Veremos primero cómo se controla la síntesis de proteínas por medio del hierro, un nutriente esencial necesario para la síntesis de hemoglobina, citocromos y muchas otras proteínas. Recordemos que el hierro es un componente clave de la cadena respiratoria, la principal fuente de ATP en los organismos aeróbicos (Capítulo 20). Sin embargo, un exceso de hierro puede ser bastante perjudicial porque, desprovisto de un entorno proteico adecuado, el hierro puede iniciar una serie de reacciones que generan radicales libres que pueden dañar proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. A lo largo de la evolución, los animales han desarrollado sofisticados sistemas para acumular hierro en tiempos de escasez y para almacenar los excedentes de hierro de forma segura para su posterior utilización. Entre las proteínas más importantes se encuentran la *transferrina*, una proteína que transporta hierro en el torrente sanguíneo, el *receptor de la transferrina*, una proteína de membrana que se une a la transferrina cargada de hierro e inicia su entrada en las células, y la *ferritina*, una proteína que almacena hierro de forma extraordinariamente eficaz y que se encuentra principalmente en el hígado y en los riñones.

El uso del RNA mensajero está sujeto a regulación

Durante la respuesta a cambios en la concentración de hierro, los niveles de expresión de la ferritina y del receptor de la transferrina están inversamente relacionados. Cuando hay escasez de hierro, aumenta la cantidad de receptor de la transferrina y no se sintetiza nueva ferritina, o se sintetiza muy poca. Curiosamente, la síntesis del

mRNA para estas proteínas no se modifica de forma acorde. En vez de ello, la regulación tiene lugar a nivel de la traducción.

Consideremos primero la ferritina. El mRNA de la ferritina contiene en su región 5′ no traducida una estructura tallo-bucle denominada *elemento de respuesta al hierro* (IRE) (Figura 40.19). Esta estructura tallo-bucle se une a una proteína denominada *proteína de unión a IRE* (IRE-BP), que bloquea la iniciación de la traducción. Cuando los niveles de hierro aumentan, la IRE-BP se une al hierro. Si la IRE-BP se encuentra unida al hierro no se puede unir al RNA, porque los lugares de unión al hierro y al RNA se solapan de forma considerable. Por tanto, en presencia de hierro, el mRNA para la ferritina se libera de la IRE-BP y se traduce produciendo ferritina, que se encarga de hacer acopio del exceso de hierro.

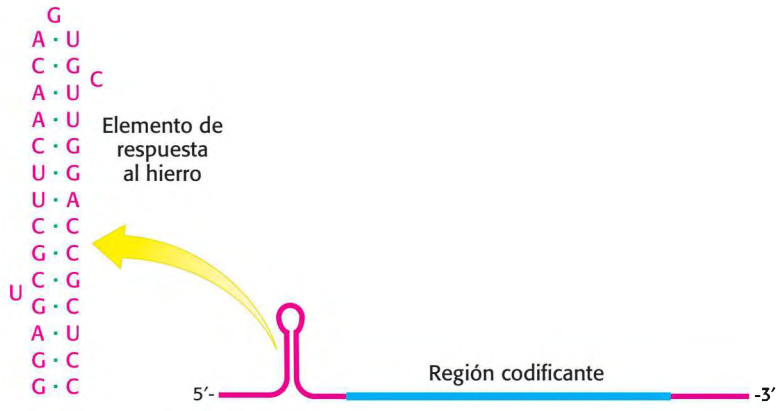


Figura 40.19 El elemento de respuesta al hierro. El mRNA para la ferritina incluye en su región 5′ no traducida una estructura tallo-bucle denominada elemento de respuesta al hierro (IRE). El IRE se une a una proteína específica que bloquea la traducción de este mRNA cuando la concentración de hierro es baja.

La estabilidad del RNA mensajero también se puede regular

El mRNA para el receptor de la transferrina también tiene varias regiones parecidas al IRE. A diferencia de las del mRNA para la ferritina, estas regiones se encuentran en la región 3′ no traducida en vez de en la región 5′ no traducida (Figura 40.20). Cuando la concentración de hierro es reducida, IRE-BP se une a estos IRE. Sin embargo, dada la ubicación de estos lugares de unión, el mRNA para el receptor de la transferrina todavía se puede traducir. ¿Qué ocurre cuando los niveles de hierro aumentan y el IRE-BP ya no se une al mRNA para el receptor de la transferrina? Liberado de la IRE-BP, el mRNA para el receptor de la transferrina se degrada rápidamente. Por tanto, un aumento de los niveles celulares de hierro da lugar a la destrucción del mRNA para el receptor de la transferrina y, por consiguiente, a una reducción de la producción del receptor de la transferrina. La IRE-BP actúa como un sensor de hierro. Si hay suficiente hierro presente como para unirse a IRE-BP, se sintetizará ferritina para almacenar el hierro. Análogamente, si hay hierro suficiente como para ser almacenado, no se necesita producir el receptor que se encarga de absorberlo. Una señal ambiental —la concentración de hierro— controla la traducción de las proteínas necesarias para el metabolismo de este metal.

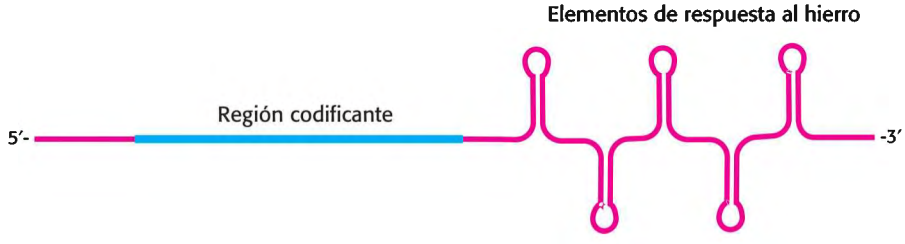


Figura 40.20 mRNA para el receptor de la transferrina. Este mRNA tiene una serie de elementos de respuesta al hierro (IRE) en su región 3′ no traducida. Cuando la proteína de unión a los IRE se une a estos elementos, estabiliza el mRNA pero no interfiere en su traducción.

Los RNA pequeños pueden regular la estabilidad del RNA mensajero y su utilización

En los últimos años, se ha descubierto un mecanismo totalmente nuevo para la regulación de la síntesis de proteínas. En un principio, la *ribointerferencia* (RNAi) se consideró un proceso que daba lugar a la degradación del mRNA, inducido por la presencia de moléculas de RNA de doble hebra (dsRNA). La RNAi, observada en todos los eucariotas, puede haber surgido a lo largo de la evolución como un mecanismo protector contra los virus que en algún punto de su ciclo vital utilizan dsRNA. En la RNAi, una RNasa denominada *Dicer*, escinde los RNA de doble hebra generando

fragmentos de 21 nucleótidos. Los componentes de hebra sencilla de los productos de la escisión, denominados *RNA interferentes pequeños* (siRNA) se unen a miembros de una clase de proteínas que se conoce con el nombre de familia *Argonauta* formando un *complejo silenciador inducido por el RNA* (RISC). Este complejo utiliza el siRNA de hebra sencilla para localizar y degradar los mRNA complementarios.

La investigación de la RNAi condujo al descubrimiento de una nueva clase de moléculas de RNA que regulan la expresión génica de forma postranscripcional. Mientras que los siRNA proceden de un RNA exógeno (de un virus o introducido experimentalmente), los *microRNA* (miRNA) son una clase de RNA no codificantes que se generan a partir de precursores más grandes, genéticamente codificados. Estas moléculas de RNA con una longitud de ~21 nucleótidos se escinden de forma similar a la descrita en el proceso de RNAi. Un procesamiento más intenso da lugar a la degradación de una de las hebras de este dsRNA de ~21 pares de bases; la otra hebra se asocia con la proteína Argonauta formando RISC, que también se denomina microRNP (miRNP). Se cree que el complejo funciona de una de las dos formas posibles. Si el RNA pequeño que forma parte del complejo se une a un mRNA mediante pares de bases exactos de tipo Watson-Crick, el mRNA se destruye (Figura 40.21). Si la complementariedad no es exacta, el mRNA, sencillamente, no se traduce. Mediante cualquiera de las dos formas de actuación, se inhibe la síntesis de proteínas.

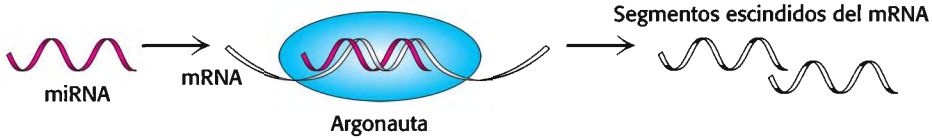


Figura 40.21 El microRNA en acción.
Los microRNA se unen a miembros de la familia de proteínas Argonauta, y su función consiste en localizar moléculas específicas de mRNA para escindirlas.

Al principio, se pensó que la regulación génica mediante miRNA estaba limitada a un pequeño número de especies. Sin embargo, estudios posteriores han puesto de manifiesto que esta forma de regulación génica es prácticamente ubicua en eucariotas. De hecho, se han identificado más de 700 miRNA codificados en el genoma humano. Cada miRNA puede regular muchos genes distintos porque en cada mRNA hay muchas secuencias diana distintas. Se ha estimado que el 60% de todos los genes humanos están regulados por uno o más miRNA. Se demostrado que los microRNA regulan una amplia gama de procesos bioquímicos, entre los que se incluyen el desarrollo, la diferenciación celular y la oncogénesis —el desarrollo del cáncer.

El descubrimiento de los RNA pequeños que regulan la expresión génica ha supuesto uno de los descubrimientos bioquímicos más apasionantes de los últimos años. El esclarecimiento del mecanismo de acción exacto de estos RNA constituye un área activa de la investigación bioquímica.

Resumen

40.1 La síntesis de proteínas descodifica la información del mRNA

La síntesis de proteínas se lleva a cabo en tres fases: iniciación, elongación y terminación. En bacterias, el mRNA, el formilmetionil-$tRNA_f$ (el tRNA iniciador especial que reconoce AUG) y una subunidad ribosómica de 30S se asocian con la ayuda de los factores de iniciación para formar un complejo de iniciación de 30S. Después, este complejo se une a una subunidad ribosómica de 50S para formar un complejo de iniciación de 70S, en el que el fMet-$tRNA_f$ ocupa el lugar P del ribosoma.

El factor de elongación Tu suministra los aminoacil-tRNA apropiados al lugar A (aminoacil) del ribosoma en forma de un complejo ternario EF-Tu-aminoacil-tRNA-GTP. El EF-Tu actúa protegiendo el aminoacil-tRNA de una hidrólisis prematura e incrementando la fidelidad de la síntesis de proteínas, ya que garantiza la formación del emparejamiento correcto anticodón-codón antes de que se hidrolice el GTP y se libere el aminoacil-tRNA en el lugar A.

40.2 La peptidiltransferasa cataliza la síntesis de enlaces peptídicos

Cuando el grupo amino del aminoacil-tRNA ataca el enlace éster del peptidil-tRNA, se forma un enlace peptídico. El ribosoma cataliza la formación del

enlace peptídico utilizando la catálisis de proximidad y orientación, y estabilizando el estado de transición.

Una vez formado el enlace peptídico, los tRNA y el mRNA se tienen que translocar para que pueda comenzar el siguiente ciclo. El tRNA desacilado se desplaza al lugar E para, después, abandonar el ribosoma, y el peptidil-tRNA se traslada del lugar A al lugar P. El factor de elongación G utiliza la energía libre de la hidrólisis del GTP para impulsar la translocación. La síntesis de proteínas termina gracias a los factores de liberación, que reconocen los codones de terminación UAA, UGA y UAG y provocan la hidrólisis del enlace éster que une el polipéptido al tRNA.

40.3 Las bacterias y los eucariotas difieren en la iniciación de la síntesis de proteínas

En eucariotas, el esquema básico de la síntesis de proteínas es similar al de las bacterias, aunque hay algunas diferencias significativas. Los ribosomas eucarióticos (80S) están formados por una subunidad pequeña de 40S y por una subunidad grande de 60S, De nuevo, el aminoácido iniciador es la metionina, pero no está formilada. La iniciación de la síntesis de proteínas es más compleja en eucariotas que en bacterias. Casi siempre, el codón AUG más próximo al extremo 5′ del mRNA es el punto de partida. La subunidad de 40S del ribosoma encuentra este lugar uniéndose al capuchón 5′ y, posteriormente, escaneando el RNA hasta encontrar la secuencia AUG. El mRNA eucariótico forma un círculo mediante interacciones entre el factor eucariótico de iniciación 4 y la proteína que se une a poli(A).

40.4 Diversas biomoléculas pueden inhibir la síntesis de proteínas

La síntesis de proteínas es el lugar donde actúa una serie de antibióticos. Casi todos los aspectos de la síntesis de proteínas son sensibles a un antibiótico o a otro. El hecho de que muchos antibióticos actúen sobre la síntesis de proteínas bacteriana pero no en la eucariótica, les convierte en sustancias muy útiles desde el punto de vista clínico. Toxinas como la de la difteria o la ricina son letales porque inhiben la síntesis de proteínas. La toxina de la difteria modifica y desactiva un factor proteico, mientras que la ricina elimina una base del rRNA de 28S, con lo que anula su actividad catalítica.

40.5 Los ribosomas unidos al retículo endoplasmático sintetizan proteínas de membrana y proteínas que van a ser secretadas

Las proteínas contienen señales que determinan su destino final. En eucariotas, algunas proteínas son transportadas a orgánulos, como las mitocondrias y los núcleos, de forma postraduccional. Otras proteínas, siguiendo la ruta secretora, se adentran en el retículo endoplasmático de forma cotraduccional. La síntesis de proteínas se lleva a cabo en el citoplasma, a menos que la cadena naciente presente una secuencia señal que dirija el ribosoma al retículo endoplasmático. Las secuencias señal amino terminales constan de un segmento hidrofóbico de entre 10 y 15 residuos, precedida de una región básica. Una partícula que reconoce la señal (SRP) detecta las secuencias señal y conduce los ribosomas que las contienen hacia el RE. Un ciclo GTP-GDP libera la secuencia señal de la SRP y, posteriormente, disocia la SRP de su receptor. A continuación, la cadena naciente es translocada a través de la membrana del RE.

40.6 La síntesis de proteínas se regula mediante diversos mecanismos

En eucariotas, los genes que codifican proteínas que transportan y almacenan el hierro están regulados a nivel de la traducción. Los elementos de respuesta al hierro (IRE), estructuras presentes en determinadas moléculas de mRNA, se unen a la proteína de unión a IRE cuando no se encuentra unida al hierro. Que la expresión de un gen se estimule o se inhiba en respuesta a cambios en los niveles de hierro de una célula depende de la ubicación del IRE en el mRNA. Recientemente se han descubierto unos microRNA que también pueden regular la síntesis de proteínas, bien provocando la degradación del RNA o bien inhibiendo la traducción del mRNA.

Términos clave

subunidad de 30S (p. 690)
subunidad de 50S (p. 690)
secuencia de Shine-Dalgarno (p. 691)
factor de iniciación (p. 692)
factor de elongación Tu (EF-Tu) (p. 692)
factor de elongación Ts (EF-Ts) (p. 693)
centro peptidiltransferasa (p. 693)
factor de elongación G (EF-G) (p. 693)
polisoma (p. 694)
factor de liberación (p. 695)
envío de proteínas a su destino (p. 700)
secuencia señal (p. 701)
peptidasa de la señal (p. 701)
partícula que reconoce la señal (SRP) (p. 701)
receptor de SRP (SR) (p. 701)
translocón (p. 701)
transferrina (p. 702)
receptor de la transferrina (p. 702)
ferritina (p. 702)
elemento de respuesta al hierro (IRE) (p. 703)
proteína de unión a IRE (IRE-BP) (p. 703)
ribointerferencia (RNAi) (p. 703)
microRNA (miRNA) (p. 704)

? Respuestas a las PREGUNTAS RÁPIDAS

1. Factores proteicos modulan la iniciación de la síntesis de proteínas. El papel de IF1 y de IF3 consiste en evitar la unión prematura de las subunidades ribosómicas de 30S y de 50S, mientras que IF2 suministra el Met-tRNA$_f$ al ribosoma. También se necesitan factores proteicos para la elongación (EF-G y EF-Tu), para la terminación (factores de liberación, RF) y para la disociación del ribosoma (factores de liberación del ribosoma, RRF).

2. La secuencia señal, la partícula que reconoce la señal (SRP), el receptor de SRP y el translocón.

Problemas

1. *La torre de Babel.* ¿Por qué la síntesis de proteínas también se denomina traducción?

2. *Frases correctas.* ¿Qué quiere decir el término *pauta de lectura*?

3. *Emparéjelos.* Relacione cada término de la derecha con los términos *a*, *b* o *c* de la izquierda. ✓ 3 y 4

(a) Iniciación _____
(b) Elongación _____
(c) Terminación _____

1. GTP
2. AUG
3. fMet
4. RRF
5. IF2
6. Shine–Dalgarno
7. EF-Tu
8. Peptidiltransferasa
9. UGA
10. Transformilasa

4. *¿Esfuerzo baldío?* Las moléculas de RNA de transferencia son bastante grandes, teniendo en cuenta que el anticodón solo contiene tres nucleótidos. ¿Cuál es la función del resto de la molécula de tRNA? ✓ 3

5. *Ribosomas ligeros y pesados.* La centrifugación en gradiente de densidad es una técnica que permite la separación de moléculas biológicas y de complejos moleculares en función de diferencias en la densidad. Se aislaron ribosomas a partir de bacterias cultivadas en un medio "pesado" (^{13}C y ^{15}N) y a partir de bacterias cultivadas en un medio "ligero" (^{12}C y ^{14}N). Se añadieron estos ribosomas de 70S a un sistema *in vitro* en el que se estaba llevando a cabo la síntesis de proteínas. Varias horas más tarde, se extrajo una alícuota y se analizó mediante centrifugación en gradiente de densidad. ¿Cuántos tipos de ribosomas de 70S de distinta densidad esperaría encontrar en el gradiente de densidad? ✓ 4 y 5

6. *El precio de la síntesis de proteínas.* ¿Cuál es el mínimo número de moléculas de ATP y GTP que se consumen durante la síntesis de una proteína de 200 residuos, partiendo de los aminoácidos? Al hacer este cálculo, considere que la hidrólisis del PP_i es equivalente a la hidrólisis del ATP.

7. *Mutación vírica.* Un transcrito de mRNA de un gen del fago T7 presenta la siguiente secuencia de bases

↓
5′-AACUGCACGAGGUAACACAAGAUGGCU-3′

Pronostique el efecto de una mutación que cambie la G marcada por la flecha por una A. ✓ 3

8. *Aumentando la fidelidad.* Compare la precisión de (a) la replicación del DNA, (b) la síntesis de RNA y (c) la síntesis de proteínas. ¿Qué mecanismos se utilizan para garantizar la fidelidad de cada uno de estos procesos? ✓ 4

9. *Hay que saber dónde mirar.* Normalmente, los RNA mensajeros bacterianos contienen muchos codones AUG. ¿Cómo identifica el ribosoma el AUG que especifica la iniciación? ✓ 4 y 5

10. *Desencadenado por la hidrólisis del GTP.* Los ribosomas aceleran notablemente la hidrólisis del GTP unido al complejo formado por el EF-Tu y el aminoacil-tRNA. ¿Cuál es la relevancia biológica de esta intensificación de la actividad GTPasa por parte de los ribosomas? ✓ 4

11. *Bloqueando la traducción.* Diseñe una estrategia experimental para interrumpir la expresión de un mRNA específico sin cambiar el gen que codifica la proteína ni los elementos de control del gen. ✓ 3

12. *Problema direccional.* Suponga que dispone de un sistema de síntesis de proteínas que está sintetizando una proteína que

llamaremos A. Además, se sabe que la proteína A tiene cuatro lugares sensibles a la tripsina, situados a la misma distancia uno de otro, y que la digestión con tripsina genera los péptidos A_1, A_2, A_3, A_4 y A_5. El péptido A_1 es el péptido amino terminal y el péptido A_5 es el péptido carboxilo terminal. Por último, se sabe que el sistema necesita 4 minutos para sintetizar una proteína A completa. A $t = 0$, se añaden los 20 aminoácidos, todos ellos marcados con ^{14}C. ✓ 4

(a) A $t = 1$ minuto, se aísla la proteína A intacta del sistema, se corta con tripsina y se aíslan los cinco péptidos. ¿Cuál es el péptido marcado con más intensidad?
(b) A $t = 3$ minutos, ¿cuál será el orden de marcaje de los péptidos, de más pesado a más ligero?
(c) ¿Qué nos indica este experimento sobre la dirección en que se lleva a cabo la síntesis de proteínas?

13. *Dispositivo temporizador.* El EF-Tu, un miembro de la familia de proteínas G, desempeña un papel fundamental en la fase de elongación de la traducción. Supongamos que se añade un análogo del GTP que se hidroliza lentamente a un sistema que está en fase de elongación. ¿Cuál sería el efecto sobre la velocidad de síntesis de proteínas? ✓ 4

14. *Básicamente es lo mismo, pero ...* Enumere las diferencias que hay entre la síntesis de proteínas bacteriana y la síntesis de proteínas eucariótica. ✓ 6

15. *Transporte a través de membranas.* ¿Qué cuatro componentes se necesitan para la translocación de proteínas a través de la membrana del retículo endoplasmático? ✓ 4

16. *Como un perro pastor.* ¿Cuál es la función de la partícula que reconoce la señal en la translocación de proteínas? ✓ 4 y 5

17. *Empujar, no tirar.* ¿Cuál es la fuente de energía que impulsa el movimiento cotraduccional de proteínas a través de la membrana del retículo endoplasmático? ✓ 5

18. *Cadena de montaje.* ¿Por qué es ventajoso el hecho de que la síntesis de proteínas se lleve a cabo por medio de polisomas? ✓ 5

19. *Regulación del hierro.* ¿Qué efecto esperaría observar tras la adición de un elemento de respuesta al hierro (IRE) al extremo 5′ de un gen que normalmente no esté regulado por los niveles de hierro? ¿Y si lo añade en el extremo 3′? ✓ 7

20. *Pronosticando la regulación mediante microRNA.* Suponga que ha identificado un miRNA que tiene la secuencia 5′-GCCUAGCCUUAGCAUUGAUUGG-3′. Proponga una estrategia para identificar el mRNA que podría estar regulado por este miRNA, conociendo las secuencias de todos los mRNA codificados por el genoma humano. ✓ 7

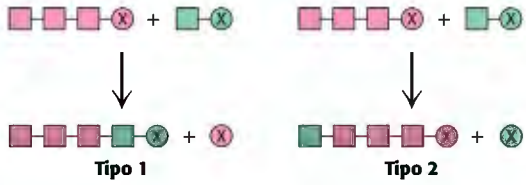
Problemas de integración de capítulos

21. *Dèjá vu.* ¿Qué proteína de las cascadas de proteínas G desempeña un papel similar al factor de elongación Ts? ✓ 4

22. *Parecido familiar.* El factor de elongación eucariótico 2 se inhibe por la ADP-ribosilación catalizada por la toxina de la difteria. ¿Qué otras proteínas G son sensibles a esta forma de inhibición?

23. *Comparando formas de elongación.* En la ilustración adjunta se representan dos mecanismos básicos para la elongación de biomoléculas. En el tipo 1, el grupo activador (X) se libera de la cadena creciente. En el tipo 2, el grupo activador se libera de la unidad entrante a medida que se incorpora a la cadena creciente. Indique si cada uno de los siguientes procesos de biosíntesis se lleva a cabo mediante un mecanismo de tipo 1 o de tipo 2:

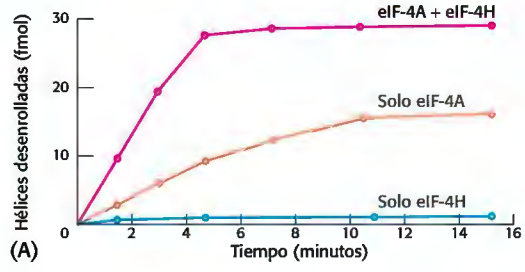
(a) Síntesis de glucógeno
(b) Síntesis de ácidos grasos
(c) $C_5 \rightarrow C_{10} \rightarrow C_{15}$ en la síntesis de colesterol
(d) Síntesis de DNA
(e) Síntesis de RNA
(f) Síntesis de proteínas



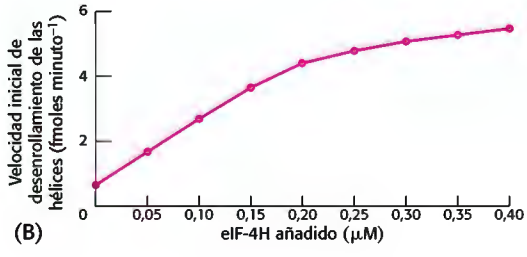
24. *El paso final.* ¿Qué aspecto de la estructura primaria permite transferir la información lineal de los ácidos nucleicos a la estructura tridimensional funcional de las proteínas?

Problemas de interpretación de datos para atrevidos

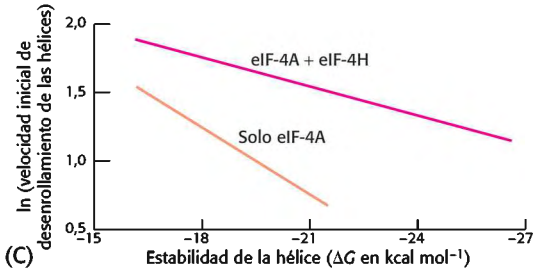
25. *Helicasa ayudante.* El factor de iniciación eIF-4 presenta actividad RNA helicasa dependiente de ATP. Se ha propuesto que otro factor de iniciación, eIF-4H, ayuda en la actividad de eIF-4. El gráfico A muestra algunos resultados experimentales obtenidos mediante un ensayo que puede medir la actividad de la helicasa eIF-4 en presencia de eIF-4H. ✓ 4



(a) ¿Qué efectos produce la presencia de eIF-4H sobre la actividad helicasa de eIF-4?
(b) ¿Por qué la medida de la actividad helicasa de eIF-4H solo constituye un importante experimento control?
(c) Después, se midió la velocidad inicial de la actividad helicasa de 0,2 μM de eIF-4 en presencia de cantidades variables de eIF-4H (gráfico B). ¿Qué proporción entre eIF-4H y eIF-4 dio lugar a la actividad óptima?



(d) A continuación, se ensayó el efecto de la estabilidad de la hélice RNA-RNA sobre la velocidad inicial de desenrollamiento en presencia y en ausencia de eIF-4H (gráfico C). ¿Cómo varía el efecto de eIF-4H en función de la estabilidad de la hélice?

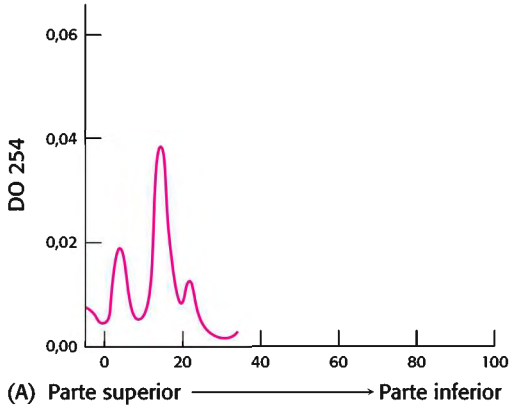


(C)

(e) ¿Cómo afectaría el eIF-4H a la actividad helicasa de eIF-4A?

[Datos tomados de N. J. Richter, G. W. Rodgers, Jr., J. O. Hensold, y W. C. Merrick. Further biochemical and kinetic characterization of human eukaryotic initiation factor 4H. *J. Biol. Chem.* 274: 35415-35424, 1999.]

26. *Separación por tamaños.* Se aisló la maquinaria para la síntesis de proteínas a partir de células eucarióticas y se trató brevemente con una baja concentración de RNasa. Después, se sometió la muestra a una centrifugación en gradiente de sacarosa. El gradiente se fraccionó y se midió la absorbancia, o densidad óptica (DO), a 254 nm, de cada fracción. Se obtuvieron los datos mostrados en la gráfica A. ✓ 4

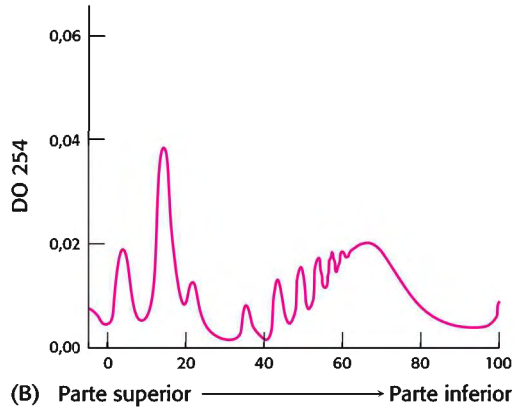


(A)

(a) ¿Qué representan los tres picos de absorbancia de la gráfica A?

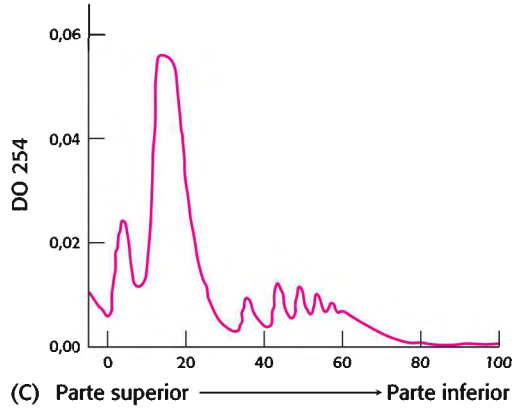
Se repitió el experimento, aunque, esta vez, se omitió el tratamiento con la RNasa.

(b) ¿Por qué el patrón obtenido tras la centrifugación que se muestra en la gráfica B es más complejo? ¿Qué representa la serie de picos que aparecen cerca del fondo del tubo de centrífuga?



(B)

Antes de aislar la maquinaria de síntesis de proteínas, se cultivaron las células a bajas concentraciones de oxígeno (condiciones de hipoxia). De nuevo, se repitió el experimento omitiendo el tratamiento con RNasa (gráfica C).



(C)

(c) ¿Cuál es el efecto de hacer crecer las células en condiciones de hipoxia?

[Datos tomados de M. Koritzinsky y col. *EMBO J.* 25: 1114-1125, 2006.]

27. *Suprimiendo los cambios en la pauta de lectura.* La inserción de una base en una secuencia codificante da lugar a un cambio en la pauta de lectura que, en la mayoría de los casos, genera una proteína que no funciona. Proponga una mutación en un tRNA que elimine el cambio de la pauta de lectura.

28. *Ataque molecular.* ¿Cuál es el nucleófilo en la reacción catalizada por la peptidiltransferasa? Sugiera un posible mecanismo para esta reacción. ✓ 5

29. *La increíble E. coli.* A diferencia de lo que ocurre en *E. coli*, la mayoría de las bacterias no contienen una dotación completa de aminoacil-tRNA sintetasas. Por ejemplo, *Helicobacter pylori*, la bacteria que provoca úlceras de estómago, tiene $tRNA^{Gln}$, pero carece de Gln-tRNA sintetasa. Sin embargo, la glutamina es un aminoácido frecuente en las proteínas de *H. pylori*. Sugiera un mecanismo mediante el cual se pueda incorporar la glutamina a las proteínas de *H. pylori*. (Pista: la Gln-tRNA sintetasa puede acilar mal el $tRNA^{Gln}$.) ✓ 4

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

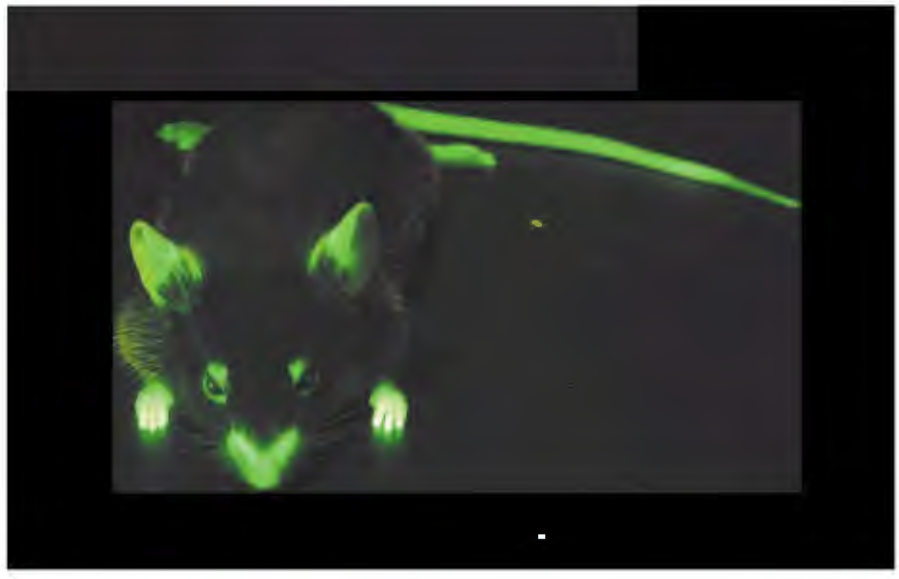
CAPÍTULO 41

Tecnología del DNA recombinante

41.1 La genética inversa permite la síntesis de ácidos nucleicos a partir de una secuencia de proteína

41.2 La tecnología del DNA recombinante ha revolucionado todos los aspectos de la biología

41.3 Los genes eucarióticos se pueden manipular con una precisión considerable



A menudo, las enfermedades hereditarias son el resultado de un gen defectuoso o de un gen que falta. Uno de los objetivos de la bioquímica consiste en tratar este tipo de enfermedades sustituyendo el gen defectuoso por una versión funcional. En el ejemplo de manipulación de genes ilustrado aquí, se insertó en un embrión de ratón un gen recombinante formado por el gen de la actina, una proteína del citoesqueleto, unido al gen de la proteína fluorescente verde. La fotografía fluorescente del ratón muestra la localización de la proteína fluorescente verde (GFP) unida a las moléculas de actina. El pelo no contiene actina y, por tanto, no emite fluorescencia. [Dr. Charles Mazel.]

Cuando hicimos un repaso de las técnicas experimentales en el Capítulo 5, nos centramos en la purificación de proteínas, en técnicas inmunológicas y en la determinación de la secuencia de aminoácidos. En este capítulo, ampliaremos nuestro repertorio de técnicas para incluir aquellas que se utilizan con ácidos nucleicos —concretamente, las que forman parte de la tecnología del DNA recombinante. Seguiremos con nuestro estudio del receptor de estrógenos, un factor de transcripción que regula ciertos genes en respuesta a la presencia de la hormona esteroidea estradiol (p. 651). En este caso, utilizaremos la proteína receptora purificada para aislar el DNA que la codifica, para expresar el receptor en bacterias, para investigar la naturaleza de su gen y, después, para descubrir si existen parientes de esta proteína en otros organismos o proteínas similares en el mismo organismo.

41.1 La genética inversa permite la síntesis de ácidos nucleicos a partir de una secuencia de proteína

En el Capítulo 5, purificamos el receptor utilizando anticuerpos monoclonales. ¿Cuál es el siguiente paso a la hora de caracterizar el receptor? Hay muchas posibles respuestas a esta pregunta, pero una especialmente frecuente es el aislamiento del DNA que codifica

el receptor. Hay "bibliotecas" de secuencias de DNA en las que podemos buscar las secuencias que corresponden al receptor. Por ejemplo, una *biblioteca de DNA complementario* (cDNA) es una colección de secuencias de DNA que representa a todos los mRNA expresados por una célula. La enzima *transcriptasa inversa* utiliza el mRNA como molde para sintetizar una copia de DNA, o *DNA complementario*. Si podemos aislar el cDNA del receptor de estrógenos, podemos insertar el DNA en bacterias y las bacterias producirán el receptor de estrógenos para nuestros experimentos. ¿Cómo podemos encontrar el receptor de estrógenos en la biblioteca de cDNA? Podemos utilizar nuestro receptor de estrógenos purificado para generar una sonda que nos permita identificar las secuencias de DNA de la biblioteca que corresponden al receptor de estrógenos.

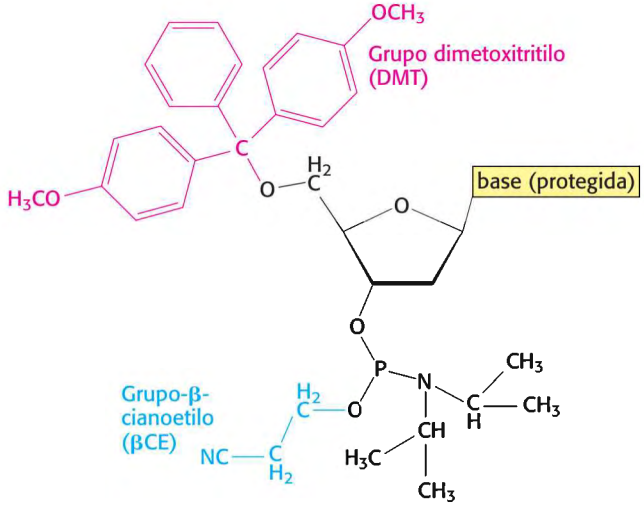
La secuencia de una proteína nos conduce a la secuencia del ácido nucleico correspondiente

En el Capítulo 5, analizamos las técnicas que se utilizan para secuenciar una proteína completa. Para buscar en bibliotecas de DNA necesitamos una sonda —un compuesto químico de algún tipo capaz de reconocer las secuencias de DNA que corresponden al receptor de estrógenos. Para generar sondas que nos permitan buscar el gen del receptor de estrógenos en una biblioteca de cDNA necesitamos conocer solo una parte de la estructura primaria del receptor. El conocimiento de la estructura primaria de una proteína permite utilizar la *genética inversa* —la generación de secuencias de DNA que corresponden a una parte de la secuencia de aminoácidos, en base al código genético. Estas secuencias de DNA se pueden utilizar como sondas para aislar el gen que codifica la proteína o el cDNA que corresponde al mRNA. Por ejemplo, la sonda de hebra sencilla se puede marcar radiactivamente para, después, mezclarla con bibliotecas de DNA. La sonda se emparejará, o hibridará, con una molécula de DNA complementaria, identificando la molécula de DNA como aquella que codifica la secuencia de la proteína que se utilizó para generar la sonda.

Utilizando el receptor purificado como material de partida, podemos utilizar el procedimiento de degradación de Edman (p. 84) para determinar la secuencia de aminoácidos de una parte del receptor. Con esta información y una copia del código genético (p. 677) a mano, podemos convertir la información de la secuencia de una proteína en la información de una secuencia de ácido nucleico y, después, en una sonda de DNA.

Se pueden sintetizar sondas de DNA mediante métodos automatizados

Se puede sintetizar una hebra de DNA mediante la adición secuencial de monómeros activados a una cadena creciente que esté unida a un soporte insoluble. Los monómeros activados son *desoxirribonucleósido 3′-fosforamiditas* protonadas en las que todos los grupos reactivos del nucleótido, menos uno, están protegidos, ya que se encuentran unidos de forma provisional a grupos no reactivos.



Un desoxirribonucleósido 3′-fosforoamidita al que se le han añadido los grupos DMT y βCE

En el paso número 1, el átomo de fósforo en posición 3′ de esta unidad entrante se une a la cadena en crecimiento formando un *triéster de fosfito* (Figura 41.1). En el paso número 2, el triéster de fosfito es oxidado por el iodo para estabilizar el nuevo enlace. En el paso número 3, se elimina el grupo protector del grupo OH en posición 5′ de la cadena en crecimiento mediante la adición de ácido dicloroacético. En este momento, la cadena de DNA se ha alargado una unidad y está lista para otro ciclo de adición. Cada ciclo solo tarda unos pocos minutos y, normalmente, lleva a cabo la elongación de más del 99% de las hebras.

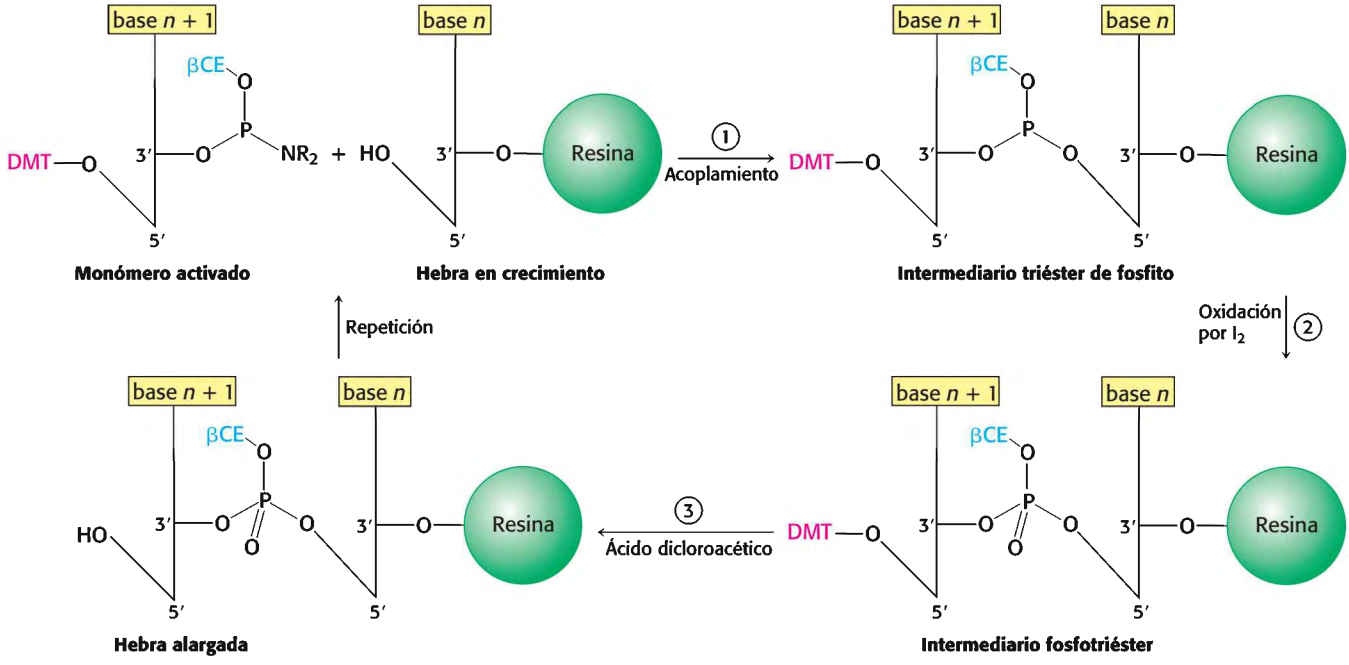


Figura 41.1 Síntesis de una hebra de DNA por el método del triéster de fosfito. El monómero activado que se añade a la hebra en crecimiento es un desoxirribonucleósido 3′-fosforamidita que contiene un grupo protector dimetoxitritilo (DMT) unido al átomo de oxígeno en posición 5′, un grupo protector β-cianoetilo (βCE) unido al átomo de oxígeno del grupo fosforilo en posición 3′ y un grupo protector en la base.

La capacidad para sintetizar de forma rápida hebras de DNA con cualquier secuencia seleccionada abre numerosas vías experimentales. Por ejemplo, un oligonucleótido sintético marcado en uno de sus extremos con ^{32}P o con un marcador fluorescente puede ser utilizado para buscar una secuencia complementaria en una colección de secuencias de DNA. En nuestro experimento, prepararemos una sonda radiactiva de DNA que corresponda a una parte de la estructura primaria del receptor de estrógenos. Utilizaremos esta sonda para hacer búsquedas en colecciones de secuencias de DNA que codifiquen el receptor de estrógenos. Sin embargo, antes de hacerlo, tenemos que analizar las características prácticas del DNA que estamos buscando y, durante este proceso, examinaremos algunas de las herramientas de la tecnología del DNA recombinante.

41.2 La tecnología del DNA recombinante ha revolucionado todos los aspectos de la biología

✓ 8 Enumerar las herramientas clave de la tecnología del DNA recombinante y explicar cómo se utilizan para clonar el DNA.

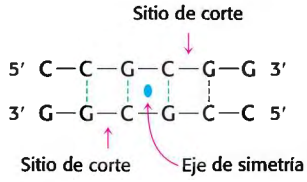
La tecnología del DNA recombinante, desarrollada a principios de la década de 1970, ha hecho que la biología pase de ser una ciencia exclusivamente analítica a ser una ciencia sintética. Utilizando la tecnología del DNA recombinante es posible construir en el laboratorio nuevas combinaciones de genes no relacionados. Estas nuevas combinaciones se pueden clonar —amplificar un gran número de veces— mediante su inserción en células adecuadas, donde serán replicadas por la maquinaria de síntesis de DNA del huésped. Con frecuencia, los genes introducidos se transcriben y se traducen en su nuevo entorno, dando lugar a proteínas que normalmente no se encontrarían en la célula huésped. Recordemos también que la tecnología del DNA recombinante permite a los investigadores eliminar genes específicos de un genoma (*knock-out*) o añadirlos (*knock-in*) (p. 622).

Las enzimas de restricción cortan el DNA generando fragmentos específicos

Las enzimas de restricción son, quizás, las herramientas que han hecho posible el desarrollo de la tecnología del DNA recombinante. Las *enzimas de restricción*, también denominadas *endonucleasas de restricción*, reconocen determinadas secuencias de bases en el DNA de doble hélice y escinden las dos hebras por sitios específicos. Para los bioquímicos, estos bisturís de exquisita precisión constituyen un maravilloso regalo de la naturaleza. Son imprescindibles para analizar la estructura de los cromosomas, para secuenciar moléculas muy largas de DNA, para aislar genes y para crear nuevas moléculas de DNA que se puedan clonar.

Se han encontrado enzimas de restricción en una amplia gama de bacterias. Su función biológica consiste en escindir y, por tanto, destruir moléculas foráneas de DNA, como el DNA de los virus que atacan bacterias (bacteriófagos). El DNA de la propia célula no se degrada porque las secuencias reconocidas por sus propias enzimas de restricción están metiladas. Muchas enzimas de restricción reconocen secuencias específicas de entre cuatro y ocho pares de bases, denominadas sitios de corte, e hidrolizan un enlace fosfodiéster en un sitio específico de cada una de las hebras en esta región. Una característica llamativa de estos sitios de corte es que casi siempre poseen *simetría rotacional binaria*. En otras palabras, la secuencia que reconocen es *palindrómica*, o una repetición invertida, y los sitios de corte se disponen simétricamente. Por ejemplo, la secuencia reconocida por una enzima de restricción de *Streptomyces achromogenes* es:

Un palíndromo (del griego *palindromos*, "volver sobre sus pasos") es una palabra, frase o verso que se lee igual de izquierda a derecha que de derecha a izquierda (p. ej., radar).



En cada hebra, la enzima escinde el enlace fosfodiéster C-G situado en el lado 3′ del eje de simetría.

Se han purificado y caracterizado cientos de enzimas de restricción. Sus nombres están formados por una abreviatura de tres letras que hace referencia al organismo de donde procede (p. ej., *Eco* para *Escherichia coli*, *Hin* para *Haemophilus influenzae*, *Hae* para *Haemophilus aegyptius*), seguida (si es preciso) de una indicación de la cepa en cuestión y de un número romano (en el caso de que se haya identificado más de una enzima de restricción a partir de la misma cepa). En la Figura 41.2 se muestra la especificidad de varias enzimas de este tipo. Las enzimas de restricción se utilizan para cortar moléculas de DNA obteniendo fragmentos específicos que puedan ser analizados y manipulados con más facilidad que la molécula completa original.

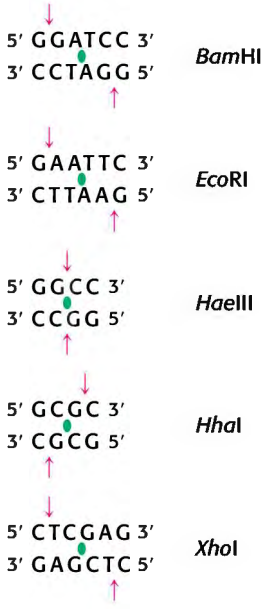


Figura 41.2 Especificidad de algunas endonucleasas de restricción. Las secuencias reconocidas por estas enzimas presentan un eje de simetría binario centrado en el punto de color verde. Los sitios de corte están señalados mediante flechas rojas. A la derecha de cada secuencia se indica el nombre abreviado de la enzima de restricción que la reconoce. Los cortes pueden ser escalonados o romos.

Los fragmentos de restricción se pueden separar y visualizar mediante electroforesis en gel

Es posible detectar fácilmente pequeñas diferencias entre moléculas de DNA similares, ya que sus fragmentos de restricción se pueden separar y visualizar mediante electroforesis en gel. En el Capítulo 5, vimos el uso de la electroforesis en gel para separar moléculas de proteína. En principio, la electroforesis en gel de los ácidos nucleicos es parecida a la electroforesis en gel de proteínas. Sin embargo, al trabajar con ácidos nucleicos, la muestra no está desnaturalizada y, con frecuencia, el gel se elabora con agarosa en vez de con poliacrilamida. Como el esqueleto fosfodiéster del DNA posee gran cantidad de cargas negativas, esta técnica también resulta adecuada para separar fragmentos de ácidos nucleicos. En la mayoría de los geles, cuanto más corto sea el fragmento de DNA, mayor será la distancia que recorra. Los geles de poliacrilamida se utilizan para separar, en función de su tamaño, fragmentos con una longitud de hasta 1.000 pares de bases, mientras que para separar mezclas de fragmentos más grandes (de hasta 20 kb) se emplean geles de agarosa, más porosos. Una característica importante de estos geles es su elevado poder de resolución. En determinados tipos de gel se pueden distinguir fragmentos de varios cientos de nucleótidos cuya longitud difiere en un solo nucleótido. Las bandas o manchas que el DNA forma en los geles se pueden visualizar tiñendo el gel con bromuro de etidio, que emite una intensa fluorescencia de color naranja cuando se

La agarosa es un polisacárido que se obtiene de las algas. Al calentarlo en agua, se disuelve; al enfriarse, forma un gel que se utiliza como soporte para la electroforesis.

encuentra unido a una molécula de DNA de doble hélice (Figura 41.3). Se puede ver fácilmente una banda que contenga tan solo 50 ng de DNA.

Es posible identificar un fragmento de restricción que contenga una determinada secuencia de bases hibridándolo con una hebra de DNA complementaria marcada, como, por ejemplo, nuestra sonda para el receptor de estrógenos (Figura 41.4). A partir de una mezcla, se separan los fragmentos de restricción mediante electroforesis en un gel de agarosa, se desnaturalizan para formar DNA de hebra sencilla y se transfieren a una lámina de nitrocelulosa. Las posiciones que ocupan los fragmentos de DNA en el gel se mantienen en la hoja de nitrocelulosa, donde son expuestos a una sonda de DNA de hebra sencilla, marcada con ^{32}P. A continuación, se coloca una película de rayos X sobre la nitrocelulosa. La radiactividad de la sonda oscurecerá la película en determinadas bandas. Este proceso, denominado *autorradiografía*, permite determinar la posición del dúplex formado por el fragmento de restricción y la sonda. De esta manera se puede identificar con facilidad un fragmento concreto de entre una mezcla que contenga millones de fragmentos distintos. Esta poderosa técnica se conoce como *transferencia Southern* (*Southern blotting*), porque fue inventada por Edwin Southern.

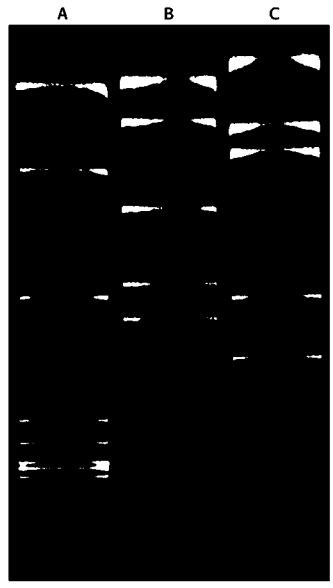


Figura 41.3 Patrón de una electroforesis en gel realizada tras una digestión con enzimas de restricción. Este gel muestra los fragmentos obtenidos tras cortar el DNA del virus SV40 con tres enzimas de restricción distintas. La fluorescencia de los fragmentos se debe a la tinción del gel con bromuro de etidio. [Cortesía del Dr. Jeffrey Sklar.]

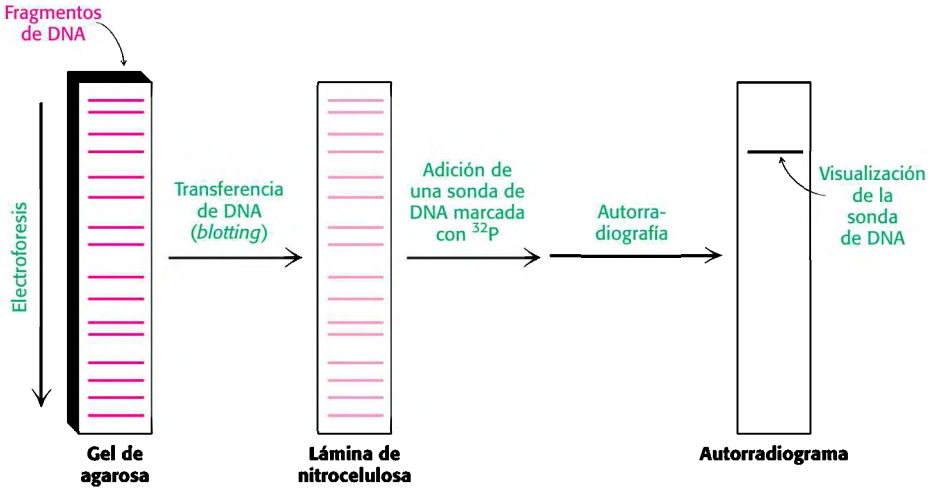


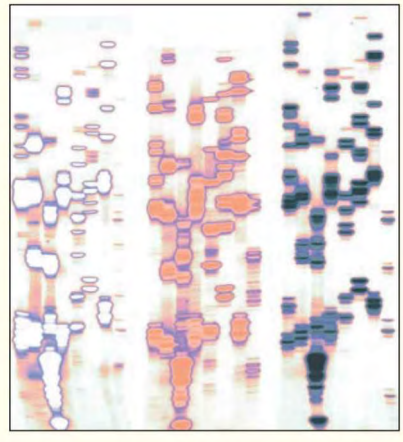
Figura 41.4 Transferencia Southern. Un fragmento de DNA que contiene una secuencia específica se puede identificar separando una mezcla de fragmentos por electroforesis, transfiriéndolos a nitrocelulosa e hibridándolos con una sonda complementaria a la secuencia buscada y que esté marcada con ^{32}P. A continuación, el fragmento que contiene la secuencia buscada se visualiza por autorradiografía.

De forma similar, se pueden separar moléculas de RNA por electroforesis en gel y se pueden identificar secuencias concretas mediante hibridación, tras haber sido transferidas a nitrocelulosa. Esta técnica análoga para el análisis de RNA se ha denominado de forma un tanto caprichosa *transferencia northern* (*northern blotting*). Siguiendo con este juego de palabras se ha acuñado el término *transferencia western* (*western blotting*), que hace referencia a una técnica que permite detectar una proteína concreta tiñéndola con un anticuerpo específico (Capítulo 5). Las transferencias Southern, northern y western también se conocen como *transferencias de DNA, de RNA y de proteínas*, respectivamente.

Las enzimas de restricción y la DNA ligasa son herramientas clave para formar moléculas de DNA recombinante

Comencemos por ver de qué manera se pueden construir nuevas moléculas de DNA en el laboratorio, a modo de preparación para, después, poder aislar el gen que codifica el receptor de estrógenos. Nuestro objetivo inmediato consiste en insertar el DNA que codifica el receptor en un segmento de DNA, denominado *vector*, que sea captado y replicado fácilmente por las bacterias. Las bacterias que contienen el DNA foráneo se pueden aislar, o clonar. A continuación, las bacterias clonadas pueden producir gran cantidad de proteínas receptoras con las que poder llevar a cabo experimentos.

¿Cómo construimos una molécula de DNA recombinante? Un fragmento de DNA que nos interese se une covalentemente a un DNA vector. La característica fun-



Las herramientas de la tecnología del DNA recombinante han inspirado a diversos artistas. Íñigo Manglano-Ovalle utilizó fotografías de análisis del DNA para su *Portrait of the Artist and His Parents (DNA Paternity Test)*, 1999. [Cortesía del artista.]

damental de un vector es que se puede replicar de forma autónoma en un huésped apropiado. Los *plásmidos* (moléculas circulares de DNA presentes de forma natural en bacterias y que actúan como cromosomas accesorios) y el *bacteriófago lambda* (el fago λ), un virus, son vectores de clonaje que se utilizan mucho con *E. coli*. La escisión del vector por un único sitio específico mediante una enzima de restricción lo puede dejar listo para aceptar un nuevo fragmento de DNA. Uno de los primeros vectores desarrollados fue el plásmido pSC101. La enzima de restricción *Eco*RI corta esta molécula circular de DNA de doble hélice de 9,9 kb por un único sitio. Los cortes escalonados que produce esta enzima generan *extremos complementarios de una sola hebra* que, como presentan afinidad específica entre sí, se conocen con el nombre de *extremos cohesivos* o *pegajosos*. Cualquier fragmento de DNA que tenga los mismos extremos cohesivos se puede insertar en este plásmido. Estos fragmentos se pueden obtener a partir de un fragmento más grande de DNA, utilizando la misma enzima de restricción que se utilizó para abrir el DNA del plásmido (Figura 41.5).

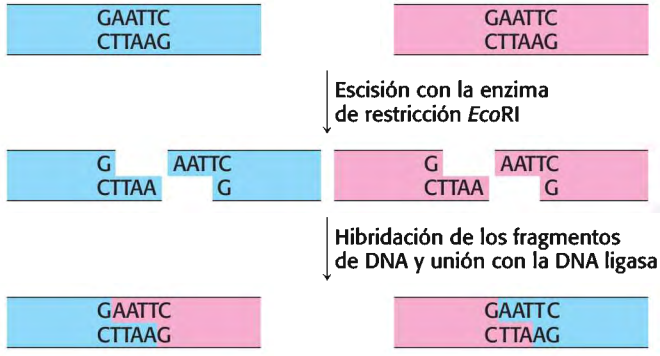


Figura 41.5 Unión de moléculas de DNA por el método de los extremos cohesivos. Dos moléculas de DNA, cortadas con una misma enzima de restricción, como *Eco*RI, pueden unirse formando moléculas recombinantes.

Los extremos de hebra sencilla del fragmento son complementarios a los del plásmido cortado. Por tanto, el fragmento de DNA y el plásmido escindido pueden hibridar y, a continuación, quedar unidos gracias a la *DNA ligasa*.

41.3 Los genes eucarióticos se pueden manipular con una precisión considerable

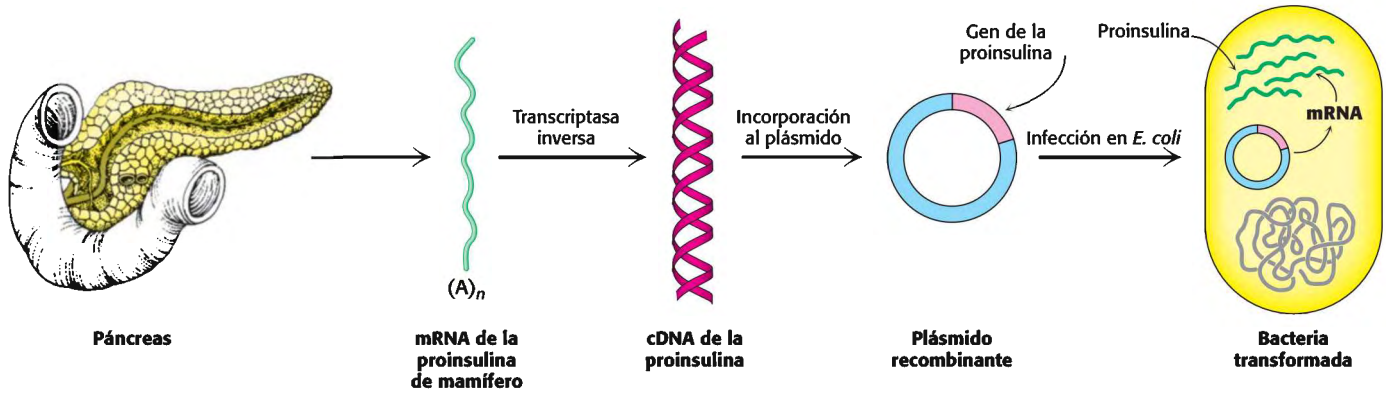
Es posible introducir genes eucarióticos en bacterias utilizando la tecnología del DNA recombinante, tal y como hemos visto hasta ahora. Posteriormente, las bacterias se pueden utilizar como si fuesen fábricas para elaborar el producto génico deseado, normalmente, una proteína. En el caso del receptor de estrógenos, nuestro plan de ataque consiste en la generación de este tipo de factorías moleculares. Sin embargo, primero tenemos que generar un DNA que codifique el receptor de estrógenos.

El DNA complementario obtenido a partir del mRNA se puede expresar en células huésped

¿Cómo se puede clonar y expresar el DNA de mamíferos en *E. coli*? Recordemos que la mayoría de los genes de mamífero son mosaicos de intrones y exones (p. 663). Estos genes interrumpidos no se pueden expresar en bacterias, ya que carecen de la maquinaria necesaria para escindir los intrones y eliminarlos del transcrito primario. Sin embargo, este problema se puede soslayar introduciendo en las bacterias un DNA recombinante que sea complementario al mRNA maduro, es decir, un cDNA. Por ejemplo, la proinsulina, un precursor de la insulina, se sintetiza mediante bacterias que albergan plásmidos que contienen el DNA complementario al mRNA de la proinsulina (Figura 41.6). De hecho, las bacterias producen gran parte de la insulina que hoy en día utilizan millones de diabéticos.

El genoma de los retrovirus es un RNA que se replica por medio de un DNA intermediario. La conversión de la información del RNA en información del DNA está catalizada por la transcriptasa inversa. El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), causante del SIDA, es un retrovirus.

Como ya sabemos, la clave para construir el DNA complementario es la enzima transcriptasa inversa, una DNA polimerasa dirigida por el RNA que se obtiene a partir de retrovirus. La transcriptasa inversa sintetiza una hebra de DNA complementaria a un molde de RNA si se le proporciona un DNA cebador que esté formando pares de bases con el RNA y que posea un grupo OH libre en posición 3′. Podemos



utilizar como cebador una secuencia sencilla formada por residuos de timidina unidos, o sea, un oligo(T). Esta secuencia oligo(T) se empareja con la secuencia poli(A) del extremo 3′ de la mayoría de las moléculas de mRNA eucarióticas (p. 663), tal y como se muestra en la Figura 41.7. A continuación, la transcriptasa inversa sintetiza el resto de la hebra de cDNA en presencia de los cuatro desoxirribonucleósidos trifosfato. Posteriormente, la hebra de RNA de este híbrido RNA-DNA se hidroliza aumentando el pH. A diferencia del RNA, el DNA es resistente a la hidrólisis alcalina. Para convertir la hebra sencilla de DNA en un DNA de doble hebra hay que generar otro lugar que actúe como cebador. La enzima *transferasa terminal* añade nucleótidos —por ejemplo, varios residuos de dG— al extremo 3′ del DNA de hebra sencilla para que sirvan como plataforma para el cebador. Un oligo(dC) puede unirse a los residuos dG y servir de cebador para la síntesis de la segunda hebra del DNA. La segunda hebra de DNA se sintetiza tal y como lo haría en la naturaleza, con la DNA polimerasa y los dNTP. A esta doble hélice de DNA se le pueden añadir adaptadores sintéticos, segmentos de DNA sintetizados en el laboratorio que contienen varios sitios de restricción, para poder ligarla a un vector adecuado. Se puede fabricar DNA complementario para todos los mRNA presentes en una célula, insertarlo en vectores y, posteriormente, introducirlo en bacterias. De este modo, cada bacteria contendrá, junto a su propio cromosoma circular, un vector con un fragmento de DNA insertado. Una colección de vectores de este tipo constituye una *biblioteca de cDNA*.

Figura 41.6 Síntesis de proinsulina en bacterias. La proinsulina, un precursor de la insulina, puede ser sintetizada por clones de *E. coli* transformados (alterados genéticamente). Los clones contienen el DNA que codifica la proinsulina de mamífero.

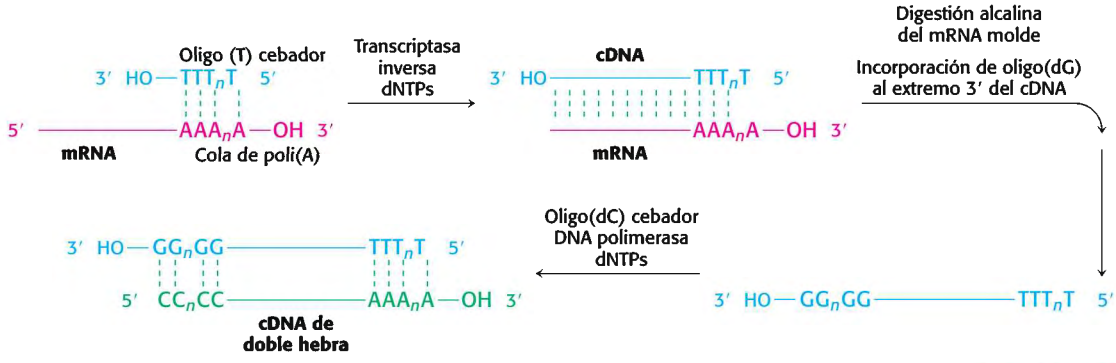


Figura 41.7 Formación de un cDNA de doble hebra. A partir del mRNA se puede generar un DNA complementario (cDNA) de doble hebra. La transcriptasa inversa sintetiza primero una hebra de cDNA utilizando como molde el mRNA y después, tras la digestión del mRNA, la DNA polimerasa utiliza la hebra de cDNA recién sintetizada como molde para formar una doble hélice.

? **PREGUNTA RÁPIDA** ¿Por qué las enzimas de restricción son unas herramientas tan importantes para la tecnología del DNA recombinante?

El cDNA del receptor de estrógenos se puede identificar mediante una búsqueda en una biblioteca de cDNA

Con estas técnicas a nuestra disposición, volvamos a nuestros experimentos con el receptor de estrógenos. Utilizaremos la sonda que hemos sintetizado anteriormente para analizar una biblioteca de cDNA generada a partir de un tejido sensible al receptor de estrógenos, como el útero de la rata. Para nuestros experimentos, utilizaremos una biblioteca de cDNA del fago λ.

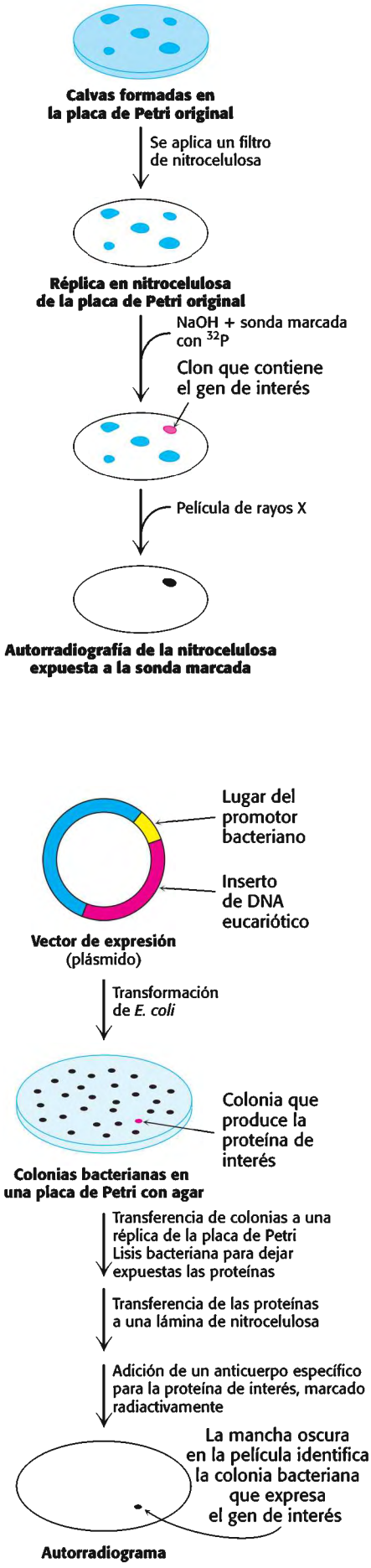


Figura 41.8 Exploración de una biblioteca de cDNA en busca de un gen determinado. En este caso, se analiza una placa de Petri para localizar las calvas que contienen el cDNA del receptor de estrógenos.

En primer lugar, se siembra una suspensión diluida de los fagos recombinantes sobre un césped bacteriano (Figura 41.8). Allí donde una partícula vírica se encuentre con una bacteria y la infecte se desarrollará una *calva* en la placa de Petri que contiene fagos idénticos. A continuación, se hace una réplica de esta placa original, colocando una hoja de nitrocelulosa por encima. Las bacterias infectadas y el DNA de los fagos liberado por las células lisadas se adhieren a esta hoja formando un patrón de manchas cuya posición se corresponde con la de las calvas formadas en la placa de Petri original. Las bacterias intactas depositadas sobre esta hoja se lisan con NaOH que, de paso, también desnaturaliza el DNA haciéndolo accesible para la hibridación con una sonda de hebra sencilla marcada con ^{32}P. La sonda solo se unirá a la secuencia de DNA que codifique el cDNA del receptor de estrógenos. Posteriormente, una autorradiografía permitirá determinar la posición de las manchas de la réplica que albergan el DNA recombinante. Las calvas correspondientes se extraen de la placa de Petri original intacta y se cultivan por separado. Un único investigador puede examinar fácilmente un millón de clones en un día.

El vector que contiene el cDNA para el receptor de estrógenos se puede aislar y transcribir. El mRNA resultante se puede traducir *in vitro* para producir receptores para los experimentos.

Se pueden explorar las bibliotecas de DNA complementario en busca de las proteínas sintetizadas

Los vectores que hemos visto hasta ahora simplemente transportan el DNA incorporado y permiten la transcripción del DNA insertado. Sin embargo, con el uso de un vector especialmente preparado, se pueden aislar las bacterias que realmente estén expresando el receptor de estrógenos. Las moléculas de DNA complementario se pueden insertar en unos vectores especialmente diseñados por ingeniería genética que favorecen la expresión eficaz de estas moléculas en huéspedes como *E. coli*. Estos plásmidos o fagos se denominan *vectores de expresión*. Estos vectores maximizan la transcripción del DNA insertado utilizando un potente promotor. Los vectores de expresión también contienen un segmento de DNA que codifica un lugar de unión al ribosoma en el mRNA que se transcribe a partir del cDNA insertado. De este modo, las moléculas de cDNA insertadas en estos vectores no solo se transcriben sino que también se traducen. Se pueden detectar los clones que contienen el cDNA gracias a su capacidad para dirigir la síntesis de una proteína foránea en bacterias. Partiendo de una réplica de una placa de Petri se lisan las manchas que contienen bacterias para que liberen las proteínas, que se quedarán unidas a un filtro de nitrocelulosa que hemos colocado enzima. Utilizando técnicas inmunológicas similares a las mencionadas en el Capítulo 5, se puede utilizar el anticuerpo monoclonal contra el receptor de estrógenos para identificar las colonias bacterianas que albergan el correspondiente vector con el cDNA (Figura 41.9).

Tener un cDNA del receptor de estrógenos nos permite llevar a cabo una serie de experimentos para determinar las propiedades bioquímicas de la proteína. Por ejemplo, ya hemos visto anteriormente que el receptor de estrógenos es un factor de transcripción que actúa uniéndose al DNA de genes seleccionados (p. 651). Utilizando el receptor clonado, podemos realizar experimentos para determinar la secuencia de DNA a la que se une con más fuerza el receptor. Podríamos investigar si el receptor reacciona con otras proteínas cuando se une al DNA. De hecho, los conocimientos que se pueden adquirir solo están limitados por nuestra imaginación y por nuestra pericia experimental. Sin embargo, disponer del cDNA del receptor nos dice muy poco sobre el gen que codifica el propio receptor. ¿Tiene intrones el gen? ¿Qué secuencias reguladoras controlan su expresión? Para responder a estas preguntas, y a otras similares, tenemos que aislar el gen que codifica el receptor. Para ello, volvamos a la biblioteca, pero en esta ocasión, a una biblioteca genómica.

Figura 41.9 Exploración de los vectores de expresión para detectar la presencia del receptor de estrógenos. Un método para explorar los clones de cDNA consiste en identificar los productos proteicos expresados tiñéndolos con un anticuerpo específico.

A partir de la digestión del DNA genómico se pueden clonar genes específicos

Veamos ahora cómo podemos clonar un gen que solo aparece una vez en el genoma, como es el caso del gen que codifica el receptor de estrógenos. La estrategia consiste en preparar una gran colección (biblioteca) de fragmentos de DNA genómico y, después, identificar aquellos miembros de la colección que poseen el gen de interés.

En primer lugar, se somete una muestra que contiene muchas copias del DNA genómico total —en nuestro caso, DNA de rata— a fragmentación mecánica o se digiere parcialmente mediante enzimas de restricción de modo que se obtengan fragmentos de gran tamaño. Este proceso genera una población prácticamente aleatoria de fragmentos de DNA que se solapan. Después, se separan estos fragmentos mediante electroforesis en gel para aislar el conjunto de fragmentos que tengan una longitud de unas 15 kb, un tamaño apropiado para poder insertarlos en vectores. Se añaden adaptadores sintéticos a los extremos de estos fragmentos, se generan extremos cohesivos y, a continuación, se insertan los fragmentos en un vector, como el DNA del fago λ, preparado con los mismos extremos cohesivos (Figura 41.10). Posteriormente, se infectan bacterias de *E. coli* con estos fagos recombinantes. Estos fagos se replican y acaban provocando la lisis de sus hospedadores bacterianos. El lisado resultante contiene fragmentos de DNA de rata alojados en un número de partículas víricas lo suficientemente elevado como para garantizar que prácticamente todo el genoma se encuentra representado. Estos fagos constituyen una *biblioteca genómica*. Posteriormente, se puede analizar esta biblioteca de manera similar a como se hacía en el caso de una biblioteca de cDNA.

Es poco probable que el gen de interés se encuentre en un único fragmento de DNA, ya que, normalmente, los genes tienen más de 15 kb, el tamaño de los fragmentos empleados para construir la biblioteca genómica. En consecuencia, varios clones de la biblioteca genómica albergarán diversas partes del gen para el receptor de estrógenos. Hay que aislar y secuenciar estos clones para determinar la secuencia del gen completo.

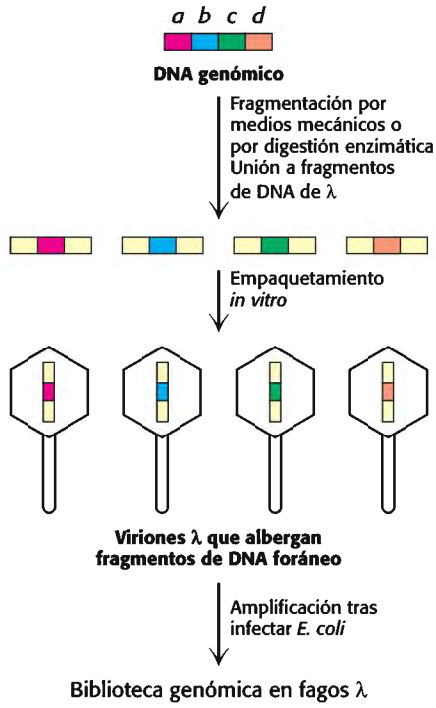
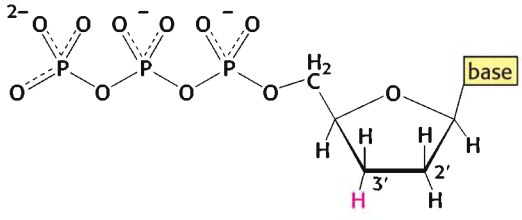


Figura 41.10 Creación de una biblioteca genómica. Se puede crear una biblioteca genómica a partir de la digestión de un genoma complejo entero.

El DNA se puede secuenciar mediante la terminación controlada de la replicación

El análisis de la estructura del DNA y de su papel en la expresión génica también se ha visto notablemente facilitado por el desarrollo de poderosas técnicas de *secuenciación* de moléculas de DNA. La clave para la secuenciación del DNA consiste en la generación de fragmentos de DNA cuya longitud depende de la última base de la secuencia. Se pueden generar conjuntos de fragmentos de este tipo mediante la *interrupción controlada de la replicación* (el método didesoxi de Sanger), un método desarrollado por Frederick Sanger y sus colaboradores. Se lleva a cabo el mismo proceso, de forma simultánea, en cuatro mezclas de reacción. En cada mezcla se utiliza una DNA polimerasa para sintetizar la hebra complementaria a una corta secuencia que forma parte de la molécula de DNA de hebra sencilla que se va a secuenciar. El cebador para la síntesis es un fragmento sintetizado por métodos químicos, complementario a una parte de la secuencia cuya composición se ha llegado a conocer gracias a otros estudios. Cada mezcla de reacción contiene, además de los cuatro desoxirribonucleósidos trifosfato (marcados radiactivamente), una pequeña cantidad del *análogo 2′,3′-didesoxi* de uno de los nucleótidos, uno diferente para cada mezcla de reacción.



Análogo 2′ ,3′-didesoxi

La incorporación de este análogo impide todo crecimiento posterior de la nueva hebra, ya que carece del grupo hidroxilo en posición 3′, que es esencial para la formación del siguiente enlace fosfodiéster. La concentración del análogo didesoxi es lo suficientemente pequeña como para que la terminación de la síntesis de la hebra

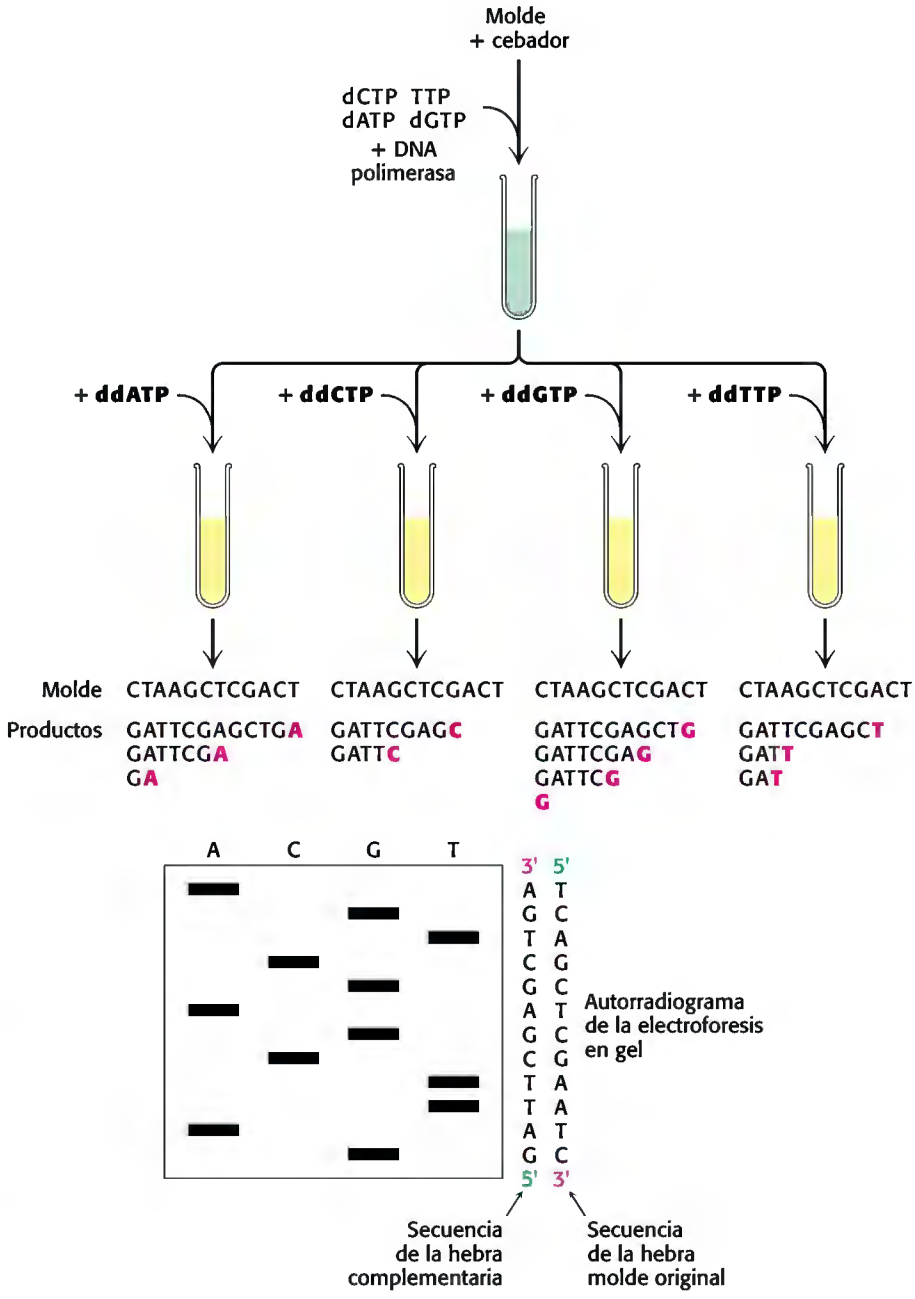


Figura 41.11 Estrategia del método de terminación de la hebra para secuenciar el DNA. Los fragmentos se generan al añadir el análogo 2′,3′-didesoxi de un dNTP a cada una de las cuatro mezclas de polimerización. Por ejemplo, la adición del análogo didesoxi del dATP da lugar a fragmentos terminados en A. La hebra no se puede extender más allá del análogo didesoxi. [Tomada de B. A. Pierce, *Genetics*, 3.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2008), p. 526.]

tenga lugar únicamente de forma esporádica. La polimerasa añadirá unas veces el nucleótido correcto y otras veces el análogo didesoxi, parando la reacción.

Por ejemplo, en presencia del análogo didesoxi del dATP se producirán fragmentos de distinta longitud, pero todos terminarán por el análogo didesoxi (Figura 41.11). Es importante destacar que este análogo didesoxi del dATP se insertará únicamente allí donde haya una T en el DNA que se está secuenciando. Por tanto, los fragmentos de diferente longitud corresponderán a las posiciones de T. Después, los cuatro conjuntos de *fragmentos cuya secuencia está interrumpida* (uno por cada análogo didesoxi) se someten a electroforesis y la secuencia de bases del nuevo DNA se lee a partir del autorradiograma de las cuatro calles.

Una alternativa muy eficaz a la autorradiografía es la detección por fluorescencia. Se incorpora un marcador fluorescente a cada análogo didesoxi —de manera que cada uno de los cuatro terminadores de la cadena tenga un color distinto (p. ej., uno que emita luz de color azul para la terminación en A y uno que emita luz de color rojo para la terminación en C). Utilizando una mezcla de terminadores, solo hay que hacer una única reacción y, posteriormente, se separan los fragmentos resultantes mediante electroforesis. Las bandas de DNA que se van separando durante la electroforesis se detectan gracias a su fluorescencia; la secuencia de sus colores proporciona directamente la secuencia de las bases (Figura 41.12). La detección de la fluorescencia

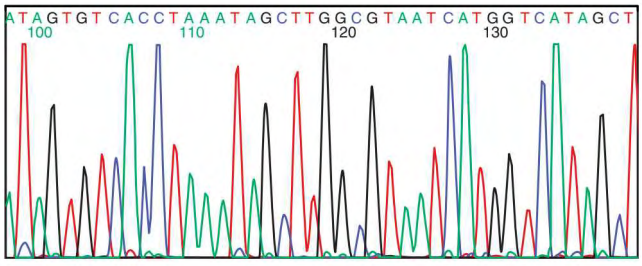


Figura 41.12 Detección por fluorescencia de los fragmentos oligonucleotídicos producidos por el método didesoxi.
Se inicia una reacción de secuenciación con los cuatro didesoxinucleótidos responsables de la terminación de la hebra, cada uno marcado con un compuesto fluorescente que emite a una longitud de onda distinta (p. ej., rojo en el caso de la T). Cada uno de los cuatro colores representa una base diferente en el registro cromatográfico obtenido tras realizar medidas de fluorescencia a cuatro longitudes de onda. [Tomada de A. J. F. Griffithsy col. *An Introduction to Genetic Analysis*, 8.ª ed. (W. H. Freeman and Company, 2005).]

es más interesante, ya que elimina el uso de compuestos radiactivos y se puede automatizar fácilmente. De hecho, utilizando este método, los modernos secuenciadores de DNA pueden secuenciar más de un millón de bases al día.

Aplicando estas herramientas de secuenciación a la investigación del gen para el receptor de estrógenos se descubre que el gen tiene una longitud de más de 140 kb y contiene 8 exones. Además de las cajas TATA y CAAT (p. 648), la región corriente arriba del gen contiene un promotor P1 que se activa mediante el factor de transcripción AP2γ. Curiosamente, ciertos cánceres de mama dependen de la presencia del receptor de estrógenos para crecer de forma maligna, y AP2γ podría desempeñar un papel decisivo a la hora de regular el gen para el receptor de estrógenos en células cancerosas.

Aspecto clínico y biológico

Los métodos de secuenciación de "última generación" permiten la rápida determinación de la secuencia completa de un genoma

Desde la introducción del método didesoxi de Sanger a mediados de la década de 1970, se han realizado avances significativos en las tecnologías de secuenciación de DNA, que permiten la lectura de secuencias cada vez más largas con un mayor grado de precisión y en menos tiempo. El reciente desarrollo de métodos de secuenciación "de última generación" ha llevado esta tecnología hasta niveles insospechados. Combinando los avances tecnológicos en la manipulación de volúmenes muy pequeños de líquido, la óptica de alta resolución y la potencia de computación, estas técnicas de secuenciación permiten la secuenciación en paralelo de más de 400.000 fragmentos individuales de DNA, cada uno de ellos con una longitud de varios cientos de bases. Por tanto, un único experimento de secuenciación que dure 10 horas puede generar más de 100.000.000 de bases (100 megabases). Aunque aún existen importantes obstáculos, esta capacidad de secuenciación sugiere que la rápida secuenciación del genoma de un individuo cualquiera a bajo coste es una posibilidad muy real. Las secuencias genómicas individuales aportarán información sobre la variación genética que existe en las poblaciones, lo que nos conducirá hacia una nueva era de medicina personalizada, en la que todos estos datos puedan ser utilizados en la toma de decisiones relacionadas con el tratamiento.

La comparación con genomas de otros organismos supone una fuente de información a la hora de comprender el genoma humano. La secuenciación del genoma del chimpancé, nuestro pariente vivo más cercano, está a punto de terminar. Los genomas de otros mamíferos ampliamente utilizados en la investigación biológica, como el ratón o la rata, ya se han completado. Los estudios comparativos ponen de manifiesto que, para nuestro asombro, el 99% de los genes humanos tienen análogos en los genomas de estos roedores. Sin embargo, a lo largo de los 75 millones de años de evolución que, según las estimaciones, han transcurrido desde que humanos y roedores compartieron un ancestro común, estos genes se han redistribuido sustancialmente entre los cromosomas (**Figura 41.13**).

También se han determinado los genomas de otros organismos para ser utilizados de forma específica en estudios de genómica comparativa. Por ejemplo, se han secuenciado los genomas de dos especies del pez globo: *Takifugu ribripes* y *Tetraodon nigroviridis*. Sorprendentemente, el estudio comparativo de los genomas de estas especies con el de los seres humanos sacó a la luz más de 1.000 genes humanos que previamente habían pasado desapercibidos. La genómica comparativa es una herramienta poderosa, tanto para la interpretación del genoma humano como para la comprensión de los principales eventos que dieron lugar al origen de géneros y especies. ■

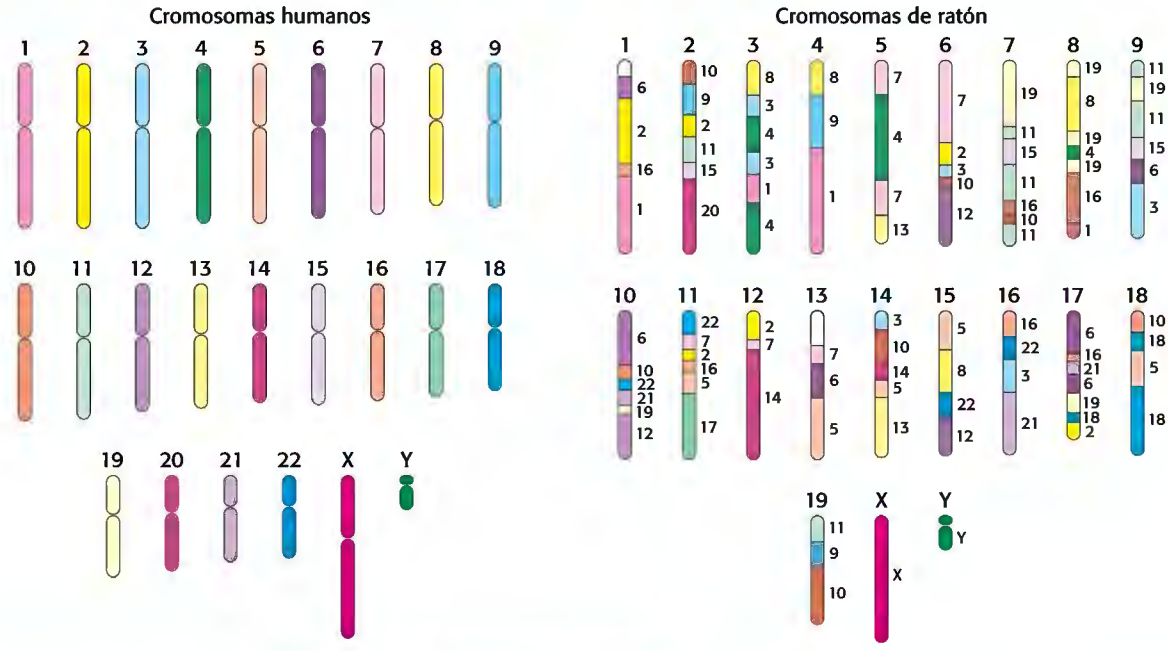


Figura 41.13 Comparación de genomas. Representación esquemática de la comparación del genoma humano con el de ratón que muestra una redistribución de fragmentos cromosómicos de gran tamaño. El número que aparece junto a los cromosomas del ratón indica el correspondiente DNA cromosómico humano.

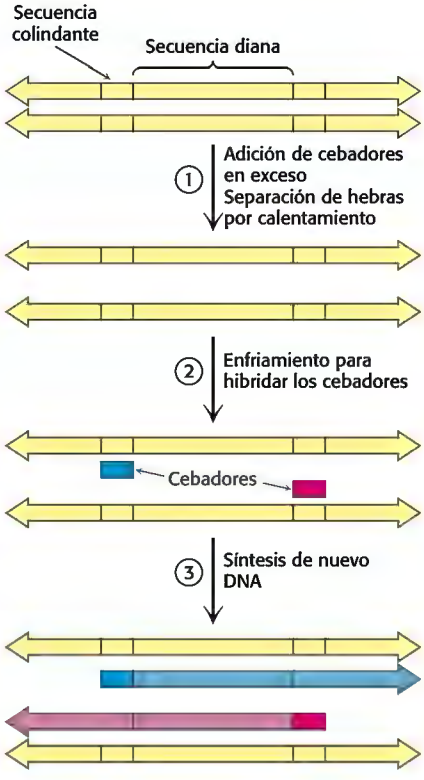


Figura 41.14 Primer ciclo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Un ciclo consta de tres pasos: separación de las hebras, hibridación de los cebadores y alargamiento de los cebadores por síntesis de DNA.

Mediante la reacción en cadena de la polimerasa es posible amplificar enormemente secuencias de DNA seleccionadas

Hagamos un breve resumen de nuestros logros investigadores conseguidos hasta el momento. Hemos purificado el receptor de estrógenos utilizando el anticuerpo monoclonal que hemos generado (Capítulo 5). Utilizando la genética inversa, hemos sintetizado una sonda de DNA que nos ha permitido aislar el cDNA del receptor, así como el gen del receptor. Por último, hemos deducido la secuencia de DNA del gen. Aunque hay muchos experimentos que se pueden llevar a cabo en base a lo ya logrado, comencemos un nuevo proyecto de investigación que nos familiarice con una de las técnicas más poderosas de la bioquímica experimental. Hasta ahora, nuestro sistema experimental ha sido el útero de la rata. Podemos preguntarnos si el gen del receptor se transcribe en otros tejidos, como el cerebro o el hígado.

Podríamos, de hecho, explorar bibliotecas de cDNA de estos tejidos, en busca de un clon que contenga el cDNA del receptor, tal y como ya hemos comentado. Sin embargo, utilizaremos un método de detección mucho más rápido. Estudiaremos el cDNA obtenido a partir de cerebro, de hígado y de otros tejidos, y determinaremos, utilizando la *reacción en cadena de la polimerasa* (PCR), la presencia del cDNA (y, por consiguiente, el mRNA) del receptor.

Consideremos un DNA de doble hebra que contiene una secuencia diana que nos interesa, flanqueada por un DNA que no nos interesa. En nuestro ejemplo, nos interesa el supuesto cDNA del receptor en el cerebro, en el hígado o en el músculo. Si este DNA está presente, lo podemos detectar si primero amplificamos la cantidad de DNA presente. Se pueden obtener fácilmente millones de copias de la secuencia diana por PCR si se conocen las secuencias que la flanquean, y nosotros sabemos cuáles son estas secuencias porque disponemos de la secuencia de DNA del receptor. La PCR se lleva a cabo añadiendo los siguientes componentes a una disolución que contiene la secuencia diana: (1) un par de cebadores que hibridan con las secuencias que flanquean a la secuencia diana, (2) los cuatro desoxirribonucleósidos trifosfato (dNTPs), y (3) una DNA polimerasa termoestable. Un ciclo de PCR consta de tres pasos (**Figura 41.14**):

1. *Separación de las hebras.* Calentando la disolución a 95 °C durante 15 segundos se separan las dos hebras de la molécula de DNA parental.

2. *Hibridación de los cebadores.* Luego, se enfría bruscamente la disolución a 54 °C, para que cada cebador pueda hibridar con una de las hebras del DNA. Un cebador hibrida con el extremo 3′ de la hebra que contiene la secuencia diana y el otro cebador hibrida con el extremo 3′ de la hebra complementaria. Como los cebadores se encuentran en exceso, no se forman moléculas de doble hélice a partir de las hebras del DNA original. Normalmente, los cebadores tienen una longitud de entre 20 y 30 nucleótidos.

3. *Síntesis de DNA.* Después, se calienta la disolución a 72°C, la temperatura óptima para la *Taq* DNA polimerasa. Esta polimerasa termoestable proviene de *Thermus aquaticus* una bacteria termófila que vive en fuentes termales. La polimerasa elonga ambos cebadores en dirección a la secuencia diana, ya que la síntesis de DNA se lleva a cabo en el sentido 5′ → 3′. La síntesis de DNA tiene lugar sobre las dos hebras y se extiende más allá de la secuencia diana.

Estas tres etapas —separación de las hebras, hibridación de los cebadores y síntesis de DNA— constituyen un ciclo de la amplificación por PCR y se pueden realizar de forma repetitiva mediante un simple cambio de la temperatura de la mezcla de reacción. Gracias a la termoestabilidad de la polimerasa es posible llevar a cabo la PCR en un recipiente cerrado; no se añade ningún reactivo después del primer ciclo. Para comenzar el segundo ciclo, se calientan las moléculas de doble hélice, con lo que se generan cuatro dobles hélices, tras lo cual, se inicia el tercer ciclo (**Figura 41.15**). Al final del tercer ciclo, aparecen dos hebras cortas que están formadas, únicamente, por la secuencia diana —que también incluye las regiones a las que se unen los cebadores—. Los ciclos siguientes amplificarán la secuencia diana de forma exponencial. El número de hebras más grandes aumenta de forma aritmética y, a partir de ellas, se pueden seguir sintetizando más hebras cortas. En condiciones ideales, después de n ciclos, la secuencia que nos interesa se habrá amplificado 2^n veces. Tras 20 ciclos, la amplificación es de un millón de veces y tras 30 ciclos, que se pueden llevar a cabo en menos de una hora, de mil millones de veces.

