

3. Estructura de biomoléculas

Carmen Pueyo de la Cuesta, Juan López Barea

*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Campus Universitario de Rabanales,
Edificio Severo Ochoa, 14071-Córdoba*

RESUMEN

La comprensión de las relaciones entre estructura y función de las biomoléculas es básica en Bioquímica. Su estudio suele basarse en la observación de imágenes en dos dimensiones. Se pretende familiarizar a los alumnos con sus estructuras 3D formando modelos de biomoléculas y haciendo observaciones que les hagan comprender las