Merece la pena destacar algunas características de este extraordinario método de amplificación del DNA. En primer lugar, no es necesario conocer la secuencia del fragmento diana. Lo único que hay que conocer son las secuencias que la flanquean. En segundo lugar, la secuencia diana puede ser mucho mayor que los cebadores. Se han amplificado por PCR secuencias diana de más de 10 kb. En tercer lugar, para amplificar secuencias diana no es necesario que los cebadores se emparejen perfectamente con las secuencias que la flanquean. Utilizando cebadores obtenidos a partir de un gen de secuencia conocida se puede realizar una búsqueda de posibles variaciones sobre un mismo tema. De este modo se están descubriendo familias de genes gracias a la PCR. En cuarto lugar, la PCR es muy es-

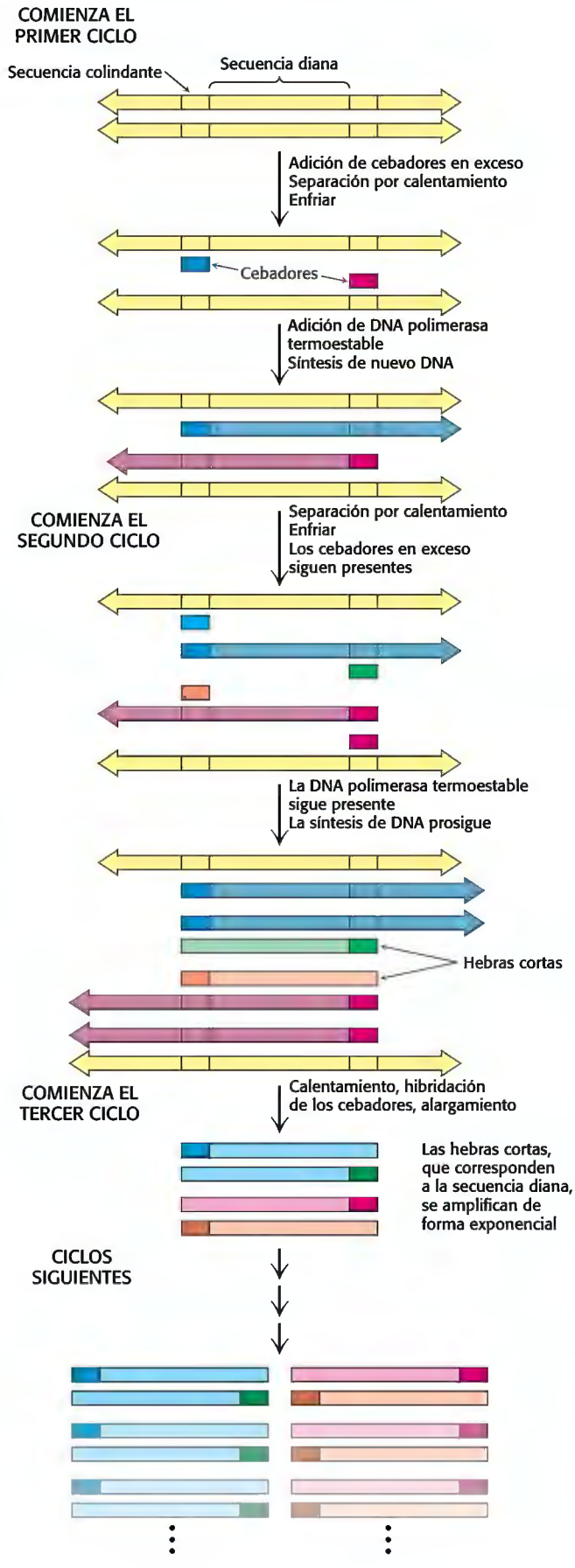


Figura 41.15 Los diversos ciclos de la reacción en cadena de la polimerasa. Las dos hebras cortas que se originan al final del tercer ciclo (junto con las otras hebras más largas, que no se muestran) corresponden a la secuencia diana. Los siguientes ciclos amplificarán de forma exponencial la secuencia diana y de forma aritmética la secuencia parental.

pecífica debido a la rigurosidad de la hibridación a temperaturas relativamente elevadas. La *rigurosidad (stringency)* es la exactitud con que debe producirse el emparejamiento entre el cebador y la secuencia diana, y se puede controlar mediante la temperatura y la concentración salina. A temperaturas elevadas, solo se amplifica el DNA que está localizado entre los cebadores. Mediante PCR se puede acceder a un gen que represente menos de una millonésima parte del DNA total de un organismo superior. En quinto lugar, la sensibilidad de la PCR es exquisita. Es posible amplificar una única molécula de DNA para visualizarla posteriormente mediante una electroforesis en gel. De hecho, si se desea, es posible extraer el DNA amplificado del gel para insertarlo en un vector y clonarlo.

El análisis por PCR para detectar la presencia del receptor de estrógenos en las bibliotecas de cDNA de varios tejidos pone de manifiesto que hay cantidades significativas del mRNA del receptor en la hipófisis, en el hueso, en el hígado y en las células musculares, así como en los tejidos reproductores, incluyendo los ovarios, las glándulas mamarias y el útero.

Aspecto clínico y biológico

La PCR es una poderosa técnica para el diagnóstico médico, la medicina forense y los estudios de evolución molecular

La PCR puede proporcionar valiosa información para los diagnósticos médicos. Utilizando cebadores específicos es posible detectar con facilidad bacterias y virus. Por ejemplo, la PCR puede detectar la presencia del virus de la inmunodeficiencia humana en personas que aún no han desplegado una respuesta inmunitaria contra este patógeno y que, por tanto, no serían detectadas mediante un test basado en la presencia de anticuerpos. La detección de bacilos de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras de tejidos es un proceso lento y laborioso. Utilizando la PCR se pueden detectar fácilmente, aunque solo haya 10 bacilos de la tuberculosis por cada millón de células humanas. La PCR es un método prometedor para la detección temprana de ciertos tipos de cáncer. Esta técnica permite identificar las mutaciones de ciertos genes que controlan el crecimiento, como los genes *ras* (p. 225). La capacidad para amplificar enormemente regiones de DNA seleccionadas también puede aportar gran cantidad de información durante el seguimiento de la quimioterapia contra el cáncer. Los tests que utilizan PCR pueden detectar cuándo se han eliminado las células cancerosas para poder interrumpir el tratamiento; del mismo modo, también pueden detectar una recaída y la necesidad de reanudar inmediatamente el tratamiento. La PCR es ideal para detectar leucemias causadas por una reorganización de los cromosomas.

La PCR también está repercutiendo en la medicina legal y forense. El perfil del DNA de un individuo posee gran valor distintivo, ya que muchos *loci* genéticos son muy variables dentro de una población. Por ejemplo, las variaciones en uno de estos lugares específicos determina qué tipo de HLA (antígeno leucocitario humano) posee una persona; los órganos trasplantados son rechazados cuando los tipos de HLA del donante y del receptor no se parecen lo suficiente. Se está utilizando la amplificación por PCR de múltiples genes para determinar el parentesco biológico en casos de disputa de la paternidad y en casos de inmigración. Los análisis por PCR de manchas de sangre y de muestras de semen han determinado la culpabilidad o la inocencia en numerosos casos de asalto y violación. La raíz de un único cabello suelto encontrado en la escena de un crimen contiene suficiente DNA como para ser analizado por PCR (Figura 41.16). ■

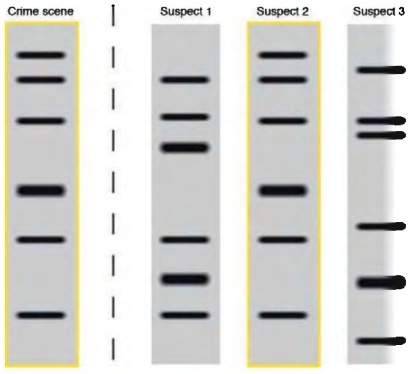


Figura 41.16 DNA y medicina forense. El DNA aislado de las manchas de sangre encontradas en la ropa de la víctima de un crimen puede ser amplificada por PCR y, a continuación, compararla con el DNA de los sospechosos utilizando electroforesis en gel y autorradiografía. El DNA de las manchas de sangre de la ropa de la víctima coincidía con el patrón de un sospechoso. La probabilidad de encontrar una coincidencia fortuita entre entre patrones de DNA es de una en 33 mil millones. [©Darryl Leja, NHGRI/National Human Genome Research Institute, NIH.]

Los niveles de expresión génica se pueden analizar de forma exhaustiva

Veamos ahora una última técnica, una que nos permite ver cómo las señales ambientales (p. ej., la presencia de hormonas o los estados patológicos, como el cáncer) afectan a la expresión de un conjunto de genes en un tejido. La mayor parte de los genes se encuentran en igual cantidad en todas las células —a saber, una copia en cada célula haploide o dos copias en cada célula diploide. Sin embargo, el nivel de expresión de cada gen, estimado a partir de la cantidad de mRNA, puede variar ampliamente, desde la no expresión hasta la presencia de cientos de copias de mRNA en cada célula. Los patrones de expresión génica varían de un tipo de célula a otro, lo que

diferencia, por ejemplo, a una célula muscular de una célula nerviosa. Incluso dentro de una misma célula, los niveles de expresión génica pueden variar a medida que la célula responde a cambios en las condiciones fisiológicas. Hay que destacar el hecho de que, algunas veces, los niveles de mRNA se corresponden con los niveles de proteínas expresadas, pero no siempre se cumple esta correlación. Por tanto, hay que tener cuidado a la hora de interpretar de forma aislada los datos de los niveles de mRNA.

La cantidad de transcritos individuales de mRNA se puede determinar por medio de la *PCR cuantitativa* (qPCR), también denominada PCR en tiempo real. En primer lugar, se purifica el RNA de la célula o del tejido de interés. A partir de esta muestra de RNA se obtiene el cDNA utilizando la transcriptasa inversa. En una de las variantes de la qPCR, se amplifica el transcrito de interés por PCR, utilizando los cebadores ade-

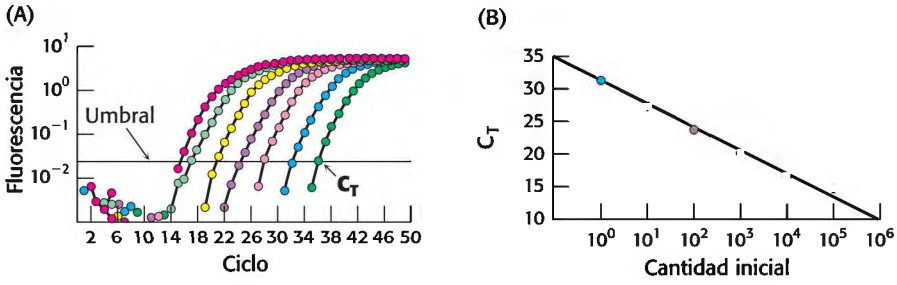


Figura 41.17 PCR cuantitativa. (A) En la qPCR se monitoriza la fluorescencia durante el transcurso de la amplificación por PCR para así determinar C_T, el número del ciclo en el que la señal excede un umbral mínimo definido. Cada color representa una cantidad inicial de DNA distinta. (B) Los valores de C_T son inversamente proporcionales al número de copias del cDNA molde original. [Tomada deN. J. Walker, *Science* 296: 557-559, 2002.]

cuados y en presencia del colorante denominado SYBR Green I, que cuando está unido al DNA de doble hebra emite una fluorescencia intensa. Durante los ciclos iniciales de la PCR no hay suficiente número de dobles hélices como para poder detectar la señal de fluorescencia. Sin embargo, a medida que se van repitiendo los ciclos de PCR, la intensidad de la fluorescencia excede el umbral mínimo de detección y sigue aumentando a medida que aumenta el número de dobles hélices correspondientes al transcrito de interés (Figura 41.17). Es importante señalar que el número del ciclo en el que se empieza a detectar la señal de fluorescencia porque ya se ha superado un umbral determinado (C_T) es inversamente proporcional al número de copias del molde original. Tras haber establecido la relación entre el número inicial de copias y el C_T utilizando un estándar conocido, se pueden seguir haciendo experimentos de qPCR para determinar el número de copias de cualquier transcrito de interés que hay en la muestra original, siempre y cuando se disponga de los cebadores adecuados.

Aunque la qPCR es una técnica poderosa para cuantificar un pequeño número de transcritos en un experimento dado, hoy en día es posible utilizar nuestro conocimiento de las secuencias genómicas completas para investigar el *transcriptoma* completo, el patrón y el nivel de expresión de todos los genes de una célula o tejido concreto. Uno de los métodos más potentes desarrollado hasta la fecha con este propósito se basa en la hibridación. Fijando oligonucleótidos o cDNA sobre un soporte sólido, como, por ejemplo, un portaobjetos para microscopio, se generan *micromatrices de DNA* o *chips de genes*. Posteriormente, el cDNA marcado fluorescentemente forma híbridos sobre el chip, poniendo así de manifiesto el nivel de expresión de cada gen, que se puede identificar gracias a que se conoce su posición exacta sobre el chip. La intensidad de la mancha fluorescente sobre el chip indica el grado de transcripción de un gen determinado. La Figura 41.18 muestra el patrón de genes que se inducen o se reprimen en varios tumores de cáncer de mama, y la Figura 41.19 muestra cómo varía la transcripción en levaduras sometidas a distintas condiciones. Analizando el contenido total de mRNA con estos chips se puso de manifiesto, por ejemplo, que el grado de expresión de aproximadamente el 50% de los genes de levadura es constante: entre 0,1 y 1 copia de mRNA por célula. Este método detectó fácilmente las variaciones en los niveles de expresión que experimentaron determinados genes en distintas condiciones de crecimiento.

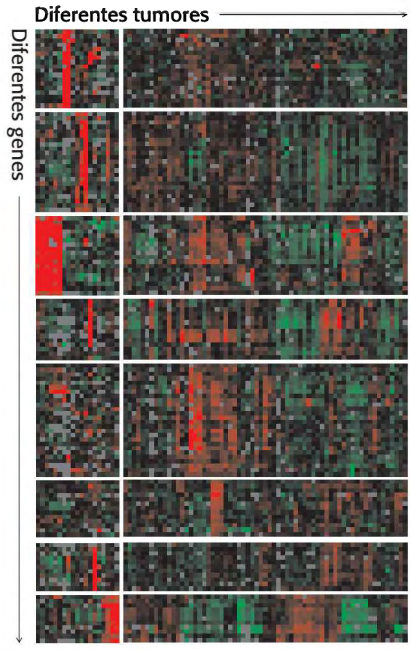


Figura 41.18 Análisis de la expresión génica mediante micromatrices. Utilizando micromatrices de DNA (chips de genes) es posible analizar de forma simultánea el nivel de expresión de miles de genes. En este caso, el análisis de 1.733 genes pertenecientes a 84 muestras distintas de tumores de mama indica que los tumores se pueden dividir en distintas clases en función de sus patrones de expresión génica. El color rojo representa la inducción del gen y el color verde representa la represión del gen. [Reproducida con el permiso de Macmillan Publishers Ltd: *Nature*, 406: 747. C. M. Perou et al., Molecular portraits of human breast tumours. ©2000.]

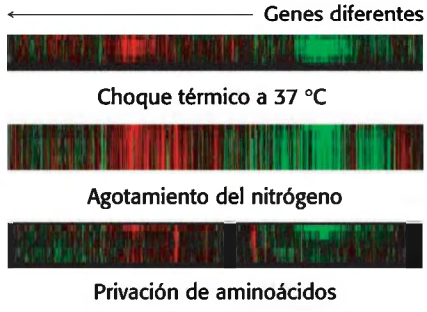


Figura 41.19 Monitorización de los cambios de la expresión génica en levaduras. El análisis con micromatrices muestra los niveles de expresión de los genes de levadura en condiciones diferentes. [Adaptada con el permiso de Macmillan Publishers LTd: *Nature* 409: 533, Iyer, V. R. et al., Genomic binding sites of the yeast cell-cycle transcription factors SBF and MBF, @2001.]

Resumen

41.1 La genética inversa permite la síntesis de ácidos nucleicos a partir de una secuencia de proteína

La información de la secuencia de aminoácidos obtenida a partir de un receptor purificado puede utilizarse para sintetizar sondas de DNA que correspondan a la secuencia de aminoácidos, un proceso denominado genética inversa. La técnica consiste en ir añadiendo desoxinucleótidos modificados de uno en uno para formar una hebra creciente conectada a un soporte insoluble. Se pueden sintetizar fácilmente hebras de DNA con una longitud de hasta 100 nucleótidos.

41.2 La tecnología del DNA recombinante ha revolucionado todos los aspectos de la biología

La tecnología del DNA recombinante ha revolucionado la biología y está basada en el repertorio de enzimas que actúan sobre los ácidos nucleicos. De entre todas ellas, las enzimas de restricción constituyen un grupo clave. Estas endonucleasas reconocen secuencias de bases específicas en la doble hélice de DNA y escinden ambas hebras formando fragmentos específicos de DNA. Estos fragmentos de restricción se pueden separar y visualizar mediante electroforesis en gel y se pueden insertar en vectores para generar moléculas de DNA recombinante.

41.3 Los genes eucarióticos se pueden manipular con una precisión considerable

Se pueden construir nuevos genes en el laboratorio, introducirlos en células huésped y expresarlos. Las nuevas moléculas de DNA se obtienen uniendo fragmentos que tienen extremos cohesivos complementarios, producidos por la acción de una endonucleasa de restricción. La DNA ligasa repara los cortes en las cadenas de DNA. Los vectores que propagan el DNA incluyen plásmidos y el fago λ. Utilizando estas técnicas, se pueden generar bibliotecas de cDNA de cualquier tejido y bibliotecas genómicas de cualquier organismo. Estas bibliotecas se pueden explorar utilizando sondas de DNA. Una vez insertado en bacterias mediante un vector adecuado, el DNA foráneo se puede expresar. Mediante una sonda de DNA, es posible clonar genes específicos a partir de una biblioteca genómica.

Se han desarrollado técnicas de secuenciación rápida para analizar con más detalle las moléculas de DNA. El DNA se puede secuenciar mediante la interrupción controlada de la replicación. Los fragmentos producidos se separan por electroforesis en gel y se visualizan mediante autorradiografía tras el marcaje del extremo 5′ con ^{32}P o mediante marcaje fluorescente.

La reacción en cadena de la polimerasa permite amplificar enormemente segmentos específicos de DNA *in vitro*. La región amplificada está determinada por la situación de una pareja de cebadores que se añaden al DNA diana junto con una DNA polimerasas termoestable y desoxirribonucleótidos trifosfato.

Las micromatrices de DNA, o chips génicos, permiten detectar cambios en la transcripción de cientos de genes de forma simultánea. El análisis de las micromatrices muestra cómo responde la transcripción a diversas condiciones fisiológicas o patológicas, como la presencia de una hormona o la transformación a un estado canceroso.

Términos clave

biblioteca de DNA complementario (cDNA) (p. 710)
transcriptasa inversa (p. 710)
DNA complementario (cDNA) (p. 710)
genética inversa (p. 710)
enzima de restricción (p. 712)
transferencia Southern (p. 713)
transferencia northern (p. 713)
vector (p. 713)
plásmido (p. 713)
bacteriófago lambda (fago λ) (p. 714)
extremos cohesivos (p. 714)
DNA ligasa (p. 714)
vector de expresión (p. 716)
biblioteca genómica (p. 717)
terminación controlada de la replicación (método didesoxi de Sanger) (p. 717)
reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (p. 720)
PCR cuantitativa (qPCR) (p. 723)
micromatriz de DNA (chip de genes) (p. 723)

? Respuesta a la PREGUNTA RÁPIDA

Gracias a su elevado grado de especificidad, las enzimas de restricción permiten escindir el DNA de doble hebra de forma precisa. Básicamente, son bisturís moleculares.

Problemas

1. *Construyendo una biblioteca.* ¿Qué es una biblioteca de cDNA? ¿Cómo se construye? ✓ 8

2. *Distintas bibliotecas.* ¿Qué diferencias hay entre una biblioteca de cDNA y una biblioteca genómica? ✓ 8

3. *No es el calor, ...* ¿Por qué la Taq polimerasa es especialmente útil para la PCR? ✓ 8

4. *Marie y Pierre.* Asigne a cada término la descripción correspondiente. ✓ 8

(a) Biblioteca de cDNA _____
(b) Genética inversa _____
(c) Enzima de restricción _____
(d) Vector _____
(e) Extremos cohesivos _____
(f) DNA ligasa _____
(g) Biblioteca genómica _____
(h) Método didesoxi de Sanger _____
(i) Reacción en cadena de la polimerasa _____
(j) Micromatriz de DNA _____

1. Escinde la doble hélice de DNA en secuencias específicas
2. Mide la expresión de muchos genes
3. Secuenciación por terminación de la hebra
4. Secuencias de DNA que representan un mRNA
5. Fragmento de DNA captado y replicado por bacterias
6. Fragmentos de DNA, albergados en fagos, que representan la totalidad de un genoma
7. Une dos moléculas de DNA
8. Generación de secuencias de DNA a partir de secuencias de proteína
9. Amplifica secuencias de DNA seleccionadas
10. Hebras sencillas de DNA complementarias

5. *Diseño de sondas.* ¿Cuál de las siguientes secuencias de aminoácidos daría lugar a la mejor sonda oligonucleotídica? ✓ 8

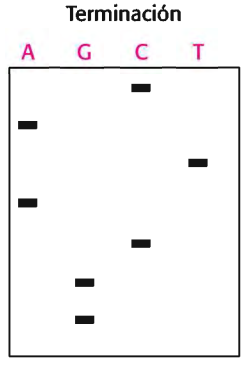
Ala-Met-Ser-Leu-Pro-Trp
Gly-Trp-Asp-Met-His-Lys
Cys-Val-Trp-Asn-Lys-Ile
Arg-Ser-Met-Leu-Gln-Asn

6. *El molde correcto.* La ovoalbúmina es la proteína mayoritaria de la clara de huevo. El gen de la ovoalbúmina de pollo contiene ocho exones separados por siete intrones. Si se quiere producir la proteína en *E. coli*, ¿qué deberíamos utilizar, el cDNA de la ovoalbúmina o el DNA genómico de la ovoalbúmina? ¿Por qué?

7. *Frecuencia de escisión.* La enzima de restricción *Alu*I escinde la secuencia 5′-AGCT-3′ y *Not*I la secuencia 5′-GCGGCCGC-3′. Cuando se digiere un DNA de doble hebra, ¿cuál será la distancia promedio entre los sitios de escisión de cada enzima? Considere que el DNA contiene la misma proporción de A, G, C y T.

8. *Los cortes correctos.* Suponga que se prepara una biblioteca genómica humana mediante la digestión exhaustiva del DNA humano con la enzima de restricción *Eco*RI. Se generarían fragmentos con una longitud media de 4 kb. ¿Es este un procedimiento apropiado para clonar genes de gran tamaño? ¿Por qué? o ¿Por qué no? ✓ 8

9. *Leyendo secuencias.* En la ilustración adjunta se muestra un autorradiograma de un gel de secuenciación con cuatro calles de fragmentos de DNA. ✓ 8



(a) ¿Cuál es la secuencia del fragmento de DNA?
(b) Suponga que el método didesoxi de Sanger determina que la secuencia de la hebra molde es 5′-TGCAATGGC-3′. Dibuje la posición de las bandas del gel que nos permitiría llegar a esta conclusión.

10. *Una escisión reveladora.* La anemia falciforme es consecuencia de una mutación en el gen de la cadena β de la hemoglobina humana. En el mutante, el cambio de GAG a GTG elimina un sitio de restricción para la enzima *Mst*II, que reconoce la secuencia diana CCTGAGG. Estos hallazgos constituyen la base de un método de diagnóstico para detectar la presencia del gen de la anemia falciforme. Sugiera un procedimiento rápido para distinguir entre el gen normal y el gen mutante. En caso de que la prueba diese resultado positivo, ¿quedaría demostrado que el mutante contiene GTG en vez de GAG?

11. *Una bendición y una maldición.* El poder de la PCR también puede crear problemas. Supongamos que alguien afirma que ha aislado DNA de dinosaurios utilizando PCR. ¿Qué preguntas le haría usted para determinar si es verdaderamente DNA de dinosaurio? ✓ 8

12. *Cuestión de precisión.* La rigurosidad (p. 721) de la amplificación por PCR se puede controlar variando la temperatura a la que tiene lugar la hibridación entre los cebadores y el DNA dia-

na. ¿Cómo se vería afectada la amplificación si se cambiase la temperatura de hibridación? Suponga que está estudiando un determinado gen de levadura (el gen A) y que quiere comprobar si existe un homólogo en humanos. ¿En qué medida le podría ayudar el control de la rigurosidad de la hibridación? ✓ 8

13. *Una escalera misteriosa.* El patrón de un gel en el que se visualizan los productos de una PCR muestra cuatro bandas intensas. Las longitudes de los cuatro fragmentos de DNA se encuentran en una relación de aproximadamente 1:2:3:4. Se corta el gel para extraer la banda más grande y se utiliza para repetir la PCR con los mismos cebadores. De nuevo, se observa en el gel una escalera con cuatro bandas. ¿Qué es lo que indican estos resultados sobre la estructura de la proteína codificada?

14. *El mejor amigo del hombre.* ¿Por qué el análisis genómico de los perros resultaría particularmente útil para el estudio de los genes responsables del tamaño corporal y de otras características físicas?

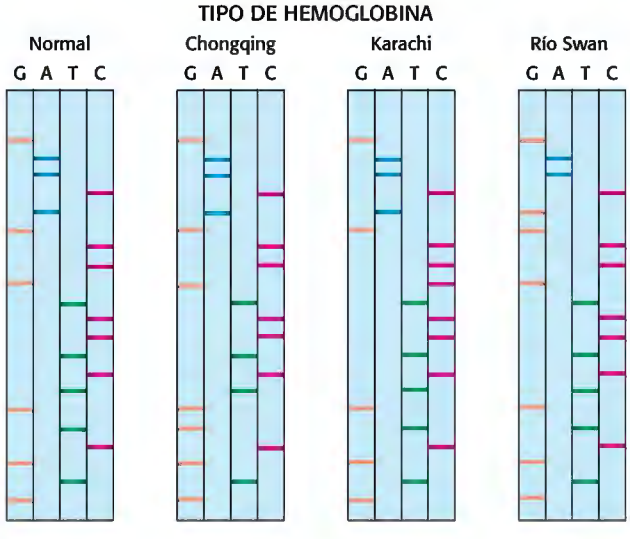
15. *De ratones y hombres.* Se ha identificado un gen que está localizado en el cromosoma humano 20 y se quiere determinar su ubicación en el genoma del ratón. ¿En qué cromosoma habría más probabilidades de encontrar el homólogo de este gen en el ratón? ✓ 8

Problema de integración de capítulos

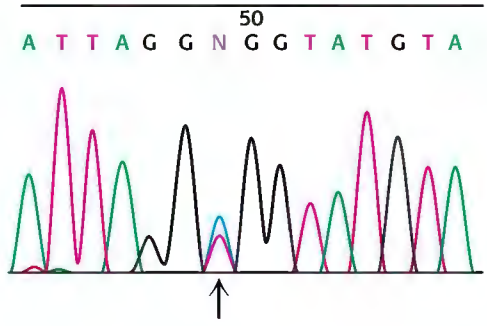
16. *Diseño de cebadores.* A menudo, el éxito de un experimento de PCR depende del correcto diseño de los cebadores. Concretamente, la T_m de cada cebador debe ser aproximadamente la misma. ¿Cuál es el fundamento de este requisito? ✓ 8

Problemas de interpretación de datos

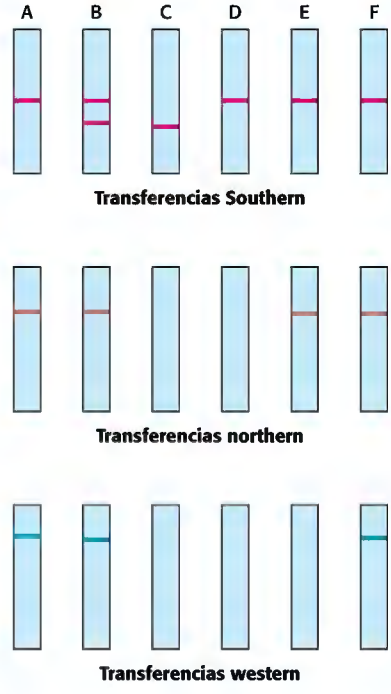
17. *Diagnóstico basado en el DNA.* En la figura se representan los geles de secuenciación correspondientes a diversas variantes de la cadena α de la hemoglobina humana. ¿Qué tipo de cambio de aminoácido se da en cada una de las variantes? El primer triplete codifica la valina.



18. *Dos picos.* Durante el estudio de un gen y de sus posibles mutaciones en seres humanos, se obtienen unas muestras de DNA genómico a partir de un grupo de personas y se amplifica por PCR una región de interés incluida en este gen. En una de las muestras se obtiene el cromatograma de secuenciación que aparece en la figura inferior. Explique por qué se produce el resultado de la posición 49 (indicada mediante una flecha).



19. *En cualquier dirección excepto por el este.* Se ha observado que una serie de personas tienen dificultades para eliminar cierto tipo de fármacos de su torrente sanguíneo. Se ha relacionado el problema con un gen X, que codifica una enzima Y. Se hicieron pruebas a seis personas utilizando diversas técnicas de biología molecular. El individuo A es un control normal, el individuo B no presenta síntomas pero alguno de sus hijos tiene el problema metabólico, y los individuos C a F muestran el rasgo. Se obtuvieron muestras de tejido de cada individuo. Tras la digestión del DNA con la enzima de restricción *Hind*III se realizó una transferencia Southern. También se llevó a cabo la transferencia northern del mRNA. En ambos tipos de análisis, se colocaron los geles en presencia de una sonda consistente en el cDNA de X marcado. Por último, para detectar la presencia de la proteína Y, se realizó una transferencia western con un anticuerpo monoclonal unido a una enzima. Los resultados se muestran en la figura. ¿Por qué el individuo B no presenta síntomas? Sugerir posibles defectos en el resto de los individuos. ✓ 8



Problemas para atrevidos

20. *Una cassette con muchas canciones*. Suponga que se ha aislado una enzima que digiere la pasta de papel y que se ha obtenido su cDNA. Se pretende producir un mutante que sea efectivo a altas temperaturas. Por ingeniería genética se ha introducido un par de sitios de restricción únicos que flanquean una región codificante de 30 pares de bases del cDNA. Proponga una técnica para generar de forma rápida muchos mutantes diferentes en esta región.

21. *Terra incognita*. La PCR se utiliza normalmente para amplificar un DNA que se encuentra entre dos secuencias conocidas. Suponga que se quiere analizar el DNA situado a ambos lados de una única secuencia conocida. Diseñe una variante del protocolo habitual de PCR que le permita amplificar un territorio genómico totalmente nuevo. ✓ 8

22. *Paseo cromosómico*. Sugiera un método que permita aislar un fragmento de DNA que, en el genoma, sea adyacente a un fragmento de DNA aislado previamente. Considere que se tiene acceso a una biblioteca completa de fragmentos de DNA en un vector, pero que aún no se ha determinado la secuencia del genoma que se está estudiando. ✓ 8

En la dirección www.whfreeman.com/tymoczko2e se pueden encontrar lecturas recomendadas para este capítulo.

APÉNDICE A: Constantes físicas y unidades de conversión

Valores de las constantes físicas

Contante física	Símbolo o abreviatura	Valor
Unidad de masa atómica (dalton)	uma	$1{,}660 \times 10^{-24}$ g
Número de Avogadro	N	$6{,}022 \times 10^{23}$ mol^{-1}
Constante de Boltzmann	k	$1{,}381 \times 10^{-23}$ J K^{-1} $3{,}298 \times 10^{-24}$ cal K^{-1}
Electronvoltio	eV	$1{,}602 \times 10^{-19}$ J $3{,}828 \times 10^{-20}$ cal
Constante de Faraday	F	$9{,}649 \times 10^{4}$ J V^{-1} mol^{-1} $9{,}649 \times 10^{4}$ C mol^{-1}
Curio	Ci	$3{,}70 \times 10^{10}$ desintegraciones s^{-1}
Constante de los gases	R	8,315 J mol^{-1} K^{-1} 1,987 cal mol^{-1} K^{-1}
Constante de Planck	h	$6{,}626 \times 10^{-34}$ J s $1{,}584 \times 10^{-34}$ cal s
Velocidad de la luz en el vacío	c	$2{,}998 \times 10^{10}$ cm s^{-1}

Abreviaturas: C, culombio; cal, caloría; cm, centímetro; K, kelvin; g, gramo; J, julio; s, segundo; V, voltio.

Constantes matemáticas

$\pi = 3{,}14159$

$e = 2{,}71828$

$\log_e x = 2{,}303 \log_{10} x$

Factores de conversión

Magnitud física	Equivalente
Longitud	$1\ cm = 10^{-2}\ m = 10\ mm = 10^{4}\ \mu m = 10^{7}\ nm$ $1\ cm = 10^{8}\ Å = 0{,}3937$ pulgadas
Masa	$1\ g = 10^{-3}\ kg = 10^{3}\ mg = 10^{6}\ \mu g$ $1\ g = 3{,}527 \times 10^{-2}$ onzas (sistema avoirdupois)
Volumen	$1\ cm^3 = 10^{-6}\ m^3 = 10^{3}\ mm^3$ $1\ ml = 1\ cm^3 = 10^{-3}$ litros $= 10^{3}\ \mu l$ $1\ cm^3 = 6{,}1 \times 10^{-2}$ pulgadas$^3 = 3{,}53 \times 10^{-5}$ pies^3
Temperatura	$K = °C + 273{,}15$ $°C = (5/9)(°F - 32)$
Energía	$1\ J = 10^{7}$ erg $= 0{,}239$ cal $= 1$ watio s
Presión	1 torr = 1 mm Hg (0°C) $= 1{,}333 \times 10^{2}$ newton m^{-2} $= 1{,}333 \times 10^{2}$ pascales $= 1{,}316 \times 10^{-3}$ atmósferas

Prefijos estándar

Prefijo	Abreviatura	Factor
kilo	k	10^{3}
hecto	h	10^{2}
deca	da	10^{1}
deci	d	10^{-1}
centi	c	10^{-2}
mili	m	10^{-3}
micro	μ	10^{-6}
nano	n	10^{-9}
pico	p	10^{-12}

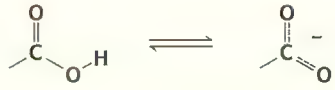
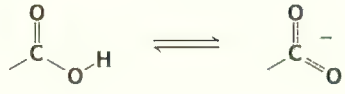
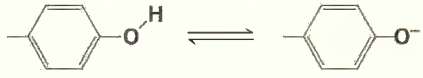
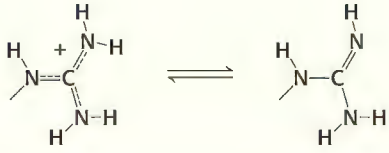
APÉNDICE B: Constantes de acidez

Valores de pK_a de algunos ácidos

Ácido	pK_a (a 25°C)	Ácido	pK_a (a 25°C)
Ácido acético	4,76	Ácido málico, pK_1	3,40
Ácido acetoacético	3,58	pK_2	5,11
Ion amonio	9,25	Fenol	9,89
Ácido ascórbico, pK_1	4,10	Ácido fosfórico, pK_1	2,12
pK_2	11,79	pK_2	7,21
Ácido benzoico	4,20	pK_3	12,67
Ácido *n*-butírico	4,81	Ion piridinio	5,25
Ácido cacodílico	6,19	Ácido pirofosfórico, pK_1	0,90
Ácido cítrico, pK_1	3,14	pK_2	2,00
pK_2	4,77	pK_3	6,60
pK_3	6,39	pK_4	9,40
Ion etilamonio	10,81	Ácido succínico, pK_1	4,21
Ácido fórmico	3,75	pK_2	5,64
Glicina, pK_1	2,35	Ion trimetilamonio	9,79
pK_2	9,78	Tris(hidroximetil) aminometano	8,08
Ion imidazol	6,95	Agua*	15,74
Ácido láctico	3,86		
Ácido maleico, pK_1	1,83		
pK_2	6,07		

*$[H^+][OH^-] = 10^{-14}$; $[H_2O] = 55,5$ M.

Valores de pK_a de algunos grupos ionizables de las proteínas

Grupo	Ácido ⇌ Base	pK_a típico
Grupo α-carboxilo terminal		3,1
Ácido aspártico Ácido glutámico		4,1
Histidina		6,0
Grupo α-amino terminal		8,0
Cisteína		8,3
Tirosina		10,4
Lisina		10,0
Arginina		12,5

Nota: los valores de pK_a dependen de la temperatura, de la fuerza iónica y del microentorno del grupo ionizable.

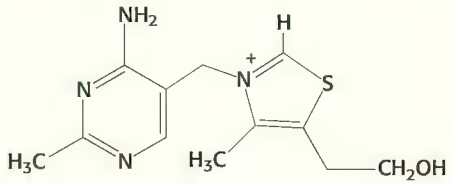
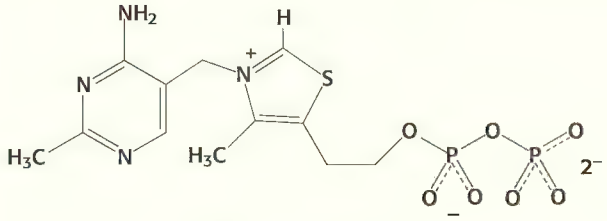
APÉNDICE C: Longitudes de enlace estándar

Enlace	Estructura	Longitud (Å)	Enlace	Estructura	Longitud (Å)
C—H	R_2CH_2	1,07	C═O	Aldehído	1,22
	Aromático	1,08		Amida	1,24
	RCH_3	1,10	C—S	R_2S	1,82
C—C	Hidrocarburo	1,54	N—H	Amida	0,99
	Aromático	1,40	O—H	Alcohol	0,97
C═C	Etileno	1,33	O—O	O_2	1,21
C≡C	Acetileno	1,20	P—O	Éster	1,56
C—N	RNH_2	1,47	S—H	Tiol	1,33
	O═C—N	1,34	S—S	Disulfuro	2,05
C—O	Alcohol	1,43			
	Éster	1,36			

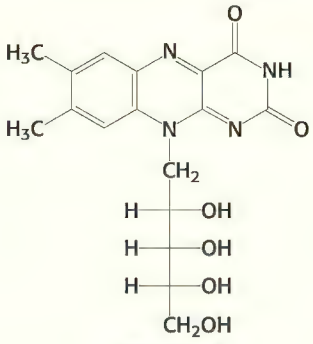
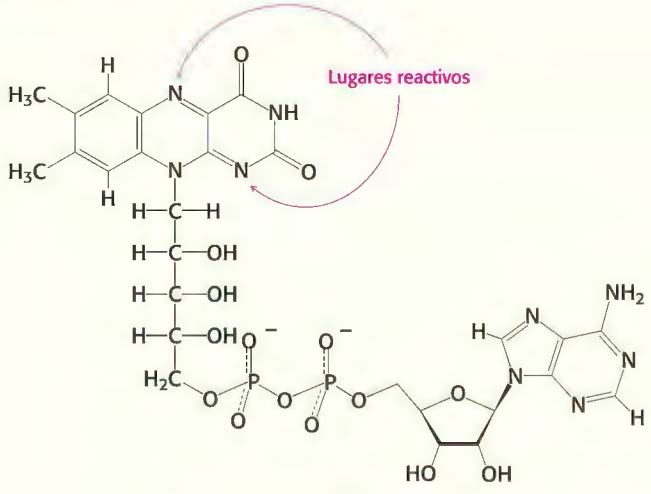
APÉNDICE D: Vitaminas hidrosolubles

A excepción de la vitamina C, las vitaminas que aparecen en esta tabla son vitaminas del grupo B y, además, forman parte de las coenzimas, cofactores derivados de vitaminas necesarios para la actividad de determinadas enzimas. Para convertirse en coenzimas, algunas vitaminas se modifican de manera considerable.

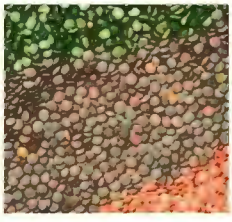
Vitamina B_1 (Tiamina)

Vitamina	Coenzima
 Vitamina B_1 (Tiamina)	 Tiamina pirofosfato (TPP)

Vitamina B_2 (Riboflavina)

Vitamina	Coenzima
 Vitamina B_2 (Riboflavina)	 Dinucleótido de flavina y adenina (FAD)

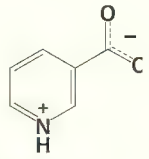
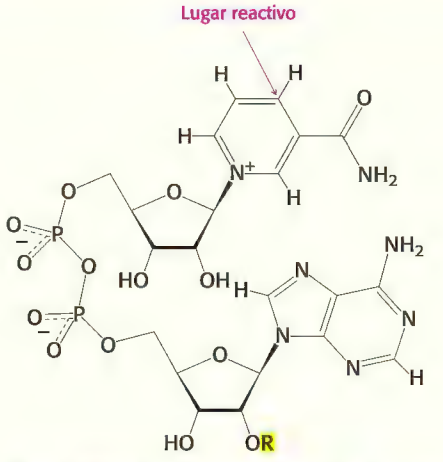
Abreviatura: CDR = cantidad diaria recomendada.

	Fuente	Insuficiencia	Reacción típica	CDR	Página
	Cerdo, legumbres, pan y productos derivados del pan 	Beriberi (debilidad muscular, anorexia, debilidad cardiaca)	Transferencia de aldehídos	Varones de 19 años o más: 1,2 mg Mujeres de 19 años o más: 1,1 mg	281

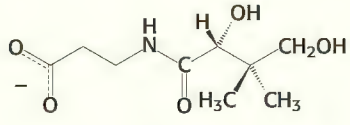
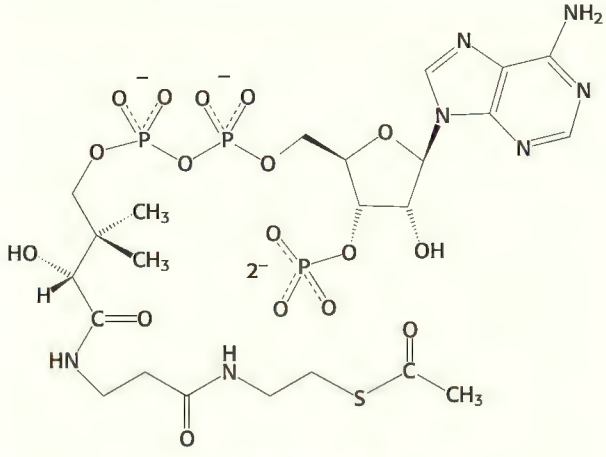
	Fuente	Insuficiencia	Reacción típica	CDR	Página
	Almendras, vísceras, cereales integrales, brécol  bluemagenta/Alamy	Fisuras en las comisuras de la boca (queilosis), lesiones bucales (estomatitis angular), dermatitis	Oxidación-reducción	Varones de 19 años o más: 1,3 mg Mujeres de 19 años o más: 1,1 mg	258

(continúa)

Vitamina B_3 (Niacina)

Vitamina	Coenzima
 Vitamina B_3 (Niacina)	 Dinucleótido de nicotinamida y adenina (fosfato) R = H (NAD^+) R = PO_3^{2-} ($NADP^+$)

Vitamina B_5 (Pantotenato)

Vitamina	Coenzima
 Vitamina B_5 (Pantotenato)	 Acetil-coenzima A (Acetil-CoA)

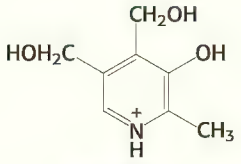
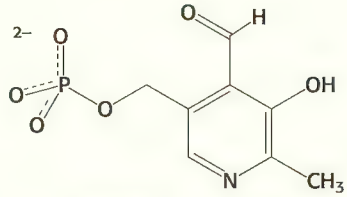
Abreviaturas: CDR = cantidad diaria recomendada; IA = ingesta adecuada; no se ha determinado la CDR.

	Fuente	Insuficiencia	Reacción típica	CDR	Página
	Pechuga de pollo, productos lácteos, legumbres, nueces 	Pelagra (dermatitis, demencia, diarrea)	Oxidación-reducción	Varones de 19 años o más: 16 mg Mujeres de 19 años o más: 14 mg	279

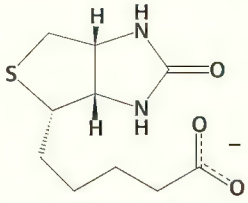
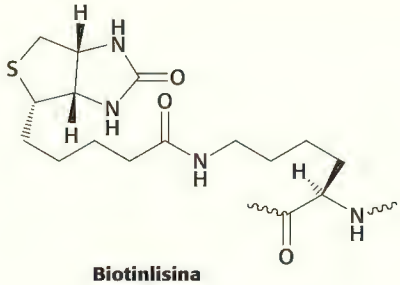
	Fuente	Insuficiencia	Reacción típica	IA	Página
	Yema de huevo, pollo, ternera, brécol  FoodCollection/AgeFotostock	Nunca ha habida informes claros sobre una insuficiencia. Sin embargo, algunos informes sugieren insensibilidad, hormigueos en la piel (parestesia), calambres musculares	Transporte de grupos acilo	Varones de 19 años o más: 5 mg Mujeres de 19 años o más: 5 mg	260

(continúa)

Vitamina B_6 (Piridoxina)

Vitamina	Coenzima
 Vitamina B_6 (Piridoxina)	 Piridoxal fosfato (PLP)

Vitamina B_7 (Biotina)

Vitamina	Coenzima
 Vitamina B_7 (Biotina)	 Biotinlisina

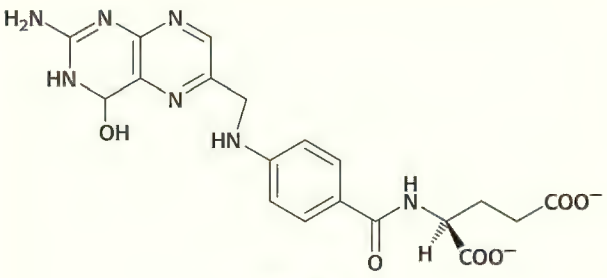
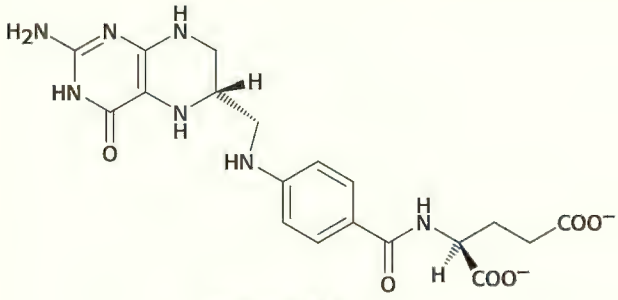
Abreviaturas: CDR = cantidad diaria recomendada; IA = ingesta adecuada; no se ha determinado la CDR.

	Fuente	Insuficiencia	Reacción típica	CDR	Página
	Ternera, salmón, plátanos, cereales integrales  adlifemarketing/iStockphoto	Fatiga, fisuras en las comisuras de la boca (queilosis), inflamación de la lengua (glositis), inflamación del revestimiento de la boca (estomatitis)	Transferencia de grupos	Varones de 19 años o más: 1,3 mg Mujeres de 19 años o más: 1,3 mg	545

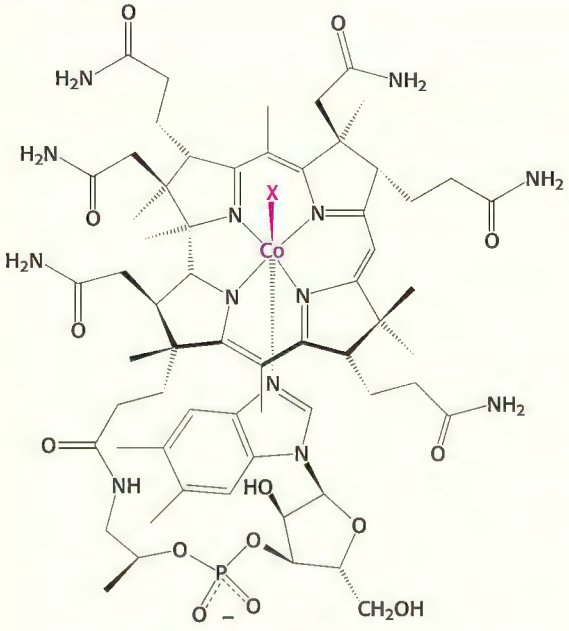
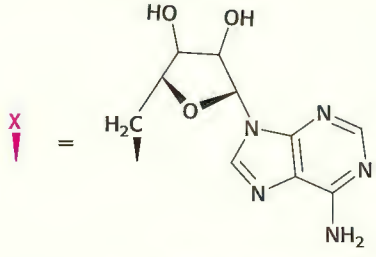
	Fuente	Insuficiencia	Reacción típica	IA	Página
	Hígado, soja, nueces  Charles Brutlag/FeaturesPics	Dolor muscular, letargo, anorexia, depresión	Carboxilación dependiente de ATP y transferencia de grupos carboxilo	Varones de 19 años o más: 30 µg Mujeres de 19 años o más: 30 µg	303

(continúa)

Vitamina B_9 (Ácido fólico)

Vitamina	Coenzima
 Vitamina B_9 (Ácido fólico)	 Tetrahidrofolato

Vitamina B_{12} (Cobalamina)

Vitamina	
 Vitamina B_{12} (Hidroxicobalamina) X = OH	 Coenzima B_{12} (5-Desoxiadenosilcobalamina)

Abreviaturas: CDR = cantidad diaria recomendada.

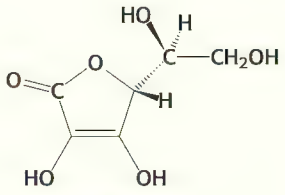
	Fuente	Insuficiencia	Reacción típica	CDR	Página
	Verduras verdes como la espinaca, los espárragos y el brécol  Rob Owen-Wahl/stock.xchng	Diarrea, fatiga, depresión, presencia de menos glóbulos rojos, aunque más grandes (anemia megaloblástica)	Transferencia de compuestos monocarbonados	Varones de 19 años o más: 400 μg Mujeres de 19 años o más: 400 μg	547

	Fuente	Insuficiencia	Reacción típica	CDR	Página
	Carne, pescado, aves de corral y huevos  Nicoli/FeaturePics	Menos glóbulos rojos, aunque más grandes (anemia megaloblástica), fatiga, dificultades respiratorias, insensibilidad en las extremidades	Reorganizaciones intramoleculares, metilaciones, reducción de nucleótidos a desoxirribonucleótidos	Varones de 19 años o más: 2,4 μg Mujeres de 19 años o más: 2,4 μg	472

(continúa)

Vitamina C (Ácido ascórbico)

Vitamina



Vitamina C
(Ácido ascórbico)

Abreviaturas: CDR = cantidad diaria recomendada.

	Fuente	Insuficiencia	Reacción típica	CDR	Página
	Cítricos, tomates, brécol  Don Farrell/Digital Vision/ Getty Images	Escorbuto (encías sangrantes, ruptura de los capilares, lenta curación de las heridas)	Antioxidante	Varones de 19 años o más: 90 mg Mujeres de 19 años o más: 75 mg	55

Glosario

2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG) Regulador alostérico de la unión del oxígeno a la hemoglobina. También se denomina 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG).

3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa) Enzima muy regulada que cataliza el paso comprometido de la síntesis del colesterol —la formación de mevalonato a partir de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA.

3-isopentenilpirofosfato Isopreno activado; el material de construcción básico para el colesterol.

5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP) Una forma activada de la ribosa que acepta bases de nucleótidos.

abrazadera deslizante Subunidad β_2 dimérica de la DNA polimerasa III a través de la cual se desliza el DNA molde. La enzima es capaz de moverse sin separarse del sustrato enganchándose a la molécula de DNA.

acetil-CoA carboxilasa Enzima que cataliza la síntesis, dependiente de ATP, de malonil-CoA a partir de acetil-CoA y dióxido de carbono en el paso comprometido de la síntesis de ácidos grasos.

acetil-CoA Unidad acetilo activada, de dos átomos de carbono, resultado de la formación de un enlace tioéster entre la coenzima A y el ácido acético.

acetil-lipoamida Compuesto que actúa como intermediario en la síntesis de acetil-CoA a partir de piruvato. El grupo acetilo se transfiere a la coenzima A.

acetiltransferasa de histonas (HAT) Enzima que cataliza la unión de grupos acetilo procedentes de la acetil-CoA a residuos de lisina específicos de los dominios amino-terminales de las histonas. Estas enzimas desempeñan un papel crucial en la modificación de la estructura de la cromatina para intensificar la transcripción.

ácido desoxirribonucleico (DNA) Ácido nucleico formado por cuatro desoxirribonucleótidos distintos; contiene el genoma y en todos los organismos superiores se encuentra en forma de hélice de doble hebra.

ácido fosfatídico fosfatasa (PAP) Enzima reguladora clave en la síntesis de lípidos. La enzima controla la cantidad de triacilgliceroles que se sintetizan en comparación con la de fosfolípidos y regula el tipo de fosfolípido que se sintetiza.

ácido graso Ácido carboxílico que contiene una larga cadena hidrocarbonada. Los ácidos grasos son una importante fuente de combustible y son componentes clave de los lípidos de membrana.

ácido graso sintasa Sistema enzimático que cataliza la síntesis de ácidos grasos de cadena larga saturada a partir de acetil-CoA, malonil-CoA y NADPH; en bacterias, al preparar extractos celulares, se pueden disociar las enzimas que forman parte del complejo sintasa; en mamíferos, todas las actividades enzimáticas que constituyen la ácido graso sintasa forman parte del mismo polipéptido.

ácido lipoico Transportador de grupos acilo que funciona como cofactor en algunas enzimas deshidrogenasas; unido covalentemente a residuos específicos de lisina de la enzima, puede encontrarse en su forma reducida de cadena abierta o en la forma cíclica disulfuro, y la interconversión de una forma en otra se lleva a cabo por medio de un ciclo catalítico.

ácido nucleico Macromolécula compuesta por monómeros de nucleótido que almacena y transfiere la información en las células. El DNA y el RNA son ácidos nucleicos.

ácido ribonucleico (RNA) Polímero largo y no ramificado formado por ribonucleótidos unidos mediante enlaces 3′→5′ fosfodiéster. Esta molécula de hebra sencilla tiene una composición similar a la del DNA, salvo por el hecho de que, en vez de timina, contiene la base uracilo y de que el componente azúcar presenta un grupo hidroxilo extra. El RNA desempeña muchas funciones en la célula, incluyendo la de catalizador.

aciladenilato Anhídrido mixto en el que el grupo carboxilo de una molécula se une al grupo fosforilo del AMP; la formación de aciladenilatos es una forma de activar grupos carboxilo en las reacciones bioquímicas, como, por ejemplo, en la formación de moléculas de acil-CoA a partir de ácidos grasos libres y coenzima A.

adenilato ciclasa Enzima que, a partir del ATP, genera adenosina monofosfato cíclico, un segundo mensajero.

adenina (A) Una base del DNA y del RNA.

adenosina trifosfato (ATP) Nucleótido formado por adenina, una ribosa y una unidad trifosfato, y que es el donador de energía libre en la mayoría de los procesos que requieren energía, como el movimiento, el transporte activo o la biosíntesis. La mayor parte del catabolismo consiste en reacciones que extraen energía libre a partir de combustibles, como carbohidratos y grasas, y la convierten en ATP.

adrenalina Catecolamina liberada por la médula suprarrenal en respuesta a la actividad muscular o a su anticipación y que estimula la descomposición del glucógeno muscular. También se llama epinefrina.

agonista Molécula que se une a una proteína receptora y desencadena una ruta de señalización.

ajuste inducido Modificación de la forma del centro activo de una enzima que se produce tras la unión del sustrato.

aldosa Monosacárido cuyo átomo de carbono C-1 contiene un grupo aldehído.

almidón Homopolisacárido que constituye una forma de almacenamiento de la glucosa en los cloroplastos de las plantas; la amilopectina, la forma ramificada del almidón, contiene aproximadamente un enlace α-1,6 por cada treinta enlaces α-1,4, mientras que la amilosa, que no está ramificada, está formada por residuos de glucosa unidos mediante enlaces α-1,4.

α-amilasa Enzima pancreática que digiere el almidón y el glucógeno mediante la escisión de los enlaces α-1,4 del almidón y del glucógeno, pero no de los enlaces α-1,6. Los productos son los di- y trisacáridos maltosa y maltotriosa, así como el material no digerible por la enzima.

aminoácido esencial Aminoácido que no se puede sintetizar *de novo* y, por tanto, tiene que estar incluido en la dieta; en mamíferos adultos se considera que al menos nueve aminoácidos son esenciales.

aminoácido glucogénico Aminoácido cuyo esqueleto carbonado se puede convertir, total o parcialmente, en sustratos para la gluconeogénesis.

aminoácidos cetogénicos Aminoácidos cuyos esqueletos carbonados se degradan, total o parcialmente, a acetil-CoA o a acetoacetil-CoA; solo la leucina y la lisina son exclusivamente cetogénicos.

aminoácidos no esenciales Aminoácidos que pueden ser sintetizados por un organismo y, por tanto, no son un requisito en la dieta.

aminoacil-tRNA sintetasa Enzima que activa un aminoácido y, después, lo une a un RNA de transferencia. Cada aminoacil-tRNA sintetasa, también denominada enzima activadora, es específica para un aminoácido concreto.

aminotransferasas Una clase de enzimas que transfieren un grupo α-amino de un α-aminoácido a un α-cetoácido. También se denominan transaminasas.

anabolismo Conjunto de reacciones metabólicas que requieren energía para sintetizar moléculas a partir de precursores más sencillos.

anaerobio obligado Organismo que no puede sobrevivir en presencia de oxígeno y, por tanto, depende de la fermentación para obtener la energía celular.

análogo del estado de transición Compuesto que se parece al estado de transición de una reacción catalizada; con frecuencia, estos compuestos son potentes inhibidores de las reacciones catalizadas por enzimas.

ángulo phi Ángulo de rotación en torno al enlace entre el átomo de nitrógeno y el átomo de carbono α de un aminoácido que forma parte de una cadena polipeptídica.

ángulo psi Ángulo de rotación en torno al enlace entre el átomo de carbono α y el átomo de carbono carbonilo de un aminoácido que forma parte de una cadena polipeptídica.

anhidrasa carbónica Enzima que abunda en los glóbulos rojos y que hidrata el dióxido de carbono de la sangre formando bicarbonato (HCO_3^-), la forma en que se transporta el dióxido de carbono.

anómeros Isómeros de hemiacetales o hemicetales cíclicos, cuya configuración difiere únicamente en el átomo de carbono carbonilo; ese átomo de carbono se denomina átomo de carbono anomérico.

antagonista Molécula que se une a una proteína receptora pero que no desencadena la ruta de señalización. Este tipo de moléculas son como los inhibidores competitivos de una enzima.

anticodón Secuencia de tres nucleótidos del tRNA que forma pares de bases con un codón del mRNA.

anticuerpo monoclonal Anticuerpo, producido por una célula de hibridoma clonada, que solo se une a un epítopo de un antígeno específico.

anticuerpo Proteína sintetizada por un animal en respuesta a una sustancia foránea, denominada antígeno. Los anticuerpos tienen una afinidad y una especificidad hacia sus antígenos muy elevadas. La unión de un anticuerpo a un antígeno es un paso decisivo en la respuesta inmunitaria.

antígeno Sustancia foránea que genera una respuesta inmunitaria en un organismo.

antiporte Sistema de transporte en el que una molécula es transportada a través de una membrana en dirección opuesta a la de un ion que, a su vez, es bombeado a través de la membrana mediante un transporte activo acoplado a la hidrólisis de ATP.

aparato de Golgi En el citoplasma, es un conjunto de sacos membranosos apilados que constituyen el principal centro de distribución de las proteínas que residen en las membranas celulares y en el *lumen* de los orgánulos.

apoenzima Enzima en ausencia de su cofactor.

araquidonato Ácido graso 20:4, derivado del linoleato, que es uno de los principales precursores de varias clases de moléculas señal, como las prostaglandinas.

ATP sintasa Ensamblaje molecular de la membrana mitocondrial interna responsable de la síntesis de ATP impulsada por la cadena respiratoria. También se denomina Complejo V, ATPasa mitocondrial, H^+-ATPasa o F_0F_1-ATPasa. La enzima correspondiente en cloroplastos se denomina complejo CF_0-CF_1.

ATPasas de tipo P Familia de enzimas que utiliza la energía de la hidrólisis del ATP para mover iones a través de una membrana; se denominan "ATPasas de tipo P" porque el mecanismo de reacción incluye un intermediario fosforilaspartato.

automaduración Hace referencia a intrones que tienen la capacidad de escindirse a sí mismos del RNA precursor y, durante el procesamiento de los exones, contribuyen a la formación del RNA maduro.

azúcar no reductor Azúcar que no se puede convertir fácilmente en una forma que tenga un grupo aldehído libre capaz de reducir otro compuesto. Este tipo de conversión se evita porque el azúcar forma un enlace glicosídico con otro compuesto.

azúcar reductor Azúcar que se convierte en una forma con un grupo aldehído libre que se oxida fácilmente y, por tanto, es capaz de reducir otro compuesto.

bacteriófago lambda (fago λ) Virus bacteriano que se utiliza frecuentemente como vector de clonación. El fago λ se puede multiplicar en el interior de un huésped y lisarlo (ciclo lítico) o puede integrar su DNA en el genoma del huésped (ciclo lisogénico), donde permanece en estado latente hasta su activación.

balanceo Hace referencia a la libertad estérica para el emparejamiento de la tercera base de un codón del mRNA con el anticodón de una molécula de RNA de transferencia, lo que permite que una molécula concreta de tRNA pueda reconocer más de un codón.

balsa lipídica Complejo formado por colesterol y algunos fosfolípidos, sobre todo, esfingolípidos. Estos complejos se pueden concentrar en regiones específicas de la membrana. Las estructuras resultantes son más anchas, más estables y menos fluidas que el resto de la membrana. Las balsas lipídicas también pueden desempeñar un papel a la hora de concentrar proteínas que participan en las rutas de transducción de señales. También se denominan balsas de membrana.

beriberi Trastorno neurológico y cardiovascular provocado por una dieta insuficiente en tiamina (vitamina B_1).

biblioteca de DNA complementario (cDNA) Colección de moléculas de cDNA, obtenidas a partir de todas las moléculas de mRNA que está expresando una célula, insertadas en vectores de clonación.

biblioteca genómica Colección de fragmentos de DNA, insertados en un vector de clonación, que representan la totalidad del genoma de un organismo.

bicapa lipídica Lámina de dos moléculas de espesor formada por moléculas anfipáticas en las que sus regiones hidrofóbicas se orientan hacia el interior de la lámina y las hidrofílicas se orientan hacia el exterior acuoso.

biotina Vitamina que interviene en reacciones de carboxilación y descarboxilación.

bomba de sodio-potasio (K^+–Na^+) Enzima que utiliza la energía de la hidrólisis del ATP para bombear el sodio hacia fuera de la célula y el potasio hacia el interior. También se denomina ATPasa de sodio-potasio.

bomba Na^+-K^+ Enzima unida a la membrana que utiliza la energía de la hidrólisis del ATP para bombear Na^+ fuera de la célula y K^+ hacia el interior, en contra de sus gradientes de concentración. También se denomina ATPasa de Na^+–K^+.

bromodominio Dominio formado por un manojo de cuatro hélices que se une a péptidos que contienen acetil-lisina. También se denomina dominio de unión a la acetil-lisina.

burbuja de transcripción Lugar donde se lleva a cabo la síntesis de RNA o transcripción; contiene la RNA polimerasa, una "burbuja" de DNA desnaturalizado a nivel local y hélices híbridas formadas por la hebra molde y el RNA recién sintetizado.

cadena lateral Grupo variable característico unido al átomo de carbono α de un aminoácido. También se denomina grupo R.

cadena transportadora de electrones Cuatro grandes complejos proteicos integrados en la membrana mitocondrial interna. Las reacciones de oxidación reducción que permiten el flujo de electrones desde el NADH y el $FADH_2$ al oxígeno tienen lugar en estos complejos. También se denomina cadena respiratoria.

caja TATA Elemento promotor, presente en casi todos los genes eucarióticos, que da lugar al mRNA. La caja TATA está centrada entre 30 y 90 nucleótidos corriente arriba del lugar de inicio de la transcripción y su secuencia consenso es 5′-TATAAAA-3′.

calmodulina (CaM) En vertebrados, es una proteína ubicua que, cuando se une a calcio, estimula muchas enzimas y transportadores.

canal Conducto proteico ininterrumpido que permite a los iones fluir rápidamente a través de una membrana desde un compartimento donde su concentración es elevada a otro en el que su concentración es menor. Generalmente, los canales están formados por cuatro o seis subunidades, o dominios, y su apertura y cierre se puede regular mediante el potencial de membrana, efectores alostéricos o modificaciones covalentes.

canal iónico Sistema de transporte pasivo de iones que puede alcanzar velocidades de transporte elevadas; a menudo, los canales iónicos muestran un alto grado de especificidad hacia el ion que transportan.

capuchón 5′ Estructura del extremo 5′ del mRNA eucariótico que estabiliza el mRNA e intensifica su traducción. El capuchón contiene un residuo de 7-metilguanilato unido mediante un enlace trifosfato al azúcar del extremo 5′ del mRNA, un enlace 5′-5′ bastante raro.

carbamato Grupo cargado negativamente que se forma entre un grupo amino terminal y el dióxido de carbono. En la hemoglobina, la formación de carbamato estimula la liberación de oxígeno.

carbamilfosfato sintetasa (CPS) Enzima que da comienzo al ciclo de la urea catalizando la síntesis de carbamilfosfato a partir de bicarbonato, un ion amonio y ATP. Hay una isoenzima de esta enzima que también cataliza la reacción inicial de la biosíntesis de pirimidina.

carbohidrato Sacárido, que puede ser un aldehído o una cetona, con múltiples grupos hidroxilo. También se define como un compuesto orgánico que se ajusta a la fórmula empírica $(CH_2O)_n$.

carga energética Mecanismo para determinar el estatus energético de la célula, y que equivale a la concentración de ATP más la mitad de la concentración de ADP, dividido por la concentración total de nucleótidos de adenina.

carnitina Alcohol zwitteriónico formado a partir de la lisina que actúa como transportador de ácidos grasos de cadena larga desde el citoplasma a la matriz mitocondrial.

carotenoide Polieno extendido que absorbe luz entre 400 y 500 nm y que actúa como pigmento accesorio en la fotosíntesis canalizando la energía hacia el centro de reacción fotosintético.

cascada de fosfoinosítidos Conjunto de reacciones que convierten una señal extracelular en una intracelular; la conversión implica la escisión del fosfolípido fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato en dos segundos mensajeros: inositol 1,4,5-trisfosfato y diacilglicerol.

catabolismo Conjunto de reacciones metabólicas que transforma los combustibles en energía celular.

catalasa Proteína ubicua, que contiene un grupo hemo y que cataliza la dismutación del peróxido de hidrógeno en oxígeno molecular y agua.

catálisis covalente Catálisis en la que el centro activo contiene un grupo reactivo que, en el transcurso de la catálisis, se modifica covalentemente de forma transitoria.

catálisis general ácido-base Catálisis en la que una molécula distinta del agua desempeña el papel de donador o aceptor de protones.

catálisis mediada por iones metálicos Catálisis en la que un metal actúa como un catalizador electrofílico estabilizando una carga negativa en un intermediario de la reacción, genera un nucleófilo incrementando la acidez de moléculas cercanas o aumenta la energía de unión de la interacción enzima-sustrato uniéndose a los sustratos.

catálisis por aproximación Incrementa la velocidad de una reacción reuniendo múltiples sustratos en torno a una única superficie de unión de una enzima.

catalizador Agente que aumenta la velocidad de una reacción química sin resultar afectado de forma permanente.

cavidad del oxianión Región de determinadas enzimas proteolíticas que estabiliza el constituyente oxianiónico del intermediario tetraédrico de la reacción.

cebador Durante la elongación de polímeros, el segmento inicial del polímero que se va a alargar. En la síntesis de DNA, la elongación depende del cebador.

celulosa Homopolisacárido no ramificado de las plantas, formado por residuos de glucosa unidos mediante enlaces β-1,4; es el principal polisacárido estructural de las plantas.

centrifugación en gradiente Técnica de ultracentrifugación utilizada para separar biomoléculas grandes o complejos moleculares. En un tubo de centrífuga se crea un gradiente lineal de una disolución viscosa —p. ej., un gradiente del 5% al 20% de sacarosa. La muestra se coloca en la parte superior del gradiente y se centrifuga el tubo a alta velocidad. Las moléculas o complejos grandes y densos se mueven a través del gradiente más rápidamente que los complejos más pequeños. Los complejos separados se recogen haciendo un agujero en el fondo del tubo y recolectando las gotas. También se denomina centrifugación zonal.

centro activo Región específica de una enzima que se une al sustrato de la enzima y lleva a cabo la catálisis.

centro de reacción En una unidad fotosintética, molécula especializada de clorofila que recoge la energía de excitación de otras moléculas de clorofila e interviene en la transformación de la energía de la luz en energía química.

centro manganeso Lugar donde se genera oxígeno durante la fotosíntesis de las plantas verdes. El centro es un complejo que incluye cuatro iones manganeso que donan electrones al P680 cargado positivamente. Tras donar cuatro electrones, el centro manganeso oxida dos moléculas de agua para reponer sus electrones y, de este modo, genera una única molécula de oxígeno molecular y cuatro protones.

centro peptidil-transferasa Región de la subunidad grande del ribosoma que cataliza la formación de enlaces peptídicos entre el aminoacil-tRNA (o peptidil-tRNA) que ocupa el lugar P y el aminoacil-tRNA que ocupa el lugar A.

ceramida Esfingosina con un grupo acilo de cadena larga unido al grupo amino.

cerebrósido Esfingolípido en el que el grupo hidroxilo terminal de una ceramida se encuentra unido a la glucosa o la galactosa.

cetosa Monosacárido cuyo átomo de carbono más oxidado presenta un grupo cetona.

α-cetoglutarato deshidrogenasa Enzima del ciclo del ácido cítrico que cataliza la descarboxilación oxidativa del α-cetoglutarato para generar succinil-CoA. Esta enzima, que ayuda a regular la velocidad del ciclo del ácido cítrico, tiene una estructura y un mecanismo similar a los del complejo piruvato deshidrogenasa.

ciclo de Calvin Ruta metabólica cíclica de las plantas en la que el dióxido de carbono se incorpora a la ribulosa 1,5-bisfosfato generando compuestos que se pueden utilizar para la síntesis de glucosa. También se llaman reacciones oscuras.

ciclo de Cori Ruta metabólica cíclica, que incluye varios órganos, mediante la cual el lactato procedente de los músculos activos se convierte en el hígado en glucosa, lo que, a su vez, proporciona glucosa recién sintetizada para que sea utilizada por el músculo y por otros tejidos.

ciclo de la urea Ruta cíclica que convierte el exceso de amoniaco en urea, que es secretada; fue la primera ruta metabólica descubierta.

ciclo de los metilos activados Serie de reacciones en las que los grupos metilo de la metionina se convierten en una forma bioquímicamente reactiva mediante la formación de *S*-adenosilmetionina; se puede transferir un grupo metilo activo desde la *S*-adenosilmetionina a moléculas aceptoras como la noradrenalina. El resto del ciclo incluye la regeneración de la metionina a partir de homocisteína y N_5-metiltetrahidrofolato.

ciclo del ácido cítrico Serie cíclica de reacciones metabólicas que oxidan por completo unidades acetilo a dióxido de carbono. También se conoce como el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (a causa del citrato) o ciclo de Krebs, en honor a Hans Krebs, quien descubrió la naturaleza cíclica de la ruta.

ciclo del glioxilato Ruta metabólica que convierte unidades de dos átomos de carbono en succinato para producir energía y para la biosíntesis; este ciclo se encuentra fundamentalmente en bacterias y plantas, evita los dos pasos de descarboxilación del ciclo del ácido cítrico y permite la formación neta, a través del oxalacetato, de glucosa y de otras moléculas a partir de acetato o de acetil-CoA.

ciclo del sustrato Una pareja de reacciones bioquímicas termodinámicamente irreversibles que, de forma simultánea, produce y consume un par de intermediarios metabólicos; estas rutas emparejadas pueden amplificar señales metabólicas y, en algunos casos, pueden generar calor para mantener la temperatura de los tejidos. También se denomina ciclo fútil.

ciclo glucosa-alanina Ciclo mediante el cual se transporta nitrógeno desde el músculo hasta el hígado en forma de alanina.

ciclo Q Conjunto de reacciones en el que la coenzima Q alterna entre el estado completamente reducido y el estado completamente oxidado mediante reacciones de transferencia de un solo electrón en las que uno de los electrones se almacena de forma provisional en $Q^{\bullet -}$; proporciona un mecanismo para transferir los dos electrones de la coenzima Q al citocromo *c* de uno en uno, ya que el citocromo *c* solo transporta un electrón.

cinética El estudio de la velocidad de las reacciones químicas.

citidina difosfodiacilglicerol (CDP-diacilglicerol) Precursor activado para la síntesis de muchos fosfolípidos y que se forma mediante la reacción del fosfatidato con la citidina trifosfato.

citocromo *bf* Complejo citocromo que conecta el fotosistema I con el fotosistema II en las plantas verdes; el citocromo *bf* contribuye al gradiente de protones oxidando el plastoquinol a plastoquinona.

citocromo *c* Componente de la cadena respiratoria, hidrosoluble y muy conservado, que acepta electrones de la citocromo *c* reductasa y, a su vez, es oxidado por la citocromo *c* oxidasa.

citocromo c oxidasa Complejo final de la cadena respiratoria que transfiere electrones desde el citocromo *c* al oxígeno molecular al tiempo que bombea protones a través de la membrana mitocondrial interna para generar la fuerza protón motriz. También se denomina Complejo IV.

citocromo P450 monooxigenasa Enzima que utiliza O_2 para añadir átomos de oxígeno a compuestos bioquímicos como los esteroides. Un átomo de oxígeno se une al sustrato y el otro se reduce a agua.

citoesqueleto Andamiaje interno de las células formado por filamentos de actina, filamentos intermedios y microtúbulos y que permite a las células transportar vesículas, cambiar de forma y migrar.

citoplasma Material bioquímico entre la membrana plasmática y la membrana nuclear que no está rodeado por ninguna otra membrana. El citoplasma es el lugar donde se lleva a cabo un gran número de procesos bioquímicos, incluyendo las etapas iniciales del metabolismo de la glucosa, de la síntesis de ácidos grasos o de la síntesis de proteínas.

citosina (C) Una base del DNA y del RNA.

citrato sintasa Enzima que cataliza la condensación de acetil-CoA con oxalacetato para formar citrato, iniciando el ciclo del ácido cítrico.

clorofila Tetrapirrol sustituido que es el principal fotorreceptor de las plantas.

cloroplasto Orgánulo de las células vegetales donde tiene lugar la fotosíntesis.

coactivador Proteína que intensifica la transcripción uniéndose a un factor de transcripción. Los coactivadores, por sí mismos, no se unen al DNA.

código genético Relación entre la información contenida en una secuencia de ácidos nucleicos y la información de una secuencia proteica.

codón Triplete de nucleótidos del mRNA que codifica un aminoácido concreto.

coeficiente de sedimentación (*s*) Velocidad a la que se moverá una partícula en un medio líquido cuando se la somete a una fuerza centrífuga. Es función de la masa, forma y densidad de la partícula, así como de la densidad del medio. Normalmente, los coeficientes de sedimentación se expresan en unidades Svedberg (S), que equivalen a 10^{-13} *s*.

coenzima A (CoA) Transportador de grupos acilo derivado de una vitamina.

coenzima Pequeña molécula orgánica necesaria para la actividad de muchas enzimas; a menudo, las vitaminas forman parte de las coenzimas.

coenzima Q Transportador de electrones soluble que forma parte de la cadena respiratoria; alterna entre la forma ubiquinona oxidada y la forma ubiquinol reducido por medio de un intermediario semiquinona; acepta electrones de la NADH-Q reductasa y de la succinato-Q reductasa.

cofactor Pequeña molécula de la que puede depender la actividad catalítica de una enzima. El papel exacto del cofactor varía según el cofactor y según la enzima. Los cofactores se pueden dividir en dos grupos: (1) pequeñas moléculas orgánicas denominadas coenzimas y (2) metales.

cola de poli(A) Largo segmento de poliadenilato (de hasta 250 nucleótidos) que se añade postranscripcionalmente al extremo 3′ de la mayoría de las moléculas de mRNA eucarióticas.

colecistoquinina (CCK) Hormona peptídica secretada por las células endocrinas del intestino delgado. Estimula la liberación de enzimas digestivas por parte del páncreas y de sales biliares por parte de la vesícula biliar.

colesterol Esterol que es un importante componente de las membranas eucarióticas y de las lipoproteínas; también es un precursor de las hormonas esteroideas.

complejo captador de luz Complejo de pigmentos y proteínas que absorbe luz y que rodea por completo el centro de reacción de la fotosíntesis; canaliza la energía de la luz absorbida hacia el centro de reacción.

complejo enzima-sustrato (ES) Producto de la unión específica entre el centro activo de una enzima y su sustrato.

complejo nitrogenasa Complejo enzimático que cataliza la reducción del nitrógeno diatómico a amoniaco; está presente en bacterias y en las algas verde-azules.

complejo piruvato deshidrogenasa Enzima mitocondrial, compleja y de gran tamaño, que cataliza la descarboxilación oxidativa del piruvato para formar acetil-CoA; esta reacción irreversible es el enlace entre la glucólisis y el ciclo del ácido cítrico.

constante de Michaelis Concentración de sustrato a la cual la mitad de los centros activos de la enzima se encuentran ocupados; una combinación de las constantes de velocidad del siguiente modelo de reacción.

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} E + P$$

La constante se define como $K_M = (k_{-1} + k_2)/k_1$. En condiciones en las que k_{-1} es mucho mayor que k_2, la K_M equivale a la constante de disociación del complejo enzima-sustrato y es una medida de la afinidad de la enzima hacia el sustrato.

control combinatorio Mecanismo para el control de la expresión génica en eucariotas en el que cada factor de transcripción, en vez de actuar por su cuenta para provocar un efecto en la transcripción, se asocia a otras proteínas para formar grandes complejos que regulan la maquinaria de transcripción.

control respiratorio Estrecho acoplamiento, o coordinación, entre la oxidación de los cofactores reducidos (NADH y $FADH_2$) en la cadena transportadora de electrones y la fosforilación del ADP para generar ATP en la mitocondria; este control garantiza que la velocidad del ciclo del ácido cítrico, que es donde se generan los cofactores reducidos, se corresponda con la demanda de ATP. También se denomina control por medio del aceptor.

corrección del RNA Proceso, distinto de la maduración del RNA, mediante el cual se cambia la secuencia de nucleótidos del RNA después de la transcripción.

cromatina Material nucleoproteico de los cromosomas que está formado, principalmente, por DNA e histonas.

cromatografía de afinidad Técnica de purificación bioquímica basada en una interacción específica entre una proteína y un ligando. El ligando se inmoviliza sobre un material inerte y se hace pasar una mezcla de proteínas sobre el ligando. Solo se unirá la proteína que presente la interacción específica.

cromatografía de filtración en gel Técnica cromatográfica que separa proteínas en función de su tamaño. Se aplica una muestra sobre la parte superior de una columna rellena de esferas porosas formadas por un polímero insoluble. Las moléculas pequeñas pueden adentrarse en estas esferas, pero las grandes no, de modo que las moléculas grandes siguen un trayecto más corto hasta la parte inferior de la columna y son las primeras en salir. Las moléculas con un tamaño que les permite entrar de forma ocasional en una esfera saldrán de la columna en una posición intermedia y las moléculas pequeñas, que han seguido una trayectoria más larga y tortuosa, saldrán las últimas. También se denomina cromatografía de exclusión molecular.

cromatografía de intercambio iónico Técnica de purificación de proteínas que se aprovecha de las diferencias en la carga neta de las proteínas. Se hace pasar una mezcla de proteínas a través de una columna rellena de esferas que contienen un grupo cargado, como, por ejemplo, un grupo carboxilato. Las proteínas que presentan cargas de signo opuesto al de las esferas se unirán a ellas. Las proteínas unidas se pueden eluir (liberar) mediante lavados con un tampón que contenga sal.

cromatografía líquida de alta presión (HPLC) Técnica mejorada de cromatografía en columna. Los materiales que llevan a cabo la separación están más finamente divididos y, por tanto, poseen más lugares de interacción, lo que da lugar a un mayor poder de resolución. Como el material de la columna es tan fino, hay que aplicar presión para obtener unas velocidades de flujo adecuadas.

cuerpo cetónico Hace referencia al acetoacetato, al β-hidroxibutirato y a la acetona, que se producen cuando la acetil-CoA se desvía del ciclo del ácido cítrico y se utiliza para la formación de acetoacetil-CoA en el hígado; las reacciones subsiguientes generan los tres compuestos, que se conocen como cuerpos cetónicos.

curva de valoración Gráfica que muestra cómo cambia el pH de una disolución en función de la cantidad de OH^- añadida.

curva sigmoidea Curva con forma de S. La curva sigmoidea para la unión del oxígeno a la hemoglobina indica que la unión del oxígeno es cooperativa. Una curva sigmoidea es una característica fundamental de las proteínas alostéricas.

degradación de Edman Método para secuenciar proteínas que elimina residuos de forma secuencial, y de uno en uno, a partir del extremo amino de un péptido. El fenilisotiocianato reacciona con el grupo amino terminal y, a continuación, forma un compuesto cíclico rompiendo el péptido y generando un péptido intacto con un aminoácido menos. El compuesto cíclico es un feniltiohidantoín-aminoácido (PTH), que se puede identificar mediante técnicas cromatográficas. El procedimiento de Edman se puede repetir de forma secuencial para obtener la secuencia de aminoácidos del péptido.

desacetilasa de histonas Enzima que contribuye a la represión de la transcripción mediante la desacetilación de los residuos de lisina acetilados de las histonas.

desoxirribosa Monosacárido de cinco carbonos ($C_5H_9O_5$) que constituye el componente carbohidrato de un desoxinucleótido; la desoxirribosa que se encuentra normalmente en los desoxinucleótidos es la 2-desoxirribosa.

determinante antigénico Grupo específico, o agrupación de aminoácidos de un antígeno que son reconocidos por un anticuerpo. También se denomina epítopo.

diagrama de Ramachandran Diagrama de contornos estéricos que representa los intervalos permitidos para los ángulos ψ y ϕ de los residuos de aminoácidos que forman parte de las cadenas polipeptídicas: para cada residuo, su conformación dentro de la cadena principal de un polipéptido se puede definir completamente mediante ψ (el grado de rotación del enlace entre el átomo de nitrógeno y el átomo de carbono α) y ϕ (el grado de rotación del enlace entre el átomo de carbono carbonilo y el átomo de carbono α).

diálisis Proceso que permite extraer las moléculas pequeñas de una mezcla de solutos. Se coloca la mezcla de solutos en una bolsa semipermeable que, a su vez, se coloca en un volumen grande de disolvente. Las moléculas pequeñas difunden hacia fuera de la bolsa.

diastereoisómeros Pareja de moléculas, cada una con más de un centro asimétrico que, en uno de esos centros presentan configuraciones opuestas, pero que no son imágenes especulares entre sí; en la serie de las aldotetrosas, la D-eritrosa y la D-treosa son diastereoisómeros.

difusión facilitada Transporte de un ion o molécula a favor de un gradiente de concentración, en el que el ΔG para la especie transportada es negativo. También se denomina transporte pasivo.

difusión lateral Capacidad de las moléculas de lípido y de proteína para moverse lateralmente en la membrana de manera rápida y espontánea.

difusión simple Movimiento de moléculas a favor de un gradiente de concentración.

digestión Proceso por el que las moléculas grandes de los alimentos se rompen en unidades más pequeñas. Las proteínas se hidrolizan a los 20 aminoácidos distintos, los polisacáridos se hidrolizan a azúcares sencillos, como la glucosa, y las grasas se hidrolizan a ácidos grasos.

dihidrofolato reductasa Enzima que cataliza la regeneración del tetrahidrofolato a partir del dihidrofolato que se forma durante la síntesis de timidilato.

dihidrolipoilo deshidrogenasa (E_3) Una de las tres enzimas distintas que componen el complejo piruvato deshidrogenasa. Regenera la forma oxidada de la lipoamida, para que el complejo piruvato deshidrogenasa pueda iniciar otro ciclo catalítico.

dihidrolipoilo transacetilasa (E_2) Una de las tres enzimas distintas que componen el complejo piruvato deshidrogenasa. Cataliza la transferencia del grupo acetilo de la acetil-lipoamida a la CoA durante la conversión del piruvato en acetil-CoA.

dímero αβ En la hemoglobina, está formado por una subunidad α y una subunidad β. La estructura tridimensional de la hemoglobina consta de una pareja de dímeros αβ idénticos ($\alpha_1\beta_1$ y $\alpha_2\beta_2$) que se asocian formando el tetrámero de hemoglobina.

dinucleótido de flavina y adenina (FAD) Coenzima para reacciones de oxidación-reducción formada por la vitamina riboflavina unida a la adenosina difosfato. El aceptor de electrones del FAD es el anillo de isoaloxacina de la riboflavina.

disacárido Carbohidrato formado por dos azúcares unidos mediante un enlace *O*-glicosídico.

DNA complementario (cDNA) Es un DNA complementario a un mRNA. El DNA complementario lo sintetiza la transcriptasa inversa utilizando el mRNA como molde.

DNA ligasa Enzima que cataliza la formación de un enlace fosfodiéster entre el grupo hidroxilo en posición 3′ del extremo de una hebra de DNA y el grupo fosforilo en posición 5′ del extremo de otra hebra; interviene en la síntesis, reparación y maduración del DNA.

DNA polimerasas Enzimas que catalizan la adición de unidades de desoxinucleótidos, dirigida por un molde y dependiente de un cebador, al extremo 3′ de una cadena de DNA, utilizando desoxinucleótidos trifosfato como sustrato; la cadena crece en la dirección 5′→3′; estas enzimas replican y reparan el DNA.

DNA-A Forma del DNA que es más ancha y más corta que el DNA-B. El DNA-A es una doble hélice dextrógira formada por hebras antiparalelas que se mantienen juntas gracias al emparejamiento de las bases A−T y G−C y que se observa en el DNA deshidratado, así como en regiones del RNA de doble hebra y en hélices RNA-DNA.

DNA-B Forma en la que se encuentra la mayor parte del DNA en condiciones fisiológicas: las dos hebras son antiparalelas; las bases se sitúan en el interior de la hélice y los fosfatos y los azúcares desoxirribosa en el exterior; la adenina forma puentes de hidrógeno con la timina y la guanina forma puentes de hidrógeno con la citosina; en cada par, las bases son coplanares; hay 10,4 residuos por vuelta de hélice, y cada vuelta completa de la hélice tiene una longitud de 35 Å. Es la forma representada en el modelo de Watson y Crick del DNA.

DNA-Z Doble hélice levógira en la que los grupos fosfato del esqueleto se disponen en forma de zigzag; se puede formar en oligonucleótidos en cuya secuencia alternan purinas y pirimidinas.

doble hélice En el DNA, se forma una doble hélice dextrógira cuando dos cadenas helicoidales de polinucleótidos se enrollan en torno a un mismo eje. Las cadenas avanzan en direcciones opuestas; es decir, tienen polaridades opuestas.

dogma central Establece que la información fluye desde el DNA al RNA y, después, a la proteína, un esquema que subyace al procesamiento de la información a nivel de la expresión génica y que fue propuesto por Francis Crick en 1958.

dominio carboxilo terminal (CTD) Dominio regulador de la RNA polimerasa II. La fosforilación de este dominio regula aspectos de la transcripción y de la maduración del RNA.

dominio casete de unión al ATP (ABC) Dominio de unión al ATP característico de unas bombas específicas, impulsadas por el ATP, denominadas transportadores ABC, y que suministran la energía necesaria para el transporte activo de iones hacia dentro o fuera de las células; estos transportadores también contienen una región que atraviesa la membrana.

dominio de dedo de zinc Dominio conservado que se une a secuencias específicas del DNA, que se encuentra en miembros de la familia de receptores hormonales nucleares y que consta de ocho residuos de cisteína: los cuatro primeros se unen a un ion zinc y los cuatro segundos a otro.

dominio de unión a acetil-lisina Dominio formado por un manojo de cuatro hélices que se une a péptidos que contienen acetil-lisina. También se llama bromodominio.

dominio En la estructura terciaria de una cadena polipeptídica, se trata de una unidad con plegamiento independiente; puede contener una serie de estructuras supersecundarias. En los complejos multienzimáticos, cada dominio puede desempeñar una o más reacciones catalíticas. En proteínas, se trata de una unidad globular de entre 100 y 400 residuos, posiblemente unida a otros dominios por medio de un segmento polipeptídico flexible; a menudo codificado por un exón específico dentro del gen que codifica la proteína.

ecuación de Lineweaver-Burk Representación de $1/V_0$ *vs* $1/[S]$ que da lugar a una línea recta en la que la ordenada en el origen equivale a $1/V_{máx}$ y la pendiente es $K_M/V_{máx}$. También se llama representación doble recíproca.

ecuación de Michaelis-Menten Ecuación que expresa la velocidad (V) de una reacción catalizada por una enzima en términos de la velocidad máxima ($V_{máx}$), la concentración de sustrato (S) y la constante de Michaelis-Menten (K_M). La ecuación explica la cinética hiperbólica que se observa al representar la V en función de S; la ecuación es $V = V_{máx}\,[S]/([S] + K_M)$.

efecto Bohr Observación realizada por Christian Bohr, de que los H^+ y el CO_2 promueven la liberación de oxígeno por parte de la oxihemoglobina.

efecto cooperativo Intensificación de la actividad que resulta de la cooperación entre las subunidades de una molécula alostérica.

efecto hidrofóbico Proceso mediante el cual las moléculas no polares en disolución acuosa se ven obligadas a asociarse debido al aumento que se produce en la entropía de las moléculas de agua.

eicosanoide Compuesto carbonado que contiene 20 átomos de carbono, como, por ejemplo, las prostaglandinas. A menudo, los eicosanoides actúan como hormonas locales.

electroforesis bidimensional Técnica para separar las proteínas de una mezcla con una elevada resolución. En primer lugar, se separan las proteínas de una mezcla en una dimensión por medio de isoelectroenfoque en una única calle. A continuación, el gel se coloca horizontalmente sobre un gel de poliacrilamida con SDS y se lleva a cabo una electroforesis en la segunda dimensión, perpendicular a la primera.

electroforesis en gel Técnica para separar biomoléculas, como ácidos nucleicos y proteínas, en base a su carga y a su tamaño. Cuando se colocan en un campo eléctrico, las biomoléculas se mueven a través del gel (un polímero con entrecruzamientos, como, por ejemplo, la poliacrilamida), de manera que las moléculas más grandes se desplazan más lentamente que las moléculas más pequeñas.

elemento de respuesta a estrógenos (ERE) Secuencia de DNA a la que se une un receptor de estrógenos en forma de dímero.

elemento de respuesta al hierro (IRE) Estructura tallo-bucle que se encuentra en las moléculas de mRNA para la ferritina y para el receptor de la transferrina que interacciona con la proteína que se une a IRE y regula la traducción de las moléculas de mRNA.

embudo de plegamiento Visualiza el plegamiento de las proteínas. La anchura del embudo representa todas las conformaciones posibles de una proteína desplegada y la profundidad representa la diferencia de energía entre la proteína desplegada y la nativa. Cada punto de la superficie representa una posible estructura tridimensional y el valor de su energía. El embudo sugiere que hay rutas alternativas que conducen a la estructura nativa. También se denomina panorama energético. Ver también **glóbulo fundido**.

emulsión Mezcla de dos sustancias inmiscibles.

enantiómeros Pareja de moléculas, cada una con uno o más centros quirales, que son imágenes especulares entre sí.

endocitosis mediada por receptor Mecanismo que permite a la célula importar proteínas específicas gracias a su unión a receptores de la membrana plasmática y a la subsiguiente endocitosis e inclusión en vesículas.

endocitosis Proceso que permite la entrada de material extracelular al interior de la célula por medio de la invaginación y formación de vesículas a partir de la membrana celular.

endosoma Componente de la ruta de endocitosis mediada por receptor en donde se toman decisiones relacionadas con el destino del material captado mediante endocitosis; los endosomas proceden de las vesículas forradas que han perdido el revestimiento de clatrina.

energía de unión Energía libre que se libera durante la formación de las interacciones débiles entre la enzima y el sustrato y que facilitan la formación del estado de transición.

energía libre de activación Energía que se necesita en una reacción para formar el estado de transición a partir del sustrato.

energía libre Forma de energía capaz de realizar trabajo en condiciones de presión y temperatura constantes. También es una medida de la energía útil generada en una reacción química; en termodinámica, se representa mediante la letra G. El incremento de la energía libre (ΔG) de un sistema en proceso de transformación a presión constante es igual al incremento de la entalpía (ΔH) menos el producto de la temperatura absoluta (T) por el incremento de la entropía (ΔS).

enlace glicosídico Enlace covalente entre una función aldehído o cetona de un monosacárido y un átomo de oxígeno, nitrógeno o azufre de otra molécula. Los enlaces glicosídicos más frecuentes son los enlaces O-glicosídicos entre el átomo de carbono anomérico de un azúcar y un grupo hidroxilo de otro sacárido.

enlace iónico Ver **interacción electrostática**.

enlace peptídico Enlace covalente que se forma entre el grupo α-carbonilo de un aminoácido y el grupo α-amino de otro. También se denomina enlace amida.

enolfosfato Compuesto con un elevado potencial de transferencia de fosforilos, ya que el grupo fosforilo atrapa la molécula en una forma enol inestable. Al transferirse el fosfato, la molécula se convierte en la forma cetona, más estable.

ensayo Cualquier procedimiento para medir la actividad de una biomolécula, como, por ejemplo, una enzima.

ensayo de inmunoabsorción ligado a una enzima (ELISA) Método inmunológico para detectar y cuantificar proteínas. Una enzima que reacciona con un sustrato incoloro dando lugar a un producto coloreado se une covalentemente a un anticuerpo que reconoce un antígeno diana. En presencia del antígeno, el complejo anticuerpo-enzima se unirá a él; al añadir el sustrato, la enzima catalizará la reacción, generando el producto coloreado que pone de manifiesto la presencia del antígeno.

enteropeptidasa Enzima proteolítica, secretada por las células del epitelio del intestino delgado, que activa el zimógeno pancreático tripsinógeno para formar tripsina. También se denomina enteroquinasa.

entropía Medida del grado de aleatoriedad o desorden de un sistema; en termodinámica, se representa mediante el símbolo S; cuando un sistema se vuelve más desordenado, el incremento de entropía (ΔS) es positivo y cuando el sistema se vuelve más ordenado, o menos aleatorio, el incremento de entropía es negativo.

envío de proteínas a su destino Mecanismo mediante el cual, las proteínas son enviadas a compartimentos celulares específicos o se procesan para que sean secretadas. También se denomina distribución de proteínas.

enzima alostérica Enzima que tiene múltiples centros activos, así como distintos lugares reguladores que controlan el flujo de compuestos bioquímicos por las rutas metabólicas. La regulación de la actividad catalítica se lleva a cabo mediante señales ambientales, entre las que se incluye el producto final de la ruta metabólica regulada por la enzima; su cinética es más compleja que la de las enzimas de Michaelis-Menten.

enzima bifuncional Enzima con dos actividades catalíticas diferentes y, a menudo, contrapuestas localizadas en una misma cadena polipeptídica. Por ejemplo, la fosfofructoquinasa 2 sintetiza fructosa 2,6-bisfosfato y la fructosa 2,6-bisfosfatasa la hidroliza, a pesar de que los dos centros activos se encuentran en la misma cadena polipeptídica.

enzima Macromolécula biológica que actúa como catalizador para una reacción bioquímica; aunque casi todas las enzimas están formadas por una proteína, algunas moléculas de RNA son catalíticamente activas.

enzima proteolítica Pertenece a una clase de enzimas que rompen enlaces peptídicos entre aminoácidos, de manera que digieren las proteínas. También se denomina proteasa.

enzimas de restricción Enzimas bacterianas que reconocen secuencias de bases específicas en el DNA de doble hélice y escinden ambas hebras por lugares concretos. Las enzimas de restricción son herramientas clave de la tecnología del DNA recombinante. También se llaman endonucleasas de restricción.

epímeros Pareja de moléculas, cada una con más de un centro de asimetría, que se diferencian en la configuración de solo uno de esos centros; por ejemplo, la glucosa y la galactosa son epímeros que solo se diferencian en la configuración del carbono 4 (C-4).

esfingolípido Lípido que tiene un esqueleto de esfingosina en vez de uno de glicerol. Los esfingolípidos se encuentran en la membrana plasmática de las células eucarióticas, aunque su concentración es más elevada en las células del sistema nervioso central.

esfingomielina Esfingolípido, abundante en el tejido cerebral, en el que el grupo hidroxilo terminal de la ceramida contiene fosforilcolina como sustituyente.

esfingosina Aminoalcohol que contiene una cadena hidrocarbonada larga y saturada, y que forma parte del fosfolípido esfingomielina y de los glicolípidos; desempeña un papel análogo al del glicerol en los fosfoglicéridos.

espina bífida Una clase de defectos congénitos que se caracterizan por una formación incorrecta o incompleta del tubo neural durante las etapas tempranas del desarrollo.

espliceosoma Ensamblaje de proteínas y moléculas de RNA pequeño nuclear que interviene en el proceso de maduración de los transcritos primarios para formar el mRNA maduro.

esquema Z de la fotosíntesis Trayectoria que sigue el flujo de electrones entre el fotosistema I y el fotosistema II; se llama así porque el diagrama redox que conecta P680 con P700 tiene la forma de la letra Z.

estado de transición Especie química que posee la energía libre más elevada y la concentración más baja de todas las especies que aparecen en la ruta que lleva del sustrato al producto.

estimulación anticipada Estimulación de una enzima alostérica que participa en una etapa posterior de una ruta por el producto de una reacción que tiene lugar en una etapa anterior de esa misma ruta.

estomas Poros microscópicos localizados en el envés de las hojas de las plantas y que se utilizan para el intercambio de gases.

estroma Matriz del cloroplasto; contiene los tilacoides, así como enzimas solubles, y está rodeado por la membrana interna del cloroplasto.

estructura cuaternaria En las proteínas que contienen más de una cadena polipeptídica, hace referencia a la organización espacial de esas cadenas (subunidades) y a la naturaleza de los contactos que se establecen entre ellas.

estructura primaria A menudo, hace referencia a la secuencia lineal de aminoácidos de una proteína; en sentido más amplio, es la secuencia lineal de las unidades que componen un polímero.

estructura secundaria En una proteína, disposición espacial de los residuos de aminoácido que están próximos entre sí en la secuencia lineal; la hélice α y la hebra β son elementos de estructura secundaria.

estructura terciaria En proteínas, es la disposición espacial de los residuos de aminoácido que se encuentran alejados entre sí en la secuencia lineal, así como el patrón de puentes disulfuro.

eucariota Organismo cuyas células contienen un núcleo y otros compartimentos rodeados de membrana.

exocitosis Proceso mediante el cual los gránulos de secreción se fusionan con la membrana plasmática y vierten sus contenidos en el medio extracelular.

exones Regiones del pre-mRNA que se mantienen en el mRNA maduro.

exonucleasa Enzima que digiere los ácidos nucleicos a partir de los extremos de las moléculas en vez de por un sitio interno; las exonucleasas pueden ser específicas para digerir por el extremo 3′ o por el extremo 5′ del ácido nucleico.

extremos cohesivos Hebras complementarias que se generan cuando una enzima de restricción escinde la secuencia diana del DNA de forma escalonada.

factor asociado a la proteína que se une a la caja TATA (TAF) Proteína que pertenece a un grupo de proteínas, en el que muchas de ellas contienen bromodominios, que se unen a la proteína que se une a la caja TATA formando un complejo necesario para la transcripción del RNA.

factor de elongación G (EF-G) Miembro de la familia de proteínas G necesario para la síntesis de proteínas en eucariotas. La hidrólisis del GTP por parte del EF-G hace que los tRNA y el mRNA se muevan a lo largo del ribosoma la distancia correspondiente a un codón.

factor de elongación Ts (EF-Ts) Proteína que se une a la forma unida al GDP de EF-Tu e induce la liberación del GDP, permitiendo así que EF-Tu pueda intervenir en otro ciclo de elongación.

factor de elongación Tu (EF-Tu) Miembro de la familia de proteínas G que proporciona moléculas de aminoacil-tRNA al lugar A del ribosoma, con la consiguiente hidrólisis del GTP a GDP.

factor de iniciación (IF) Proteína perteneciente a un conjunto de proteínas que colaboran en la asociación del ribosoma, el mRNA y el tRNA iniciador para iniciar el proceso de síntesis de proteínas.

factor de liberación (RF) Proteína perteneciente a un conjunto de proteínas que reconoce los codones stop del mRNA en el lugar A del ribosoma, y que hace que la proteína completa se separe del tRNA que ocupa el lugar P del ribosoma.

factor de transcripción Proteína que ayuda a la RNA polimerasa a iniciar la síntesis de RNA; se une a un elemento promotor específico.

fagocitosis Proceso mediante el cual la célula puede absorber gran cantidad de material.

fenilcetonuria Enfermedad provocada por la incapacidad para convertir la fenilalanina en tirosina, lo que genera un exceso de fenilalanina y de sus metabolitos secundarios; la enfermedad se caracteriza por un grave retraso mental.

fermentación alcohólica Conversión anaeróbica de glucosa en etanol con la producción simultánea de ATP.

fermentación láctica Metabolismo anaeróbico de la glucosa que da lugar a la formación de ácido láctico al tiempo que se genera ATP.

ferritina Proteína para almacenar hierro que se encuentra fundamentalmente en el hígado y en los riñones.

fijación del nitrógeno Conversión del nitrógeno gaseoso (N_2) en amoniaco; es el primer paso del flujo del nitrógeno hacia los aminoácidos, nucleótidos u otros compuestos del organismo que contienen nitrógeno.

filtro de selectividad Región de las proteínas que actúan como canales iónicos que determina la especificidad de un canal concreto.

flavoproteína Proteína estrechamente asociada al FAD o al FMN; estas proteínas desempeñan un papel importante en las reacciones de oxidación-reducción.

fosfatidato (diacilglicerol 3-fosfato) Precursor de los triacilgliceroles y de muchos fosfolípidos.

fosfofructoquinasa (PFK) Quinasa que fosforila la fructosa 6-fosfato a fructosa 1,6-bisfosfato; es una enzima alostérica que constituye el principal punto de control del flujo a través de la ruta glicolítica.

fosfoglicérido Fosfolípido derivado del glicerol en el que el esqueleto de glicerol se encuentra unido a dos cadenas de ácido graso y a un alcohol fosforilado.

fosfolipasa C Enzima que cataliza la degradación de fosfolípidos en las rutas de transducción de señales. La fosfolipasa C cataliza la formación de dos segundos mensajeros: inositol 1,4,5-trisfosfato, una molécula soluble que puede difundir a partir de la membrana, y diacilglicerol, que permanece en la membrana.

fosfolípido Importante constituyente de las membranas que está formado por tres componentes: un esqueleto (normalmente glicerol o esfingosina), dos cadenas de ácidos grasos y un alcohol fosforilado.

fosforilación a nivel de sustrato Formación de ATP a partir de ADP en la que el donador de fosfato es un sustrato con un potencial de transferencia de fosforilos mayor que el del ATP.

fosforilación oxidativa Proceso mediante el cual se forma ATP como resultado de la transferencia de electrones desde el NADH o el $FADH_2$ al O_2 a través de una serie de transportadores de electrones.

fosforilasa quinasa Enzima que activa la fosforilasa β añadiendo un grupo fosforilo durante la regulación de la degradación del glucógeno. Esta quinasa se encuentra sometida a un control dual: se activa mediante fosforilación y mediante un incremento de los niveles de Ca^{2+}.

fosforolisis Escisión de un enlace mediante ortofosfato, como en el caso de la degradación del glucógeno a glucosa 1-fosfato.

fotofosforilación cíclica En la fotosíntesis, es la generación de ATP sin la formación simultánea de NADPH; flujo cíclico de electrones desde el centro de reacción del fotosistema I a la ferredoxina y, después, de vuelta al centro de reacción a través del citocromo *bf* y de la plastoquinona, con lo que se genera un gradiente de protones que se utiliza para impulsar la formación de ATP.

fotorrespiración Conversión de carbono orgánico en dióxido de carbono sin producir metabolitos ricos en energía; es el resultado de la reacción oxigenasa catalizada por la rubisco y la subsiguiente síntesis de glicina a partir de dos moléculas de glicolato, con la liberación de dióxido de carbono y amoniaco y consumiendo ATP.

fotosíntesis Conversión de la luz del sol en energía química.

fotosistema I (PSI) En cloroplastos, unidad fotosintética que incluye un complejo captador de luz, un centro de reacción y una cadena transportadora de electrones. El sistema cataliza la transferencia de electrones, impulsada por la luz, desde la plastoquinona reducida a la ferredoxina, lo que, a su vez, da lugar a la formación de NADPH; requiere luz de una longitud de onda menor de 700 nm.

fotosistema II (PSII) En cloroplastos, unidad fotosintética que incluye un complejo captador de luz, un centro de reacción y una cadena transportadora de electrones. El sistema cataliza la transferencia de electrones, impulsada por la luz, desde el agua a la plastoquinona y la simultánea generación de oxígeno; requiere luz de una longitud de onda menor de 680 nm.

fotótrofo Organismo que puede satisfacer sus necesidades energéticas convirtiendo la energía de la luz en energía química.

fragmentos de Okazaki Pequeños fragmentos de DNA (de aproximadamente 1.000 nucleótidos) que se forman en la hebra retardada de la horquilla de replicación durante la síntesis de DNA y que, posteriormente, se unen entre sí; permiten la polimerización en sentido 5′→3′ a nivel de los nucleótidos mientras la dirección global de crecimiento de la hebra se produce en sentido 3′→5′.

fuerza protón-motriz Energía inherente al gradiente de protones que se establece durante el funcionamiento de la cadena respiratoria; consta de un potencial de membrana y de un gradiente químico.

β-galactosidasa Enzima esencial para el metabolismo de la lactosa que hidroliza este disacárido generando galactosa y glucosa.

ganglиósido Una ceramida, frecuente en las membranas del sistema nervioso, en la que un oligosacárido se encuentra unido a la ceramida por medio de un residuo de glucosa.

gen supresor de tumores Gen que codifica una proteína, como la proteína que repara el DNA, que suprime el desarrollo de los tumores cuando al menos una copia del gen está libre de mutaciones deletéreas.

genética inversa Utiliza la información contenida en la secuencia de aminoácidos de una proteína para identificar el DNA que codifica la proteína.

genoma Información heredable del DNA.

glicolípido Lípido derivado de la esfingosina y que contiene un azúcar que se encuentra unida al grupo alcohol de la esfingosina.

glucólisis Secuencia de reacciones que convierten la glucosa en piruvato, con la consiguiente generación de energía.

glicoproteína Proteína unida a un carbohidrato específico.

glicosaminoglicano Heteropolisacárido formado por la repetición de unidades de un disacárido que contiene un aminoazúcar, glucosamina o galactosamina.

glicosiltransferasa Enzima perteneciente a un grupo específico que cataliza la formación de enlaces glicosídicos.

glioxisoma Orgánulo de las células vegetales que contiene las enzimas de la ruta del glioxilato.

glóbulo fundido Etapa del plegamiento de las proteínas. El efecto hidrofóbico acerca los aminoácidos hidrofóbicos que se encuentran muy alejados en la secuencia. Este agrupamiento de los aminoácidos hidrofóbicos en el interior da lugar a la formación de una estructura globular. Se supone que las interacciones hidrofóbicas son dinámicas, lo que permite a la proteína ir formando interacciones cada vez más estables.

glucagón Hormona polipeptídica secretada por las células β del páncreas cuando los niveles de glucosa en sangre son bajos, dando lugar a la descomposición del glucógeno en el hígado y a la liberación de glucosa a la sangre.

glucogenina Proteína unida a un oligosacárido de unidades de glucosa α-1,4 que sirve como cebador para la glucógeno sintasa. La glucogenina utiliza la UDP-glucosa para catalizar su propia autoglucosilación.

glucógeno Forma de almacenamiento de la glucosa fácilmente movilizable en la que los monómeros de glucosa se encuentran unidos mediante enlaces glicosídicos α-1,4 y que presenta ramificaciones (enlaces glicosídicos α-1,6) aproximadamente cada diez residuos.

glucógeno fosforilasa Enzima que cataliza la fosforolisis del glucógeno generando glucosa 1-fosfato; enzima alostérica cuya actividad se regula aún más por medio de modificaciones covalentes reversibles.

glucógeno sintasa Enzima alostérica que se puede regular covalentemente de forma reversible y que es responsable de la síntesis de glucógeno; transfiere glucosa desde la UDP-glucosa al grupo hidroxilo del átomo de carbono C-4 de uno de los extremos del glucógeno.

glucógeno sintasa quinasa (GSK) Enzima que fosforila la glucógeno sintasa, manteniéndola en su estado inactivo.

gluconeogénesis Síntesis de glucosa a partir de precursores que no son carbohidratos, como el lactato, el glicerol o los aminoácidos.

glucosa 6-fosfatasa Proteína de membrana orientada hacia el lado del *lumen* del retículo endoplasmático del hígado que cataliza la formación de glucosa libre a partir de glucosa 6-fosfato. La enzima desempeña un papel clave en el mantenimiento de los niveles de glucosa en sangre.

glucosa 6-fosfato deshidrogenasa Enzima que inicia la fase oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato oxidando la glucosa 6-fosfato a 6-fosfoglucono-δ-lactona y generando una molécula de NADPH.

glutamato deshidrogenasa Enzima que cataliza la desaminación oxidativa del glutamato, generando un ion amonio y α-cetoglutarato.

glutatión peroxidasa Enzima que elimina peróxidos, especies reactivas del oxígeno que pueden dañar las membranas celulares, así como otras biomoléculas.

glutatión reductasa Enzima que cataliza la regeneración del glutatión reducido utilizando el NADPH.

glutatión Tripéptido que desempeña un papel a la hora de combatir el estrés oxidativo manteniendo el estado reducido de la célula. El glutatión alterna entre el estado reducido (GSH) y el estado oxidado (GSSG).

gota Enfermedad que se caracteriza por la inflamación de las articulaciones y de los riñones a causa de la precipitación del urato sódico, un producto de la degradación de las purinas, que se encuentra a una concentración inusualmente elevada.
gránulo de secreción Vesícula que contiene proteínas destinadas a ser secretadas. También se denomina gránulo de zimógeno.
granum Apilamiento de membranas tilacoides en el cloroplasto.
grupo funcional Grupo de átomos que tienen unas propiedades químicas características.
grupo R Cadena lateral de un aminoácido.
guanina (G) Una base del DNA y del RNA.
G_α Subunidad de las proteínas G heterotriméricas que se une a nucleótidos de guanina.
$G_{\beta\gamma}$ Componente dimérico de las proteínas G que ayuda a mantener el componente G_α en su estado inactivo. En algunas rutas de transducción de señales, el componente $G_{\beta\gamma}$ también puede funcionar como un segundo mensajero.

hebra conductora Una de las hebras recién sintetizadas del DNA en la horquilla de replicación, que se sintetiza de forma continua. Ver también **hebra retardada**.
hebra retardada Una de las hebras recién sintetizadas del DNA en la horquilla de replicación que, en un principio, se sintetiza mediante fragmentos de Okazaki. Ver también **hebra conductora**.
hebra β Una cadena polipeptídica que, en vez de estar fuertemente enrollada como en el caso de una hélice α, se encuentra casi completamente extendida.
helicasa Enzima que cataliza el desenrollamiento de los ácidos nucleicos impulsado por el ATP; las DNA helicasas son importantes para la replicación del DNA.
hélice α Motivo estructural muy frecuente en las proteínas, en el que la cadena principal de un polipéptido forma la parte interna de una hélice dextrógira, mientras que las cadenas laterales se proyectan hacia el exterior; la hélice se estabiliza mediante los puentes de hidrógeno intracatenarios que se forman entre los grupos amino y carboxilo de la cadena principal.
helicoide enrollado Dos hélices α dextrógiras entrelazadas entre sí formando una superhélice levógira.
hemiacetal Compuesto formado por la reacción entre un grupo funcional aldehído y un grupo hidroxilo; por ejemplo, el grupo del C-1 de la forma en cadena abierta de la glucosa reacciona con el grupo hidroxilo del C-5 formando un hemiacetal intramolecular.
hemicetal Compuesto formado por la reacción entre un grupo funcional cetona y un grupo hidroxilo; por ejemplo, el grupo ceto del C-2 de la forma de cadena abierta de la fructosa reacciona con el grupo hidroxilo del C-5 formando un hemicetal intramolecular.
hemo Grupo prostético de la mioglobina, de la hemoglobina y de otras proteínas; está formado por un componente orgánico, la protoporfirina, y por un átomo de hierro.
hemoglobina fetal Molécula tetramérica formada por dos subunidades α y dos subunidades γ. En la secuencia de la subunidad γ, el 72% de los aminoácidos son idénticos a los de la subunidad β de la hemoglobina adulta.
hexoquinasa Quinasa que fosforila azúcares de seis átomos de carbono, generalmente la glucosa, a expensas del ATP.
hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (HGPRT) Enzima que cataliza la formación de guanilato o inosinato mediante la adición de guanina o de hipoxantina, respectivamente, al 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP); la reacción forma parte de la ruta de recuperación de los nucleótidos de purina.
histidina distal Histidina localizada cerca del hierro del grupo hemo de la hemoglobina y de la mioglobina, que ayuda a mantener el hierro del hemo en el estado de oxidación Fe^{2+} y que inhibe la unión del monóxido de carbono. Se encuentra en el lado del hemo opuesto al de la histidina proximal.
histidina proximal En la mioglobina y en la hemoglobina, residuo que ocupa el quinto lugar de coordinación al que se puede unir el hierro.
histona Miembro de un grupo de pequeñas proteínas básicas, muy conservadas, que se encuentran en eucariotas asociadas al DNA formando nucleosomas.
hoja plegada β Motivo estructural, frecuente en las proteínas, en el que un cierto número de hebras β se asocian formando una serie de cadenas que se estabilizan mediante puentes de hidrógeno y que avanzan en la misma dirección. Cuando las cadenas agrupadas avanzan en direcciones opuestas se forma una hoja plegada antiparalela.
holoenzima Enzima que consta de un componente proteico que representa el cuerpo principal de la enzima (la apoenzima) y todos los cofactores necesarios, que generalmente son de pequeño tamaño.
homogenado Mezcla que se forma cuando un tejido se trata de manera que se rompen las membranas celulares.
hormona esteroidea Hormona derivada del colesterol, como los andrógenos o los estrógenos.
horquilla de replicación En la síntesis del DNA, lugar donde se separan las hebras parentales y donde se sintetizan las hebras hijas complementarias a cada una de las parentales.

inductor Pequeña molécula que se une a un represor y altera su interacción con un operador.
inhibición basada en el mecanismo Un inhibidor se une a una enzima como si fuese un sustrato y se empieza a procesar mediante el mecanismo catalítico normal. Después, el mecanismo de catálisis genera un intermediario químicamente reactivo que desactiva la enzima mediante una modificación covalente. El hecho de que la enzima participe en su propia inhibición irreversible es un claro indicio de que el grupo de la enzima covalentemente modificado es vital para la catálisis. También se denomina inhibición suicida.
inhibición competitiva Disminución de la velocidad de la actividad enzimática observada cuando la enzima se puede unir al sustrato o al inhibidor, pero no a ambos. Muchos inhibidores competitivos se parecen al sustrato y compiten con él a la hora de unirse al centro activo de la enzima. La disminución de la inhibición en condiciones saturantes de sustrato es una característica cinética asociada a la inhibición competitiva.
inhibición incompetitiva Inhibición que se caracteriza por el hecho de que el inhibidor solo se une al complejo enzima-sustrato.
inhibición no competitiva Reducción de la velocidad de la actividad de una enzima que se observa cuando una enzima se puede unir, al mismo tiempo, a su sustrato y a su inhibidor. Los inhibidores no competitivos reducen el número de recambio de una enzima pero no disminuyen la proporción de moléculas de enzima unidas al sustrato; sus efectos no se contrarrestan mediante un aumento de la concentración de sustrato.
inmunodeficiencia combinada grave (SCID) Trastorno inmunológico que se caracteriza por una pérdida de células T y por graves infecciones recurrentes que, con frecuencia, provocan la muerte a una edad temprana. Se ha establecido una relación entre una insuficiencia en la actividad de la adenosina desaminasa y algunas formas de esta enfermedad.
inosinato Nucleótido de purina formado mediante la reacción de la hipoxantina con el 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP); un precursor tanto del AMP como del GMP.
insulina Hormona polipeptídica, secretada por las células α del páncreas, que estimula el almacenamiento de combustible y la síntesis de proteínas.
intensificador Secuencia de DNA que no tiene actividad promotora por sí misma, pero que intensifica enormemente la actividad de otros promotores; los intensificadores pueden ejercer su efecto estimulador a una distancia de varios miles de nucleótidos.
interacción de van der Waals Atracción entre dos moléculas, basada en la asimetría electrónica transitoria en torno a un átomo que induce una asimetría complementaria en una molécula cercana.
interacción electrostática Interacción débil entre iones que tienen cargas opuestas. También se denomina enlace iónico o puente salino.

intermediario tioéster Éster en el que el átomo de oxígeno que no es el del grupo carbonilo es sustituido por un átomo de azufre; los tioésteres son intermediarios ricos en energía en muchas reacciones bioquímicas.
intrones Regiones del transcrito primario que se eliminan durante la formación del mRNA maduro. También se denominan secuencias intermedias.
ion dipolar Ion portador de una carga positiva y de una carga negativa. También se llama zwitterión.
isocitrato deshidrogenasa Enzima que, en el ciclo del ácido cítrico, cataliza la descarboxilación oxidativa del isocitrato para formar α-cetoglutarato; desempeña un papel a la hora de controlar la velocidad del ciclo del ácido cítrico.
isocitrato liasa Enzima del ciclo del glioxilato que escinde el isocitrato generando succinato y glioxilato.
isoelectroenfoque Técnica para separar proteínas electroforéticamente que se basa en el contenido relativo de residuos ácidos y básicos de las proteínas. Se somete una mezcla de proteínas a electroforesis en un gradiente de pH. Cada proteína migra en el gen hasta alcanzar el pH que corresponde a su pI, el pH al que la proteína no tiene carga neta.
isozimas Enzimas codificadas por genes diferentes pero que catalizan la misma reacción, a pesar de que muestran distintos parámetros cinéticos y responden a distintas moléculas reguladoras.

k_{cat}/K_M Constante de proporcionalidad; relaciona directamente la velocidad de una reacción con la concentración del reactante y permite comparar la eficacia de una enzima capaz de reaccionar con sustratos diferentes.

L-aminoácido Una de las dos formas especulares, denominadas isómeros L y D, de los α-aminoácidos. Solo los L-aminoácidos forman parte de las proteínas.
lanzadera aspartato-malato Lanzadera reversible, presente en el hígado y en el corazón, que se utiliza para transportar electrones desde el NADH citoplasmático al NAD^+ mitocondrial.
lanzadera de glicerol-3-fosfato Ruta que transfiere electrones desde el NADH citoplasmático a las mitocondrias; la dihidroxiacetona fosfato (DHAP) es reducida por el NADH a glicerol 3-fosfato, que entra en las mitocondrias y se oxida generando $FADH_2$ y DHAP, que abandona la mitocondria.
lectina Proteína con elevada afinidad hacia un residuo específico de azúcar; como tales, las lectinas son importantes sondas para la detección de moléculas que contienen carbohidratos.
leptina Molécula señal secretada por los adipocitos de forma directamente proporcional a la cantidad de grasa presente. La leptina actúa en el cerebro como un supresor del apetito.
ligando Pequeña molécula que se une a una proteína, induciendo un cambio estructural específico. Por ejemplo, un esteroide es un ligando para el receptor de hormonas esteroideas.
lipasa Enzima que degrada un triacilglicerol a ácidos grasos libres y monoacilglicerol.
lípido Biomolécula clave que es hidrofílica e hidrofóbica, lo que le permite formar barreras que delimitan la célula y los compartimentos celulares. También sirven como forma de almacenamiento de energía y como molécula señal.
lipoproteína de alta densidad (HDL) Lipoproteína que recoge el colesterol de las células muertas y de las membranas que se están reciclando, lo esterifica y, después, transfiere los ésteres de colesterol al hígado y a otros tejidos que sintetizan esteroides.
lipoproteína de baja densidad (LDL) Principal transportador de colesterol en la sangre; consta de un núcleo de moléculas de colesterol esterificadas rodeado de una capa de fosfolípidos, colesterol sin esterificar y apoproteína B-100; la principal fuente de colesterol para las células que no sean las del hígado o las del intestino.
liposoma Vesícula lipídica artificial formada por un compartimento acuoso rodeado de una bicapa lipídica.
lisosoma Orgánulo que contiene una amplia gama de enzimas digestivas que degradan y reciclan los componentes celulares dañados o los materiales que han sido absorbidos por la célula mediante endocitosis.

maduración alternativa Generación de moléculas de mRNA únicas, aunque relacionadas, mediante diferentes procesos de maduración del transcrito pre-mRNA. Al permitir la síntesis de más de una molécula de mRNA a partir de un mismo transcrito pre-mRNA, la maduración alternativa incrementa el potencial codificante del genoma.
maduración Escisión de intrones y ligación de exones que tiene lugar en las moléculas precursoras del RNA para generar el mRNA maduro.
malato sintasa Enzima del ciclo del glioxilato que cataliza la formación de oxalacetato a partir de glioxilato y acetil-CoA.
malonil-CoA Acetil-CoA carboxilada; es la forma activada de la acetil-CoA que se utiliza en la síntesis de ácidos grasos.
mano EF Motivo hélice-bucle-hélice que forma un lugar de unión para el calcio; se encuentra en muchas proteínas sensibles al calcio.
marcaje de afinidad Se utiliza un análogo del sustrato para cartografiar el centro activo de una enzima gracias a su unión al centro activo y a la formación de un enlace covalente con un aminoácido próximo.
mediador Complejo de entre 25 y 30 subunidades que forma parte del complejo de preiniciación de la maquinaria de transcripción eucariótica. El mediador actúa como puente entre los activadores unidos a los intensificadores y la RNA polimerasa II unida al promotor.
membrana Bicapa lipídica.
membrana plasmática Separa el interior de una célula, procariótica o eucariótica, del medio externo. Aunque es impermeable para la mayoría de las sustancias y, por tanto, actúa como una barrera, la membrana plasmática tiene permeabilidad selectiva gracias a la presencia de proteínas que permiten la entrada y salida de ciertas moléculas e información.
mensajero primario Información contenida en la interacción entre un ligando y su molécula receptora.
metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) Adaptación de las plantas que viven en ambientes áridos; la ruta C_4 concentra el dióxido de carbono durante la noche y, durante el día, cuando hace calor, se restringe el intercambio de gases con el entorno mediante el cierre de los estomas.
metabolismo Entramado de rutas químicas muy integradas entre sí que permite a una célula extraer energía del entorno y utilizarla con fines biosintéticos.
metabolismo intermediario Está formado por un conjunto de rutas definidas que procesan un compuesto bioquímico desde un punto de partida hasta un punto final sin generar productos secundarios que se desperdicien o que resulten perjudiciales. Estas rutas son interdependientes —un ecosistema bioquímico— y sus actividades están coordinadas mediante mecanismos de comunicación extremadamente sensibles en los que predominan las enzimas alostéricas.
metabolón Complejo multienzimático de gran tamaño que facilita la canalización de los sustratos de un centro activo a otro.
mevalonato Precursor de la síntesis de colesterol; su formación por la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa constituye el paso comprometido de la biosíntesis de colesterol.
micela Estructura globular formada por moléculas anfipáticas en las que la parte hidrofílica está expuesta al agua y la parte hidrofóbica se encuentra confinada en el interior, alejada del agua.
micromatriz de DNA Colección de secuencias conocidas de DNA unidas en un lugar específico de una superficie sólida. La hibridación de cDNA marcado fluorescentemente con el DNA unido a la superficie pone de manifiesto el nivel de expresión de cada gen, identificable gracias a que se conoce su posición en la micromatriz. También se llama chip de genes.
microRNA (miRNA) Pertenece a una clase de moléculas de RNA no codificante que se encuentran en plantas, invertebrados y vertebrados. Estas moléculas de RNA con una longitud de ~21 nucleótidos son escindidas a partir de moléculas más largas de RNA de doble hebra y desempeñan un papel en la regulación postranscripcional.

mitocondria Orgánulo con forma ovalada, con una longitud de unos 2 μm y un diámetro de 0,5 μm, que es el lugar donde se lleva a cabo la fosforilación oxidativa y donde se encuentran las enzimas del ciclo del ácido cítrico y de la oxidación de los ácidos grasos.

modelo del trombón En la replicación del DNA, la hebra retardada forma un bucle externo que da lugar a una estructura que actúa de manera parecida a la vara de un trombón, ya que se va haciendo más grande a medida que avanza la horquilla de replicación. Cuando la polimerasa de la hebra retardada alcanza una región que ya se ha replicado, la abrazadera deslizante se abre y se forma un nuevo bucle.

modificación covalente Adición (o eliminación) de grupos químicos a una enzima, y el consiguiente cambio en las propiedades catalíticas de esa enzima. Las propiedades catalíticas de muchas enzimas se alteran mediante la adición (o eliminación) covalente de grupos fosforilo.

modulador selectivo del receptor de estrógenos (SERM) Un antagonista, como, por ejemplo, un fármaco utilizado en el tratamiento y prevención del cáncer de mama, que actúa sobre el receptor de estrógenos; el crecimiento de algunos tumores de cáncer de mama depende de las rutas mediadas por estrógenos.

molde En el DNA o RNA, es una secuencia que dirige la formación de una hebra complementaria.

molécula anfipática Una molécula, como un lípido de membrana, que contiene una parte hidrofóbica y una parte hidrofílica.

mononucleótido de flavina (FMN) Coenzima para reacciones de oxidación-reducción derivada de la vitamina riboflavina. El aceptor de electrones del FMN, el anillo de isoaloxacina, es idéntico al de la forma oxidada del dinucleótido de flavina y adenina (FAD), pero el FMN carece del nucleótido de adenina que forma parte del FAD.

monosacárido Un único aldehído o cetona que presenta dos o más grupos hidroxilo; los monosacáridos son los carbohidratos más sencillos.

motivo Hace referencia a determinadas combinaciones de elementos de estructura secundaria presentes en muchas proteínas y que, con frecuencia, desempeñan funciones similares. También se denomina estructura supersecundaria.

motor de remodelación de la cromatina Complejo de proteínas que contienen dominios homólogos a las helicasas y que utiliza la energía de la hidrólisis del ATP para cambiar las posiciones de los nucleosomas e inducir otros cambios conformacionales en la cromatina.

movimiento browniano Movimiento aleatorio de gases y líquidos impulsado por la energía térmica ambiental. En el interior de la célula, el movimiento browniano proporciona la energía para muchas de las interacciones necesarias para el funcionamiento de un sistema bioquímico.

mucina Pertenece a una clase de glicoproteínas, compuestas principalmente por carbohidratos, en las que la mayor parte de los residuos de serina y treonina se encuentran glicosilados con *N*-acetilgalactosamina. También se denomina mucoproteína.

multiplicidad enzimática Estrategia reguladora en la que el paso comprometido común a varias rutas está catalizado por enzimas diferentes con las mismas propiedades catalíticas pero distintas propiedades reguladoras. Por lo tanto, cada enzima responde al producto final de una de las rutas que presentan ese paso comprometido común.

multirresistencia a fármacos Fenómeno observado en células cancerosas mediante el cual el desarrollo de la resistencia a un fármaco hace que las células sean resistentes a una serie de fármacos distintos; se debe a la acción de una bomba denominada proteína multirresistente a fármacos (MDR), que contiene un dominio ABC y que depende del ATP.

mutágeno Altera la secuencia de bases del DNA y provoca una mutación; con frecuencia, se trata de un compuesto químico pero también puede ser una fuente de energía, como la luz ultravioleta.

mutasa Enzima que cataliza el desplazamiento intramolecular de un grupo químico.

N-acetilglutamato Activador alostérico de la carbamilfosfato sintetasa de mamíferos que inicia la síntesis de urea.

NADH-Q oxidorreductasa Componente de gran tamaño de la cadena respiratoria que transfiere electrones desde el NADH a la ubiquinona y, durante el proceso, bombea protones a través de la membrana mitocondrial interna para generar la fuerza protón-motriz. También se denomina NADH deshidrogenasa o Complejo I.

núcleo Compartimento rodeado por una doble membrana que contiene la mayor parte del DNA de una célula eucariótica.

nucleósido Una base púrica o pirimidínica unida a un azúcar.

nucleosoma Unidad repetitiva de la cromatina que está formada por 200 pares de bases de DNA y dos histonas de cada tipo: H2A, H2B, H3 y H4.

nucleótido de pirimidina Nucleótido cuya base es una pirimidina.

nucleótido Una base nitrogenada púrica o pirimidínica unida a un azúcar que, a su vez, está unida a uno o más grupos fosforilo.

número de recambio Número de moléculas de sustrato que se convierten en producto por una molécula de enzima por unidad de tiempo cuando la enzima está completamente saturada con el sustrato; equivale a la constante cinética k_2 (**ver constante de Michaelis**).

oligosacárido Carbohidrato formado por entre 2 y 12 unidades de monosacárido.

oncogén Gen cuya expresión contribuye al desarrollo del cáncer.

operador Segmento de DNA adyacente a un grupo de genes estructurales y que es la secuencia diana para una proteína represora.

operón En bacterias, es una unidad coordinada de expresión génica que incluye genes estructurales y elementos reguladores reconocidos por uno o más productos de los genes reguladores.

orgánulo Cualquier componente intracelular rodeado de membrana.

origen de la replicación Secuencia concreta de un genoma en donde comienza la replicación.

orotidilato Nucleótido precursor del uridilato y del citidilato, formado mediante la reacción del orotato con el 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP).

P680 Pareja especial de moléculas del fotosistema I de las plantas verdes; la absorción de luz por parte de P680 da lugar a la transferencia de electrones desde el agua a la plastoquinona, dando lugar a un gradiente de protones.

P700 Pareja especial de moléculas del fotosistema I de las plantas verdes; la absorción de luz por parte de P700 da lugar a la transferencia de electrones que genera ferredoxina y, en última instancia, NADPH.

pareja especial En un centro de reacción fotosintético, es la pareja de moléculas de clorofila que recogen la energía de excitación de las moléculas de clorofila antena y, posteriormente, transfiere electrones de alta energía a otros aceptores de electrones.

partícula central del nucleosoma Complejo formado por el octámero de histonas y un fragmento de DNA de 145 pb en el DNA eucariótico.

partícula de lipoproteína Consta de un núcleo de lípidos hidrofóbicos rodeado de una capa de lípidos polares y proteínas específicas; desempeña un papel en el transporte de colesterol y de triacilgliceroles.

partícula que reconoce la señal (SRP) Reconoce la secuencia señal y se une a ella y al ribosoma en cuanto asoma por el ribosoma. A continuación, SRP conduce al ribosoma junto con su cadena polipeptídica naciente a la membrana del retículo endoplasmático.

partículas de ribonucleoproteína pequeñas nucleares (snRNP) Complejos formados por moléculas de RNA pequeño nuclear y por proteínas específicas que catalizan el proceso de maduración de los precursores del mRNA.

paso comprometido El primer paso irreversible de una ruta metabólica en condiciones fisiológicas; este paso está catalizado por una enzima alostérica y determina el destino químico concreto que le espera al producto.

PCR cuantitativa (qPCR) Técnica basada en la reacción en cadena de la polimerasa que es capaz de determinar la cantidad de transcritos individuales de mRNA. También se denomina PCR en tiempo real.

pepsina Enzima proteolítica que inicia el proceso de degradación de proteínas en el estómago. La acción de la pepsina genera fragmentos proteicos que se degradarán aún más gracias a las proteasas del intestino.

peptidasa de la señal Enzima que escinde las secuencias señal de las proteínas maduras en el lado de la membrana del retículo endoplasmático orientado hacia el *lumen*.

péptido−1 parecido al glucagón (GLP-1) Hormona secretada por las células intestinales que ejerce una serie de efectos, entre los que se incluye la sensación de saciedad que inhibe las ganas de seguir comiendo.

pH Medida de la concentración de iones hidrógeno de una disolución.

piridoxal fosfato (PLP) Grupo protético derivado de la vitamina B_6 (piridoxina) que desempeña un papel clave en las reacciones de transaminación.

pirimidina Base nitrogenada formada por un anillo heterocíclico de seis átomos, dos de nitrógeno y cuatro de carbono; la citosina, el uracilo y la timina son derivados de la pirimidina que se encuentran en los nucleótidos y en los ácidos nucleicos.

piruvato carboxilasa Enzima dependiente de biotina que cataliza la formación de oxalacetato a partir de piruvato y CO_2 a expensas del ATP; es importante en la gluconeogénesis, así como en la reposición de los intermediarios del ciclo del ácido cítrico.

piruvato deshidrogenasa (E_1) Una de las tres enzimas distintas que forman parte del complejo piruvato deshidrogenasa; E_1 cataliza la descarboxilación del piruvato y la formación de acetil-lipoamida.

piruvato quinasa Enzima de la ruta glicolítica que cataliza la transferencia, prácticamente irreversible, de un grupo fosforilo desde el fosfoenolpiruvato al ADP.

planta C_3 Planta que carece de la ruta C_4.

planta C_4 Planta que utiliza la ruta C_4.

plásmido En bacterias, pequeño DNA circular separado del DNA cromosómico bacteriano. Los plásmidos se pueden replicar independientemente del DNA cromosómico y, a menudo, albergan genes que confieren resistencia a antibióticos. Los plásmidos también se utilizan como vectores de clonación.

plegamiento de la globina Estructura que forma el plegamiento de una cadena polipeptídica, de la que las subunidades de la mioglobina y de la hemoglobina son un ejemplo, que crea un entorno adecuado para que un grupo hemo se pueda unir al oxígeno de forma reversible.

polisacárido Carbohidrato, lineal o ramificado, formado por un gran número de unidades de monosacárido; los homopolisacáridos están formados por un gran número de azúcares de un solo tipo, mientras que los heteropolisacáridos están formados por más de un tipo.

polisoma Grupo de ribosomas unidos a una molécula de mRNA que están llevando a cabo la traducción de forma simultánea. También se denomina polirribosoma.

potencial de fosforilación Forma de medir el estatus energético de una célula, que se obtiene dividiendo la concentración de ATP entre el producto de las concentraciones de ADP y P_i.

potencial de reducción Potencial de transferencia de electrones, que se representa como E'_0. También se denomina potencial redox o potencial de oxidación-reducción.

potencial de transferencia de fosforilos Medida de la tendencia de un compuesto fosforilado para transferir un grupo fosforilo a otro compuesto; se expresa como el $\Delta G^{\circ\prime}$ de la hidrólisis del compuesto fosforilado; cuanto más negativo sea el $\Delta G^{\circ\prime}$ de hidrólisis, mayor será el potencial de transferencia de grupos fosforilo.

precipitación por sal Precipitación de proteínas provocada por un aumento de la concentración de sal.

pre-mRNA En eucariotas, producto inmediato de la RNA polimerasa II, que no ha sido sometido al proceso de maduración.

presión parcial Fracción de la presión total de una mezcla de gases que se debe a uno de los componentes de la mezcla.

primasa RNA polimerasa especializada que sintetiza los RNA cebadores para la síntesis de DNA.

prión Proteína del cerebro que se puede plegar adoptando una estructura anormal. Los priones se agregan y dan lugar a encefalopatías espongiformes, como la enfermedad de las vacas locas; estas enfermedades son transmisibles y, por tanto, los priones son proteínas infecciosas.

procariota Organismo unicelular que carece de núcleo y compartimentos rodeados de membrana. Los procariotas pertenecen a dos dominios taxonómicos: bacterias y arqueobacterias.

procesividad Propiedad de una enzima que le permite catalizar múltiples rondas de elongación o de digestión de un polímero mientras el polímero permanece unido a la enzima.

promotor Secuencia específica del DNA, normalmente situada justo corriente arriba de un gen, que especifica el lugar de inicio y el nivel de transcripción del gen asociado.

prostaglandina Pertenece a una clase de moléculas señal de vida corta que son ácidos grasos de 20 átomos de carbono que contienen un anillo de cinco átomos.

proteína activadora de catabolitos (CAP) La proteína receptora de cAMP; cuando se encuentra unida al AMP cíclico, CAP se une a una repetición invertida del operón *lac*, cerca de la posición −61 en relación con el punto de partida de la transcripción, de modo que se estimula la transcripción.

proteína de membrana periférica Proteína asociada a la superficie de una membrana por medio de interacciones electrostáticas y puentes de hidrógeno.

proteína de unión al elemento regulador de esteroles (SREBP) Factor de transcripción que se une al elemento regulado por esterol del gen para la HMG-CoA reductasa y de otros genes del metabolismo del colesterol y de los ácidos grasos para estimular su transcripción.

proteína desacoplante 1 (UCP-1) Proteína de la membrana mitocondrial que desempeña un papel en la termogénesis proporcionando una ruta para que los protones fluyan hacia el interior de la mitocondria, generando calor sin sintetizar ATP. También se denomina termogenina.

proteína fosfatasa 1 (PP1) Proteína fosfatasa estimulada por la insulina que inhibe la degradación del glucógeno y estimula la síntesis de glucógeno.

proteína G Proteína que se une a nucleótidos de guanina y que forma parte de las rutas de señalización intracelular. En el estado inactivo, la proteína G (que también se conoce como proteína G heterotrimérica) es una proteína trimérica formada por subunidades $\alpha\beta\gamma$, con el GDP unido a la subunidad α. En el estado activo, la proteína α intercambia GDP por GTP y se disocia de las subunidades $\beta\gamma$. La subunidad α unida a GTP propaga la señal. La propagación de la señal termina cuando la subunidad α hidroliza el GTP a GDP y se vuelve a asociar con las subunidades $\beta\gamma$.

proteína intrínsecamente desestructurada (IUP) Proteína que, en condiciones fisiológicas, carece, total o parcialmente, de una estructura tridimensional concreta hasta que interaccione con otra molécula.

proteína Macromolécula biológica compuesta por un conjunto de aminoácidos dispuestos de manera lineal y unidos mediante enlaces peptídicos; desempeñan un papel en procesos biológicos como catálisis, transporte y almacenamiento, movimiento, soporte mecánico, protección inmunitaria, generación y transmisión de impulsos nerviosos y control del crecimiento y la diferenciación.

proteína metamórfica Pertenece a una clase de proteínas que se encuentran formando un conjunto de estructuras con aproximadamente la misma energía y que están en equilibrio.

proteína multirresistente a fármacos (MDR) Proteína que actúa como una bomba dependiente de ATP que expulsa una amplia gama de pequeñas moléculas de las células que las expresan. Cuando las células se exponen a un fármaco, la proteína MDR bombea el fármaco hacia fuera de la célula, antes de que pueda ejercer sus efectos. La proteína MDR consta de cuatro dominios: dos dominios que atraviesan la membrana y dos dominios de unión al ATP. También se denomina glicoproteína P.

proteína portadora de acilos (ACP) Polipéptido que está unido a la fosfopanteteína y que actúa como portador de la cadena creciente de ácido graso durante la biosíntesis de ácidos grasos.

proteína que se une a IRE (IRE-BP) Proteína sensible al hierro que regula la capacidad traduccional del mRNA para la ferritina y la estabilidad del mRNA para el receptor de la transferrina uniéndose a una estructura tallo-bucle denominada elemento de respuesta al hierro (IRE), localizada en la molécula de mRNA.

proteína quinasa A (PKA) Proteína quinasa que consta de dos subunidades catalíticas y dos subunidades reguladoras que inhiben las subunidades catalíticas; al unirse al AMP cíclico, las subunidades reguladoras se disocian de las subunidades catalíticas que, entonces, se vuelven activas.

proteína quinasa C (PKC) Proteína quinasa que se activa al unirse al diacilglicerol.

proteína quinasa dependiente de AMP (AMPK) Una proteína quinasa, conservada entre los eucariotas, que se activa al unirse al AMP y se inhibe por el ATP; en consecuencia, funciona como un indicador de combustible celular, inhibiendo determinados procesos mediante la fosforilación de enzimas clave cuando el suministro energético es reducido.

proteína quinasa dependiente de calmodulina Proteína quinasa que se activa mediante la unión a un complejo Ca^{2+}-calmodulina.

proteína rho Helicasa bacteriana dependiente de ATP que rompe los híbridos RNA-DNA en la burbuja de transcripción y, con ello, pone fin a la transcripción.

proteínas ferrosulfuradas Proteínas que contienen agrupaciones de hierro y azufre que desempeñan un papel en la reacciones de transferencia de electrones; el hierro alterna entre los estados Fe^{2+} y $\sum Fe^{3+}$. También se denominan proteínas con hierro no hemínico.

proteínas integrales de la membrana Proteínas que se encuentran en las membranas y que interaccionan de forma extensa con las cadenas hidrocarbonadas de los lípidos de membrana y, a menudo, la atraviesan por completo.

proteoglicano Proteína que contiene una o más cadenas de glicosaminoglicano unidas covalentemente; el proteoglicano del cartílago contiene queratán sulfato y cadenas de condroitín unidos a un esqueleto polipeptídico.

proteoma Hace referencia a las proteínas expresadas por el genoma. Incluye los tipos, funciones e interacciones de las proteínas que dan lugar a una unidad funcional. A diferencia del genoma, el proteoma varía según el tipo de célula, el estado de desarrollo y las condiciones ambientales.

proto-oncogén Proteína implicada en la transducción de señales que, normalmente, regula de alguna forma el crecimiento celular; cuando los proto-oncogenes mutan se convierten en oncogenes y contribuyen al desarrollo del cáncer.

protoporfirina Constituyente orgánico del grupo prostético hemo; consta de cuatro anillos de pirrol unidos mediante puentes metino y contiene varias cadenas laterales.

proyección de Fischer Representación de una biomolécula en dos dimensiones, en la que cada átomo está identificado y los enlaces del átomo de carbono central se representan mediante líneas horizontales y verticales. Por convención, se considera que los enlaces horizontales se proyectan hacia fuera de la página, hacia el espectador, y que los enlaces verticales se proyectan hacia dentro de la página, alejándose del espectador.

puente de hidrógeno Enlace que se forma cuando dos átomos relativamente electronegativos, como el oxígeno y el nitrógeno, comparten de forma desigual un átomo de hidrógeno que se encuentra covalentemente unido a uno de los átomos electronegativos.

puente disulfuro Enlace covalente formado por la oxidación de dos grupos sulfhidrilo; la oxidación de los residuos de cisteína de un polipéptido da lugar a la formación de un puente disulfuro que conecta los dos residuos.

purina Base nitrogenada que contiene un anillo de pirimidina fusionado con un anillo de cinco átomos, denominado imidazol; la adenina y la guanosina, dos derivados de la purina, se encuentran en los nucleótidos y en los ácidos nucleicos.

Q-citocromo c oxidorreductasa Componente de la cadena respiratoria, esta oxidorreductasa transporta electrones desde la coenzima Q al citocromo *c* y, durante el proceso, bombea protones hacia fuera de la matriz mitocondrial generando la fuerza protón-motriz. También se denomina citocromo *c* reductasa o Complejo III.

quilomicrón Partícula de lipoproteína que transporta los triacilgliceroles ingeridos en la dieta desde el intestino a otros tejidos; la apolipoproteína B-48 es una proteína que forma parte de los quilomicrones.

quimiótrofo Organismo que obtiene energía mediante la oxidación de alimentos. Ver también **fotótrofo**.

quinasa Enzima que cataliza la adición de un grupo fosforilo a un sustrato utilizando el ATP como donador de fosforilos.

RAD51 ATPasa clave en la recombinación humana que se une a DNA de hebra sencilla.

Ras Pequeña proteína G que estimula el crecimiento celular y la diferenciación y que posee actividad GTPasa intrínseca.

reacción anaplerótica Reacción que da lugar a la síntesis neta, o reposición, de componentes de la ruta.

reacción de doble desplazamiento Reacción que tiene múltiples sustratos en la que se liberan uno o más productos antes de que se hayan unido todos los sustratos a la enzima. La característica distintiva de estas reacciones es la formación de un intermediario enzimático sustituido. También se denomina reacción ping-pong.

reacción en cadena de la polimerasa (PCR) Técnica utilizada para amplificar en varios órdenes de magnitud el número de copias de una secuencia de DNA diana. Un ciclo de PCR consta de tres pasos –separación de las hebras, hibridación de los cebadores y síntesis de DNA– que se repiten entre 20 y 30 veces.

reacción secuencial Reacción que tiene múltiples reactantes, en la que todos los sustratos se unen a la enzima antes de que se libere el producto. Por tanto, en una reacción con dos sustratos, se forma un complejo ternario entre la enzima y los dos sustratos.

reacciones luminosas En los cloroplastos, las reacciones en las que se utiliza la luz para generar potencial reductor, ATP y oxígeno.

reactivo específico de grupo Compuesto químico que reacciona con grupos R (cadenas laterales) específicos de los aminoácidos.

receptor acoplado a proteínas G (GPCR) Ver **receptores con siete hélices transmembrana (7TM)**.

receptor con siete hélices transmembrana (7TM) Pertenece a una clase de proteínas de membrana integrales en el que la región integrada en la membrana consta de siete hélices; estos receptores siempre están acoplados a proteínas G.

receptor de la transferrina Proteína de membrana que se une a la transferrina cargada de hierro y pone en marcha su entrada en la célula.

receptor de SRP (SR) Proteína integral de membrana que consta de dos subunidades, a las que se une un complejo formado por una partícula que reconoce la señal y un ribosoma.

receptor hormonal nuclear Miembro de una gran familia de factores de transcripción que, al unirse a una molécula señal, como, por ejemplo, una hormona esteroidea, modifica la expresión de genes específicos uniéndose a elementos de control en el DNA.

reparación de emparejamientos incorrectos Sistema de reparación del DNA que consta, al menos, de dos proteínas, una que detecta el emparejamiento incorrecto y otra que incorpora una endonucleasa que escinde la hebra de DNA recién sintetizada por un lugar próximo a la lesión. A continuación, una exonucleasa puede escindir la base incorrecta y una polimerasa rellena el hueco.

reparación directa Mecanismo de reparación del DNA dañado en el que la región lesionada se repara en el mismo sitio. Por ejemplo, los dímeros de pirimidina sencillamente se escinden para, después, restablecer los nucleótidos originales.

reparación mediante escisión de nucleótidos Mecanismo de reparación del DNA mediante el cual se elimina un segmento de DNA que contiene el lugar dañado y, después, se vuelve a sintetizar.

reparación por escisión de bases Mecanismo de reparación del DNA en el que se elimina la base dañada y se sustituye por una base complementaria a la de la hebra de DNA no dañada.

repetición de trinucleótidos Se encuentran en segmentos del DNA en los que la secuencia de un trinucleótido se repite muchas veces; estos segmentos del DNA se pueden alargar durante el transcurso de la replicación del DNA, provocando enfermedades genéticas como la enfermedad de Huntington.

replicación Proceso que consiste en copiar el genoma.

replicación semiconservativa En la duplicación del DNA, una de las hebras de cada molécula hija se sintetiza de nuevo, mientras que la otra, procedente de la doble hélice de DNA parental, permanece sin cambios.

represión por catabolito La represión, por parte de la glucosa, de las enzimas catabólicas necesarias para el catabolismo de carbohidratos distintos de la glucosa.

represor En el operón, proteína que se une a una secuencia operador e inhibe la transcripción de los genes estructurales.

represor *lac* La proteína reguladora que se une al lugar operador del operón *lac* y, con ello, inhibe la expresión de los genes estructurales del operón; la inhibición se interrumpe cuando la proteína represora se une a la alolactosa, un inductor del operón *lac*.

reservorio Q Reservorio de coenzima Q (Q) y ubiquinol (QH_2) que se cree que existe en la membrana mitocondrial interna. Como la ubiquinona es soluble en el interior hidrofóbico de la membrana, los componentes del reservorio Q pueden desplazarse fácilmente entre los transportadores de electrones de mayor tamaño que están integrados en la membrana.

respiración celular Generación de electrones con un elevado potencial de transferencia por medio del ciclo del ácido cítrico, su flujo a través de la cadena respiratoria y la consiguiente síntesis de ATP. También se denomina respiración.

retículo endoplasmático (RE) Extenso sistema de membranas citoplasmáticas que comprende aproximadamente la mitad de todas las membranas de la célula. La región del RE que se une a ribosomas se denomina RE rugoso, y la región que está desprovista de ribosomas se denomina RE liso.

retroinhibición acumulativa Estrategia reguladora en la que la enzima que cataliza el paso comprometido común a varias rutas se inhibe de manera progresiva por los productos de cada una de las rutas. De este modo, cada inhibidor puede reducir la actividad de la enzima incluso cuando los otros inhibidores están unidos en condiciones de saturación.

ribointerferencia (RNAi) Hace referencia a la regulación postranscripcional de la expresión génica mediante pequeñas moléculas de RNA.

ribointerruptor Estructura molecular que forma parte de algunas moléculas de mRNA bacteriano y que se puede unir a moléculas pequeñas específicas para, de este modo, evitar que se siga transcribiendo el mRNA.

ribonucleoproteínas pequeñas nucleolares (snoRNP) Dirigen la intensa modificación de la ribosa y de las bases que componen los nucleótidos de las secuencias de pre-rRNA destinadas a formar parte de los ribosomas, un procesamiento que tiene lugar en el nucleolo. Cada snoRNP está formada por un pequeño RNA nucleolar y por varias proteínas.

ribonucleótido reductasa Enzima que cataliza la reducción de los cuatro ribonucleótidos a desoxirribonucleótidos.

ribosa Monosacárido de cinco carbonos ($C_5H_{10}O_5$) que constituye la unidad carbohidrato del ATP, de otros ribonucleósidos y ribonucleótidos y de cofactores como el NAD^+ y la coenzima A.

ribosoma Ensamblaje de ribonucleoproteína de gran tamaño que cataliza la formación de enlaces peptídicos; máquina molecular que coordina la síntesis de proteínas.

RNA catalítico Una clase de moléculas de RNA que muestra actividad enzimática.

RNA de transferencia (tRNA) Molécula adaptadora en la síntesis de proteínas; contiene un lugar que reconoce un aminoácido y un anticodón, un lugar que reconoce el molde.

RNA mensajero (mRNA) Una clase especial de moléculas de RNA que actúan como molde para la síntesis de proteínas.

RNA pequeño nuclear (snRNA) Pertenece a una clase de pequeñas moléculas de RNA confinadas en el núcleo; algunas de ellas intervienen en el proceso de maduración.

RNA polimerasa Pertenece a una clase de enzimas que sintetizan moléculas de RNA complementarias a moldes de DNA.

RNA ribosómico (rRNA) Es el RNA que forma parte de los ribosomas. En eucariotas, el RNA de 18S forma parte de la subunidad de 40S y el RNA de 5S, el RNA de 28S y el RNA de 5,8S componen la subunidad de 60S. Un lugar del RNA de 28S cataliza la formación de enlaces peptídicos.

rubisco (ribulosa 1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa) Enzima que cataliza la reacción del dióxido de carbono con la ribulosa 1,5-bisfosfato para formar dos moléculas de 3-fosfoglicerato.

ruta anfibólica Consta de reacciones metabólicas que pueden ser anabólicas o catabólicas, según las condiciones energéticas de la célula.

ruta C_4 Mecanismo mediante el cual compuestos con cuatro carbonos, como el oxalacetato o el malato, transportan dióxido de carbono desde las células del mesófilo, en contacto con el aire, a las células de la vaina del haz, que son los principales lugares donde se lleva a cabo la fotosíntesis. La ruta acelera la fotosíntesis concentrando el dióxido de carbono en las células fotosintéticas.

ruta de la β-oxidación En la degradación de una molécula de acil-CoA, la secuencia de reacciones de oxidación, hidratación y oxidación que convierte un grupo metileno del átomo de carbono C-3 (también denominado átomo de carbono β) en un grupo β-ceto que, posteriormente, se escinde generando acetil-CoA.

ruta de las pentosas fosfato Ruta metabólica que genera NADPH y azúcares de cinco átomos de carbono, como la ribosa 5-fosfato, a partir de la glucosa 6-fosfato; incluye reacciones oxidativas que generan NADPH y ribosa 5-fosfato, así como reacciones no oxidativas que, de forma conjunta, convierten azúcares fosfato de cinco carbonos en precursores gluconeogénicos de la glucosa 6-fosfato. También se la conoce como lanzadera de hexosas monofosfato o ruta del fosfogluconato.

ruta *de novo* Ruta biosintética en la que se sintetiza una molécula a partir de precursores sencillos.

ruta de recuperación En general, ruta que sintetiza el producto final a partir de componentes preformados; los nucleótidos de purina se pueden sintetizar mediante una ruta de recuperación añadiendo bases púricas al fosforribosilpirofosfato (PRPP).

sacarosa Disacárido de glucosa y fructosa (más conocido como azúcar de mesa) que, en las plantas, se transporta fácilmente y se almacena en muchas células vegetales.

***S*-adenosilmetionina (SAM)** Donador de metilos activado que está formado por un grupo adenosilo unido al átomo de azufre de la metionina.

sal biliar Derivado polar del colesterol que se sintetiza en el hígado, se almacena en la vesícula biliar y se libera en el intestino delgado, donde actúa como detergente para solubilizar los lípidos de la dieta, facilitando así su digestión y absorción.

secretina Hormona, liberada por las células del intestino delgado, que estimula la liberación de bicarbonato sódico, lo que neutraliza el pH bajo de las proteínas, carbohidratos y lípidos parcialmente digeridos procedentes del estómago.

secuencia consenso Secuencia de bases idealizada que representa las características comunes de un lugar promotor.

secuencia de Shine-Dalgarno En el RNA mensajero bacteriano, es una región de unos 10 nucleótidos, situada en el lado 5′ de un codón iniciador y rica en purinas que se empareja con el extremo 3′ del RNA de 16S de la subunidad de 30S del ribosoma; ayuda a determinar dónde comienza la traducción de una molécula de mRNA.

secuencia señal Secuencia de entre 9 y 12 residuos de aminoácidos hidrofóbicos que, a veces, contiene aminoácidos cargados positivamente y que suele estar situada cerca del extremo amino de una cadena polipeptídica naciente. La presencia de la secuencia señal identifica a la proteína naciente como una proteína que tiene que atravesar la membrana del retículo endoplasmático.

segundo mensajero Pequeña molécula señal cuya concentración cambia en respuesta a un mensajero primario.

selectina Proteína que se une a carbohidratos y que, en una respuesta inflamatoria, confina las células del sistema inmunitario al lugar de la herida interviniendo en las interacciones célula-célula.

sensibilidad al quórum En bacterias, sistema de transducción de señales que permite coordinar la expresión génica en una población de bacterias en función de la densidad de la población.

separación de cargas fotoinducida Excitación de un electrón desde su estado basal a un nivel energético superior mediante la absorción de luz y el consiguiente movimiento del electrón excitado desde la molécula inicial hasta un aceptor, lo que da lugar a una carga positiva en la molécula inicial y a una carga negativa en la molécula aceptora.

simporte Sistema de transporte en el que una molécula es transportada a través de una membrana en contra de su gradiente de concentración, en la misma dirección que un ion que se mueve a favor de su gradiente de concentración.

síndrome de Lesch-Nyhan Enfermedad provocada por la pérdida de una sola enzima de la ruta de recuperación de las purinas; se caracteriza por un retraso mental, hostilidad extrema y automutilaciones.

síntesis de ácidos grasos Síntesis de ácidos grasos de cadena larga saturada a partir de acetil-CoA, malonil-CoA y NADPH mediante una secuencia de reacciones de reducción, deshidratación y reducción, que convierten un grupo ceto-β en un grupo metileno.

subunidad Cualquiera de las cadenas polipeptídicas de una proteína formada por más de una cadena polipeptídica.

subunidad de 30S Subunidad pequeña del ribosoma bacteriano de 70S; está formada por 21 proteínas distintas y por una molécula de RNA de 16S.

subunidad de 50S La subunidad grande de los ribosomas bacterianos de 70S; es el lugar donde se lleva a cabo la síntesis de los enlaces peptídicos y contiene 34 proteínas distintas, una molécula de RNA de 5S y una molécula de RNA de 23S.

subunidad sigma Componente de la RNA polimerasa bacteriana que permite al núcleo de la RNA polimerasa reconocer los lugares promotores.

subunidad α Subunidad de la hemoglobina A humana de adultos, que está formada por cuatro subunidades: dos subunidades α y dos subunidades β.

subunidad β Subunidad de la hemoglobina A humana de adultos, que está formada por cuatro subunidades: dos subunidades α y dos subunidades β.

succinato-Q reductasa Complejo formado por proteínas integrales de la membrana localizado en la membrana mitocondrial interna que transfiere electrones desde el $FADH_2$ formado durante el ciclo del ácido cítrico a la coenzima Q. También se denomina Complejo II.

superenrollamiento Hace referencia a la capacidad del DNA circular, cerrado, para enrollarse sobre sí mismo.

superóxido dismutasa Enzima que neutraliza los radicales peróxido catalizando la conversión de dos de estos radicales en peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular; protege contra el daño causado por las especies reactivas del oxígeno.

surco mayor Surco del DNA-B con una anchura de 12 Å y una profundidad de 6,5 Å que aparece como consecuencia de que los enlaces glicosídicos de un par de bases no están en posiciones diametralmente opuestas entre sí.

surco menor Surco del DNA-B con una anchura de 6 Å y una profundidad de 7,5 Å que aparece como consecuencia de que los enlaces glicosídicos de un par de bases no están en posiciones diametralmente opuestas entre sí.

sustrato Un reactante en una reacción química. Una enzima cataliza una única reacción química o un conjunto de reacciones muy parecidas, y los componentes de esas reacciones se denominan sustratos.

tallo-bucle Estructura de los ácidos nucleicos, que se encuentra con frecuencia en el RNA, que se crea cuando dos secuencias complementarias, situadas dentro de una misma hebra, se emparejan formando una estructura de doble hélice que constituye el tallo. Las dos hebras del tallo están conectadas por medio del bucle.

tampón Par conjugado ácido-base que se opone a los cambios de pH de una disolución.

telomerasa Transcriptasa inversa que contiene su propio molde; es una enzima con una procesividad elevada, que prolonga la hebra del telómero a partir del extremo 3′.

telómero Cada uno de los extremos de un cromosoma; el DNA del telómero consta de cientos de repeticiones de una secuencia de seis nucleótidos, característica para cada organismo.

terminación controlada de la replicación Técnica para secuenciar el DNA basada en la generación de fragmentos de DNA cuya longitud depende de la última base de la secuencia. Se lleva a cabo el mismo procedimiento en cuatro mezclas de reacción al mismo tiempo. Se utiliza la DNA polimerasa para sintetizar la hebra complementaria de una corta secuencia perteneciente a la molécula de DNA de hebra sencilla que se está secuenciando. El cebador para la síntesis es un fragmento complementario a una parte de la secuencia. Además de los cuatro desoxirribonucleósidos trifosfato (marcados radiactivamente), cada mezcla de reacción contiene una pequeña cantidad del análogo 2′, 3′-didesoxi de uno de los nucleótidos, uno distinto en cada mezcla de reacción. La incorporación de este análogo impide que la nueva hebra siga creciendo. La concentración del análogo es lo suficientemente baja como para que la terminación de la hebra solo se produzca de manera esporádica. En todas las mezclas de reacción se producen fragmentos de diversa longitud que terminan todos en el mismo análogo didesoxi. A continuación se lleva a cabo una electroforesis con los cuatro conjuntos de fragmentos terminados en distintas posiciones de la hebra y, a partir del autorradiograma de las cuatro calles, se lee la secuencia de bases del nuevo DNA. Se denomina también método didesoxi de Sanger.

test de Ames Un método sencillo y rápido para detectar carcinógenos midiendo la capacidad de un compuesto químico para inducir mutaciones en bacterias del género *Salmonella*.

tetrahidrofolato Transportador muy versátil de unidades monocarbonadas activadas.

tiamina pirofosfato (TPP) Coenzima derivada de la tiamina (vitamina B_1), compuesta por un anillo tiazol modificado, unido mediante un puente metileno a una pirimidina sustituida; es un cofactor en reacciones enzimáticas en las que se escinden o se sintetizan enlaces a átomos de carbono carbonilo.

tilacoide En cloroplastos, saco membranoso, o vesícula, que contiene la maquinaria de transducción de energía de la fotosíntesis, incluyendo las proteínas captadores de luz, los centros de reacción, las cadenas transportadoras de electrones y la ATP sintasa.

timidilato sintasa Enzima que cataliza la metilación del desoxiuridilato (dUMP) para formar timidilato (TMP).

timina (T) Una base del DNA.

tiorredoxina Proteína con residuos de cisteína expuestos que se puede oxidar o reducir de forma reversible; es un importante transportador de electrones en la reducción de los ribonucleótidos y en la fotosíntesis.

tirosina quinasa del receptor (RTK) Proteína receptora transmembrana que, cuando se une a la molécula señal apropiada, muestra actividad proteína quinasa intracelular, fosforilando proteínas en residuos de tirosina

topoisomerasa Enzima que cataliza la interconversión de toposiómeros del DNA; puede relajar el DNA superenrollado.

traducción Síntesis celular de proteínas, que se llama así porque el alfabeto de cuatro letras de los ácidos nucleicos se traduce en los distintos aminoácidos que componen las proteínas.

transcripción Síntesis de RNA dirigida por el DNA y catalizada por la RNA polimerasa.

transcriptasa inversa Polimerasa vírica que utiliza el RNA como molde para sintetizar DNA.

transesterificación Reacción de un alcohol con un éster en la que se forma un alcohol diferente y un éster diferente.

transferencia northern Técnica que permite la identificación de una molécula específica de RNA. Se separa una mezcla de moléculas de RNA mediante electroforesis en gel y se transfiere (*blotting*) a nitrocelulosa. A continuación, se hibridan las moléculas transferidas con una sonda complementaria a la molécula de RNA que interesa, marcada con ^{32}P. La molécula de RNA se visualiza mediante autorradiografía.

transferencia Southern Técnica que permite la identificación de una secuencia específica de DNA tras haber digerido el DNA mediante enzimas de restricción. Los fragmentos de la digestión se separan por electroforesis en gel y, después, se transfieren (*blotting*) a nitrocelulosa. Se somete la transferencia a hibridación con una sonda complementaria a la secuencia de DNA que nos interesa y marcada con ^{32}P. El fragmento de DNA que contiene la secuencia de interés se visualiza mediante autorradiografía.

transferencia western Técnica que permite detectar pequeñas cantidades de una proteína que nos interese en una célula o en un fluido del organismo. La muestra se somete a electroforesis en gel en presencia de SDS y, después, se transfieren (*blotting*) las proteínas desde el gel a una lámina de polímero que se coloca en contacto con este. A continuación, las proteínas transferidas se ponen en presencia de un anticuerpo específico marcado dirigido contra la proteína de interés, de manera que se pueda identificar y cuantificar la proteína. También se denomina inmunotransferencia.

transferrina Proteína que transporta hierro en el suero sanguíneo.

translocasa ATP-ADP Proteína transportadora de la membrana mitocondrial interna que acopla el transporte de ADP al interior de las mitocondrias con el transporte de ATP fuera de ellas. También se denomina translocasa de nucleótidos de adenina (ANT).

translocón Ensamblaje formado por multitud de subunidades de proteínas integrales y periféricas de la membrana que constituye la maquinaria que transloca una proteína naciente a través de la membrana del retículo endoplasmático; forma un canal que transporta proteínas y que se abre cuando el translocón y el ribosoma se encuentran unidos.

transportador activado Pequeña molécula que contiene grupos funcionales activados que pueden ser cedidos a otra molécula; por ejemplo, el ATP contiene grupos fosforilo activados y la coenzima A contiene grupos acilo activados.

transportador secundario Transportador que utiliza la energía del flujo a favor de gradiente (exergónico) de un ion o molécula para impulsar el flujo en contra de gradiente (endergónico) de otro. También se denomina cotransportador.

transporte activo Transporte de un ion o molécula en contra de un gradiente de concentración, en el que el DG para la especie transportada es positivo; el proceso tiene que estar asociado a un aporte de energía libre procedente de una fuente como el ATP, un gradiente electroquímico o la luz.

transporte inverso del colesterol Proceso mediante el cual, las lipoproteínas de alta densidad recogen el colesterol liberado en el plasma por las células que se están muriendo y por las membranas en proceso de reciclaje y lo transportan hacia el hígado.

triacilglicerol Glicerol con una cadena de ácido graso esterificada a cada uno de sus grupos hidroxilo; forma de almacenamiento de las grasas. También se denomina grasa neutra o triglicérido.

tríada catalítica Constelación de tres residuos, presentes en muchas enzimas proteolíticas, en la que dos de los residuos convierten al otro, que normalmente es un residuo de serina o de cisteína, en un potente nucleófilo.

tripsina Enzima pancreática que digiere las proteínas de la dieta y activa la mayoría de los zimógenos pancreáticos.

tripsinógeno Zimógeno pancreático que es el precursor de la tripsina.

unidad de la bioquímica Uniformidad de los organismos a nivel molecular.

unión de Holliday Estructura en forma de aspa, formada por cuatro cadenas de polinucleótido, que es un intermediario clave del proceso de recombinación.

uracilo (U) Una base del RNA.

uridina difosfato glucosa (UDP-glucosa) Forma activada de la glucosa. Por ejemplo, la UDP-glucosa se utiliza durante la síntesis de glucógeno; se forma a partir de glucosa 1-fosfato y UTP.

vector de expresión Vector de clonación que permite la traducción del DNA insertado. Estos vectores no solo maximizan la transcripción mediante la utilización de un potente promotor, sino que también contienen un segmento de DNA que codifica un lugar de unión al ribosoma en el mRNA que se transcribe a partir del cDNA insertado. De este modo, las moléculas de cDNA insertadas en estos vectores se transcriben y también se traducen.

vector Pequeña molécula de DNA que se puede replicar de manera autónoma en un organismo adecuado. En la tecnología del DNA recombinante, los vectores, como, por ejemplo, los plásmidos o el fago λ, se utilizan para replicar el DNA foráneo que llevan insertado.

vitamina Sustancia orgánica necesaria, en cantidades muy pequeñas, para una serie de reacciones bioquímicas esenciales.

zimógeno Precursor de una enzima sin actividad catalítica. También se denomina proenzima.

zwitterión Ion dipolar.

Soluciones a los problemas

Capítulo 1

1. La frase hace referencia al hecho de que todos los organismos son extraordinariamente similares a nivel bioquímico, lo que sugiere que, en la Tierra, todos los organismos descienden de un ancestro común.
2. El DNA tiene dos hebras y su azúcar es la desoxirribosa. El DNA contiene la base timina. Normalmente, el RNA tiene una única hebra y su azúcar es la ribosa. El RNA contiene uracilo en lugar de timina.
3. Las proteínas son polímeros lineales formados por 20 aminoácidos distintos. El glucógeno es un polímero ramificado formado exclusivamente por glucosa.
4. El dogma central describe el flujo de información en los sistemas biológicos. El DNA se replica para formar nuevo DNA, que se transcribe en RNA. El RNA se traduce a proteína.
5. La replicación es la generación de dos dobles hélices hijas a partir de una única doble hélice parental. El proceso está catalizado por la DNA polimerasa. La transcripción es el proceso de copiar la información del DNA en RNA y está catalizada por la RNA polimerasa. La traducción convierte la información de una secuencia de RNA en proteínas y tiene lugar en los ribosomas.
6. Normalmente, una enzima es un catalizador de naturaleza proteica, aunque algunos tipos de RNA también funcionan como catalizadores. Los catalizadores incrementan la velocidad de una reacción química sin que ellos mismos se alteren de forma permanente.
7. Las células eucarióticas contienen un núcleo y una serie de estructuras internas rodeadas de membrana denominados orgánulos. Las células procarióticas no poseen núcleo y carecen de la compleja organización interna de las células eucarióticas.
8. Un orgánulo puede ser cualquiera de las diversas estructuras rodeadas de membrana presentes en el interior de las células eucarióticas.
9. Mitocondrias, cloroplastos y núcleos.
10. La membrana nuclear no es continua. Es un conjunto de membranas cerradas que confluyen en los poros.
11. El gen se transcribe en RNA, que se traduce a proteína en los ribosomas unidos al retículo endoplasmático. La proteína accede al *lumen* del retículo endoplasmático, queda retenida en el interior de las vesículas de transporte y se traslada al aparato de Golgi, donde se modifica. La proteína se almacena en vesículas de secreción que se fusionan con la membrana plasmática, dando lugar a la exocitosis de la proteína.
12. (a) 9; (b) 12; (c) 5; (d) 10; (e) 11; (f) 8; (g) 4; (h) 7; (i) 2; (j) 6; (k) 1; (l) 3.

Capítulo 2

1. El movimiento browniano es el movimiento aleatorio de moléculas en un gas o en un fluido impulsado por la energía térmica del entorno.
2. El agua es polar porque los átomos de hidrógeno presentan una carga parcial positiva, mientras que el átomo de oxígeno presenta una carga parcial negativa debido a la naturaleza electronegativa del átomo de oxígeno. Sin embargo, la carga total de la molécula es cero; es decir, las cargas positivas igualan a las cargas negativas.
3. Muchos enlaces débiles dan lugar a interacciones muy específicas, aunque de carácter transitorio.
4. Los enlaces iónicos, los puentes de hidrógeno y las interacciones de van der Waals. El agua deshace los enlaces iónicos y los puentes de hidrógeno. Como las interacciones de van der Waals son las más frecuentes entre grupos hidrofóbicos, se puede afirmar que el agua intensifica estos enlaces al facilitar su formación gracias al efecto hidrofóbico.
5. Una disminución de la temperatura reduciría la movilidad de las moléculas de agua y permitiría la formación de más puentes de hidrógeno y, de hecho, esto es lo que sucede: en el hielo, cada molécula de agua está formando puentes de hidrógeno con, aproximadamente, otras 3,7 moléculas de agua. Cuando se calienta el agua ocurre lo contrario y habría que esperar que se formen menos puentes de hidrógeno. A 100 °C, una molécula de agua está formando puentes de hidrógeno con otras 3,2 moléculas de agua.
6. Las interacciones electrostáticas serían más fuertes en un disolvente orgánico que en un disolvente polar porque el disolvente orgánico no competiría con los grupos que establecen interacciones electrostáticas.
7. Un átomo electronegativo es uno que tiene una elevada afinidad hacia los electrones. En consecuencia, cuando está unido a un átomo de hidrógeno, el átomo electronegativo adquiere una carga parcial negativa y el átomo de hidrógeno adquiere una carga parcial positiva. Esta polaridad permite la formación de puentes de hidrógeno.
8. El efecto hidrofóbico es la tendencia de las moléculas no polares a interaccionar entre sí en presencia de agua. La interacción está impulsada por el incremento de la entropía de las moléculas de agua que se produce cuando las moléculas no polares se apartan del entorno acuoso.
9. La segunda ley de la Termodinámica establece que, en un proceso espontáneo, la entropía de un sistema y de su entorno siempre aumenta. Cuando se confinan moléculas hidrofóbicas en entornos de los que el agua queda excluida, la entropía del agua aumenta. Este confinamiento, denominado efecto hidrofóbico, también da lugar a la formación de estructuras bioquímicas.
10. 10^{-9} M
11. 10^{-12} M
12. La ecuación de Henderson-Hasselbalch es $pH = pK_a + \log [A^-]/[HA]$. Si $[A^-] = [HA]$, la ecuación se reduce a $pH = pK_a + \log 1$. Pero el $\log 1 = 0$. Por tanto, en las condiciones establecidas $pH = pK_a$.
13. Cuanto menor sea el pK_a, mayor será la K_a. Cuanto mayor sea la K_a, más fuerte será el ácido.
14. 6,48
15. 7,8
16. 100
17.

Acetato inicial (M)	HCl inicial (M)	pH
0,1	0,0025	6,3
0,1	0,005	6,0
0,1	0,01	5,7
0,1	0,05	4,8
0,01	0,0025	5,2
0,01	0,005	4,8
0,01	0,01	3,4
0,01	0,05	1,4

18. Ion acetato = 0,128 M; ácido acético = 0,072 M.

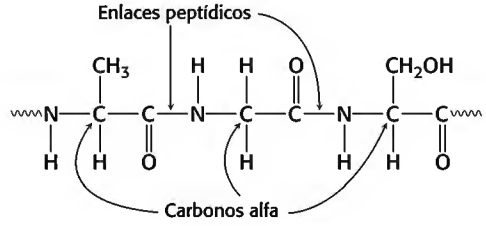
Capítulo 3

1. ELVISISLIVINGINLASVEGAS
2. A: Prolina, Pro, P; B: tirosina, Tyr, Y; C: leucina, Leu, L; D: lisina, Lys, K.
3. (a) C, A; (b) D; (c) B, D; (d) B, D; (e) B.
4. (a) 6; (b) 2; (c) 3; (d) 1; (e) 4; (f) 5.
5. (a) Ala; (b) Tyr; (c) Ser; (d) His.
6. pH 7: no hay carga neta. pH 12: −1.
7. Calcule el pI tomando la media de los dos pK_a. Así, pI ($pK_a^{\text{ácido}} + pK_a^{\text{amino}}$)/2 = (2,72 + 9,60)/2 = 6,16.
8. Arginina, lisina e histidina.

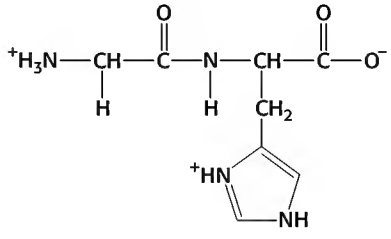
9. En el organismo, los aminoácidos no esenciales se pueden sintetizar a partir de otras moléculas. Los aminoácidos esenciales no y, por tanto, tienen que ser ingeridos en la dieta.
10. Fenilalanina, tirosina y triptófano.
11. Las cadenas laterales del aspartato, glutamato, histidina, cisteína, tirosina, lisina y arginina.
12. Tirosina.
13. Ser, Glu, Tyr y Thr.
14. Utilizando la ecuación de Henderson-Hasselbalch (p. 28), encontramos que, a pH 7, el cociente entre alanina−COOH y alanina-$-COO^-$ es 10^{-4}. El cociente entre alanina$-NH_2$ y alanina$-NH_3^+$, determinado de la misma forma, es de 10^{-1}. Por lo tanto, el cociente entre la alanina neutra y la especie zwitteriónica es $10^{-4} \times 10^{-1} = 10^{-5}$.
15. Recuerde que el pK_a es el pH al cual la concentración de la forma no desionizada de una molécula es igual a la concentración de la forma ionizada. En la Figura 3.2, el grupo ácido carboxílico tuene un pK_a ligeramente superior a 2, mientras que los grupos amino tienen un pK_a de 9.

Capítulo 4

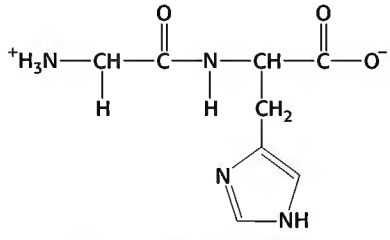
1. A pesar de que la reacción es favorable desde el punto de vista termodinámico, la barrera energética que hay que superar para pasar del estado polimerizado al estado hidrolizado es grande.
2. (a) Alanina-glicina-serina; (b) Alanina; (c y d):



3.

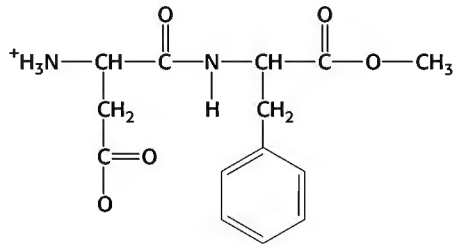


A pH 4,0, la carga neta es +1



A pH 7,5, la carga neta es 0

4. (a) TEPIVAPMEYGK; (b) −1 a pH 7; (c) −4 a pH 12.
5. Esta observación demuestra que los valores de pK_a se ven afectados por el entorno. Un aminoácido determinado puede presentar diversos valores de pK_a, dependiendo del entorno químico del interior de la proteína.
6. El enlace peptídico tiene un carácter parcial de doble enlace, lo que evita la rotación. Esta falta de rotación restringe la conformación del esqueleto peptídico y limita el número de estructuras posibles.
7. (a) 8; (b) 7; (c) 1; (d) 3; (e) 9; (f) 10, (g) 2; (h) 5; (i) 4; (j) 6.
8. Hay 20 opciones para cada uno de los 50 aminoácidos: 20^{50}, ó $1{,}13 \times 10^{65}$, un número muy grande.
9.



Aspartamo a pH 7

10. La unidad repetitiva (nitrógeno-carbono α-carbono carbonilo).
11. La cadena lateral es el grupo funcional unido al átomo de carbono α de un aminoácido.
12. La composición de aminoácidos hace referencia, sencillamente, a los aminoácidos que constituyen la proteína. No se especifica el orden. La secuencia de aminoácidos es lo mismo que la estructura primaria −la secuencia de aminoácidos desde el extremo amino hasta el extremo carboxilo de la proteína. Proteínas distintas pueden tener la misma composición de aminoácidos pero la secuencia de aminoácidos identifica a una única proteína.
13. La estructura primaria determina la estructura terciaria. Conocer la estructura primaria ayuda a esclarecer la función de la proteína. El conocimiento de la estructura primaria de proteínas mutadas permite comprender el fundamento bioquímico de algunas enfermedades. La estructura primaria puede poner de manifiesto la historia evolutiva de la proteína.
14. La hélice es una estructura compacta y enrollada, con grupos R que se proyectan desde el eje de la hélice hacia el exterior. La distancia entre dos aminoácidos adyacentes es de 1,5 Å. La hebra es una cadena polipeptídica completamente extendida y las cadenas laterales de aminoácidos adyacentes apuntan en direcciones opuestas. La distancia entre aminoácidos adyacentes es de 4,5 Å. Ambas estructuras se encuentran estabilizadas por medio de puentes de hidrógeno entre componentes del esqueleto polipeptídico.
15. Estructura primaria: enlace peptídico; estructura secundaria: puentes de hidrógeno locales entre componentes del esqueleto polipeptídico; estructura terciaria: diversos tipos de enlaces no covalentes entre grupos R que se encuentran muy alejados en la estructura primaria; estructura cuaternaria: diversos enlaces no covalentes entre grupos R situados en la superficie de las subunidades.
16. (a) 5; (b) 10; (c) 7; (d) 1; (e) 8; (f) 2; (g) 3; (h) 6; (i) 4; (j) 9.
17. No, el enlace Pro-X tendría las propiedades de cualquier otro enlace peptídico. El impedimento estérico en X-Pro surge porque el grupo R de la Pro está unido al grupo amino. Por tanto, en X-Pro, el grupo R de la prolina se encuentra cerca del grupo R de X, lo que no ocurriría en el caso de Pro-X.
18. El grupo metilo unido al átomo de carbono β de la isoleucina interfiere estéricamente con la formación de la hélice α. En la leucina, este grupo metilo está unido al átomo de carbono γ, que está más alejado de la cadena principal y, por tanto, no interfiere.
19. La primera mutación destruye la actividad porque la valina ocupa más espacio que la alanina y, por tanto, la proteína tiene que adoptar una forma distinta, suponiendo que este residuo esté situado en el interior, densamente empaquetado. La segunda mutación restablece la actividad gracias a una reducción de volumen que tiene un efecto compensatorio; la glicina es más pequeña que la isoleucina.
20. Los bucles se encuentran invariablemente en la superficie de las proteínas, expuestos al entorno. Como muchas proteínas se encuentran en entornos acuosos, los bucles expuestos son hidrofílicos y, por tanto, interaccionan con el agua.
21. (a) El calor aumentaría la energía térmica de la cadena. Los enlaces débiles que mantienen la cadena en su estructura tridimensional correcta no serían capaces de soportar la agitación del esqueleto y se perdería la estructura terciaria. A menudo, las cadenas desnaturalizadas interaccionan entre sí, formando grandes complejos que no pueden seguir en disolución y precipitan.

(b) Los detergentes desnaturalizarían las proteínas básicamente volviéndolas del revés. Los residuos hidrofóbicos del interior de la proteína interaccionarían con el detergente, mientras que los residuos hidrofílicos interaccionarían entre sí, no con el entorno.

(c) Todas las interacciones iónicas, incluyendo los puentes de hidrógeno, se desbaratarían, lo que daría lugar a la desnaturalización de la proteína.

22. De todos los aminoácidos, la glicina es el que tiene la cadena lateral más pequeña. Con frecuencia, su tamaño es crucial a la hora de permitir que las cadenas polipeptídicas den giros bruscos o que se acerquen mucho entre sí.

23. El glutamato, el aspartato y el carboxilato terminal pueden formar puentes salinos con el grupo guanidinio de la arginina. Además, este grupo puede ser un donador de puentes de hidrógeno para las cadenas laterales de la glutamina, asparagina, serina, treonina, aspartato, glutamato y tirosina y con el grupo carbonilo de la cadena principal. A pH 7, la histidina también puede formar puentes de hidrógeno con la arginina.

24. Los puentes disulfuro del cabello se rompen al añadir un reactivo que contenga grupos tiol y aplicar un poco de calor. El cabello se riza y se añade un agente oxidante para volver a formar los puentes disulfuro y estabilizar la forma deseada.

25. Algunas proteínas que atraviesan las membranas biológicas son "las excepciones que confirman la regla" porque presentan una distribución inversa de los aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos. Por ejemplo, consideremos las porinas, proteínas que se encuentran en las membranas externas de muchas bacterias. Las membranas están formadas, principalmente, por cadenas hidrofóbicas. Por lo tanto, la parte exterior de las porinas está recubierta, principalmente, por residuos hidrofóbicos que interaccionan con las cadenas hidrofóbicas vecinas. Por el contrario, el centro de la proteína contiene muchos aminoácidos cargados y polares que rodean un canal relleno de agua que atraviesa de lado a lado el centro de la proteína. Por lo tanto, como las porinas funcionan en entornos hidrofóbicos, se dice que están "del revés" en relación con las proteínas que funcionan en una disolución acuosa.

26. Los aminoácidos serán de naturaleza hidrofóbica. Una hélice α es especialmente apropiada para atravesar una membrana porque todos los átomos de hidrógeno de los grupos amida y todos los átomos de oxígeno de los grupos carbonilo del esqueleto peptídico intervienen en puentes de hidrógeno intracatenarios, de modo que estos átomos polares se estabilizan en un entorno hidrofóbico.

27. Recordemos que la hemoglobina es un tetrámero mientras que la mioglobina es un monómero. En consecuencia, es probable que los residuos hidrofóbicos de la superficie de las subunidades de la hemoglobina estén involucrados en interacciones de van der Waals con regiones similares de las otras subunidades y estén protegidos del entorno acuoso gracias a estas interacciones.

28. Una posible explicación es que la gravedad de los síntomas esté relacionada con el grado de deterioro estructural. Por lo tanto, la sustitución de la glicina por alanina podría dar lugar a síntomas leves, mientras que la sustitución por triptófano, mucho más grande, haría que se forme muy poco, o nada, de la triple hélice del colágeno.

29. El β-mercaptoetanol añadido catalizaba el reordenamiento de los emparejamientos disulfuro hasta regenerar la estructura nativa. Este proceso estaba impulsado por la disminución de energía libre que tiene lugar a medida que las conformaciones emparejadas de forma incorrecta se iban convirtiendo en la conformación nativa y estable de la enzima. Por tanto, los emparejamientos disulfuro nativos de la ribonucleasa contribuyen a estabilizar la estructura preferida desde el punto de vista termodinámico.

30. La conformación nativa de la insulina no es la forma más estable desde el punto de vista termodinámico, ya que contiene dos cadenas separadas unidas mediante puentes disulfuro. La insulina se forma a partir de la proinsulina, una única cadena precursora, que se escinde para formar la insulina, una molécula con 51 residuos, después de haberse formado los puentes disulfuro.

31. Un segmento de la cadena principal de la proteasa podría establecer puentes de hidrógeno con la cadena principal de la proteína diana para formar una pareja de hebras β paralelas o antiparalelas.

32. A medida que el tamaño de la proteína aumenta, la relación superficie-volumen disminuye. En consecuencia, la proporción entre aminoácidos hidrofílicos e hidrofóbicos también disminuye.

33. Cada hebra tiene 35 kDa y, por tanto, tiene aproximadamente 318 residuos (la masa promedio de los residuos es de 110 dalton). Como la longitud de la hélice α aumenta 1,5 Å con cada residuo, la longitud sería 477 Å. Más concretamente, en el caso de un helicoide enrollado, el aumento por residuo es de 1,46 Å y, por tanto, la longitud es de 464 Å.

34. La razón es que, en urea, se forman puentes disulfuro incorrectos. Hay 105 formas distintas de emparejar ocho moléculas de cisteína para formar cuatro puentes disulfuro; solo una de estas combinaciones es enzimáticamente activa. Los 104 emparejamientos incorrectos corresponden a lo que se ha denominado, de forma pintoresca, ribonucleasa "revuelta".

Capítulo 5

1. Un ensayo identifica la proteína deseada. La capacidad para identificar la proteína es importante a la hora de determinar si un paso concreto de la purificación es eficaz para separar la proteína del resto de materiales celulares.

2. (a) 10; (b) 1; (c) 6; (d) 9; (e) 2; (f) 8; (g) 5; (h) 7; (i) 3; (j) 4.

3. Si la concentración de sal es muy alta, los iones de la sal interaccionan con las moléculas de agua. En última instancia, no hay suficientes moléculas de agua para interaccionar con la proteína, y la proteína precipita.

4. Si en una disolución proteica no hay sal, las proteínas pueden interaccionar entre sí —las cargas positivas de una proteína con las cargas negativas de otra u otras. Este tipo de agregados se hace demasiado grande como para que se pueda solubilizar solo con agua. Si se añade sal, esta neutraliza las cargas de las proteínas, evitando interacciones proteína-proteína.

5. Los grupos R cargados y polares de la superficie de una enzima.

6. (a) La tripsina corta tras la arginina (R) y la lisina (K), generando AVGWR, VK y S. Como son de distinto tamaño, estos productos se podrían separar mediante cromatografía de exclusión molecular.
(b) La quimotripsina, que corta tras grupos R alifáticos grandes o aromáticos, genera dos péptidos de igual tamaño (AVGW) y (RVKS). Una separación basada en el tamaño no sería eficaz. El péptido RVSK tiene dos cargas positivas (R y K), mientras que el otro péptido es neutro. Por tanto, los dos productos se podrían separar mediante cromatografía de intercambio iónico.

7. La larga cola hidrofóbica de la molécula de SDS (p. 73) desbarata las interacciones hidrofóbicas del interior de la proteína. La proteína se despliega de modo que los grupos R hidrofóbicos interaccionan ahora con el SDS en lugar de interaccionar entre sí.

8. Podría ser que un inhibidor de la enzima que se está purificando haya estado presente y, posteriormente, durante uno de los pasos de la purificación, haya sido eliminado. Esta eliminación daría lugar a un incremento aparente en la cantidad total de enzima presente.

9.

Procedimiento de purificación	Proteína total (mg)	Actividad total (unidades)	Actividad específica (unidades mg^{-1})	Grado de purificación	Rendimiento (%)
Extracto crudo	20.000	4.000.000	200	1	100
Precipitación con $(NH_4)_2SO_4$	5.000	3.000.000	600	3	75
Cromatografía en DEAE-celulosa	1.500	1.000.000	667	3,3	25
Cromatografía de exclusión molecular	500	750.000	1.500	7,5	19
Cromatografía de afinidad	45	675.000	15.000	75	17

10. (a) Como se une una molécula de SDS por cada dos aminoácidos de la proteína, en principio, todas las proteínas tendrán la misma proporción

carga-masa. Por ejemplo, una proteína formada por 200 aminoácidos se unirá a 100 moléculas de SDS, mientras que una proteína formada por 400 aminoácidos se unirá a 200 moléculas de SDS. La masa media de un aminoácido es 110 y hay una carga negativa por cada molécula de SDS. Por tanto, la proporción carga-masa de ambas proteínas es la misma: 0,0045.

(b) El enunciado sería incorrecto si la proteína tiene muchos aminoácidos cargados.

(c) La proteína se puede modificar. Por ejemplo, la serina, treonina y tirosina podrían estar unidas a grupos fosforilo.

11. El receptor de estrógenos presenta una afinidad única y muy elevada hacia el estrógeno estradiol.
12. Los anticuerpos policlonales son un conjunto de anticuerpos que se unen a multitud de epítopos de un antígeno. Los anticuerpos monoclonales son un conjunto de anticuerpos que se unen a un único epítopo de un antígeno.
13. Si hay un anticuerpo para la proteína que nos interesa, el anticuerpo se puede unir a algún tipo de partícula esférica insoluble. Se añade el anticuerpo a una mezcla de proteínas que incluya aquella que nos interesa. Solo se unirá al anticuerpo la proteína que nos interesa. Se centrifuga la muestra y se descarta el sobrenadante. A continuación, se separa la proteína que nos interesa del anticuerpo, a menudo mediante la adición de un agente que desnaturaliza las proteínas.
14. Un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas. La técnica ELISA se utiliza para cuantificar la presencia de un antígeno utilizando una enzima unida a un anticuerpo contra el antígeno.
15. La transferencia western es una técnica inmunológica que se utiliza para detectar una proteína concreta en una célula o en un fluido corporal. Se somete una muestra a electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS. Las proteínas separadas se transfieren (*blotting*) a una lámina de polímero y, posteriormente, se incuba la muestra transferida con un antígeno específico para la proteína que nos interesa. Después, para visualizar el complejo antígeno-anticuerpo que nos interesa, se pueden utilizar otros anticuerpos unidos a enzimas.
16. No olvide que no estamos secuenciando una única molécula, sino una población muy grande de moléculas idénticas, y que la reacción de escisión no es eficaz al 100%. En consecuencia, tras muchas repeticiones (alrededor de 50), muchos péptidos distintos estarán liberando distintos aminoácidos al mismo tiempo. Para ilustrar este hecho, suponga que la eficacia de cada paso de la secuenciación es del 98%. La proporción de aminoácidos correctos que se liberan tras 50 ciclos es $0{,}98^{50}$, es decir, 0,4 —una mezcla irremediablemente impura.
17. El tratamiento con urea rompe los enlaces no covalentes. Por tanto, la proteína original de 60 kDa debe estar formada por dos subunidades de 30 kDa. Cuando se tratan estas subunidades con urea y β-mercaptoetanol, se obtiene una única especie de 15 kDa, lo que sugiere que las subunidades de 30 kDa están unidas mediante puentes disulfuro.
18. Extremo amino: A

Digestión con tripsina: Corta en R (arginina). Solo se generan dos péptidos. Por lo tanto, una R tiene que ser un aminoácido interno y la otra tiene que ser el aminoácido del extremo carboxilo. Como el extremo amino es A, la secuencia de uno de los péptidos es AVR.

Digestión con carboxipeptidasa: No hay digestión, lo que confirma que la R es el aminoácido del extremo carboxilo.

Digestión con quimotripsina: Solo corta en Y. Combinando esta información con la anterior, la digestión con quimotripsina nos indica que las secuencias de los dos péptidos son AVRY y SR.

Por tanto, el péptido completo es AVRYSR.

19. El primer aminoácido es S.

El último aminoácido es L.

Ruptura con bromuro de cianógeno: M está en la décima posición, los residuos de los extremos carboxilo son: (2S, L, W)

Residuos de los extremos amino: (G, K, S, Y), el péptido tríptico termina en K

Secuencia amino-terminal: SYGK

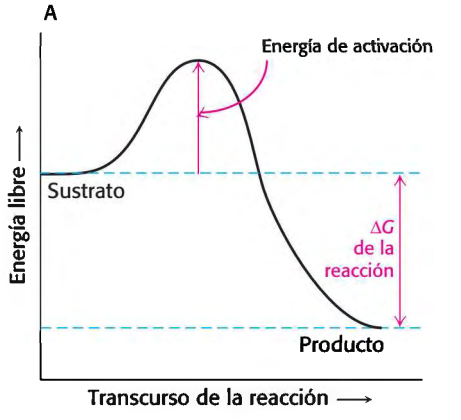
Orden de los péptidos quimotrípticos: (S, Y), (G, K, L), (F, I, S), (M, T), (S, W), (S, L)

Secuencia: SYGKLSIFTMSWSL

20. La muestra se diluyó 1.000 veces. Por tanto, la concentración tras la diálisis es 0,001 M, es decir, 1 mM. Se podría reducir la concentración de sal dializando la muestra, que ahora es 1 mM, en más tampón libre de $(NH_4)SO_4$.

Capítulo 6

1. El incremento de la velocidad y la especificidad hacia el sustrato.
2. El centro activo es una grieta o hendidura tridimensional; representa tan solo una pequeña parte del volumen total de la enzima. Los centros activos presentan microentornos únicos. Un sustrato se une al centro activo por medio de múltiples interacciones débiles. La especificidad del centro activo depende de la estructura tridimensional concreta del centro activo.
3. Un cofactor.
4. Coenzimas y metales.
5. Las vitaminas se convierten en coenzimas.
6. Las enzimas facilitan la formación del estado de transición.
7. La compleja estructura tridimensional de las proteínas permite la construcción de centros activos capaces de reconocer determinados sustratos.
8. La energía de unión es la energía libre que se libera cuando se unen dos moléculas, como cuando interaccionan una enzima y un sustrato.
9. La energía de unión es máxima cuando una enzima interacciona con el estado de transición, lo que facilita la formación del estado de transición e incrementa la velocidad de la reacción.
10. No habría actividad catalítica. Si el complejo enzima-sustrato fuese más estable que el complejo enzima-estado de transición, no se formaría el estado de transición y no tendría lugar la catálisis.
11. (a) 4; (b) 7; (c) 8; (d) 3; (e) 9; (f) 10; (g) 5; (h) 1; (i) 2; (j) 6.
12. La energía necesaria para alcanzar el estado de transición (la energía de activación) se recupera cuando el estado de transición se convierte en producto.
13. En el gráfico A, el producto es más estable que el sustrato; por tanto, ΔG es negativo y la reacción es exergónica. En el gráfico B, el producto tiene más energía que el sustrato; ΔG es positivo, lo que significa que la reacción es endergónica.



14. La hidrólisis de proteínas tiene una energía de activación elevada. Para que haya síntesis de proteínas se necesita energía.
15. La lisozima ayuda a proteger el fluido que rodea los ojos de las infecciones bacterianas.
16. Los estados de transición son muy inestables. En consecuencia, es probable que las moléculas que se parecen a los estados de transición sean, por sí mismas, inestables y, por lo tanto, difíciles de sintetizar.
17. (a) 0; (b) 28,53; (c) −22,84; (d) −11,42; (e) 5,69.
18. $K_{eq} = 19$, $\Delta G^{\circ\prime} = -7{,}41$ kJ mol^{-1} ($-1{,}77$ kcal mol^{-1}).
19. Esta reacción tiene lugar en la glucólisis (Capítulo 16). En el equilibrio, la proporción entre GAP y DHAP es 0,0475 a 25 °C (298 K) y pH 7. Por lo tanto, $K'_{eq} = 0{,}0475$. A continuación, el incremento en la energía libre estándar para esta reacción se puede calcular a partir de la ecuación 5:

$$\begin{aligned}\Delta G^{\circ\prime} &= -RT \ln K'_{eq}\\ &= -8{,}315 \times 10^{-3} \times 298 \times \ln (0{,}0475)\\ &= +7{,}53 \text{ kJ mol}^{-1} (+1{,}80 \text{ kcal mol}^{-1})\end{aligned}$$

En estas condiciones, la reacción es endergónica. La DHAP no se convertirá espontáneamente en GAP.

Introduciendo estos valores en la ecuación 1, se obtiene

$$\begin{aligned}\Delta G &= 7{,}53 \text{ kJ mol}^{-1} + RT \ln (3 \times 10^{-6} \text{ M} / 2 \times 10^{-4} \text{ M})\\ &= 7{,}53 \text{ kJ mol}^{-1} - 10{,}42 \text{ kJ mol}^{-1}\\ &= -2{,}89 \text{ kJ mol}^{-1} (-0{,}69 \text{ kcal mol}^{-1})\end{aligned}$$

Este valor negativo para el ΔG indica que la isomerización de DHAP a GAP es exergónica y puede tener lugar de forma espontánea cuando estas especies se encuentran a las concentraciones indicadas anteriormente. Hay que tener en cuenta que el ΔG para esta reacción es negativo, a pesar de que el $\Delta G^{\circ\prime}$ es positivo.
20. La mutación ralentiza la reacción por un factor 100 porque la energía libre de activación aumenta en 11,4 kJ mol^{-1} (2,73 kcal mol^{-1}). Una unión fuerte del sustrato en relación con la del estado de transición ralentiza la catálisis.
21. (a) La incubación de la enzima a 37 °C provoca la desnaturalización de la estructura de la enzima y una pérdida de actividad. Por esta razón, la mayoría de las enzimas tienen que mantenerse en frío cuando no están catalizando activamente sus reacciones.

(b) Aparentemente, la coenzima ayuda a estabilizar la estructura de la enzima porque la enzima de las células deficientes en PLP se desnaturaliza con más rapidez. A menudo, los cofactores ayudan a estabilizar la estructura de la enzima.
22 (a)

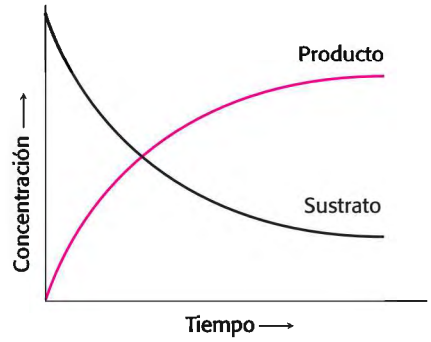
$$\begin{aligned}\Delta G^{\circ\prime} &= -RT \ln K'_{eq}\\ +1{,}8 &= -(1{,}98 \times 10^{-3} \text{ K}^{-1} \text{ grado}^{-1} \text{ mol}^{-1})\\ &\quad (298) (\ln [\text{G1P}]/[\text{G6P}])\\ -3{,}05 &= \ln [\text{G1P}]/[\text{G6P}]\\ +3{,}05 &= \ln [\text{G6P}]/[\text{G1P}]\\ K'^{-1}_{eq} &= 21 \text{ ó } K'_{eq} = 4{,}8 \times 10^{-2}\end{aligned}$$

Como [G6P]/[G1P] = 21, hay 1 molécula de G1P por cada 21 moléculas de G6P. Como comenzamos con 0,1M, la [G1P] es 1/22 (0,1M) = 0,0045 M y la [G6P] tiene que ser 21/22(0,1M), es decir, 0,096 M. La reacción no se produce de forma significativa en el sentido en que se ha escrito.

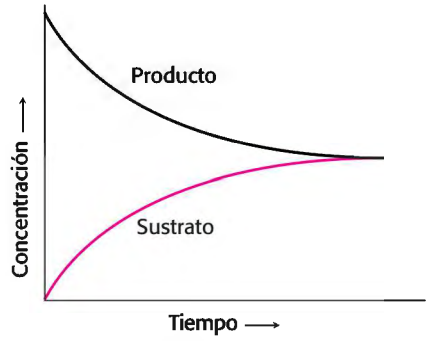
(b) Suministrando G6P a gran velocidad y eliminando G1P a gran velocidad por medio de otras reacciones. En otras palabras, hay que asegurarse de que el cociente [G6P]/[G1P] se mantenga elevado.
23. A pH 7 los posibles donadores de puentes de hidrógeno son las cadenas laterales de los siguientes residuos: arginina, asparagina, glutamina, histidina, lisina, serina, treonina, triptófano y tirosina.

Capítulo 7

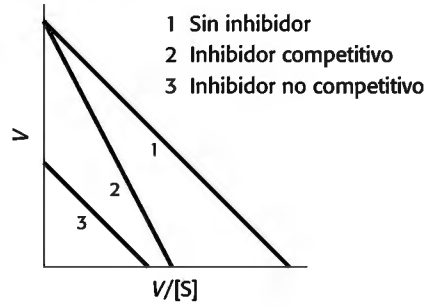
1. Una constante de velocidad de primer orden es una constante de proporcionalidad para reacciones en las que solo hay un reactante; relaciona la velocidad de una reacción con la concentración del único reactante. Las unidades de las constantes de velocidad de primer orden son s^{-1}. Una constante de velocidad de segundo orden es una constante de proporcionalidad para reacciones en las que hay dos reactantes; relaciona la velocidad de una reacción con la concentración de ambos reactantes. Las unidades de las constantes de velocidad de segundo orden son M^{-1} s^{-1}.
2. Una reacción de segundo orden que parece una de primer orden. Si la concentración de un reactante es mucho mayor que la del segundo reactante, la velocidad parecerá de primer orden en relación con el reactante que está presente a menor concentración.
3. (a)



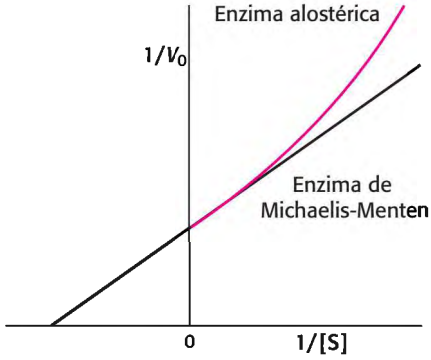
(b)



4. A concentraciones de sustrato próximas a la K_M, la enzima muestra una catálisis significativa y, sin embargo, es sensible a los cambios en la concentración de sustrato.
5. Las reacciones secuenciales se caracterizan por la formación de un complejo ternario formado por la enzima y los dos sustratos. Las reacciones de doble desplazamiento siempre requieren la formación de un intermediario enzimático sustituido transitorio.
6. No, la K_M no equivale a la constante de disociación, porque el numerador también incluye k_2, la constante de velocidad para la conversión del complejo enzima-sustrato en enzima y producto. Sin embargo, si k_2 fuese mucho menor que k_{-1}, entonces $K_M \approx K_D$.
7. (a) Sí, $K_M = 5{,}2 \times 10^{-6}$ M; (b) $V_{máx} = 6{,}8 \times 10^{-10}$ mol minuto^{-1}; (c) 337 s^{-1}.
8. (a) 31,3 μmol; (b) 0,05 μmol; (c) 622 s^{-1}, que es un valor situado en la mitad del intervalo para las enzimas (ver la Tabla 6.2).
9. (a) $V = V_{máx} - (V/[S])\, K_M$; (b) Pendiente = $-K_M$, ordenada en el origen = $V_{máx}$, abscisa en el origen = $V_{máx}/K_M$.



10. 1,1 μmol minuto^{-1}.
11. (a) 7; (b) 4; (c) 5; (d) 1; (e) 8; (f) 2; (g) 9; (h) 6; (i) 10; (j) 3.
12.



13.

$$V_0 = \frac{V_{máx}[S]}{K_M + [S]} \qquad \frac{V_0}{V_{máx}} = \frac{[S]}{K_M + [S]}$$

Cuando [S] = 10 K_M, $V_0/V_{máx}$ = 0,91 y, cuando [S] = 20 K_M, $V_0/V_{máx}$ = 0,95. Por tanto, cualquier curva de Michaelis-Menten que muestre que la enzima alcanza la $V_{máx}$ es una gráfica engañosa.
14. La inhibición de una enzima alostérica por el producto final de la ruta controlada por la enzima. Cuando no se necesita el producto, la retroinhibición evita la producción de demasiado producto final y el consumo de sustratos.
15. La enzima mostraría una sencilla cinética de Michaelis-Menten, básicamente porque siempre se encuentra en el estado R.
16. Los efectores homotrópicos son los sustratos de las enzimas alostéricas. Los efectores heterotrópicos son los reguladores de las enzimas alostéricas. Los efectores homotrópicos son responsables de la naturaleza sigmoidal de las gráficas de velocidad frente a concentración de sustrato, mientras que los efectores heterotrópicos alteran el punto medio, la K_M, de la curva. En última instancia, ambos tipos de efectores actúan alterando la proporción T/R.
17. La reconstitución muestra que, en última instancia, la compleja estructura cuaternaria y las propiedades catalíticas y reguladoras que resultan están codificadas en la estructura primaria de los componentes individuales.
18. El modelo secuencial explica la cooperatividad negativa con mayor facilidad que el modelo concertado.
19. (a) La K_M es una medida de la afinidad *solo* si k_2 es la que limita la velocidad, que es lo que ocurre en este caso. Por lo tanto, la menor K_M indica una mayor afinidad. La enzima mutante tiene mayor afinidad.

(b) 50 μmol minuto^{-1}. La K_M es 10 mM y, a esta concentración, la V es la mitad de la $V_{máx}$. Por tanto, la $V_{máx}$ es 100 μmol minuto^{-1}.

(c) Las enzimas no alteran el equilibrio de la reacción.
20. La enzima 2. A pesar del hecho de que la enzima 1 tiene una $V_{máx}$ mayor que la enzima 2, la enzima 2 muestra mayor actividad a la concentración de sustrato en el entorno, ya que la K_M de la enzima 2 para el sustrato es menor.
21. Si aumenta la cantidad de enzima total, $[E]_T$, aumentará la $V_{máx}$ porque $V_{máx} = k_2\,[E]_T$. Pero $K_M = (k_{-1} + k_2)/\,k_1$; es decir, es independiente de la concentración de sustrato. El gráfico del medio describe esta situación.
22. El primer paso será el paso limitante de la velocidad. Las enzimas E_B y E_C están operando a 1/2 $V_{máx}$, mientras que la K_M para la enzima E_A es mayor que la concentración del sustrato. La E_A estará operando, aproximadamente, a 10^{-2} $V_{máx}$.
23. (a) La forma más eficaz de medir la eficiencia de cualquier complejo enzima-sustrato consiste en determinar los valores de k_{cat}/K_M. Para los tres sustratos en cuestión, los valores respectivos de k_{cat}/K_M son: 6, 15 y 36. Por lo tanto, la enzima muestra una clara preferencia por la escisión de enlaces peptídicos en los que el segundo aminoácido sea un aminoácido hidrofóbico grande.

(b) La k_{cat}/K_M para este sustrato es 2. No es muy eficaz. Este valor sugiere que la enzima prefiere escindir enlaces peptídicos con la siguiente especificidad:

grupo R pequeño-grupo R hidrofóbico grande

24. Las velocidades de utilización de los sustratos A y B vienen dadas por

$$V_A = \left(\frac{k_2}{K_M}\right)_A [E][A]$$

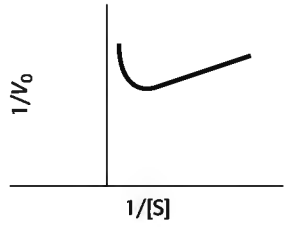
y

$$V_B = \left(\frac{k_2}{K_M}\right)_B [E][B]$$

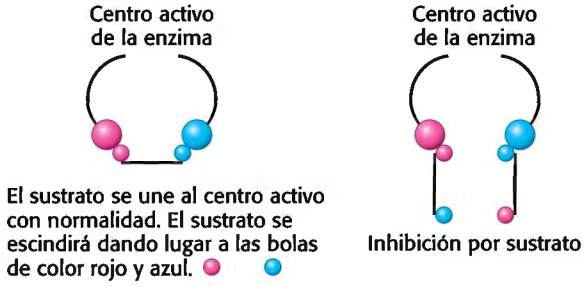
por tanto, el cociente entre ambas velocidades es

$$V_A/V_B = \left(\frac{k_2}{K_M}\right)_A [A]/\left(\frac{k_2}{K_M}\right)_B [B]$$

Por tanto, una enzima discrimina entre los sustratos que compiten basándose en sus valores k_2/K_M en vez de hacerlo únicamente en función de K_M.
25. La espectroscopia de fluorescencia pone de manifiesto la existencia de un complejo enzima-serina y de un complejo enzima-serina-indol.
26. (a)



(b) Este comportamiento es una inhibición por sustrato: a concentraciones elevadas, el sustrato forma complejos improductivos en el centro activo. El dibujo adjunto muestra lo que podría ocurrir. Normalmente, el sustrato se une con una orientación definida, que en el dibujo se indica mediante la asociación de rojo con rojo y de azul con azul. A concentraciones elevadas, el sustrato se puede unir al centro activo de modo que la orientación adecuada solo se produce en uno de los extremos de la molécula, ya que se están uniendo dos moléculas de sustrato.



27. La unión de PALA cambia la ATCasa del estado T al estado R porque PALA actúa como un análogo del sustrato. Una molécula de enzima que se encuentre unida a PALA posee menos centros catalíticos libres que una molécula de enzima desocupada. Sin embargo, la enzima que esté unida a PALA estará en el estado R y, por tanto, tendrá mayor afinidad hacia los sustratos. La dependencia del grado de activación en función de la concentración de PALA es una función compleja de la constante alostérica, L_0, y de las afinidades de unión de los estados R y T para los análogos y para los sustratos.
28. El modelo secuencial sencillo predice que la fracción de las cadenas catalíticas en el estado R, f_R, es igual a la fracción que está unida al sustrato, Y. Por el contrario, el modelo concertado predice que, a medida que la concentración de sustrato aumenta, la f_R aumenta con más rapidez que Y. Al añadir el sustrato, el cambio en f_R da lugar al cambio en Y, tal y como predice el modelo concertado.

29. La unión de succinato a los centros catalíticos funcionales del trímero catalítico nativo cambió el espectro de absorción visible de los residuos de nitrotirosina del *otro* trímero modificado de la enzima híbrida. Por lo tanto, la unión del análogo del sustrato a los centros activos de un trímero alteró la estructura del otro trímero.
30. Según el modelo concertado, un activador alostérico desplaza el equilibrio conformacional de todas las subunidades hacia el estado R, mientras que un inhibidor alostérico lo desplaza hacia el estado T. Por tanto, el ATP (un activador alostérico) desplazó el equilibrio hacia la forma R, lo que dio lugar a un cambio en la absorción similar al que se obtiene cuando se une el sustrato. El CTP provocó un efecto diferente. En este caso, este inhibidor alostérico desplazó el equilibrio hacia la forma T. Por lo tanto, el modelo concertado explica las interacciones alostéricas de la ATCasa inducidas por el ATP y por el CTP (heterotrópicas), así como la inducida por el sustrato (homotrópica).

Capítulo 8

1. Catálisis covalente; catálisis general ácido-base; catálisis por medio de iones metálicos; catálisis por aproximación y orientación.
2. La estructura tridimensional de una enzima está estabilizada por medio de interacciones con el sustrato, con los intermediarios de la reacción y con los productos. Esta estabilización minimiza la desnaturalización térmica.
3. (a) Esta información es necesaria para determinar la dosis correcta de succinilcolina que hay que administrar.

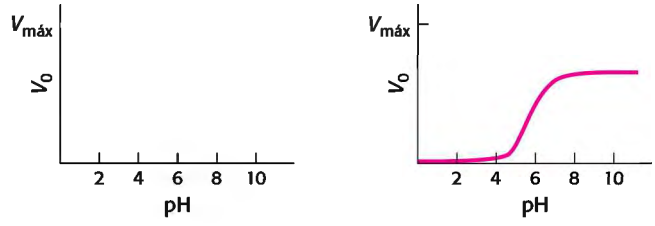
(b) La duración de la parálisis depende de la capacidad de la colinesterasa de la sangre para eliminar el fármaco. Si la actividad enzimática fuese una octava parte de lo normal, la parálisis podría durar ocho veces más, lo que no es conveniente por varias razones. En primer lugar, el respirador se podría estropear por tener que utilizarlo más tiempo, lo que no sería bueno para el paciente que lo esté usando; en segundo lugar, los doctores podrían perderse su partido de golf.

(c) La K_M es la concentración necesaria para que la enzima alcance la mitad de la $V_{máx}$. En consecuencia, para una concentración de sustrato dada, la reacción catalizada por la enzima con menor K_M se producirá a mayor velocidad. El paciente mutante con una mayor K_M eliminará el fármaco a una velocidad mucho menor. Las consecuencias están descritas en el apartado *b*.
4. Si se sospecha que la cadena lateral de un aminoácido concreto interviene en el mecanismo catalítico, la modificación covalente de ese residuo por medio de un reactivo específico de grupo lo alterará lo suficiente como para alterar o inhibir la actividad de la enzima.
5. Inhibición competitiva: 2, 3, 9: incompetitiva: 4, 5, 6; no competitiva: 1, 7, 8.
6. (a) En ausencia de inhibidor, $V_{máx}$ es 47,6 μmol minuto^{-1} y la K_M es 1,1 × 10^{-5} M. En presencia de inhibidor, $V_{máx}$ es la misma y la K_M aparente es 3,1 × 10^{-5} M.

(b) Competitiva.
7. (a) $V_{máx}$ es 9,5 μmol minuto^{-1}. K_M es 1,1 × 10^{-5} M, la misma que en ausencia de inhibidor.

(b) No competitiva.
8. Inhibidores específicos de grupo; marcadores de afinidad; inhibidores suicidas; análogos del estado de transición.
9. El anillo lactámico de la penicilina reacciona con un residuo de serina de la glicopéptido transpeptidasa, una enzima que estabiliza la pared celular bacteriana. Si se destruyese el anillo lactámico, la penicilina no sería eficaz. De hecho, la presencia de la β-lactamasa confiere resistencia a la penicilina.
10. La tríada catalítica, formada por los aminoácidos serina 195, histidina 57 y aspartato 102, se encuentra en el centro activo de la quimotripsina. Los residuos de histidina sirven para colocar la cadena lateral de la serina en la posición correcta y para polarizar su grupo hidroxilo de forma que no le quede más remedio que desprotonarse. En presencia del sustrato, la histidina 57 acepta el protón del grupo hidroxilo de la serina 195. La pérdida del protón del grupo hidroxilo genera un ion alcóxido, que es un nucleófilo mucho más potente que un grupo hidroxilo. El residuo de aspartato ayuda a orientar el residuo de histidina y a convertirlo en un mejor aceptor de protones por medio de puentes de hidrógeno y de efectos electrostáticos.
11. La cavidad del oxianión es una estructura del centro activo de la quimotripsina que estabiliza el intermediario tetraédrico durante la reacción de proteolisis y facilita la formación del intermediario acil-enzima.
12. La quimotripsina escinde los enlaces peptídicos en una reacción de dos pasos, en la que el primer paso, la formación de un intermediario acil-enzima, es más rápido que el segundo paso, la hidrólisis.
13. La quimotripsina reconoce grupos hidrofóbicos grandes que, normalmente, se encuentran recluidos en el núcleo interno de la enzima gracias al efecto hidrofóbico.
14. (a) Cuando la [S^+] es mucho mayor que el valor de K_M, el pH tendrá un efecto insignificante sobre la enzima, porque S^+ interaccionará con E^- tan pronto como la enzima esté disponible (gráfico de la izquierda).

(b) Cuando la [S^+] es mucho menor que el valor de K_M, la gráfica de V_0 en función del pH se convierte básicamente en una curva de valoración de los grupos ionizables, en la que la actividad de la enzima es el indicador para la valoración. A pH bajo, la alta concentración de H^+ mantendrá la enzima en la forma EH, inactiva. A medida que aumente el pH, habrá cada vez más enzimas en la forma E^-, activa. A pH alto (baja [H^+]), todas las enzimas estarán en forma E^- (gráfica de la derecha).
(c) El punto medio de esta curva será el pK_a del grupo ionizable que, según el enunciado del problema, es 6.



15. La carga negativa del ácido aspártico ayuda a orientar la histidina 57 para que actúe como un catalizador básico general que ayuda a la formación de un ion alcóxido reactivo en la serina. La asparagina, que no tiene carga, sería menos efectiva a la hora de orientar la histidina 57. De hecho, la quimotripsina que presenta esta mutación tiene una actividad 10.000 veces menor que la de la enzima salvaje.
16. La formación del intermediario acil-enzima es más lenta que la hidrólisis de este sustrato amida y, por tanto, no se observa el estallido de actividad. En el caso de los sustratos éster, la formación del intermediario acil-enzima es más rápida.
17. (a) Tosil-L-lisina clorometilcetona (TLCK). (b) Determinando si los sustratos protegen a la tripsina de la desactivación. Averiguando si el isómero D de la TLCK es un inhibidor eficaz.

Capítulo 9

1. (a) 6; (b) 10; (c) 5; (d) 7; (e) 9; (f) 3; (g) 4; (h) 2; (i) 1; (j) 8.
2. (a) 2,96 × 10^{-11} g.

(b) 2,71 × 10^8 moléculas.

(c) No. Si estuviesen empaquetadas en forma de un cristal cúbico habría 3,22 × 10^8 moléculas en un glóbulo rojo. Por tanto, la densidad de empaquetamiento real es, aproximadamente, el 84% del máximo posible.
3. 2,65 g (4,75 × 10^{-2} moles) de Fe.
4. (a) En los seres humanos, 1,44 × 10^{-2} g (4,49 × 10^{-4} moles) de O_2 por kilogramo de músculo. En el cachalote, 0,144 g (4,49 × 10^{-3} moles) de O_2 por kilogramo.

(b) 128.
5. La cooperatividad permite a la hemoglobina saturarse en los pulmones, donde la presión parcial de oxígeno es elevada. Cuando la hemoglobina se desplaza a los tejidos, la menor presión parcial de oxígeno la induce a liberar el oxígeno y, por tanto, a entregar el oxígeno allí

donde se necesita. De este modo, la liberación cooperativa favorece una descarga más completa de oxígeno en los tejidos.

6. La desoxihemoglobina está en el estado T. La presencia de oxígeno desplaza el equilibrio R $\rightleftharpoons$ T a favor del estado R. Los cambios estructurales son lo suficientemente significativos como para hacer que el cristal se descomponga.

7. La hemoglobina con el oxígeno unido a solo uno de los cuatro centros permanece básicamente en el estado T de la estructura cuaternaria, una observación consistente con el modelo secuencial. Por otra parte, el comportamiento de la hemoglobina es concertado en el sentido de que la hemoglobina con tres centros ocupados por el oxígeno está casi siempre en una estructura cuaternaria asociada al estado R.

8. La hemoglobina fetal no se une al 2,3-BPG tan bien como la hemoglobina materna. Recordemos que la fuerte unión del 2,3-BPG a la hemoglobina reduce la afinidad de la hemoglobina hacia el oxígeno.

9. Las moléculas de hemoglobina S se unen entre sí para formar largos agregados fibrosos que se extienden por toda la célula, deformando los glóbulos rojos y haciendo que adopten la forma de hoz. Esta agregación tiene lugar, fundamentalmente, en la forma desoxigenada de la Hb S. Los vasos sanguíneos pequeños se bloquean a causa de las células deformadas, creando una región local con baja concentración de oxígeno. Por lo tanto, más moléculas de hemoglobina adoptan la forma desoxi y más células adquieren la forma de hoz. Los glóbulos rojos falciformes se quedan atrapados en los vasos sanguíneos pequeños, impidiendo la circulación y ocasionando daños en multitud de tejidos. Las células falciformes, que son más frágiles que los glóbulos rojos normales, se rompen (hemolizan) fácilmente, provocando una anemia grave.

10. La desoxihemoglobina A contiene un lugar complementario y, por tanto, se puede incorporar a una fibra de desoxihemoglobina S. Posteriormente, la fibra no puede crecer más porque la molécula de desoxi-Hb A del extremo carece de una pequeña región hidrofóbica que provoca la adhesión de las moléculas.

11. La ballena nada grandes distancias entre respiración y respiración. Una concentración elevada de mioglobina en el músculo de la ballena mantiene un suministro de oxígeno fácilmente accesible para el músculo cuando no está respirando.

12. La presencia de 2,3-BPG desplaza el equilibrio hacia el estado T. El 2,3-BPG solo se une a la cavidad central de la desoxihemoglobina (estado T). El tamaño de la cavidad central disminuye al cambiar a la forma R, expulsando al 2,3-BPG y facilitando así la formación del estado R.

13. Una mayor concentración de 2,3-BPG desplazaría la curva de unión al oxígeno hacia la derecha. El desplazamiento de la curva de unión al oxígeno hacia la derecha provocaría la disociación del oxígeno en los tejidos, lo que provocaría un aumento del porcentaje de oxígeno suministrado a los tejidos.

14. El efecto Bohr, que no hay que confundir con el efecto de aburrimiento que provoca una lectura monótona, consiste en la regulación de la unión del oxígeno a la hemoglobina por parte de los iones hidrógeno y del dióxido de carbono. La desoxihemoglobina se estabiliza por medio de los enlaces iónicos que estabilizan el estado T. Uno de estos enlaces se forma entre la His β146 del extremo carboxilo y el Asp β94. A medida que el pH aumenta, este puente salino estabilizador se rompe porque la His β146 se desprotona y pierde su carga positiva, lo que facilita la formación del estado R. A valores de pH más bajos, la His β146 se carga positivamente. La formación de los enlaces iónicos desplaza el equilibrio desde el estado R al estado T, con lo que se libera el oxígeno.

15. La unión al oxígeno parece ser la causa de que los iones cobre, junto con los ligandos histidina asociados, se acerquen entre sí, lo que hace que también se muevan las hélices a las que están unidas las histidinas (de forma parecida al cambio conformacional que tiene lugar en la hemoglobina).

16. El inositol pentafosfato del apartado *c*. El inositol pentafosfato tiene cargas negativas, igual que el 2,3-BPG.

17. (a) 2; (b) 4; (c) 2; (d) 1.

18. Las interacciones electrostáticas entre el 2,3-BPG y la hemoglobina se debilitarían al competir con las moléculas de agua. No se estabilizaría el estado T.

19. (a) $k_{off} = k_{on}$, $K = 20\ s^{-1}$. (b) La duración media es de 0,05 s (el inverso de k_{off}).

20. El pK_a (a) disminuye; (b) aumenta y (c) aumenta.

21. La fuerte unión del monóxido de carbono obliga al tetrámero a adoptar el estado R incluso a presiones parciales de oxígeno que provocarían la liberación del oxígeno. Básicamente, el monóxido de carbono unido desplaza la curva de saturación del oxígeno hacia la izquierda.

22. El 62,7% de la capacidad para transportar oxígeno.

23. La hemoglobina modificada no mostraría cooperatividad. Aunque el imidazol en disolución se una al átomo de hierro del grupo hemo y facilite la unión del oxígeno (en vez de la histidina), el imidazol carece de la conexión esencial a la hélice α concreta que se tiene que desplazar para transmitir el cambio de conformación.

24. La liberación de ácido disminuirá el pH. Un pH menor provoca la disociación de oxígeno en los tejidos. Sin embargo, el aumento en la liberación de oxígeno en los tejidos elevará la concentración de desoxihemoglobina, aumentando así la probabilidad de que las células se vuelvan falciformes.

Capítulo 10

1. En un principio, los carbohidratos eran considerados como *hidratos de carbono* porque la fórmula empírica de muchos de ellos es $(CH_2O)_n$.

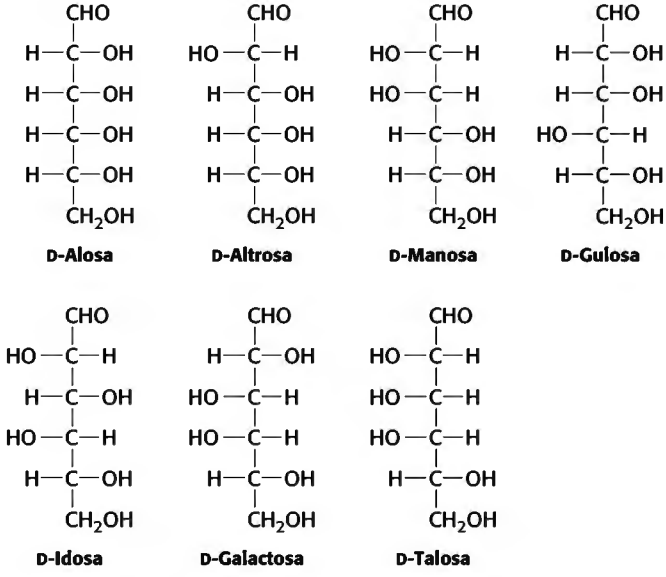
2. Tres aminoácidos se pueden unir mediante enlaces peptídicos de tan solo seis formas distintas. Sin embargo, tres monosacáridos distintos se pueden unir de un gran número de formas. Los monosacáridos se pueden unir de forma lineal o ramificada, con enlaces α o β, con enlaces entre el C-1 y el C-3, entre el C-1 y el C-4, entre el C-1 y el C-6, etc. Hay 12.288 trisacáridos posibles frente a tan solo 6 tripéptidos distintos.

3. (a) 10; (b) 6; (c) 8; (d) 9; (e) 2; (f) 4; (g) 1; (h) 5; (i) 7; (j) 3.

4. (a) Aldosa-cetosa; (b) epímeros; (c) aldosa-cetosa; (d) anómeros; (e) aldosa-cetosa; (f) epímeros.

5. Eritrosa: tetrosa aldosa
Ribosa: pentosa aldosa
Gliceraldehído: triosa aldosa
Dihidroxiacetona: triosa cetosa
Eritrulosa: tetrosa cetosa
Ribulosa: pentosa cetosa
Fructosa: hexosa cetosa.

6.



7. La glucosa es reactiva gracias a la presencia de un grupo aldehído en su forma de cadena abierta. El grupo aldehído se condensa lentamente con los grupos amino para formar una aminocetona.

8. No, la sacarosa no es un azúcar reductor. El átomo de carbono anomérico de la glucosa actúa como un agente reductor pero, en la sacarosa, el átomo de carbono anomérico de la glucosa está formando parte de un enlace covalente y, por tanto, no está disponible para reaccionar.

9. A partir del metanol.
10. (a) β-D-Manosa; (b) β-D-galactosa; (c) β-D-fructosa: (d) β-D-glucosamina.
11. El propio trisacárido podría ser un inhibidor competitivo de la adhesión celular si la unidad de trisacárido de la glicoproteína fuese esencial para la interacción.
12. (a) No es un azúcar reductor; no hay formas de cadena abierta posibles.

(b) D-Galactosa, D-glucosa y D-fructosa. (c) D-Galactosa y sacarosa (glucosa + fructosa).
13. Para generar la forma abierta se rompe el enlace hemicetal del anómero α. La rotación en torno a los enlaces entre el C-1 y el C-2 permite la formación del anómero β y el resultado es una mezcla de isómeros.
14. El calor convierte la forma piranosa, que es muy dulce, en la forma furanosa, más estable pero menos dulce. En consecuencia, es difícil controlar con precisión el dulzor de la preparación, y esto también explica por qué la miel pierde dulzor con el tiempo. Las estructuras se pueden ver en la Figura 10.6.
15. (a) Cada molécula de glucógeno posee un extremo reductor, mientras que el número de extremos no reductores viene determinado por el número de ramificaciones, o enlaces α-1,6. (b) Como, en un conjunto de moléculas de glucógeno, el número de extremos no reductores es muy superior al número de extremos reductores, toda la degradación y síntesis de glucógeno tiene lugar en los extremos no reductores, con lo que se maximiza la velocidad de degradación y de síntesis.
16. El glucógeno es un polímero de glucosas unidas mediante enlaces α-1,4-glicosídicos con ramificaciones que se forman, aproximadamente, cada 10 unidades de glucosa mediante enlaces α-1,6-glicosídicos. El almidón está formado por dos polímeros de glucosa. La amilasa es un polímero lineal formado por enlaces α-1,4-glicosídicos. La amilopectina es parecida al glucógeno pero la amilopectina tiene menos ramificaciones, aproximadamente una por cada 30 unidades de glucosa.
17. La celulosa es un polímero lineal de glucosas unidas mediante enlaces β-1,4. El glucógeno es un polímero ramificado en el que la cadena principal está formada por enlaces α-1,4-glicosídicos. Los enlaces β-1,4 permiten la formación de un polímero lineal, ideal para desempeñar una función estructural. Los enlaces α-1,4 del glucógeno forman una estructura helicoidal, lo que permite el almacenamiento de muchas unidades de glucosa en un espacio reducido.
18. A menudo, las glicoproteínas sencillas son proteínas de secreción y, por tanto, desempeñan diversas funciones. Por ejemplo, la hormona EPO es una glicoproteína. Normalmente, el componente proteico representa la mayor parte de la masa de la glicoproteína. Por el contrario, en los proteoglicanos y en las mucoproteínas predominan los carbohidratos. Los proteoglicanos tienen glicosaminoglicanos unidos y desempeñan funciones estructurales, como ocurre en el cartílago y en la matriz extracelular. A menudo, las mucoproteínas actúan como lubricantes y poseen multitud de carbohidratos unidos mediante una unidad de *N*-acetilgalactosamina.
19. La unión de carbohidratos permita a la EPO mantenerse más tiempo en circulación y, por tanto, funcionar durante periodos de tiempo más largos de lo que haría una EPO libre de carbohidratos.
20. Una glicoproteína es una proteína unida a carbohidratos. Una lectina es una proteína que reconoce carbohidratos de forma específica. Una lectina también puede ser una glicoproteína.
21. El glicosaminoglicano, al estar muy cargado, se une a muchas moléculas de agua. Cuando se comprime el cartílago, como ocurre cuando el talón golpea en el suelo, se libera el agua, lo que amortigua el impacto. Cuando se levanta el talón, el agua se vuelve a unir.
22. Sugiere que los carbohidratos se encuentran sobre las superficies celulares de todos los organismos con el fin de ser reconocidos por otros organismos o por el entorno.
23. La lectina que se une a la manosa 6-fosfato podría estar defectuosa y no reconocer correctamente una proteína correctamente enviada a su destino.
24. Se pueden generar 64 proteínas. Cada lugar está glicosilado o no y, por tanto, hay $2^6 = 64$ proteínas posibles.
25. La amplia gama de enlaces posibles entre los carbohidratos junto con la gran variedad de monosacáridos y sus muchas formas isoméricas convierten a los carbohidratos complejos en moléculas ricas en información.
26. Como se comentó en el Capítulo 6, muchas enzimas muestran especificidad estereoquímica. Evidentemente, las enzimas de la síntesis de la sacarosa son capaces de distinguir entre los isómeros de los sustratos y unirse únicamente a la pareja correcta.
27. (a) El agrecano está profusamente unido a glicosaminoglicanos. Si los glicosaminoglicanos se liberan al medio es porque el agrecano se tiene que estar degradando.

(b) Podría estar presente otra enzima que rompiese los glicosaminoglicanos del agrecano, sin degradar el agrecano. Otros experimentos no mostrados establecieron que la liberación de glicosaminoglicano es una medida precisa de la destrucción del agrecano.

(c) El control proporciona una línea de base que corresponde a la degradación "basal" inherente al ensayo.

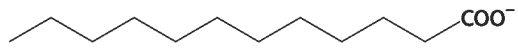
(d) Aumenta mucho la degradación del agrecano.

(e) La degradación del agrecano se reduce al valor basal del sistema.

(f) Se trata de un sistema *in vitro* en el que no están presentes todos los factores que, *in vivo*, contribuyen a la estabilización del cartílago.
28. La proporción del anómero α es 0,36 y la del anómero β es 0,64.
29. Un piranósido reacciona con dos moléculas de peryodato; uno de los productos es el formiato. Un furanósido solo reacciona con una molécula de peryodato; no se genera formiato.
30. Los extremos reductores formarían 1,2,3,6-tetrametilglucosa. Los puntos de ramificación generarían 2,3-dimetilglucosa. El resto de la molécula produciría 2,3,6-trimetilglucosa.

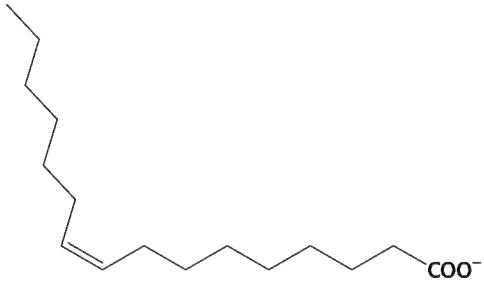
Capítulo 11

1. Los lípidos son moléculas insolubles en agua y muy solubles en disolventes orgánicos.
2. (a) 5; (b) 10; (c) 8; (d) 7; (e) 1; (f) 2; (g) 4: (h) 3; (i) 6; (j) 9.
3. (a)



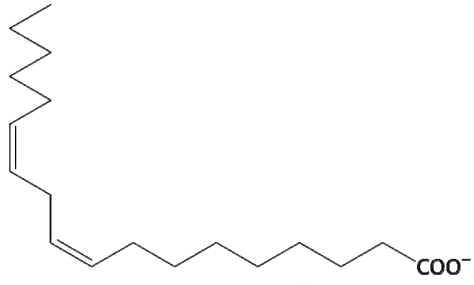
Ácido láurico

(b)



Ácido palmitoleico

(c)



Linoleato

4. Los triacilgliceroles de plantas pueden tener muchos dobles enlaces en *cis* o tener cadenas de ácido graso más cortas que los de origen animal.
5. Los triacilgliceroles están formados por tres cadenas de ácido graso unidas a un esqueleto de glicerol. Los triacilgliceroles son una forma de almacenar combustible. Los fosfoglicéridos están formados por dos cadenas de ácido graso unidas a un esqueleto de glicerol. El alcohol restante del glicerol está unido a un fosfato que, a su vez, está unido a un alcohol.
6. En los fosfoglicéridos el esqueleto es glicerol, mientras que en los esfingolípidos es la esfingosina. En los esfingolípidos, el ácido graso está unido a la esfingosina por medio de un enlace amida.
7. Ejemplos de grupos que constituyen la cabeza polar son la serina, la etanolamina, la colina, el glicerol y el inositol.
8.

Ácido palmítico $CH_3(CH_2)_{14}C(=O)-O-CH_2$

Ácido esteárico $CH_3(CH_2)_{16}C(=O)-O-CH$

Ácido oleico $CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7C(=O)-O-CH_2$

9. Los lípidos son, básicamente, moléculas hidrofóbicas. Por ejemplo, los triacilgliceroles tienen tres cadenas de ácido graso. Esta naturaleza mayoritariamente hidrofóbica explica su solubilidad en disolventes orgánicos y la falta de solubilidad en disolventes acuosos.
10. Las cadenas hidrofóbicas evitarían el agua, interaccionando con cadenas similares de otras moléculas. Mientras tanto, los grupos de la cabeza hidrofílica reaccionarían fácilmente con el agua, dando lugar a la formación de una membrana o de una pequeña vesícula rodeada por una membrana, también llamada liposoma (p. 197).
11. Los esteroides son cíclicos, no lineales.
12. El ácido graso C_{16} se une por medio de un enlace éter. El átomo de carbono C-2 del glicerol, en lugar de estar unido mediante un enlace éster a un ácido graso, como ocurre con la mayoría de los fosfolípidos, se encuentra unido, tan solo, a un grupo acetilo.
13.



Estearato sódico

El estearato sódico formará una micela, con los grupos de la cabeza hidrofílica (en color rojo) expuestos al agua y las cadenas de ácido graso (en verde) en el interior. Cuando el estearato sódico se aplica a la ropa mediante agitación o sobre la piel mediante frotamiento en presencia de agua, la grasa, que es hidrofóbica, se localizará en el interior hidrofóbico de la micela y, durante el aclarado, se irá por el desagüe.
14. En lugar de formar una micela soluble que se vaya por el desagüe, las sales de magnesio o de calcio precipitarán, formando un halo de suciedad alrededor de la bañera. Hay que limpiar la bañera inmediatamente porque cuando se seca la suciedad es más difícil quitarla.
15. Los lípidos están más reducidos que el glucógeno y se almacenan de forma anhidra.
16. Los animales que hibernan se alimentan de forma selectiva a base de plantas con una proporción elevada de ácidos grasos poliinsaturados, cuya temperatura de fusión es menor.
17. (a) 4; (b) 1; (c) 5; (d) 3; (e) 7; (f) 2; (g) 6.
18. La presencia de un doble enlace en *cis* introduce un cambio en la trayectoria de la cadena de ácido graso que impide el empaquetamiento compacto y reduce el número de átomos que establecen contactos de van der Waals. El acodamiento reducirá el punto de fusión, si lo comparamos con el de un ácido graso saturado. Los ácidos grasos *trans* no presentan este acodamiento y, por tanto, sus temperaturas de fusión serán más elevadas, más parecidas a las de los ácidos grasos saturados.
19. El ácido palmítico es más corto que el esteárico. Por tanto, cuando las cadenas se empaquetan, habrá menos oportunidades de establecer interacciones de van der Waals, y el punto de fusión será menor que el del ácido esteárico, más largo.

Capítulo 12

1. (1) Las membranas son estructuras laminares con un espesor de dos moléculas. (2) Las membranas están formadas por lípidos y proteínas; ambos tipos de biomoléculas pueden estar unidos a carbohidratos. (3) Los lípidos de membrana son moléculas anfipáticas, que contienen regiones hidrofílicas y regiones hidrofóbicas que, en disolución acuosa, forman láminas bimoleculares cerradas de manera espontánea. (4) Las proteínas, que son exclusivas para cada membrana, intervienen en la transferencia de moléculas y de información a través de la membrana. (5) Las membranas son ensamblajes no covalentes. (6) Las bicapas de una membrana son distintas; es decir, las membranas son asimétricas. (7) En vez de ser estructuras rígidas, las membranas son fluidas. (8) Las membranas están eléctricamente polarizadas, ya que el interior de la célula es negativo en comparación con el exterior.
2. En primer lugar, la molécula tiene que ser lipofílica y, en segundo lugar, la concentración de la molécula tiene que ser mayor en un lado de la membrana que en el otro.
3. (a) 3; (b) 5; (c) 6; (d) 1; (e) 7; (f) 10; (g) 2; (h) 4; (i) 8; (j) 9.
4. c, a, e, b, d.
5. En la difusión simple, la molécula en cuestión puede difundir a través de la membrana, a favor de su gradiente de concentración. En la difusión facilitada, la molécula no es lipofílica y no puede difundir directamente a través de la membrana. Se necesita un canal o un transportador para facilitar el movimiento a favor del gradiente de concentración.
6. En el transporte pasivo (difusión facilitada), una sustancia se mueve a favor de su gradiente de concentración a través de un canal o de un transportador. En el transporte activo, se genera un gradiente de concentración a expensas de otra fuente de energía, como la hidrólisis del ATP.
7. Recordemos que la mayoría de las proteínas no son estructuras estáticas y precisan de cambios de conformación para llevar a cabo sus funciones bioquímicas. Si la membrana se volviese demasiado rígida, no se podría adoptar la conformación estructural necesaria. Si la membrana fuese demasiado fluida, desaparecerían las interacciones con el entorno (el interior hidrofóbico de la membrana) que necesita la proteína para mantener su estructura.
8. La contracción del corazón (el latido) se inicia mediante la salida de calcio de sus depósitos. La contracción finaliza mediante la extracción del calcio del citoplasma. Esta extracción se lleva a cabo, en parte, por medio de un antiporte sodio-calcio, que lleva el calcio fuera de la célula, en contra de su gradiente de concentración, permitiendo la entrada de sodio en la célula a favor de su gradiente de concentración. El gradiente de sodio se establece gracias a la ATPasa de Na^+-K^+. Los esteroides cardiotónicos actúan inhibiendo la ATPasa de Na^+-K^+, lo que, a su vez, inhibe al antiporte sodio-calcio. En consecuencia, el calcio, la señal para la contracción, permanece más tiempo en la célula cardiaca.
9. La ouabaína, como la digital, inhibe la ATPasa de Na^+-K^+. Esta proteína es esencial para mantener el gradiente de sodio que hace que las neuronas y las células del músculo sean eléctricamente excitables. La inhibición de la enzima interrumpe un gran número de procesos bioquímicos necesarios para la vida, como la función cardiaca y la función respiratoria.
10. La inhibición del simporte daría lugar, en última instancia, a la inhibición de la ATPasa. Como el simporte no disiparía el gradiente de sodio, la concentración de sodio en el exterior de la célula se volvería tan grande que la hidrólisis del ATP por parte de la ATPasa no aportaría energía suficiente como para bombearlo en contra de un gradiente tan grande.
11. La selectividad y el rápido transporte de iones.
12. Los canales regulados por ligando se abren en respuesta a la unión del canal a una molécula, mientras que los canales regulados por voltaje se abren en respuesta a cambios en el potencial de membrana.

13. Falso. Aunque el cotransportador no depende directamente del ATP, la formación del gradiente de Na^+ que impulsa la absorción de la glucosa depende de la hidrólisis del ATP.
14. Las dos formas son (1) la hidrólisis del ATP y (2) el movimiento de una molécula a favor de su gradiente de concentración acoplado al movimiento de otra molécula en contra de su gradiente de concentración.
15. Se podrían buscar en las bases de datos proteínas con segmentos de 20 aminoácidos hidrofóbicos.
16. El efecto hidrofóbico. Si hay un agujero, las colas hidrofóbicas de los fosfolípidos se juntarán, liberando cualquier molécula de agua asociada.
17. Las proteínas de membrana periféricas se pueden solubilizar mediante métodos relativamente suaves, como la extracción mediante una disolución con una fuerza iónica elevada. Las proteínas de membrana integrales solo se pueden solubilizar utilizando un detergente o un disolvente orgánico que desorganice la membrana.
18. Para que los dos lados de una membrana sean idénticos, las regiones hidrofílicas de los lípidos, proteínas y carbohidratos tendrían que atravesar el interior hidrofóbico de la membrana. Este tipo de movimiento es desfavorable desde el punto de vista energético.
19. Establecer un gradiente de glucosa a través de vesículas de membrana que contengan un cotransportador Na^+-glucosa correctamente orientado. Al principio, la concentración de Na^+ sería la misma a ambos lados de la membrana. A medida que la glucosa fluye "en sentido opuesto" a través del transportador, y a favor de su gradiente de concentración, se va estableciendo un gradiente de concentración de Na^+ a medida que el gradiente de glucosa se va disipando.
20. Un canal iónico tiene que transportar iones a la misma velocidad en cualquier dirección. El flujo neto de iones solo está condicionado por la composición de las disoluciones a ambos lados de la membrana.
21. En el entorno hidrofóbico, todos los átomos de hidrógeno de los grupos amida y todos los átomos de oxígeno de los grupos carbonilo están estabilizados mediante puentes de hidrógeno intracatenarios. Si los grupos R son hidrofóbicos, interaccionarán con el interior hidrofóbico de la membrana.
22. La destreza catalítica de la acetilcolinesterasa garantiza que la duración del estímulo nervioso sea corta.
23. El ibuprofeno es un inhibidor competitivo de la sintasa.
24. (a) La gráfica muestra que, al aumentar la temperatura, la bicapa fosfolipídica se vuelve más fluida. La T_m es la temperatura de transición desde el estado predominante menos fluido al estado predominante más fluido. El colesterol ensancha la transición del estado menos fluido al estado más fluido. Básicamente, el colesterol hace que la fluidez de la membrana sea menos sensible a los cambios de temperatura.

(b) Este efecto es importante porque la presencia de colesterol tiende a estabilizar la fluidez de la membrana evitando transiciones bruscas. Como la función de las proteínas depende de la fluidez de membrana adecuada, el colesterol mantiene el entorno apropiado para la función de las proteínas de membrana.
25. La glucosa muestra una curva de transporte que sugiere la participación de un transportador, ya que la velocidad inicial es elevada pero, después, a concentraciones más elevadas, se estabiliza, lo que se puede interpretar como una saturación del transportador, algo que nos recuerda a las enzimas de Michaelis-Menten (p. 107). El indol no muestra este fenómeno de saturación, lo que implica que la molécula es lipofílica y, sencillamente, difunde a través de la membrana. La ouabaína es un inhibidor específico de la bomba de Na^+-K^+. Si la ouabaína inhibiese el transporte de glucosa, un cotransportador Na^+-glucosa estaría ayudando en el transporte.
26. Durante el día, es probable que los lípidos sean cadenas hidrocarbonadas largas y saturadas. Al caer la noche, las cadenas pueden ser más cortas, contener dobles enlaces en *cis*, o ambas cosas.
27. Las células pueden estar expuestas a muchos compuestos químicos del entorno, denominados xenobióticos. Es probable que muchos de estos compuestos químicos sean tóxicos. Las células capaces de eliminar este tipo de compuestos químicos sobrevivirán más tiempo.
28. En esencia, una membrana del revés. Los grupos hidrofílicos se juntarían en el interior de la estructura, alejados del disolvente, mientras que las cadenas hidrocarbonadas interaccionarían con el disolvente.
29.(a) Solo ASIC1 es inhibido por la toxina. (b) Sí; cuando se eliminó la toxina, se empezó a recuperar la actividad del canal sensible al ácido. (c) 0,9 nM.
30. Esta mutación pertenece a un grupo de mutaciones que dan lugar al síndrome del canal lento (SCS). El resultado sugiere un defecto en el cierre del canal; por tanto, el canal permanece abierto durante periodos prolongados. Alternativamente, el canal podría tener una afinidad hacia la acetilcolina más elevada que la del canal control.
31. La mutación reduce la afinidad de la acetilcolina hacia el receptor. Los registros mostrarían que los canales solo se abren de vez en cuando.
32. El bloqueo de los canales iónicos inhibe los potenciales de acción, lo que da lugar a una pérdida de la función nerviosa. Estas moléculas de toxina son útiles a la hora de purificar o de inhibir de manera específica determinados canales iónicos.
33. Para que cualquiera de los dos iones pase a través del canal, se tiene que desprender del agua de solvatación, un proceso endergónico. En el caso del potasio, la energía que compensa la pérdida de agua es suministrada por la interacción entre el ion y el filtro de selectividad. Como el sodio es más pequeño que el potasio, la compensación energética entre el ion y el filtro de selectividad es demasiado pequeña como para compensar a los iones sodio por la pérdida de su agua de solvatación. Por tanto, el sodio no puede pasar a través del canal.

Capítulo 13

1. (a) 7; (b) 13; (c) 6; (d) 1; (e) 10; (f) 2; (g) 14; (h) 3; (i) 12; (j) 8; (k) 4; (l) 9; (m) 11; (n) 5.
2. (1) Receptores acoplados a proteínas G (receptores con siete hélices transmembrana); (2) receptores que dimerizan al unirse al ligando y reclutan tirosina quinasas; (3) receptores que dimerizan al unirse al ligando y que son tirosina quinasas (tirosina quinasas del receptor).
3. La señal inicial —la unión de la hormona a un receptor— se amplifica mediante enzimas y canales.
4. El receptor tiene que tener un sitio en el lado extracelular de la membrana al que se pueda unir la molécula señal y también debe tener un dominio intracelular. Para que se pueda transmitir la señal, la unión de la molécula señal al receptor tiene que inducir cambios estructurales en el dominio intracelular.
5. La actividad GTPasa pone fin a la señal. Sin esta actividad, una vez activada una ruta, esta permanece activa y no responde a cambios en la señal inicial.
6. La presencia del receptor apropiado.
7. (a) 7; (b) 3; (c) 1, (d) 10; (e) 2; (f) 9; (g) 4; (h) 6; (i) 5; (j) 8.
8. El receptor de la insulina y el receptor del EGF utilizan un mecanismo común para transmitir señales a través de la membrana plasmática.
9. Los receptores del factor de crecimiento se pueden activar mediante dimerización. Si un anticuerpo hace que el receptor del factor de crecimiento dimerice, se activará la ruta de transducción de señales en una célula.
10. Las proteínas G heterotriméricas están compuestas por las subunidades $\alpha\beta\gamma$. La subunidad α contiene el lugar de unión al GTP. Al activarse por la unión de la señal al receptor, se intercambia GDP por GTP y las subunidades $\beta\gamma$ se disocian de la subunidad α unida al GTP, lo que posteriormente activa la adenilato ciclasa. Las proteínas G pequeñas, como Ras, son proteínas con una única subunidad. Durante la ruta de señalización por EGF se activan mediante proteínas como Sos. La activación hace que el intercambio de GDP por GTP active Ras, lo que, a su vez, activa quinasas específicas.
11. La subunidad α mutada se encontraría siempre en la forma unida a GTP y, por tanto, en su forma activa, de manera que estimularía su ruta de señalización.
12. Los iones calcio difunden lentamente porque se unen a muchas superficies proteicas en el interior de una célula, lo que impide su libre movimiento. El AMP cíclico no se une con tanta frecuencia y, por tanto, difunde más rápidamente.

13. La $G_{\alpha s}$ estimula la adenilato ciclasa, dando lugar a la generación de cAMP. A continuación, esta señal provoca la movilización de la glucosa (ver el Capítulo 24). Si la cAMP fosfodiesterasa estuviese inhibida, los niveles de cAMP permanecerían altos incluso después de haber terminado la señal de la adrenalina, y continuaría la movilización de la glucosa.
14. El entramado completo de las rutas iniciadas por la insulina incluye un gran número de proteínas y es considerablemente más complicado que el mostrado en la Figura 13.19. Además, muchas otras proteínas intervienen en la terminación de la señalización de la insulina. Un defecto en cualquiera de las proteínas de las rutas de señalización de la insulina o de la ulterior terminación de la respuesta a la insulina podría causar problemas. Por tanto, no es de extrañar que muchos defectos génicos distintos puedan provocar una diabetes de tipo 2.
15. La unión de la hormona del crecimiento hace que su receptor monomérico dimerice. A continuación, el receptor dimérico puede activar una tirosina quinasa distinta, a la que el receptor se ha unido. Después, la ruta de señalización puede continuar de manera similar a la de las rutas activadas por el receptor de la insulina o de otros receptores del EFG de mamíferos.
16. Los proto-oncogenes son versiones de los genes que se expresan con normalidad y que codifican proteínas que, generalmente, regulan el crecimiento celular. Los oncogenes son proto-oncogenes que están mutados o que se han sobreexpresado, de manera que la proteína codificada siempre intensifica el crecimiento. Los genes supresores de tumores codifican proteínas que inhiben el crecimiento celular o que inducen la muerte celular.
17. Con frecuencia, los proto-oncogenes inician o forman parte de rutas que dan lugar al crecimiento celular y a la división, en respuesta a algún tipo de señal. Si solo un gen está mutado, la célula continuamente estará siendo estimulada para que crezca, a pesar de que el otro gen siga funcionando con normalidad. Por otra parte, los genes supresores de tumores, de alguna forma, inhiben las señales de crecimiento. Por tanto, incluso cuando uno de los genes no es funcional, el gen normal que queda suele ser suficiente como para inhibir el crecimiento descontrolado.
18. Dentro de la cascada de señalización del EGF, otras posibles dianas para los fármacos incluyen, entre otras, a los centros activos con actividad quinasa del receptor del EGF, Grb-2, Sos, Ras y a cualquier otro componente de la ruta de señalización que se encuentre a continuación de estos.
19. Al igual que los receptores descritos en este capítulo, los canales regulados por ligando se unen a moléculas señal, lo que altera su actividad de forma que propagan una señal. Por ejemplo, el canal de calcio activado por IP_3 está cerrado hasta que se une al IP_3.
20. Recordemos que los residuos hidrofóbicos raramente están expuestos al entorno acuoso de las células. La exposición de estos residuos permite a la calmodulina unirse a otras proteínas y, de este modo, propagar la señal.
21. Una proteína G formaba parte de la ruta de transducción de señales. El sulfato terminal no debe ser un sustrato eficaz para la actividad GTPasa de la proteína G.
22. Dos receptores idénticos tienen que reconocer características distintas de la misma molécula señal.
23. Los residuos de glutamato cargados negativamente imitan a los residuos de fosfoserina o fosfotreonina cargados negativamente y estabilizan la conformación activa de la enzima.
24. Los niveles de iones calcio se mantienen bajos mediante sistemas de transporte que expulsan el Ca^{2+} de la célula. Gracias a este estado estacionario reducido, los aumentos transitorios de la concentración intracelular de Ca^{2+} producidos por los acontecimientos que tienen lugar durante la señalización se pueden detectar fácilmente.
25. Al unirse al EGF, el receptor truncado dimerizará con los monómeros completos, pero no se puede producir la fosforilación cruzada, ya que el receptor truncado no tiene ni el sustrato para el dominio quinasa vecino ni su propio dominio quinasa para fosforilar la cola C-terminal del otro monómero. Por tanto, estos receptores mutantes bloquearán la señalización normal del EGF.
26. 10^5
27. (a) $X \approx 10^{-7}$ M; $Y \approx 5 \times 10^{-6}$ M; $Z \approx 10^{-3}$ M.

(b) Como se necesita mucha menos X para ocupar la mitad de los sitos, X presenta la afinidad más elevada.

(c) La afinidad de la unión coincide casi perfectamente con la capacidad para estimular la adenilato ciclasa, lo que sugiere que el complejo receptor-hormona provoca la estimulación de la adenilato ciclasa.

(d) Intente llevar a cabo el experimento en presencia de anticuerpos contra $G_{\alpha s}$.
28. (a) La unión total no distingue la unión a un receptor específico de la unión a receptores distintos o de la unión inespecífica a la membrana.

(b) La razón es que el receptor tendrá una afinidad elevada hacia el ligando. Por tanto, en presencia de un exceso de ligando no radiactivo, el receptor se unirá al ligando no radiactivo. Por tanto, cualquier unión del ligando radiactivo tiene que ser inespecífica.

(c) El valor estable sugiere que, en la célula, el número de lugares de unión del receptor es limitado.
29.

$$\text{Número de receptores por célula} = \frac{10^4 \text{ cpm}}{\text{mg de proteína de membrana}} \times \frac{\text{mg de proteína de membrana}}{10^{10} \text{ células}}$$

$$\times \frac{\text{mmol}}{10^4 \text{ cpm}} \times \frac{6,023 \times 10^{20} \text{ moléculas}}{\text{mmol}} = 600$$

Capítulo 14

1. (a) 6; (b) 4; (c) 1; (d) 9; (e) 2; (f) 10; (g) 5; (h) 3; (i) 12; (j) 11; (k) 7; (l) 8.
2. En la etapa 1, moléculas grandes, como proteínas y carbohidratos complejos, se descomponen en unidades más pequeñas. En la etapa 2, las numerosas moléculas pequeñas que se producen en la etapa 1 se convierten en unas pocas moléculas esenciales para el metabolismo —sobre todo, en acetil-CoA. En la etapa 3, cuando la acetil-CoA se oxida a CO_2 y H_2O se produce ATP.
3. Nuestros alimentos más importantes —lípidos, carbohidratos complejos y proteínas— son macromoléculas grandes que no pueden ser absorbidas por las células del intestino. Tienen que ser convertidas en moléculas pequeñas que dispongan de sistemas de transporte que las permitan entrar en las células del intestino.
4. Una buena masticación homogeneizará el alimento, haciéndolo más accesible para las enzimas digestivas.
5. La desnaturalización es el desmantelamiento de la estructura tridimensional de una proteína. La proteína desnaturalizada y extendida es un sustrato mucho más eficaz para la digestión por parte de las proteasas.
6. La α-amilasa hidroliza los enlaces α -1,4, generando la dextrina límite, maltotriosa, maltosa y glucosa. La maltasa digiere la maltosa, mientras que la α-glucosidasa digiere la maltotriosa y otros oligosacáridos que puedan haber sido generados por la α-amilasa. La dextrinasa digiere la dextrina límite. Los azúcares sencillos que resultan de estas actividades enzimáticas son absorbidos por el intestino.
7. Si una pequeña cantidad de tripsinógeno se activase de forma inapropiada en el páncreas o en los conductos pancreáticos, la tripsina podría activar otros zimógenos y dar lugar a la destrucción del páncreas.
8. Los macarrones son almidón. La hidratación del almidón permite a la α-amilasa unirse de manera más eficaz a las moléculas de almidón y degradarlas.
9. A diferencia de proteínas y carbohidratos, ni los lípidos ni los productos de la digestión de los lípidos —ácidos grasos— son solubles en agua. Los lípidos se convierten en mezclas de gotitas lipídicas y agua (emulsiones), una conversión facilitada por las sales biliares. Las emulsiones son accesibles a las lipasas. Los ácidos grasos generados por las lipasas son transportados en micelas hacia la membrana del intestino.
10. La formación de emulsiones permite a la lipasa acuosa acceder a los enlaces éster de los lípidos que forman parte de las gotitas lipídicas.
11. La digestión de lípidos y su absorción serían más difíciles y gran parte del lípido se excretaría en las heces.

12. La secreción de las enzimas digestivas en forma de precursores reduce la probabilidad de que el tejido secretor sea dañado por sus productos de secreción.
13. La homeostasis calórica es la situación en la que el gasto energético de un organismo es igual al aporte energético.
14. La CCK provoca una sensación de saciedad y estimula la secreción de enzimas digestivas por parte del páncreas y la secreción de sales biliares por parte de la vesícula biliar. El GLP-1 también provoca una sensación de saciedad; además, potencia la secreción de insulina, inducida por glucosa, por parte de las células β del páncreas.
15. La activación es independiente de la concentración de zimógeno porque la reacción es intramolecular.
16 (a) Durante los 40 años que se están considerando, habrá consumido 40 años × 365 días año^{-1} × 2.000 kcal día^{-1} = 2,9 × 10^7 kcal.

(b) Por tanto, en el periodo de 40 años, la mujer ha ingerido 2,9 × 10^7 kcal /9 kcal g^{-1} = 3,2 × 10^6 g de alimento = 3.200 kg de alimento, ¡lo que equivale a más de 3 toneladas de comida! Sin embargo, curiosamente, su peso ha permanecido constante sin haber tenido que medir e igualar de forma precisa y constante su aporte energético y su gasto energético. Aunque, a menudo, la fuerza de voluntad, el ejercicio y una báscula de baño desempeñan un papel importante en esta homeostasis, se tienen que estar produciendo algunas señales bioquímicas para ayudarla a la hora de regular su energía.
17 (a) 12 libras = 5,5 kg = 5,5 × 10^3 g = aumento de peso total

$$5{,}5 \times 10^3 \text{ g}/40 \text{ años}/365 \text{ días año}^{-1} = 0{,}38 \text{ g día}^{-1}$$

Por tanto, para engordar 5,5 kg en 40 años, la mujer solo tiene que comer, cada día, 0,38 g de alimento más de lo que necesita para satisfacer sus necesidades bioquímicas.
(b) Un paseo por la sección de galletas y *snacks* del supermercado le aporta numerosos ejemplos. Considere la mantequilla que, básicamente, es grasa pura; 0,38 g de mantequilla equivale aproximadamente a la cuarta parte de la cantidad de mantequilla que tomamos con el cuchillo a la hora de untar. Por tanto, el simple exceso diario del equivalente a la cuarta parte de la mantequilla que hay en el cuchillo antes de untar dará lugar a una (modesta) ganancia de peso de 5,5 kg a lo largo de 40 años —un dato sorprendente, aunque también deprimente. Una galleta o unas pocas patatas fritas también producirán este (desagradable) resultado.

Capítulo 15

1. Las reacciones bioquímicas con un alto grado de integración que tienen lugar en el interior de la célula.
2. El anabolismo es el conjunto de reacciones bioquímicas que utilizan energía para construir nuevas moléculas y, en última instancia, nuevas células. El catabolismo es el conjunto de reacciones bioquímicas que extraen energía a partir de las fuentes de combustible o de la degradación de biomoléculas.
3. (1) Los movimientos celulares y la realización de trabajo mecánico; (2) transporte activo; (3) reacciones biosintéticas.
4. (a) 6; (b) 8: (c) 9: (d) 1; (e) 7; (f) 2; (g) 3; (h) 5; (i) 10; (j) 4.
5. Repulsión de cargas, estabilización por resonancia y estabilización por hidratación.
6. Tener solo un nucleótido que funcione como moneda energética en la célula permite a esta monitorizar su estatus energético.
7. Estos iones divalentes forman complejos con los átomos de oxígeno cargados negativamente de los grupos fosforilo y ayudan a estabilizar las cargas del ATP.
8. Aumentar la concentración de ATP o reducir la concentración celular de ADP o de P_i (p. ej., mediante su rápida eliminación por parte de otras reacciones) haría que la reacción fuese más exergónica. Análogamente, alterar la concentración de Mg^{2+} podría aumentar o disminuir el ΔG de la reacción (ver los problemas 25 y 30).
9. Las reacciones de los apartados *a* y *c*, hacia la izquierda; las reacciones de los apartados *b* y *d*, hacia la derecha.
10. Ninguna en absoluto.
11. (a) $\Delta G^{o\prime}$ = 31,4 kJ mol^{-1} (7,5 kcal mol^{-1}) y K'_{eq} = 3,06 × 10^{-6}; (b) 3,28 × 10^4.
12. $\Delta G^{o\prime}$ = 7,1 kJ mol^{-1} (1,7 kcal mol^{-1}). La relación en el equilibrio es 17,8.
13. (a) El acetato + CoA + H^+ se convierten en acetil-CoA + H_2O, $\Delta G^{o\prime}$ = +31,4 kJ mol^{-1} (+7,5 kcal mol^{-1}). La hidrólisis del ATP a AMP, $\Delta G^{o\prime}$ = −45,6 kJ mol^{-1} (−10,9 kcal mol^{-1}). La reacción global, $\Delta G^{o\prime}$ = −14,2 kJ mol^{-1} (−3,4 kcal mol^{-1}).

(b) Con la hidrólisis del pirofosfato, $\Delta G^{o\prime}$ = −33,5 kJ mol^{-1} (24,2 kcal mol^{-1}). La hidrólisis del pirofosfato incrementa drásticamente la exergonicidad de la reacción.
14. Para determinar el cambio neto de energía libre de una ruta completa se suman los cambios en la energía libre de cada paso individual de la ruta. En consecuencia, una reacción con un valor de energía libre positivo puede obtener energía para llevarse a cabo si se encuentra acoplada a una reacción lo suficientemente exergónica.
15. Una unidad de ADP.
16. El NADH y el $FADH_2$ son transportadores de electrones para el catabolismo; el NADPH es el transportador para el anabolismo.
17. Los electrones del enlace C═O no pueden formar estructuras resonantes con el enlace C—S que sean tan estables como las que pueden formar con el enlace C—O. Por tanto, el tioéster no se estabiliza por resonancia en la misma medida que un éster de oxígeno.
18. (1) Control de la cantidad de enzimas; (2) control de la actividad enzimática; (3) control de la disponibilidad de los sustratos.
19. Recordemos que $\Delta G = \Delta G^{o\prime} + RT \ln$ ([productos]/[reactantes]). Una alteración del cociente entre productos y reactantes hará que el ΔG cambie. En la glucólisis, las concentraciones de los componentes de la ruta dan lugar a un valor de ΔG mayor que el de $\Delta G^{o\prime}$.
20. A, etanol; B, lactato; C, succinato; D, isocitrato; E, malato.
21. Si los alimentos ingeridos no se pueden convertir en moléculas capaces de ser absorbidas por el intestino, el organismo jamás podrá obtener energía.
22. Aunque la reacción es favorable desde el punto de vista termodinámico, los reactantes son cinéticamente estables gracias a la elevada energía de activación. Las enzimas disminuyen la energía de activación de manera que la reacción tiene lugar en las escalas de tiempo requeridas por la célula.
23. (a) Para un ácido AH,

$$AH \rightleftharpoons A^- + H^+ \qquad K = \frac{[A^-][H^+]}{[AH]}$$

El pK_a se define como $pK_a = -\log_{10} K$. El $\Delta G^{o\prime}$ es el incremento de la enrgía libre estándar a pH 7. Por tanto, $\Delta G^{o\prime} = -RT \ln K = -2{,}303\, RT \log_{10} K = +2{,}303\, RT\, pK_a$.

(b) $\Delta G^{o\prime}$ = 27,32 kJ mol^{-1} (6,35 kcal mol^{-1}).
24. En la mayoría de los organismos, la forma activada del sulfato es 3′-fosfoadenosina-5′-fosfosulfato.
25. A medida que la concentración de Mg^{2+} disminuye, el ΔG de la hidrólisis aumenta. Observe que pMg es una gráfica logarítmica y, por tanto, cada número del eje *x* representa una [Mg^{2+}] 10 veces mayor.

(b) El Mg^{2+} se une a los grupos fosforilo del ATP y ayuda a mitigar la repulsión entre las cargas. A medida que la [Mg^{2+}] desciende, hay menos estabilización de carga en el ATP, lo que da lugar a una mayor repulsión entre las cargas y a un aumento en el ΔG de hidrólisis.
26. En el músculo de invertebrados, la arginina fosfato, al igual que la creatina fosfato en el músculo de vertebrados, actúa como un reservorio de grupos fosforilo de elevado potencial. La arginina fosfato mantiene unos niveles elevados de ATP durante el esfuerzo muscular.
27. (a) La razón que hay detrás del uso de la creatina como suplemento dietético es que se podría convertir en creatina fosfato y, por tanto, sería una forma rápida de recuperar ATP después de la contracción muscular.

(b) Si el uso de la creatina como suplemento dietético fuese beneficioso, afectaría a actividades que dependen de cortos estallidos de actividad; cualquier actividad sostenida requeriría la generación de ATP

mediante el metabolismo de los combustibles, algo que, tal y como muestra la Figura 15.8, requiere más tiempo.

28. En condiciones estándar, $\Delta G^{o\prime} = -RT \ln$ [productos]/[reactantes]. Introduciendo el valor 23,8 kJ mol^{-1} (5,7 kcal mol^{-1}) para $\Delta G^{o\prime}$ y despejando el cociente [productos]/[reactantes], se obtiene un valor de 7×10^{-5}. En otras palabras, la reacción hacia adelante no se lleva a cabo de forma significativa. En las condiciones intracelulares, ΔG es $-1{,}3$ kJ mol^{-1} ($-0{,}3$ kcal mol^{-1}). Utilizando la ecuación $\Delta G = \Delta G^{o\prime} + RT \ln$ [productos]/[reactantes] y despejando el cociente [productos]/[reactantes], se obtiene un valor de $3{,}7 \times 10^{-5}$. Por tanto, una reacción que sea endergónica en condiciones estándar se puede convertir en una reacción exergónica manteniendo el cociente [productos]/[reactantes] por debajo del valor en el equilibrio. Normalmente, esta conversión se consigue utilizando los productos recién formados en otra reacción acoplada.

29. En condiciones estándar,

$$K'_{eq} = \frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}} \times \frac{[ADP]_{eq}[P_i]_{eq}}{[ATP]_{eq}} = 2{,}67 \times 10^2$$

En el equilibrio, el cociente entre [B] y [A] sería

$$\frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}} = K'_{eq} \frac{[ATP]_{eq}}{[ADP]_{eq}[P_i]_{eq}}$$

El sistema generador de ATP de las células mantiene el cociente [ATP]/[ADP][P_i] con un valor elevado, generalmente en torno a 500 M^{-1}. Aplicando este valor,

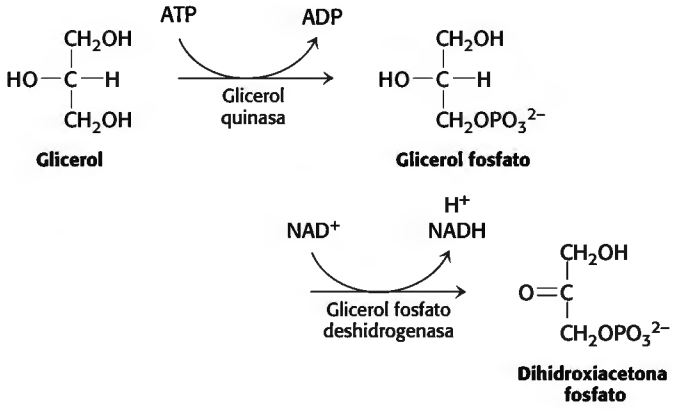
$$\frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}} = K'_{eq} \frac{[ATP]_{eq}}{[ADP]_{eq}[P_i]_{eq}}$$

Esta proporción en el equilibrio difiere notablemente del valor $1{,}15 \times 10^{-3}$ de la reacción A → B en ausencia de hidrólisis del ATP. En otras palabras, el acoplamiento de la hidrólisis del ATP a la conversión de A en B ha cambiado la proporción B/A en el equilibrio por un factor aproximado de 10^8.

30. En el hígado: $-45{,}2$ kJ mol^{-1} ($-10{,}8$ kcal mol^{-1}); en el músculo: $-48{,}1$ kJ mol^{-1} ($-11{,}5$ kcal mol^{-1}); en el cerebro: $-48{,}5$ kJ mol^{-1} ($-11{,}6$ kcal mol^{-1}). La energía libre para la hidrólisis del ATP es más negativa en el cerebro.

Capítulo 16

1. (a) 4; (b) 3; (c) 1; (d) 6; (e) 8; (f) 2; (g) 10; (h) 9; (i) 7; (j) 5.
2. En ambos casos, el donador de electrones es el gliceraldehído 3-fosfato. En la fermentación láctica, el aceptor de electrones es el piruvato, que se convierte en lactato. En la fermentación alcohólica, el aceptor de electrones es el acetaldehído, que se convierte en etanol.
3. (a) 3 ATP; (b) 2 ATP; (c) 2 ATP; (d) 2 ATP; (e) 4 ATP.
4. La glucoquinasa permite al hígado extraer la glucosa de la sangre cuando la hexoquinasa está saturada, garantizando la absorción de la glucosa para que pueda ser utilizada más tarde.
5. El valor de K_M para la glucoquinasa es mayor, lo que permite a esta enzima volverse más activa a concentraciones elevadas de glucosa, unas condiciones en las que la hexoquinasa se encuentra saturada.
6. La glucosa no se puede escindir en dos fragmentos de tres átomos de carbono, mientras que la fructosa sí, y las moléculas de tres átomos de carbono se metabolizan durante la segunda etapa de la glucólisis. La conversión de fructosa 6-fosfato en fructosa 1,6-bisfosfato impide que se vuelva a formar el isómero glucosa.
7. El GAP formado es inmediatamente eliminado por las reacciones subsiguientes, dando lugar a la conversión de DHAP en GAP por parte de la enzima.
8. Un tioéster acopla la oxidación del gliceraldehído-3-fosfato en 3-fosfoglicerato, con la formación de 1,3-bisfosfoglicerato. Posteriormente, el 1,3-bisfosfoglicerato puede impulsar la formación de ATP.
9. La glucólisis forma parte de la fermentación alcohólica, la ruta que produce el alcohol de la cerveza y del vino. Se pensaba que comprendiendo la base bioquímica de la producción de alcohol se podría conseguir un método más eficiente para la producción de cerveza.
10. Se impediría la conversión de gliceraldehído 3-fosfato en 1,3-bisfosfoglicerato. La glucólisis sería menos eficaz.
11. La glucosa 6-fosfato debe tener otros destinos. De hecho, se puede convertir en glucógeno o se puede metabolizar para generar poder reductor para la biosíntesis.
12. Las necesidades energéticas de una célula muscular varían mucho, desde el estado de reposo al ejercicio intenso. En consecuencia, la regulación de la fosfofructoquinasa por medio de la carga energética resulta crucial. En otros tejidos, como en el hígado, es menos probable que fluctúe la concentración de ATP, y no sería un regulador clave de la fosfofructoquinasa.
13.



Tras la conversión del glicerol en DHAP, se isomeriza a GAP que, a continuación, puede seguir la ruta de la glucólisis para convertirse en piruvato.

14. El $\Delta G^{o\prime}$ para la glucólisis en sentido inverso es $+96$ kJ mol^{-1} ($+23$kcal mol^{-1}), demasiado endergónica como para poder llevarse a cabo.
15. El piruvato se puede metabolizar a etanol en la fermentación alcohólica, a lactato en la fermentación láctica o se puede oxidar completamente a CO_2 y H_2O en la respiración celular.
16. La conversión de glucosa en glucosa 6-fosfato por medio de la hexoquinasa; la conversión de la fructosa 6-fosfato en fructosa 1,6-bisfosfato por medio de la fosfofructoquinasa; la formación de piruvato a partir de fosfoenolpiruvato por medio de la piruvato quinasa.
17. El ácido láctico es un ácido fuerte. Si permaneciese en la célula, el pH de la célula disminuiría, lo que daría lugar a la desnaturalización de las proteínas musculares y provocaría daños en el músculo.
18. En el hígado, la fructoquinasa convierte la fructosa en fructosa 1-fosfato. La fructosa 1-fosfato se escinde por medio de una aldolasa específica, generando gliceraldehído y dihidroxiacetona fosfato, que forma parte de la ruta glucolítica. El gliceraldehído se convierte en gliceraldehído 3-fosfato, un intermediario de la glucólisis, gracias a la triosa quinasa. En otros tejidos, la fructosa se convierte en fructosa 6-fosfato por medio de la hexoquinasa.
19. Sin la triosa fosfato isomerasa, solo una de las dos moléculas de tres átomos de carbono generadas por la aldolasa se podría utilizar para generar ATP. El metabolismo de cada molécula de glucosa solo produciría dos moléculas de ATP. Pero aún se necesitarían dos moléculas de ATP para formar fructosa 1,6-bisfosfato, el sustrato de la aldolasa. El rendimiento neto de ATP sería cero, un valor incompatible con la vida.
20. $3{,}06 \times 10^{-5}$
21. En el equilibrio, las concentraciones de fructosa 1,6-bisfosfato, dihidroxiacetona fosfato y gliceraldehído 3-fosfato son $7{,}8 \times 10^{-4}$ M, $2{,}2 \times 10^{-4}$ M y $2{,}2 \times 10^{-4}$ M, respectivamente.
22. (a) La ruta de la fructosa 1-fosfato forma gliceraldehído 3-fosfato. (b) Se evita la fosfofructoquinasa, una enzima clave para el control.
23. En presencia de arseniato, la reacción global es

Gliceraldehído 3-fosfato + NAD^+ + H_2O →

3-fosfoglicerato + NADH + 2 H^+

En presencia de arseniato, se lleva a cabo la glucólisis, pero se pierde el ATP que se forma normalmente durante la conversión de 1,3-bisfosfoglicerato en 3-fosfoglicerato. Por tanto, el arseniato desacopla la oxidación de la fosforilación formando un acilarseniato muy lábil.

24. Este ejemplo ilustra la diferencia entre el uso *estequiométrico* y el uso *catalítico* de una molécula. Si las células utilizasen el NAD^+ de forma estequiométrica, se necesitaría una nueva molécula de NAD^+ cada vez que se genere una molécula de lactato. Como ya se verá, la síntesis de NAD^+ necesita ATP. Por otra parte, si el NAD^+ que se convierte en NADH se pudiese reciclar y reutilizar, una pequeña cantidad de la molécula podría regenerar una gran cantidad de lactato, que es lo que ocurre en la célula. El NAD^+ se regenera mediante la oxidación de NADH y se reutiliza. Por tanto, el NAD^+ se utiliza de forma catalítica.

25. (a) 4; (b) 10; (c) 1; (d) 5; (e) 7; (f) 8; (g) 9; (h) 2; (i) 3; (j) 6.

26. La fructosa 2,6-bisfosfato estabiliza el estado R de la enzima.

27. La galactosa es un componente de las glicoproteínas. Probablemente, la ausencia de galactosa da lugar a la incorrecta formación o función de las glicoproteínas necesarias para el sistema nervioso central. De manera más general, el hecho de que los síntomas aparezcan en ausencia de la galactosa sugiere que, de algún modo, se necesita galactosa.

28. Un canal de potasio se inhibe por la unión al ATP. Esta inhibición altera el voltaje a través de la membrana plasmática, lo que activa un canal de calcio, permitiendo así la entrada de iones calcio. Los iones calcio estimulan la fusión de los gránulos que contienen insulina con la membrana plasmática, dando lugar a la secreción de insulina.

29. (a) Curiosamente, la enzima utiliza ADP en lugar de ATP como donador de grupos fosforilo.

(b) Tanto el AMP como el ATP se comportan como inhibidores competitivos del ADP, el donador de grupos fosforilo. Aparentemente, la enzima de *P. furiosus* no se inhibe alostéricamente por el ATP.

30. Al principio, el ATP estimula la actividad de la PFK, como cabría esperar para un sustrato. Concentraciones más elevadas de ATP inhiben la enzima. Aunque este efecto provocado por un sustrato parece un contrasentido, recordemos que, en el músculo, la función de la glucólisis consiste en generar ATP. En consecuencia, las concentraciones elevadas de ATP son una señal de que las necesidades de ATP están cubiertas y de que se debería parar la glucólisis. Además de ser un sustrato, el ATP es un inhibidor alostérico de la PFK.

31. (a) El dióxido de carbono es un buen indicador de la velocidad de la fermentación alcohólica, ya que, junto con el etanol, es uno de los productos de la fermentación alcohólica.

(b) El fosfato es un sustrato necesario para la reacción catalizada por la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa. El fosfato se incorpora al 1,3-bisfosfoglicerato.

(c) Indica que la cantidad de fosfato libre tiene que haber sido el factor limitante.

(d) La proporción debería ser 1. Se consumiría un fosfato por cada piruvato descarboxilado.

(e) La ausencia de fosfato inhibiría la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa. Esta inhibición haría que la glucólisis funcione en sentido inverso, dando lugar a la acumulación de fructosa 1,6-bisfosfato.

32. La glucosa es reactiva, ya que su forma de cadena abierta contiene un grupo aldehído.

33. (a) El marcaje se encuentra en el átomo de carbono del grupo metilo del piruvato.

(b) 5 mCi mM^{-1}. La actividad específica se reduce a la mitad porque el número de moles de producto (piruvato) es el doble de los de sustrato marcado (glucosa).

34. (a) Glucosa + 2 P_i + 2 ADP → 2 lactato + 2 ATP

(b) $\Delta G^{\circ\prime} = -123$ kJ mol^{-1} (-29 kcal mol^{-1})

(c) $\Delta G = -114$ kJ mol^{-1} ($-27{,}2$ kcal mol^{-1})

35. El GLUT2 transporta glucosa solo cuando la concentración de glucosa en sangre es elevada, que es precisamente la condición para que las células β del páncreas secreten insulina.

36. Fructosa + ATP → fructosa 1-fosfato + ADP: fructoquinasa

Fructosa 1-fosfato → dihidroxiacetona fosfato + gliceraldehído: fructosa 1-fosfato aldolasa

Gliceraldehído + ATP → gliceraldehído 3-fosfato + ADP: triosa quinasa

En las reacciones precedentes, se evita el principal paso que controla la glucólisis, el catalizado por la fosfofructoquinasa. La glucólisis se llevará a cabo se forma no regulada.

37. En ausencia de un azúcar, la actividad ATPasa de la hexoquinasa es baja porque se encuentra en una conformación catalíticamente inactiva. La adición de xilosa cierra la hendidura situada entre los dos lóbulos de la enzima. Sin embargo, la xilosa carece de un grupo hidroximetilo y, por tanto, no se puede fosforilar. En vez de ello, una molécula de agua situada en el lugar que normalmente está ocupado por el grupo hidroximetilo del C-6 actúa como aceptor del grupo fosforilo del ATP.

38. Considere la ecuación de la adenilato quinasa en el equilibrio:

$$K_{eq} = [ATP][AMP]/[ADP]^2$$

o

$$[AMP] = K_{eq}\,[ADP]^2/[ATP]$$

Recordemos que, en la célula, [ATP] > [ADP] > [AMP]. A medida que se utiliza el ATP, una pequeña disminución en su concentración dará lugar a un incremento porcentual mayor en la [ADP], ya que la concentración de ATP es mayor que la del ADP. Este mayor incremento porcentual en la [ADP] dará lugar a un incremento porcentual aún mayor en la [AMP], ya que la concentración de AMP está relacionada con el cuadrado de [ADP]. Básicamente, la ecuación 2 muestra que la monitorización del estatus energético mediante el AMP magnifica los pequeños cambios en la [ATP], dando lugar a un control más ajustado.

Capítulo 17

1. En las condiciones celulares, la reacción inversa de la glucólisis es muy endergónica. En la gluconeogénesis, el gasto de seis moléculas de NTP hace que sea exergónica.

2. (a) 6; (b) 1; (c) 7; (d) 3; (e) 2; (f) 5; (g) 4.

3. En la glucólisis, la formación de piruvato y ATP por medio de la piruvato quinasa es irreversible. En la gluconeogénesis, este paso se evita mediante dos reacciones: (1) la formación de oxalacetato a partir de piruvato y CO_2 por medio de la piruvato carboxilasa y (2) la formación de fosfoenolpiruvato a partir de oxalacetato y GTP por medio de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa. En la gluconeogénesis, la formación de fructosa 1,6-bisfosfato por medio de la fosfofructoquinasa se evita mediante la fructosa 1,6-bisfosfatasa, que cataliza la conversión de fructosa 1,6-bisfosfato en fructosa 6-fosfato. Por último, la formación de glucosa 6-fosfato, que en la glucólisis está catalizada por la hexoquinasa, se evita por medio de la glucosa 6-fosfatasa, pero solamente en el hígado.

4. Se bloquearían las reacciones de los apartados *b* y *e*.

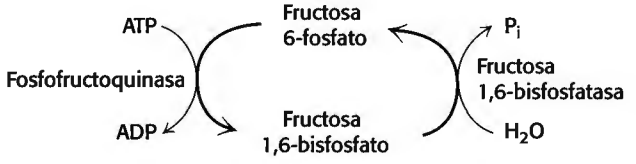
5. La síntesis de glucosa durante un ejercicio intenso proporciona un buen ejemplo de la cooperación entre órganos que tiene lugar en los organismos superiores. Cuando el músculo se está contrayendo de forma activa, se forma lactato a partir de glucosa mediante la glucólisis. El lactato se libera a la sangre y es absorbido por el hígado, donde se convierte en glucosa mediante la gluconeogénesis. Posteriormente, la glucosa recién sintetizada se libera para ser absorbida por el músculo para la generación de energía.

6. Es probable que, durante la contracción, el músculo genere ácido láctico. El ácido láctico es un ácido fuerte y no se puede acumular ni en el músculo ni en la sangre. El hígado elimina el ácido láctico de la sangre y lo convierte en glucosa. La glucosa se puede liberar a la sangre o almacenar en forma de glucógeno para su posterior utilización.

7. La glucosa producida por el hígado no podría ser liberada a la sangre. Los tejidos que dependen de la glucosa como fuente de energía no funcionarían tan bien a menos que se suministre glucosa en la dieta.

8. La glucosa es una importante fuente de energía para ambos tejidos y, en el caso del cerebro, es prácticamente la única fuente de energía. En consecuencia, estos tejidos nunca deberían liberar glucosa. La liberación de glucosa se evita mediante la ausencia de glucosa 6-fosfatasa.

9. En la gluconeogénesis, la lactato deshidrogenasa sintetiza piruvato a partir de lactato. En la fermentación láctica, la enzima sintetiza lactato a partir de piruvato.
10. (a) A, B; (b) C, D; (c) D; (d) A; (e) B; (f) C; (g) A; (h) D; (i) ninguno; (j) A; (k) A.
11. Algunos de los aminoácidos se liberarán a la sangre. El hígado absorberá los aminoácidos y convertirá los esqueletos carbonados en glucosa.
12. 6 NTP (4 ATP y 2 GTP); 2 NADH.
13. (a) Ninguno; (b) ninguno; (c) 4 (2 ATP y 2 GTP); (d) ninguno.
14. Un ciclo requeriría la enzima glucolítica fosfofructoquinasa y la enzima gluconeogénica fructosa 1,6-bisfosfatasa. El otro ciclo necesitaría la piruvato quinasa de la glucólisis, y la piruvato carboxilasa y la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa de la gluconeogénesis.
15. Los ciclos del sustrato regulan el flujo de una u otra ruta amplificando las señales metabólicas; en algunos casos, pueden generar calor corporal, producido por la hidrólisis del ATP.
16. Las enzimas de dos ciclos del sustrato son los puntos de control. La ruta glucolítica se activa mediante F-1,6-BP, AMP y F-1,6-BP; mientras que el ATP, la alanina, el citrato y los protones inhiben la glucólisis. La gluconeogénesis se activa mediante citrato y acetil-CoA y se inhibe mediante F-2,6-BP, AMP y ADP.
17. (a) 2, 3, 6, 9: (b) 1, 4, 5, 7, 8.
18. Si se eliminan los grupos amino de la alanina o del aspartato se forman los cetoácidos piruvato u oxalacetato, respectivamente. Estas dos moléculas forman parte de la ruta gluconeogénica.
19. (a) Aumenta; (b) aumenta; (c) aumenta; (d) disminuye.
20. (a) Si ambas enzimas operasen a la vez, tendrían lugar las siguientes reacciones



El resultado neto sería, sencillamente:

$$ATP + H_2O \rightarrow ADP + P_i$$

La energía de la hidrólisis del ATP se liberaría en forma de calor.

(b) En realidad, no. Para que el ciclo genere calor, amabas enzimas tienen que estar funcionando al mismo tiempo en la misma célula.

(c) Las especies *B. terrestris* y *B. rufocinctus* podrían mostrar algunos ciclos fútiles, ya que ambas enzimas presentan un grado de actividad considerable.

(d) No. Estos resultados sencillamente sugieren que, en las especies mostradas, es poco probable que la actividad simultánea de la fosfofructoquinasa y de la fructosa 1,6-bisfosfatasa sea utilizada para generar calor.

21. El ácido láctico es capaz de seguir oxidándose y, por tanto, es energía útil. La conversión de este ácido en glucosa recupera los átomos de carbono para que sirvan de combustible en el futuro.
22. Normalmente, la fructosa 2,6-bisfosfato, que está presente a una concentración elevada cuando abunda la glucosa, inhibe la gluconeogénesis bloqueando la fructosa 1,6-bisfosfatasa. En este trastorno genético, la fosfatasa permanece activa independientemente de los niveles de glucosa. Por tanto, aumenta el ciclo del sustrato. En consecuencia, los niveles de fructosa 1,6-bisfosfato son menores de lo normal. Se forma menos piruvato y, por tanto, se genera menos ATP.
23. No habrá átomos de carbono marcados. El CO_2 añadido al piruvato (formado a partir de lactato) para formar oxalacetato se pierde durante la conversión del oxalacetato en fosfoenolpiruvato.
24. En la gluconeogénesis, la incorporación de cuatro moléculas adicionales con un elevado potencial de transferencia de fosforilos cambia la constante de equilibrio por un factor de 10^{32}, lo que hace que la conversión de piruvato en glucosa sea factible desde el punto de vista termodinámico. Sin este aporte de energía, no se llevaría a cabo la gluconeogénesis.

Capítulo 18

1. El complejo piruvato deshidrogenasa cataliza la siguiente reacción, enlazando la glucólisis y el ciclo del ácido cítrico:

$$\text{Piruvato} + \text{CoA} + NAD^+ \rightarrow \text{acetil-CoA} + \text{NADH} + H^+ + CO_2$$

2. La piruvato deshidrogenasa cataliza la descarboxilación del piruvato y la formación de acetil-lipoamida. La dihidrolipoilo transacetilasa cataliza la formación de acetil-CoA. La dihidrolipoilo deshidrogenasa cataliza la reducción del ácido lipoico oxidado. La PDH quinasa asociada al complejo fosforila y desactiva el complejo, mientras que la PDH fosfatasa desfosforila y activa el complejo.
3. Los pasos restantes regeneran la lipoamida oxidada, necesaria para comenzar el siguiente ciclo de reacciones. Además, esta regeneración da lugar a la producción de electrones de alta energía en forma de NADH.
4. Descarboxilación, oxidación y transferencia del grupo acetilo resultante a la CoA.
5. Oxidación a CO_2 mediante el ciclo del ácido cítrico o incorporación a lípidos.
6. La tiamina pirofosfato desempeña un papel en la descarboxilación del piruvato. El ácido lipoico (en forma de lipoamida) transfiere el grupo acetilo. La coenzima A acepta el grupo acetilo del ácido lipoico formando acetil-CoA. Cuando el ácido lipoico oxidado se reduce, el FAD acepta los electrones y los iones hidrógeno. El NAD^+ acepta electrones del $FADH_2$.
7. Las coenzimas catalíticas (TPP, ácido lipoico y FAD) se modifican, pero se regeneran en cada ciclo de reacciones. De este modo, pueden desempeñar un papel catalítico en el procesamiento de muchas moléculas de piruvato. Las enzimas estequiométricas (coenzima A y NAD^+) solo se utilizan en una reacción, ya que forman parte de los productos de la reacción.
8. Al principio, los electrones se transfieren desde la lipoamida reducida al FAD y, después, al NAD^+. Esta transferencia es inusual, ya que los electrones se transfieren al NAD^+ desde el $FADH_2$. Normalmente, la transferencia se lleva a cabo en la otra dirección.
9. (a) 6; (b) 10; (c) 1; (d) 7; (e) 2; (f) 8; (g) 3; (h) 4; (i) 5; (j) 9.
10. En el músculo, la acetil-CoA generada por el complejo se utiliza para producir energía. En consecuencia, las señales que indican un estado rico en energía (elevada proporción ATP/ADP y NADH/ NAD^+) inhiben el complejo, mientras que las condiciones opuestas estimulan la enzima. El calcio, al ser una señal para la contracción del músculo (y, por tanto, de que se necesita energía) también estimula la enzima. En el hígado, la acetil-CoA procedente del piruvato se utiliza con fines biosintéticos, como la síntesis de ácidos grasos. La insulina, la hormona que indica el estado saciado, estimula el complejo.
11. (a) Un incremento en la actividad quinasa dará lugar a una disminución de la actividad del complejo PDH, porque la fosforilación por medio de la quinasa inhibe al complejo.

(b) La fosfatasa activa el complejo eliminando un grupo fosforilo. Si se reduce la actividad fosfatasa, la actividad del complejo PDH también disminuirá.

12. De alguna manera, tendría que haber estado ingiriendo el arsenito del papel pintado. El arsenito habría inhibido enzimas que requieren ácido lipoico —principalmente, el complejo piruvato deshidrogenasa.
13. Acetil-lipoamida y acetil-CoA.
14. La acetil-CoA inhibirá el complejo. El metabolismo de glucosa a piruvato será más lento, porque la acetil-CoA se está obteniendo a partir de una fuente alternativa.
15. Un tioéster es un intermediario clave durante la formación de 1,3-bisfosfoglicerato a partir de gliceraldehído 3-fosfato en la reacción catalizada por la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa. A continuación, el 1,3-bisfosfoglicerato se metaboliza a piruvato.
16. (a) Una disminución en la cantidad de O_2 necesitará un incremento de la glucólisis anaerobia para producir energía, dando lugar a la formación de una gran cantidad de ácido láctico. (b) En estado de *shock*, se administra el inhibidor de la quinasa para garantizar que la piruvato deshidrogenasa esté funcionando al máximo nivel.

17. La piruvato deshidrogenasa quinasa fosforila e inhibe el componente piruvato deshidrogenasa del complejo piruvato deshidrogenasa. La inhibición de la piruvato deshidrogenasa quinasa puede ser un método eficaz para aumentar la utilización de la glucosa, disminuyendo así los niveles de glucosa en sangre. Además, un aumento de la oxidación del piruvato puede contribuir a disminuir los niveles de glucosa en sangre, ya que reduce el suministro de sustratos para la gluconeogénesis.
18. La tiamina tiazolona pirofosfato es un análogo del estado de transición. En este análogo, el anillo que contiene azufre no está cargado y, por tanto, se parece mucho al estado de transición de la coenzima normal en las reacciones catalizadas por tiamina (p. ej., a la forma resonante sin carga del hidroxietil-TPP).

Capítulo 19

1. $\text{Acetil-CoA} + 3\ \text{NAD}^+ + \text{FAD} + \text{ADP} + \text{P}_i \rightarrow 2\ \text{CO}_2 + 3\ \text{NADH} + 3\ \text{H}^+ + \text{FADH}_2 + \text{ATP} + \text{CoA}$

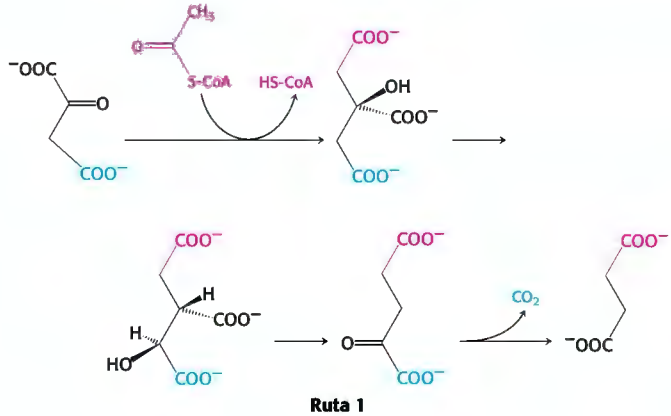
2. El ciclo del ácido cítrico depende de un suministro continuo de NAD^+, que normalmente se genera a partir del NADH mediante la reacción del NADH con el oxígeno. Si no hay oxígeno para aceptar los electrones, el ciclo del ácido cítrico dejará de funcionar.
3. En la primera etapa, se incorporan dos átomos de carbono al ciclo reaccionando con el oxalacetato para formar citrato. Posteriormente, dos átomos de carbono se oxidan a CO_2. En la segunda etapa, la molécula de cuatro átomos de carbono resultante se metaboliza para regenerar el oxalacetato. En ambas etapas se generan electrones de alta energía.
4. (a) 5; (b) 7; (c) 1; (d) 10; (e) 2; (f) 4; (g) 9; (h) 3; (i) 8; (j) 6.
5. La reacción está impulsada por la hidrólisis de un tioéster. La acetil-CoA proporciona el tioéster que se convierte en citril-CoA. Cuando se hidroliza este tioéster, se forma citrato mediante una reacción irreversible.
6. La acetil-CoA no se une a la citrato sintasa mientras el oxalacetato no se encuentre unido y listo para la síntesis de citrato. Además, los grupos catalíticos necesarios para la hidrólisis del tioéster no se encuentran en la posición adecuada para la catálisis a menos que se haya formado la citril-CoA.
7. (a) Además de las enzimas del ciclo del ácido cítrico, se necesitan la isocitrato liasa y la malato sintasa.

(b) $2\ \text{Acetil-CoA} + 2\ \text{NAD}^+ + \text{FAD} + 3\ \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{oxalacetato} + 2\ \text{CoA} + 2\ \text{NADH} + \text{FADH}_2 + 3\ \text{H}^+$

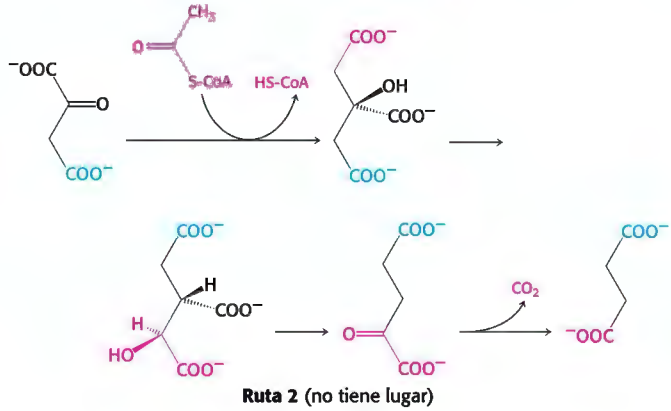
(c) No. Por tanto, los mamíferos no pueden llevar a cabo la síntesis neta de oxalacetato a partir de acetil-CoA.
8. $-41{,}0\ \text{kJ mol}^{-1}$ ($-9{,}8\ \text{kcal mol}^{-1}$).
9. Las enzimas o los complejos enzimáticos son catalizadores biológicos. Recordemos que un catalizador facilita una reacción química sin que el propio catalizador resulte alterado de forma permanente. El ciclo del ácido cítrico funciona catalíticamente, ya que el oxalacetato se une a un grupo acetilo y, tras llevar a cabo la descarboxilación oxidativa de los dos átomos de carbono, se regenera al completarse el ciclo.
10. Aumentará la concentración de succinato y, después, la del α-cetoglutarato y la del resto de intermediarios situados "antes" del lugar de inhibición. El succinato posee dos grupos metileno que son necesarios para la deshidrogenación, mientras que el malonato solo tiene uno.
11. La succinato deshidrogenasa es la única enzima del ciclo del ácido cítrico que está integrada en la membrana mitocondrial, de manera que está asociada a la cadena transportadora de electrones.
12. La reacción catalizada por la succinil-CoA sintetasa:

$$\text{Succinil-CoA} + \text{P}_i + \text{ADP} \rightarrow \text{succinato} + \text{CoA} + \text{ATP}$$

13. Tanto el α-cetoglutarato como el piruvato son α-cetoácidos que se descarboxilan para formar tioésteres de la CoA. Además, los componentes dihidrolipoilo deshidrogenasa de los complejos son idénticos y el resto de las enzimas son parecidas. Por último, los mecanismos de reacción son los mismos.
14. La reacción catalizada por la succinil-CoA sintetasa:
$\text{Succinil-CoA} + \text{P}_i + \text{ADP} \rightarrow \text{succinato} + \text{CoA} + \text{ATP}$
15. La isocitrato deshidrogenasa y la α-cetoglutarato deshidrogenasa.
16. Permite a organismos como plantas y bacterias convertir grasas, a través de la acetil-CoA, en glucosa.
17. No podemos llevar a cabo la conversión neta de grasas en glucosa porque la única forma de incorporar los átomos de carbono de las grasas al oxalacetato, el precursor de la glucosa, es a través del ciclo del ácido cítrico. Sin embargo, aunque se incorporan dos átomos de carbono al ciclo en forma de acetil-CoA, se pierden dos átomos de carbono en forma de CO_2 antes de que se llegue a formar el oxalacetato. Por tanto, aunque algunos átomos de carbono procedentes de las grasas pueden terminar siendo átomos de carbono de la glucosa, no podemos conseguir una síntesis *neta* de glucosa a partir de las grasas.
18. La piruvato carboxilasa solo debería ser activa cuando la concentración de acetil-CoA es elevada. Si no se están satisfaciendo las necesidades energéticas de la célula, se podría acumular acetil-CoA, debido a una insuficiencia de oxalacetato. En estas condiciones, la piruvato carboxilasa cataliza una reacción anaplerótica. Alternativamente, la acetil-CoA se podría acumular porque las necesidades energéticas de la célula se han satisfecho. En este caso, el piruvato se volverá a convertir en glucosa, y el primer paso de esta conversión es la formación de oxalacetato.
19. El citrato es una molécula simétrica. En consecuencia, los investigadores consideraron que los dos grupos $-\text{CH}_2\text{COO}^-$ que tiene reaccionarían de igual forma. Por tanto, pensaron que por cada molécula de citrato que esté experimentando las reacciones mostradas en la ruta 1, otra molécula de citrato reaccionaría según el esquema mostrado en la ruta 2. De ser así, entonces solo la *mitad* del marcaje debería haber aparecido en el CO_2.

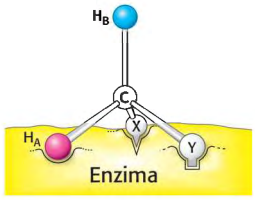


Ruta 1



Ruta 2 (no tiene lugar)

20. A uno de los átomos de hidrógeno lo llamaremos A y al otro B. Ahora, supongamos que una enzima se une a tres grupos de este sustrato —X, Y y H— en tres sitios complementarios. El diagrama adjunto muestra X, Y y H_A unidos a tres lugares de la enzima. Por el contrario, X, Y y H_B no se pueden unir a este centro activo; dos de los tres grupos se podrían unir, pero los tres, no. Por tanto, H_A y H_B tendrán destinos distintos.



En las reacciones enzimáticas, los grupos que no son equivalentes estéricamente, como H_A y H_B, casi siempre se podrán distinguir. La esencia de la diferenciación de estos grupos es que la enzima mantiene al sustrato en una orientación específica. La unión a tres puntos, tal y como se muestra en el esquema, es una forma fácilmente visualizable de conseguir una orientación concreta del sustrato, pero no es la única forma de hacerlo.

21. (a) La oxidación completa del citrato requiere 4,5 μmoles de O_2 por cada micromol de citrato.

$$C_6H_8O_7 + 4{,}5\ O_2 \rightarrow 6CO_2 + 4\ H_2O$$

Por tanto, 3 μmoles de citrato consumirían 13,5 μmoles de O_2.

(b) El citrato dio lugar al consumo de mucho más O_2 del que se podría explicar mediante la simple oxidación del propio citrato. Por tanto, el citrato facilitó el consumo de O_2.

22. (a) En ausencia de arsenito, la cantidad de citrato permanecía constante. En su presencia, la concentración disminuía, lo que sugiere que se estaba metabolizando.

(b) La acción del arsenito no se altera. El citrato sigue desapareciendo.

(c) El arsenito está evitando la regeneración del citrato. Recordemos (p. 326) que el arsenito inhibe el complejo piruvato deshidrogenasa.

23. La infección inicial no se ve afectada por la ausencia de la isocitrato liasa, pero la ausencia de esta enzima inhibe la fase latente de la infección.

(b) Sí.

(c) Un crítico diría que, durante el proceso de eliminación del gen para la isocitrato liasa, se dañó algún otro gen, y la ausencia de este otro gen evita la infección latente. La reinserción del gen para la isocitrato liasa en las bacterias de donde se había eliminado haría que esta crítica fuese menos válida.

(d) La isocitrato liasa permite a las bacterias sintetizar carbohidratos necesarios para la supervivencia, incluyendo los carbohidratos que forman parte de la membrana celular.

24. (a) Tras una ronda del ciclo del ácido cítrico, el marcaje aparece en el C-2 y en el C-3 del oxalacetato. (b) Durante la formación de acetil-CoA a partir de piruvato, el marcaje aparece en el CO_2. (c) Tras una ronda del ciclo del ácido cítrico, el marcaje aparece en el C-1 y en el C-4 del oxalacetato. (d y e) El mismo destino que en el apartado *a*.

25. (a) Las concentraciones en el estado estacionario de los productos son bajas en comparación con las de los sustratos. (b) Para que se forme oxalacaetato, la proporción malato/oxalacetato tiene que ser mayor de $1{,}57 \times 10^4$.

26. La energía liberada cuando el succinato se reduce a fumarato no es suficiente para impulsar la síntesis de NADH pero sí es suficiente para reducir el FAD.

27. El citrato es un alcohol terciario que no se puede oxidar porque la oxidación requiere la eliminación de un átomo de hidrógeno del alcohol y la eliminación de un átomo de hidrógeno del átomo de carbono unido al alcohol. Este hidrógeno no existe en el citrato. La isomerización convierte el alcohol terciario en isocitrato, que es un alcohol secundario que sí se puede oxidar.

28.

$$\text{Piruvato} + \text{CoA} + \text{NAD}^+ \xrightarrow[\text{deshidrogenasa}]{\text{Complejo piruvato}} \text{acetil-CoA} + CO_2 + \text{NADH}$$

$$\text{Piruvato} + CO_2 + \text{ATP} + H_2O \xrightarrow[\text{carboxilasa}]{\text{Piruvato}} \text{oxalacetato} + \text{ADP} + P_i$$

$$\text{Oxalacetato} + \text{acetil-CoA} + H_2O \xrightarrow[\text{sintasa}]{\text{Citrato}} \text{citrato} + \text{CoA} + H^+$$

$$\text{Citrato} \xrightarrow{\text{Aconitasa}} \text{isocitrato}$$

$$\text{Isocitrato} + \text{NAD}^+ \xrightarrow[\text{deshidrogenasa}]{\text{Isocitrato}} \alpha\text{-cetoglutarato} + CO_2 + \text{NADH}$$

Reacción global: 2 Piruvato + 2 NAD^+ + ATP + H_2O → α-cetoglutarato + CO_2 + ADP + 2 NADH + 2 H^+ + P_i

Capítulo 20

1. Un agente oxidante, u oxidante, acepta electrones en reacciones de oxidación-reducción. Un agente reductor, o reductor, cede electrones en este tipo de reacciones.

2. (a) 4; (b) 5; (c) 2; (d) 10; (e) 3; (f) 8; (g) 9; (h) 7; (i) 1; (j) 6.

3. Los bioquímicos utilizan E'_0, el valor a pH 7, mientras que los químicos utilizan E_0, el valor en 1 M H^+. El apóstrofo indica que el estado estándar es a pH 7.

4. El $\Delta G^{o\prime}$ es +67 kJ mol^{-1} (+16,1 kcal mol^{-1}) para la oxidación por el NAD^+ y −3,8 kJ mol^{-1} (−0,92 kcal mol^{-1}) para la oxidación por el FAD. La oxidación del succinato por el NAD^+ no es factible desde el punto de vista termodinámico.

5. El genoma mitocondrial más parecido al de las bacterias, el del protozoo *Reclinomonas americana*, consta de 97 genes, de los que 62 codifican proteínas. Los genes que codifican proteínas, que solo representan el 2% de los genes que codifican proteínas en la bacteria *E. coli*, incluyen todos los genes que codifican proteínas encontrados en todos los genomas mitocondriales secuenciados. Por tanto, el 2% de los genes bacterianos se encuentran en todas las mitocondrias analizadas. No parece probable que los genomas mitocondriales resultantes de varios eventos endosimbióticos puedan haberse reducido de manera independiente al mismo conjunto de genes presente en *R. americana*. La explicación más sencilla es que el evento endosimbiótico tuvo lugar una sola vez y que todas las mitocondrias existentes son descendientes de ese ancestro.

6. El piruvato acepta electrones y, por tanto, es el oxidante. El NADH cede electrones y es el reductor.

7. El valor de $\Delta E'_0$ del hierro se puede alterar cambiando el entorno del hierro.

8. $\Delta G^{o\prime} = -nF\Delta E'_0$

9. Las 10 unidades de isopreno hacen que la coenzima Q sea soluble en el entorno hidrofóbico de la membrana mitocondrial interna. Los dos átomos de oxígeno se pueden unir de forma reversible a dos electrones y a dos protones, a medida que la molécula pasa de la forma quinona a la forma quinol.

10. c, e, b, a d.

11. (a) 4; (b) 3; (c) 1; (d) 5; (e) 2.

12. Radical hidroxilo (OH•), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), ion superóxido ($O_2^{\ }$) y peróxido (O_2^{2-}). Estas pequeñas moléculas reaccionan con un gran número de macromoléculas —incluyendo proteínas, nucleótidos y membranas— para desbaratar la estructura y función celular.

13. Rotenona: se reducirán el NADH y la NADH-CoQ oxidorreductasa. El resto estará oxidado. Antimicina A: se reducirán el NADH, la NADH-CoQ oxidorreductasa y la coenzima Q. El resto estará oxidado. Cianuro: todos estarán reducidos.
14. El respirosoma es otro ejemplo de la utilización de complejos supramoleculares en bioquímica. Al estar asociados entre sí los tres complejos que son bombas de protones, aumentará la eficacia del flujo de electrones de un complejo a otro, lo que, a su vez, hará que el bombeo de protones sea más eficaz.
15. La triosa fosfato isomerasa convierte la dihidroxiacetona fosfato (un posible callejón sin salida) en gliceraldehído 3-fosfato (un intermediario de la glucólisis).
16. (a) Las vitaminas C y E.

(b) El ejercicio induce la superóxido dismutasa, que convierte las ROS en peróxido de hidrógeno y oxígeno.

(c) La respuesta a esta cuestión no está del todo clara. Dos posibilidades son (1) la supresión de ROS por parte de las vitaminas evita la expresión de más superóxido dismutasa y (2) algunas ROS podrían ser moléculas señal necesarias para estimular las rutas sensibles a la insulina.
17. La succinato deshidrogenasa forma parte del Complejo II.
18. En las fermentaciones, los compuestos orgánicos son donadores y aceptores de electrones. En la respiración, el donador de electrones suele ser un compuesto orgánico, mientras que el aceptor de electrones es una molécula inorgánica como el oxígeno.
19. El $\Delta G^{\circ\prime}$ para la reducción del oxígeno por el $FADH_2$ es $-200\ kJ\ mol^{-1}$ ($-48\ kcal\ mol^{-1}$).
20. Este inhibidor (como la antimicina A, ver el problema 13) bloquea la reducción del citrocromo c_1 por parte de QH_2, el punto de convergencia.

Capítulo 21

1. El ATP se recicla mediante procesos generadores de ATP, sobre todo, mediante la fosforilación oxidativa.
2. (a) 4; (b) 6; (c) 8; (d) 1; (e) 10; (f) 9; (g) 2; (h) 3; (i) 5; (j) 7.
3. (a) 12,5; (b) 14; (c) 32; (d) 13,5; (e) 30; (f) 16.
4. (a) La azida bloquea el transporte de electrones y el bombeo de protones por parte del Complejo IV.

(b) El atractilósido bloquea el transporte de electrones y la síntesis de ATP inhibiendo el intercambio de ATP y ADP a través de la membrana mitocondrial interna.

(c) La rotenona bloquea el transporte de electrones y el bombeo de protones por parte del Complejo I.

(d) El DNP bloquea la síntesis de ATP sin inhibir el transporte de electrones, ya que disipa el gradiente de protones.

(e) El monóxido de carbono bloquea el transporte de electrones y el bombeo de protones por parte del Complejo IV.

(f) La antimicina A bloquea el transporte de electrones y el bombeo de protones por parte del Complejo III.
5. Si el gradiente de protones no se disipa mediante la entrada de protones a la mitocondria y la generación de ATP, el exterior de la mitocondria llega a acumular una carga positiva tan grande que hace que la cadena transportadora de electrones sea incapaz de bombear protones en contra del gradiente.
6. (a) No hay efecto; la mitocondria no puede metabolizar la glucosa.

(b) No hay efecto; no hay combustible para impulsar la síntesis de ATP.

(c) La $[O_2]$ disminuye porque el citrato es un combustible y se puede formar ATP a partir de ADP y P_i.

(d) Se detiene el consumo de oxígeno porque la oligomicina inhibe la síntesis de ATP, que está acoplada a la actividad de la cadena transportadora de electrones.

(e) No hay efecto, por las razones comentadas en el apartado *d*.

(f) La $[O_2]$ disminuye rápidamente porque el sistema está desacoplado y no requiere la síntesis de ATP para reducir la fuerza protón-motriz.

(g) La $[O_2]$ disminuye, aunque a una velocidad menor. La rotenona inhibe el Complejo I, pero la presencia de succinato hace posible la incorporación de electrones a través del Complejo II.

(h) Se detiene el consumo de oxígeno porque el Complejo IV está inhibido y la totalidad de la cadena se bloquea.
7. Este defecto (denominado síndrome de Luft) se descubrió en una mujer de 38 años que era incapaz de realizar un ejercicio físico prolongado. Su velocidad de metabolismo basal era más del doble de lo normal, pero su función tiroidea era normal. Una biopsia del músculo puso de manifiesto que sus mitocondrias tenían una estructura atípica y muy variable. Posteriormente, los estudios bioquímicos demostraron que, en estas mitocondrias, la oxidación y la fosforilación no estaban estrechamente acopladas. En este paciente, gran parte de la energía de las moléculas combustible se convertía en calor en vez de en ATP.
8. La diciclohexilcarbodiimida reacciona fácilmente con los grupos carboxilo. Por tanto, las dianas más probables son las cadenas laterales del aspartato y del glutamato. De hecho, este reactivo modifica de manera específica el Asp 61 de la subunidad **c** de la F_0 de *E. coli*. La conversión del Asp 61 en asparagina por medio de mutagénesis dirigida elimina la conducción de protones.
9. Si la fosforilación oxidativa estuviese desacoplada, no se podría producir ATP. Se consumiría una gran cantidad de combustible en un intento inútil por generar ATP. El peligro está en la dosis. Demasiado desacoplamiento daría lugar a daños en los tejidos de los órganos muy aeróbicos como el cerebro o el corazón, lo que tendría graves consecuencias para el organismo en su conjunto. La energía que normalmente se transforma en ATP se liberaría en forma de calor. Para mantener la temperatura del organismo, aumentaría la sudoración, aunque el propio proceso de sudar depende del ATP.
10. Si no se puede disipar el gradiente de protones mediante el flujo a través de la ATP sintasa, el gradiente de protones acabará siendo tan grande que la energía liberada por la cadena transportadora de electrones no será lo suficientemente grande como para bombear protones en contra de un gradiente más intenso de lo normal.
11. El gradiente de protones es necesario para la síntesis de ATP porque el flujo de protones a través de la enzima provoca cambios conformacionales que convierten una subunidad T en una subunidad O, con la consiguiente liberación de ATP. El papel del gradiente de protones no consiste en formar ATP sino en liberarlo de la sintasa.
12. La Arg 210, con su carga positiva, facilitará la liberación de protones por parte del ácido aspártico estabilizando la carga negativa del Asp 61.
13. 2,7; 4; 5
14. Presumiblemente requerirá más ATP, ya que el músculo tiene más necesidades energéticas, especialmente durante el ejercicio. Este requerimiento significa que se necesitarán más lugares donde se lleve a cabo la fosforilación oxidativa, y estos lugares se pueden conseguir por medio de un aumento en la cantidad de crestas mitocondriales.
15. Si el ATP y el ADP no se pueden intercambiar entre la matriz y las mitocondrias, la ATP sintasa dejará de funcionar, ya que no hay sustrato, el ADP. El gradiente de protones acabará haciéndose tan grande que la energía liberada por la cadena transportadora de electrones no será lo suficientemente grande como para bombear protones en contra de un gradiente más intenso de lo normal.
16. Recuerde que la carga negativa extra del ATP en comparación con la del ADP explica la translocación más rápida del ATP hacia el exterior de la matriz mitocondrial. Si la diferencia de cargas entre el ATP y el ADP se redujese gracias a la unión a Mg^{2+}, el ADP podría competir más fácilmente con el ATP para ser transportado al citoplasma.
17. Las subunidades están en continuo movimiento gracias a la energía térmica del entorno (movimiento browniano). El gradiente de protones hace que la rotación en sentido horario sea más probable, ya que esa dirección da lugar al flujo de protones a favor de su gradiente de concentración.

18. Transporte de ATP hacia fuera de la matriz. Transporte de fosfato hacia el interior de la matriz.
19. Si el ADP no puede entrar en las mitocondrias, la cadena transportadora de electrones dejará de funcionar porque no habrá aceptor para la energía. El NADH se acumulará en la matriz. Recordemos que el NADH inhibe algunas enzimas del ciclo del ácido cítrico y que algunas enzimas del ciclo del ácido cítrico necesitan NAD^+. La glucólisis dejará de funcionar aeróbicamente pero empezará a hacerlo de forma anaerobia para que el NADH se pueda volver a oxidar a NAD^+ por medio de la lactato deshidrogenasa.
20. Cuando todo el ADP disponible se ha convertido en ATP, la ATP sintasa no puede seguir funcionando. El gradiente de protones se hace lo suficientemente grande como para que la energía de la cadena transportadora de electrones no baste para bombear en contra del gradiente y el transporte de electrones y, por tanto, el consumo de oxígeno, disminuye.
21. En cada caso, el efecto sobre el gradiente de protones es el mismo.
22. La ATP sintasa bombearía protones a expensas de la hidrólisis del ATP, con lo que mantendría la fuerza protón-motriz. La sintasa funcionaría como una ATPasa. Hay algunas evidencias de que las mitocondrias dañadas utilizan esta estrategia para mantener, al menos de forma provisional, la fuerza protón-motriz.
23. Para conseguir la síntesis de ATP se necesita, en primer lugar, un compartimento cerrado, intrínsecamente impermeable a los protones. En segundo lugar, el transporte de electrones genera un gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial interna. En tercer lugar, un sistema artificial que refleja el sistema de respiración celular demuestra el principio básico de la hipótesis quimiosmótica (ver la Figura 21.2). Se crearon vesículas sintéticas que contenían bacteriorrodopsina y ATP sintasa mitocondrial purificada a partir de corazón de buey. Se genera un gradiente de protones por medio de la bacteriorrodopsina, una proteína de la membrana púrpura de halobacterias que bombea protones al ser iluminada. Cuando las vesículas fueron expuestas a la luz, se formó ATP.
24. Al ponerlos en un medio a pH 4, el interior de los mitoplastos sería más básico (pH 7) que el exterior (pH 4). Por tanto, habríamos impuesto un gradiente artificial de pH. En estas circunstancias deberíamos observar síntesis de ATP.
25. Recordemos que las enzimas catalizan las reacciones en ambas direcciones. La hidrólisis de ATP es exergónica. En consecuencia, la ATP sintasa catalizará la conversión de ATP en sus productos, más estables. *In vivo*, la ATP sintasa funciona como una sintasa porque la energía del gradiente de protones supera la tendencia hacia la hidrólisis del ATP.
26. Sugiere que el funcionamiento anómalo de las mitocondrias podría desempeñar un papel en el desarrollo de la enfermedad de Parkinson. Concretamente, el Complejo I estaría implicado.
27. De ese modo, las quinasas citoplasmáticas tendrían un acceso preferente al ATP exportado.
28. Los ácidos orgánicos de la sangre indican que los ratones están obteniendo gran parte de sus necesidades energéticas a través de la glucólisis anaerobia. El lactato es el producto final de la glucólisis anaerobia. La alanina es una forma de transporte del lactato que contiene un grupo amino. La formación de alanina desempeña un papel en la formación de succinato, provocada por el estado reducido de las mitocondrias.
29. En presencia de mitocondrias que no funcionan correctamente, la única forma de generar ATP es mediante la glucólisis anaerobia, que dará lugar a la acumulación de ácido láctico en la sangre.
30. (a) El succinato es oxidado por el Complejo II, y los electrones se utilizan para establecer una fuerza protón-motriz que impulse la síntesis de ATP.

(b) Se reduce considerablemente la capacidad para sintetizar ATP.

(c) Porque el objetivo consistía en medir la hidrólisis del ATP. Si se hubiese añadido succinato en presencia del ATP, no se hubiese producido la reacción a causa del control respiratorio.

(d) La mutación afecta poco la capacidad de la enzima para catalizar la hidrólisis del ATP.

(e) Sugieren dos cosas: (1) la mutación no afectó al centro catalítico de la enzima, ya que la ATP sintasa sigue siendo capaz de catalizar la reacción opuesta, y (2) la mutación no afectó a la cantidad de enzima presente, puesto que los controles y los pacientes mostraban grados de actividad similares.
31. (a) El cociente P : O equivale al producto de $(H^+/2e^-)$ y (P/H^+). Observe que el cociente P : O es idéntico al cociente P : $2e^-$.

(b) 2,5 y 1,5, respectivamente.
32. El cianuro puede ser letal porque se une a la forma férrica de la citocromo *c* oxidasa y, de esta forma, inhibe la fosforilación oxidativa. El nitrito convierte la ferrohemoglobina en ferrihemoglobina, que también se une al cianuro. Por tanto, la ferrihemoglobina compite con la citocromo *c* oxidasa por el cianuro. Desde el punto de vista terapéutico, esta competición es eficaz, ya que la cantidad de ferrihemoglobina que se puede formar sin impedir el transporte de oxígeno es mucho mayor que la cantidad de citocromo *c* oxidasa.
33. La energía libre disponible a partir de la translocación de dos, tres y cuatro protones es $-38{,}5$; $-57{,}7$ y $-77{,}4$ kJ mol^{-1} ($-9{,}2$; $-13{,}8$ y $-18{,}5$ kcal mol^{-1}), respectivamente. La energía libre consumida durante la síntesis de un mol de ATP en condiciones estándar es 30,5 kJ (7,3 kcal). Por tanto, la energía libre residual de $-8{,}1$; $-27{,}2$ y $-46{,}7$ kJ mol^{-1} ($-1{,}93$; $-6{,}5$ y $-11{,}2$ kcal mol^{-1}) puede impulsar la síntesis de ATP hasta que el cociente $[ATP]/[ADP][P_i]$ sea 26,2; $6{,}5 \times 10^4$ y $1{,}6 \times 10^8$, respectivamente. Las suspensiones de mitocondrias aisladas sintetizan ATP hasta que este cociente sea mayor de 10^4, lo que demuestra que el número de protones translocados por cada ATP sintetizado es, por lo menos, tres.
34. Añadir el inhibidor en presencia y en ausencia de un desacoplante y monitorizar la velocidad de consumo de O_2. Si el consumo de O_2 vuelve a aumentar en presencia de inhibidor y desacoplante, el inhibidor tiene que estar inhibiendo la ATP sintasa. Si el desacoplante no afecta la inhibición, el inhibidor está inhibiendo la cadena transportadora de electrones.

Capítulo 22

1. En última instancia, todos los átomos de carbono de nuestro organismo, no solo los carbohidratos, se incorporan a la biosfera mediante el proceso de fotosíntesis. Además, el oxígeno que necesitamos es producido por la fotosíntesis.

2. $2\ NADP^+ + 3\ ADP^{3-} + 3\ P_i^{2-} + H^+ \rightarrow O_2 + 2\ NADPH + 3\ ATP^{4-} + H_2O$

3. (a) 7; (b) 5; (c) 4; (d) 10; (e) 1; (f) 2; (g) 9; (h) 3; (i) 8; (j) 6.
4. El fotosistema II, junto con el complejo generador de oxígeno, impulsan la liberación de oxígeno. El máximo de absorción de luz por parte del centro de reacción del fotosistema II se produce con luz de 680 nm.
5. El consumo de oxígeno será máximo cuando los fotosistemas I y II estén funcionando de forma cooperativa. Cuando los electrones procedentes del fotosistema II rellenen los huecos electrónicos del fotosistema I, generados al iluminar el centro de reacción del fotosistema I con luz de 700 nm, se generará el oxígeno de forma eficiente.
6. Las reacciones luminosas tienen lugar en las membranas tilacoides. Un aumento de la superficie de las membranas incrementa el número de lugares generadores de ATP y NADPH.
7. La separación de cargas fotoinducida se produce cuando un electrón de alta energía generado mediante la absorción de luz se desplaza hacia una molécula aceptora con un estado excitado de menor energía. En la fotosíntesis, este paso es esencial, ya que la molécula aceptora, que ahora está cargada negativamente, posee un electrón de alta energía que se puede utilizar para generar un gradiente de protones o poder reductor biosintético.
8. Estos complejos absorben más luz de la que puede absorber un centro de reacción por sí solo. Los complejos captadores de luz canalizan la luz hacia los centros de reacción.
9. El aceptor es el $NADP^+$. El donador es el H_2O. La energía de la luz impulsa el flujo de electrones.

10. El gradiente de cargas, uno de los componentes de la fuerza protón-motriz en las mitocondrias, está neutralizado por la entrada de Mg^{2+} al *lumen* de las membranas tilacoides.
11. La clorofila se inserta fácilmente en el interior hidrofóbico de las membranas tilacoides.
12. La clorofila contiene entramados en los que alternan enlaces sencillos y dobles enlaces. Estos entramados permiten a los electrones estar en resonancia y, por tanto, no se encuentran fuertemente retenidos por ningún átomo concreto. Gracias a esta situación, la energía de la luz excita los electrones.
13. Los protones liberados por la oxidación del agua; los protones bombeados hacia el *lumen* por el complejo citocromo *bf*; los protones eliminados del estroma por la reducción del $NADP^+$ y de la plastoquinona.
14. El flujo de electrones desde el PS II a PS I es cuesta arriba, es decir, exergónico. Para que se lleve a cabo este flujo cuesta arriba se tendría que consumir ATP, lo que va en contra de los objetivos de la fotosíntesis.
15. $\Delta E'_0 = 10{,}11$ V y $\Delta G^{o\prime} = -21{,}3$ kJ mol^{-1} ($-5{,}1$ kcal mol^{-1}).
16. (a) Todos los ecosistemas necesitan una fuente de energía externa al sistema, ya que las fuentes de energía química acabarán siendo limitadas. La conversión fotosintética de la luz del sol es un ejemplo de este tipo de procesos.

(b) En absoluto. Spock nos recordaría que los electrones y los protones pueden ser cedidos por productos químicos distintos del agua.
17. La DCMU inhibe la transferencia de electrones en la conexión entre los fotosistemas I y II. En presencia de DCMU se puede liberar O_2, siempre y cuando un aceptor artificial de electrones, como el ferricianuro, puede aceptar electrones de Q.
18. La DCMU no provocará ningún efecto, ya que bloquea el fotosistema II, y la fotofosforilación cíclica utiliza el fotosistema I y el complejo citocromo *bf*.
19. La exposición a la luz permitió la generación de un gradiente de protones, pero la ausencia de ADP y P_i impidió la síntesis de ATP. Cuando se colocaron los cloroplastos en un ambiente oscuro con ADP y P_i, se podría llevar a cabo la síntesis de ATP hasta agotar el gradiente.
20. La generación de oxígeno se pararía. No se disiparía el gradiente de protones generado por el fotosistema II. En poco tiempo, el gradiente se haría tan grande que la energía del flujo de electrones a través del fotosistema II sería incapaz de bombear más protones. Se interrumpiría la generación de oxígeno (al igual que el fotosistema I).
21. Un desacoplante, como el dinitrofenol.
22. Las crestas.
23. En eucariotas, ambos procesos tienen lugar en orgánulos especializados. Los dos procesos dependen de electrones de alta energía para generar ATP. En la fosforilación oxidativa, los electrones de alta energía proceden de los combustibles y se convierten en poder reductor en forma de NADH. En la fotosíntesis, los electrones de alta energía se generan por la luz y se convierten en poder reductor en forma de NADPH. Ambos procesos utilizan reacciones redox para generar un gradiente de protones y las enzimas que convierten el gradiente de protones en ATP son similares en ambos casos. En los dos sistemas, el transporte de electrones tiene lugar en membranas localizadas en el interior de orgánulos.
24. Ambas enzimas transfieren electrones desde el $FADH_2$ a un nucleótido de nicotinamida: $NADP^+$ en el caso de la reductasa y NAD^+ en el caso del complejo deshidrogenasa. Este flujo de electrones es poco frecuente. Normalmente, los electrones fluyen desde el nucleótido de nicotinamida reducido hacia el FAD.
25. Tanto la fotosíntesis como la respiración celular están impulsadas por electrones de alta energía que fluyen hacia un estado más estable. En la respiración celular, los electrones de alta energía proceden de la oxidación de combustibles carbonados, en forma de NADH y de $FADH_2$. A medida que reducen el oxígeno, liberan su energía. En la fotosíntesis, los electrones de alta energía se generan mediante la absorción de la energía de la luz, y encuentran estabilidad en el fotosistema I y en la ferredoxina.
26. (a) Tiorredoxina.

(b) La enzima control no resulta afectada, pero la enzima mitocondrial que contiene parte de la subunidad γ del cloroplasto aumenta su actividad a medida que aumenta la concentración de DTT.

(c) El incremento es aún mayor en presencia de tiorredoxina. La tiorredoxina es el reductor natural de la enzima del cloroplasto y, por tanto, presumiblemente funciona de forma más eficaz que el DTT, que probablemente actúa manteniendo reducida la tiorredoxina.

(d) Parece que sí lo han hecho.

(e) La enzima se puede controlar mediante el estado redox. En células vegetales, la tiorredoxina reducida se genera gracias al fotosistema I. Por tanto, la enzima es activa cuando se está llevando a cabo la fotosíntesis.

(f) Cisteína.

(g) Modificación específica de grupo o mutagénesis dirigida.
27. La absorción de luz por parte del fotosistema I da lugar a un $\Delta E'_0$ de $-1{,}0$ V. Recordemos que $\Delta G'_0 = -nF\Delta E'_0$, donde $F = 96{,}48$ kJ $mol^{-1}V^{-1}$. En condiciones estándar, el incremento de energía de los electrones es 96,5 kJ. Por tanto, la eficacia es del 96,5/172 = 56%.
28. (a) 120 kJ $einstein^{-1}$ (28,7 kcal $einstein^{-1}$).

(b) 1,24 V.

(c) Un fotón de 1.000 nm tiene una energía libre equivalente a 2,4 moléculas de ATP. Se necesita un mínimo de 0,42 fotones para impulsar la síntesis de una molécula de ATP.
29. Los electrones fluyen a través del fotosistema II directamente hacia el ferricianuro. No se necesitan más pasos.
30. Hay que tener en cuenta el NADPH, ya que es una molécula rica en energía. Recordemos del Capítulo 21, que el NADH equivale a 2,5 ATP si es oxidado por la cadena transportadora de electrones. Doce moléculas de NADPH equivalen a 30 ATP. Dieciocho moléculas de ATP se utilizan directamente y, por tanto, para la síntesis de glucosa se necesita el equivalente a 48 moléculas de ATP.

Capítulo 23

1. Los autótrofos pueden utilizar la energía de la luz del sol, dióxido de carbono y agua para sintetizar carbohidratos que, posteriormente, pueden ser utilizados con fines catabólicos o anabólicos. Los heterótrofos requieren combustibles químicos y, por tanto, en última instancia, dependen de los autótrofos.
2. No hay nada siniestro ni secreto relacionado con estas reacciones. A veces, se las denomina reacciones oscuras porque no dependen directamente de la luz del sol.
3. La etapa 1 consiste en la fijación del CO_2 por parte de la ribulosa 1,5-bisfosfato y la consiguiente formación de 3-fosfoglicerato. La etapa 2 consiste en la conversión de parte del 3-fosfoglicerato en hexosas. La etapa 3 consiste en la regeneración de la ribulosa 1,5-bisfosfato.
4. (a) 5; (b) 1; (c) 7; (d) 2; (e) 10; (f) 3; (g) 6; (h) 4; (i) 8; (j) 9.
5. La rubisco cataliza una reacción crucial, pero es muy ineficiente. En consecuencia, se necesita en gran cantidad para compensar su lenta catálisis.
6. Como el carbamato solo se forma en presencia de CO_2, esta propiedad impediría que la rubisco catalice la reacción oxigenasa en ausencia de CO_2.
7. Para formar fosfoenolpiruvato (PEP) a partir de piruvato se necesita ATP. El PEP se combina con el CO_2 formando oxalacetato y, posteriormente, malato. Se necesitan dos moléculas de ATP porque hace falta una segunda molécula de ATP para fosforilar el AMP a ADP.
8. Porque el NADPH se genera en los cloroplastos por medio de las reacciones luminosas.
9. El estroma acumulará Mg^{2+} y se volverá alcalino como consecuencia del movimiento de protones desde el estroma hacia el espacio tilacoide. Por tanto, la actividad de la rubisco se estimula cuando las reacciones luminosas están proporcionando el ATP y el NADPH necesarios para la fijación del carbono y la síntesis de glucosa.

10. Las reacciones luminosas dan lugar a un aumento de las concentraciones en el estroma de NADPH, ferredoxina reducida y Mg^{2+}, así como a un aumento del pH.
11. El ATP se convierte en AMP. Para volver a convertir este AMP en ATP se necesitan dos moléculas de ATP: una para formar ADP y otra para formar ATP a partir del ADP.
12. La actividad oxigenasa de la rubisco aumenta con la temperatura. Las malas hierbas son plantas C_4, mientras que la mayoría de las plantas herbáceas carecen de estas facultades. En consecuencia, las malas hierbas crecerán con fuerza durante el periodo más caluroso del verano, ya que la ruta C_4 proporciona un vasto suministro de CO_2.
13. La fotorrespiración es el consumo de oxígeno por parte de plantas que producen CO_2, pero no genera energía. La fotorrespiración se debe a la actividad oxigenasa de la rubisco. Es un derroche porque la rubisco, en lugar de fijar CO_2 para convertirlo en hexosas, genera CO_2.
14. Concentraciones elevadas de CO_2 impiden que el O_2 acceda al centro activo de la rubisco.
15. A medida que avance el calentamiento global, las plantas C_4 invadirán latitudes más altas, mientras que las plantas C_3 se retirarán a las regiones más frías.
16. El metabolismo C_4 permite a la rubisco funcionar eficazmente incluso cuando las temperaturas son elevadas, lo que favorece la actividad oxigenasa. Además, el metabolismo C_4 permite a las plantas del desierto acumular CO_2 durante la noche, cuando las temperaturas son más frías y la evaporación del agua no supone un problema.
17.

Ciclo de Calvin	Ciclo de Krebs
Estroma	Matriz
Química del carbono para la fotosíntesis	Química del carbono para la fosforilación oxidativa
Fija CO_2	Libera CO_2
Requiere electrones de alta energía (NADPH)	Genera electrones de alta energía (NADH)
Regenera el compuesto de partida (ribulosa 1,5-bisfosfato)	Regenera el compuesto de partida (oxalacetato)
Requiere ATP	Genera ATP o GTP
Estequiometría compleja	Estequiometría sencilla

18. La reducción de cada mol de CO_2 al nivel de una hexosa requiere dos moles de NADPH. La reducción del $NADP^+$ es un proceso que requiere dos electrones. Por tanto, la formación de 2 moles de NADPH requiere el bombeo de 4 moles de electrones por parte del fotosistema I. Los electrones que abandonan el fotosistema I se recuperan gracias al fotosistema II, que necesita absorber un número igual de fotones. Por tanto, se necesitan ocho protones para generar el NADPH necesario. El aporte energético de 8 moles de fotones es de 1.594 kJ (381 kcal). Por tanto, en condiciones estándar, la eficiencia global de la fotosíntesis es de, al menos, 477/1.594 = 30%.
19. (a) En la gráfica A, la curva de la derecha fue generada por la planta C_4. Recordemos que la actividad oxigenasa de la rubisco aumenta con la temperatura más rápidamente que la actividad carboxilasa. En consecuencia, a temperaturas más elevadas, las plantas C_3 fijan menos CO_2. Como las plantas C_4 pueden mantener una concentración más elevada de CO_2, el aumento de la temperatura resulta menos perjudicial.

(b) Predomina la actividad oxigenasa. Además, cuando el aumento de la temperatura es muy grande, la evaporación del agua podría convertirse en un problema. Las temperaturas más altas también pueden empezar a dañar la estructura de las proteínas.

(c) La ruta C_4 es un sistema de transporte activo muy eficaz para concentrar el CO_2, incluso cuando la concentración ambiental es muy pequeña.

(d) Suponiendo que las plantas tienen, aproximadamente, la misma capacidad para fijar CO_2, parece ser que, en las plantas C_4, la ruta C_4 es el paso limitante.
20. (a) 3-Fosfoglicerato. (b) Los otros miembros del ciclo de Calvin.
21. La concentración de 3-fosfoglicerato aumentará, mientras que la de ribulosa 1,5-bisfosfato disminuirá.
22. La concentración de 3-fosfoglicerato disminuirá, mientras que la de ribulosa 1,5-bisfosfato aumentará.
23. (a) El CABP se parece al compuesto formado por la reacción que añade CO_2 a la ribulosa 1,5-bisfosfato. (b) El CABP será un potente inhibidor de la rubisco.

Capítulo 24

1. El paso 1 consiste en la liberación de glucosa 1-fosfato a partir del glucógeno por medio de la glucógeno fosforilasa. La etapa 2 consiste en la formación de glucosa 6-fosfato a partir de glucosa 1-fosfato, una reacción catalizada por la fosfoglucomutasa. La etapa 3 consiste en la remodelación del glucógeno por medio de la transferasa y de la glucosidasa.
2. (a) 8; (b) 3; (c) 6; (d) 5, (e) 9; (f) 2; (g) 10; (h) 1; (i) 4; (j) 7.
3. Porque el músculo mantiene la glucosa para su propio uso, mientras que el hígado mantiene la homeostasis de glucosa en todo el organismo.
4. En el estado T, el centro activo se encuentra parcialmente bloqueado.
5. La fosforilasa quinasa presenta actividad máxima cuando está fosforilada y cuando se encuentra unida a calcio.
6. (a) Las distintas manifestaciones corresponden a las distintas funciones del hígado y del músculo. La glucógeno fosforilasa del hígado desempeña un papel esencial en el mantenimiento de los niveles de glucosa en la sangre. Recordemos que la glucosa es el principal combustible para el cerebro. La glucógeno fosforilasa del músculo solo proporciona glucosa al músculo y solo en el caso de que las necesidades energéticas del músculo sean altas, como al hacer ejercicio.

(b) El hecho de que haya dos enfermedades distintas sugiere que hay dos isozimas diferentes de la glucógeno fosforilasa —una isozima específica para el hígado y una isozima específica para el músculo.
7. En el músculo, la forma *b* de la fosforilasa se activa por el AMP. En el hígado, la forma *a* se inhibe por glucosa, La diferencia corresponde al distinto papel metabólico del glucógeno en cada tejido. El músculo utiliza el glucógeno como combustible para la contracción, mientras que el hígado utiliza el glucógeno para mantener los niveles de glucosa en sangre.
8. Aunque, en realidad, el producto de la reacción de la fosforilasa es la glucosa 1-fosfato, la glucosa 6-fosfato es una molécula más versátil en lo que al metabolismo se refiere. Entre otros destinos, la glucosa 6-fosfato se puede metabolizar para obtener energía o materiales de construcción. En el hígado, la glucosa 6-fosfato se puede convertir en glucosa para que sea liberada a la sangre.
9. La glucógeno fosforilasa *b* en el estado T. El AMP actúa como un activador alostérico para estabilizar el estado R, activo, de la glucógeno fosforilasa *b*.
10. La adrenalina se une a su receptor acoplado a una proteína G. Los cambios estructurales resultantes activan una proteína $G_{\alpha s}$ que, a su vez, activa la adenilato ciclasa. La adenilato ciclasa sintetiza cAMP, que activa la proteína quinasa A. Esta proteína activa parcialmente la fosforilasa quinasa, que fosforila y activa la glucógeno fosforilasa. El calcio liberado durante la contracción muscular activa aún más la fosforilasa quinasa, dando lugar a una mayor estimulación de la glucógeno fosforilasa.
11. En el hígado, el glucagón estimula la ruta, dependiente de cAMP, que activa la proteína quinasa A. La adrenalina se une a un receptor α-adrenérgico con siete hélices transmembrana de la membrana plasmática del hígado, que activa la fosfolipasa C y la cascada de fosfoinosítidos. Esta activación hace que se liberen iones calcio del

retículo endoplasmático, que se unen a la calmodulina y estimulan aún más la fosforilasa quinasa y la degradación del glucógeno.
12. En primer lugar, la ruta de transducción de señales se desconecta cuando la hormona iniciadora deja de estar presente. En segundo lugar, la actividad GTPasa intrínseca de la proteína G convierte el GTP unido en GDP inactivo. En tercer lugar, las fosfodiesterasas convierten el AMP cíclico en AMP. En cuarto lugar, la enzima proteína fosfatasa 1 (PP1) elimina el grupo fosforilo de la glucógeno fosforilasa, con lo que la enzima adopta la forma *b*, que normalmente es inactiva.
13. El glucógeno es una importante reserva de combustible por varias razones. La degradación controlada del glucógeno y la liberación de glucosa aumentan la cantidad de glucosa disponible entre comidas. Por tanto, el glucógeno actúa como un tampón que mantiene los niveles de glucosa en sangre. El papel del glucógeno a la hora de mantener los niveles de glucosa en sangre es especialmente importante, ya que la glucosa es prácticamente el único combustible utilizado por el cerebro, salvo en el caso de un ayuno prolongado. Además, la glucosa procedente del glucógeno se moviliza fácilmente y, por tanto, es una buena fuente de energía para una intensa actividad repentina. A diferencia de los ácidos grasos, la glucosa liberada puede proporcionar energía en ausencia de oxígeno y puede, por tanto, aportar energía para actividades anaeróbicas.
14. Todos estos síntomas indican problemas en el sistema nervioso central. Si el ejercicio es lo suficientemente intenso o el atleta no está lo suficientemente bien preparado, o ambas cosas, también se puede agotar el glucógeno del hígado. El cerebro depende de la glucosa procedente del glucógeno hepático. Los síntomas indican que el cerebro no está obteniendo suficiente combustible.
15. La fosforilasa formaría glucosa 1-arseniato, que se hidrolizaría espontáneamente produciendo glucosa y arseniato. La glucosa liberada por la fosforilasa en presencia de arseniato tendría que ser fosforilada por la hexoquinasa a costa de una molécula de ATP.
16. Fosforilasa, transferasa, glucosidasa, fosfoglucomutasa y glucosa 6-fosfatasa.
17. La fosforilasa *a* del hígado se inhibe por glucosa, que facilita la transición R → T. La fosforilasa del músculo no es sensible a la glucosa.
18. Al ser un polímero lineal, la α-amilosa solo tiene un extremo no reductor. Por tanto, solo una molécula de glucógeno fosforilasa podría degradar cada molécula de α-amilosa. Como el glucógeno está muy ramificado, hay muchos extremos no reductores en cada molécula. En consecuencia, en cada molécula de glucógeno, muchas moléculas de glucógeno fosforilasa pueden liberar muchas moléculas de glucosa.
19. (a) B y D; (b) fosforilasa quinasa; (c) C a D; (d) B a A; (e) D a C; (f) proteína fosfatasa 1.
20. El sustrato puede pasar directamente del lugar de la transferasa al lugar desramificante.
21. Durante el ejercicio, [ATP] disminuye y [AMP] aumenta. Recordemos que el AMP es un activador alostérico de la glucógeno fosforilasa *b*. Por tanto, incluso en ausencia de modificación covalente por parte de la fosforilasa quinasa, el glucógeno se degrada.
22. La glucosa es un inhibidor alostérico de la fosforilasa *a*. Por tanto, los cristales formados en su presencia se encuentran en el estado T. La adición de glucosa 1-fosfato, un sustrato, desplaza el equilibrio entre R y T hacia el estado R. Las diferencias conformacionales entre estos estados son lo suficientemente grandes como para que el cristal se destruya, a no ser que se encuentre estabilizado mediante entrecruzamientos químicos.
23. Gluconeogénesis.
24. Se tiene que fosforilar la glucosa libre a costa de una molécula de ATP. La glucosa 6-fosfato procedente del glucógeno se forma mediante una ruptura fosforolítica, ahorrando así una molécula de ATP. Por tanto, cuando la glucosa procedente del glucógeno se metaboliza a piruvato, el rendimiento neto de ATP es de tres moléculas, a diferencia de las dos moléculas de ATP que se obtienen a partir de la glucosa libre.
25. Las células mantienen el cociente $[P_i]/[\text{glucosa 1-fosfato}]$ con un valor mayor de 100, lo que favorece considerablemente la fosforolisis. Vemos aquí un ejemplo de cómo puede la célula alterar el incremento de energía libre para favorecer el desarrollo de una reacción cambiando la proporción entre sustrato y producto.
26. Para evitar la hidrólisis, se excluye el agua del centro activo de la fosforilasa. La entrada de agua podría dar lugar a la formación de glucosa en vez de glucosa 1-fosfato. En este sentido, un experimento de mutagénesis dirigida resulta revelador. En la fosforilasa salvaje, la Tyr 573 forma un puente de hidrógeno con el grupo OH en posición 2′ de un residuo de glucosa. En la enzima salvaje, la proporción entre la glucosa 1-fosfato y el producto glucosa es de 9.000:1 y en el mutante Phe 573 es de 500:1. La construcción de modelos sugiere que hay una molécula de agua en el lugar que normalmente está ocupado por el grupo OH de la tirosina y que, de vez en cuando, ataca el ion oxocarbonio intermediario, formando glucosa.
27. Como ya hemos comentado (p. 309) y volveremos a ver en el Capítulo 25, una de las consecuencias de la resistencia a la insulina es la falta de una inhibición adecuada de la gluconeogénesis y de la degradación del glucógeno. En consecuencia, la inhibición de la glucógeno fosforilasa del hígado podría ayudar a reducir la elevada concentración de glucosa en sangre. El problema es que también se inhibiría la fosforilasa muscular, que no contribuye a los niveles de glucosa en sangre.

Capítulo 25

1. (a) 4; (b) 1; (c) 5; (d) 10; (e) 7; (f) 2; (g) 8; (h) 9; (i) 6; (j) 3.
2. Fosfoglucomutasa, UDP-glucosa pirofosforilasa, pirofosfatasa, glucogenina, glucógeno sintasa y enzima ramificante.
3.

$$\text{Glucosa 6-fosfato} \longrightarrow \text{glucosa 1-fosfato} \quad (1)$$

$$\text{Glucosa 1-fosfato} + \text{UTP} \longrightarrow \text{UDP- glucosa} + PP_i \quad (2)$$

$$PP_i + H_2O \longrightarrow 2\,P_i \quad (3)$$

$$\text{UDP- glucosa} + \text{glucógeno}_n \longrightarrow \text{glucógeno}_{n+1} + \text{UDP} \quad (4)$$

$$\text{UDP} + \text{ATP} \longrightarrow \text{UTP} + \text{ADP} \quad (5)$$

$$\text{Suma: Glucosa 6-fosfato} + \text{ATP} + \text{glucógeno}_n + H_2O \longrightarrow \text{glucógeno}_{n+1} + \text{ADP} + 2\,P_i$$

4. La enzima pirofosfatasa convierte el pirofosfato en dos moléculas de fosfato inorgánico. Esta conversión hace que la reacción global sea irreversible.

$$\begin{array}{r} \text{Glucosa 1-fosfato} + \text{UTP} \rightleftharpoons \text{UDP- glucosa} + PP_i \\ PP_i + H_2O \longrightarrow 2\,P_i \\ \hline \text{Glucosa 1-fosfato} + \text{UTP} + H_2O \longrightarrow \text{UDP- glucosa} + 2\,P_i \end{array}$$

5. La presencia de altas concentraciones de glucosa 6-fosfato indica que abunda la glucosa y que no se está utilizando en la glucólisis. Por tanto, se ahorra este valioso recurso incorporándolo al glucógeno.
6. La glucogenina es un dímero que cataliza la adición de 8 unidades glucosilo unidas mediante enlaces α-1,4 a cada subunidad glucogenina. A continuación, la glucogenina modificada actúa como cebador para la glucógeno sintasa, que alarga la cadena de glucógeno formando más enlaces α-1,4.
7. Se tiene que fosforilar la glucosa libre a costa de una molécula de ATP. La glucosa 6-fosfato procedente del glucógeno se forma mediante una ruptura fosforolítica, ahorrando así una molécula de ATP. Por tanto, cuando la glucosa procedente del glucógeno se metaboliza a piruvato, el rendimiento neto de ATP es de tres moléculas, a diferencia de las dos moléculas de ATP que se obtienen a partir de la glucosa libre.
8. Degradación: la fosfoglucomutasa convierte la glucosa 1-fosfato, procedente de la degradación del glucógeno, en glucosa 6-fosfato, que se puede liberar en forma de glucosa libre (en el hígado) o metabolizarse

mediante la glucólisis (en músculo e hígado). Síntesis: convierte la glucosa 6-fosfato en glucosa 1-fosfato, que reacciona con UTP formando UDP-glucosa, el sustrato para la glucógeno sintasa.

9.

$$\text{Glucógeno}_n + P_i \longrightarrow \text{glucógeno}_{n-1} + \text{glucosa 6-fosfato}$$

$$\text{Glucosa 6-fosfato} \rightleftharpoons \text{glucosa 1-fosfato}$$

$$\text{UTP} + \text{glucosa 1-fosfato} \longrightarrow \text{UDP-glucosa} + 2\,P_i$$

$$\text{Glucógeno}_{n-1} + \text{UDP-glucosa} \longrightarrow \text{glucógeno}_n + \text{UDP}$$

$$\text{Suma: Glucógeno}_n + \text{UTP} \longrightarrow \text{glucógeno}_{n1} + \text{UDP} + P_i$$

10. En principio, que el glucógeno fuese el único cebador para la síntesis de más glucógeno debería ser una estrategia exitosa. Sin embargo, si los gránulos de glucógeno no se dividiesen en partes iguales entre las células hijas, las reservas de glucógeno para las futuras generaciones de la célula podrían verse comprometidas. La glucogenina sintetiza el cebador para la glucógeno sintasa.

11. La insulina se une a su receptor y activa la actividad tirosina quinasa del receptor, lo que, a su vez, pone en marcha una ruta que activa proteína quinasas. La ruta de transducción de señales da lugar a un aumento del número de transportadores de glucosa en la membrana. Además, las quinasas fosforilan y desactivan la glucógeno sintasa quinasa. Posteriormente, la proteína fosfatasa 1 elimina el fosfato de la glucógeno sintasa y, con ello, activa la sintasa.

12. En la enfermedad de von Gierke, el elevado nivel de glucosa 6-fosfato, que es consecuencia de la ausencia de glucosa 6-fosfatasa o de su transportador, desplaza el equilibrio alostérico de la glucógeno sintasa fosforilada hacia la forma activa.

13. (a) La fosforilasa *b* del músculo estará inactiva incluso cuando los niveles de AMP sean altos. Por tanto, no se degradará glucógeno a menos que la fosforilasa se convierta en la forma *a* por medio de una fosforilación inducida por hormona o inducida por Ca^{2+}.

(b) La fosforilasa *b* no se puede convertir en la forma *a*, mucho más activa. Por tanto, la movilización del glucógeno hepático estará notablemente desfavorecida.

(c) El elevado nivel de la quinasa dará lugar a la fosforilación y activación de la glucógeno fosforilasa. Como el glucógeno se estará degradando de manera persistente, habrá poco glucógeno en el hígado.

(d) La proteína fosfatasa 1 estará activa de manera continua. Por tanto, el nivel de fosforilasa *b* será más alto de lo normal y el glucógeno se degradará con menos facilidad.

(e) La proteína fosfatasa 1 será mucho menos eficaz a la hora de desfosforilar la glucógeno sintasa y la glucógeno fosforilasa. En consecuencia, la sintasa permanecerá en la forma *b*, menos activa, y la fosforilasa permanecerá en la forma *a*, más activa. Ambos cambios darán lugar a un aumento de la degradación del glucógeno.

(f) La ausencia de glucogenina bloqueará la iniciación de la síntesis de glucógeno. En estas condiciones se sintetizará muy poco glucógeno.

14. (a) En estas circunstancias, la subunidad α siempre estará activa. Siempre se producirá AMP cíclico. Siempre se degradará glucógeno y la síntesis de glucógeno siempre estará inhibida.

(b) La fosfodiesterasa destruye el cAMP. Por tanto, la degradación del glucógeno siempre estará activa y la síntesis de glucógeno siempre estará inhibida.

15. Esta enfermedad también se puede producir por una mutación en el gen que codifica el transportador de glucosa 6-fosfato. Recordemos que la glucosa 6-fosfato tiene que ser transportada al *lumen* del retículo endoplasmático para que sea hidrolizada por la fosfatasa (p. 305). Análogamente, mutaciones en las otras tres proteínas esenciales de este sistema pueden dar lugar a la enfermedad de von Gierke.

16. El glucagón estimula la degradación del glucógeno y el producto de la enzima desramificante es la glucosa libre, que se libera a la sangre (~10% de la glucosa disponible en el glucógeno se encuentra en los puntos de ramificación α-1,6).

17. La galactosa se convierte en UDP-galactosa para formar, en última instancia, glucosa 6-fosfato.

18. $$\text{Galactosa} + \text{ATP} + \text{UTP} + H_2O + \text{glucógeno}_n \longrightarrow \text{glucógeno}_{n+1} + \text{ADP} + \text{UDP} + 2\,P_i + H^+$$

19. La actividad amilasa era necesaria para la eliminación de todo el glucógeno de la glucogenina. Recordemos que la glucogenina sintetiza oligosacáridos de unas ocho unidades de glucosa y que, después, la actividad se detiene. En consecuencia, si no se eliminan los residuos de glucosa mediante un tratamiento exhaustivo con amilasa, la glucogenina no funcionará.

20. El paciente presenta una insuficiencia de la enzima ramificante.

21. (a) El glucógeno era demasiado grande para introducirse en el gel y, como el análisis consistía en una transferencia western que utilizaba un anticuerpo específico contra la glucogenina, no deberíamos observar bandas de proteína.

(b) La α-amilasa degrada el glucógeno, liberado la proteína glucogenina, que se puede visualizar mediante la transferencia western.

(c) Glucógeno fosforilasa, glucógeno sintasa y proteína fosfatasa 1. Estas proteínas se podrían ver si se hubiese hecho una tinción de proteínas en el gel, pero una transferencia western solo pone de manifiesto la presencia de la glucogenina.

22. (a) La estela se debía a moléculas de glucogenina unidas a una cantidad cada vez mayor de glucógeno.

(b) Cuando el medio carece de glucosa, se metaboliza el glucógeno, dando lugar a una pérdida de material de alto peso molecular.

(c) Cuando se volvió a suministrar glucosa a las células, se podría haber vuelto a sintetizar el glucógeno y ser añadido a la glucogenina.

(d) Que no haya diferencias entre las calles 3 y 4 sugiere que, en 1 hora, las moléculas de glucógeno han alcanzado su máximo tamaño en esta línea celular. Aparentemente, una incubación prolongada no da lugar a un aumento de la cantidad de glucógeno.

(e) La α-amilasa elimina prácticamente todo el glucógeno y, por tanto, solo queda la glucogenina.

Capítulo 26.

1. (a) C; (b) B y F; (c) G; (d) F; (e) E; (f) H; (g) I; (h) D; (i) A; (j) F; (k) B.

2. La fase oxidativa genera NADPH y es irreversible. La fase no oxidativa permite la interconversión de azúcares fosforilados.

3. Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa. Los niveles de $NADP^+$.

4. Cuando se necesita mucho NADPH. La fase oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato va seguida de la fase no oxidativa. La fructosa 6-fosfato y el gliceraldehído 3-fosfato resultantes se utilizan para generar glucosa 6-fosfato mediante la gluconeogénesis y el ciclo se repite hasta que el equivalente a una molécula de glucosa se oxida a CO_2.

5. Las habas contienen pamaquina, un glicósido de purina que puede dar lugar a la generación de peróxidos —especies reactivas del oxígeno que pueden dañar las membranas, así como otras biomoléculas. El glutatión se utiliza para neutralizar las ROS. La regeneración del glutatión depende de un adecuado suministro de NADPH, que se sintetiza durante la fase oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato. Las personas con niveles reducidos de la deshidrogenasa son especialmente sensibles a los efectos tóxicos de la pamaquina.

6. Se puede utilizar la fase no oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato para convertir tres moléculas de ribosa 5-fosfato en dos moléculas de fructosa 6-fosfato y una molécula de gliceraldehído 3-fosfato. Estas moléculas forman parte de la ruta glucolítica.

7. La conversión de fructosa 6-fosfato en fructosa 1,6-bisfosfato necesita ATP.

8. El marcaje aparece en el C-5 de la ribulosa 5-fosfato.
9. Porque los glóbulos rojos carecen de mitocondrias y la única forma de obtener NADPH es a través de la ruta de las pentosas fosfato. Hay mecanismos bioquímicos para convertir el NADH mitocondrial en NADPH citoplasmático.
10. El ciclo de Calvin comienza con la fijación de CO_2 y prosigue utilizando el NADPH para la síntesis de glucosa. La ruta de las pentosas fosfato comienza con la oxidación de un átomo de carbono procedente de la glucosa a CO_2, al tiempo que genera NADPH. La fase de regeneración del ciclo de Calvin convierte moléculas C_6 y C_3 en el material de partida —la ribulosa 1,5-bisfosfato, una molécula C_5. La ruta de las pentosas fosfato convierte una molécula C_5, la ribosa 5-fosfato, en intermediarios C_6 y C_3 de la ruta glucolítica.
11. La descarboxilación oxidativa de isocitrato a α-cetoglutarato.
12. Al carecer de mitocondrias, para obtener energía en forma de ATP, los glóbulos rojos metabolizan la glucosa a lactato. El CO_2 es el resultado del amplio uso de la ruta de las pentosas fosfato acoplada a la gluconeogénesis. Este acoplamiento permite la generación de gran cantidad de NADPH mediante la oxidación completa de la glucosa por medio de la rama oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato.
13. Los C-1 y C-3 de la fructosa 6-fosfato están marcados, mientras que la eritrosa 4-fosfato no está marcada.

14. (a) 5 Glucosa 6-fosfato + ATP ⟶ 6 ribosa 5-fosfato + ADP + H^+

(b) Glucosa 6-fosfato + 12 $NADP^+$ + 7 H_2O ⟶ 6 CO_2 + 12 NADPH + 12 H^+ + P_i

15. El $\Delta E'_0$ para la reducción de glutatión por NADPH es +0,09 V. Por tanto, el $\Delta G^{o\prime}$ es −17,4 kJ mol^{-1} (−4,2 kcal mol^{-1}), lo que corresponde a una constante de equilibrio de 1.126. El cociente [NADPH]/[$NADP^+$] que se necesita es $8{,}9 \times 10^{-5}$.
16. Incubar una alícuota de un homogenado tisular con glucosa marcada con ^{14}C en el C-1, e incubar otra con glucosa marcada con ^{14}C en el C-6. Comparar la radiactividad del CO_2 producido por ambas muestras. El fundamento de este experimento es que durante la ruta de las pentosas fosfato solo se descarboxila el C-1, mientras que cuando la glucosa se metaboliza mediante la ruta glucolítica, el complejo piruvato deshidrogenasa y el ciclo del ácido cítrico, el C-1 y el C-6 se descarboxilan en igual proporción. La razón de que el C-1 y el C-6 sean equivalentes en este último conjunto de reacciones es que el gliceraldehído 3-fosfato y la dihidroxiacetona fosfato se interconvierten rápidamente gracias a la triosa fosfato isomerasa.

Capítulo 27

1. En la etapa 1, los triacilgliceroles se degradan a ácidos grasos y glicerol, que son liberados por el tejido adiposo y transportados a los tejidos que necesitan energía. En la etapa 2, los ácidos grasos se activan y son transportados a las mitocondrias para su degradación. En la etapa 3, los ácidos grasos se descomponen, paso a paso, formando acetil-CoA que, posteriormente, se metaboliza mediante el ciclo del ácido cítrico.
2. En el tejido adiposo, el glucagón y la adrenalina estimulan receptores con 7 hélices transmembrana (7TM) que activan la adenilato ciclasa (p. 446). A continuación, el aumento de los niveles de AMP cíclico estimula la proteína quinasa A, que fosforila dos proteínas clave: la perilipina, una proteína asociada a las gotitas de grasa, y la lipasa sensible a hormonas. La fosforilación de la perilipina remodela la gotita de grasa de modo que los triacilgliceroles se puedan movilizar más fácilmente, lo que desencadena la liberación de un coactivador para la lipasa de triglicéridos del tejido adiposo (ATGL). La ATGL inicia la movilización de los triacilgliceroles liberando un ácido graso del triacilglicerol, formando diacilglicerol. El diacilglicerol se convierte en un ácido graso y monoacilglicerol gracias a la lipasa sensible a hormonas. La lipasa de monoacilglicerol completa la movilización de los ácidos grasos generando un ácido graso y glicerol.
3. La total reversibilidad se debe al elevado contenido energético del tioéster en la acil-CoA.
4. $RCOO^-$ + CoA + ATP + H_2O ⟶ RCO-CoA + AMP + 2 P_i
5. Para convertir el AMP en una forma que pueda ser fosforilada mediante fosforilación oxidativa o mediante fosforilación a nivel de sustrato se tiene que gastar otra molécula de ATP en la reacción:

$$ATP + AMP \rightleftharpoons 2\ ADP$$

6. Oxidación por el dinucleótido de flavina y adenina (FAD), hidratación, oxidación por el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+) y tiolisis por la coenzima A.
7. (a) 5; (b) 11; (c) 1; (d) 10; (e) 2; (f) 6; (g) 9; (h) 3; (i) 4; (j) 7; (k) 8.
8. b, c, a, g, h, d, e, f.
9. Los ácidos grasos no se pueden transportar a las mitocondrias para su oxidación. Los músculos no podrían utilizar grasas como combustible. Los músculos podrían utilizar la glucosa procedente del glucógeno. Sin embargo, cuando se agotan las reservas de glucógeno, como ocurre tras un ayuno, el efecto de la insuficiencia es especialmente visible.
10. La tiolisis del penúltimo producto de la degradación, el acetoacetil-CoA, genera dos moléculas de acetil-CoA mediante la tiolisis de una sola molécula de CoA.
11. El ácido palmítico genera 106 moléculas de ATP. El ácido palmitoleico posee un doble enlace entre los carbonos C-9 y C-10. Cuando el ácido palmitoleico se metaboliza mediante la β-oxidación, no tendrá lugar uno de los pasos de la oxidación (la introducción de un doble enlace previa a la adición de agua), puesto que ya existe un doble enlace. Por tanto, no se generará $FADH_2$ y el ácido palmitoleico generará 1,5 moléculas menos de ATP que el ácido palmítico, es decir, generará un total de 104,5 moléculas de ATP.
12.

Coste de la activación para formar acil-CoA	− 2 ATP
Siete rondas que producen:	
7 Acetil-CoA, a 10 ATP/acetil-CoA	+70 ATP
7 NADH, a 2,5 ATP/NADH	+17,5 ATP
7 $FADH_2$, a 1,5 ATP/$FADH_2$	+10,5 ATP
Propionil-CoA, que necesita un ATP para convertirse en succinil-CoA	− 1 ATP
Succinil-CoA → succinato	+ 1 ATP (GTP)
Succinato → fumarato + $FADH_2$ $FADH_2$, a 1,5 ATP/$FADH_2$	+ 1,5 ATP
Fumarato → malato	
Malato → oxalacetato + NADH NADH, a 2,5 ATP/NADH	+ 2,5 ATP
Total	100 ATP

13. Es posible que se odie a la mañana siguiente pero, por lo menos, no tendrá que preocuparse del aspecto energético. La formación de estearil-CoA requiere el equivalente a dos moléculas de ATP.

Estearil-CoA + 8 FAD + 8 NAD^+ + 8 CoA + 8 H_2O → 9 acetil-CoA + 8 $FADH_2$ + 8 NADH + 8 H^+

9 Acetil-CoA, a 10 ATP/acetil-CoA	+90 ATP
8 NADH, a 2,5 ATP/NADH	+20 ATP
8 $FADH_2$, a 1,5 ATP/$FADH_2$	+12 ATP
Coste de la activación	− 2,0
Total	122 ATP

14. Tras una noche de sueño, las reservas de glucógeno estarán bajas, pero habrá gran cantidad de grasa. Los músculos utilizarán grasa como combustible. ¿Por qué la cafeína? La movilización de los lípidos se estimula por glucagón y adrenalina y ambas hormonas pueden funcionar mediante la cascada de cAMP. El cAMP estimula la proteína quinasa A, que estimula la degradación de los triacilgliceroles en el tejido adiposo. Si se inhibe la hidrólisis de cAMP a AMP, la estimulación de la proteína quinasa A será máxima, la movilización de las grasas será máxima y su aspecto será tan esbelto y musculoso como el de un cisne.
15. Recuerde que, en el ciclo del ácido cítrico, 1 molécula de $FADH_2$ genera 1,5 moléculas de ATP, 1 molécula de NADH genera 2,5 moléculas de ATP y 1 molécula de acetil-CoA genera 10 moléculas de ATP. Cuando la glucosa se degrada a 2 moléculas de piruvato se producen dos moléculas de ATP. También se producen dos moléculas de NADH pero, para entrar en las mitocondrias, los electrones se transfieren al $FADH_2$. Cada molécula de $FADH_2$ puede genera 1,5 moléculas de ATP. Cada molécula de piruvato producirá 1 molécula de NADH. Cada molécula de acetil-CoA genera 3 moléculas de NADH, 1 molécula de $FADH_2$ y 1 molécula de ATP o GTP, que es tan bueno como el ATP. Por tanto, tenemos un total de 10 moléculas de ATP por molécula de acetil-CoA, ó 20 a partir de 2 moléculas de acetil-CoA. Para la glucosa, el total es 30 ATP. Y ahora, ¿qué ocurre en el caso del ácido hexanoico? El ácido caproico se activa a caproil-CoA a costa de 2 ATP y, por tanto, tenemos 2 ATP en el debe. El primer ciclo de la β-oxidación genera 1 $FADH_2$, 1 NADH y 1 acetil-CoA. Tras el paso de la acetil-CoA por el ciclo del ácido cítrico se habrán generado un total de 14 ATP. El segundo ciclo de la β-oxidación genera 1 $FADH_2$ y 1 NADH, pero 2 acetil-CoA. Tras el paso de la acetil-CoA por el ciclo del ácido cítrico se habrá generado un total de 24 ATP. El total es 36 ATP. Por tanto, el maloliente ácido caproico tiene un rendimiento neto de 36 ATP. Por tanto, en base al número de átomos de carbono, esta grasa genera un 20% más ATP que la glucosa, una manifestación del hecho de que las grasas estén más reducidas que los carbohidratos.

16. $\text{Estearato} + \text{ATP} + 13{,}5\ H_2O + 8\ \text{FAD} + 8\ NAD^+ \rightarrow$
$4{,}5\ \text{acetoacetato} + 14{,}5\ H^+ + 8\ FADH_2 + 8\ \text{NADH} + \text{AMP} + 2\ P_i$

17. El palmitato se activa y, después, se metaboliza por medio de la β-oxidación, según la siguiente serie de reacciones.

$$\text{Palmitato} + \text{CoA} + \text{ATP} \rightarrow \text{palmitil-CoA} + \text{AMP} + 2\ P_i$$

$$\text{Palmitil-CoA} + 7\ \text{FAD} + 7\ NAD^+ + 7\ \text{CoASH} + H_2O \rightarrow 8\ \text{acetil-CoA} + 7\ FADH_2 + 7\ \text{NADH} + 7\ H^+$$

Las 8 moléculas de acetil-CoA se combinan formando 4 moléculas de acetoacetato, que son liberadas a la sangre y, por tanto, no contribuyen al rendimiento energético en el hígado. Sin embargo, el $FADH_2$ y el NADH generados durante la preparación de la acetil-CoA pueden metabolizarse mediante la fosforilación oxidativa para generar ATP.

$$1{,}5\ \text{ATP}/\ FADH_2 \times 7 = 10{,}5\ \text{ATP}$$
$$2{,}5\ \text{ATP}/\ \text{NADH} \times 7 = 17{,}5\ \text{ATP}$$

Se utilizó el equivalente a 2 ATP para formar palmitil-CoA. Por tanto, se han generado 26 ATP que pueden ser utilizados por el hígado.
18. El NADH producido por la oxidación a acetoacetato = 2,5 ATP. El acetoacetato se convierte en acetoacetil-CoA.

La hidrólisis del acetoacetil-CoA genera dos moléculas de acetil-CoA y cada una de ellas produce 10 ATP al ser metabolizada mediante el ciclo del ácido cítrico. El rendimiento total de ATP es de 12,5 moléculas.
19. Porque se utiliza una molécula de succinil-CoA para formar acetoacetil-CoA. La succinil-CoA se podría utilizar para generar una molécula de ATP (GTP) y, por tanto, alguien podría argumentar que el rendimiento es de 11,5 moléculas.
20. Para la combustión de las grasas, no solo se tienen que convertir en acetil-CoA sino que también se tienen que metabolizar la acetil-CoA a través del ciclo del ácido cítrico. Para que la acetil-CoA se incorpore al ciclo del ácido cítrico tiene que haber un suministro de oxalacetato. El oxalacetato se puede formar por medio del metabolismo de la glucosa a piruvato y la posterior carboxilación del piruvato para formar oxalacetato.
21. La ausencia de cuerpos cetónicos se debe al hecho de que el hígado, la fuente de los cuerpos cetónicos que van a parar a la sangre, no puede oxidar los ácidos grasos para producir acetil-CoA. Además, como no funciona la oxidación de los ácidos grasos, el hígado se vuelve más dependiente de la glucosa como fuente de energía. Esta dependencia da lugar a una disminución de la gluconeogénesis y a una caída de los niveles de glucosa en sangre, que se ve agravada por la falta de oxidación de ácidos grasos en el músculo y el consiguiente aumento de la absorción de la glucosa presente en la sangre.
22. Las células del hígado carecen de la CoA transferasa específica que convierte el acetoacetato en acetoacetil-CoA, que posteriormente se escinde formando dos moléculas de acetil-CoA. La falta de esta enzima permite al hígado generar cuerpos cetónicos, pero no le permite utilizarlos.
23. En ausencia de insulina, la movilización de lípidos tendrá lugar con tal intensidad que desbordará la capacidad del hígado para convertir los lípidos en cuerpos cetónicos.
24. Dos átomos de carbono se incorporan al ciclo en forma de un grupo acetilo, pero dos átomos de carbono abandonan el ciclo en forma de CO_2 antes de que se genere oxalacetato. En consecuencia, no es posible la síntesis neta de oxalacetato. Por el contrario, las plantas poseen dos enzimas adicionales que les permiten convertir los átomos de carbono de la acetil-CoA en oxalacetato mediante el ciclo del glioxilato (p. 340).
25. Los esqueletos carbonados de los aminoácidos liberados se utilizan para sintetizar glucosa para que sea utilizada por el cerebro y los glóbulos rojos.
26. El músculo deja de utilizar la glucosa como combustible y empieza a utilizar ácidos grasos. Este cambio reduce la necesidad de degradar proteínas para formar glucosa. La degradación de los ácidos grasos por parte del músculo interrumpe la conversión de piruvato en acetil-CoA, porque la acetil-CoA procedente de los ácidos grasos inhibe la piruvato deshidrogenasa, la enzima que convierte el piruvato en acetil-CoA.

27. $\text{Glicerol} + 2\ NAD^+ + P_i + \text{ADP} \rightarrow \text{piruvato} + \text{ATP} + H_2O + 2\ \text{NADH} + H^+$

Glicerol quinasa y glicerol fosfato deshidrogenasa.
28. El ciclo del ácido cítrico. Las reacciones que convierten succinato en oxalacetato, o viceversa, son similares a las del metabolismo de los ácidos grasos (pp. 469 y 484).
29. (a) Las grasas arden en la llama de los carbohidratos. En ausencia de carbohidratos, no habría reacciones anapleróticas que repongan los componentes del ciclo del ácido cítrico. Con una dieta basada exclusivamente en grasas, se acumularía la acetil-CoA procedente de la degradación de los ácidos grasos.

(b) La acetona procedente de los cuerpos cetónicos.

(c) Sí. Los ácidos grasos de cadena impar darían lugar a la producción de propionil-CoA, que se puede convertir en succinil-CoA, que forma parte del ciclo del ácido cítrico. Serviría para reponer el ciclo del ácido cítrico y mitigar la halitosis.
30. (a) La $V_{máx}$ disminuye y la K_M aumenta. Para la enzima salvaje, $V_{máx}$ = 13 nmoles minuto^{-1} mg^{-1} y K_M = 45 μM; para la enzima mutante, $V_{máx}$ = 8,3 nmoles minuto^{-1} mg^{-1} y K_M = 74 μM.

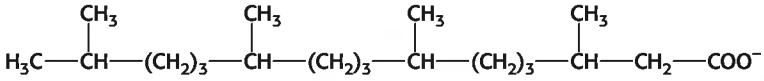
(b) Disminuyen la $V_{máx}$ y la K_M. Para la enzima salvaje, $V_{máx}$ = 41 nmoles minuto^{-1} mg^{-1} y K_M = 104 μM; para la enzima mutante, $V_{máx}$ = 23 nmoles minuto^{-1} mg^{-1} y K_M = 69 μM.

(c) El tipo salvaje es considerablemente más sensible a la malonil-CoA.

(d) En relación a la carnitina, el mutante muestra, aproximadamente, el 65% de la actividad del tipo salvaje; en relación con la palmitil-CoA, aproximadamente el 50% de la actividad. Por otra parte, 10 μM de malonil-CoA inhibe aproximadamente el 80% de la actividad del tipo salvaje, pero apenas afecta a la enzima mutante.

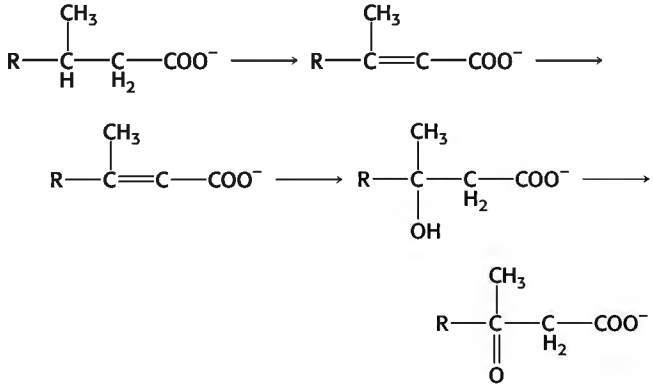
(e) El glutamato parece desempeñar un papel más destacado en la regulación mediante malonil-CoA que en la catálisis.

31.



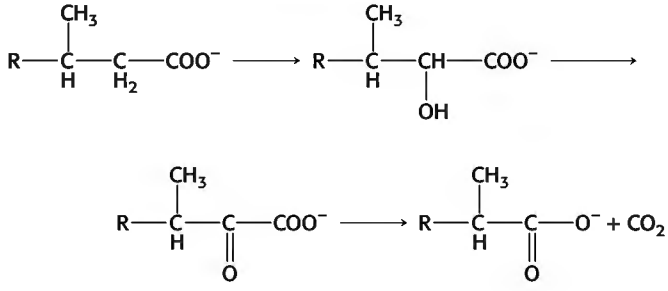
Ácido fitánico

El problema con el ácido fitánico es que, al ser sometido a la β-oxidación, aparece el temido átomo de carbono pentavalente. Como el átomo de carbono pentavalente no existe, no se puede llevar a cabo la β-oxidación y el ácido fitánico se acumula.



El temido átomo de carbono pentavalente

(b) ¿Cómo resolvemos el problema? La eliminación de grupos metilo, aunque en teoría es posible, llevaría tiempo y, además, carece de elegancia. ¿Qué podríamos hacer con los grupos metilo? Resolvemos este problema, mejor dicho, nuestros hígados resuelven este problema, inventando la α-oxidación.



Una ronda de α-oxidación, en lugar de β-oxidación, convierte el ácido fitánico en un sustrato para la β-oxidación.

32. Los lípidos radiactivos se oxidan a acetil-CoA, que se metaboliza mediante el ciclo del ácido cítrico. Sin embargo, los dos átomos de carbono que se incorporan al ciclo en forma de acetil-CoA no son los dos átomos de carbono que abandonan el ciclo en forma de CO_2. En consecuencia, parte del ^{14}C aparecerá en el oxalacetato, que se puede convertir en glucosa y, posteriormente, en glucógeno.

33. En última instancia, toda la CoA estaría en forma de acetil-CoA y no se podría producir energía. Además, la alta concentración de acetil-CoA acabaría inhibiendo la oxidación de los ácidos grasos (por no hablar de la oxidación de la glucosa). Eliminar la acetil-CoA (generando cuerpos cetónicos) permite generar electrones de alta energía mediante la oxidación de los ácidos grasos y producir combustible para otros tejidos.

34. La primera oxidación elimina dos átomos de tritio. La hidratación añade H y OH no radiactivos. La segunda oxidación elimina otro átomo de tritio del átomo de carbono β. La tiolisis elimina una acetil-CoA con un solo tritio; por tanto, la proporción entre tritio y carbono es 1/2. Esta proporción será la misma para dos de los acetatos. Sin embargo, el último no es sometido a oxidación, de manera que permanece todo el tritio. En el caso de este acetato, la proporción es 3/2. Por tanto, considerando la totalidad de las moléculas, la proporción es 5/6.

Capítulo 28.

1. $8\ \text{Acetil-CoA} + 7\ \text{ATP} + 14\ \text{NADPH} \longrightarrow$
$\text{palmitato} + 14\ \text{NADP}^+ + 8\ \text{CoA} + 6\ \text{H}_2\text{O} + 7\ \text{ADP} + 7\ \text{P}_i$

2. La primera reacción

$$\text{Oxalacetato} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{malato} + \text{NAD}^+$$

está catalizada por la malato deshidrogenasa citoplasmática. La siguiente reacción está catalizada por la enzima málica:

$$\text{Malato} + \text{NADP}^+ \longrightarrow \text{piruvato} + \text{CO}_2 + \text{NADPH}$$

Por último, el oxalacetato se regenera a partir de piruvato gracias a la piruvato carboxilasa.

$$\text{Piruvato} + \text{CO}_2 + \text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{oxalacetato} + \text{ADP} + \text{P}_i + \text{H}^+$$

La suma de las reacciones es

$$\text{NADP}^+ + \text{NADH} + \text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{NADPH} + \text{NAD}^+ + \text{ADP} + \text{P}_i + \text{H}^+$$

3. La formación de malonil-CoA a partir de acetil-CoA por parte de la acetil-CoA carboxilasa.

4. (a) 10; (b) 1; (c) 5; (d) 8; (e) 3; (f) 9; (g) 6; (h) 7, (i) 4; (j) 2.

5. $7\ \text{Acetil-CoA} + 6\ \text{ATP} + 12\ \text{NADPH} + 12\ \text{H}^+ \rightarrow$
$\text{miristato} + 7\ \text{CoA} + 6\ \text{ADP} + 6\ \text{P}_i + 12\ \text{NADP}^+ + 5\ \text{H}_2\text{O}$

6. Se necesitan seis unidades de acetil-CoA. Una unidad de acetil-CoA se utiliza directamente para convertirse en los dos átomos de carbono más alejados del extremo ácido. Las otras cinco unidades se tienen que convertir en malonil-CoA. La síntesis de cada molécula de malonil-CoA cuesta una molécula de ATP; de modo que se necesitan 5 moléculas de ATP. Cada ronda de elongación necesita 2 moléculas de NADPH, una para reducir el grupo ceto a un alcohol y una para reducir el doble enlace. Como resultado, se necesitan 10 moléculas de NADPH. Por tanto, para sintetizar ácido láurico se requieren 5 moléculas de ATP y 10 moléculas de NADPH.

7. e, b, d, a, c.

8. Este tipo de mutación inhibiría la síntesis de ácidos grasos porque la enzima escinde el citrato citoplasmático generando acetil-CoA para la síntesis de ácidos grasos.

9. (a) Falso. Se necesita biotina para la actividad acetil-CoA carboxilasa.
(b) Verdadero.
(c) Falso. Se necesita ATP para sintetizar malonil-CoA.
(d) Verdadero.
(e) Verdadero.
(f) Falso. La ácido graso sintasa es un dímero.
(g) Verdadero.
(h) Falso. La acetil-CoA carboxilasa es estimulada por el citrato, que es escindido para generar su sustrato, acetil-CoA.

10. La síntesis de los ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono comienza con propionil-ACP (en vez de con acetil-ACP), que se forma a partir de propionil-CoA gracias a la acetil-transacilasa.

11. Con una dieta rica en huevos crudos, la avidina inhibirá la síntesis de ácidos grasos reduciendo la cantidad de biotina necesaria para la acetil-CoA carboxilasa. Al cocer los huevos se desnaturalizará la avidina y, por tanto, ya no se podrá unir a la biotina.

12. La única acetil-CoA que se utiliza directamente, no en forma de malonil-CoA, aporta los dos átomos de carbono del extremo ω de la cadena de ácidos grasos. Como el ácido palmítico es un ácido graso C_{16}, la acetil-CoA habrá aportado los carbonos 15 y 16.

13. El HCO_3^- se une a la acetil-CoA para formar malonil-CoA. Cuando la malonil-CoA se condensa con acetil-CoA para formar cetoacil-CoA, de cuatro átomos de carbono, el HCO_3^- se pierde en forma de CO_2.
14. El C-1 es más radiactivo.
15. La descarboxilación impulsa la condensación de malonil-ACP y acetil-ACP. Por el contrario, la condensación de dos moléculas de acetil-ACP es desfavorable desde el punto de vista energético. En la gluconeogénesis, la descarboxilación impulsa la formación de fosfoenolpiruvato a partir de oxalacetato.
16. La enzima mutante seguirá activa de forma persistente porque no puede ser inhibida mediante fosforilación. La síntesis de ácidos grasos será anormalmente activa. Este tipo de mutación podría provocar obesidad.
17. La probabilidad de sintetizar una cadena polipeptídica libre de errores disminuye a medida que aumenta la longitud de la cadena. Un único error puede hacer que la totalidad del polipéptido sea ineficaz. Por el contrario, una subunidad defectuosa puede ser rechazada a la hora de formar un complejo multienzimático no covalente; de este modo, las subunidades en buen estado no se desperdician.
18. Cuando las reservas de glucógeno están repletas, el exceso de carbohidratos se metaboliza a acetil-CoA que, a continuación, se convierte en grasas. Los seres humanos no pueden convertir las grasas en carbohidratos pero, ciertamente, sí pueden convertir carbohidratos en grasas.
19. La palmitil-CoA citoplasmática inhibe la translocasa que transporta citrato desde las mitocondrias al citoplasma, impidiendo así la síntesis de ácidos grasos. La malonil-CoA inhibe la carnitina aciltransferasa I, evitando la entrada de ácidos grasos a las mitocondrias, con lo que inhibe la degradación de los ácidos grasos en periodos de abundancia.
20. La fosfofructoquinasa controla el flujo a través de la ruta glucolítica. La glucólisis funciona para generar ATP o materiales de construcción para la biosíntesis, dependiendo del tejido. La presencia de citrato en el citoplasma indica que esas necesidades están cubiertas y que no hay necesidad de metabolizar la glucosa.
21. (a) Oxidación en las mitocondrias; síntesis en el citoplasma.
(b) Coenzima A en la oxidación; proteína portadora de acilos en la síntesis.
(c) FAD y NAD^+ en la oxidación; NADPH en la síntesis.
(d) El isómero L de la 3-hidroxiacil-CoA en la oxidación, el isómero D en la síntesis.
(e) Del carboxilo al metilo en la oxidación; del metilo al carboxilo en la síntesis.
(f) Las enzimas de la síntesis de ácidos grasos se organizan en un complejo multienzimático, las de la oxidación no.

22. Piruvato + CO_2 + ATP + $H_2O \longrightarrow$ oxalacetato + ADP + P_i + 2 H^+

En la gluconeogénesis, el oxalacetato se convierte en fosfoenolpiruvato gracias a la PEP carboxiquinasa, a expensas de una molécula de GTP.
23. El producto de la reacción catalizada por la acetil-CoA carboxilasa, la malonil-CoA, inhibe la entrada de ácidos grasos a las mitocondrias inhibiendo la carnitina aciltransferasa I.
24. El citrato es un activador alostérico de la acetil-CoA carboxilasa, que hace que la enzima forme filamentos activos. La palmitil-CoA inhibirá la enzima.
25. Se mantendrán todos los átomos de carbono marcados. Como se necesitan 8 moléculas de acetil-CoA y en el grupo acetilo solo hay 1 átomo de carbono marcado, habrá 8 átomos de carbono marcados. La única acetil-CoA que se utiliza directamente retendrá 3 átomos de tritio. Las 7 moléculas de acetil-CoA utilizadas para generar malonil-CoA perderán un átomo de tritio al añadirles CO_2 y otro átomo de tritio en el paso de deshidratación. Cada una de las 7 moléculas de de malonil-CoA retendrá un átomo de tritio. Por tanto, el total de átomos de tritio retenidos es de 10. La proporción entre tritio y carbono es 1,25.
26. La elevada concentración de NADH inhibe la gluconeogénesis impidiendo la oxidación de lactato a piruvato y haciendo que predomine la reacción opuesta, provocando acidosis láctica e hipoglucemia. El exceso de NADH también inhibe la oxidación de ácidos grasos y el ciclo del ácido cítrico, ya que las necesidades de NADH de una persona que ha bebido están cubiertas por el metabolismo del etanol. El exceso de NADH es una señal de que se dan las condiciones adecuadas para la síntesis de ácidos grasos, lo que da lugar al desarrollo del "hígado graso".

Capítulo 29

1. Glicerol + 4 ATP + 3 ácidos grasos + 4 $H_2O \rightarrow$ triacilglicerol + ADP + 3 AMP + P_i + 4 H^+

2. Glicerol + 3 ATP + 2 ácidos grasos + 2 H_2O + CTP + serina $\rightarrow$ fosfatidilserina + CMP + ADP + 2 AMP + 6 P_i + 3 H^+

3. El glicerol 3-fosfato se forma, fundamentalmente, mediante la reducción de la dihidroxiacetona fosfato, un intermediario de la glucólisis, y, en menor medida, mediante la fosforilación del glicerol (p. 300).
4. Tres. Una molécula de ATP para formar fosforiletanolamina y dos moléculas de ATP para regenerar el CTP a partir de CMP.
5. Todos se sintetizan a partir de la ceramida. En la esfingomielina, el grupo hidroxilo terminal de la ceramida se modifica con fosforilcolina. En un cerebrósido, el grupo hidroxilo se une a una glucosa o a galactosa. En un ganglиósido, el grupo hidroxilo se encuentra unido a cadenas de oligosacárido.
6. (a) 8; (b) 4; (c) 1; (d) 9; (e) 3; (f) 10; (g) 5; (h) 2; (i) 6; (j) 7.
7. (a) CDP-diacilglicerol; (b) CDP-etanolamina; (c) acil-CoA; (d) CDP-colina; (e) UDP-glucosa o UDP-galactosa; (f) geranilpirofosfato.
8. No tienes por qué hacer nuevos planes. Simplemente escúchame. (a) Activar el diacilglicerol en forma de CDP-DAG. (2) Activar el alcohol en forma de CDP-alcohol.
9. Ácido fosfatídico fosfatasa (PAP). Esta enzima controla en qué proporción se sintetizan triacilgliceroles en relación con los fosfolípidos y regula el tipo de fosfolípido que se sintetiza.
10. Este tipo de mutaciones se observan en ratones. La cantidad de tejido adiposo disminuiría gravemente porque no se podría formar diacilglicerol. Normalmente, para formar triacilgliceroles, se acila el diacilglicerol. Si la actividad de la ácido fosfatídico fosfatasa fuese deficiente, no se formarían triacilgliceroles.
11. Un exceso de actividad PAP aumentaría la cantidad de diacilglicerol. Tras haberse cubierto las necesidades de fosfolípidos que requieren diacilglicerol, el exceso de diacilglicerol se convertiría en triacilglicerol, provocando obesidad.
12. Las tres etapas son: (1) la síntesis de unidades de isopreno activadas (isopentenilpirofosfato), (2) la condensación de seis unidades de isopreno activadas para formar escualeno y (3) la formación de estructuras cíclicas a partir del escualeno para producir colesterol.
13. (a y b) Ninguna, porque el marcaje se pierde en forma de CO_2.
14. La característica distintiva de esta enfermedad genética son los elevados niveles de colesterol en sangre, incluso en niños de corta edad. El exceso de colesterol es absorbido por los macrófagos que, en última instancia, acaban formando placas y provocando la enfermedad cardiaca. Hay muchas mutaciones que dan lugar a la enfermedad, pero el resultado de todas ellas es un funcionamiento anómalo del receptor de LDL.
15. La cantidad de reductasa y su actividad controlan la regulación de la biosíntesis de colesterol. El control transcripcional está mediado por SREBP. La traducción del mRNA de la reductasa también está controlada. La propia reductasa puede experimentar una proteolisis regulada. Por último, cuando los niveles de ATP son reducidos, la actividad de la reductasa se inhibe mediante fosforilación por una quinasa dependiente de AMP.
16. Las estatinas son inhibidores competitivos de la HMG-CoA reductasa. Se utilizan como fármacos para inhibir la síntesis de colesterol en pacientes que presentan altos niveles de colesterol.
17. No. El colesterol es esencial para la función de las membranas y como precursor de las sales biliares y de las hormonas esteroideas. Una falta completa de colesterol sería letal.

18. Progestágenos, glucocorticoides, mineralocorticoides, andrógenos y estrógenos.
19. Recordemos que la dihidrotestosterona es esencial para el desarrollo de las características masculinas del embrión. Si una mujer embarazada se expusiera a Propecia, se inhibiría la 5α-reductasa del embrión masculino, lo que podría dar lugar a graves aberraciones del desarrollo.
20. "A ti qué te importa" o "no hablo de bioquímica hasta después del desayuno" serían dos respuestas apropiadas, aunque de poca educación y que no aportan información. Una respuesta mejor sería: "aunque es cierto que el colesterol es un precursor de las hormonas esteroideas, el resto del enunciado es una simplificación excesiva. El colesterol forma parte de las membranas y las membranas, literalmente, delimitan las células y las células son los constituyentes de los tejidos. Pero afirmar que el colesterol "forma" las células y tejidos es incorrecto."
21. La estructura central de un esteroide consta de cuatro anillos fusionados: tres anillos ciclohexano y un anillo ciclopentano. En la vitamina D, el segundo anillo ciclohexano empezando por la izquierda, el denominado anillo B, se escinde por medio de luz ultravioleta.
22. La LDL contiene apolipoproteína B-100, que se une a un receptor de LDL situado en la superficie celular, en una región que se conoce como vesícula forrada (*coated pit*). Al unirse, el complejo es captado por la célula mediante endocitosis, formando una vesícula interna. La vesícula se divide en dos componentes. Uno de ellos, el que contiene el receptor, es transportado de vuelta a la superficie celular y se fusiona con la membrana, permitiendo así un uso continuado del receptor. La otra vesícula se fusiona con lisosomas del interior de la célula. Se hidrolizan los ésteres de colesterol y el colesterol libre está disponible para ser utilizado por la célula. La proteína LDL se hidroliza generando aminoácidos libres.
23. Este conocimiento permitiría a los médicos caracterizar la probabilidad de que un paciente pueda manifestar una reacción adversa a un fármaco o de que sea susceptible a contraer enfermedades inducidas por compuestos químicos. También permitiría administrar un tratamiento con fármacos personalizado y especialmente eficaz contra enfermedades como el cáncer.
24. Las abejas productoras de miel pueden ser especialmente sensibles a las toxinas ambientales, como los pesticidas, porque estos compuestos químicos no se neutralizan fácilmente, ya que su sistema P450 es mínimo.
25. La unión de cadenas laterales isoprenoides confiere un carácter hidrofóbico. Las proteínas que presentan este tipo de modificación son dirigidas hacia las membranas.
26. Observe que un nucleótido de citidina desempeña el mismo papel en la síntesis de estos fosfoglicéridos que el que desempeña un nucleótido de uridina durante la formación del glucógeno (p. 437). En todas estas biosíntesis, se forma un intermediario activado, (UDP-glucosa, CDP-diacilglicerol o CDP-alcohol) a partir de un sustrato fosforilado (glucosa 1-fosfato, fosfatidato o un fosforilalcohol) y un nucleósido trifosfato (UTP o CTP). A continuación, el intermediario activado reacciona con un grupo hidroxilo (un extremo del glucógeno, la cadena lateral de la serina o un diacilglicerol).
27. En periodos de abundancia, el citrato se transporta hacia fuera de las mitocondrias. La ATP-citrato liasa genera acetil-CoA y oxalacetato. Después, la acetil-CoA se puede utilizar para sintetizar colesterol.
28. La 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA también es un precursor para la síntesis de cuerpos cetónicos. Si se necesita combustible en otras partes del organismo, como ocurriría en el caso de un ayuno, la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA se convierte en la cetona acetoacetato. Si las necesidades energéticas están cubiertas, el hígado sintetizará colesterol.
29. (a) No hay efectos.

(b) Como la actina no está controlada por el colesterol, la cantidad extraída debería ser la misma en ambos grupos de experimentación. Una diferencia indicaría que hay un problema en la extracción del RNA.

(c) La presencia de colesterol en la dieta reduce espectacularmente la cantidad de proteína HMG-CoA reductasa.

(d) Un mecanismo frecuente para regular la cantidad de una proteína consiste en regular la transcripción pero, obviamente, no es este el caso.

(e) Se podría inhibir la traducción del mRNA. La proteína se podría degradar rápidamente.
30. Los tipos de mutaciones son: (1) no se sintetiza el receptor; (2) se sintetizan receptores, pero no llegan a la membrana plasmática porque carecen de las señales de transporte intracelular o porque no se han plegado correctamente; (3) los receptores llegan a la superficie celular, pero no consiguen unirse a la LDL con normalidad a causa de un defecto en el dominio de unión a LDL; (4) los receptores llegan a la superficie celular y se unen a LDL, pero no consiguen agruparse en las vesículas forradas a causa de un defecto en sus regiones carboxilo terminal.
31. Se puede tratar la hipertrofia prostática benigna inhibiendo la 5α-reductasa. La finasterida, un esteroide análogo de la dihidrotestosterona, inhibe de forma competitiva la reductasa, pero no actúa sobre los receptores de andrógenos. Los pacientes que toman finasterida presentan unos niveles de dihidrotestosterona en plasma considerablemente más reducidos y unos niveles de testosterona prácticamente normales. Disminuye el tamaño de la glándula prostática, pero los procesos dependientes de la testosterona como la fertilidad, la líbido y la fuerza muscular no parecen verse afectados.
32. En los dibujos animados, las plantas pueden escapar de sus depredadores. En la vida real no es así, y los depredadores se comerían las plantas. En consecuencia, como medio de autodefensa, resulta conveniente para las plantas producir una amplia gama de toxinas, de manera que puedan mantener a raya a quienes podrían comérselas.
33. Muchas sustancias olorosas hidrofóbicas se desactivan mediante hidroxilación. El oxígeno molecular se activa gracias a una citocromo P450 monooxigenasa. El NADPH actúa como reductor. Un átomo de oxígeno del O_2 se incorpora a la sustancia olorosa que sirve de sustrato, mientras que el otro se reduce a agua.

Capítulo 30

1. (a) Piruvato; (b) oxalacetato; (c) α-cetoglutarato; (d) β-cetoisocaproato; (e) fosfoenolpiruvato; (f) hidroxifenilpiruvato.

2. (a) Aspartato + α-cetoglutarato + GTP + ATP + 2 H_2O + NADH + H^+ →
1/2 glucosa + glutamato + CO_2 + ADP + GDP + NAD^+ + 2 P_i

Las coenzimas que se necesitan son el piridoxal fosfato en la reacción de transaminación y el NADH/NAD^+ en las reacciones redox.

(b) Aspartato + CO_2 + NH_4^+ + 3 ATP + NAD^+ + 4 H_2O → oxalacetato + urea + 2 ADP + 4 P_i + AMP + NADH + H^+

3. La mayoría de las enzimas son específicas para uno u otro. Las enzimas de las rutas catabólicas utilizan NADH/NAD^+, mientras que las enzimas de las rutas anabólicas solo utilizan NADPH/$NAPD^+$.
4. Las aminotransferasas transfieren el grupo amino α al α-cetoglutarato, formando glutamato. Para formar un ion amonio, el glutamato se somete a una desaminación oxidativa.
5. Aspartato (oxalacetato), glutamato (α-cetoglutarato), alanina (piruvato).
6. Serina y treonina.
7. Carbamilfosfato y aspartato.
8. (a) 4; (b) 5; (c) 1; (d) 6; (e) 7; (f) 3, (g) 2.

9. CO_2 + NH_4^+ + 3 ATP + NAD^+ + glutamato + 3 H_2O → urea + 2 ADP + 2 P_i + AMP + PP_i + NADH + H^+ + α-cetoglutarato

El número de grupos fosforilo con un alto potencial de transferencia que se han utilizado sigue siendo 4, como en la ecuación de la página 528.
10. Durante el ciclo de la urea, la síntesis de fumarato es importante porque enlaza el ciclo de la urea con el ciclo del ácido cítrico. El fumarato se hidrata a malato que, a su vez, se oxida a oxalacetato. El oxalacetato tiene varios destinos posibles: (1) transaminación a aspartato, (2) conversión en glucosa mediante la ruta gluconeogénica,

(3) condensación con la acetil-CoA para formar citrato, o (4) conversión en piruvato.

11. Los resultados analíticos sugieren de manera rotunda que hay una insuficiencia de tres enzimas —piruvato deshidrogenasa, α-cetoglutarato deshidrogenasa y la deshidrogenasa de α-cetoácidos de cadena ramificada. De hecho, el componente E_3 (ver el Capítulo 18) forma parte de estas tres enzimas. El resultado indica que falta E_3 o que está defectuoso. Esta hipótesis se podría comprobar purificando estas tres enzimas y ensayando su capacidad para catalizar la regeneración de la lipoamida.

12. A, arginina; B, citrulina; C, ornitina; D, argininosuccinato. El orden de aparición es: C, B. D. E.

13. El aspartamo, un éster de un dipéptido, se hidroliza a L-aspartato y L-fenilalanina. En las personas que padecen fenilcetonuria, los niveles elevados de fenilalanina son perjudiciales.

14. El *N*-acetilglutamato se sintetiza a partir de acetil-CoA y glutamato. De nuevo, la acetil-CoA actúa como un donador de acetilos activados. Esta reacción está catalizada por la *N*-acetilglutamato sintasa.

15. Los esqueletos carbonados de los aminoácidos cetogénicos se pueden convertir en cuerpos cetónicos o en ácidos grasos. Solo la leucina y la lisina son exclusivamente cetogénicos. Los aminoácidos glucogénicos son aquellos cuyos esqueletos carbonados se pueden convertir en glucosa.

16. Piruvato (glucólisis y gluconeogénesis), acetil-CoA (ciclo del ácido cítrico y síntesis de ácidos grasos), acetoacetil-CoA (formación de cuerpos cetónicos), α-cetoglutarato (ciclo del ácido cítrico), succinil-CoA (ciclo del ácido cítrico), fumarato (ciclo del ácido cítrico), y oxalacetato (ciclo del ácido cítrico y gluconeogénesis).

17. No todas las proteínas son iguales; algunas son más importantes que otras. Algunas proteínas se degradarían para aportar el aminoácido que falta. El nitrógeno procedente de las otras proteínas se excretaría en forma de urea. En consecuencia, se excretaría más nitrógeno del que se ha ingerido.

18. Este defecto se puede evitar, en parte, proporcionando un suministro extra de arginina en la dieta y restringiendo la ingesta total de proteína. En el hígado, la arginina se escinde generando urea y ornitina, que a continuación reacciona con el carbamilfosfato formando citrulina. Este intermediario del ciclo de la urea se condensa con el aspartato formando argininosuccinato, que posteriormente se excreta. Observe que, por cada molécula de arginina aportada por la dieta, se eliminan dos átomos de nitrógeno del organismo —uno procedente del carbamilfosfato y el otro del aspartato. Básicamente, el argininosuccinato sustituye a la urea a la hora de eliminar el nitrógeno del organismo. La formación de argininosuccinato elimina el nitrógeno y la limitación de la ingesta de proteínas alivia la aciduria.

19. Los aminoácidos con cadena lateral ramificada leucina, isoleucina y valina. La enzima necesaria es el complejo deshidrogenasa de α-cetoácidos de cadena ramificada.

20. El amoniaco podría dar lugar a la aminación del α-cetoglutarato, generando una alta concentración de glutamato de forma descontrolada. Para la síntesis de glutamato, se podría extraer α-cetoglutarato del ciclo del ácido cítrico, con lo que disminuiría la capacidad de respiración de la célula.

21. El hígado es el principal tejido a la hora de captar el nitrógeno en forma de urea. Si el hígado está dañado (p. ej., por una hepatitis o por un consumo excesivo de alcohol), se libera amoniaco libre a la sangre.

22. Ornitina transcarbamilasa.

23. (a) Agotamiento de las reservas de glucógeno. Cuando se han agotado, se tienen que degradar las proteínas para cubrir las necesidades de glucosa del cerebro. Los aminoácidos resultantes se desaminan y los átomos de nitrógeno se excretan en forma de urea.

(b) El cerebro se ha adaptado al uso de cuerpos cetónicos, que proceden del catabolismo de los ácidos grasos. En otras palabras, el cerebro está siendo impulsado por la degradación de los ácidos grasos.

(c) Cuando las reservas de glucógeno y de lípido se han agotado, la única fuente de energía disponible son las proteínas.

24. Desaminación a α-ceto-β-metilvalerato; descarboxilación oxidativa a α-metilbutiril-CoA; oxidación a tiglil-CoA; hidratación, oxidación y tiolisis que genera acetil-CoA y propionil-CoA; la propionil-CoA se convierte en succinil-CoA.

25. En el ciclo de Cori, los átomos de carbono se transfieren desde el músculo hacia el hígado en forma de lactato. Para que el lactato sea de utilidad, se tiene que reducir a piruvato. Esta reducción necesita electrones de alta energía en forma de NADH. Cuando los átomos de carbono se transfieren en forma de alanina, la transaminación genera directamente el piruvato.

Capítulo 31

1. La fijación de nitrógeno es la conversión del N_2 atmosférico en NH_4^+. Los microorganismos diazotróficos (que fijan nitrógeno) son capaces de ello.

2. $$N_2 + 8\,e^- + 8\,H^+ + 16\,ATP + 16\,H_2O \rightleftharpoons 2\,NH_3 + H_2 + 16\,ADP + 16\,P_i$$

La fijación de nitrógeno es una reacción exergónica. El papel del ATP consiste en reducir la energía de activación de las barreras que hay en la ruta, de modo que la reacción sea cinéticamente posible.

3. (a) 4; (b) 8; (c) 10; (d) 6; (e) 7; (f) 9; (g) 3; (h) 5; (i) 2; (j) 1.

4. La reductasa aporta electrones con alto poder reductor, mientras que la nitrogenasa, que requiere la hidrólisis de ATP, utiliza los electrones para reducir el N_2 a NH_3.

5. Falso. La fijación de nitrógeno es favorable desde el punto de vista termodinámico. El consumo de ATP por parte de la nitrogenasa es necesario para hacer que la reacción sea cinéticamente posible.

6. Las bacterias aportan amoniaco a la planta reduciendo el nitrógeno atmosférico. Desde el punto de vista energético, esta reducción es cara y las bacterias utilizan el ATP de la planta.

7. Los seres humanos carecen de rutas bioquímicas para sintetizar los aminoácidos esenciales a partir de precursores más sencillos. En consecuencia, tienen que conseguirlos mediante la dieta.

8. Oxalacetato, piruvato, ribosa 5-fosfato, fosfoenolpiruvato, eritrosa 4-fosfato, α-cetoglutarato y 3-fosfoglicerato.

9. Piridoxal fosfato (PLP).

10. Una reacción de transaminación reversible transferirá el grupo amino marcado desde el aspartato al α-cetoglutarato formando glutamato y oxalacetato. El glutamato es un donador de grupos amino para la síntesis de aminoácidos a partir de sus cetoácidos correspondientes.

11. El tetrahidrofolato es un transportador de diversas unidades monocarbonadas.

12. Ambos transportan unidades monocarbonadas- La *S*-adenosilmetionina es un donador de grupos metilos más útil que el tetrahidrofolato porque posee un potencial de transferencia mayor.

13. Es probable que el γ-glutamilfosfato sea un intermediario de la reacción.

14. Alanina a partir de piruvato; aspartato a partir de oxalacetato; glutamato a partir de α-cetoglutarato.

15. Y podría inhibir el paso C → D, Z podría inhibir el paso C → F y C podría inhibir el paso A → B. Este esquema es un ejemplo de retroinhibición secuencial. Alternativamente, Y podría inhibir el paso C → D, Z podría inhibir el paso C → F y el paso A → B solo se inhibiría en presencia de Y y de Z. Este esquema se denomina retroinhibición concertada.

16. La velocidad del paso A → B en presencia de niveles elevados de Y y de Z sería 24 s^{-1} (0,6 × 0,4 × 100 s^{-1}).

17. Tetrahidrofolato, *S*-adenosilmetionina y biotina.

18. La metilmalonil-CoA mutasa, una enzima necesaria para la degradación de ácidos grasos de cadena impar (p. 473).

19. La metionina forma parte de la *S*-adenosilmetionina, que es un donador de metilos para la síntesis de fosfatidilcolina a partir de fosfatidiletanolamina (p. 500).

20. (a) En la oscuridad, la asparagina es mucho más abundante. Con luz, hay más glutamina. Estos aminoácidos son los que ofrecen los efectos más espectaculares. La glicina también es más abundante con luz.

(b) Metabólicamente hablando, la glutamina es un aminoácido más reactivo, que se utiliza en la síntesis de muchos otros compuestos. En consecuencia, cuando hay energía disponible en forma de luz, se sintetizará preferentemente la glutamina. La asparagina, que contiene más nitrógeno por átomo de carbono y, por tanto, representa una forma más eficiente de almacenar nitrógeno cuando la energía es escasa, se sintetiza en la oscuridad. La glicina es más abundante cuando hay luz debido a la fotorrespiración.

(c) El espárrago blanco presenta una concentración especialmente alta de asparagina, lo que explica su intenso sabor. Todos los espárragos contienen una gran cantidad de asparagina. De hecho, tal y como sugiere su nombre, la asparagina se purificó por primera vez a partir de espárragos.

21. Glucosa + 2 ADP + 2 P_i + 2 NAD^+ + 2 glutamato →
2 alanina + 2 α-cetoglutarato + 2 ATP + 2 NADH + 2 H_2O + 2 H^+

22. La síntesis a partir de oxalacetato y α-cetoglutarato agotaría el ciclo del ácido cítrico, con lo que se reduciría la producción de ATP. Se necesitaría reacciones anapleróticas para reponer los componentes del ciclo del ácido cítrico.

23. El valor de la K_M de la glutamato deshidrogenasa para el NH_4^+ es elevado (>> 1 mM) y, por tanto, esta enzima no se encuentra saturada cuando el NH_4^+ es el factor limitante. Por el contrario, la glutamina sintetasa tiene una afinidad muy elevada hacia el NH_4^+. Por tanto, cuando el amoniaco escasea, se necesita la hidrólisis de ATP para captarlo.

Capítulo 32

1. En la síntesis *de novo*, los nucleótidos se sintetizan, prácticamente desde cero, a partir de compuestos precursores más sencillos. En las rutas de recuperación, se recuperan bases preformadas y se añaden a ribosas activadas.

2. Glucosa + 2 ATP + 2 $NADP^+$ + H_2O →
PRPP + CO_2 + ADP + AMP + 2 NADPH + 3 H^+

3. Glutamina + aspartato + CO_2 + 2 ATP + NAD^+ →
orotato + 2 ADP + 2 P_i + glutamato + NADH + H^+

4. (a y c) PRPP; (b) carbamilfosfato.

5. Un nucleósido es una base unida a la ribosa. Un nucleótido es un nucleósido cuya ribosa contiene uno o más grupos fosfato.

6. (a) 9; (b) 7; (c) 6; (d) 10; (e) 2; (f) 4; (g) 1; (h) 11; (i) 8; (j) 3; (k) 5.

7. dUMP + serina + NADPH + H^+ → TMP + $NADP^+$ + glicina

8. Hay una insuficiencia de N^{10}-formiltetrahidrofolato. La sulfanilamida inhibe la síntesis de folato actuando como un análogo del *p*-aminobenzoato, uno de los precursores del folato.

9. El PRPP es el intermediario activado para la síntesis de fosforribosilamina durante la ruta *de novo* para la formación de purinas; para la síntesis de nucleótidos de purina a partir de bases libres durante la ruta de recuperación y para la síntesis de orotidilato durante la formación de pirimidinas.

10. La relación recíproca entre sustratos hace referencia al hecho de que la síntesis de AMP requiere GTP, mientras que la síntesis de GMP requiere ATP. Esta relación tiende a equilibrar la síntesis de ATP y de GTP.

11.

La síntesis de carbamilfosfato necesita 2 ATP	2 ATP
La formación de PRPP a partir de ribosa 5-fosfato genera 1 AMP*	2 ATP
La conversión de UMP en UTP necesita 2 ATP	2 ATP
La conversión de UTP en CTP necesita 1 ATP	1 ATP
Total	7 ATP

* Recuerde que 1 AMP equivale a 2 ATP porque se tiene que gastar un ATP para generar ADP, el sustrato para la síntesis de ATP.

12. El marcaje estará en el C-6 de la citosina y en el C-5 de la guanina, puesto que son los átomos que corresponden a los átomos de carbono α marcados con ^{13}C del aspartato y de la glicina, respectivamente.

13. N-3 y N-9 del anillo de purina.

14. (a) Carboxiaminoimidazol ribonucleótido; (b) glicinamida ribonucleótido; (c) fosforribosilamina; (d) formilglicinamida ribonucleótido.

15. El alopurinol, un análogo de la hipoxantina, es un inhibidor suicida de la xantina oxidasa.

16. Los pacientes con leucemia presentan un elevado nivel de urato debido a la degradación de los ácidos nucleicos. El alopurinol evita la formación de piedras en el riñón y bloquea otras consecuencias perjudiciales de la hiperuricemia impidiendo la formación de urato (p. 568).

17. Como se necesita folato para la síntesis de nucleótidos, las células que se están dividiendo rápidamente serían las primeras en resultar afectadas. Estarían incluidas las células del intestino, que se están reemplazando constantemente, y las células precursoras de los glóbulos rojos. La falta de células intestinales y de células sanguíneas explicaría los síntomas que aparecen con más frecuencia.

18. Se podría administrar inosina o hipoxantina.

19. En ambos casos, el N-1 y, en el caso del ATP, el grupo amino unido al C-6.

20. Por su naturaleza, las células cancerosas se dividen rápidamente y, por tanto, utilizan la síntesis de DNA con frecuencia. Los inhibidores de la síntesis de TMP impedirán la síntesis de DNA y el crecimiento del cáncer.

21. (a) cAMP; (b) ATP; (c) UDP-glucosa; (d) acetil-CoA; (e) NAD^+, FAD; (f) fluorouracilo; (g) el CTP inhibe la ATCasa.

22. Algo de ATP se puede recuperar a partir del ADP que se está generando. (b) Hay un número igual de grupos con un elevado potencial de transferencia de fosforilos a ambos lados de la ecuación. (c) Como la reacción de la adenilato ciclasa se encuentra en el equilibrio, la eliminación del AMP daría lugar a la formación de más ATP. (d) Básicamente, el ciclo actúa como una reacción anaplerótica que genera fumarato, un intermediario del ciclo del ácido cítrico.

23. La enzima que utiliza amoniaco sintetiza carbamilfosfato para que reaccione con ornitina, el primer paso del ciclo de la urea. La enzima que utiliza glutamina sintetiza carbamilfosfato para que sea utilizado en el primer paso de la biosíntesis de pirimidina.

24. El alopurinol es un inhibidor de la xantina oxidasa, que se encuentra en la ruta para la síntesis de urato. En su pato mascota, esta ruta es el mecanismo que permite excretar el exceso de nitrógeno. Si la xantina oxidasa de su pato estuviese inhibida, no se podría excretar el nitrógeno, lo que acarrearía graves consecuencias, como la muerte del pato.

25. El PRPP y el formilglicinamida ribonucleótido.

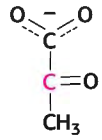
26. (a) La célula A no puede crecer en un medio HAT porque no puede sintetizar TMP ni a partir de timidina ni a partir de dUMP. La célula B no puede crecer en este medio porque no puede sintetizar purinas, ni por la ruta *de novo* ni por la ruta de recuperación. La célula C sí puede crecer en un medio HAT porque contiene timidina quinasa activa procedente de la célula B (lo que le permite fosforilar timidina a TMP) e hipoxantina guanina fosforribosiltransferasa procedente de la célula A (lo que le permite sintetizar purinas a partir de hipoxantina mediante la ruta de recuperación).

(b) Transformar la célula A con un plásmido que contenga genes foráneos de interés y un gen funcional para la timidina quinasa. Las únicas células que crecerán en un medio HAT son aquellas que hayan adquirido un gen para la timidina quinasa; prácticamente todas estas células transformadas también contendrán los demás genes del plásmido.

27. En el hígado, en los tres casos, los niveles de ATP citoplasmático disminuyen y el de AMP aumenta por encima de lo normal. El exceso de AMP se degrada a urato.

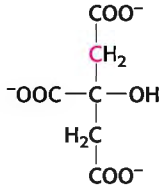
28. Succinato → malato → oxalacetato, por medio del ciclo del acido cítrico. Oxalacetato → aspartato, mediante transaminación seguida de síntesis de pirimidina. Los carbonos 4, 5 y 6 se encuentran marcados.

29. Lo más probable es que la glucosa se convierta en dos moléculas de piruvato, una de las cuales estará marcada en la posición 2:

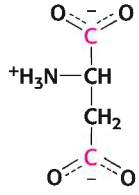


Ahora considere dos de los destinos más frecuentes del piruvato —su conversión en acetil-CoA para que después se metabolice mediante el ciclo del ácido cítrico o su carboxilación por parte de la piruvato carboxilasa para formar oxalacetato.

La formación de citrato mediante la condensación de la acetil-CoA marcada (procedente del piruvato marcado) con el oxalacetato generará citrato marcado:

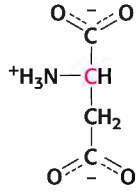


El átomo de carbono marcado se conservará durante una ronda del ciclo del ácido cítrico pero, al formarse succinato, que es simétrico, el marcaje aparecerá en dos posiciones distintas. Por tanto, cuando el succinato se metabolice a oxalacetato, que se puede aminar formando aspartato, habrá dos átomos de carbono marcados:



Cuando este aspartato se utilice para formar uracilo, el COO^- marcado unido al carbono α se perderá y el otro COO^- se incorporará al uracilo, convirtiéndose en el carbono 4.

Suponga que, en vez de esto, el piruvato marcado en la posición 2 se carboxila formando oxalacetato y se metaboliza para generar aspartato. En este caso, el marcaje se encontrará en el átomo de carbono α del aspartato.



Cuando se utiliza este aspartato para sintetizar uracilo, el carbono marcado será el 6.

Capítulo 33

1. Un nucleósido es una base unida a la ribosa, un azúcar. Un nucleótido es un nucleósido cuya ribosa está unida a uno o más grupos fosforilo.
2. En el DNA, se trata del emparejamiento mediante puentes de hidrógeno entre la base A y la base T, así como del emparejamiento mediante puentes de hidrógeno entre la base G y la base C.
3. (a) 6; (b) 8; (c) 10; (d) 2; (e) 1; (f) 3; (g) 4; (h) 9; (i) 5; (j) 7.
4. La T siempre equivale a la A y, por tanto, estos nucleótidos representan el 40% de las bases. La G siempre equivale a la C y, por tanto, el 60% restante tiene que ser un 30% de G y un 30% de C.
5. Nada, porque las reglas de los pares de bases no se aplican en el caso de ácidos nucleicos de hebra sencilla.
6. Dos purinas son demasiado grandes para encajar en el interior de la doble hélice, y dos pirimidinas son demasiado pequeñas para formar pares de bases entre sí.
7. (a) TTGATC; (b) GTTCGA; (c) ACGCGT; (d) ATGGTA.
8. (a) [T] + [C] = 0,46, (b) [T] = 0,30, [C] = 0,24 y [A] + [G] = 0,46.
9. El diámetro del DNA es 20 Å y 1 Å = 0,1 nm, de modo que el diámetro es 2 nm. Como 1 μm = 10^3 nm, la longitud es 2 × 10^4 nm. Por tanto, la relación axial es 1 × 10^4.
10. La energía térmica hace que las hebras se contorsionen, deshaciendo los puentes de hidrógeno entre los pares de bases y las fuerzas debidas al apilamiento de las bases, de modo que las hebras se separan.
11. Uno de los extremos de un polímero de ácidos nucleicos termina en un grupo hidroxilo libre en posición 5′ (o en un grupo fosforilo esterificado al grupo hidroxilo), y el otro extremo tiene un grupo hidroxilo libre en posición 3′. Por tanto, los dos extremos son diferentes. Dos hebras de DNA solo pueden formar una doble hélice si las hebras se encuentran orientadas en direcciones distintas —es decir, si sus direccionalidades son opuestas.
12. 5,88 × 10^3 pares de bases.
13. En la replicación conservativa, al cabo de 1,0 generación, la mitad de las moléculas sería ^{15}N-^{15}N y la otra mitad sería ^{14}N-^{14}N. Tras 2,0 generaciones, una cuarta parte de las moléculas serían ^{15}N-^{15}N y las otras tres cuartas partes serían ^{14}N-^{14}N. En la replicación conservativa no se observarían moléculas híbridas ^{14}N-^{15}N.
14. Habría demasiada repulsión de cargas entre las cargas negativas de los grupos fosforilo. Estas cargas se tienen que neutralizar mediante la adición de cationes.
15. La estructura del nucleosoma da lugar a un factor de empaquetamiento de tan solo 7. Se tienen que formar otras estructuras —como la fibra de cromatina— para conseguir el factor de empaquetamiento de 10^4 que se observa en los cromosomas durante la metafase.
16. El DNA se encuentra unido a las histonas. En consecuencia, no es muy accesible a la DNasa. Sin embargo, alargando el tiempo de reacción o añadiendo más enzima, el DNA puede hacerse accesible para la digestión.
17. La distribución de los aminoácidos cargados es H2A (13 K, 13 R, 2 D, 7 E, carga = +15), H2B (20 K, 8 R, 3 D, 7 E, carga = +18), H3 (13 K, 18 R, 4 D, 7 E, carga = +20), H4 (11 K, 14 R, 3 D, 4 E, carga = +18). Se considera que la carga total del octámero de histonas es 2 × (15 + 18 + 20+ 18) = +142. La carga total de 150 pares de bases de DNA es −300. Por tanto, el octámero de histonas neutraliza aproximadamente la mitad de la carga.
18. Se considera que la longitud total del DNA es de 145 pb × 3,4 Å/pb = 493 Å, que corresponden a 1,75 vueltas de la hélice. Por tanto, la circunferencia es de 281 Å. La fórmula de la circunferencia es $C = 2\pi r$. Despejando la r se obtiene 41 Å.
19. Los pares de bases GC tienen tres puentes de hidrógeno, en comparación con los dos que tienen los pares de bases AT. Por tanto, el mayor contenido en GC significa que hay más puentes de hidrógeno y que la estabilidad de la hélice es mayor.
20. Básicamente, el valor C_0t corresponde a la complejidad de la secuencia de DNA —en otras palabras, cuánto tiempo le costará a una secuencia de DNA encontrar su hebra complementaria para formar una doble hélice.
21. Cantidades crecientes de sal hacen aumentar la temperatura de fusión. Como el esqueleto del DNA está cargado negativamente, la repulsión entre las cargas tiende a desestabilizar la hélice y a provocar su fusión. La adición de sal neutraliza la repulsión entre las cargas, estabilizando así la doble hélice. Los resultados muestran que, dentro de los límites del experimento, más sal da lugar a más estabilización, con lo que la temperatura de fusión del DNA es mayor.
22. La probabilidad de encontrar cualquier secuencia es $1/4^n$, donde 4 es el número de nucleótidos y n es la longitud de la secuencia. La probabilidad de encontrar cualquier secuencia de 15 nucleótidos es $1/4^{15}$, es decir, 1/1.073.741.824. Por tanto, es probable que una secuencia de 15 nucleótidos aparezca aproximadamente tres veces (3 mil millones × probabilidad de que aparezca). La probabilidad de encontrar una secuencia de 16 nucleótidos es $1/4^{16}$, lo que equivale a

1/4.294.967.296. Es poco probable que esta secuencia aparezca más de una vez.

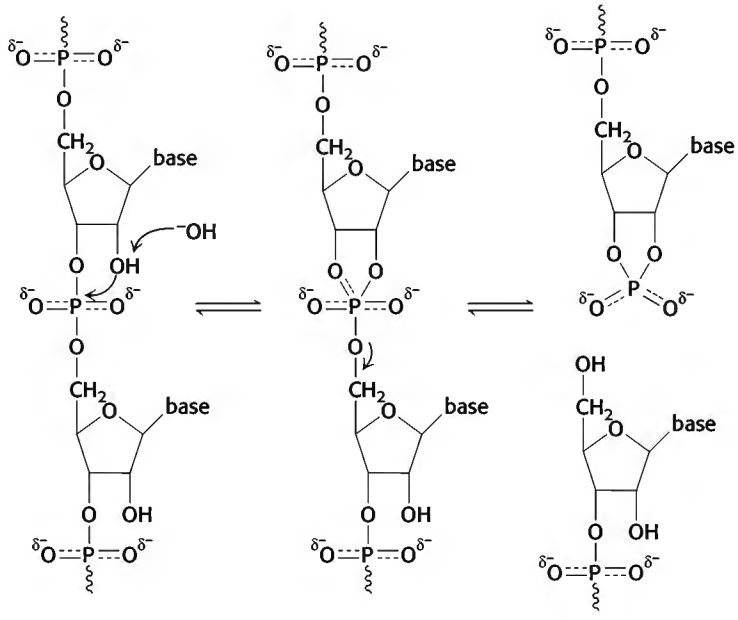
23. (a) $4^8 = 65.536$. En la terminología de los ordenadores, hay 64K octámeros de DNA.

(b) Un bit especifica dos bases (digamos que A y C) y un segundo bit especifica las otras dos (G y T). Por tanto, se necesitan dos bits para especificar un único nucleótido (par de bases) del DNA. Por ejemplo, 00, 01, 10 y 11 podrían codificar A, G, C y T. Un octámero almacena 16 bits ($2^{16} = 65.536$), el genoma de *E. coli* ($4{,}6 \times 10^6$ bases) almacena $9{,}2 \times 10^6$ bits y el genoma humano ($3{,}0 \times 10^9$ bases) almacena $6{,}0 \times 10^9$ bits de información genética.

(c) Un CD estándar puede almacenar 700 megabytes, lo que equivale a $5{,}6 \times 10^9$ bits. Se puede almacenar un gran número de secuencias de octámeros en este CD. Se podría escribir la secuencia de DNA de *E. coli* en un único CD y quedaría espacio para un montón de canciones. Un CD no bastaría para almacenar el genoma humano completo.

24. El grupo OH en posición 2′ del RNA actúa como un nucleófilo intramolecular. Durante la hidrólisis alcalina del RNA forma un intermediario cíclico 2′-3′.

25.



Capítulo 34

1. Un molde es la secuencia de DNA o de RNA que dirige la síntesis de una secuencia complementaria. Un cebador es el segmento inicial de un polímero que se va a alargar, y del que depende la elongación.
2. La DNA polimerasa no puede iniciar la síntesis del cebador. En consecuencia, una RNA polimerasa, denominada primasa, sintetiza una corta secuencia de RNA que la DNA polimerasa utiliza como cebador.
3. Los fragmentos de Okazaki son cortos fragmentos de DNA que se sintetizan en la hebra retardada del DNA. Posteriormente, estos fragmentos se unen mediante la DNA ligasa para formar un segmento continuo de DNA.
4. Cuando se está sintetizando el DNA en la horquilla de replicación, la hebra conductora se sintetiza de manera continua en dirección 5′ → 3′ mientras el molde se lee en dirección 3′ → 5′. La hebra retardada se sintetiza por medio de cortos fragmentos de Okazaki.
5. (a) 5; (b) 4; (c) 8; (d) 1; (e) 10; (f) 2; (g) 6; (h) 7; (i) 3; (j) 9.
6. Los nucleótidos utilizados para la síntesis de DNA tienen el grupo trifosfato unido al grupo hidroxilo en posición 5′ y grupos OH libres en posición 3′. Estos nucleótidos solo se pueden utilizar para sintetizar DNA en la dirección 5′ → 3′.
7. La velocidad de separación de las hebras es lenta debido a los puentes de hidrógeno de la hélice y a las fuerzas de apilamiento entre las bases. Aunque a escala individual son débiles, los miles o millones de enlaces de este tipo que mantienen unida una hélice hacen que la separación espontánea de las hebras sea improbable.
8. La replicación llevaría el doble de tiempo.
9. El DNA acabaría estando tan fuertemente enrollado que el movimiento del complejo de replicación sería imposible desde el punto de vista energético.
10. Una de las características distintivas de la mayoría de las células cancerosas es su alta tasa de división celular, que requiere la replicación del DNA. Si la telomerasa no estuviese activada, los cromosomas se acortarían hasta dejar de ser funcionales, dando lugar a la muerte celular. Curiosamente, se observa que, en las células cancerosas, la telomerasa a menudo se encuentra activada, aunque no siempre.
11. En condiciones estándar, la energía libre de la hidrólisis del ATP es $-30{,}5$ kJ mol^{-1} ($-7{,}3$ kcal mol^{-1}). En principio, se podría utilizar para romper tres pares de bases.
12. (a) La estructura del nucleótido ddATP es prácticamente idéntica a la del dATP, salvo por el hecho de carecer de un grupo OH en posición 3′. Por tanto, la DNA polimerasa lo incorporará a un DNA recién sintetizado en cuanto la polimerasa se encuentre con la primera T de la hebra molde. Sin embargo, como el ddAMP incorporado carece de un grupo OH en posición 3′, la síntesis se detiene.

(b) Como el ddATP solo representa el 10% de la concentración de dATP, la probabilidad de que se incorpore en el DNA recién sintetizado cuanto la polimerasa encuentre una T en la hebra molde es solo del 10%. En consecuencia, se sintetizará una población de fragmentos en la que todos ellos terminan con ddAMP. La incapacidad para alargar el nucleótido didesoxi es la base del método de terminación de la cadena, o método didesoxi, para la secuenciación del DNA (p. 717).
13. El superenrollamiento positivo se opone al desenrollamiento del DNA. La temperatura de fusión del DNA aumenta a medida que el DNA con superenrollamiento negativo se relaja para, después, convertirse en DNA con superenrollamiento positivo. Probablemente, el superenrollamiento positivo es una adaptación a altas temperaturas para evitar el desenrollamiento descontrolado del DNA.
14. (a) En el tamaño; en la parte superior está relajado y, en la parte inferior, el DNA está superenrollado.

(b) Topoisómeros.

(c) El DNA se desenrolla cada vez más, es decir, se relaja, de modo que se desplaza más lentamente.
15. El efecto de la elevada concentración de nucleótidos será el de acelerar la reacción de polimerización. En consecuencia, un producto erróneamente formado puede abandonar el centro activo de la polimerasa antes de que le dé tiempo a acceder al centro con actividad exonucleasa. Si el siguiente nucleótido escasea, ocurre lo contrario. La polimerasa se detiene más tiempo, aumentando la probabilidad de que un producto erróneamente formado acceda al lugar de la exonucleasa.
16. (a) 96,2 revoluciones por segundo (1.000 nucleótidos por segundo, dividido entre 10,4 nucleótidos por cada vuelta del DNA-B suponen 96,2 rps).

(b) 0,34 μm s^{-1} (1.000 nucleótidos por segundo equivale a 3.400 Å s^{-1}, ya que, en el B-DNA, la distancia axial entre nucleótidos es de 3,4 Å).
17. Tratar brevemente el DNA con una endonucleasa para que genere cortes ocasionales en cada hebra. Añadir la polimerasa con los dNTP radiactivos. En el lugar donde se ha cortado el enlace, o muesca (*nick*), la polimerasa degradará la hebra existente gracias a su actividad exonucleasa 5′ → 3′ y la sustituirá por una copia complementaria radiactiva utilizando su actividad polimerasa. Este esquema de reacciones se denomina desplazamiento de la muesca (*nick translation*) porque la muesca se mueve, o se desplaza, a lo largo de la molécula de DNA sin llegar a sellarse nunca.

Capítulo 35

1. Emparejamientos incorrectos, inserciones, deleciones y rupturas.
2. Agentes oxidantes como las especies reactivas del oxígeno; desaminación; alquilación; luz ultravioleta; radiaciones ionizantes.

3. En primer lugar, reconocer la base o bases dañadas. En segundo lugar, eliminar la base o bases dañadas. En tercer lugar, reparar el hueco con la DNA polimerasa I y, para finalizar, sellar la hebra con la DNA ligasa.
4. La capacidad para corregir errores de la DNA polimerasa, los sistemas de reparación de emparejamientos incorrectos; reparación directa, reparación mediante escisión de bases, reparación mediante escisión de nucleótidos; recombinación del DNA.
5. La radiación ultravioleta del sol provoca, además de las marcas del bronceado, la formación de dímeros de timina en el DNA que, si no se reparan, bloquean la replicación y la expresión génica, y, probablemente, darán lugar a mutaciones.
6. En *E. coli*, la enzima reparadora AlkA se une al DNA y hace que la base se oriente hacia el exterior de la hélice. La enzima escinde el enlace glicosídico, liberando la base dañada. La endonucleasa AP hace un corte en el esqueleto y otra enzima elimina la unidad desoxirribosa fosfato. La DNA polimerasa I rellena el hueco y la DNA ligasa sella la hebra.
7. En el DNA, la citosina, que se empareja con la guanina, experimenta, a veces, una desaminación y forma uracilo, que se empareja con la adenina. El resultado sería una mutación (un par de bases U-A en lugar de un par de bases C-G). Utilizando timina en lugar de uracilo, la maquinaria de reparación reconoce inmediatamente que, en el DNA, el uracilo es un error, y lo sustituye por citosina.
8. La 5-metilcitosina se desamina espontáneamente formando timina. Esto da lugar a un par de bases T-G. Como la mutación C → T es tan frecuente, en un par de bases T-G siempre se considera que la base incorrecta es la T, y es eliminada por las proteínas de reparación por escisión de bases. Este sistema de reparación permite que la metilación de la citosina desempeñe un papel en la regulación de la transcripción sin dar lugar a mutaciones en el DNA.
9. Una subunidad de la DNA polimerasa III, actuando como una exonucleasa, elimina la base incorrecta. La actividad polimerasa realiza la corrección y la DNA ligasa cierra el esqueleto.
10. Cada par de bases tiene una purina, que puede experimentar una despurinización espontánea con una velocidad de 3×10^{-9} despurinizaciones por purina por minuto. El genoma humano contiene 6×10^{9} pares de bases y, por tanto, tiene que haber 18 despurinizaciones por minuto. Multiplicando 18 por 60 minutos que tiene una hora y por 24 horas que tiene el día, resulta que, cada célula, requiere 26.000 eventos de reparación al día.
11. Se evitan reacciones secundarias potencialmente perjudiciales. La propia enzima podría resultar dañada por la luz si pudiese ser activada por la luz en ausencia de un DNA unido que contenga un dímero de pirimidina.
12. (a) 9; (b) 5; (c) 10; (d) 1; (e) 6; (f) 7; (g) 2; (h) 3; (i) 8; (j) 4.
13. (a) La placa de Petri control se utilizó para determinar el número de revertientes espontáneos —es decir, la tasa de mutación basal.

(b) Para dejar claro que el sistema funciona. Si un mutágeno conocido no consigue producir revertientes, sería una señal de que algo va mal en el sistema experimental.

(c) El producto químico, por sí mismo, tiene poca capacidad mutagénica pero, aparentemente, el homogenado del hígado lo activa y lo convierte en un mutágeno.

(d) El sistema citocromo P450 u otras enzimas hepáticas.
14. (a) Las personas con xeroderma pigmentoso desarrollan cáncer de piel a una edad mucho más temprana que la gente que no lo padece.

(b) Las personas con xeroderma pigmentoso carecen de uno de los componentes de la ruta humana para la reparación mediante escisión de nucleótidos. Esta ruta es especialmente importante durante la reparación de las lesiones del DNA inducidas por la radiación ultravioleta, como los dímeros de timina. Por tanto, se desarrolla rápidamente el cáncer de piel.

(c) La aparición tardía del cáncer de piel en las personas sanas indica que, antes de que se desarrolle el cáncer de piel, se tienen que producir multitud de mutaciones en el DNA.

Capítulo 36

1. La transcripción es la síntesis de RNA dirigida por el DNA y se lleva a cabo mediante la RNA polimerasa.
2. La hebra molde tiene una secuencia complementaria a la del RNA transcrito. La hebra codificante tiene la misma secuencia que la del RNA transcrito, salvo por la presencia de timina (T) en lugar de uracilo (U).
3. Comienzo, etapa intermedia y final, aunque es estrictamente cierto no se considera una respuesta válida. Las tres etapas son iniciación, elongación y terminación.
4. DNA molde, ATP, GTP, UTP, CTP, Mg^{2+} o Mn^{2+}.
5. La subunidad sigma ayuda a la RNA polimerasa a localizar los lugares promotores. Tras localizar el promotor, la subunidad sigma abandona la enzima y ayuda a otra polimerasa a encontrar un promotor.
6. (a) 4; (b) 10; (c) 1; (d) 5; (e) 2; (f) 9; (g) 6; (h) 3; (i) 8; (j) 7.
7.

	Transcripción	Replicación
Molde	DNA	DNA
Hebras copiadas	Una	Las dos
Enzima	RNA polimerasa	DNA polimerasa
Sustratos	Ribonucleótidos	Desoxirribonucleótidos
Cebador	Ninguno	Necesarios

8. Un promotor es una secuencia de DNA que dirige la RNA polimerasa hacia el lugar adecuado para la iniciación de la transcripción.
9. En el complejo promotor cerrado, el DNA está en forma de doble hélice y la transcripción no se puede llevar a cabo. En el complejo promotor abierto, el DNA está desenrollado, un requisito esencial para la transcripción.
10. La secuencia de la hebra codificante (+, con sentido) es

5′-ATGGGGAACAGCAAGAGTGGGGCCCTGTCCAAGGAG-3′

y la secuencia de la hebra molde (−, antisentido) es

3′-TACCCCTTGTCGTTCTCACCCCGGGACAGGTTCCTC-5′

11. En la síntesis de RNA, un error afecta únicamente a una molécula de mRNA de las muchas sintetizadas a partir de un gen. Además, los errores no se convierten en parte permanente de la información genómica.
12. En cualquier momento dado, solo se está transcribiendo una fracción del genoma (la totalidad del DNA). En consecuencia, la velocidad no es un requisito.
13. Esta σ mutante inhibirá de forma competitiva la unión de la holoenzima y evitará la iniciación específica de las hebras de RNA en los lugares promotores.
14. El núcleo de la enzima sin σ se une al DNA molde con más fuerza que la holoenzima. La retención de σ tras la iniciación de la hebra haría que la RNA polimerasa mutante tenga menos procesividad. Por tanto, La síntesis de RNA sería mucho más lenta de lo normal.
15. Una proteína de 100 kDa contiene unos 910 residuos, codificados por 2.730 nucleótidos. A una velocidad máxima de transcripción de 50 nucleótidos por segundo, el mRNA se sintetiza en 54,6 s.
16. En los promotores fuertes, la iniciación se produce cada dos segundos. En este intervalo de tiempo se transcriben 100 nucleótidos. Por tanto, los centros de las burbujas de transcripción se encuentran a una distancia de 34 nm (340 Å).
17. Los ribointerruptores son estructuras secundarias especiales formadas por algunas moléculas de mRNA, capaces de unirse directamente a moléculas pequeñas, que determinan si la transcripción prosigue o se detiene. Por ejemplo, un ribointerruptor controla la síntesis de un mRNA que codifica una proteína necesaria para la síntesis de FMN. Si ya hay FMN, el ribointerruptor se une a él de manera que el transcrito de RNA adopta una conformación que favorece la terminación de su síntesis, evitando así la producción de un mRNA funcional. Sin embargo, en ausencia de FMN, el transcrito de RNA adopta una conformación alternativa que permite la formación del mRNA completo.
18. (a) Las células expresarán β-galactosidasa, permeasa *lac* y tiogalactósido transacetilasa incluso en ausencia de lactosa.

(b) Las células expresarán β-galactosidasa, permeasa *lac* y tiogalactósido transacetilasa incluso en ausencia de lactosa.

(c) Los niveles de las enzimas catabólicas, como la β-galactosidasa, permanecerán bajos incluso cuando los niveles de glucosa sean bajos.

19. La lactosa no puede acceder al interior de la célula porque falta la permeasa.

20. Gracias al factor σ, la RNA polimerasa se une al DNA y se desliza a lo largo de él emprendiendo una búsqueda unidimensional del promotor. La difusión en una dimensión es más rápida que la difusión en tres dimensiones, que es la que permite que las dos moléculas pequeñas se encuentren la una a la otra.

21. La escisión de un precursor, la adición de CCA al tRNA y la modificación de las bases.

22. El DNA es la hebra sencilla que forma el tronco del árbol. Las hebras de longitud creciente son moléculas de RNA; el comienzo de la transcripción está localizado allí donde las hebras en crecimiento son más cortas; el final de la transcripción está localizado allí donde el crecimiento de las hebras se detiene. La dirección es de izquierda a derecha. Hay muchas enzimas implicadas en la transcripción activa de cada gen.

23. La heparina, un glicosaminoglicano, es muy aniónica. Sus cargas negativas, como los puentes fosfodiéster de los DNA molde, le permiten unirse a los residuos de lisina y de arginina de la RNA polimerasa.

24. La concentración es $1/(6 \times 10^{23})$ moles por 10^{-15} litros = $1{,}7 \times 10^{-9}$ M. Como $K_d = 10^{-13}$ M, la única molécula tendría que estar unida a su lugar de unión específico.

25. Los anti-inductores se unen a la conformación de los represores, como el represor *lac*, que es capaz de unirse al DNA. Ocupan un sitio que se solapa con el del inductor y, por tanto, compiten a la hora de unirse al represor.

26. La energía del emparejamiento de las bases de los híbridos DNA-RNA con una longitud de dos y de tres nucleótidos que se forman en el mismo instante en que comienza la transcripción no es suficiente como para evitar la separación de las hebras y la pérdida del producto.

27. Cuando se añadió la proteína barco justo en la iniciación, pocos segundos después de la iniciación y 2 minutos después de la iniciación, se obtuvieron moléculas de RNA de distintos tamaños, designadas como 10S, 13S y 17S, respectivamente. Cuando no se añadió la proteína barco, el producto de la transcripción era un RNA de 23S. Evidentemente, la proteína barco, al igual que ρ, es un factor de terminación. El molde que se utilizó para la síntesis de RNA contenía al menos tres lugares de terminación que respondían a la proteína barco (generando moléculas de RNA de 10S, 13S y 17S) y un lugar de terminación que no respondía a la proteína barco (generando un RNA de 23S). Por tanto, en ausencia de la proteína barco, se puede producir la terminación específica en un lugar, generando un RNA de 23S. Sin embargo, la proteína barco detecta señales de terminación adicionales que no son reconocidas por la RNA polimerasa sola. Por desgracia, una búsqueda bibliográfica reveló que alguien ya había caracterizado el factor al que los científicos habían bautizado como "barco" —el factor de terminación ρ.

Capítulo 37

1. (1) En eucariotas, la regulación de la transcripción es más compleja que en las bacterias. (2) El RNA, especialmente el mRNA, se procesa mucho más en eucariotas que en bacterias. (3) En eucariotas, la síntesis de RNA está localizada en un orgánulo concreto —el núcleo. Como resultado, la transcripción y la traducción tienen lugar en distintos compartimentos celulares.

2. La RNA polimerasa I cataliza la síntesis de todos los RNA ribosómicos excepto la del rRNA de 5S y está localizada en el nucleolo. La RNA polimerasa I no es sensible a la inhibición por α-amanitina. La RNA polimerasa II sintetiza el mRNA, está localizada en el nucleoplasma y es muy sensible a la inhibición por α-amanitina. La RNA polimerasa III, también localizada en el nucleoplasma, sintetiza el tRNA y el rRNA de 5S. La RNA polimerasa III se puede inhibir por altas concentraciones de α-amanitina.

3. En el promotor para la RNA polimerasa II se pueden distinguir tres elementos comunes: (1) la caja TATA, (2) el elemento iniciador (Inr) y (3) un elemento promotor situado corriente abajo (DPE). También puede haber otros elementos adicionales, como la caja CAAT.

4. La RNA polimerasa II posee un dominio denominado dominio carboxilo terminal que desempeña un papel clave en la regulación de la actividad de la RNA polimerasa II.

5. Los elementos que actúan en *cis* son secuencias que regulan la expresión de un gen localizado en la misma molécula de DNA. Los elementos que actúan en *trans*, también denominados factores de transcripción, son proteínas que se unen a los elementos que actúan en *cis* y regulan la síntesis de RNA.

6. Los intensificadores son secuencias de DNA que, por sí mismos no tienen actividad promotora; sin embargo, son capaces de estimular promotores situados a varios miles de pares de bases de distancia. Pueden estar corriente arriba, corriente abajo o incluso en mitad de un gen transcrito y son eficaces estando ubicados en cualquiera de las hebras del DNA. A los intensificadores se unen proteínas que intervienen en la regulación de la transcripción.

7. Las RNA polimerasas I y III generan los mismos productos en todas las células. Sin embargo, la RNA polimerasa II tiene que responder a los cambios en las condiciones ambientales. Por tanto, los promotores para los genes transcritos por la RNA polimerasa II tienen que ser lo suficientemente complejos como para responder a diversas señales.

8. (a) 2, 6, 9; (b) 1, 4, 5, 7, 8; (c) 3, 4, 10.

9. La cordicepina (3′-desoxiadenosina) es un análogo de la adenosina y, cuando está fosforilada, es un análogo del nucleótido adenilato. La ausencia del grupo hidroxilo en la posición 3′ significa que no puede formar un enlace fosfodiéster con otro nucleótido. Si se incorpora la cordicepina, la síntesis de RNA se detendrá.

10. La fosforilación del CTD marca la transición entre la iniciación y la elongación. El CTD fosforilado facilita la elongación por parte de la RNA polimerasa II y actúa como lugar de unión para las enzimas que procesan el RNA y que actúan en el transcurso de la elongación.

11. Este descubrimiento indica que, en la región posterior de la RNA polimerasa, el DNA se vuelve a enrollar aproximadamente a la misma velocidad con la que se desenrolla por la parte delantera de la enzima, de modo que la información genómica vuelve a estar a buen recaudo.

12. (a) 5; (b) 10; (c) 2; (d) 3; (e) 9; (f) 4; (g) 8; (h) 1; (i) 6, (j) 7.

13. Los receptores hormonales nucleares se unen a los elementos de respuesta apropiados del DNA. Cuando un receptor hormonal nuclear se une a una hormona, cambia la estructura del receptor, de modo que el receptor se puede unir a un coactivador (o a un correpresor), lo que, a su vez, activa (o inhibe) la RNA polimerasa.

14. Una proteína reguladora determinada puede provocar efectos diferentes, en función de las demás proteínas reguladoras del entorno. Por tanto, con un menor número de proteínas reguladoras se pueden obtener complejos patrones de regulación que dan lugar a la diferenciación y al desarrollo.

15. La acetilación reduce el número de cargas positivas y, por tanto, reduce la afinidad hacia el DNA, cargado negativamente.

16. Aunque la RNA polimerasa II podría inhibirse rápidamente, en el hígado sigue habiendo muchos mRNA y proteínas funcionales. Sin embargo, como se van deteriorando y no se pueden reemplazar, el hígado empieza a fallar, provocando la muerte.

17. La expresión génica no debería responder a la presencia de estrógenos. Sin embargo, los genes cuya expresión normalmente responde a los estrógenos responderán a la presencia de progesterona.

18. El estradiol, gracias a su naturaleza hidrofóbica, puede difundir al interior de la célula, donde se puede unir a su receptor. El complejo se puede unir directamente al DNA. Los ligandos para los receptores acoplados a proteínas G no entran en la célula. Además, los propios receptores se encuentran confinados en la membrana. Cualquier efecto sobre la regulación génica tiene que incluir otros componentes de una ruta de transducción de señales.

19. El estradiol solo ejerce sus efectos en presencia del receptor de estradiol. Por tanto, solo los tejidos que contengan el receptor reconocen la presencia de estradiol.

20. El zinc forma parte de los dedos de zinc, los motivos de los receptores hormonales nucleares que se unen al DNA.
21. Estos resultados sugieren que la estructura de la cromatina varía en función del estatus de transcripción del gen. Si el gen se está transcribiendo, el empaquetamiento de la cromatina se relaja para que el DNA resulte accesible para los factores de transcripción y para la RNA polimerasa. En presencia de DNAsa, estas regiones son susceptibles a la digestión.
22. (a) Para cada gen hay distinta cantidad de RNA.

(b) Aunque todos los tejidos tienen los mismos genes, los niveles de expresión de los genes son distintos en cada tejido.

(c) Estos genes se denominan genes domésticos —genes que se expresan en la mayoría de los tejidos. Podrían incluir genes para las enzimas de la glucólisis o del ciclo del ácido cítrico.

(d) El objetivo del experimento consistía en determinar qué genes se inician *in vivo*. Se añadió el inhibidor de la iniciación para evitar la iniciación en lugares de inicio que podrían haberse activado durante el proceso de purificación de los núcleos.

Capítulo 38

1. (a) 9; (b) 1; (c) 7; (d) 2; (e) 8; (f) 5; (g) 3; (h) 10; (i) 6; (j) 4.
2. El capuchón básico está formado por un GTP unido al extremo 5′ del mRNA mediante un enlace 5′-5′.
3. Una endonucleasa específica reconoce una secuencia AAUAAA y escinde el precursor. La poli(A) polimerasa añade una cola de residuos de adenilato al extremo 3′ del transcrito.
4. La adición del capuchón 5′, la adición de la cola de poli(A) y la eliminación de los intrones durante el proceso de maduración.
5. El dominio carboxilo terminal.
6. (a) Como la cordicepina carece de un grupo OH en posición 3′, no puede intervenir en la formación de enlaces en la dirección 3′ → 5′. (b) Como la cola de poli(A) es un largo segmento de nucleótidos de adenosina, la probabilidad de que se incorpore una molécula de cordicepina en la cola de poli(A) es mayor que para la mayoría de los RNA. (c) Sí, se tiene que convertir en cordicepina 5′-trifosfato.
7. Un espliceosoma es la maquinaria de maduración del núcleo. Está formado por varios snRNP (U1, U2, U4, U5 y U6) y varias proteínas que funcionan como factores de maduración.
8. El dominio carboxilo terminal recluta proteínas necesarias para la formación del capuchón, para el proceso de maduración y para la poliadenilación.
9. Un gen con varios intrones puede madurar produciendo varios mRNA diferentes y estos mRNA darán lugar a distintas proteínas. Básicamente, un gen puede codificar más de una proteína.
10. Como el gen contiene ocho lugares en donde se puede producir maduración alternativa, hay $2^8 = 256$ posibles productos.
11. La maduración alternativa permite la formación, a partir de un gen, de más de una proteína.
12. Los mecanismos de maduración son similares en dos aspectos. En primer lugar, en el paso inicial, un grupo hidroxilo de la ribosa ataca el lugar de corte y empalme situado en 5′. A continuación, el extremo OH en posición 3′ recién formado en el exón situado corriente arriba, ataca el lugar de corte y empalme situado en 3′ formando un enlace fosfodiéster con el exón situado corriente abajo. En segundo lugar, ambas reacciones son transesterificaciones cuyos productos conservan los grupos fosfato de los lugares de corte y empalme. El número de enlaces fosfodiéster permanece constante.
13. La maduración alternativa y la corrección del RNA. La modificación covalente de las proteínas posterior a su síntesis incrementa aún más la complejidad.
14. Añadir una secuencia oligo(dT) u oligo(U) a un soporte inerte para generar una columna de afinidad. Cuando se hace pasar el RNA a través de la columna, solo quedará retenido el RNA que contenga poli(A).
15. Solo se necesitan grandes cantidades de histonas y en cantidades iguales cuando se está sintetizando DNA. Las múltiples repeticiones con igual número de tipos de histona en cada una facilitará la rápida producción de un gran número de histonas en proporciones iguales. La falta de procesamiento postranscripcional puede acelerar la síntesis de las propias histonas, y la ausencia de cola de poli(A) puede facilitar la degradación del mRNA para las histonas, que solo tiene que estar presente durante la síntesis de DNA.
16. Ser-Ile-Phe-His-Pro-Stop.
17. Este hallazgo se podría explicar mediante una mutación que altere la secuencia normal de reconocimiento para la endonucleasa (AAUAAA). De hecho, en el paciente con talasemia, este defecto se debe a la sustitución, en esta secuencia, de la base U por la base C. La escisión tenía lugar en la secuencia AAUAAA situada 900 nucleótidos corriente abajo de la secuencia mutante AACAAA.

Capítulo 39

1. Tres bases contiguas. Como hay cuatro bases, un código basado en codones de dos bases solo podría codificar 16 aminoácidos. Un codón de tres bases permitiría 64 combinaciones distintas, más que suficiente para codificar los 20 aminoácidos.
2. Una mutación que alterase la lectura del mRNA cambiaría la secuencia de aminoácidos de la mayoría, si no todas, las proteínas sintetizadas por ese organismo concreto. Sin duda, muchos de esos cambios serían perjudiciales y, por tanto, habría una fuerte presión selectiva en contra de una mutación con consecuencias tan extendidas.
3. (a) 3; (b) 10; (c) 4; (d) 7; (e) 6; (f) 2; (g) 1, (h) 9; (i) 8; (j) 5.
4. Tres nucleótidos codifican un aminoácido; el código no se solapa; el código carece de signos de puntuación; el código está degenerado.
5. La degeneración del código genético significa que, para la mayoría de los aminoácidos, hay más de un codón. Esta propiedad es muy valiosa, ya que si el código no estuviese degenerado, 20 codones codificarían los aminoácidos y los demás darían lugar a la terminación de la cadena. En ese caso, la mayoría de las mutaciones darían lugar, probablemente, a proteínas inactivas.
6. La probabilidad se calcula mediante la ecuación $p = (1 - \varepsilon)^n$, donde p es la probabilidad de sintetizar la proteína sin errores, ε es la tasa de error y n es el número de residuos de aminoácido de la proteína.

	Probabilidad de sintetizar una proteína sin errores	
	Número de residuos de aminoácido	
Frecuencia de inserción de un aminoácido incorrecto	50	500
10^{-2}	0,605	0,0066
10^{-4}	0,995	0,951
10^{-6}	0,999	0,999

7. Una frecuencia de error de 1 aminoácido incorrecto por cada 10^4 incorporaciones permite la síntesis rápida y precisa de proteínas con un tamaño de hasta 1.000 aminoácidos. Tasas más elevadas de error darían lugar a demasiadas proteínas defectuosas. Tasas de error más reducidas probablemente ralentizarían la síntesis de proteínas sin un incremento significativo de la precisión.
8. Las primeras dos bases de un codón forman pares de bases de tipo Watson-Crick cuya fidelidad se comprueba mediante las bases del rRNA de 16S. No se comprueba la precisión de la tercera base, de modo que se tolera cierta variabilidad.
9. (a) 5′-UAACGGUACGAU-3′ (B) Leu-Pro-Ser-Asp-Trp-Met (c) Poli(Leu-Leu-Thr-Tyr).
10. La incubación con RNA polimerasa, UTP, ATP y CTP solo dio lugar a la síntesis de poli(UAC). Cuando se utilizó GTP en lugar de CTP, solo se formó poli(GUA).
11. Solo el RNA de hebra sencilla puede servir de molde para la síntesis de proteínas.
12. Ambas alternativas se diferenciaron gracias a los resultados de los estudios de la secuencia de aminoácidos en mutantes. Supongamos que la base C muta a C′. En un código que no se solapa, solo cambiará el aminoácido 1. En un código que se solapa por completo, la mutación de

C a C′ alterará los aminoácidos 1, 2 y 3. Los resultados de los estudios de la secuencia de aminoácidos en mutantes del virus del mosaico del tabaco y en hemoglobinas anormales demostraron que, normalmente, las alteraciones solo afectaban a un único aminoácido. Por lo tanto, se concluyó que el código genético no se solapa.

13. Un péptido que termina con Lys (UGA es un codón Stop), -Asn-Glu-, y -Met-Arg-.

14. Los residuos de aminoácido más abundantes son los que poseen más codones (p. ej., Leu y Ser tienen seis cada uno), mientras que los aminoácidos menos abundantes son los que tienen menos (Met y Trp solo tienen uno cada uno). La degeneración (1) permite variaciones en la secuencia de bases y (2) reduce la probabilidad de que una sustitución en una base cambie el aminoácido codificado. Si la degeneración estuviese distribuida por igual, cada uno de los 20 aminoácidos tendría tres codones. Las dos ventajas (1 y 2) son máximas si a los aminoácidos más frecuentes se les asignan más codones que a los aminoácidos que se utilizan con menos frecuencia.

15. Phe-Cys-His-Val-Ala-Ala

16. (1) Todos están formados por una única cadena. (2) Contienen bases atípicas. (3) Aproximadamente la mitad de las bases están formando pares de bases que dan lugar a dobles hélices. (4) El extremo 5′ está fosforilado y suele ser pG. (5) El aminoácido se une al grupo hidroxilo del residuo A de la secuencia CCA situada en el extremo 3′ del tRNA. (6) El anticodón está ubicado en un bucle próximo al centro de la secuencia del tRNA.

17. Primero se forma el aminoacil-adenilato que, después, reacciona con el tRNA formando el aminoacil-tRNA. Ambos pasos están catalizados por la aminoacil-tRNA sintasa.

18. Se necesitan características únicas para que las aminoacil-tRNA sintasas puedan diferenciar los tRNA y añadir el aminoácido correcto al tRNA adecuado. Se necesitan características comunes porque todas las moléculas de tRNA tienen que interaccionar con la misma maquinaria para la síntesis de proteínas.

19. Un aminoácido activado es un aminoácido que está unido al tRNA apropiado.

20. El ATP se escinde a AMP y PP_i. En consecuencia, se necesita una segunda molécula de ATP para convertir el AMP en ADP, el sustrato para la fosforilación oxidativa.

21. Los aminoácidos más voluminosos que el aminoácido correcto no pueden encajar en el centro activo de la aminoacil-tRNA sintetasa. Los aminoácidos más pequeños, pero incorrectos, que se unen a la aminoacil-tRNA sintetasa encajan en el centro para la corrección de errores y son escindidos del tRNA.

22. Estas enzimas convierten la información de los ácidos nucleicos en información proteica reconociendo los tRNA y uniéndolos al aminoácido correcto.

23. El grupo OH en posición 2′ del RNA actúa como un nucleófilo intramolecular. Durante la hidrólisis alcalina del RNA, el grupo OH en posición 2′ forma un intermediario cíclico 2′-3′.

24. (a) No; (b) no; (c) sí.

25. Esta distribución es la esperada en el caso de que las regiones amino terminales de algunas cadenas ya hubiesen sido parcialmente sintetizadas antes de la adición del aminoácido radiactivo. Por tanto, la síntesis de proteínas comienza en el extremo amino y prosigue hacia el extremo carboxilo.

26. El triplete AAA codifica la lisina, mientras que AAC codifica la asparagina. Como la asparagina era el residuo carboxilo terminal, se puede concluir que el último codón leído fue AAC.

Capítulo 40

1. El *Diccionario de la Real Academia* define traducción como la acción o proceso de expresar en una lengua lo que está escrito o se ha expresado antes en otra. La síntesis de proteínas convierte la información contenida en la secuencia de un ácido nucleico en la información contenida en una secuencia de aminoácidos.

2. La pauta de lectura es un conjunto de codones de tres nucleótidos contiguos, y que no se solapan, que comienza con un codón Start y termina con un codón Stop.

3. (a) 1, 2, 3, 5, 6, 10; (b) 1, 2, 7, 8; (c) 1, 4, 8, 9.

4. Los RNA de transferencia desempeñan un papel en varios procesos de reconocimiento. Un tRNA tiene que ser reconocido por la aminoacil-tRNA sintasa apropiada y el tRNA tiene que interaccionar con el ribosoma, concretamente con la peptidiltransferasa.

5. Cuatro bandas: ligera, pesada, una híbrida de la de 30S ligera y la 50S pesada y una híbrida de la 30S pesada y la 50S ligera.

6. Para activar los 200 aminoácidos, doscientas moléculas de ATP se convierten en 200 AMP + 400 P_i, lo que equivale a 400 moléculas de ATP. Se necesita una molécula de GTP para la iniciación y se necesitan 398 moléculas de GTP para la formación de 199 enlaces peptídicos.

7. La secuencia GAGGU es complementaria a la secuencia de cinco bases del extremo 3′ del rRNA de 16S y está localizada varias bases corriente arriba de un codón Start AUG. Por tanto, esta región es una señal de inicio para la síntesis de proteínas. La sustitución de la G por una A debería debilitar la interacción de este mRNA con el rRNA de 16S y, con ello, reducir su efectividad como señal de iniciación. De hecho, esta mutación hace que la velocidad de síntesis de la proteína especificada por este mRNA sea 10 veces menor.

8. Las tasas de error de la síntesis de DNA, de RNA y de proteínas son del orden de 10^{-10}, 10^{-5} y 10^{-4}, respectivamente, por nucleótido (o aminoácido incorporado). La fidelidad de estos tres procesos depende de la precisión del emparejamiento con las bases del DNA o del mRNA molde. Durante la síntesis de RNA se corrigen pocos errores. Por el contrario, la fidelidad de la síntesis del DNA aumenta notablemente gracias a la actividad nucleasa que corrige errores en sentido 3′ → 5′ y a la reparación posterior a la replicación. Durante la síntesis de proteínas, los errores debidos a algunos tRNA incorrectamente cargados se corrigen gracias a la actividad hidrolítica de la aminoacil-tRNA sintasa. También se corrigen errores cuando el aminoacil-tRNA ocupa el lugar A del ribosoma; la actividad GTPasa de EF-Tu es la que marca el ritmo de esta fase final de la corrección.

9. La secuencia de Shine-Dalgarno del mRNA forma pares de bases con parte de un rRNA de 16S de la subunidad de 30S, de modo que la subunidad se coloca de forma que pueda reconocer el AUG iniciador.

10. El GTP no se hidroliza hasta que el aminoacil-tRNA accede al lugar A del ribosoma. Si la hidrólisis del GTP se produjese antes sería un despilfarro, ya que EF-Tu-GDP muestra poca afinidad hacia el aminoacil-tRNA.

11. La traducción de una molécula de mRNA se puede bloquear mediante una molécula de RNA que tenga una secuencia complementaria. Estos tipos de RNA se denominan RNA antisentido. La doble hélice formada por un RNA con sentido y un RNA antisentido no puede servir de molde para la traducción; se necesita un mRNA de hebra sencilla. Además, la doble hélice sentido-antisentido se degrada por medio del complejo silenciador inducido por RNA. El RNA antisentido añadido al medio externo es captado por muchas células de forma espontánea. Se puede administrar una cantidad precisa mediante una microinyección. Alternativamente, se puede introducir en las células diana un plásmido que codifique el RNA antisentido.

12. (a) A_5; (b) $A_5 > A_4 > A_3 > A_2$; (c) la síntesis se produce desde el extremo amino hacia el extremo carboxilo.

13. La velocidad disminuiría porque el paso de elongación necesita que el GTP se hidrolice antes de que se pueda seguir llevando a cabo la elongación.

14.

	Bacteria	Eucariota
Tamaño del ribosoma	70S	80S
mRNA	Policistrónico	No policistrónico
Iniciación	Se necesita Shine-Dalgarno	Se utiliza el primer AUG
Factores proteicos	Se necesitan	Se necesitan muchos más
Relación con la transcripción	La traducción puede comenzar antes de que se complete la transcripción	La transcripción y la traducción están separadas espacialmente
Primer aminoácido	fMet	Met

15. La secuencia señal, la partícula que reconoce la señal (SRP), el receptor de SRP y el translocón.
16. La partícula que reconoce la señal (SRP) se une a la secuencia señal e interrumpe la traducción. La SRP conduce al ribosoma inhibido hacia el RE, donde interacciona con el receptor de SRP (SR). El complejo SRP-SR se une al translocón y, al mismo tiempo, hidroliza GTP. Al hidrolizarse el GTP, SRP y SR se disocian una de otra y se separan del ribosoma. Se reanuda la síntesis de proteínas y la proteína naciente se canaliza a través del translocón.
17. La formación de enlaces peptídicos que, a su vez, está impulsada por la hidrólisis de los aminoacil-tRNA.
18. La alternativa sería tener un único ribosoma traduciendo una única molécula de mRNA. El uso de polisomas permite que se sinteticen más proteínas por cada molécula de mRNA en un periodo de tiempo determinado y, por tanto, que se produzca una mayor cantidad de proteína.
19. La adición de un IRE al extremo 5′ del mRNA debería bloquear la traducción en ausencia de hierro. La adición de un IRE al extremo 3′ del mRNA no debería bloquear la traducción, pero podría afectar a la estabilidad del mRNA.
20. Habría que buscar en las secuencias de todos los mRNA aquellas que sean total o casi totalmente complementarias a la secuencia del miRNA. Estas secuencias serían las candidatas a ser reguladas por este miRNA.
21. EF-Ts cataliza el intercambio de GTP por el GDP unido a EF-Tu. En las cascadas de proteínas G, un receptor con siete hélices transmembrana (7TM) activado cataliza el intercambio GTP-GDP en una proteína G.
22. En el caso del cólera y de la tos ferina, las subunidades α de las proteínas G se inhiben mediante un mecanismo similar (p. 221).
23. (a, d y e) Tipo 2; (b, c y f) tipo I.
24. La estructura primaria determina la estructura tridimensional de la proteína. Por tanto, la fase final de la transferencia de información del DNA al RNA y, después, a la síntesis de proteínas consiste en el plegamiento de la proteína hasta adoptar su estado funcional.
25. (a) El factor eIF-4H tiene dos efectos: (1) aumenta la extensión del desenrollamiento y (2) aumenta la velocidad del desenrollamiento, tal como aparece reflejado en el mayor aumento de la actividad en los primeros momentos de la reacción.

(b) Para dejar claro que el efecto de eIF-4H no se debía a ninguna actividad helicasa intrínseca.

(c) La actividad mitad de la máxima se obtuvo con 0,11 μM de eIF-4H. Por tanto, la estimulación máxima se conseguiría con una proporción 1:1.

(d) El factor eIF-4H aumenta la velocidad de desenrollamiento de todas las hélices, pero el efecto es mayor a medida que aumenta la estabilidad de las hélices.

(e) El resultado del gráfico C sugiere que hace aumentar la procesividad.

26. (a) Los tres picos representan, de izquierda a derecha, la subunidad ribosómica de 40S, la subunidad ribosómica de 60S y el ribosoma de 80S.

(b) No solo están presentes las subunidades ribosómicas y el ribosoma de 80S, sino que también se pueden observar polisomas de diversa longitud. En la región de los polisomas, los picos individuales corresponden a polisomas con una longitud determinada.

(c) El tratamiento inhibiría de forma significativa el número de polisomas, mientras que aumentaría el número de subunidades ribosómicas libres. Este resultado podría deberse a la inhibición de la iniciación de la síntesis de proteínas o a la inhibición de la transcripción.

27. Una mutación causada por la inserción de una base extra se puede suprimir mediante un tRNA que contenga una cuarta base en su anticodón. Por ejemplo, en el caso de un tRNA cuyo anticodón sea 3′AAAG-5′, el codón para la fenilalanina se leería como UUUC, en lugar de UUU.
28. El nucleófilo es el grupo amino del aminoacil-tRNA. Este grupo amino ataca el grupo carbonilo del éster del peptidil-tRNA formando un intermediario tetraédrico que elimina el alcohol tRNA para formar un nuevo enlace peptídico. El mecanismo es análogo al de la quimotripsina (p. 134).
29. El Glu-tRNA^{Gln} se forma mediante una acilación incorrecta. Posteriormente, el glutamato activado se amida formando Gln-tRNA^{Gln}. Las formas mediante las que se forma glutamina a partir de glutamato se comentaron en la Sección 31.2. En relación con *H. pylori*, una enzima específica, la Glu-tRNA^{Gln} amidotransferasa, cataliza la siguiente reacción:

$$\text{Gln} + \text{Glu-tRNA}^{\text{Gln}} + \text{ATP} \rightarrow \text{Gln-tRNA}^{\text{Gln}} + \text{Glu} + \text{ADP} + \text{P}_i$$

La Glu-tRNA^{Glu} no es un sustrato para la enzima; por tanto, la transferasa también tiene que reconocer algunos aspectos de la estructura del tRNA^{Gln}.

Capítulo 41

1. Una biblioteca de cDNA es un conjunto de segmentos de DNA complementarios a secuencias de mRNA procedentes de un tipo celular. Se extrae el mRNA y se convierte en DNA de doble hebra por medio de la transcriptasa inversa y de la DNA polimerasa. El DNA de doble hebra se liga a unos conectores que, posteriormente, se insertan en algún tipo de vector.
2. Una biblioteca de cDNA es una representación, en forma de DNA, del mRNA expresado en un tejido concreto bajo un conjunto específico de condiciones fisiológicas. En un mismo organismo, las bibliotecas de cDNA varían de un tipo de célula a otro. Una biblioteca genómica es una colección de fragmentos de DNA insertados en moléculas de vector, que representan la totalidad del genoma de un organismo. En un mismo organismo, las bibliotecas genómicas preparadas a partir de cualquier tejido diploide son idénticas.
3. La *Taq* polimerasa es una DNA polimerasa procedente de la bacteria termófila que habita en manantiales termales. En consecuencia, es estable al calor y puede soportar, sin desnaturalizarse, las elevadas temperaturas que requiere la PCR.
4. (a) 4; (b) 8; (c) 1; (d) 5; (e) 10; (f) 7; (g) 6; (h) 3; (i) 9; (j) 2.
5. Se puede utilizar el codón (o codones) para cada aminoácido para determinar el número de posibles secuencias de nucleótidos que codifican cada secuencia peptídica (ver la Tabla 4.5):

Ala-Met-Ser-Leu-Pro-Trp:

$4 \times 1 \times 6 \times 6 \times 4 \times 1 = 576$ secuencias totales

Gly-Trp-Asp-Met-His-Lys:

$4 \times 1 \times 2 \times 1 \times 2 \times 2 = 32$ secuencias totales

Cys-Val-Trp-Asn-Lys-Ile:

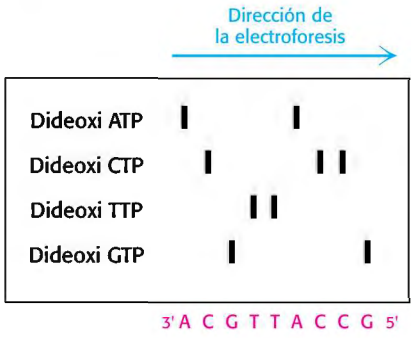
$2 \times 4 \times 1 \times 2 \times 2 \times 3 = 96$ secuencias totales

Arg-Ser-Met-Leu-Gln-Asn:

$6 \times 6 \times 1 \times 6 \times 2 \times 2 = 864$ secuencias totales

El conjunto de secuencias de DNA que codifican el péptido Gly-Trp-Asp-Met-His-Lys sería el más idóneo para diseñar la sonda, ya que solo abarca un total de 32 oligonucleótidos.
6. Se debería utilizar el cDNA de la ovoalbúmina. *E. coli* carece de la maquinaria para la maduración del transcrito primario que se genera a partir del DNA genómico.
7. La probabilidad de encontrar la secuencia de *Alu*I sería, por término medio, $(1/4)^4$, es decir, 1/256, ya que la probabilidad de encontrar cualquier base en cualquier posición es 1/4, y hay cuatro posiciones. Siguiendo el mismo razonamiento, la probabilidad de encontrar la secuencia de *Not*I sería $(1/4)^8$, es decir, 1/65.536. Por tanto, el producto promedio de la digestión por *Alu*I tendría una longitud de 250 pares de bases (0,25 kpb), mientras que, en el caso de *Not*I, tendría una longitud de 66.000 pares de bases (66 kpb).
8. No, porque la mayoría de los genes humanos tienen una longitud mucho mayor que 4 kb. Un fragmento contendría tan solo una pequeña parte de un gen completo.
9. (a) 5′-GGCATAC-3′

(b) El método didesoxi de Sanger para la secuenciación del DNA produciría un gel con el patrón mostrado en la figura.



10. La transferencia Southern de una digestión realizada por *Mst*II permitiría distinguir el gen normal del gen mutante. La pérdida de un lugar de restricción daría lugar a que, en la transferencia Southern, en vez de obtener dos fragmentos se obtenga un único fragmento, más largo. Esta observación no probaría que GTG sustituye a GAG; otros cambios en la secuencia del sitio de restricción podrían dar lugar al mismo resultado.
11. Como la PCR puede amplificar una sola molécula de DNA, cuando alguien afirma que ha purificado DNA antiguo, hay que considerarlo con cierta dosis de escepticismo. Se tendría que secuenciar el DNA. ¿Se parece al DNA humano, bacteriano o fúngico? De ser así, lo más probable es que el origen del DNA amplificado sea la contaminación. ¿Es similar al DNA de aves o de cocodrilos? Este tipo de parecido entre las secuencias reforzaría la teoría de que se trate de DNA de dinosaurio, ya que, desde el punto de vista evolutivo, estas especies son parientes cercanos de los dinosaurios.
12. Cuando la hibridación se lleva a cabo a temperaturas elevadas, solo serán estables los emparejamientos completos (o prácticamente completos) entre el cebador y la diana, ya que todas (o la mayoría) de las bases tienen que haber encontrado su pareja para que la hélice cebador-diana sea estable. A medida que disminuye la temperatura se tolerarán más emparejamientos incorrectos y, por tanto, es probable que la amplificación genere genes con secuencias menos parecidas. En relación con el gen de levadura, hay que sintetizar los cebadores correspondientes a los extremos del gen y, después, utilizar estos cebadores con DNA humano como diana. Si no se amplifica nada a 54 °C, el gen humano es distinto del gen de levadura, aunque todavía es posible que haya un homólogo. Habría que repetir el experimento con una temperatura de hibridación más baja.
13. La proteína codificada contiene cuatro repeticiones de una secuencia específica.
14. Dentro de una única especie, cada perro concreto muestra una enorme diversidad en tamaño corporal y variaciones considerables en otras características físicas. Por tanto, el análisis genómico de perros individuales proporcionaría valiosos datos relacionados con los genes responsables de la diversidad dentro de la especie.
15. En base al mapa genómico comparativo mostrado en la Figura 41.13, la región con mayor solapamiento con el cromosoma 20 humano se puede encontrar en el cromosoma 2 del ratón.
16. La T_m es la temperatura de fusión de un ácido nucleico de doble hebra. Si las temperaturas de fusión de los cebadores difieren demasiado, en la fase de hibridación, el grado de emparejamiento con el DNA diana será distinto, lo que provocaría una replicación distinta de cada una de las hebras.
17. Chongqing: residuo 2, L → R, CTG → CGG
    Karachi: residuo 5, A → P, GCC → CCC
    Río Swan: residuo 6, D → G, GAC → GGC
18. Esta persona concreta es heterocigótica para esta mutación particular: un alelo es del tipo salvaje, mientras que el otro alberga una mutación puntual en esta posición. En este experimento, se amplifican ambos alelos por PCR, dando lugar al "pico dual" que se observa en el cromatograma de la secuenciación.
19. Una mutación en la persona B ha alterado uno de los alelos del gen X, dejando al otro intacto. El hecho de que el alelo mutado sea más pequeño sugiere que se ha producido una deleción. El alelo funcional se transcribe y se traduce, generando, aparentemente, proteína suficiente como para que la persona no presente ningún síntoma.

    La persona C solo tiene la versión más pequeña del gen. Este gen ni se transcribe (el resultado de la transferencia northern es negativo) ni se traduce (el resultado de la transferencia western es negativo).

    La persona D posee un alelo del gen con el tamaño normal pero carece del RNA y de la proteína correspondientes. Podría haber una mutación en la región promotora del gen que impida la transcripción.

    La persona E posee un alelo del gen con el tamaño normal que se transcribe, pero no se produce proteína, lo que sugiere que hay una mutación que impide la traducción. Hay una serie de posibles explicaciones, incluyendo una mutación que introduzca un codón Stop prematuro en el mRNA.

    La persona F presenta una cantidad normal de proteína, pero sigue padeciendo el problema metabólico. Este resultado sugiere que la mutación afecta a la actividad de la proteína —p. ej., una mutación que afecte al centro activo de la enzima Y.
20. Una sencilla estrategia para generar muchos mutantes consiste en sintetizar un conjunto degenerado de secuencias de 30 pb utilizando una mezcla de nucleótidos activados en determinados ciclos de la síntesis de oligonucleótidos. Supongamos que la región codificante de 30 pb comienza con GTT, que codifica la valina. Si en el primer y segundo ciclo de la síntesis se utiliza una mezcla con los cuatro nucleótidos, los oligonucleótidos resultantes comenzarán con la secuencia XYT (donde X e Y denotan A, C, G o T). Estas 16 versiones distintas de la cassette codificarán proteínas que contengan Phe, Leu, Ile, Val, Ser, Pro, Thr, Ala, Tyr, His, Asn, Asp, Cys, Arg o Gly en la primera posición. Análogamente, se pueden crear cassettes degeneradas en las que varíen dos o tres codones de manera simultánea.
21. Digerir el DNA genómico con una enzima de restricción y seleccionar el fragmento que contenga la secuencia conocida. Unir este fragmento por sus extremos para crear una molécula circular. Después, se lleva a cabo una PCR utilizando una pareja de cebadores que sirvan de molde para que el DNA se sintetice alejándose de la secuencia conocida.
22. Utilizar la síntesis química o la reacción en cadena de la polimerasa para generar sondas de hibridación que sean complementarias a ambos extremos del fragmento de DNA conocido (que se ha purificado previamente). Exponer los clones que representan la biblioteca de fragmentos de DNA a ambas sondas de hibridación. Seleccionar los clones que hayan hibridado con una de las hebras, no con las dos; es probable que estos clones incluyan fragmentos de DNA que contienen uno de los extremos del fragmento conocido junto con la región adyacente de ese cromosoma concreto.

Índice

Los números de página seguidos de una f o de una t hacen referencia a figuras o tablas, respectivamente. Los números de página precedidos de una A hacen referencia a los apéndices. Los números de página en negrita indican fórmulas estructurales y diagramas de cintas.

Abrazadera deslizante, en la replicación, 606, 606f, 607, 607f
  del DNA, 606, 606f, 607, 607f
Acetaldehído, **25**
  conversión de alcohol en, 108
  estructura de, **280**
Acetil-ACP, 484t, 485, 485f
Acetil-CoA (acetil-coenzima A), **484**
  en el ciclo del ácido cítrico, 317–318, 318f, 340–341
    piruvato deshidrogenasa y, 318f, 319–327, 319f, 319t
    síntesis a partir de piruvato, 319–321, 323–324, 323f
  en la degradación de
    ácidos grasos, 467–468, 469f, 470t
    aminoácidos, 530–531, 534
  en la fermentación láctica, 282
  en la síntesis de
    ácidos grasos, 482–483, 482f, 484, 486
    colesterol, 503–505
  en la transcripción, 654
  estructura de, **260**
  síntesis de, 482
    a partir de cuerpos cetónicos, 473–474
  toxicidad hepática de, 492
  transferencia desde las mitocondrias al citoplasma, 482, 482f
Acetil-CoA carboxilasa
  en la síntesis de ácidos grasos, 484, 489–490, 489f
  regulación de, 490–491
N-Acetilgalactosamina, 167, 167f
N-Acetilglutamato, en el ciclo de la urea, 527
β–*N*-Acetilhexosaminidasa, 502, 502f
Acetil-lipoamida, 320
Acetiltransacilasa, 484, 484t
Acetoacetato, 473, 474f. *Ver también* Cuerpos cetónicos
  síntesis de, 535, 535f
Acetoacetil-CoA, **474,** 475, 484t, 485, 485f, 530, 531
Acetona, 474, **474**. *Ver también* Cuerpos cetónicos
Ácido(s)
  conjugado, 27, 28, 28f
  disociación de, 27–28, 28f
  fuerza de, 27–28
  ionización de, 27–28
  pH y, 26–31
  producción de, 27
Ácido acético, **25,** 28f
  curva de titulación, 28–29, 29f
Ácido ascórbico. *Ver* Vitamina C (ácido ascórbico)
Ácido aspártico
  en la tríada catalítica, 136–138, 136f
  estructura de, 41, 41t
Ácido bongcréquico, 380–381
Ácido carbámico, en la síntesis de pirimidina, 557, 557f
Ácido carbónico, como ácido conjugado, 28f
Ácido carboxílico, 25t
Ácido desoxirribonucleico. *Ver* DNA
Ácido docosahexaenoico, 182, 182f
Ácido eicosapentaenoico, 182, 182f
Ácido fólico, 262t, A12–A13
  insuficiencia de, 547, 569–570, A13
Ácido fosfatídico fosfatasa, 502–503, 502f
Ácido 3-fosfoglicérico, **25**
  estructura de, **256**
Ácido fosfórico, como ácido conjugado, 28f
Ácido galacturónico, 166
Ácido glutámico, estructura de, 41, 41t
Ácido(s) graso(s), 179–184
  activados, 467–468
  átomos de carbono en, 180–181, 180f
  biosíntesis de, 259
  conversión en glucosa, 475
  de cadena impar, degradación de, 473, 473f
  desaturación de, 487
  empaquetamiento de, 198, 198f
  en el tejido adiposo, 183–184, 184f
  en jabones, 183, 184f
  en la bicapa lipídica, 198–199, 198f
  estructura de, 180–181, 180f–182f, 181t, **182**
  forma *cis* de, 181, 182f
  forma de almacenamiento de, 183–184, 183f, 184f, 465. *Ver también* Triacilgliceroles
  forma *trans* de, 181, 182f
  funciones de, 180, 481
  insaturados, 182–183
    degradación de, 471–472, 472f
    síntesis de, 488
  longitud de cadena en, 181–182, 181t
  nomenclatura para, 180–181, 181t
  omega-3, 182–183
  poliinsaturados, hormonas eicosanoides procedentes de, 488–489
  punto de fusión de, 182
  saturados, 181–182
  síntesis de. *Ver* Metabolismo de los ácidos grasos, síntesis en
  transporte de, 467–468
Ácido graso sintasa, 484
Ácido γ-hidroxibutírico, 487
Ácido linoleico, 182, 182f
Ácido lipoico
  en el ciclo del ácido cítrico, 319
  estructura de, **319**
Ácido málico, incorporación al, 337
Ácido nalidíxico, mecanismo de acción de, 602
Ácido nicotínico (niacina, vitamina B_3), 262t, 279
  vitamina B_3), estructura de, **262**
Ácido pantoténico, 262t
Ácido ribonucleico. *Ver* RNA
Ácido úrico, 568
  síntesis de, 567f
Ácido/base conjugado, 27, 28, 28f
Ácidos grasos ω-3, 182–183
Ácidos grasos de cadena impar, degradación de, 473, 473f
Ácidos grasos insaturados, 182–183. *Ver también* Ácido(s) graso(s)
  degradación de, 471–472, 471f
  síntesis de, 488
Ácidos grasos poliinsaturados. *Ver también* Ácido(s) graso(s)
  hormonas eicosanoides derivadas de, 488–489
Ácidos grasos saturados, 181–182. *Ver también* Ácido(s) graso(s)
Ácidos nucleicos, 6. *Ver también* DNA; RNA
  de hebra sencilla, 592
  en el RNA, 592
  esqueleto de, 578–579, 579f
  estructura de, 6, 577–591. *Ver también* Doble hélice
  longitud de cadena de, 580–581
  nomenclatura para, 580
  nucleótidos y, 579–580. *Ver también* Nucleótido(s)
  secuencia de, 578, 578f, 580
Ácidos orgánicos. *Ver* Ácido(s)
Acidosis láctica, 326
Aciladenilato, 468, **468,** 468f
Acilcarnitina, 468, 468f
Acilcarnitina translocasa, 468, 468f
Acil-CoA
  estructura de, **468**
  síntesis de, 467–468
Acil-CoA deshidrogenasa, 469, 469f, 470t
Acil-CoA sintetasa, 467–468, 469f, 470t
Aconitasa, en el ciclo del ácido cítrico, 332, 332f

Acromegalia, 223
Actinomicina D, mecanismo de acción de, 637–638
Adenilación, aminoácido, 681
Adenilato, síntesis de, 560, 563
Adenilato ciclasa, **219**
  en la transducción de señales, 218, 219, 219f
Adenilato quinasa, 287
Adenina, 6, **556**. *Ver también* Bases/pares de bases
  desaminación de, 615, 615f
  estructura de, **583**
Adenina fosforribosiltransferasa, en la síntesis de adenilato, 563
S-Adenosilhomocisteína, 548, **548**
S-Adenosilmetionina (SAM), 500, 536, 547–548, **548**, 548f
Adenosina
  degradación de, 567f, 568
  en el RNA, 579
  síntesis de, 548
Adenosina desaminasa, en la inmunodeficiencia combinada grave, 568
Adenosina difosfato. *Ver* ADP
Adenosina monofosfato. *Ver* AMP
Adenosina monofosfato cíclico. *Ver* cAMP
Adenosina trifosfato. *Ver* ATP
Adenosina 5′-trifosfato, 580, **580**
ADP (Adenosina difosfato)
  durante el ejercicio, 446, 446f
  entrada en las mitocondrias, 375, 376f
  estructura de, **251**
Adrenalina. *Ver* Epinefrina
Aflatoxina, 616, 616f
Agente acoplador de la energía, 252
Agrecano, 169, 170f
Agua
  como disolvente, 19, 21f
  como matriz de la vida, 4, 17–18
  efecto hidrofóbico y, 23–24, 23f, 37–39, 38f
    plegamiento de proteínas y, 24, 24f, 39, 56
  entropía de, 23f, 32
  estructura química del, 19, 19f
  fotolisis de, 399, 399f
  interacciones electrostáticas y, 20
  ionización por, 26–27
  moléculas anfipáticas y, 23–24, 23f
  moléculas polares en, 19, 19f
  oxidación de, 398–400, 399f, 400f
  pH de, 26
  producto iónico de, 26
  propiedades de, 18–19
Ajuste inducido, en la unión enzima-sustrato, 101, 101f
Akt, 228, 228f
Alanina, **25**
  degradación de, 524, 530–531
  en el transporte del nitrógeno, 526
  en la síntesis de piruvato, 531, 531f
  estructura de, 37, 38f
  proyección de Fischer, 36, 36f
  síntesis de, 545
Alanina aminotransferasas, en la degradación de aminoácidos, 524
Albinismo, 536t
Alcalosis respiratoria compensatoria, 30
Alcohol(es), 25t. *Ver también* Etanol
  metabolismo de, 491–492, 515
  monosacáridos y, 162–163
Alcohol deshidrogenasa, 280
Aldehído deshidrogenasa, 108, 108f
Aldehídos, 25t, 158
Aldosas, 158, 159, 159f
Aldosterona, 513
Alimentos, oxidación de, 237, 237f
AlkA, en la reparación del DNA, 617
Almidón, 7, 165. *Ver también* Carbohidrato(s)
  digestión de, 240, 240f
  en el endurecimiento del pan, 413–414
  función de, 415f
  plantas, 413
Aloxantina, 568
Alquilación, lesiones en el DNA causadas por, 616, 616f
Altitud, adaptación de la hemoglobina α, 147
α-Amanitina, 646
Amidación, en la síntesis de aminoácidos, 544
α-Amilasa, 165
  en la digestión de carbohidratos, 240–241, 240f
Amiloidosis, 61–62
Amilopectina, 165
  cristalización de, 413–414
Amilosa, 165
Aminas, 25t
  monosacáridos y, 162–163
Aminoácido(s), 35–43
  abreviaturas de, 37
  ácido, 41, 41f
  activación traduccional de, 681–682
  adenilación de, 681
  alfa, 36
  alifáticos, 37–39, 38f
  aromáticos, 38–39, 38f
    degradación de, 534–535, 535f
  cadena principal de, 47
  cadenas laterales de, 36, 36f, 37–41, 38f–42f, 46, 46f
  cargados negativamente, 41, 41f
  cetogénicos, 530
  codones para, 676–680, 677t. *Ver también* Código genético
  como precursores biomoleculares, 555–556
  concentración de, medida de, 84, 84f
  de cadena ramificada, degradación de, 533–534, 533f, 534f
  de la mioglobina, 56, 56f
  definición de, 36
  disposición de, 5, 5f
    efecto hidrofóbico y, 56–57, 56f
  en el centro activo de las enzimas, 100–101
  en el colágeno, 54, 54f
  en la gluconeogénesis, 300, 301f
  en la hélice α, 51
  en las cadenas polipeptídicas, 46
  esenciales, 40, 42, 42t, 545, 545f
  estado de ionización de, 36, 36f
  estructura de, 36, 36f
  familias biosintéticas de, 544–545, 544f
  forma dipolar de, 36, 36f
  formas especulares de, 36, 36f
  glucogénicos, 530
  grupos funcionales de, 37–41
  hidrofílicos, 40, 40f
  hidrofóbicos, 37–39, 38f
    en el plegamiento de las proteínas, 24, 24f
  isómero D de, 36, 36f
  isómero L de, 36, 36f
  metabolismo de. *Ver también* Degradación de aminoácidos; Síntesis de aminoácidos
    defectos en, 536–537, 536t
  no esenciales, 42, 42t, 545, 545f
  polares, 39–40, 39f
  quiralidad de, 36, 36f, 37
  reactivo, 40
  resumen de, 521
  unión a carbohidratos, 167
  unión al tRNA, 680–683
  zwitteriónico, 36, 36f
Aminoaciladenilato, 681
Aminoacil-AMP, 681
Aminoacil-tRNA, 681, 681f
  acceso al ribosoma, 692–693
  corrección de, 692
  estructura de, **699**
  síntesis de, 681, 681f
Aminoacil-tRNA sintetasas, 681–683, 682f, 683f
Aminoazúcares, 167
p-Aminobenzoato, 546, **546**
Aminoglicósidos, mecanismo de acción de, 698, 698t
5-Aminoimidazol ribonucleótido, en la síntesis de purinas, 561f
5-Aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleótido, en la síntesis de purinas, 561f
Aminopterina, 564, **564**
Aminotransferasas
  en la degradación de aminoácidos, 524–525
  en la síntesis de aminoácidos, 545
Amital, 380
Amoniaco/ion amonio
  conversión a urea, 526–530
  en la degradación de aminoácidos, 524–525
  en la síntesis de
    aminoácidos, 455f, 543–544
    glutamato, 543–544
    glutamina, 543–544
    purinas, 560, 561f
  niveles en sangre elevados de, 529
  reducción del nitrógeno a, 542–544, 542f

AMP (Adenosina monofosfato)
cíclico. *Ver* cAMP
estructura de, **251**
síntesis de
en la oxidación de los ácidos grasos, 468
inosinato en, 560, 562f, 566
AMP nucleosidasa, velocidad de reacción y, 94t
Anabolismo, 235, 249
Anaerobios obligados, 282, 282t
Análogos del estado de transición, 101–102, 102f, 132
Análogos del sustrato, en la inhibición enzimática, 131, 132f
Anclaje de glicosilfosfatidilinositol, **188,** 189
Anclajes en la membrana, 188–189, 188f
Andrógenos, 512, 514–515, 515f
receptor de, 651
Androstendiona, **515**
Anemia falciforme, 147–148, 147f, 148f
Anemia hemolítica, inducida por fármacos, 459–460, 460f
Anfinsen, Christian, 58
Angstrom, 18
Ángulo de rotación, 49, 49f
Ángulo phi (ϕ), 49, 49f
Ángulo psi (ψ), 49, 49f
Ángulos de torsión, 49, 49f
Anhidrasa carbónica, 93, 150, 150f
velocidad de reacción y, 94t
Anillo **c** de la ATP sintasa, 369, 369f
flujo de protones en torno al, 371–373, 371f–373f
Anillos de pirrolidina, en el colágeno, 54, 54f
Anómeros, 158f, 159, 161
Antibióticos
inhibición enzimática por, 128–129, 131, 131f, 132–134, 132f–134f
mecanismo de acción de, 131, 131f, 132–134, 132f–134f, 565, 602–603, 637–638, 637f, 698
resistencia a, 204–205
Anticipación, 614
Anticodón, 679
Anticuerpos
antígenos y, 78–79, 79f
estructura de, 78, 78f
generación de, 78–79
Anticuerpos monoclonales, 79–81, 79f, 80f
generación de, 79–81, 80f
Anticuerpos policlonales, 79, 79f
Antígeno
anticuerpos y, 78–79, 79f
epítopos de, 78, 79f
grupo sanguíneo, 171–172, 171f
Antígeno A, 171–172, 171f
Antígeno B, 171–172, 171f
Antígeno O, 171–172, 171f
Anti-lewisita británica (BAL), 326
Antimicina A, 380
Antioxidantes, vitamina C como, 55
Antiportes, 205, 205f
Antisuero, 79
Aparato de Golgi, 13, 13f
Aparato de transcripción basal, 649
Apoenzimas, 95
Apolipoproteína B, corrección del RNA en, 668–669, 668f
Araquidonato, 488, 488f
Arf, 226, 226t
Arginasa, en el ciclo de la urea, 528, 528f
Arginina
conversión a glutamato, 532f, 533, 533f
en el ciclo de la urea, 528
estructura de, 40, 40f, 41, 41t
síntesis de, 545
Argininosuccinasa, en el ciclo de la urea, 528
Argininosuccinato, en el ciclo de la urea, 527f, 528
Arqueobacterias
fijadoras de nitrógeno, 542
lípidos de membrana en, 187, 187f
temperatura y, 127
Artritis, 169–170
Asparagina
conversión a oxalacetato, 532
estructura de, 39f, 40
unión de carbohidratos a, 167, 167f
Aspartato
conversión a
fumarato, 528, 532
oxalacetato, 532
degradación de, 532
en el ciclo de la urea, 527f, 528, 528f, 532
en la degradación de aminoácidos, 528, 532
en la síntesis de purinas, 560
estructura de, 41, 41f, 41t
síntesis de, 545
Aspartato aminotransferasa, en la degradación de aminoácidos, 524
Aspartato transcarbamilasa (ATCasa), 116f
en la síntesis de pirimidinas, 557–558, 558f, 565
Aspirina, mecanismo de acción de, 201, 201f, 489
ATP-ADP translocasa
inhibición de, 380
mitocondrial, 375, 375f
ATCasa (aspartato transcarbamilasa), 116f
en la síntesis de pirimidinas, 557–558, 558f, 565
Atemperación, 585
Aterosclerosis, 510–512, 511f, 548–549
ATP (Adenosina trifosfato)
como moneda universal de energía libre, 250–254, 251f, 253f, 254t
durante el ejercicio, 254–255, 255f
en el ciclo
de Calvin, 412
de la urea, 527–528, 528
en el metabolismo de los ácidos grasos, 468, 470–471, 486
en la formación de piruvato, 278–279
en la glucólisis, 277–279
en la regulación de la fosfofructoquinasa, 287, 287f
en la replicación, 598
en la respiración celular, 376–381
en la ruta de las pentosas fosfato, 458
en la síntesis de
desoxirribonucleótidos, 566
GMP, 560, 566
estabilización por
hidratación en, 253
resonancia en, 253, 253f
estructura de, 6, **6, 251**
fuertemente unido, liberación de, 370–371, 370f
hidrólisis de
en el desplazamiento del equilibrio de reacciones acopladas, 251–252
en el proceso de maduración, 666
en el transporte a través de membranas, 203–205, 203f, 205f
en la fijación del nitrógeno, 542–543, 543
en la replicación, 600–602, 602f, 605
en la traducción, 681
energía libre en, 250–252
movimiento rotacional a partir de, 371–373, 371f
productos de, 252–253, 253f
nomenclatura para, 580
potencial de transferencia de grupos fosforilo de, 252, 256–257
rendimiento de, mediante la oxidación de la glucosa, 376–377, 377t
repulsión electrostática y, 252–253
síntesis de, 368–382, 470–471
ADP, 378, 378f anillo c en, 371–373
catálisis rotacional en, 371–373, 371f
desacoplamiento del transporte de electrones de, 380
gradiente de protones en, 368–373, 400–403, 401f, 403f
hipótesis quimiosmótica en, 368, 368f
mecanismo de cambio de unión en, 370–371
mediante fosforilación
a nivel de sustrato, 335
oxidativa, 377–378, 378f
mediante glucólisis, 277–279
utilización de, velocidades de, 255, 255f
ATP sintasa
acción catalítica de, 371–373, 371f
de cloroplastos, 400–401, 401f
en la fosforilación oxidativa, 373, 373f
en la fotosíntesis, 400–401, 401f
en mitocondrias, 368–373, 368f–373f
estructura de, 369, 369f
flujo de protones a través, 370–371
alrededor del anillo c, 371–373, 371f–373f
movimiento rotacional en, 371–373, 371f
inhibición de, 380
mecanismo de cambio de unión para, 370–371, 370f
subunidad F_0 de, 369, 369f
subunidad F_1 de, 369, 369f

ATP sintasa (*continuación*)
subunidad α de, 369f
subunidad β de, 369, 369f
subunidad δ de, 369, 369f
subunidad ϵ de, 369, 369f
subunidad γ de, 369, 369f
rotación de, 371
unidad conductora de protones en, 369
ATP sintasoma, 376
ATPasa(s)
de Ca^{2+}, 203, 229
de tipo P, 203, 204
H^+-K^+, gástrica, 203–205, 203f
Na^+-K^+, 203–206, 203f, 205f
ATPasa F_1F_0. *Ver* ATP sintasa
ATPasa H^+-K^+ gástrica, 203–205, 203f
ATPasa mitocondrial. *Ver* ATP sintasa
Atractilósido, 380–381
Atrazina, 403, **403**
Atrofia muscular espinal, combinada grave, 667t
Autoinductores, 630
Automaduración, 669–670, 669f
Autorradiografía, 713
Autótrofos, 388
Ayuno
cetosis en, 476, 476f, 476t, 477t
kwashiorkor en, 42
Azúcares. *Ver también* Carbohidrato(s) *y tipos específicos*
amino, 167
de cinco carbonos, en la ruta de las pentosas fosfato, 452–455
de seis carbonos, escisión en la glucólisis, 275–276
disacárido, 164, 164f
en los ácidos nucleicos, 578–579
en los nucleótidos, 6
estructura de, 158–163, 158f–162f
lactosa, 164, **164**
maltosa, 163, 163f, 164, **164**
monosacárido, 158–163
reductores/no reductores, 161
sacarosa, 164, **164**
sencillos, digestión de, 240–241, 240f
tests para, 161–162
Azúcares hexosas, en el ciclo de Calvin, 407–414
Azúcares no reductores, 161
Azúcares reductores, 161

Bacterias. *Ver también Escherichia coli*
aeróbicas, 362
células de, 9–10, 9f
DNA replicación en, 604–607
el ciclo del glioxilato en, 340–342, 341f
en biopelículas, 640
expresión génica en, 638–641
fijadoras de nitrógeno, 541–542, 542f, 543f
fotosintéticas, 400, 400f
multirresistentes a fármacos, 204
replicación en, 604–607. *Ver también* Replicación del DNA
Rhizobium, 542
sensibilidad al quórum en, 640
síntesis de ácidos grasos en, 482–486, 484t
traducción en, 691, 696–697. *Ver también* Traducción
transcripción en, 629–638, 645–646. *Ver también* Transcripción, en bacterias
Bacteriófago λ
como vector, 714
proteína Cro del, 57, **57**, 57f
Bacteriorrodopsina, 200, 200f, 369, 369f
BAL (anti-lewisita británica), 326
Balance redox en la fermentación
alcohólica, 281f
láctica, 282f
Balanceo de las bases emparejadas, 679–680
Balsas de lípidos de membrana, 199
Balsas lipídicas, 199
Banda de Möbius, 589f
Base(s)
conjugada, 27, 28, 28f
pH y, 26–31
Bases/pares de bases, 6. *Ver también* Doble hélice
alquilación de, 616, 616f
apilamiento de, 583, 583f
balanceo en, 679–680
complementariedad de, 600, 601f
de Watson-Crick, 583, 583f
desaminación de, 615, 615f
disposición de, 582–583
en ácidos nucleicos de hebra sencilla, 592, 593f
en anticodones, 679–680, 679t
en codones, 677t, 679t
en el RNA, 592, 593f
modificación post-transcripcional de, 636, 636f, 637f
en el tRNA, 677–678
en la estructura tallo-bucle, 592, 592f
en la replicación, 600, 601f
estructura de, 582f, 583f
lesiones en
causas de, 615–616
reconocimiento de, 603
reparación de, 617–621. *Ver también* Reparación del DNA
mal emparejados, 592, 614
escisión de, 599, 603, 603f, 618, 618f. *Ver también* Reparación del DNA
mutagénicos, 614
nomenclatura para, 557t
oxidación de, 615, 615f
pirimidina. *Ver también* Pirimidina(s)
estructura de, 579, 579f
síntesis de, 556, 557–559, 558f, 565
puentes de hidrógeno de, 582f, 583, 583f
purina. *Ver también* Purina(s)
estructura de, 579, 579f
síntesis de, 556, 560–563, 560f–563f, 566
reciclaje de, 559–563, 567
secuencia de, 578, 578f, 580, 581–583, 582f, 583f
complementariedad DNA-RNA en, 629–630, 630f
en el código genético, 676–680
en el DNA molde, 629
en el RNA transcrito, 630
secuencias de aminoácidos y, 676–686
síntesis de, 555–571
Batería de protones mitocondrial, cortocircuito de, 379
Beriberi, 325–326
Bibliotecas
de cDNA, 710
de DNA, 710
exploración de, 715–716, 716f
genómico, 717, 717f
sondas para, 710–711
de DNA complementario, 710, 715
exploración de, 715–716
sondas para, 710–711
genómicas, 717, 717f
Bicapa lipídica, 6, 7f, 8, 9f, 24, 195, 196–198
ácidos grasos en, 198–199, 198f
estructura de, 196, 197f
formación de, 24, 197, 197f
interacciones débiles en, 196
liposomas y, 197, 197f
monocapas de, 196
permeabilidad de, 197–198, 197f
Bicarbonato
como base conjugada, 28f
en el transporte del dióxido de carbono, 150
Biología, dogma central de, 7–8
Biomoléculas. *Ver también* Aminoácido(s); Carbohidrato(s); Lípido(s); Ácidos nucleicos; Proteína(s)
anfifílicas, 23–24
anfipáticas, 23–24
clasificación de, 5–7, 24–26, 25t
en el metabolismo, 238
grupos funcionales de, 24–26, 25t
hidrofóbicas, 19, 23–24, 23f, 24f, 25t
no polares, 19
polares, 19, 19f
síntesis de, transportadores activados de electrones para, 259, 259f
Biopelículas, 640
Biopterina, 535
Bioquímica
de proteínas, técnicas en, 67–88
objetivo fundamental de, 3
uniformidad interespecífica y, 3–4
Biosíntesis reductora, 259
Biotina, 261t, 262t, 484, A10–A11
en la gluconeogénesis, 303, 303f
1,3-Bisfosfoglicerato
en la glucólisis, 273f, 276–277
en la regulación de la hemoglobina, 146, 146f
estructura de, **256**
potencial de transferencia de grupos fosforilo de, 253–254, 254t
ATP formado por, 277–278
Bomba de sodio–potasio, 203–206, 203f, 205f

Bombas de iones, 203–206. *Ver también* ATPasa(s)
Ca^{2+}, 204, 229
en la multirresistencia a fármacos, 204
H^+-K^+gástrica. 203–205, 203f
impulsadas por ATP, 203–206
Na^+-K^+, 203–206, 203f, 205f
Bombas de protones
dependientes de ATP, 238
en la cadena respiratoria, 357–364
Bombas impulsadas por ATP, 203–205, 203f, 205f
Bombas proteicas. *Ver* Bombas de iones
Bromodominios, 655
Brown, Robert, 18
Bucle anticodón, 678f, 679
Bucle D, 621
Bucle de desplazamiento, 621
Bucle DHU, 678f, 679
Bucle TψC, 678f, 679
Bucles, 53, 53f
Burbujas de transcripción, 634, 634f
Butiril-ACP, 484t, 485, 485f

C_4-β-cetoacil-ACP, 485–486
Cadena respiratoria, 347–348, 349, 357–364. *Ver también* Cadena transportadora de electrones
aspecto biológico, 362
ciclo Q en, 359–360, 359f
citocromo *c* oxidasa (Complejo IV) en, 360–362, 361f
coenzima Q en, 357–358
derivados tóxicos en, 363–364, 363f, 363t
NADH-Q oxidorreductasa (Complejo I) en, 357–358, 358f, 358t
Q-citocromo *c* oxidorreductasa (Complejo III) en, 358t, 359
succinato-Q reductasa (Complejo II) en, 358–359, 358t
Cadena transportadora de electrones, 330, 349–364
componentes de, 354–357, 355f, 356f, 358t
en la fosforilación oxidativa, 352–357. *Ver también* Cadena respiratoria
reacciones de oxidación-reducción en, 354–355, 354f–356f
gradiente de protones en, 353–354
potencial redox en, 352–353, 352f, 353t
inhibición de, 380, 380f
Cadenas laterales, 36, 36f, 37–41, 38f–41f, 47, 47f
Cadenas polipeptídicas, 46–55. *Ver también* Proteína(s)
bucles en, 53, 53f
cadena principal de, 47, 47f
cadenas laterales de, 47, 47f
enlaces peptídicos en, 46, 46f
entrecruzamientos en, 47, 47f
giros en, 53, 53f
polaridad de, 46, 46f
ruptura específica de, 85, 85t
subunidad, 57–58, 57f
Caja CAAT, 648–649, 648f
Caja GC, 648–649, 648f
Caja Pribnow 632, 632f
Caja TATA, 648–649, 648f, 649f
Calamar sepiólido, sensibilidad al quórum en, 630, 630f
Calciferol. *Ver* Vitamina D (calciferol)
Calcitriol, 513, **514**
Calmodulina
en la degradación del glucógeno, 429
en la transducción de señales, 229
estructura de, 86, 87f
Calor
generación de, desacoplamiento regulado en, 378–379, 378f
velocidad catalítica y, 126–127, 126f
Caloría (cal), 97
CaM quinasa, 229
Cambio de polimerasas, 608
cAMP (Adenosina monofosfato cíclico), **216**
en la degradación del glucógeno, 430–432, 431f
en la síntesis del glucógeno, 440
en la transducción de señales, 216
funciones de, 219–220
proteína quinasa A y, 219–220, 220f
Canal de iones potasio, 207–208, 207f–209f
Canales iónicos, 203, 206–208, 207f–209f
en serpientes de cascabel, 206
TRP, 206
Canales iónicos regulados por
ligando, 206
voltaje, 206
Canales TRP, 206
Canalización del sustrato, en el ciclo del ácido cítrico, 337
Cáncer
carcinógenos en, 620–621, 621f
colorrectal, 620
hereditario sin poliposis, 620
como enfermedad metabólica, 340
de piel, en el xeroderma pigmentoso, 620
defectos en el ciclo del ácido cítrico en, 340
glucólisis en, 292–293, 293t, 325
inhibidores de la proteína quinasa para, 230
intensificadores en, 650
moduladores selectivos de los receptores de estrógenos para, 653
mutaciones en, 229–230, 619–620
oncogenes en, 229–230
piel, en el xeroderma pigmentoso, 620
proto-oncogenes en, 229
quimioterapia para, mecanismo de acción de, 564–565, 592, 592f, 620
reparación defectuosa del DNA en, 619–620
señalización defectuosa en, 229–230, 230f
telomerasa en, 610
Captura de la glucosa, en la glucólisis, 272–274, 273f, 274f
Capuchón 5′, 663, 663f, 664f
Carbamato, 149–150, **150**
Carbamilaspartato, en la síntesis de pirimidina, 557–558, 558f, 565f
Carbamilfosfato
en el ciclo de la urea, 527–528
en la síntesis de pirimidina, 557–558, 557f, 558f, 565f
Carbamilfosfato sintetasa (CPS)
en el ciclo de la urea, 527, 527f
en la síntesis de pirimidina, 557–558, 557f, 565, 565f
Carbohidrato(s), 7, 157–175. *Ver también* Almidón; Azúcares
conversón de grasas en, 340–342, 341f
digestión de, 240–241, 240f
en glicoproteínas, 167–172
estructura de, 158–163, 158f–162f
formas isoméricas de, 158–159, 158f
funciones de, 173
lectinas y, 172–174
monosacárido, 158–163
oligosacárido, 163–164
plantas, 412–414, 413f
polisacárido, 165–166
resumen de, 155–156
selectinas y, 173
superficie celular, 172–174, 173f
unión de
a la asparagina, 167, 167f
a la serina, 167, 167f
a la treonina, 167, 167f
en la glicosilación, 167–172
Carbono, 4–5, 4t
como combustible, 4–5
en los ácidos grasos, 180–181, 180f, 181t
estructura de, 5
propiedades de, 4t, 5
vs. sílice, 5
Carboxiaminoimidazol ribonucleótido, en la síntesis de purinas, 561f
Carboxibiotina, estructura de, **303**
Carboxipeptidasa A, velocidad de reacción y, 94t
Carcinógenos
detección de, 620–621, 621f
test de Ames para, 620, 621f
Cardiolipina, **185**
Carga energética
definición de, 264
en la gluconeogénesis, 306–307
en la regulación del metabolismo, 264, 264f
respuesta del complejo piruvato deshidrogenasa a, 324, 324f
Carnitina, insuficiencia de, 468–469
Carnitina aciltransferasa I, 468, **468,** 468f, 469f, 470t, 489
Carnitina aciltransferasa II, 468, 468f
Carnitina palmitiltransferasa I, 468, 468f
Carnitina palmitiltransferasa II, 468, 468f
Carotenoides, 394
Cartílago, estructura de, 169, 170f
Cascada de fosfoinosítidos
en la degradación del glucógeno, 432
en la transducción de señales, 222–223, 222f, 223f

Cassettes de unión al ATP (ABCs), 204
Catabolismo, 235, 249
  energía de, 255–257, 255f
  energía libre de, 250–254, 251f, 253f, 254t
  etapas de, 237f
  regulación de, 264–265, 264f
  transportadores de electrones en, 257–260, 258f–260f
Catalasa, 363
Catálisis
  enzimática, 5–6.
  por proximidad y orientación, 693
  rotacional, 371–373, 371f
Catálisis ácido–base, 41
Catálisis covalente, 125–126
Catálisis enzimática, 5–6, 125–138
  ácido-base, 41
  análogos del estado de transición en, 101–102, 102f
  cinética de, 105–120. *Ver también* Cinética enzimática
  complejos ternarios en, 112
  covalente, 125–126, 134–136
  eficiencia de, 110–111
  en reacciones
    bimoleculares, 106
    bisustrato, 111, 111f
  energía de
    la unión enzima-sustrato en, 100, 101f
    unión en, 101, 126
  energía libre en, 96–99, 101. *Ver también* Energía libre
  equilibrio de la reacción en, 98–99, 98t
  estado de transición en, 99–102
    unión selectiva de, 101–102
  general ácido-base, 126
  hidrólisis de péptidos en, 135–138, 137f
  inhibición, 101–102, 102f
    competitiva de, 128–129, 128f–130f
    de análogos
      del estado de transición en, 132
      del sustrato en, 131, 132f
    incompetitiva, 128f, 129, 129f
    inhibidores
      basados en el mecanismo en, 132
    inhibidores suicidas en, 132, 134
    irreversible, 131–134
    marcadores de afinidad en, 131, 132f
    no competitiva, 128f, 129, 130, 130f
    reactivos específicos de grupo en, 131, 131f
    reversible, 128–130, 129f, 130f
  intermediarios
    enzimáticos sustituidos en, 111f, 112
    tetraédricos en, 137
  iones metálicos, 126
  modelo de Michaelis–Menten de, 107–108, 107f, 108f, 112
  pasos de, 135–138, 137f
  pH y, 127–128, 127f
  por aproximación, 126
  racemización en, 102, 102f
  reacciones de doble desplazamiento en, 111f, 112
  reacciones secuenciales en, 111f, 112
    enzimas alostéricas y, 116–117, 117f
  representaciones de Cleland de, 111, 111f
  temperatura y, 126–127
  velocidad de, 93, 94t, 98–99, 98t
    concentración de sustrato y, 107–109
    definición de, 106
Catálisis general ácido-base, 126
Catálisis por iones metálicos, 126
Catalizadores, definición de, 91
Cataratas, 286, 286f
Catión divalente cofactor, para la RNA polimerasa, 630
Cavidad del oxianión, 137, 137f
CD4, estructura de, 57, 57f
CDP-diacilglicerol, 499, 499f
  síntesis de, **499**
cDNA. *Ver* DNA complementario
Cech, Thomas, 669
Célula(s)
  eucarióticas, 9–10, 9f
  movimiento browniano en, 18, 20, 126
  orgánulos de, 11–14
  procarióticas, 9–10, 9f
  vegetales, 10, 10f
Células beta del páncreas, glucólisis en, 293, 294f
Células de hibridoma, 80–81
Células madre
  pluripotentes inducidas, 650–651, 651f
  totipotentes, 650
Células sanguíneas, glóbulos rojos falciformes, 147–148, 147f
Celulosa, 10, 165–166, **166**
Centrifugación
  diferencial, 69, 70f
  en gradiente, 76–78, 77f
    de densidad, 76–78, 77f
Centrifugación zonal, 76–78, 77f
Centro de reacción, en la fotosíntesis, 392
Centro de Rieske, 359
Centro manganeso, del fotosistema II, 399, 399f, 400f
Centro peptidiltransferasa, 693
Centros activos, 100–101, 100f
Ceramida, 500, **500,** 500f, 501f
Cerebrósido, 186, **186,** 500, 501f
Cetoacil-ACP, 485–486
β-Cetoacil-ACP reductasa, 484t, 485
β-*N*-Cetoacil-ACP reductasa, 484t, 485
3-Cetoacil-CoA, 470
β-Cetoacilsintasa, 487
α-Cetobutirato, en la síntesis de isoleucina, 550, 550f
3-Cetoesfinganina, 500, **500**
Cetoesteroide isomerasa, velocidad de reacción y, 94t
α-Cetoglutarato, **543**
  en el ciclo del ácido cítrico, 332–333
  en la degradación de aminoácidos, 524, 525, 532, 532f
  en la fijación del nitrógeno, 543
α-Cetoisocaproato, 533
Cetonas, 158
Cetosis, 158
  en diabéticos, 475, 475f
  en el ayuno, 476, 476f, 476t, 477t
  etanol y, 492
β-Cetotiolasa, 469f, 470, 470t
Changeux, Jean-Pierre, 114
Chaperonas, 13, 59
Chips génicos, 723, 723f
Ciclo ADP-ATP, intercambio de energía en, 255–256, 255f
Ciclo de Calvin, 407–418
  aspectos biológicos y, 412, 412f
  despilfarro mediante reacciones secundarias, 415–416, 415f
  estequiometría de, 411–412, 411f
  etapas de, 408, 408f
  formación de 3-fosfoglicerato en, 408–409
  gasto de energía en, 412
  la ruta C_4 en, 416–417, 416f
  reacciones en, ecuación ajustada para, 412
  regeneración de ribulosa 1,5-bisfosfato en, 408–409, 409f–411f
  regulación
    ambiental de, 414–418, 415f–418f, 415t
    por la luz del, 414–415, 414f
    por la tiorredoxina de, 414–415, **415,** 415f, 415t
  síntesis de hexosas en, 407–414
Ciclo de Cori, 310, 310f
Ciclo de Krebs. *Ver* Ciclo del ácido cítrico
Ciclo de la glucosa-alanina, 526, 526f
Ciclo de la SRP, 701, 702f
Ciclo de la urea, 526–530
  ciclo del ácido cítrico y, 528, 528f
  en la gluconeogénesis, 528, 529f
  pasos en, 526–528, 527f, 529f
Ciclo de los ácidos tricarboxílicos. *Ver* Ciclo del ácido cítrico
Ciclo de los metilos activados, 548, 548f
Ciclo del ácido cítrico, 315–343, 336f
  acetil-coenzima A en, 317–318, 318f, 340–341
    piruvato deshidrogenasa y, 318f, 319–327, 319f, 319t
    síntesis a partir de piruvato, 319–321, 323–324, 323f
    síntesis de, 319–321
  ácido lipoico en, 319
  aconitasa en, 332, 332f
  alteración del metabolismo del piruvato en, 324–326, 326f
  canalización del sustrato en, 337
  α-cetoglutarato en, 332–333
  ciclo de la urea y, 528, 528f
  citrato sintasa en, 330–332, 331f
  citril-coenzima A en, 332
  como proceso aeróbico, 337
  complejo α-cetoglutarato deshidrogenasa en, 333, 338
  complejo piruvato deshidrogenasa en, 318–319, 319f, 319t
    enzimas que componen el, 321–323, 321f, 322f
    regulación de, 323–324, 323f, 324f
    regulación de, defectuosa, 324–326, 326f

conexión con la cadena respiratoria, 357–364. *Ver también* Cadena respiratoria
control de, 338–339, 338f
defectos en, cáncer y, 340
en mitocondrias, 318, 318f
estequiometría de, 336–337, 336f, 337t
estudios de marcaje isotópico en, 336–337
etapas de, 330, 330f
FAD en, 319, 335, 338
$FADH_2$ en, 330, 335, 337
fosforilación oxidativa en, 330, 330f
funciones biosintéticas de, 339, 339f
glucólisis en, 319, 319f
incorporación al, 338–340
isocitrato deshidrogenasa en, 332, 338
isomerización del citrato en, 332, 332f
lipoamidas en, 321–323, 321f, 322f
oxalacetato en, 330–331, 333–337
piruvato carboxilasa en, 339, 339f
reacciones de, 335–337, 336f, 337t
recolección de electrones procedentes de, 329–343, 330f
reposición de, 339–340, 339f
respiración celular en, 315, 330, 330f
resumen de, 318, 318f
succinato deshidrogenasa en, 335
succinil-coenzima A en, 333–335
tiamina pirofosfato en, 319, 325–326
Ciclo del glioxilato, 340–342, 341f
Ciclo del sustrato, en la gluconeogénesis, 309–310, 309f
ciclo Q
en la cadena respiratoria, 359–360, 359f
en la fotosíntesis, 398
Ciclos fútiles, 309
Cinética enzimática, 105–120
concentración de sustrato y, 107–109
constante de Michaelis y, 108–111, 108f, 109f
ecuación de Lineweaver-Burk para, 109, 109f
enzimas alostéricas y, 112–117
K_{cat}/K_M y, 108f, 110–111
modelo de Michaelis–Menten de, 107–108, 107f, 108f, 112
número de recambio y, 110, 110t
representación doble recíproca de, 109, 109f, 130, 130f
sigmoidal, 114–116
velocidad inicial y, 107, 107f
velocidad máxima y, 108–110, 108f, 109f
Ciprofloxacina, mecanismo de acción de, 602–603
Cirrosis, 529, 529f
Cisplatino, mecanismo de acción de, 592, 592f
Cistationina, 549, **549**
Cisteína, **549**
conversión a piruvato, 531f, 532
degradación de, 532
en la síntesis de piruvato, 531f, 532
estructura de, **25,** 41, 41t
oxidación de, 47, 47f
síntesis de, 546, 549, 549f
Cistina, 47, 47f
en el RNA, 579
Citidina difosfodiacilglicerol, 499, 499f
Citidina monofosfato (CMP), 499
en la síntesis de nucleótidos, 558–559
Citidina trifosfato (CTP)
en la replicación, 598
en la síntesis de pirimidina, 559, 565
Citocromo, 355, 356f
Citocromo bc_1, 359
Citocromo *c,* en la cadena respiratoria, 359
Citocromo *c* oxidasa, 356f, 357, 357f, 358t
bloqueo del flujo de electrones en, 380
en la cadena respiratoria, 360–362, 361f
Citocromo *c* reductasa, en la cadena respiratoria, 358t
Citocromo P
en el metabolismo del etanol, 515
en la activación de la aflatoxina, 616, 616f
en la hidroxilación de esteroides, 515
Citocromo P450
Citocromo P450 monooxigenasas, 515
Citoesqueleto, 11, 11f
Citoplasma, 11, 11f
Citoquinas, estructura de, 61, **61**
Citosina, 6, **556.** *Ver también* Bases/pares de bases
desaminación de, 619
estructura de, **583**
Citrato
en el metabolismo de los ácidos grasos, 482, 482f, 489, 490f
en la inhibición de la fosfofructoquinasa, 288–289
Citrato sintasa, en el ciclo del ácido cítrico, 330–332, 331f
Citril-coenzima A, en el ciclo del ácido cítrico, 332
Citrulina, en el ciclo de la urea, 527, 527f
Citrulinemia, 536t
Clatrina, 510
Clonaje, 713–715
Cloranfenicol, mecanismo de acción de, 698, 698t
Clorofila
en la fotosíntesis, 392–393, 393f
en las patatas venenosas, 395, 395f
estructura de, **393**
Clorofila *a,* 393, **393**
Clorofila *b,* 393, **393**
Cloroplastos, 10f, 12
ATP sintasa de, 400–401, 401f
estructura de, 390, 391f
fotorreceptores en, 392–393
fotosíntesis en, 12, 390–391
genoma de, 391
origen endosimbiótico de, 391
Cloruro sódico, 20, 20f
Coactivadores, 652–653, 653f, 655f
Cobalamina (vitamina B_{12}), 473, A12–A13
Cobre
en la cadena transportadora de electrones, 356
en la citocromo *c* oxidasa, 360–361
Cociente ATP: AMP, 287
Código genético, 673, 676–680
codones en, 676–680
definición de, 673
degeneración de, 676, 679–680
direccionalidad de, 676
principales características de, 676
relación entre la información de ácidos nucleicos y proteínas en, 676–680
traducción y, 676–680
universalidad de, 676–677
Codones, 676–680, 677t, 690–691
RNA de transferencia y, 677–680
sinónimos, 676
stop, 695, 695f
Coeficiente de sedimentación, 76–77, 77t
Coenzima(s), 95, 96t, A4–A5. *Ver también* Enzima(s)
en la síntesis de acetil-CoA, 319–321
Coenzima A, 260
en el metabolismo de los ácidos grasos, 467–468
estructura de, **260**
unión a ácidos grasos, 467–468
Coenzima Q
CoQ 10, 360
en la cadena
respiratoria, 357–358
transportadora de electrones, 356–357, 357f
Cofactor MoFe, 453f, 543
Cofactores enzimáticos. *Ver* Coenzima(s)
Cola de poli(A), 663–664
Colágeno, 154, 169
estructura de, 54, 54f
hélice de, 54
vitamina C y, 55
Colas de histona, 590, 654
Colecistoquinina, en la digestión, 238, 239f, 244, 244f
Cólera, 221
Colesterol, 187, **187,** 503–515
elevado en sangre, 510–512
en la hipercolesterolemia familiar, 14
en balsas lipídicas, 199
en la síntesis de
ácidos biliares, 512
esteroides, 512–515
vitamina D, 513, 514f
estructura de, 187, 198, 198f
fluidez de la membrana y, 198–199, 198f
funciones de, 187, 463
síntesis de, 503–508, 504f–506f
transporte en lipoproteínas del, 508–512
Colina, 499–500, **500**
Combustible(s)
almacenamiento de lípidos como, 7
carbohidratos como, 7
Combustibles biológicos, 4–5
Combustibles carbonados, oxidación de, energía libre en, 255–257, 255f, 256f

Complejo α-cetoglutarato deshidrogenasa, en el ciclo del ácido cítrico, 333, 338
Complejo CF_1-CF_0, 400–401
Complejo citocromo *bf*, 395, 398, 398f
Complejo de iniciación
de 30S, 692
de 70S, 692
Complejo enzima–sustrato
ajuste inducido y, 101, 101f
centros activos para, 100–101, 100f
concentración de sustrato y, 107–109
energía de unión y, 101
especificidad de la unión y, 94, 94f, 100–101, 101f, 138, 138f
formación de, 100
velocidad de, 107–109
modelo llave-cerradura y, 101, 101f
para enzimas alostéricas, 114–116, 115f
unión del sustrato en, 100–102
cooperatividad en, 116
Complejo estradiol–receptor, centrifugación en gradiente de, 77–78, 78f
Complejo holoenzima de la RNA polimerasa, 631, 632, 632f
Complejo nitrogenasa, 542–544
Complejo piruvato deshidrogenasa
de *Escherichia coli*, 319f, 319t
en el ciclo del ácido cítrico, 318–327, 319f, 319t
enzimas que componen el, 321–323, 321f, 322f
regulación de, 323–324, 323f, 324f
reacciones de, 322–323, 322f
respuesta a la carga energética, 323–324
Complejo promotor abierto, 633
Complejo promotor cerrado, 633
Complejos captadores de luz, 394, 394f
Complejos multienzimáticos en la síntesis de
ácidos grasos, 486–487
purina, 560–562
Componente transacetilasa, del complejo piruvato deshidrogenasa, 321–322, 321f
Comunidades bacterianas, 640–641
Concentración de iones hidrógeno. *Ver* pH
Condiciones médicas
acidosis láctica, 326
acromegalia, 223
albinismo, 536t
amiloidosis, 61–62
anemia falciforme, 147–148, 147f, 148f
aterosclerosis, 510–512, 510f, 548–549
atrofia muscular espinal, 667t
beriberi, 325–326
cáncer. *Ver* Cáncer
cataratas, 286, 286f
cirrosis, 529, 529f
citrulinemia, 536t
cólera, 221
debidas a la agregación de proteínas, 61–62, 615
defectos en el tubo neural, 547
demencia frontotemporal, 667t
diabetes mellitus, 309, 444–445, 475
difteria, 699–700
encefalomielopatía de Leigh, 667t
encefalopatías espongiformes transmisibles, 61–62, 62f
enfermedad
cardiaca, 204, 548–549
de Alzheimer, 61, 62, 62f
de Cori, 446t
de Huntington, 614–615
de Hurler, 169, 169f
de la sustancia blanca evanescente, 697, 697f
de las células I, 172
de Parkinson, 61, 62
de Pompe, 446t
hepática relacionada con el alcohol, 491–492
envejecimiento prematuro, 189, 189f, 601, 601f
envenenamiento por
ántrax, 603
arsenito, 326, 326f
hongos, 646, 646f
mercurio, 326
ricina, 700
errores congénitos del metabolismo, 536–537
escorbuto, 55
espina bífida, 547
fenilcetonuria, 536–537, 536t
fibrosis quística, 204–205, 667t
gigantismo, 223
gota, 117, 117f, 555f, 568–569
gripe, 173–174, 174f
gripe aviar, 173–174
hemofilia, 667t
hiperamonemia, 529
hipercolesterolemia, 14, 509, 510–512
hipercolesterolemia familiar, 14, 510–511
hiperglucemia, 309
hiperhomocisteinemia, 548–549
hiperlisinemia, 536t
homocistinuria, 536t
ictiosis arlequín, 205
infecciones víricas, 173–174, 174f
inmunodeficiencia combinada grave, 568, 667t
insuficiencia de carnitina, 468–469
insuficiencia de vitamina D, 514
intolerancia a la lactosa, 286
kwashiorkor, 42
mitocondriales, 381
mucopolisacaridosis, 169, 169f
neurológicas, proteínas plegadas incorrectamente en, 61–62
neuropatía óptica hereditaria de Leber, 381
obtención de imágenes por resonancia magnética funcional, 144, 144f
osteoartritis, 169–170
osteomalacia, 514
porfiria, 667t
priónicas, 61–62, 62f
raquitismo, 513
relacionadas con el almacenamiento del glucógeno, 445–446, 446f, 446t
relacionadas con el almacenamiento en los lisosomas, 172
retinitis pigmentosa, 666
síndrome
de Hutchinson-Gilford o progeria, 189, 189f
de Lesch–Nyhan, 569, 667t
de Lynch, 620
de Werner, 601, 601f
X-frágil, 697
talasemia, 667f
tirosinemia, 536t
tos ferina, 221
xeroderma pigmentoso, 620
Condroitín 6-sulfato, 169, 169f, 170, 170f
Configuración *cis*, de los enlaces peptídicos, 48–49, 49f
Configuración *trans*, de los enlaces peptídicos, 48–49, 49f
Constante(s)
alostérica, 115
de acidez, A2, A3–A4
de equilibrio, energía libre y, 97–98, 98t
de ionización, 28
de Michaelis, 108–111, 108f, 109f
de velocidad, 106
de primer orden, 106
de segundo orden, 106
físicas, A1
matemáticas, A1
Control alostérico, reversible, 264
Control combinatorio, transcripcional, 650
Control por medio del aceptor, 377, 378f
Control respiratorio, 377, 378f
Corey, Robert, 50, 51
Cori, Carl, 445, 446
Cori, Gerty, 445, 446
Corismato mutasa, velocidad de reacción y, 94t
Corrección de errores
en la replicación, 603
en la traducción, 682f, 692
en la transcripción, 634
Corrección del RNA, 668–669, 668f
Correpresores, 653
Cortes en las dos hebras, reparación de, 621, 621f
Cortisol, 513
Cotransportadores, 205, 205f
Creatina fosfato
durante el ejercicio, 254–255, 255f
potencial de transferencia de grupos fosforilo, 254–255, 254t
Creatina quinasa, 254–255
Crecimiento, en ecosistemas áridos, 418, 418f
Crick, Francis, 7
Cristales de urato, en la gota, 117, 568
Cromatina, 589–590, 590f, 591f
remodelación de, 654–656, 655f
Cromatografía
de afinidad, 72, 72f
de filtración en gel, 70–71, 71f

de intercambio iónico, 71, 71f
de intercambio molecular, 70–71, 71f
líquida de alta presión, 72, 72f
Cromosoma(s)
acortamiento de, prevención de, 609
extremos teloméricos de, 608–610, 609f, 610f
tamaño de, 581, 581f
Crotonil-ACP, 484t, 485, 485f
Cuerpos cetónicos
en el ayuno, 476, 476f, 476t, 477t
en la diabetes mellitus, 475, 475f
síntesis de, 473–474, 474f
Cuerpos de Heinz, 460, 460f
Curva de unión al oxígeno, sigmoidal, 142, 142f
Curva sigmoidal (de unión al oxígeno), 142, 142f
Curvas de titulación, 28–29, 29f

Dalton, 47
Dawkins, Richard, 59
Dedalera, digital procedente de, 204, 204f
Defectos del tubo neural, 547, 569–570
Degradación de Edman, 84, 85f
Degradación de aminoácidos, 523–538
aromáticos, 534–535, 534f, 535f
α-cetoglutarato y, 524, 525, 532
con cadena ramificada, 533–534, 533f, 534f
en el ciclo de
la glucosa–alanina, 526, 526f
la urea, 526–530
en el transporte de nitrógeno, 525–526
en la desaminación del glutamato, 524–525
en la eliminación del nitrógeno, 524–526
esqueletos carbonados en, destinos metabólicos, 530–536
glutamato y, 524, 532, 532f
lugares para, 525–526
oxaloacetato y, 532
oxigenasas en, 534–535, 534f, 535f
piruvato y, 526, 531–532, 531f
succinil-CoA en, 533, 533f
transaminación en, 524–525
Degradación del glucógeno, 424–433
cAMP en, 430–432, 431f
cascada de fosfoinosítidos en, 432
enzimas en, 424–427, 425f–426f
desramificación, 425, 425f
epinefrina en, 430–432
fosfoglucomutasa en, 426, 426f
fosforilasa en, 424–425, 425f, 426–430, 428f–430f
fosforilasa quinasa en, 429, 430f
glucagón en, 430–432
proteínas G en, 430–432, 431f
regulación de, 430–432
en el hígado, 428–429, 429f
en el músculo, 427–428, 427f
Demencia frontotemporal, 667t
Derivados tóxicos, en la cadena respiratoria, 363–364, 363f, 363t
Dermatán sulfato, 169, 169f
Desaminación
adenina, 615, 615f
daños en el DNA por, 615, 618, 618f
glutamina, 524–525
Desarrollo, embrionario, selectinas en, 173, 173f
Desarrollo del hueso, vitamina D en, 513–514
Desarrollo embrionario, selectinas en, 173, 173f
Descarboxilación
del α-cetoglutarato, 332–333
en el ciclo del ácido cítrico, 320, 330
Descarboxilación oxidativa
del α-cetoglutarato, 333
en el ciclo del ácido cítrico, 330
7-Deshidrocolesterol, 513, **514**
Deshidrogenasas, funciones de, 276
Desoxiadenilato, 580
Desoxiadenosina, 579
Desoxicitidilato, 580
Desoxicitidina, 579
Desoxiguanilato, 580
Desoxiguanosina, 579
Desoxiguanosina 3′-monofosfato, 580, **580**
Desoxihemoglobina, 145, 145f, 149
Desoximioglobina, 142, 143f
Desoxinucleósido 5′-trifosfato, en la replicación, 598
Desoxirribonucleósido 3′-fosforamiditas, 710, 710f
Desoxirribonucleósido trifosfato (dNTP), en la replicación, 600, 601f
Desoxirribonucleótidos, síntesis de, 556–557, 563–565, 566. *Ver también* Nucleótido(s), síntesis de
Desoxirribosa, 159f, 578, **578,** 578f
Desoxirribosa fosfodiesterasa, en la reparación por escisión de bases, 618
Desoxiuridilato, en la síntesis de timidilato, 563–565
Desoxiuridina monofosfato (dUMP), en la síntesis de timidilato, 564
Desplazamiento de la hélice α, 51
Detergentes, sales biliares como, 512
Determinantes antigénicos, 78, 79f
Dextrina límite, 241
3′-dGMP, 580
Diabetes mellitus
cetoacidosis en, 475, 475f
en la gluconeogénesis, 309
tipo 1, 445
tipo 2, 309, 445
Diacilglicerol
en la síntesis de triacilglicerol, 222f, 223, 223f
en la transducción de señales, 222f, 223, 223f
estructura de, **241**
Diacilglicerol 3-fosfato, 184–185, **185**
en la síntesis de lípidos, 497, 498f
Diagramas de Ramachandran, 49, 49f
Diálisis, 70, 71
Dianabol, **515**
Diastereoisómeros, 158f, 159
Dícer, 703
2,4-Dienoil-CoA reductasa, 472, 472f
Dieta
diabéticos, 309
metabolismo de los ácidos grasos y, 490–491
Difteria, 699–700
Difusión a través de membranas, 201–202, 202f
facilitada, 203
lateral, 201–202, 202f
simple, 202
transversal, 202, 202f
Difusión facilitada, 203
Difusión lateral, 201–202, 202f
Difusión transversal, 202, 202f
Digestión, 237–245
control hormonal de, 238–240, 239f
de carbohidratos, 240–241, 240f
de lípidos, 241–242, 241f, 242f
de proteínas, 238–240, 238t, 239f, 240f
señalización en, 243–244, 244f
venenos de serpiente y, 242–243
Digital, 204, 204f
Dihidrofolato reductasa, 564
Dihidrógeno fosfato, como base conjugada, 28f
Dihidrolipoílo transacetilasa, en el ciclo del ácido cítrico, 320
Dihidrotestosterona (DHT), 513
Dihidrouridina, **679**
Dihidroxiacetona, 158f, 159
Dihidroxiacetona fosfato
en la glucólisis, 275
estructura de, **275, 300, 466**
5,6-Dihidroxiindol, **556**
Diisopropilfosfofluoridato (DIPF), inhibición enzimática mediante, 131, 131f, 135
Dímero αβ, de la hemoglobina, 144–145, 144f, 145f
Dímero de timina, escisión de, 518, 618f
Dímeros, 57–58, 57f
de pirimidina, escisión de, 618, 618f
de proteína, 57, 57f
Dimetilalilpirofosfato, en la síntesis de colesterol, 504, **504,** 505f
Dinucleótido de flavina y adenina (FAD). *Ver* FAD (dinucleótido de flavina y adenina)
Dinucleótido de flavina y adenina reducido ($FADH_2$). *Ver* $FADH_2$ (dinucleótido de flavina y adenina reducido)
Dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD). *Ver* NAD (dinucleótido de nicotinamida y adenina)
Dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido (NADH). *Ver* NADH (dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido)

Dióxido de carbono
en el ciclo de Calvin, 407–414
fijación de, 408–409, 408f
en la regulación de la hemoglobina, 149–150, 149f, 150f
transporte de, ruta C_4 para, 416–417, 416f
Dioxigenasas, en la degradación de aminoácidos, 535
DIPF, inhibición enzimática mediante, 131, 131f, 1351
Disacáridos, 164, 164f, 165f. *Ver también* Carbohidrato(s)
digestión de, 240–241
Disolución de Fehling, 161
Disoluciones, acuosas, 18–19. *Ver también* Agua
Disolvente, agua como, 19, 20, 21f
Distribución de proteínas, 700
Diurón, 403
estructura de, **403**
DNA
atemperación en, 585
azúcares en, 578–579
bases en, 6, 578–580. *Ver también* Bases/pares de bases
cloroplasto, 391
como polímero lineal, 578, 578f
compactación del, 587–589, 587f, 588f, 591
complementariedad con el mRNA, 629–630, 630f
complementario. Ver DNA complementario
daños en, 615–616
en el cáncer, 592, 619–620
en enfermedades genéticas, 614–615
en la quimioterapia, 592
reconocimiento de, 618
reparación de, 617–621. *Ver también* Reparación del DNA
desnaturalización de, 585
en la cromatina, 589–590, 591f
en la transcripción, 8. *Ver también* Transcripción
en nucleosomas, 589–591, 591f
esqueleto de, 578–579, 579f
estructura de, 6, 6f, 577–591. *Ver también* Doble hélice
forma A, 585, 586f, 586t
forma B, 585, 586f, 586t
forma Z, 586, 586f, 586t
fusión de, 585
hebra antisentido de, 630
hebra codificante de, 630
hebra con sentido de, 630
hebra molde de
en la replicación, 599, 605, 605f
en la transcripción, 630, 630f
hebra rica en G del, 609, 609f, 610f
hélice-bucle-hélice en, 588, 588f
información contenida en, 6, 7–8
transferencia de, 7–8
longitud de, 580–581
longitud molecular de, 580–581
modelo de Watson-Crick del, 581–583, 582f. *Ver también* Doble hélice
nucleósidos de, 579–580. *Ver también* Nucleósido(s)
nucleótidos en, 579–580. *Ver también* Nucleótido(s)
polaridad de la cadena en, 580
proteínas del, 589–591
relajado, 587, 587f, 588, 588f
reparación de, 617–621. *Ver también* Reparación del DNA
secuencias palindrómicas en, 635, 635f
síntesis de. *Ver* Replicación del DNA
surcos mayor/menor en, 587, 587f
tamaño de, 580–581
topoisómeros de, 589
trinucleótidos en, 580
DNA circular, 587, 587f, 588
DNA complementario
de doble hebra, 715
bibliotecas, 710
búsqueda en una, 715–716
sonda para, 710–711
DNA conector, 590, 590f
DNA fotoliasa, en la reparación del DNA, 618
DNA girasa, 602
DNA glicosilasa, en la reparación del DNA, 618, 619
DNA ligasa, 605, 607, 608f, 714, 714f
DNA micromatrices, 723, 723f
DNA molde
en la replicación, 599, 605, 605f
en la transcripción, 629–630, 630f
DNA polimerasa(s), 8, 8f
en *E. coli*, 598t
en el enlace fosfodiéster, 599, 599f
en la corrección de errores del DNA, 603, 617
en la reparación del DNA, 599
en la replicación, 598–603, 605–606, 606f
estructura de, 599, 600f
procesividad de, 606
propensa al error, 614
que reparan lesiones, 614
subunidad β de, 606, 606f
tipos de, 598t
DNA relajado, 587f, 588, 588f
DNA superenrollado, 587–589, 587f, 588f, 602, 602f
desenrollamiento de, 602, 602f
superenrollamiento negativo en, 588, 602, 602f
DNA-A, 585, 586f, 586t
DNA-B, 585, 586f, 586t
DnaA, 604, 604f
DnaB, 604, 604f
DNasa, 590
DNA-Z, 586, 586f, 586t
Doble hélice, 6, 6f, 577–589, 577f
daños en, 592, 615–616
reparación de, 617–621. *Ver también* Reparación del DNA
desenrollamiento de
en la replicación, 585, 589, 602, 602f, 606–607
en la transcripción, 633, 633f, 634f
dextrógiro, 586, 588
efecto hidrofóbico y, 583
en el DNA-A, 585, 586f, 586t
en el DNA-B, 585, 586f, 586t
en el DNA-Z, 586, 586f, 586t
en la replicación semiconservativa, 583–585, 583f
en la transferencia de información, 583
estructura de, 581–583, 582f
formas de, 585–589
fusión de, 585
interacciones
de Van der Waals en, 583
débiles en, 583
levógiro, 586
modelo de Watson–Crick de, 581–583, 582f
motivo tallo-bucle en, 592, 592f
pares de bases en, 6, 6f, 578–580, 583. *Ver también* Bases/pares de bases
puentes de hidrógeno en, 22, 22f
superhélice, 587–589, 588f
zigzag, 586
Doble hélice de cDNA, 715
Doble hélice de DNA complementario, 715
Dogma central, 7–8
Dominio carboxilo terminal (CTD), 647, 649, 649f, 667–668, 668f
Dominio de unión a la acetil-lisina, 655
Dominio de unión al DNA, en hormonas, 651–652, 652f
Dominios
bromodominios, 655
de dedo de zinc, 652
proteicos, 57, 57f
Doxiciclina, inhibición no competitiva mediante, 129
Drogas utilizadas en casos de violación, 487

Ecosistemas áridos, crecimiento en, 418, 418f
Ectotermos, 127, 127f
Ecuación de
Lineweaver-Burk, 109, 109f
Michaelis–Menten, 107–108
obtención de, 119–120
Ecuaciones de Henderson–Hasselbalch, 28
Efecto Bohr, 149
Efecto hidrofóbico, 23–24, 23f, 37–39, 38f
en el plegamiento de proteínas, 24, 24f, 39, 56, 60
en la doble hélice, 583
en la formación de bicapas lipídicas, 196
Efecto Warburg, 292–293, 325
Efectores heterotrópicos, 116
Efectores homotrópicos, 116
Eicosanoides, 488–489, 488f
Ejercicio
agotamiento del glucógeno en, 432, 433f
beneficios a largo plazo de, 364
generación de ATP durante, 254–255, 255f
glucólisis durante, 292–293
niveles de ADP durante, 446, 446f
El relojero ciego (Dawkins), 59
Electrófilos, 126

Electroforesis bidimensional, 73–74, 74f
Electroforesis en gel, 72–73, 73f, 712–713, 713f
Electrón(es)
  alto potencial de transferencia, producción en el ciclo del ácido cítrico de, 335–337, 336f
  ricos en energía, recolección de, 329–343
  transportadores activados de
    derivados de las vitaminas, 261–263, 262f, 262t
    para la oxidación, 257–259, 258f
    para la síntesis de biomoléculas, 259, 259f
Elemento(s), 4–5, 4t
  de respuesta, 651
    a estrógenos, 651
    al hierro, 703, 703f
  iniciador ribosómico, 648
  iniciadores, 648
  promotores situados
    corriente arriba, 648
    corriente abajo, 647f
  que actúan en cis, 647–648, 647f
  regulador de esteroles (SRE), 506–507, 507f
  situados corriente arriba, 632
  UP, 632
ELISA, 82, 83f
  en sándwich, 82, 83f
  indirecto, 82, 83f
Elodea, 399f
Embarazo, insuficiencia de ácido fólico en, 547, 569–570
Embudo de plegamiento, 60, 60f
Emulsión de lípidos, 241
Enantiómeros, 158f, 159
Encefalomielopatía(s)
  de Leigh, 667t
  espongiformes, 62, 62f
    bovina, 62, 62f
    transmisibles, 62, 62f
Endocitosis, 13
  mediada por receptor, de lipoproteínas de baja densidad, 509–510, 509f, 510f
Endonucleasa AP, en la reparación por escisión de bases, 618
Endonucleasas, restricción, 712, 712f, 713–714
Endosimbiosis, 351–352, 391
Endosomas, 13
Endotermos, 127, 127f
Endurecimiento del pan, 413–414, 414f
Energía
  bioquímica, transformación de la succinil-CoA, 334–335, 334f
  de activación, 99, 99f
  de la luz, transformación de la energía química en, 391–395, 391f, 392f
  de unión, 101, 126
    en la catálisis, 126
  del plegamiento de proteínas, 60
  en la hidrólisis del ATP, 250–255
  extracción de, etapas en, 237, 237f
  libre, 96–102. *Ver también* Energía libre
  química, transformación de la energía de la luz en, 391–395, 391f, 392f
  transformación de, potencial de transferencia de grupos fosforilo en, 253–254, 254t
Energía libre. *Ver también* Energía
  ATP como moneda universal de, 250–254, 251f, 253f, 254t
  cálculo de, 97–98
  constante de equilibrio y, 97–98, 98t
  de activación, 99, 99f
  de la hidrólisis de compuestos fosforilados, 253–254, 254t
  de la oxidación
    de combustibles carbonados, 255–257, 255f, 256f
    de compuestos monocarbonados, 255–256, 256f
    del gliceraldehído, 277, 277f
  del metabolismo, 247–248
  en las reacciones catabólicas, 96–99, 101
  incremento de energía libre estándar y, 97–98
  notación para, 97
  unidades de, 97
  unión, 101
Enfermedad
  cardiaca
    digital para, 204
    homocisteína en, 548–549
  de Alzheimer, 61, 62, 62f
  de Andersen, 446t
  de Cori, 446, 446t
  de Creutzfeldt–Jakob, 62
  de Hers, 446t
    insuficiencia de fosforilasa en, 430
  de Huntington, 614–615
  de Hurler, 169, 169f
  de la sustancia blanca evanescente, 697, 697f
  de las células I, 172
  de las vacas locas, 62
  de McArdle, 446, 446t
  de Parkinson, 60, 61, 62
  de Pompe, 446t
  de Tay–Sachs, 14, 501–502, 502f
  de Von Gierke, 445, 446t
  del niño burbuja, 568
  hepática relacionada con el alcohol, 491–492, 529, 529f
  por reflujo gastroesofágico, 26
Enfermedades. *Ver también* Condiciones médicas
  causadas por la agregación de proteínas, 61–62, 615
  mitocondriales, 381
  neurológicas, proteínas plegadas incorrectamente en, 61–62
  priónicas, 62, 62f
  relacionadas con el almacenamiento del glucógeno, 445–446, 446f, 446t
  en los lisosomas, 172
Enlaces, 5, 17
  α-1,6, 240–241
  amida. *Ver* Enlaces peptídicos
  axiales, 160
  carbono-carbono, 5
    rotación en torno a, 49, 49f
  covalentes, 5, 21
  débiles (no covalentes), 17, 20–22
  disulfuro, ruptura de, 58, 58f
  ecuatoriales, 160
  en el carbono, 5
  en el silicio, 5
  glicosídico, 162–163
    en disacáridos, 162–163, 164f
    en polisacáridos, 165, 165f
  hidrógeno. *Ver* Puentes de hidrógeno
  iónicos, 20, 20f–22f
  longitud de, A5
  no covalentes, 17, 20–22, 20f–22f
  peptídico. *Ver* Enlaces peptídicos
  polaridad y, 19
  rotación en torno a, 49, 49f
Enlaces peptídicos, 46–50, 46f, 47f
  carácter de doble enlace de, 48, 48f
  configuración
    cis de, 48–49, 49f
    trans de, 48–49, 49f
  formación de, 46, 46f
  hidrólisis de, 94, 94f
  longitud de, 48, 48f
  planares, 48–49, 48f
  síntesis de, 693, 694f
Enlaces químicos. *Ver* Enlaces
Enoil-CoA, 471–472, 471f
  hidratasa, 469–470, 469f, 470t
  isomerasa, 471–472, 471f, 472f
  reductasa, 484t, 485
Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), 82, 83f
Ensayos, 69
Enteropeptidasa, 239
Entropía, 23, 23f
Envejecimiento prematuro, 189, 189f, 601, 601f
Envenenamiento
  α-amanitina, 646, 646f
  clorofila, 395, 395f
  por ántrax, 603
  por arsenito, 326, 326f
  por hongos, 646, 646f
  por mercurio, 326
  solanina, 395, 395f
Envío de proteínas a su destino, 700
Enzima(s), 91–138. *Ver también enzimas específicas*
  actividad específica de, 69
  alostéricas, 91, 105, 112–117. *Ver también* Enzimas alostéricas
  apoenzimas, 95, 96t
  centros activos de, 100–101, 100f
  clases de, 94–95
  coenzimas y, 95, 96t, A4–A5. *Ver también* Coenzima(s)
  cofactores para, 95, 96t

Enzima(s) (*continuación*)
como catalizadores, 5–6. *Ver también* Catálisis enzimática
condensante de acil-ACP y malonil-ACP, 484t, 485
constante de equilibrio y, 97–98, 98t
de restricción (endonucleasas), 712, 712f, 713–714
definición de, 91
desacilación de, 137–138
digestivas, 238–240, 238t
en el estado de transición, 99–102
en la degradación del glucógeno, 424–427, 425f–426f
en la hidrólisis de enlaces peptídicos, 94, 94f
en la regulación metabólica, 112–117
equilibrio de la reacción y, 98–99, 98t
especificidad de, 94, 94f, 100–101, 100f, 138, 138f
estudios de una sola molécula, 117–118, 118f
estudios en masa de, 117–118
fotorreactivas, en la reparación del DNA, 618
función esencial de, 6
hidrolasas, 95
holoenzimas, 95, 96t
incremento de energía libre y, 96–99
inhibidores de. *Ver* Catálisis enzimática, inhibición de
isomerasas, 95
liasas, 95
ligasas, 95
Michaelis–Menten, 107–108, 107f, 108f, 112
núcleo, 631
número de recambio de, 110, 110t
oxidorreductasas, 94
pancreáticas, 238–240, 238t
pH óptimo para, 127–128, 127f
procesividad de, 606
proteolíticas, 94
en el veneno de serpientes, 242–243
en la digestión, 238–240
regulación de, en procesos metabólicos, 263–265
resumen de, 91
sustratos para, 94, 100–102. *Ver también* Complejo enzima–sustrato
tamaño de, 100
transferasas, 95
velocidad de reacción y, 93, 94t, 98–99, 98t
Enzima ramificante, en la síntesis de glucógeno 439–440, 439f
Enzimas alostéricas, 91, 105, 112–117, 141–151
centros activos de, 114–115
cinética sigmoidal de, 114–116
definición de, 112
efectores
heterotrópicos y, 116
homotrópicos y, 116
en el estado
R, 115–116, 115f
T, 115–116, 115f
en la gota, 117
en la regulación del metabolismo, 112–117
funciones de, 116
modelo concertado (MWC) de, 114–116, 115f
modelo secuencial de, 116–117, 117f
regulación de, 112–114
unión al sustrato de, 115, 115f
Epímeros, 158f, 159
Epinefrina, 217, 556, **556**
en el metabolismo de los ácidos grasos, 490
en la degradación del glucógeno, 430–432
en la lipolisis, 466
en la síntesis del glucógeno, 441
unión al receptor de, 219
Epítopos, 78, 79f
Epóxido, 616
Equilibrio
de sedimentación en gradiente de densidad, 584–585, 585f
definición de, 26
Eritrocitos, falciformes, 147–148, 147f
Eritromicina, mecanismo de acción de, 698, 698t
Eritropoyetina (EPO), 168, 168f
Eritrosa 4-fosfato
en el ciclo de Calvin, 410f
en la ruta de las pentosas fosfato, 453f, 455
Errores congénitos del metabolismo, 536–537
Erupciones volcánicas, que afectan a la fotosíntesis, 412
Escherichia coli. *Ver también* Bacterias
complejo piruvato deshidrogenasa en, 319f, 319t
operón *lac* en, 638–639
regulación génica en, 638–639
replicación del DNA en, 604–607
síntesis de ácidos grasos en, 482–486
transcripción en, 631
Escualeno, en la síntesis de colesterol, 504–505, 505f, 507f
Esfingolípidos, síntesis de, 500, 500f, 501f
Esfingomielina, 185, **186,** 188f, 500, 501f
Esfingosina, 185, **186,** 500, 556, **556**
en fosfolípidos, 184, 185
Especies reactivas del oxígeno (ROS), 363–364
Espectros de absorción, de las clorofilas *a* y *b*, 393, 393f
Espina bífida, 547, 569–570
Espliceosomas, 665–666, 665f
Esquema Z, de la fotosíntesis, 400, 400f
Estabilización por resonancia, en el ATP, 253, 253f
Estado de transición, en la catálisis, 99–102
Estado R
en enzimas alostéricas, 115–116, 115f
en proteínas alostéricas no enzimáticas, 145, 145f
Estado T
en enzimas alostéricas, 115–116, 115f
en proteínas alostéricas no enzimáticas, 145, 145f
Estatinas, 511, **511**
Estatus energético, de la célula, 264
Esteatorrea, 242
Éster metílico de la farnesilcisteína, **188**
Éster *p*-nitrofenílico de la *N*-Acetil-L-fenilalanina, ruptura por quimotripsina, 135, 135f
Estereoisómeros, 158–159, 158f
Estereoquímica, 36
Esteroides
anabólicos, 513, 514–515, 515f, 653
cardiotónicos, 204
Estimulación anticipada, 290
Estomas, 418, 418f
Estradiol, **76,** 513, 651, **651**
Estreptomicina, mecanismo de acción de, 698, 698t
Estrés oxidativo, glucosa 6-fosfato deshidrogenasa y, 459–460
Estrógeno, 513
Estroma, del cloroplasto, 390, 391f
Estructura cuaternaria de las proteínas, 45, 57–58, 57f, 58f
en la hemoglobina, 145, 145f
Estructura primaria de las proteínas, 45, 46–47, 46f–49f
Estructura secundaria de las proteínas, 45, 50f–54f, 52–55
Estructura supersecundaria, 57
Estructura terciaria de las proteínas, 45, 55–57, 56f
Estructuras resonantes, enlace peptídico, 48, 48f
Estudios de una sola molécula, de enzimas, 117–118, 118f
Estudios en masa, 117–118
Etanol, **25,** 280–281
en la hiperamonemia, 529, 529f
en la insuficiencia de vitamina A, 515
enfermedad hepática debida al, 529, 529f
estructura de, **280**
metabolismo de, 491–492, 515
monosacáridos y, 162–163
NADH y, 491, 492
Etanolamina, 499, 499f
Etileno, 549f
Eucariotas, 9–10, 9f
células de, 9–10
expresión génica en, 627–628, 645–657. *Ver también* Expresión génica
fosforilación oxidativa en, 349–350, 350f, 351f
procesamiento del RNA en, 661–671
replicación en, 608–610
traducción en, 696–697, 696f
transcripción en, 645–657. *Ver también* Transcripción, en eucariotas
Evolución, 3–4
Exclusión estérica, 49–50
Exocitosis, 13, 13f

Exones, 662
unión de. *Ver* Maduración
Exonucleasa, en la corrección de errores del DNA, 603, 603f
Experimento de Meselson-Stahl, 583–585, 585f
Expresión génica, 8
en eucariotas, 645–657
acetilación de histonas y, 654–656
control combinatorio en, 650
hormonas en, 651–653
remodelación de la cromatina y, 654–656
RNA polimerasas y, 646–649
maduración en, 664–668
operón *lac* en, 638–639
transcripción en. *Ver* Transcripción
unión receptor-ligando en, 652, 653f
Extremófilos, lípidos de membrana en, 187
Extremos cohesivos, 714
Extremos complementarios de una sola hebra, 714

Factor(es) de crecimiento
en la transducción de señales, 224–225, 225f
epidérmico, 225–226
procedente de las plaquetas, 224
Factor de transcripción-1 inducible por hipoxia (HIF-1), 293, 293f, 293t, 325
en el cáncer, 340
Factor intercambiador de nucleótidos de guanina (GEF), 226
Factor liberador del ribosoma, 695
Factores asociados a la proteína que se una a la caja TATA (TAF), 655
Factores de elongación, en la traducción, 692–693
Factores de iniciación
en la enfermedad de la sustancia blanca evanescente, 697, 697f
en la traducción, 692, 696
Factores de liberación, 695, 695f
Factores de transcripción, 632
en bacterias, 632
en eucariotas, 649, 650
Factores permisivos, 608
FAD (dinucleótido de flavina y adenina), 258–259, 258f
en el ciclo del ácido cítrico, 319, 335, 338
en el metabolismo de los ácidos grasos, 469, 469f, 470t
estructura de, **259**
parte reactiva de, 259, 259f
$FADH_2$ (dinucleótido de flavina y adenina reducido)
electrones de
en la cadena respiratoria, 357–358
estructura de, **259**
en el ciclo del ácido cítrico, 330, 335, 337
en el metabolismo de los ácidos grasos, 469, 469f, 470t
en la fosforilación oxidativa
potencial de transferencia de electrones de, 352–353
reacciones de oxidación-reducción de, 355
síntesis de, 469, 469f, 470t
Fago λ
como vector, 714
proteína Cro de, 57, **57,** 57f
Fagocitosis, 13
Faradio, 353
Fármaco(s) *Ver también fármacos específicos y familias de fármacos*
agonista, 653
antagonista, 653
Fármacos anticancerígenos. *Ver* Quimioterapia
mecanismo de acción de, 128–134, 131f–134f, 698, 698t
reacciones adversas a, 459–460
Farnesilo, en la progeria, 189
Fatiga, agotamiento del glucógeno y, 432, 433f
Fenilalanina
degradación de, 534–535, 535f
estructura de, **25,** 38–39, 38f
Fenilalanina hidroxilasa, 534, 535f
insuficiencia de, 536–537
Fenilcetonuria (PKU), 536–537, 536t
Fenilisotiocianato, en la degradación de Edman, 84
Fermentación
alcohólica, 280–281, 281f
en la glucólisis, 279–283, 280f
energía utilizable en ausencia de oxígeno y, 282–283
láctica, 281–282
alcohólica, 280–281, 281f
láctica, 281–282, 282f
Ferredoxina, 542f, 543
estructura de, **396**
Ferredoxina-NADP reductasa, estructura de, **397**
Ferredoxina-tiorredoxina reductasa, 415
Ferritina, 702–703
hélice α de, 51, 51f
Ferroproteína, 453f, 543
Fibrillas amiloides, 61, 61f, 62
Fibrosis quística, 667t
Fijación del carbono, 542
Fijación del nitrógeno, 541–544, 542f–543f
por los rayos, 542, 542f
Filamentos intermedios, 11, 11f
Filtro de selectividad, 207–208, 207f, 208f
Fischer, Emil, 101
Fitol, 392
Fitoplancton, 362
Flavina(s), 257
Flavoproteínas, 321
Flip-flop, 202, 202f
Fluido. *Ver* Agua
Fluorescamina, 84, 84f
Fluorodesoxiuridilato (F-dUMP), 564
Fluorouracilo, 564
Formilglicinamida ribonucleótido, 561f
Formilmetionil-tRNA, 691–693, 692
Formilmetionina (fMet), 691–693, 692
Fosfatasa, en la señalización de la insulina, 228
Fosfatidato, 184–185, **185, 498**
en la síntesis de lípidos, 497–503, 498f
Fosfatidilcolina, 185, **185**
Fosfatidiletanolamina, **185,** 499, 499f
Fosfatidilinositol, **185**
en la transducción de señales, 222–223, 222f
síntesis de, 499
Fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP_2), **222,** 227–228, **228,** 228f
Fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP_3), 228, **228,** 228f
Fosfatidilserina, **185**
Fosfatos, monosacáridos y, 162–163
Fosfatos orgánicos, 25t
Fosfodiesterasa de cAMP, 220
Fosfoenolpiruvato
en la glucólisis, 273f, 278–279
en la gluconeogénesis, 302–304
estructura de, **278, 303**
potencial de transferencia de grupos fosforilo de, 253–254, 254t
Fosfoenolpiruvato carboxilasa, en el ciclo de Calvin, 416
Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, 309
Fosfofructoquinasa, en la glucólisis, 276
en el hígado, 288–290, 289f
en el músculo, 287, 287f
Fosfofructoquinasa 2, 307–308
Fosfofructoquinasa 2/fructosa 2,6-bisfosfatasa, 307, 307f, 308f
2-Fosfoglicerato, 279
estructura de, **278**
3-Fosfoglicerato
en el ciclo de Calvin, 408–409, 409f, 415–416, 415f
en la síntesis de aminoácidos, 546
estructura de, **278**
3-Fosfoglicerato deshidrogenasa, 549, 549f
Fosfoglicerato quinasa, en la glucólisis, 277
Fosfoglicéridos, 184–185, **185,** 188f
Fosfoglicolato, en el ciclo de Calvin, 415–416, 415f
Fosfoglucomutasa, 285
en la degradación del glucógeno, 426, 426f
6-Fosfogluconato, en la ruta de las pentosas fosfato, 452, 454f
6-Fosfogluconato deshidrogenasa, en la ruta de las pentosas fosfato, 452
6-Fosfoglucono-δ-lactona, en la ruta de las pentosas fosfato, 452, 454f
Fosfolipasa C, en la transducción de señales,222
Fosfolípidos, 179, 498–500. *Ver también* Lípido(s); Lípidos de membrana
bicapa lipídica de, 196f, 197. *Ver también* Bicapa lipídica

Fosfolípidos (*continuación*)
cabezas hidrofílicas de, 6, 7f, 23–24
colas hidrofóbicas de, 6, 7f, 23–24
estructura de, 184–185, 184f, 185f
liposomas y, 197, 197f
síntesis de, 498–500
4′-Fosfopantotenato, estructura de, **260**
Fosfopentosa epimerasa, en la ruta de las pentosas fosfato, 454
Fosforilación
a nivel de sustrato, 277
generación de ATP a partir de, 335
de histonas, 656t
de la fosforilasa quinasa, 429, 430f
de quinasas, 272–274, 429, 430f
en la transducción de señales, 224, 225f
de residuos de serina, 307
del complejo piruvato deshidrogenasa, 323–324, 323f
en el ciclo del ácido cítrico, 323–324, 323f
oxidativa. *Ver* Fosforilación oxidativa
a nivel de sustrato, generación de ATP mediante, 335
Fosforilación oxidativa, 315. *Ver también* ATP (Adenosina trifosfato), síntesis de
cadena respiratoria en, 357–364. *Ver también* Cadena respiratoria
calor a partir de, 378–379, 378f
en el ciclo del ácido cítrico, 330, 330f
en eucariotas, 350–352, 350f, 351f
en la ATP sintasa, 373, 373f
inhibición de, 380, 380f
resumen de, 349–350, 350f
transferencia de electrones en, 352–357. *Ver también* Cadena respiratoria
gradiente de protones en, 353–354
potencial redox en, 352–353, 352f, 353t
reacciones de oxidación-reducción en, 354–357, 354f–356f
velocidad de, 377–378, 378f
Fosforilasa
en la degradación del glucógeno, 424–425, 425f, 426–430
insuficiencia de, enfermedad de Hers debida a, 430
regulación de, 428–430, 428f, 429f
Fosforilasa *a*, estructura de, 427, **427**
Fosforilasa *b*, estructura de, 427, **427**
Fosforilasa hepática, regulación alostérica de, 428–429, 429f
Fosforilasa muscular, regulación alostérica de, 427–473, 428f
Fosforilasa quinasa, en la degradación del glucógeno, 429, 430f
Fosforilaspartato, **203**
Fosforiletanolamina, 499, 499f
Fosforolisis, 424–425
5-Fosforribosil-1-amina, en la síntesis de purina, 560
Fosforribosilamina, en la síntesis de purina, 561f
5-Fosforribosil-2-pirofosfato. *Ver* PRPP (5-fosforribosil-2-pirofosfato)
Fosforribosilpirofosfato sintetasa, en la gota, 117
Fotofosforilación cíclica, 401–402, 401f, 402
Fotolisis, del agua, 399, 399f
Fotones, 392
Fotorreceptores, clorofila, 392–393
Fotorrespiración, 416
Fotosíntesis, 12, 390–404
aceleración de, ruta C_4 en, 416–417, 416f
aspectos biológicos en, 395, 395f
ATP sintasa en, 400–401, 410f
centro de reacción en, 392
ciclo Q en, 398
clorofila en, 392–393, 393f
toxinas y, 395, 395f
cloroplastos en, 12
complejos captadores de luz en, 394, 394f
componentes de, 402–403
localización de, 403f
definición de, 390
en cloroplastos, 390–391, 391f
erupción volcánica que afecta a, 412, 412f
esquema Z de, 400, 400f
flujo de electrones desde el H_2O al NADP en, 399–400, 400f
gradiente de protones en, 395–400, 395f–400f, 400t
inhibición mediante herbicidas de, 403
NADP en, 395, 396, 396f, 397f, 400, 400f
NADPH en, 395, 396, 397f
reacciones luminosas de, 389–404, 390f, 401f. *Ver también* Reacciones luminosas
separación fotoinducida de cargas en, 392, 392f
transferencia de electrones en, 392, 392f
transferencia de energía por resonancia en, 392, 392f
transformación de la energía de la luz en energía química en, 391–395, 391f, 392f
velocidad de, 412, 412f
Fotosistema I, 395, 395f, 396, 396f, 397f
conexiones con el citocromo *bf* en, 398, 398f
flujo cíclico de electrones a través de, 401–402, 401f
Fotosistema II, 395, 395f, 397–398, 398f
centro manganeso de, 399, 399f, 400f
conexiones con el citocromo *bf* en, 398, 398f
estructura de, **397**
Fotótrofos, 247
Fracciones, proteína 69
Fragmento(s)
de Klenow, 599
de Okazaki, 605, 605f
de restricción, 712–713a
FRAP (recuperación de la fluorescencia tras el fotoblanqueado), 202–203
Fructofuranosa, 160, 160f, 162f
Fructopiranosa, 162, 162f
Fructosa, 159f
como monosacárido, 158
en la glucólisis, 283, 283f
estructura de, 159, 160, 160f, 162, 162f
metabolismo de, 283, 283f
Fructosa 1,6-bisfosfatasa, 306, 307–308
Fructosa 1,6-bisfosfato
estructura de, **275, 304**
en la glucólisis, 273f, 275
en la gluconeogénesis, 301f, 304–305, 306
Fructosa 2,6-bisfosfato, 289, 289f, 290f, 306, 308f
Fructosa 6-fosfato, 413
en el ciclo de Calvin, 410f
en la glucólisis, 273f, 274–275
en la gluconeogénesis, 301f, 304–305
en la ruta de las pentosas fosfato, 453f, 455
estructura de, **274, 304, 413**
Fruta, maduración de, 548
Fuerza protón-motriz, 368–382, 400
componentes de, 368–369
en la síntesis de ATP, 368–373, 368f–373f
Fumarasa, 335
en el cáncer, 340
Fumarato
en el ciclo de la urea, 528, 528f, 532
en la síntesis de purina, 560, 561f, 562f
síntesis de, 535, 535f
Furanosa, formación de, 160, 160f

G6PD. *Ver* Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PD)
Galactitol, 286
estructura de, **286**
Galactosa, 159, 159f
en la glucólisis, 283, 283f, 284, 284f
estructura de, **285, 286**
metabolismo de, 283, 284, 284f
toxicidad de, 286
Galactosa 1-fosfato uridiltransferasa, 284
Galactosamina, 169, 169f
Galactosemia, 286
β-Galactosidasa, 164
en el metabolismo de la lactosa, 638, 638f
Galactósido permeasa, 638
Galacturonato, 166
Gangliósidos, 186, **186,** 501, 501f
unión de patógenos a, 501
GDP (guanosina difosfato), en la transducción de señales, 218
Gen(es), 8
constitutivos 648
knockout/knock in, 622, 623f
supresores de tumores, 230
en la reparación del DNA, 619–620
transcripcionales, 630–631
Gen *bcr-abl*, en la leucemia, 230, 230f
Gen c-*abl*, en la leucemia, 230, 230f
Genética inversa, 87, 709–711
Genoma(s)
copiado de. *Ver* Replicación del DNA
tamaño de, 581
en la genómica comparativa, 719, 720f
Genómica comparativa, 719, 720f

GHB (Ácido γ-hidroxibutírico), 487
Gigantismo, 223
Giros, 53, 53f
Giros de 180°, 53, 53f
Gliceraldehído
  estereoisómeros de, 158–159, 158f
  estructura de, 158f
  oxidación de, energía libre de, 277, 277f
Gliceraldehído 3-fosfato, **467**
  en el ciclo de Calvin, 410f, 411
  en la glucólisis, 273f, 275
  en la ruta de las pentosas fosfato, 454, 455
  estructura de, **256, 275**
Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa, 275
Glicerol, **300, 467**
  en fosfolípidos, 184
  en la gluconeogénesis, 300, 301f
  metabolismo de, 466–467, 466f, 467f
Glicerol 3-fosfato, **300, 467**
  en la síntesis de lípidos, 497, 498f
Glicina
  como par conjugado ácido-base, 28f
  conversión en serina, 531f, 532
  en el colágeno, 54, 54f
  en la síntesis de purina, 560, 561f
  estructura de, 37, 38f
  liposomal, 197, 197f
  síntesis de, 546
Glicinamida ribonucleótido, en la síntesis de purinas, 561f
Glicocolato, 512, **512**
  estructura de, **241**
Glicolasas, en la reparación del DNA, 618, 619
Glicolípidos, 180, 186, **186**. *Ver también* Lípido(s); Lípidos de membrana
  bicapa lipídica de, 196–198, 197f. *Ver también* Bicapa lipídica
Glicopéptido transpeptidasa, inhibición mediante penicilina de, 132–134, 133f, 134f
Glicoproteína P, 204, 204f
Glicoproteínas, 167–172
Glicosaminoglicanos, 167, 168–169, 169f, 170f
Glicosilación, 167–172
  grupos sanguíneos y, 168, 171f
  trastornos congénitos de, 172
Glicosilasa, en la reparación por escisión de bases, 618
Glicosiltransferasas, 163, 171–172
  antígenos de los grupos sanguíneos y, 168, 171f
  en la formación de oligosacáridos, 163–164, 164f
Glifosato, inhibición incompetitiva mediante, 128f, 129, 130, 130f
Glioxisomas, 341–342
Glóbulo fundido, 60
Glóbulos rojos de la sangre, falciformes, 147–148, 147f
Glucagón
  en el metabolismo de los ácidos grasos, 490
  en la degradación del glucógeno, 430–432
  en la lipolisis, 467
  en la síntesis del glucógeno, 441
  exceso de, en la diabetes, 445
Glucocorticoides, 513. *Ver también* Hormona(s) esteroideas
Glucogenina, en la síntesis del glucógeno, 438–439, 439f
Glucógeno, 7, 165, 423–424, 424f
  agotamiento de, fatiga y, 432, 433f
  almacenamiento de, 424
    glucosa en, 165, 440
  estructura de, 7f, 165, **165, 425**
  funciones de, 423
  remodelación de, 425f
Glucógeno fosforilasa, 424–425, 432
Glucógeno sintasa, en la síntesis del glucógeno, 438–440, 439f
Glucógeno sintasa quinasa
  desactivación de, 443, 443f
  en la síntesis del glucógeno, 440, 443, 443f
Glucólisis, 269, 271–295
  aeróbica, 292–293, 325
  aspectos clínicos en, 285–286, 286f, 292–293, 293f, 293t
  1,3-bisfosfoglicerato en, 273f, 276–277
  captura de la glucosa en, 272–274, 273f, 274f
  ciclo del ácido cítrico y, 319, 319f
  control de, 287–291
  definición de, 269
  dihidroxiacetona fosfato en, 275
  en el cáncer, 292–293, 293t, 325
  en el hígado, 307–308, 307f
    regulación de, 288–290, 290f
  en el músculo, regulación de, 287–288, 287f, 289f
  en las células β del páncreas, 293–294, 294f
  entrenamiento físico y, 292–293
  escisión de azúcares de seis carbonos en, 275–276
  etapas de
    primera, 273f, 274–275
    segunda, 273f, 275–276
    tercera, 273f, 276–277, 277f
  fermentación en, 279–283, 280f
    energía utilizable en ausencia de oxígeno y, 282–283
  formación de ATP en, 277–279
  formación de piruvato en, 278–279
  fosfoenolpiruvato en, 273f, 278–279
  fosfofructoquinasa en, 275
    en el hígado, 288–290, 289f
    en el músculo, 287, 287f
  fosfoglicerato quinasa en, 277
  fructosa 1,6-bisfosfato en, 273f, 275
  fructosa en, 283, 283f
  fructosa 6-fosfato en, 273f, 275
  galactosa en, 283, 283f, 284, 284f
  gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa en, 275
  gliceraldehído 3-fosfato en, 273f, 275
  gluconeogénesis y, 300–302, 306–309, 307f, 308f
  glucosa 6-fosfato en, 273f, 274–275, 275
  hexoquinasa en, 272–274, 274f
    en el hígado, 290
    en el músculo, 288
  metabolismo de la glucosa en, 293–294, 294f
  NAD regeneración del NAD en, 279–283
  oxidación de aldehídos en, 276–277, 277f
  piruvato quinasa en
    en el hígado, 290–291, 290f
    en el músculo, 288, 289f
  reacciones de, 278–279, 280t–281t
  regulación de, carga energética en, 306–307, 307f
  ruta de conversión de energía en, 272–279
  ruta de las pentosas fosfato y, 456–458
  transaldolasa en, 452–455, 454, 456t
  transcetolasa en, 452–455, 454, 456t
  transportadores de glucosa en, 291, 293t
  triosa fosfato isomerasa en, 275
Glucólisis aeróbica, 292–293, 325
Gluconeogénesis, 299–311
  aspecto clínico en, 309–310
  carboxibiotina en, 303–304, 303f
  ciclo del sustrato en, 309–310, 309f
  en el ciclo de la urea, 528, 528f
  en el hígado, 300, 307–308, 307f
  en el riñón, 300
  en la contracción muscular, 310, 310f
  en la diabetes mellitus, 309
  estequiometría de, 305–306
  fosfoenolpiruvato en, 302–304
  fructosa 1,6-bisfosfato en, 301f, 304–305, 306
  fructosa 6-fosfato en, 301f, 304, 305
  glucólisis y, 300–301, 306–309, 307f, 308f
  glucosa 6-fosfato en, 301f, 305, 305f
  lugares de, 300
  ortofosfato en, 304–305
  oxalacetato en, 302–303, 304, 304f
  regulación de, carga energética en, 306–309, 307f
  ruta para, 300–306, 301f
Glucoquinasa, 290
Glucosa, 7
  almacenada en forma de glucógeno, 165, 440
  como monosacárido, 158
  conversión a piruvato, 279, 280t–281t
  degradación de, fatiga y, 432, 433f
  en el almidón, 165
  estructura de, 159, 159f, **285**
  forma activada de, 438. *Ver también* UDP-glucosa
  ion cúprico y, 161
  isómeros de, 161
  libre, generación de, 305, 305f
  metabolismo de, 248, 248f
    en la glucólisis, 293–294, 294f
    insulina en, 226–228, 227f, 293–294, 475
    proteínas en, 293t
  oxidación de, rendimiento de ATP de, 376–377, 377t
  requerimiento diario de, 299–300

Glucosa (*continuación*)
síntesis de
a partir de ácidos grasos, 475
a partir de piruvato, 305–306
a partir de precursores no carbohidratos, 300–306. *Ver también* Gluconeogénesis
tests para, 161–162
Glucosa en sangre
en el metabolismo del glucógeno en el hígado, 443–444, 444f
en la glucólisis y en la gluconeogénesis, 307–308, 308f
Glucosa 6-fosfatasa, 426–427
Glucosa 1-fosfato
conversión en glucosa 6-fosfato, 426, 426f
en la degradación del glucógeno, 424–425
estructura de, **438**
Glucosa 6-fosfato
en el hígado, 426–427
en la glucólisis, 273f, 274–275
en la gluconeogénesis, 301f, 305, 305f
en la ruta de las pentosas fosfato, 452, 453f, 454f, 456–458
estructura de, **274**
Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PD)
en la ruta de las pentosas fosfato, 452, 454f
estrés oxidativo y, 458
insuficiencia de, 459–460
insuficiencia de, ventaja evolutiva de, 460, 460f
Glucosamina, 169, 169f, 170
α-Glucosidasa, 241
en la degradación del glucógeno, 425–426, 425f
Glucosinolatos, 163
Glutamato, **544**
en el transporte del nitrógeno, 525–526
en la degradación de aminoácidos, 524, 532, 532f
en la fijación del nitrógeno, 543–544
en la síntesis de aminoácidos, 543–544, 544f
estructura de, 41, 41f, 41t
síntesis de, 525–526, 532, 532f, 533f, 543–544
Glutamato deshidrogenasa, 543
en la degradación de aminoácidos, 525
en la fijación del nitrógeno, 543
Glutamato monosódico (MSG), 41
Glutamina, **544**
degradación de, 532f, 533, 533f
en la fijación del nitrógeno, 543–544, 544f
en la síntesis de
aminoácidos, 543–544, 544f
purina, 560
estructura de, 39f, 40
síntesis de, 526, 543–544
Glutamina fosforribosil amidotransferasa, 560, 566
Glutamina sintetasa, 543, 550–551
en la degradación de aminoácidos, 526
Glutaminasa, 533
Glutatión
en la ruta de las pentosas fosfato, 458
estructura de, **459**
Glutatión peroxidasa, 459
Glutatión reductasa, 459
GLUTs. *Ver* Transportador(es), de glucosa (GLUT)
GMP (guanosina monofosfato), síntesis de, 560, 562f, 566
GMP sintetasa, 560
Gota, 117, 117f, 555f, 568–569
Gradiente de concentración, 203
Gradiente de protones
en la fosforilación oxidativa, 353–354
en la fotosíntesis, 395–400, 395f–400f, 400t
en la síntesis de ATP, 368–373, 368f–373, 400–403, 401f, 403f
formación de, 359–360
transmisión de energía mediante, 381, 381f
Gránulos de
secreción, 13
zimógeno, 13
Granum, 390
Grasa
corporal, 183–184, 184f
parda, 378, 379
Grasas. *Ver también* Ácido(s) graso(s); Lípido(s); Lipoproteína(s); Triacilgliceroles
conversión en carbohidratos, 340–342, 341f
Grb-2, en la transducción de señales, 225, 225f
Gripe, 173–174, 174f
Gripe aviar, 173–174
Grupo guanidinio, 40, 40f
Grupo imidazol, de la histidina, 40, 40f
Grupos funcionales, 24–26, 25t
amino, 25t
carboxilo, 25t
de los aldehídos, 25t
fosfato, 25t
hidrofóbicos, 25t
hidroxilo, 25t, 39–40, 39f
sulfhidrilo, 25t, 39f, 40
Grupos polares de la cabeza, de los lípidos de membrana, 188, 188f
Grupos R, 36, 36f, 37–41, 38f–41f
Grupos sanguíneos, 171–172, 171f
GTP (guanosina trifosfato)
en la replicación, 599
en la síntesis de
adenilato, 560, 566
ATP, 560, 566
en la traducción, 693–694, 695f, 701
en la transducción de señales, 218, 220, 220f
en la translocación de proteínas, 701
GTPasa, transducción de señales, 220, 220f, 226, 226t
Guanilato, síntesis de, 563, 566
Guanina, 6. *Ver también* Bases/pares de bases
degradación de, 567f
estructura de, **583**
oxidación de, 615, 615f
Guanosina, en el RNA, 579
Guanosina difosfato (GDP), en la transducción de señales, 218
Guanosina monofosfato (GMP), síntesis de, 560, 562f, 566
Guanosina trifosfato. *Ver* GTP
Gusto, 41

Hebra conductora, en la replicación, 605, 605f, 606–607, 606f
Hebra retardada, en la replicación, 605, 605f, 606–607, 606f
Hebra rica en G, 609, 609f, 610f
Hebras β, 51–54
en proteínas de membrana, 200
Helicasas, en la replicación, 600–602, 602f
Hélice
de la celulosa, 166
del colágeno, 54, 54f
doble. *Ver* Doble hélice
Hélice α, **50,** 50–51, **51,** 54f
aminoácidos en la, 51
de la hemoglobina, 145, 145f
de la mioglobina, 56
de la α-queratina, 53–54, 54f
de las proteínas que se unen al DNA, 57
que atraviesa la membrana, 199f, 200, 200f
Helicoide enrollado α, 53, 54f
Hemaglutinina, 173–174
Hemiacetales, 159, 160f
Hemiacetales intramoleculares, 159, 160f
Hemicetales, 160
Hemo, 55, 56f, 143, **143**
en la citocromo *c* oxidasa, 360
hierro en, 143, 143f
Hemofilia, 667t
Hemoglobina, 142–150
a altitudes elevadas, 147
adaptación de, 146–147
afinidad hacia el oxígeno de, 146–147, 146f
dióxido de carbono y, 149–150, 149f, 150f
pH y, 149–150, 149f
como enzima honoraria, 141
dióxido de carbono y, 149–150, 150f
efecto Bohr y, 149
en la anemia falciforme, 147–148, 147f, 148f
estructura de, 57–58, **58,** 58f, **144,** 144–145, 144f
cuaternaria, 145, 145f
fetal, 146–147, 147f
glucosilada, 161–162
ion hierro en, 143, 143f
liberación de oxígeno por, 142, 149–150
lugares de unión en, 142, 142f, 143–144
pH y, 149–150, 149f
propiedades alostéricas de, 142–151
puentes de hidrógeno y, 149–150, 149f, 150f
S, 148, 148f
subunidades de, 144–145, 144f
tetrámero $\alpha_2\beta_2$ de, 58, 58f
transición del estado T al R en, 145, 145f
unión al oxígeno de, 142–148, 145f, 146f
cooperativa, 141–142, 142f, 145, 145f

Heparina, 169, 169f
Heptosas, 158
Herbicidas, mecanismo de acción de, 403
Herrick, James, 147
Heterótrofos, 388
Hexoquinasa
de levadura, estudios por cristalografía de rayos X de, 272, 274f
en la glucólisis, 272–274, 274f
en el hígado, 190
en el músculo, 288
Hexosas, 158
Hexosas fosfato, 409–411, 409f
Hialuronano, 169, 170f
Hialuronato, 169, 169f
Hibernación, 529–530
Hidratación, estabilización del ATP debida a, 253
Hidrocarburos, 4–5
en los ácidos grasos, 180, 180f
Hidrógeno, 4, 4t
Hidrolasas, 95
Hidrólisis
de compuestos fosforilados, energía libre de, 253–254, 254t
de enlaces peptídicos, 94, 94f
del ATP, 250–254, 253f
peptídica, 135–138, 137f
L-3-Hidroxiacil-CoA deshidratasa, 484t, 485
L-3-Hidroxiacil-CoA deshidrogenasa, 469f, 470, 470t
3-Hidroxibutirato, 474, **474,** 474f. *Ver también* Cuerpos cetónicos
3-Hidroxibutiril-ACP, 484t, 485, 485f
Hidroxietil-TPP, en la síntesis de aminoácidos, 550
p-Hidroxifenilpiruvato, 535, 535f
3-Hidroxi-3-metilglutaril-CoA, 534
Hidroxiprolina, en el colágeno, 55
Hierro, en la cadena transportadora de electrones, 355–356, 355f
Hígado
almacenamiento de glucógeno en, 424
degradación de aminoácidos en, 525–526
graso, 491
glucólisis en, 307–308
regulación de, 288–290, 290f
gluconeogénesis en, 300, 307–308, 307f
glucosa 6-fosfatasa en, 426–427
glucosa 6-fosfato en, 426
metabolismo del glucógeno en, 443–444, 444f
síntesis de colesterol en, 503
Hiperamonemia, 529
Hipercolesterolemia, 14, 510–511
Hipercolesterolemia familiar, 14, 510–511
Hiperglucemia, 309
Hiperhomocisteinemia, 548–549
Hiperlisinemia, 536t
Hiperuricemia, en la gota, 117, 117f, 555f, 568–569
Hipolactasia, 285–286, 285f
Hipótesis quimiosmótica, 368–369, 369f
Hipoxantina
degradación de, 567f
síntesis de, 615, 615f
Hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (HGPRT), 563
Hipoxia, crecimiento tumoral y, 293
Histamina, 555, **556**
Histidina
como catalizador ácido-base, 41
conversión en glutamato, 531f, 532, 532f
distal, 143
en la activación de la quimotripsina, 136
estructura de, 40, 40f, 41, 41t
proximal, 143
Histona(s)
acetilación de, 654–656, 654f, 656t
en el nucleosoma, 590–591, 591f
fosforilación de, 656t
metilación de, 656t
Histona acetiltransferasas (HAT), 654–656
Histona desacetilasa, 656
HMG CoA, **474**
HMG-CoA reductasa, en la síntesis de colesterol, 504, 506–507
Hoja plegada β, 50, 51–54, 51f–53f
Holoenzima de la DNA polimerasa, 607, 607f
Holoenzimas, 94, 631
Homeostasis calórica, 243–244
Homeostasis energética, 243–244
Homocisteína
en la enfermedad cardiovascular, 548–549
síntesis de, 548, 548f
Homocisteína metiltransferasa, 548
Homocistinuria, 536t
Homogenado(s), 69
de hígado de mamíferos, 620
Homogentisato, 535, 535f
Homopolímeros, 165
Hormona(s). *Ver también hormonas específicas*
del crecimiento, superproducción de, 223
dominio de unión
al DNA en, 651–652, 652f
al ligando en, 652, 652f
eicosanoides, 488–489, 488f
en la digestión, 238–240, 239f
en la transcripción, 651–653
en las relaciones metabólicas, 264
esteroideas, 180, **186,** 186–187, **187,** 513f
anabólicas, 513, 514–515, 515f, 653
cardiotónicas, 204
en la señalización, 512–513
estrógeno como, 651–653
funciones de, 512–513
hidroxilación de, 515
receptores para, 652–653
síntesis de, 512–515
tipos de, 512–513
locales, 488f, 489
sexuales, 512–513. *Ver también* Hormona(s) esteroideas
Horquilla de replicación, 605, 605f, 606–607, 606f, 621, 621f
Horquilla de RNA, 635, 635f
Huntingtina, 614

Ibuprofeno, inhibición competitiva mediante, 129
Ictiosis arlequín, 205
Impulsos nerviosos, 206
Inclusiones, en la enfermedad de las células I, 172
Incremento de la energía libre estándar, 97–98. *Ver también* Energía libre
Indol, **197**
permeabilidad de la membrana al, 197–198, 197f
Inductor *lac*, 639
Inhibición
basada en el mecanismo, 132, 134
competitiva, 128–129, 128f–130f
incompetitiva, 128f, 129, 129f, 130, 130f
no competitiva, 128f, 129, 130, 130f
Inhibidores
COX, 201
de la ácido graso sintasa, 487
de la ciclooxigenasa, 201
de la HMG-CoA reductasa, 511
de la proteína quinasa, en el tratamiento contra el cáncer, 230
suicida, 132
en la gota, 568
fluorouracilo como, 564
penicilina como, 134
Inmunodeficiencia combinada grave (SCID), 568, 667t
Inmunoglobulinas. *Ver* Anticuerpos
Inmunoprecipitación, 81, 82f
Inmunotransferencia, 82–83, 83f
Inosina, 679
degradación de, 567f
en anticodones, 679
estructura de, **678**
Inosinato, 560, 561f, 562f, 566
Inositol, en la transducción de señales, 216, 222–223, 222f
Inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3), **216**
Insuficiencia cardiaca congestiva, digital para, 204
Insulina
en el metabolismo de la glucosa, 226–228, 227f, 293–294, 475
los ácidos grasos, 475, 490
en la diabetes mellitus, 309, 445, 475
en la homeostasis calórica, 244
en la síntesis del glucógeno, 443, 443f
en la transducción de señales, 224, 226–228, 227f, 228f, 273
estructura de, 227, **227**
liberación regulada por ATP de, 294f
secuencia de aminoácidos de, 47
Intensificadores
en el cáncer, 650
transcripcionales, 649–650
Interacciones alostéricas, en la regulación de la fosforilasa, 427–430, 428f, 429f

Interacciones de Van der Waals, 21, 21f, 24, 56
en la bicapa lipídica, 196
en la doble hélice, 583
en la unión enzima–sustrato, 100
Interacciones débiles, 17, 20–22, 56. *Ver también* Enlaces
electrostáticas, 20, 20f, 100
en la bicapa lipídica, 196
en la doble hélice, 22, 583
en la unión enzima-sustrato, 100
interacciones de Van der Waals, 21, 21f, 24, 56, 100. *Ver también* Interacciones de Van der Waals
puentes de hidrógeno. *Ver* Puentes de hidrógeno
Interacciones electrostáticas, 20, 20f. *Ver también* Enlaces
en la unión enzima-sustrato, 20f
Intercambiadores. *Ver* Bombas de iones
Intermediario acil-enzima, en la hidrólisis de péptidos, 135, 135f
Intermediarios
enzimáticos sustituidos, 111f, 112
tetraédricos, 137
Intolerancia a la lactosa, 285–286, 285f
Intrones, 662, 664
escisión de. *Ver* Maduración
grupo I, 669
Invasión de la hebra, en la recombinación del DNA, 622f
Ion(es). *Ver también tipos específicos*
dipolares, 36, 36f
metálicos, en la catálisis, 126
Ion amonio, como base conjugada, 28f
Ion(es) calcio
en la activación de la fosforilasa quinasa, 429
en la transducción de señales, 222–223, 223f, 228–229, 229f
Ion cúprico, glucosa y, 161
Ion(es) hidrógeno
cambios impulsados por la luz en, 414–415, 414f
en la regulación de la hemoglobina, 149–150
Ion hierro, en el hemo, 143, 143f
Iones magnesio, cambios impulsados por la luz en, 414, 414f
Ionización
de ácidos, 27–28
por el agua, 26–27
IP_3, **216**
en la transducción de señales, 216, 222–223, 222f
Isocitrato, en el ciclo del ácido cítrico, 332, 332f
Isocitrato deshidrogenasa, en el ciclo del ácido cítrico, 332, 338
Isocitrato liasa, en el ciclo del glioxilato, 341, 341f
Isoelectroenfoque, 73, 73f
Isoenzimas, 429
Isoleucina
conversión en succinil-CoA, 533, 533f
degradación de, 533
estructura de, 37, 38f
síntesis de, 550–551, 550f
Isomerasas, 95
Isómero(s)
carbohidrato, 158–159
constitucionales, 158
topológicos, 589
Isómero D, de un aminoácido, 36, 36f
Isómero L, de un aminoácido, 36, 36f
Isómeros constitucionales, 158, 158f
3-Isopentenilpirofosfato, en la síntesis de colesterol, 504, **504**, 505f
Isovaleril-CoA, 533
Isozimas, 429

Jabones, ácidos grasos en, 183, 183f
JAK2, 224, 224f
Julio (J), 97

k_{cat}/K_M, 108f, 110–111
Kilocaloría (kcal), 20, 97
Kilojulio (kJ), 20, 97
K_M (Constante de Michaelis), 108–111, 108f, 109f
Knockout/knock in, 622, 623f
Köhler, Georges, 80
Koshland, Daniel E., Jr., 101, 116
Kwashiorkor, 42

Lactasa, 164
Lactato
en la gluconeogénesis, 300, 301f, 310
formación de, 281–282
Lactato deshidrogenasa, 281
Lactonasa, 452
Lactosa, 164, **164**
estructura de, **285**
metabolismo de, 638, 638f
Lagartos, efectos de la temperatura sobre, 127
Lamelas del estroma, del cloroplasto, 390, 391f
Lamina, en la progeria, 189
Lanosterol, en la síntesis de colesterol, 505, 507f
Lanzadera de glicerol 3-fosfato, 374, 374f
Lanzadera malato-aspartato, 374–375, 374f
Lavoisier, Antoine, 541
Leche, intolerancia a, 285–286, 285f
Lectinas, 172–174
Leghemoglobina, 542
Leptina, 244
Lesiones por radicales libres, estados patológicos debidos a, 363t
Leucemia mielógena crónica, 230, 230f. *Ver también* Cáncer
Leucina
degradación de, 530–531, 533
estructura de, 37, 38f
síntesis de, 550–551, 550f
Leu-encefalina, 46f
Ley de Coulomb, 20
Liasas, 95
Ligasas, 95
Líneas celulares de mieloma, 80
Linfotactina, 61, **61**
Linoleato, 472, 472f
Linoleil-CoA, oxidación de, 472f
Lipasas pancreáticas, acción de, 241–242, 241f
Lípido(s), 6, 7f, 179–190. *Ver también* Grasas
ácidos grasos, 179–184. *Ver también* Ácido(s) graso(s)
almacenamiento, 497–503
cabezas hidrofílicas de, 6, 7f, 23–24, 187–188, 196, 196f
clases de, 179–180
colas hidrofóbicas de, 6, 7f, 23–24, 187–188, 196, 196f
de reserva, síntesis de, 497–503
definición de, 179
digestión de, 241–242, 241f, 242f
esteroides, 180. *Ver también* Hormona(s) esteroideas
estructura de, 6, 7f
fosfolípidos, 179. *también* Fosfolípidos
funciones de, 179, 463
glicolípidos, 180
membrana. *Ver* Lípidos de membrana
propiedades de, 6
resumen de, 155–156, 463
síntesis de, 497–503
síntesis de, ácido fosfatídico fosfatasa en, 502–503
síntesis de, fosfatidato en, 497–503
triacilgliceroles, 179, 183–184. *Ver también* Triacilgliceroles
Lípido fosfatasas, en la señalización de la insulina, 228
Lípidos de membrana, 24, 187–188, 188f, 195. *Ver también* Lípido(s); Proteínas de membrana
anfipaticidad de, 187
cabezas hidrofílicas de, 6, 7f, 23–24, 187–188, 196, 196f
colas hidrofóbicas de, 6, 7f, 23–24, 187–188, 196, 196f
colesterol, 187, **187**
concentración de, 199
difusión de, 201–202, 202f
en arqueobacterias, 187, 187f
en extremófilos, 187
en la bicapa lipídica. *Ver* Bicapa lipídica
flip-flop de, 202, 202f
fluidez de, 196, 198–199, 198f
fosfolípidos, 184–185
glicolípidos, 186
grupos de la cabeza polar, 188, 188f
hidrofílicos, 187–188
hidrofóbicos, 187–188
notación para, 188
representación abreviada de, 188f
tipos de, 184
unión de proteínas a, 188–189, 188f
Lipina 1, 502–503, 502f
Lipoamida, en el ciclo del ácido cítrico, 321–323, 321f, 322f

Lipolisis, 466–467, 466f, 467f. *Ver también* Metabolismo de los ácidos grasos, degradativo
Lipoproteína(s)
clasificación de, 508–509, 508t
de alta densidad, 508t, 509, 512
de baja densidad, 508–512, 508t, 509f, 510f
en el metabolismo del colesterol, 509–510
en la hipercolesterolemia, 509, 510–511
endocitosis mediada por receptor de, 509–510, 509f, 510f
de densidad intermedia, 508, 508t
de muy baja densidad, 508, 508t
funciones de transporte de, 508–512
quilomicrones, 508, 508t
Liposomas, 197, 197f
Lisina
acetilación de, 654–655
degradación de, 530–531
estructura de, 40, 40f, 41, 41t
síntesis de, 550
Lisofosfatidato, 497, 498f
Lisosomas, 13–14, 14f, 172, 510
Lisozima, **100**
centro activo de, 100, 100f
Litio, mecanismo de acción de, 222–223
Locus OriC, 604
Lovastatina, 511, **511,** 511f
Lugar, 10, 632, 632f
Lugar A, ribosómico, 690, 690f
Lugar AP, 618
Lugar E, ribosómico, 690, 690f
Lugar P, ribosómico, 690, 690f
Lumen de los tilacoides, 390
Luz del sol, daños en el DNA causados por, 616

Maduración, 663–670
acoplada a la transcripción, 667–668, 668f
alternativa, 667, 667f, 667t
automaduración, 669–670, 669f
de genes. *Ver* Maduración
definición de, 664
dominio carboxilo terminal en, 667–668
errores en, 665, 666
etileno en, 548
helicasas en, 666
hidrólisis del ATP en, 666
intrones en, 662, 664
lugares de, 664–665
mutaciones y, 666–667
transesterificación en, 666, 666f
Malaria
anemia falciforme y, 148
protección contra, 460
Malato, en el ciclo de Calvin, 416–417
Malato deshidrogenasa, 335
Malato sintasa, en el ciclo del glioxilato, 341
Malnutrición, kwashiorkor en, 42
Malonato, **337**
Malonil-ACP, 484t, 485, 485f
Malonil-CoA, **484**
en el metabolismo de los ácidos grasos, 483–484, 486, 489–490
Maloniltransacilasa, 484, 484t
Maltasa, 164, 241
Maltosa, 163, 163f, 164
Mano EF, 229, 229f
Manosa, 159, 159f
Manosa 6-fosfato, 172, 172f
Marcadores de afinidad, en la inhibición enzimática, 131, 132f
Masa
de una proteína, 47
unidades de, 47
Mecanismo de cambio de unión, para la ATP sintasa, 370–371, 370f
Mediador, 650, 650f
Medicina forense, reacción en cadena de la polimerasa en, 722, 722f
Membrana(s), 8–14
asimetría de, 196, 202
celular, 8–14
de arqueobacterias, 187, 187f
fluidez de, 196, 198–199, 198f
formación de, 197
láminas bimoleculares en, 196. *Ver también* Bicapa lipídica
lípido. *Ver* Bicapa lipídica
mitocondriales. *Ver* Membranas mitocondriales
permeabilidad de, 193–194, 197–198, 197f
plasmática, 10, 10f, 11f
permeabilidad selectiva de, 10
polarización de, 196
propiedades de, 195–196
tilacoides, 390
unión de proteínas a, 188–189, 188f
Membranas mitocondriales
doble, 350–351, 350f
movimientos a través de, 373–376
glicerol 3-fosfato, 374, 374f
intercambio ADP-ATP en, 375, 375f
malato-aspartato, 374–375, 374f
transportadores en, 376, 376f
Mensajeros primarios, 216
Menten, Maud, 107
β-Mercaptoetanol, en la ruptura de puentes disulfuro, 58, 58f
Metabolismo, 247–265
ácido de las crasuláceas, 418, 418f
aspectos clínicos en, 254–255, 255f, 260–261
biomoléculas en, 238
de los ácidos grasos, Ver Metabolismo de los ácidos grasos
enzimas alostéricas en, 112–117
errores congénitos de, 536–537
intermediario, 248–249
lipídico. Ver Metabolismo lipídico
motivos recurrentes en, 257–263
multiplicidad enzimática en, 550, 550f
paso comprometido en, 549
reacciones de oxidación-reducción en, 255–256, 256f, 257f
reacciones interconectadas en, 248–250, 248f
reacciones que producen energía en, 249
reacciones que requieren energía en, 249
regulación de, 263–265
accesibilidad del sustrato en, 264–265
actividad catalítica en, 264–265, 264f
control enzimático en, 263–265
insulina en, 226–228, 227f, 228f, 273
retroinhibición en, 113–114, 550–551
termodinámica de, 249–250
transportadores activados en
características adicionales de, 261
diseño modular y economía de, 257–260
transportadores de electrones activados en
características adicionales de, 261t
derivados de vitaminas, 261–263, 262f, 262t
diseño modular y economía de, 307f, 308f
Metabolismo de los ácidos grasos
aciladenilato en, 468, 468f
coenzima A en, 467–468
cuerpos cetónicos en, 473–474, 474f
degradativo, 463, 466–477
de ácidos grasos de cadena impar, 472f, 473
de ácidos grasos insaturados, 471–472, 471f
etapas de, 466–471, 466f
hidratación en, 469–470, 469f, 470t
lipasas en, 466–467
oxidación en, 468f, 469–471, 469f, 470t
regulación de, 489–491, 489f, 490f
ruta de la β-oxidación en, 469, 469f, 470t
tiolisis en, 473, 473f
en el ayuno, 476, 476f, 476t, 477t
en la diabetes mellitus, 475, 475f
etanol y, 491–492
glicerol en, 466–467, 466f, 467f
lipasas en, 466–467, 466f
pirofosfatos en, 467–468
regulación de, 489–491, 489f, 490f
síntesis en, 481–493
complejos multienzimáticos en, 486–487, 486f
condensación en, 484t, 485, 485f
de ácidos grasos insaturados, 488
deshidratación en, 484t, 485, 485f
elongación en, 484–486, 484t, 485f, 488
en animales, 486–487, 486f
en bacterias, 482–486, 484t
fuentes de NADPH en, 483, 483f, 486
reacciones en, 484–486, 484t, 486f
reducción en, 484t, 485–486, 485f
regulación de, 489–491, 489f, 490f
rutas metabólicas coordinadas en, 483, 483f
transportadores de citrato en, 482, 482f
Metabolismo lipídico, 497–517
defectuoso
en el síndrome del distrés respiratorio, 501
en la enfermedad de Tay-Sachs, 501–502, 502f
Metabolón, 337

Metales, como cofactores enzimáticos, 95, 96t
Metandrostenolona, **515**
Methanococcus jannaschii, lípidos de membrana en, 187
Metilación
en la síntesis de aminoácidos, 547–548, 548f
histona, 656t
5-Metilcitidina, **679**
5-Metilcitosina, desaminación de, 618, 618f
Metilcobalamina, 548
β-Metilcrotonil-CoA, 534
Metilentetrahidrofolato, **547,** 564
β-Metilglutaconil-CoA, 534
Metilmalonil-CoA, 473, **473**
en la degradación de aminoácidos, 533, 533f
Metionina
conversión en succinil-CoA, 533, 533f
degradación de, 536, 536f
en el ciclo de los metilos activados, 548, 548f
en la iniciación de la traducción, 690–691
en la síntesis de *S*-adenosilmetionina, 547–548, 548f
estructura de, 37, 38f, **548**
síntesis de, 548, 548f, 550
Metionina sintetasa, 548
Método(s)
de los extremos cohesivos, 714, 714f
de purificación. *Ver* Purificación de proteínas
del triéster de fosfito, 711, 711f
didesoxi, 717–719, 718f, 719f
de Sanger, 717–719, 718f, 719f
in singulo, 117–118, 118f
Metotrexato, **564,** 564–565
Mevalonato, **511**
en la síntesis de colesterol, 503–504
Micelas, 242, 242f
Michaelis, Leonor, 107
Microfilamentos, 11, 11f
Micromatrices, DNA, 723, 723f
Microorganismos diazotróficos, 542
MicroRNA (miRNA), 704, 704f
MicroRNP, 704
Microtúbulos, 11, 11f
Microvellosidades, 165f
Microvellosidades intestinales, 165f
Mieloma múltiple, líneas celulares derivadas de, 80
Milstein, César, 80
Mineralocorticoides, 513. *Ver también* Hormona(s) esteroideas
Miogenina, 622
Mioglobina, 55–57, 142–143
estructura de, 55–56, **56,** 56f, **142,** 142–143
lugares de unión en, 143–144, 143f
unión de oxígeno a, 55, 142–144
miRNA (microRNA), 704
Mitocondrias, 11–12, 11f, 318f
ATP sintasa en, 368–373, 368f–373f
ciclo del ácido cítrico y, 318
de la grasa parda, 378
entrada del NADH a, 373–375, 374f, 375f
intercambio ADP-ATP en, 375, 375f
matriz de, 350–351, 350f
mutaciones de, 381
origen endosimbiótico de, 351–352
Modelo
concertado (MWC), 114–116, 116f
para la unión cooperativa, en enzimas alostéricas, 114–116, 116f
para proteínas alostéricas no enzimáticas, 145
de Michaelis–Menten, 107–108, 107f, 108f, 112
del trombón, de la replicación, 607, 607f
llave-cerradura, de la unión enzima-sustrato, 101, 101f
nucleación–condensación, 60
secuencial
para la unión cooperativa
en enzimas alostéricas, 116–117, 117f
en proteínas alostéricas no enzimáticas, 145
Modificación covalente, 134–136
reversible, 264
Moduladores selectivos de los receptores de estrógenos (SERM), 653
Moléculas. *Ver* Biomoléculas
anfipáticas, 23–24, 187
como lípidos de membrana, 187
antena, 394
hidrofóbicas, 19, 23–24, 23f, 24f, 25t
lipofílicas, 202
no polares, 19, 22–24, 23f, 24f, 25t
polares, 19, 19f
Monoacilglicerol, estructura de, **241**
Monocapas, de la bicapa lipídica, 196
Monod, Jacques, 3, 114, 141
Monohidrógeno fosfato, como base conjugada, 28f
Mononucleótido de flavina, 354, 354f, 640–641
Monooxigenasas, en la degradación de aminoácidos, 534
Monosacáridos, 158–163. *Ver también* Carbohidrato(s)
alcoholes y, 162–163
aldosas, 158, 159, 159f
aminas y, 162–163
anómeros, 161
cetosas, 158
definición de, 158
en carbohidratos complejos, 163–166
enlaces glicosídicos de, 162–163
estructura de, 158–163, 158f–162f
forma cíclica de, 159–161, 160f–162f
fosfatos y, 162–163
furanosa, 160, 160f
hemiacetales, 159
hemicetales, 160
hexosas, 158
isómeros de, 158–159, 158f
modificados, 162–163, 162f
pentosas, 158
piranosa, 159, 160f
tests para, 161–162
transporte de, 241
Motivo hélice-bucle-hélice
en el DNA, 588, 588f
en la mano EF, 229, 229f
Motivos, 57, 57f
Motivos proteicos, 57, 57f
Motor de remodelación de la cromatina, 655
Movimiento browniano, 18, 20, 126
Movimiento térmico, 18
mRNA. *Ver* RNA mensajero (mRNA)
para el receptor de la transferrina, 703, 703f
MSG (glutamato monosódico), 41
Mucinas, 167, 170–171, 171f
Mucolipidosis II, 172
Mucopolisacaridosis, 169, 169f
Mucoproteínas, 167, 170–171, 171f
Multirresistencia, 204
Músculo
almacenamiento de glucógeno en, 424
contracción de, gluconeogénesis en, 310, 310f
degradación de aminoácidos en, 525–526
esteroides anabólicos y, 514–515, 514f
glucólisis en, 287–288, 287f, 289f, 432
testosterona y, 514–515
Mutación C→T, reparación de, 618
Mutaciones
código genético degenerado y, 676
en el cáncer, 229–230, 619–620
maduración y, 666–667
mitocondriales, 381
reparación de. *Ver* Reparación del DNA
Mutágenos, 615
pares de bases mal emparejadas como, 614
NAD (dinucleótido de nicotinamida y adenina), 257–258, 258f
regeneración de, en la glucólisis, 279–283
unidad nicotinamida de, **556**
síntesis de, 556
NADH (dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido), 259
en la cadena respiratoria, 357–358, 358f
en la fosforilación oxidativa, 355
potencial de transferencia de electrones de, 352–353, 352f, 353t
reacciones de oxidación-reducción y, 354f–356f
gradiente de protones en, 353–354
en la oxidación de los ácidos grasos, 469
entrada en las mitocondrias, 373–376, 374f
etanol y, 491–492
oxidación de, fermentación en, 279–283, 280f
síntesis de, 469, 469f, 470t
a partir de cuerpos cetónicos, 473–474
NADH-Q oxidorreductasa (Complejo I), en la cadena respiratoria, 357–358, 358f, 358t
NADP. *Ver* Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NADPH. *Ver* Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido
Neuraminidasa, 173, 174f
Neuropatía óptica hereditaria de Leber, 381

Niacina (vitamina B_3), 262t, 279, A8–A9
Nicotinamida, **556**
Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP)
  en la fotosíntesis, 395, 396, 396f, 397f, 400, 400f
  en la ruta de las pentosas fosfato, 456
  estructura de, **396**
Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido (NADPH)
  en el ciclo de Calvin, 412
  en la síntesis de ácidos grasos, 483, 483f, 486
  en la ruta de las pentosas fosfato, 452–454, 456–458
  en la fotosíntesis, 395, 396, 397f
  síntesis de, 483, 483f, 486
Nitrógeno
  en la degradación de aminoácidos, 524–526
  en la síntesis de aminoácidos, 541–544, 542f, 543f
  excreción de
    durante la hibernación, 529–530
    en forma de urea, 526–530
    en organismos amoniotélicos, 530
    en organismos ureotélicos, 526, 530
  funciones de, 521
  reducción a amoniaco, 542, 542f. *Ver también* Amoniaco/ion amonio
  transporte de, 525–526, 526f
Nucleasa de *Staphylococcus*, velocidad de reacción y, 94t
Núcleo
  de la célula, 9f, 11, 11f
  de la enzima, 631
  del elemento promotor situado corriente abajo, 648
Núcleo $\alpha_2\beta\beta'$, en la RNA polimerasa, 631
Nucleósido(s)
  definición de, 579
  en el DNA, 579
  estructura de, 557
  nomenclatura para, 557t
  nucleótidos y, 579–580
Nucleósido difosfato quinasa, en la síntesis de pirimidina, 559
Nucleósido difosfoquinasa, 440
Nucleósido fosforilasas, 567
Nucleósido monofosfato, en la síntesis de pirimidina, 559
Nucleósido monofosfato quinasas, en la síntesis de pirimidina, 559
Nucleósido trifosfatos, en la síntesis de pirimidina, 559
Nucleosomas, 589–591, 590f, 591f, 655
Nucleotidasas, 567
Nucleótido(s), 6. *Ver también* Bases/pares de bases; Desoxirribonucleótidos; DNA; Ribonucleótido(s); RNA
  5′, 580
  degradación de, 567, 567f
  en codones, 677–680, 677t
  en RNA, 592, 593f
  estructura de, 6, 6f, 557
  nomenclatura para, 557t, 579–580, 580
  piridina, 257
  pirimidina, 557, 558f, 579, 579f. *Ver también* Pirimidina(s)
  purina, 556, 560–563, 566, 579. *Ver también* Purina(s)
  síntesis de, 555–571
    complejos multienzimáticos en, 560–562
    desoxirribonucleótidos, 563–567
    pirimidina, 556, 557–559, 558f, 565
    purina, 556, 560–563, 560f–563f, 566
    regulación de, 565–566
    resumen de, 556–557
    retroinhibición en, 565–566, 566f, 567f
    ribonucleótido, 556–563
    rutas de novo en, 556–562, 557f
    rutas de recuperación en, 556, 557f, 559–563
    trastornos de, 567–570, 568–570
  transformación en aminoácidos. *Ver* Traducción
  unión para aumentar la energía, 164
Nucleótidos de piridina, 257
Nucleótidos trifosfato, 580
Número variable de repeticiones en tándem (VNTR), 170–171
Números de recambio, 110, 110t

Obesidad, homeostasis calórica y, 243–244
Obtención de imágenes
  mediante resonancia magnética funcional, 144, 144f
  por resonancia magnética, funcional, 144, 144f
Octámeros de histona, 590
Oligopéptidos, 47. *Ver también* Péptido(s)
Oligosacáridos, 163–166
  definición de, 163
  disacáridos, 164, 164f, 165f
  en glicoproteínas, 167–172
  formación de, 163–164, 164f
  O-unidos, 167, 167f
  polisacáridos, 165–166
  N-unidos, 167, 167f
OMP descarboxilasa, velocidad de reacción y, 94t
Oncogenes, 229–230
Operador, *lac*, 638
Operón, definición de, 638
Operón *lac*, 638–639
Organismos
  amoniotélicos, 530
  biológicos, uniformidad bioquímica de, 3–4
  fotosintéticos, 400, 400t
  ureotélicos, 526, 530
Orgánulos, 11–14, 11f–14f
  defectuosos, enfermedades causadas por, 14
Origen de la replicación, 604, 604f
Ornitina, en el ciclo de la urea, 527, 527f, 528
Ornitina transcarbamilasa, 527, 527f
Orotato, 558, 558f
Orotidilato, 558, 558f
Orotidilato descarboxilasa, 558, 558f
Ortofosfato, estructuras resonantes de, 253, 253f
Osteoartritis, 169–170
Osteomalacia, 514
Oxalacetato
  en el ciclo
    de Calvin, 416
    del ácido cítrico, 330–331, 333–337, 475
  en la degradación de aminoácidos, 532
  en la gluconeogénesis, 302–303, 304, 304f
  en la síntesis de aspartato, 545
  estructura de, **302**
  regeneración de, 333–337, 475
    oxidación del succinato en, 334–335
Oxidación
  daños en el DNA causados por, 615
  de aldehídos, en la glucólisis, 276–277, 277f
  de combustibles carbonados, energía libre en, 255–257, 255f, 256f
  de la glucosa, rendimiento de ATP en, 376–377, 377t
  de los alimentos, 237, 237f
  del agua, 399–400, 399f, 400f
  en el ciclo del ácido cítrico, 320
  en la formación de puentes disulfuro, 47, 47f
  transportadores activados para, 257–259
  transportadores de electrones activados para, 258f
Oxidorreductasas, 94
Oxigenasas
  de función mixta, en la degradación de aminoácidos, 534
  en la degradación de aminoácidos, 534, 535f
Oxígeno, 4t, 5
  fermentación y, 282–283
  fijación del
    carbono y, 542
    nitrógeno y, 542
  presión parcial de, 142
  reducción de, efectos adversos de, 363–364
  tamaño de, 55
  transporte
    mediante hemoglobina de, 142–151. *Ver también* Hemoglobina
    por parte de la mioglobina de, 55–56, 142–144, 142f. *Ver también* Mioglobina
Oxihemoglobina, 145, 145f
Oximioglobina, 142, 143f
Oxoguanina, 615, 615f, 618

P680, 397, 398–399, 400
P700, 396, 396f, 400
Palmitato, 488
  oxidación de, 470–471, 470f
  síntesis de, 483, 486
Palmitil-CoA, 470f, 471, 489
  en la síntesis de esfingolípidos, 500, 500f

Palmitoilcisteína, **188**
Palmitoleato, oxidación de, 471
Palmitoleoil-CoA, 471, 471f
Pantotenato (vitamina B_5), **260,** A8–A9
Papaína, 94
Par conjugado ácido-base, 27, 28, 28f
Paradoja de Levinthal, 59
Paraquat, 403, **403**
Pared celular, de plantas, 10, 10f
Pares de bases de tipo Watson–Crick, 583, 583f
Partícula central del nucleosoma, 590, 590f, 591f
Partícula que reconoce la señal (SRP), 701, 702f
Partículas de ribonucleoproteína pequeñas nucleares (snRNP), 665
Paso comprometido, 549
Pasteur, Louis, 699
Patatas, clorofila en, 395, 395f
Patología molecular, 48. *Ver también* Enfermedades
Pauling, Linus, 50, 51
Pautas de lectura, 692
PDK1, 228
Pectina, 166
Penicilina
  estructura de, 132, 132f
  inhibición enzimática mediante, 131, 131f, 132–134, 132f–134f
Pentosas, 158
Pepsina, en la degradación de las proteínas, 238
Pepsinógeno, 238t, 239
Peptidasa de la señal, 701
Peptidiltransferasa, en la traducción, 693–695, 694f
Péptido(s). *Ver también* Proteína(s)
  composición de aminoácidos de, 47, 47f
  hidrólisis de, 135–138, 137f
  solapamiento, 86, 86f
Peptidoglicano, en *Staphylococcus aureus,* 132–133, 133f
Péptidos que se solapan, 86, 86f
Perilipina, 466
Pertussis, 221
Peso corporal, homeostasis calórica y, 243–244
Pez globo
  tamaño del genoma en, 719
  tetrodotoxina en, 206, 206f
pH, 26–31
  actividad enzimática y, 127–128, 127f
  cociente ácido/base y, 27–28
  de la sangre, 26
  del agua, 26
  gástrico, 238
  hemoglobina y, 149–150, 149f
  tampones y, 28–30
Piedra Rosetta, 675f
PIP_2 (fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato), **222,** 222–223, 222f, 227–228, **228,** 228f
  en la transducción de señales, 222–223, 222f
PIP_3 (fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato), 228, **228,** 228f
Piranosa, 159, 160f, 162
Piridoxal fosfato, 545, **545**
Piridoxamina fosfato, 545, **545**
Piridoxina (vitamina B_6), **262,** 262t, A10–A11
Pirimidina(s), 579, 579f. *Ver también* Nucleótido(s)
  en la síntesis de nucleótidos, 557–559, 558f
  estructura de, 579, 579f
  rutas de recuperación para, 559–562
  síntesis de, 556, 557–559, 558f, 565
piRNA (RNA que interacciona con piwi), 647t
Pirofosfatos, hidrólisis de, 467–468
Piruvato
  carboxilación de, 302–304
  conversión de glucosa en, 279, 280t–281t
  en el ciclo del ácido cítrico, 318–327. *Ver también* Complejo piruvato deshidrogenasa
  en la degradación de aminoácidos, 525–526, 531–532, 531f, 532f
  en la formación de
    etanol, 280, 281f
    lactato, 281–282
  en la gluconeogénesis, 302–304, 303f
  en la síntesis de aminoácidos, 545
  estructura de, **278**
  metabolismo de
    alteración de, 324–326, 326f
    regeneración del NAD en, 279–283
  reacciones de, 280–282, 280f
  síntesis de, 531, 532, 532f
    generación de ATP con, 278–279
  síntesis de acetil-CoA a partir de, 319–321
Piruvato carboxilasa, 302–303
  en el ciclo del ácido cítrico, 339, 339f
Piruvato descarboxilasa, 280
Piruvato deshidrogenasa quinasa, en el cáncer, 340
Piruvato quinasa
  actividad catalítica de, 290f
  en la formación de piruvato, 279
  en la glucólisis
    en el hígado, 290–291, 290f
    en el músculo, 288, 289f
Piruvato-P_i diquinasa, en la ruta C_4, 417
pK_a, 28–29, 28f
Placas
  amiloides, 61, 62f
  en la exploración de bibliotecas de DNA, 716, 716f
Plantas
  almidón en, 7
  C_3, 417, 417f
  C_4, 416–417, 417f
  ciclo del glioxilato en, 340–342, 341f
  cloroplastos en, 11f, 12
  fotosíntesis en. *Ver* Fotosíntesis
  metabolismo ácido de las Crassulaceas en, 418, 418f
  pared celular de, 10, 10f
  reservas de carbohidratos en, 412–413, 413f
  tropicales, ruta C_4 de, 416–417, 416f
  vacuolas de, 10f, 14
Plásmidos vectores, 713–714
Plasmodium falciparum, 460f
Plegamiento de las globinas, 142
Polaridad, de las cadenas polipeptídicas, 46, 46f
Poli(A) polimerasa, 664, 664f
Polienos, 393
Polimerasa α, 608
Polimerasa δ, 608
Polirribosomas, 694
Polisacáridos, 165–166. *Ver también* Carbohidrato(s)
  almidón, 165, **166**
  celulosa, 165–166, **166**
  glicosaminoglicanos, 168–169, 169f, 170f
  glucógeno, 165, **166**
Polisomas, 694
Porfiria, 661f, 667t
Porinas, 200, 200f
  estructura de, 57
  mitocondriales, 351
Potencial de fosforilación, 264
Potencial de reducción. *Ver* Potencial redox
Potencial de transferencia
  de electrones, medida de, 352, 352f, 353t
  de grupos fosforilo
    de la oxidación de aldehídos, 276–277
    del ATP, 252, 256–257
    en la transformación de la energía celular, 253–254, 254t
    generación de succinil-coenzima A y, 333–335
Potencial redox
  de las reacciones, 353t
  medida de, 352–353, 352f
Potenciales de acción, 206
Precipitación por sal, 70, 70f
Pre-mRNA, 661–662
  procesamiento de, 663–668. *Ver también* Maduración
Pre-rRNA, procesamiento de, 662, 662f
Presión parcial, de oxígeno, 142
Pre-tRNA, procesamiento de, 663, 663f
Previtamina D, 513, **514**
Primasa, 604
Primosomas, 604
Procarboxipeptidasa, 238t
Procariotas. *Ver también* Bacterias; *Escherichia coli*
  células de, 9–10, 9f
Procesamiento post-transcripcional. *Ver también* Maduración
  acoplado a la transcripción, 667–668, 668f
  del mRNA, 663–668
  del rRNA, 662, 662f
  del tRNA, 662–663, 663f
  maduración en, 661–671
Procesividad, 606
Proceso de Haber, 541–542
Producto iónico del agua, 26
Productos finales de la glicosilación avanzada (AGE), 162

Proelastasa, 238t
Proenzimas, 238t. *Ver también* Enzima(s); Zimógeno(s)
Progestágenos, 512
Progesterona, 512
Proinsulina, síntesis bacteriana de, 714, 715f
Prolilhidroxilasa, 55
Prolina
  conversión en glutamato, 532f, 533, 533f
  en el colágeno, 54
  estructura de, 38, 38f
  racemización de, 102, 102f
Promotores transcripcionales
  en bacterias, 632, 645–646
  en eucariotas, 645–646, 647–649, 647f
Propionil-ACP, 484
Propionil-CoA, 473, **473,** 533, 534
  en la degradación de aminoácidos, 533, 533f
Prostaglandina H_2 sintasa-1, 200, 200f
  acción de la aspirina y, 201, 201f
Proteasas, 134–135
  en la digestión, 238–240
Proteína(s), 5–6. *Ver también proteínas específicas*
  adaptadoras, 227–228
  alostéricas
    enzimáticas. *Ver* Enzimas alostéricas
    no enzimáticas, 142–151. *Ver también* Hemoglobina; Mioglobina
      en el estado R, 145, 145f
      en el estado T, 145, 145f
  asociadas al DNA, 589–591
  bucles en, 53, 53f
  chaperona, 13, 59
  composición de aminoácidos de, 43, 46, 47f. *Ver también* Aminoácido(s)
    determinación de, 47–48, 84–85, 84f, 85f
  con múltiples conformaciones, 60–61, 61f
  definición de, 47
  degradación de, 238–240
    proteolítica, 134–138
  desnaturalizadas, 58, 59f, 127
  DNA, 590f
  en el metabolismo de la glucosa, 293t
  en la dieta
    como fuente de aminoácidos, 523
    digestión de, 238–240, 238t, 239f, 240f
    insuficiencia de, 42, 42f
  enlaces peptídicos en, 46–50, 46f, 47f
  enzima. *Ver* Enzima(s)
  estructura de, 5, 5f
    cuaternaria, 45, 57–58, 57f
    función y, 48, 59
    interacciones débiles y, 24
    primaria 45, 46–50, 46f–49f
    secuencia de aminoácidos y, 58–61, 58f, 59f
    secundaria, 45, 50f–54f, 52–55
    supersecundaria, 57
    terciaria, 45, 55–57, 56f
  ferrosulfuradas (hierro no hemínico), 355, 355f
  fibrosas, 53–54
  función de, estructura y, 48, 59
  giros en, 53, 53f
  glicosilación de, 167–172, 167f, 168f, 171f
  globulares, 55–57
  hélice α de. *Ver* Hélice α
  helicoide enrollado, 53, 54f
  hidrólisis de, 135–138, 137f
  hoja plegada β en, 50, 51–54, 51f–53f
  ingestión de, 238
  intrínsecamente desestructuradas, 60
  masa de, 47
  membrana, 10, 10f, 199–208. *Ver también* Proteínas de membrana
  metamórficas, 61, 61f
  peso molecular de, 47
  plegamiento de, 24, 24f, 39, 50–57
    de proteínas hidrosolubles, 55–57, 56f, 57f
    desnaturalización en, 58, 59f
    efecto hidrofóbico en, 24, 24f, 56, 60
    en enfermedades neurológicas, 61–62
    en estructuras regulares, 50–57, 50f–54f
    en la mioglobina, 55–56
    errores en, 61–62
    escala de tiempo para, 59
    estructura secundaria y, 50–55, 50f–54f
    estructura terciaria y, 55–57, 56f, 57f
    modelo del embudo de plegamiento de, 60, 60f
    modelo del glóbulo fundido de, 60
    modelo nucleación–condensación de, 60
    motivo hélice-giro-hélice en, 57, 57f
    motivos y, 57, 57f
    paradoja de Levinthal y, 59
    replegamiento y, 58–59
    selección acumulativa en, 59–60, 59f
    termodinámica de, 60, 60f
  propiedades de, 33–34
  puentes disulfuro en, 47, 47f
  que atraviesan la membrana, 57, 200
  resumen de, 33–34
  secretoras, síntesis ribosómica de, 700–701
  secuenciación de
    aplicaciones de, 86–87
    métodos para, 47–48, 84–86, 84f, 85f
  síntesis de. *Ver* Traducción
  tamaño de, 47
  tinción de, 73, 73f
  unión al DNA, 57–58
  unión de
    a carbohidratos, 167–172. *Ver también* Glicosilación
    a lípidos de membrana, 188–189, 188f
Proteína activadora
  de catabolitos, 639, 639f
  que escinde SREBP (SCAP), en la síntesis de colesterol, 507, 507f
Proteína Cro, 57, **57**
Proteína de unión
  a hebras sencilla, en la replicación del DNA, 604
  a IRE, 703
  al elemento regulador de esteroles (SREBP), 506–507
Proteína desacoplante 1 (UCP-1), acción de, 378f, 379
Proteína eIF-4E, 696–697
Proteína fluorescente verde, 562, 562f
Proteína fosfatasa 1
  desactivación de, 432
  en la síntesis de glucógeno, 441–442, 442f
Proteína fosfatasas, en la señalización de la insulina, 228
Proteína MDR, 204, 204f
Proteína MoFe, 453f, 543
Proteína multirresistente a fármacos (MDR), 204, 204f
Proteína PrP, 62, 62f
Proteína que se una a la caja TATA, 649, 649f
Proteína quinasa, dependiente de AMP, 489
Proteína quinasa A
  activación de, 219–220
  en la degradación del glucógeno, 429
  en la transducción de señales, 219–220, 220f
  estructura de, 220
Proteína quinasa C, en la transducción de señales, 223, 223f
Proteína quinasa dependiente de AMP, 489
  calmodulina, 229
Proteína Ran, 226, 226t
Proteína receptora de cAMP, 639, 639f
Proteína Rho, 226, 226t
  en la transcripción, 635, 636f
Proteína transportadora de acilos (ACP), 484–486, 485f
Proteínas adaptadoras, 227–228
Proteínas alostéricas
  enzimáticas. *Ver* Enzimas alostéricas
  no enzimáticas, 142–151. *Ver también* Hemoglobina; Mioglobina
    en el estado R, 145, 145f
    en el estado T, 145, 145f
Proteínas Argonauta, 703–704
Proteínas con helicoides enrollados, 53, 54f
Proteínas con hierro no hemínico, 355, 355f
Proteínas de membrana, 10, 10f, 199–208. *Ver también* Lípidos de membrana
  hebras β en, 200
  integradas, 200, 200f
  integrales, 199, 199f
  periféricas, 199, 199f
  porinas, 200, 200f
  que atraviesan la membrana, 57, 200
  síntesis ribosómica de, 700–701, 701
  transportadoras, 203–209. *Ver también* Transportador(es)
  transporte intracelular de, 700, 701, 702f
Proteínas de secreción, síntesis ribosómica de, 700–701
Proteínas denaturalizadas, 58, 59f, 127
Proteínas ferrosulfuradas, 355, 355f, 543
Proteínas fibrosas, estructura de, 53–54

Proteínas G
en el cólera, 221
en la degradación del glucógeno, 430–432, 431f
en la tos ferina, 221
en la transducción de señales, 218–221, 220f, 226, 226t
estructura de, 218, **219**
subunidades de, 218
Proteínas globulares, 55–57
Proteínas intrínsecamente desestructuradas, 60–61
Proteínas lisosomales, síntesis de, 700
Proteínas metamórficas, 61, 61f
Proteínas Mut, en la reparación de emparejamientos incorrectos, 617, 617f
Proteínas plegadas. *Ver* Proteína(s), plegamiento de
Proteínas que activan la GTPasa, 226
Proteínas que atraviesan la membrana, 57, 200
síntesis ribosómica de, 700–701
Proteínas que se unen a
carbohidratos, 172–174
DNA, estructura de, 57–58
Proteínas Ras
en el cáncer, 229
en la transducción de señales, 225–226, 225f, 226t
Proteoglicanos, 167, 168–169, 170f
Proteomas, 68
Proto-oncogenes, 229
Protoporfirina, 143, 143f
Proyección de Fischer, 36, 36f
Proyecciones de Haworth, 160–161, 160f, 161f
PRPP (5-fosforribosil-2-pirofosfato)
en el síndrome de Lesch–Nyhan, 569
en la síntesis de
pirimidina, 558, 558f, 563
purina, 560, 563
PRPP sintetasa, en la síntesis de pirimidina, 558, 558f, 563
Pteridinas, 546, **546**
Puente fosfodiéster, en la replicación del DNA, 599, 599f
Puentes de hidrógeno, 19, 19f, 20f, 21, 21f
agua y, 21, 21f
alteración de, 21, 21f, 22
en la doble hélice, 22, 22f, 582f, 583
en la hélice α, 50–51, 50f
en la hoja plegada β, 51, 51f
en la unión enzima-sustrato, 100
longitud de, 21
Puentes disulfuro, 40, 47, 47f
ruptura de, 58, 58f
Puentes salinos, 20, 20f–22f
Purificación de proteínas, 68–83
centrifugación
diferencial en, 69, 70f
en gradiente en, 76–78, 77f
cromatografía
de afinidad en, 72, 72f
de filtración en gel en, 70–71, 71f
de intercambio iónico en, 71, 71f
líquida de alta presión en, 72, 72f
electroforesis
bidimensional en, 73–74, 74f
en gel en, 72–73, 73f
ELISA en, 82, 83f
ensayos en, 69
evaluación cuantitativa en, 75–76, 75f, 75t
homogenado en, 69
inmunoprecipitación en, 81, 82f
isoelectroenfoque en, 73, 73f
precipitación por sal en, 70, 70f
técnicas inmunológicas en, 76–83
transferencia western en, 82–83, 83f
Purina(s), 579. *Ver también* Nucleótido(s)
degradación de, 567, 567f
ensamblaje del anillo en, 560–563, 560f–563f
estructura de, 579, 579f
rutas de recuperación para, 562–563
síntesis de, 556, 560–563, 560f–563f, 566, 566f
Purinosomas, 562, 562f
Puromicina, mecanismo de acción de, 698, 698t, 699f

Q-citocromo *c* oxidorreductasa, en la cadena respiratoria, 358t, 359
Queratán sulfato, 169, 169f, 170f
α-Queratina, 53–54, 54f
Queratina, hélice α de, 53–54, 54f
Quilomicrones, 242, 242f, 508, 508t. *Ver también* Lipoproteína(s)
Quimioterapia
inhibidores de la proteína quinasa en, 230
mecanismo de acción de, 564–565, 592, 592f
moduladores selectivos de los receptores de estrógenos en, 653
Quimiótrofos, 247
Quimotripsina, 134–138
actividad proteolítica de, 134–138
especificidad de, 138, 138f
estructura de, **134,** 134–138
hidrólisis de, 135–138, 135f, 137f
inhibición mediante marcadores de afinidad de, 131, 132f
sustratos preferentes para, 111t
Quimotripsinógeno, 238t
Quinasa(s), 219–220. *Ver también quinasas específicas*
en el metabolismo del glucógeno, 441–443
en la síntesis de pirimidina, 559
fosforilación de, 272–274, 429, 430f
en la transducción de señales, 219–220, 224, 224f, 225f
Quinasa Jano, 224, 224f
Quiralidad, de los aminoácidos, 36, 36f, 37
Quitina, 170, 170f

Rab, 226, 226t
Racemización, 102, 102f
RAD51, 621
Radiación
electromagnética, daños en el DNA causados por, 616
solar, daños en el DNA causados por, 616
ultravioleta, daños en el DNA causados por, 616
Radicales
hidroxilo, daños en el DNA causados por, 615
superóxido, neutralización enzimática de, 363–364, 363f, 363t
Raloxifeno, 653
Raquitismo, 513
Ratones, *knockout/knock in*, 622
Reacción(es). *Ver también tipos específicos, p. ej.,* Catabolismo
anaplerótica, 340
bimoleculares, 106
catalíticas. *Ver* Catálisis enzimática
de doble-desplazamiento, 111f, 112
de orden cero, 106
de oxidación-reducción
en el metabolismo, 255–256, 256f
en la cadena transportadora de electrones, 354–357, 354f–356f
de primer orden, 106
de pseudo-primer orden, 106
de segundo orden, 106
de transesterificación, 666, 666f
en cadena de la polimerasa (PCR), 720–723, 720f–722f
cuantitativa (qPCR), 723, 723f
en tiempo real, 723, 723f
endergónicas, 96
endotérmicas, 127
energía de activación para, 99, 99f
energía libre de, 96–102. *Ver también* Energía libre
equilibrio en, 97–99, 98t
estado de transición en, 99–102
exergónicas, 96
exotérmicas, 127
independientes de la luz. *Ver* Ciclo de Calvin
luminosas. Ver Reacciones luminosas
oscuras. *Ver* Ciclo de Calvin
oxidación-reducción
en el metabolismo, 255–256, 256f
en la cadena transportadora de electrones, 354–357, 354f–356f
paso comprometido en, 549
ping-pong, 111f, 112
que requieren energía, en el metabolismo, 249
retroinhibición en. *Ver* Retroinhibición
reversibilidad de, 468
secuenciales, catalíticas, 111f, 112
catalíticas, enzimas alostéricas y, 116–117, 117f
segundo orden, 106
termodinámica de, 96–99
velocidad de, 93, 94t, 98–99, 98t
constante de velocidad y, 106
definición de, 106

en la catálisis, 106–120. *Ver también* Cinética enzimática
en reacciones bimoleculares, 106
en reacciones de orden cero, 106
en reacciones de primer orden, 106
en reacciones de pseudo-primer orden, 106
en reacciones de segundo orden, 106
temperatura y, 126–127, 126f
Reacciones luminosas, 388, 389–404, 391f, 401f. *Ver también* Fotosíntesis
en el ciclo de Calvin, 414–415, 414f
en el fotosistema I, 395, 395f, 396, 396f, 398f
conexiones con el citocromo *bf* en, 398, 398f
flujo cíclico de electrones a través de, 401–402, 401f
en el fotosistema II, 395, 395f, 397–398, 398f
centro manganeso de, 399, 399f, 400f
conexiones con el citocromo *bf* en, 398, 398f
Reactivos específicos de grupo, en la inhibición enzimática, 131, 131f
Recambio de proteína, 523–524. *Ver también* Proteína(s), degradación de
Receptor (es), 217–228, 217f, 218f. *Ver también tipos específicos*
acoplados a proteínas G, 218
β-adrenérgico, 218
con siete hélices transmembrana, 217–226, 217f, 217t, 218f
de estrógeno, 651–653
purificación de, 81
de hormonas, 652–653
estrógeno, 81, 651–653
nucleares, 651–653, 652f, 653f
de la hormona del crecimiento, dimerización de, 223–224, 224f
de la insulina, 227–228, 227f, 228f
de la transferrina, 703
de manosa-6-fosfato, 173
de SRP, 701
del factor de crecimiento epidérmico, en el cáncer, 229–230
dimerización de, 223–224
en la transducción de señales, 217–228, 217f, 218f. *Ver también* Transducción de señales, receptores en
hormonales, 652–653, 652f, 653f
nucleares, 652–653, 652f, 653f
proteínas, 5
unión de ligandos a, 217–218, 218f, 223–226, 224f, 225f, 652, 652f, 653f
Reclinomonas americana, 351
Recombinación del DNA, 621–622, 622f
Recuperación de la fluorescencia tras el fotoblanqueado (FRAP), 201f
Reductasa del mRNA, en la síntesis de colesterol, 507f
Región terminal 3′-CCA, 678, 678f, 679
Región terminal CCA, 678, 678f, 679
Regiones no traducidas (UTR), 691
Regla de simetría, 115
Regulador transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), 204–205, 204f
Reparación de emparejamientos incorrectos, 617, 617f. *Ver también* Reparación del DNA
Reparación del DNA, 617–621
corrección de errores en, 603, 617
de emparejamientos incorrectos, 617, 617f
defectuosa, en el cáncer, 620
directa, 618
DNA polimerasas en, 599, 603, 618
por escisión de
bases, 599, 603, 603f, 618, 618f
nucleótidos, 618, 618f
recombinación en, 621–622
Reparación directa del DNA, 618
Reparación por escisión de
bases, 599, 603, 603f, 618, 618f. *Ver también* Reparación del DNA
nucleótidos, 618, 618f. *Ver también* Reparación del DNA
Repeticiones de
trinucleótidos, expansión de, 614–615, 614f
tripletes, expansión de, 614–615, 614f
Replicación del DNA, 8, 8f, 597–611
abrazadera deslizante en, 606, 606f, 607, 607f
atemperación en, 585
ATP en, 600–602, 602f, 605
cebador en, 599, 604, 605f
complejo precebador en, 604
complementariedad de bases en, 600, 601f
coordinación de, 604–609
corrección de errores en, 603, 603f, 617
desenrollamiento de la hélice en, 585, 602, 602f, 606–607, 606f
desnaturalización en, 585
dirección de, 605, 605f
DNA ligasa en, 605, 607, 608f
DNA polimerasas en, 8, 8f, 598–603, 605–606, 606f, 614. *Ver también* DNA polimerasa(s)
DnaA en, 604, 604f
DnaB en, 604, 604f
elongación de la cadena en, 599, 599f
en bacterias, 604–607
en *E. coli,* 604–607
en eucariotas, 608–610
enlace fosfodiéster en, 599, 599f, 607
errores en, 614–616
especificidad de, 600
exonucleasas en, 603, 603f
expansión de trinucleótidos repetidos en, 614–615, 614f
factores permisivos en, 608
fragmentos de Okazaki en, 605, 605f
hebra
conductora en, 605, 605f, 606–607, 606f
retardada en, 605, 605f, 606–607, 606f
rica en G en, 609, 609f, 610f
helicasas en, 600–602, 602f, 604, 604f
hibridación de las hebras en, 585
horquilla de replicación en, 605, 605f, 606–607, 606f
lugares de unión en, 604, 604f
modelo del trombón para, 607, 607f
molde en, 599, 605, 605f
origen de, 604, 604f, 608
precisión de, 599, 603
precursores activados en, 599
primasa en, 604
procesividad en, 606
proteína de unión a hebras sencillas en, 604
recombinación en, 621–622
renaturalización en, 585
replicones en, 608
semiconservativa, 535f, 583–585, 585f
separación de las hebras en, 585, 600–602, 602f
superenrollamiento y, 589
telomerasa en, 609–610
telómeros en, 608–610, 609f, 610f
topoisomerasas en, 602–603
Replicación semiconservativa, 583–585, 583f, 585f
Replicones, 608
Representación doble-recíproca, 109, 109f, 130, 130f
Representaciones de Cleland, 111, 111f
Representaciones estereoquímicas, 36, 36f
Represión por catabolito, 639
Represor *lac,* 638–639
Repulsión electrostática, ATP y, 252–253
Reservas de combustible, en varones, 476, 476t
Reservorio de hexosas monofosfato, 409
Reservorio Q, 357
Residuo de serina, fosforilación de, 307
Resistencia a la insulina, 309
Respiración
anaeróbica, 362
celular, 315, 330, 330f, 347–348
en animales marinos, 362
regulación de, 376–381
Respiración anaeróbica, 362
Respiración celular, 315, 330, 330f, 347–348
en animales marinos, 362
regulación de, 376–381
Retículo endoplasmático, 12–13, 12f, 700f
envío de proteínas al, 700
unión de ribosomas al, 700–701, 700f
Retículo endoplasmático liso, 12, 12f, 700, 700f
Retículo endoplasmático rugoso, 12–13, 12f, 700, 700f
Retinitis pigmentosa, 666
Retinol (vitamina A), 262, **263**
estructura de, **263**
insuficiencia relacionada con el alcohol de, 515

Retroinhibición, 113–114, 550
acumulativa, 550–551
en la regulación de la glucólisis muscular, 287–288, 287f, 289f
en la síntesis de
aminoácidos, 549–551
colesterol, 506–507
nucleótidos, 565–566, 566f, 567f
Retroinhibición acumulativa, 550–551
Retrovirus, 714
Revertientes, 620
Riboflavina (vitamina B_2), **262,** 262t, A6–A7
Ribointerruptores, 630–631
Ribonucleasa
desnaturalización de, 58, 59f
en el procesamiento post-transcripcional, 636
estructura de, 58–59, 59f
reducción de, 58, 59f
Ribonucleoproteínas pequeñas nucleolares (snoRNP), 662, 665
Ribonucleósidos trifosfato, en la transcripción, 630
Ribonucleótido(s)
reducción a desoxirribonucleótidos, 563–565, 566
síntesis de, 556–563. *Ver también* Nucleótido(s), síntesis de
Ribonucleótido reductasa, 563, 566, 567f
Ribosa, 578, **578,** 578f
estructura de, 159, 159f
Ribosa fosfato, ensamblaje del anillo de purina sobre, 560–563, 560f–563f
Ribosoma(s), 8, 8f, 12, 12f, 683–684, 689–693
acción catalítica de, 693
como ribozimas, 673
definición de, 673
en bacterias vs. eucariotas, 696
en la transducción, 8, 8f, 683–684, 685f, 693
de proteínas de membrana, 700–701
de proteínas de secreción, 700–701
estructura de, 683–684, 685f
subunidades de, 683, 690
unidos al retículo endoplasmático, 700–701, 700f
uniones de unión al tRNA en, 689–692, 690f
Ribozimas, 669, 673
Ribulosa
reacción del dióxido de carbono con, 408–409, 409f
regeneración de, 409–410, 409f–411f, 411
Ribulosa 1,5-bisfosfato, en el ciclo de Calvin
Ribulosa 5-fosfato
en el ciclo de Calvin, 410f
en la ruta de las pentosas fosfato, 452, 453f, 454f, 456–458
estructura de, **452**
Ricina, 700
Rifampicina, mecanismo de acción de, 637, 637f
Riñón, gluconeogénesis en, 300
RNA
azúcares en, 578–579
catalítico, 669–670, 684
como polímero lineal, 578, 578f
de transferencia. *Ver* RNA de transferencia (tRNA)
en la traducción, 8, 8f. *Ver también* Traducción
esqueleto de, 578–579, 579f
estructura de, 6, 578–579, 578f, 592, 593f
estructura tallo-bucle en, 592, 592f
flujo de información al, 7–8
interferente pequeño, 647t, 703–704
largo no codificante, 647t
mensajero. *Ver* RNA mensajero (mRNA)
micro, 647t, 704
modificación post-transcripcional de
en bacterias, 636, 636f, 637f
en eucariotas, 661–671
nucleósidos de, 579
nucleótidos de, 579
pares de bases en, 592, 593f
modificación post-transcripcional de, 636, 636f, 637f
pequeño nuclear, 647t, 665–666
pequeño nucleolar, 647t
polaridad de la cadena en, 580
pre-mRNA, 661–662
maduración de, 663–668, 665f. *Ver también* Maduración
procesamiento de, 663–668
pre-rRNA, 662, 662f
que interacciona con piwi, 647t
ribosómico. *Ver* RNA ribosómico (rRNA)
síntesis de, 8, 627–638. *Ver también* Transcripción
tipos de, 630–631
transcripción de, acoplada con el procesamiento, 667–668, 668f
RNA catalítico, 669–670, 684
RNA cebador, en la replicación, 604, 605f
RNA de transferencia (tRNA), 630–631, 677–683
anticodones de, 679–680, 679t
bases en, 677–678
características comunes de, 677–679
cargados, 681
código genético y, 677–680
codones y, 677–680
en la traducción, 677–683
estructura de, 677–679, 678f
iniciador, 691
lugares de reconocimiento en, 682–683, 683f
procesamiento post-transcripcional de, 636, 636f, 662–663, 663f
translocación de, 693–694
unión de aminoácidos a, 681–683
RNA helicasas
en la maduración, 666
en la replicación, 600–602, 602f
RNA interferente (RNAi), 703–704
RNA interferente pequeño (siRNA), 647t, 703–704
RNA largo no codificante, 647t
RNA mensajero (mRNA), 630
capuchón 5′ en, 663, 663f
cola de poli(A) en, 663–664, 664f
complementariedad del DNA con, 629–630, 630f
corrección del RNA y, 668–669
en la síntesis de colesterol, 506–507
en la traducción
en bacterias vs. eucariotas, 696–697
en la elongación, 693
en la iniciación, 692
en la regulación, 702–703
en la terminación, 695
estructura de, en bacterias vs. eucariotas, 696–697, 697f
extremo 3′ de, 663
ferritina, 702–703, 703f
procesamiento post-transcripcional de, 663–668
receptor de la transferrina, 702, 703f
reductasa, en la síntesis de colesterol, 507f
ribointerruptores en, 640–641
RNA pequeño nuclear (snRNA), 647t, 665
RNA pequeño nucleolar (snoRNA), 647t, 665
RNA polimerasa(s), 8, 8f
en bacterias, 629–630
catión divalente cofactor para, 630
componentes de, 629–630, 630f
estructura de, 629–630, 630f
núcleo de la enzima, 631
promotores para, 632, 646, 648–649
subunidades de, 630f, 631, 631t, 632–633, 632f
en eucariotas, 646–649
promotores para, 645–646, 647–649, 647f
tipo I, 646, 646t, 648, 662
promotores para, 647f, 648
tipo II, 646–647, 646t, 648–651, 663
dominio carboxilo terminal de, 647, 649, 649f, 667–668
promotores para, 647f, 648
tipo III, 646t, 647, 648
promotores para, 647f, 648
RNA que interacciona con piwi (piRNA), 647t
RNA ribosómico (rRNA), 630
en la traducción, 683–684, 685f
plegamiento de, 685f
procesamientos post-transcripcional de, 636, 636f, 662, 662f
Rotenona, 380
Rubisco, 408
activación mediante la luz de, 414–415, 415f
en la fotorrespiración, 415–416, 415f
estructura de, **409**
Ruta C_4, de las plantas tropicales, 416–417, 416f
Ruta de conversión de la energía, en la glucólisis, 272–279
Ruta de Hatch–Slack, 416–417
Ruta de la β-oxidación, 469f, 470t

Ruta de las pentosas fosfato, 451–461, 456t
azúcares de cinco carbonos en, 452–455
fase no oxidativa de, 452, 453f, 456t
fase oxidativa de, 452, 453f, 454f, 456t
glucólisis y, 456–458
glucosa 6-fosfato en, 452, 454f, 456–458
modos de, 456–458, 457f
NADP en, 456
NADPH en, 452–454, 456–458
ribulosa 5-fosfato en, 452, 454f, 456–458
transaldolasa en, 452–455, 456t
transcetolasa en, 452–455, 456t
Rutas de recuperación, en la síntesis de nucleótidos, 556, 557f, 559–563
Rutas de secreción, 12–13, 700
Rutas metabólicas, 247–248, 248f
coordinadas
en la síntesis de los ácidos grasos, 483, 483f
en la síntesis de purina, 560–562
regulación enzimática de, 112–117
Rutas metabólicas coordinadas en la síntesis de
ácidos grasos, 483
purina, 560–562

Sacarasa, 164
164, **164**
planta, 413, 413f
síntesis de, 413, 413f
Sacarosa 6-fosfato, 413, **413**
Sal, disolución por, 20, 20f
Salamanquesas, pies "pegajosos" de, 21
Sales biliares, 512, **512**
en emulsiones lipídicas, 241
Sanger, Frederick, 47
Sangre
glicoproteínas en, 168
pH de, 26, 29–30
SCAP-SREBP, en la síntesis de colesterol, 507, 507f
SDS-PAGE, 73, 73f
Secretina, en la digestión, 238, 239f
Secuencia, 35, 632, 632f
Secuencias consenso, 632, 664
Secuencias de aminoácidos, 5, 5f
de la insulina, 47
determinación de, 84–87
aplicaciones de, 86–87
métodos para, 47–48, 84–86, 84f, 85f
dirección de, 46, 46f
en el código genético, 676–686
en la hélice α, 51
enlaces peptídicos en. *Ver* Enlaces peptídicos
especificidad de, 47–48
estructura de proteínas y, 58–61, 58f
secuencias de bases y, 676–686
Secuencias de Shine–Dalgarno, 691
Secuencias palindrómicas, 712
Secuencias señal, 701
Sedoheptulosa 1,7-bisfosfato, en el ciclo de Calvin, 410f
Sedoheptulosa 7-fosfato, en la ruta de las pentosas fosfato, 453f, 454
Segunda Ley de la Termodinámica, 23
Segundos mensajeros, 216, 216f, 222–223, 222f, 223f
Selectinas, 173, 173f
Selectividad iónica, 207–208, 207f, 208f
Sensibilidad al quórum, 630
Sentido de giro, de la hélice, 51
Señal de localización nuclear, 87
Señales de saciedad, 244, 244f
Separación de cargas fotoinducida, en la fotosíntesis, 392, 392f
Serina
degradación de, 532
en la síntesis de piruvato, 531f, 532
estructura de, 39–40, 39f
síntesis de, 531f, 532, 546, 546f
unión de carbohidratos a, 167, 167f
Serina 195, en la activación de la quimotripsina, 134–135, 136, 136f
Serina deshidratasa, en la degradación de aminoácidos, 525, 532
Serotonina, **556**
síntesis de, 556
Serpientes
canales iónicos en, 206
de cascabel, canales iónicos en, 206
veneno digestivo de, 242–243
Sialidasa, 173, 174f
Sílice, 4t, 5
Simporte Na^+–glucosa, 205–206, 205f
Simportes, 205, 205f
Síndromes
de distrés respiratorio, 502
de Hallervorden–Spatz, 260–261
de Hutchinson–Gilford o progeria, 189, 189f
de Lesch–Nyhan, 569, 667t
de Lynch, 620
de progeria, 189, 189f
de Werner, 601, 601f
X-frágil, 697
Sinónimos, 676
Síntesis de aminoácidos, 541–551
amidación en, 544
aminotransferasas en, 545
amoniaco en, 455f, 542
fijación de nitrógeno en, 54f, 541–542, 542–544, 542f
3-fosfoglicerato en, 546
metilación en, 547–548, 548f
multiplicidad enzimática en, 550, 550f
paso comprometido en, 549
regulación de, 549–551
retroinhibición en, 549–551
rutas principales para, 544–549
tetrahidrofolato en, 546–547, 546t, 547f
transaminación en, 545
Síntesis de glucógeno
enzima ramificante en, 439–440, 439f
enzima reguladora en, 440
glucogenina en, 438–439, 439f
glucógeno sintasa en, 438–440, 439f
glucógeno sintasa quinasa en, 440, 443, 443f
hígado en, 443–444, 444f
insulina en, 443, 443f
niveles de glucosa en sangre en, 443–444, 444f
proteína fosfatasa 1 en, 441–442, 442f
regulación de, 441–446, 441f
rutas en, 437–440
trastornos de, 445–446
diabetes mellitus como, 444–445
enfermedades relacionadas con el almacenamiento del glucógeno como, 445–446, 446f, 446t
uridina difosfato glucosa en, 437–438
Síntesis de prostaglandinas, 488–489
siRNA (RNA interferente pequeño), 647t, 703–704
Sistema de oxidación microsomal del etanol (MEOS), 515
Solanina, 395, **395**
Solubilidad, transporte a través de membranas y, 202
Sondas de DNA, 710–711
Sonicación, 197
soRNA (RNA pequeño nucleolar), 647t
Sos, en la transducción de señales, 225f, 226
SREBP, en la síntesis de colesterol, 506–507, 507f
Staphylococcus aureus, acción de la penicilina sobre, 132, 133f, 134f
STAT5, 224
Subunidad de 30S, del ribosoma, 683, 690
Subunidad de 50S, del ribosoma, 683, 690
Subunidad epsilon (ϵ), de la ATP sintasa, 369, 369f
Subunidad F_1, de la ATP sintasa, 369, 369f
Subunidad α
de la ATP sintasa, 369, 369f
de la hemoglobina, 144–145, 144f, 145f
Subunidad β
de la ATP sintasa, 369, 369f
de la hemoglobina, 144–145, 144f
de la RNA polimerasa, 630f, 631, 631t
Subunidad δ, de la ATP sintasa, 369, 369f
Subunidad γ, de la ATP sintasa, 319, 319f
rotación de, 370, 371
Subunidad σ, de la RNA polimerasa, 631, 631t, 632–633, 634
Subunidad φ, de la RNA polimerasa, 631
Subunidades proteicas, 57, 57f
Succinato deshidrogenasa
en el cáncer, 340
en el ciclo del ácido cítrico, 335
Succinato-Q reductasa (Complejo II), en la cadena respiratoria, 358–359, 358t
Succinil-CoA
a partir de metionina, 536, 536f
en el ciclo del ácido cítrico, 333–335
en la degradación de aminoácidos, 533, 533f
formación de, 333
síntesis de, 533, 533f, 536, 536f

Succinil-CoA sintetasa, en el ciclo del ácido cítrico, 334–335, 334f
Sulfanilamida, inhibición competitiva mediante, 128–129
Superhélice, 587–589, 588f
Superóxido dismutasa, 363, 363f
Surco mayor, 587, 587f
Surco menor, 587, 587f
Sustrato(s), enzima, 94, 100–102. *Ver también* Complejo enzima–sustrato
  accesibilidad en la regulación del metabolismo, 264–265
Sustratos del receptor de la insulina, 227–228, 227f, 228f
Szent-Györgi, Albert, 4

Talasemia, 666, 666f
Tamoxifeno, 653
Tampones, 28–31
  producción de, 30–31
Técnicas inmunológica, en la purificación de proteínas, 76–83
Tecnología del DNA recombinante, 709–723
  aplicaciones de, 711
  autorradiografía en, 713
  bibliotecas de DNA en, 710
  clonaje en, 713–715
  enzimas de restricción en, 712, 712f
  fragmentos de restricción en, 712–713
  genes eucarióticos en, 714–723
  genómica comparativa en, 719
  método didesoxi de Sanger en, 717–719, 718f, 719f
  métodos de secuenciación de última generación en, 719
  micromatrices de DNA en, 723, 723f
  producción de DNA recombinante en, 713–714, 714f
  reacción en cadena de la polimerasa en, 720–723, 720f, 722f
    cuantitativa, 723, 723f
  sondas de DNA en, 710–711
  transferencia northern en, 713
  transferencia Southern en, 713, 713f
  transferencia western en, 713
  vectores en, 713–714
Tejido adiposo, 183–184, 184f
Telomerasa, 609–610
Telómeros, 608–610, 609f, 610f
Tembladera, 62
Temperatura
  denaturalización de proteínas y, 127
  efectos sobre los lagartos, 127
  velocidad catalítica y, 126–127, 126f
Tenecteplasa, 67f
Terminación controlada de la replicación, 717–719, 718f, 719f
Termodinámica
  del metabolismo, 249–250
  del plegamiento de proteínas, 60, 60f
  incremento de energía libre y, 96–99. *Ver también* Energía libre
  Segunda Ley de, 23
Termogénesis sin tiritera, 378
Test con *Salmonella*, para carcinógenos, 620–621, 621f
Test de Ames, 620, 621f
Testosterona, 512–513, 514–515
  receptor para, 651
Tetraciclina, mecanismo de acción de, 698t
Tetrahidrobiopterina, 535
Tetrahidrofolato, 564, **564**
  aminoácidos, 546–547, 546t, 547f
  purina, 560, 561f
Tetrahymena, automaduración en, 668–670, 669f, 670f
Tetrodotoxina, 206, 206f
Tetrosas, 158
TFII, en la transcripción, 649, 649f
Tiamina (vitamina B_1), 262t, 280, 281, A6–A7
  insuficiencia de, 325–326, A7
Tiamina pirofosfato
  en el ciclo del ácido cítrico, 319, 325–326
  estructura de, **319**
Tilacoides, 390
Timidilato, 580
  fármacos anticancerígenos y, 564–565
  síntesis de, 563–565, 564f
Timidilato sintasa, 563–565
Timidina quinasa, 559
Timidina trifosfato (TTP), 566
  en la replicación, 599
Timina, 6, 563–564, 619. *Ver también* Bases/pares de bases
  estructura de, **583**
  reparación del DNA y, 619
  síntesis de, 618, 618f
Tinción, proteína, 73, 73f
Tioesterasa, en la síntesis de ácidos grasos, 486
Tiogalactósido transacetilasa, 638
Tioles, 25t, 40
Tiolisis, en el metabolismo de los ácidos grasos, 472f, 473
Tiorredoxina, 563
  en el ciclo de Calvin, 414–415, 415f
  enzimas reguladas por, 415t
  estructura de, **415**
Tiorredoxina reductasa, 563
Tirosina, 555
  degradación de, 535, 535f
  estructura de, 39–40, 39f, 41t
  síntesis de, 545
Tirosina quinasa, en la transducción de señales, 224–225, 224f, 225f
Tirosina quinasa del receptor
  de la insulina, 227–228
  en la transducción de señales, 224–226, 225f
    en el cáncer, 229–230
Tirosinasa, temperatura y, 126f
Tirosinemia, 536t
Tiroxina, 555–556, **556**
Titina, 47
Topoisomerasas, en la replicación, 602–603
Topoisómeros, 589
Topología, 589f
Tos ferina, 221
Tosil-L-fenilalanina clorometilcetona (TPCK), como marcador de afinidad de la quimotripsina, 131, 132f, 136
Toxicidad
  α-amanitina, 646, 646f
  ántrax, 603
  arsenito, 326, 326f
  clorofila, 395, 395f
  galactosa, 286
  mercurio, 326
  solanina, 395, 395f
TPCK, como marcador de afinidad de la quimotripsina, 131, 132f, 136
Traducción, 8, 8f, 689–705
  acoplada a la transcripción, 684
  activación de aminoácidos en, 681–682
  aminoacil-tRNA en, 681–682, 681f, 692–693
  aminoacil-tRNA sintetasas en, 681–683, 682f, 683f
  anticodones en, 679–680, 679t
  ATP en, 681
  código genético y, 693, 676–680
  codones en, 676–680, 677t, 690–691
  codones stop en, 695, 695f
  complejidad de, 679
  complejo de iniciación
    de 30S en, 692, 692f
    de 70S en, 692, 692f
  corrección de errores en, 682f, 692
  dirección de, 684, 694, 695f
  distribución de proteínas en, 700
  elongación en, 692–693, 695f
    en bacterias vs. eucariotas, 697
  emparejamiento de bases en, 679–680
  en bacterias, 691
    vs. eucariotas, 696–697
  errores en, 680
  factores de
    iniciación en, 692, 696
    liberación en, 695, 695f
  formilmetionil-tRNA en, 691–693
  GTP y, 693–694, 694f
  inhibidores de, 698–700
  iniciación de, 689–693
    en bacterias vs. eucariotas, 696–697, 696f
  mRNA en
    en bacterias vs. eucariotas, 696–697, 697f
    en la elongación, 693
    en la iniciación, 690–692
    en la regulación, 702–703
    en la terminación, 695
  pasos en, 689–695, 694f
  pautas de lectura en, 692
  peptidiltransferasa en, 693–695, 694f
  polirribosomas en, 694
  precisión de, 680, 682
  regulación de, 702–704
  ribosomas en, 8, 8f, 683–684, 689–693, 693
  RNA catalítico en, 669–670, 684

RNA interferente en, 703–704
rRNA en, 683–684, 685f
secuencias de Shine-Dalgarno en, 691
secuencias señal en, 701
síntesis de enlaces peptídicos en, 693, 694f
terminación de, 695
en bacterias vs. eucariotas, 697
translocación de proteínas en, 12–13, 701, 702f
translocación en, 693–694, 694f
tRNA en, 677–683, 689–695. *Ver también* RNA de transferencia
velocidad de, 680
Tramo de polipirimidinas, 664
Transaldolasa, en la conexión entre la ruta de las pentosas fosfato y la glucólisis, 452–455, 456t
Transaminasas
dependientes de piridoxal fosfato, en la síntesis de aminoácidos, 545
en la degradación de aminoácidos, 524–525
en la síntesis de aminoácidos, 545
Transcetolasa, en la conexión entre la ruta de las pentosas fosfato y la glucólisis, 452–455, 456t
Transcripción, 8. *Ver también* Expresión génica
acetil-CoA en, 654
acoplada a la traducción, 684
en bacterias, 629–638
cadena naciente en, 632
caja Pribnow en, 632, 632f
catión divalente cofactor en, 630
complejo promotor
abierto, 633
cerrado en, 633
definición de, 629
dirección de, 630, 630f, 633
DNA molde en, 629–630, 630f
DNA palindrómico en, 635, 635f
elemento UP en, 632
elongación de las hebras en, 630, 631f, 633–634, 633f, 634f
elongación en, 633–634
en mamíferos, 631
errores en, 634
etapas de, 631–636
factores de transcripción en, 632
genes en, 632
horquilla de RNA en, 635, 635f
inhibición mediante antibióticos, 637–638, 637f
iniciación de, 631–632, 632f, 633f
lugar, 10, 632, 632f
operón *lac* en, 638–639
precursores activados en, 630
promotores en, 632, 645–646
proteína activadora de catabolitos en, 639, 639f
proteína Rho en, 635, 636f
resumen de, 627–628
ribonucleótidos trifosfato en, 630
RNA polimerasas en, 629–630. *Ver también* RNA polimerasa(s)
secuencia, 35 en, 632, 632f
secuencias consenso en, 632
terminación de, 635, 635f
vs. en eucariotas, 645–646
en eucariotas, 645–657
acetilación de histonas en, 654–656, 654f
bromodominios en, 655
caja CAAT en, 648–649, 648f
caja GC en, 648–649, 648f
caja TATA en, 648–649, 648f, 649f
coactivadores en, 652–653, 653f
complejidad de, 645–646
control combinatorio de, 650
correpresores en, 653
dominio carboxilo terminal en, 647, 649, 649f, 667–668
elementos iniciadores en, 648
elementos que actúan en cis en, 647–649, 647f
elongación en, 649–650
factores de transcripción en, 649, 650
histona desacetilasas en, 656
iniciación de, 648–650
intensificadores en, 649–650
lugar de, 646
mediador en, 650, 650f
procesamiento del mRNA en, 663–668
procesamiento del pre-rRNA en, 662
procesamiento del tRNA en, 662–663
promotores en, 645–646, 647–649
regulación hormonal de, 651–653
remodelación de la cromatina en, 654–656, 655f
RNA polimerasas en, 646–649. *Ver también* RNA polimerasa(s)
señalización en, 651–653
terminación de, 656
vs. en bacterias, 645–646
maduración y, 667–668. *Ver también* Maduración
procesamiento post-transcripcional y, 636, 636f, 637f
transcrito primario en, 636, 636f
Transcriptasa inversa, 710, 714–715
Transcriptoma, 723
Transcrito policistrónico, 639
Transcrito poligénico, 639
Transcrito primario, 636, 636f
Transducción de señales, 5, 215–231
adenilato ciclasa en, 218, 219, 219f
calmodulina en, 429
cAMP en, 216
cascada de fosfoinosítidos en, 222–223, 222f, 223f
circuitos moleculares en, 216–217
defectuosa
en el cáncer, 229–230, 230f
en el cólera, 221
en la tos ferina, 221
diacilglicerol en, 222f, 223, 223f
efectores en, 217
elementos de respuesta en, 651
en bacterias, 640–641
en la degradación del glucógeno, 430–432, 431f
en la digestión, 243–244, 244f
en la transcripción, 651–653
en la translocación de proteínas, 701
esteroides en, 512–513
factores de crecimiento en, 224–225, 225f
fosfolipasa C en, 222
GDP en, 218
GTP en, 218, 220, 220f
GTPasa en, 220, 220f, 226, 226t
iniciación de, 216, 217–218, 217f
insulina en, 224, 226–228, 227f, 228f
iones calcio en, 222–223, 223f, 228–229, 229f
IP_3 en, 216, 222–223, 222f
mensajeros primarios en, 216
pasos en, 216–217, 216f
PIP_2 en, 222–223, 222f
proteína quinasas en, 219–220, 224–225, 225f, 229–230
proteínas G en, 218–221, 220f, 226, 226t
quinasa Jano en, 224, 225f
Ras en, 225–226, 225f, 226t, 229
receptor β-adrenérgico en, 218
receptores en, 217–228, 217f, 218f
7TM, 217–226, 217f, 217t, 218f
acoplada a proteínas G, 218
dimerización de, 223–224, 224f
respuesta amplificada en, 219
segundos mensajeros en, 216, 216f, 222–223, 222f, 223f
terminación de, 217, 220–221, 221f
tirosina quinasa en, 224–225
tirosina quinasas del receptor en, 224–225, 225f, 229–230
unión a ligandos en, 217–218, 218f, 223–226, 224f, 225f, 652
Transesterificación, en la maduración, 666, 666f
Transferasa terminal, 715
Transferasas, 95
en la degradación del glucógeno, 425–426, 425f
Transferencia de electrones
en la fosforilación oxidativa, 352–357
en la fotosíntesis, 392, 392f
desde el H_2O al NADP, 398–400, 400f
Transferencia
de energía por resonancia, en la fotosíntesis, 392, 392f
de proteínas, 713
northern, 713
Southern, 713, 713f
western, 82–83, 83f
Transferencias
de DNA, 713
de RNA, 713
Transferrina, 702
Translocasa, 693
Translocón, 701, 702f

Transpeptidasa, inhibición mediante penicilina de, 132–134, 133f, 134f
Transportador(es), 203–209. *Ver también* Transporte a través de membrana
  ABC, 204–205
  antiportes, 205, 205f
  de citrato, 482, 482f
  de fosfato, 376
  de glucosa (GLUT), 205–206, 205f, 291
    en el cáncer, 293, 293t
    en la glucólisis, 291, 293t
    insulina y, 228
  definición de, 202
  glucosa, 205–206, 205f, 293
    en el cáncer, 293, 293t
    en la glucólisis, 291, 293t
    insulina y, 228
  mitocondriales, 376, 376f
  regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística, 204–205, 204f
  secundarios, 205, 205f
  simportes, 205, 205f
Transporte a través de membrana, 203–209
  activo, 203
    primario, 203
    secundario, 203
  bombas iónicas en, 203–206
  canales iónicos en, 206–208, 207f–209f
  chaperonas en, 13, 59
  gradiente de concentración y, 203
  pasivo, 203
  solubilidad y, 202
  transportadores en, 203–209. *Ver también* Transportador(es)
Transporte activo, 203
  primario, 203
  secundario, 203
Transporte de proteínas, 12–13. *Ver también* Transporte; Transportador(es)
Transporte de protones, por la citocromo *c* oxidasa, 361–362, 361f
Transporte pasivo, 203
Treonil-tRNA sintetasa, 682, 682f
Treonina
  degradación de, 530–531
  en la síntesis de piruvato, 531f, 532
  estructura de, 39–40, 39f
  síntesis de, 550, 550f
  unión de carbohidratos a, 167, 167f
Treonina desaminasa, en la síntesis de isoleucina, 550, 550f
Treonina deshidratasa, en la degradación de aminoácidos, 525
Triacilgliceroles, 179, 183–184, 183f, 184f, 465, 498. *Ver también* Ácido(s) graso(s)
  almacenamiento de energía en, 183–184, 184f, 465
  digestión de, 241–242
  en el tejido adiposo, 183–184, 184f
  funciones de, 463
  hidrólisis de, 466–467, 466f, 467f. *Ver también* Metabolismo de los ácidos grasos, degradativo
  movilización de, 466, 466f
  resumen de, 463
  síntesis de, 498, 498f. *Ver también* Metabolismo de los ácidos grasos, síntesis en
  transporte mediante lipoproteínas de, 508–512
Tríada catalítica, en la activación de la quimotripsina, 136–138, 136f
Triclosán, 486
Trimetoprima, 565
Triosa fosfato isomerasa
  en la glucólisis, 275
  velocidad de reacción y, 94t
Triosas, 158
Tripsina, 238t, 239
  clasificación de, 95
  especificidad de, 94, 94f
Tripsinógeno, 238t, 239
Triptófano, **197**
  degradación de, 535, 535f
  en la síntesis de piruvato, 531f, 532
  estructura de, 38f, 39
  permeabilidad de la membrana al, 197, 197f
tRNA. *Ver* RNA de transferencia (tRNA)
tRNA cargado, 681
Trombina, especificidad de, 94, 94f

Ubiquinona. *Ver* Coenzima Q
UDP-glucosa
  en la síntesis de glucógeno, 437–438
  estructura de, **413, 438**
  síntesis de, 438
UDP-glucosa pirofosforilasa, 438
Ultracentrifugación, 76–78
Umami, 41
Unidad catalítica, de la ATP sintasa, 369, 369f
Unidad conductora de protones, de la ATP sintasa, 369, 425f
Unidad nicotinamida de NAD, síntesis de, 556
Unidades de medida
  factores de conversión para, A2
  prefijos para, A2
Unidades Svedberg, 77
Uniformidad, bioquímica, 3–4
Unión al ligando
  de los receptores hormonales nucleares, 652, 652f, 653f
  en la transducción de señales, 217–218, 218f, 223–226, 224f
Unión cooperativa
  enzima–sustrato, 116
  hemoglobina–oxígeno, 141, 144–145, 145f
Unión de proteínas a glicanos, 172–173
Uniones de Holliday, 621, 622f
Uracilo
  en la reparación del DNA, 619
  en la síntesis de timidilato, 563–564
  síntesis de, 619
Uracilo DNA glicosilasa, 619
Urato
  en el síndrome de Lesch-Nyhan, 569
  síntesis de, 567f
Uridilato, en la síntesis de nucleótidos, 558, 558f
Uridina, in RNA, 579
Uridina difosfato (UDP), en la síntesis de pirimidina, 559
Uridina difosfato glucosa. *Ver* UDP-glucosa
Uridina monofosfato (UMP), en la síntesis de nucleótidos, 558–559
Uridina monofosfato quinasa, en la síntesis de pirimidina, 559
Uridina trifosfato (UTP), en la síntesis de nucleótidos, 558
UvrABC, en la reparación mediante escisión de nucleótidos, 619

Vacuolas, 10f, 14
Valina
  conversión en succinil-CoA, 533, 533f
  degradación de, 533
  en la iniciación de la traducción, 690–691
  estructura de, 37, 38f
  síntesis de, 550–551, 550f
Valor S, 77
Vectores, 713–714
  expresión, 716, 716f
Vectores de expresión, 716, 716f
Velocidad máxima ($V_{máx}$), 108–110, 108f, 109f
Veneno de serpientes de cascabel, enzimas digestivas en, 242–243
Vesículas
  lipídicas, 197, 197f
  transporte, 12–13
Vesículas de transporte, 12–13
Vesículas forradas, 510
Vesículas lipídicas, 197, 197f
Vibrio fischeri, sensibilidad al quórum en, 630, 630f
Vida
  dependencia del agua, 4
  uniformidad de, 3–4
Virus, mecanismos infecciosos de, 173, 174f
Vitamina(s), A6–A15
  no coenzimas, 262–263, 262t
    estructura de, **263**
  transportadores de electrones ativados derivados de, 261–263, 262f, 262t
Vitamina A (retinol), 262
  estructura de, **263**
  insuficiencia relacionada con el alcohol de, 515
Vitamina B, 262t
  estructura de, **262**
Vitamina B_1 (tiamina), 262t, 280, 281, A6–A7
  insuficiencia de, 325–326, A7
Vitamina B_2 (riboflavina), **262,** 262t, A6–A7
Vitamina B_3 (niacina), 262t, 279, A8–A9
Vitamina B_5 (pantotenato), **260,** A8–A9
Vitamina B_6 (piridoxina), 545, **545**

Vitamina B_7 (biotina), 261t, 262t, 484, A10–A11
en la gluconeogénesis, 303, 303f
Vitamina B_9 (ácido fólico), 262t, A12–A13
insuficiencia de, 547, 569–570, A13
Vitamina B_{12} (cobalamina), 473, A12–A13
Vitamina C (ácido ascórbico), 262–263, 262t, **263,** A14–A15
como antioxidante, 55
estructura de, **263**
funciones de, 55
insuficiencia de, 55, A15
Vitamina D (calciferol), 262t, 263
en el desarrollo del hueso, 513–514
estructura de, **263**
funciones de, 514
insuficiencia de, 514
síntesis de, 513, 514f
Vitamina E, 262t, 263, **263**
Vitamina K, 262t, 263, **263**
Vitaminas coenzimas, 262t
Vitaminas que no son coenzimas, 262t. *Ver también* Vitaminas
$V_{máx}$ (velocidad máxima), 108–110, 108f, 109f

Withering, William, 204
Wyman, Jeffries, 114

Xantina, degradación de, 567f
Xantina oxidasa, 568Xantina, 567f, 568
Xeroderma pigmentoso, 620
Xilulosa 5-fosfato
en el ciclo de Calvin, 410f
en la ruta de las pentosas fosfato, 453f

Zimógeno(s)
activación de, 238–239, 239f
gástricos y pancreáticos, 238t
Zimógenos gástricos, 238t
Zimógenos pancreáticos, 238t
Zwitteriones, 36, 36f

Abreviaturas comunes en Bioquímica

A	adenina
ACP	proteína portadora de acilos
ADP	adenosina difosfato
Ala	alanina
AMP	adenosina monofosfato
Arg	arginina
Asn	asparagina
Asp	ácido aspártico
ATP	adenosina trifosfato
ATPasa	adenosina trifosfatasa
C	citosina
cAMP	AMP cíclico (adenosina 3′-5′- monofosfato cíclico)
cDNA	DNA complementario
CDP	citidina difosfato
cGMP	GMP cíclico (guanosina 3′-5′- monofosfato cíclico)
CMP	citidina monofosfato
CoA	coenzima A
CoQ	coenzima Q (ubiquinona)
CTP	citidina trifosfato
Cys	cisteína
Cyt	citocromo
DNA	ácido desoxirribonucleico
DNasa	desoxirribonucleasa
*Eco*RI	endonucleasa de restricción *EcoRI*
EF	factor de elongación
FAD	dinucleótido de flavina y adenina (forma oxidada)
$FADH_2$	dinucleótido de flavina y adenina (forma reducida)
fMet	formilmetionina
FMN	mononucleótido de flavina (forma oxidada)
$FMNH_2$	mononucleótido de flavina (forma reducida)
G	guanina
GDP	guanosina difosfato
Gln	glutamina
Glu	ácido glutámico
Gly	glicina
GMP	guanosina monofosfato
Gln	glutamina
Glu	ácido glutámico
Gly	glicina
GMP	guanosina monofosfato
GSH	glutatión reducido
GSSG	glutatión oxidado
GTP	guanosina trifosfato
GTPasa	guanosina trifosfatasa
Hb	hemoglobina
HDL	lipoproteína de alta densidad
HGPRT	hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa
His	histidina
Hyp	hidroxiprolina
IgG	inmunoglobulina G
Ile	isoleucina
IP_3	inositol 1,4,5-trifosfato
ITP	inosina trifosfato
LDL	lipoproteína de baja densidad
Leu	leucina
Lys	lisina
Met	metionina
miRNA	microRNA
mRNA	RNA mensajero
NAD^+	dinucleótido de nicotinamida y adenina (forma oxidada)
NADH	dinucleótido de nicotinamida y adenina (forma reducida)
$NADP^+$	nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (forma oxidada)
NADPH	nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (forma reducida)
PFK	fosfofructoquinasa
Phe	fenilalanina
Pi	ortofosfato inorgánico
PLP	piridoxal fosfato
PPi	pirofosfato inorgánico
Pro	prolina
PRPP	5-fosforribosil-1-pirofosfato
Q	ubiquinona (plastoquinona)
QH2	ubiquinol (plastoquinol)
RNA	ácido ribonucleico
RNasa	ribonucleasa
rRNA	RNA ribosómico
scRNA	RNA pequeño citoplasmático
Ser	serina
siRNA	RNA interferente pequeño
snRNA	RNA pequeño nuclear
T	timina
Thr	treonina
TPP	tiamina pirofosfato
tRNA	RNA de transferencia
Trp	triptófano
TTP	timidina trifosfato
Tyr	tirosina
U	uracilo
UDP	uridina difosfato
UMP	uridina monofosfato
UTP	uridina trifosfato
Val	valina
VLDL	lipoproteína de muy baja densidad



Bioquímica

Curso básico

Ideado a partir del texto clásico de bioquímica de Lubert Stryer, John Tymoczko y Jeremy Berg, **Bioquímica: Curso básico** se centra en los principales temas que se enseñan en un curso semestral de bioquímica. Con sus capítulos resumidos y ejemplos relevantes, este texto muestra la bioquímica como una parte de la vida cotidiana de los estudiantes e interdependiente con los demás campos del conocimiento científico, de modo que los contenidos resulten más fáciles de comprender y ayuden al lector a enriquecer su conocimiento del mundo.

Novedades en esta edición:

- Esta nueva edición incorpora los **avances y descubrimientos más recientes**, que han cambiado nuestra forma de pensar en relación con los conceptos fundamentales de la bioquímica y de la salud humana.
- **Técnicas experimentales.** En esta edición se han actualizado y ampliado las técnicas experimentales más importantes y novedosas.
- **El metabolismo en su contexto** son secciones que tratan la integración del metabolismo en relación con la dieta y la obesidad. Muestran cómo los productos de una ruta afectan a, o se ven afectados por, otros productos, con el objetivo de que los estudiantes vuelvan a considerar la bioquímica en su conjunto y tengan una visión global de ella.
- **Aspectos clínicos.** En estas secciones los estudiantes ven cómo los conceptos considerados afectan a un determinado aspecto de una enfermedad o de su curación y aprenden por qué esos conceptos son importantes para la vida humana y qué ocurre cuando la bioquímica se descontrola.
- **Aspectos biológicos.** Al igual que los Aspectos clínicos, estos apartados refuerzan el conocimiento de los estudiantes sobre los conceptos tratados a medida que aprenden cómo unos sencillos cambios en los procesos bioquímicos pueden tener efectos espectaculares.
- **Aspectos nutricionales.** Se proporcionan abundantes ejemplos de la relación subyacente entre la nutrición y la bioquímica, y se incorpora un apéndice de enzimas y coenzimas.
- **Enseñanza y aprendizaje.** Además de proporcionar un marco contextual atractivo para la bioquímica, a lo largo del libro se han incluido varias herramientas para que los estudiantes comprueben su grado de comprensión, refuercen las conexiones entre las diversas partes del libro y practiquen lo que han aprendido.
- **Materiales complementarios** para alumnos y profesores.

EDITORIAL
REVERTÉ

www.reverte.com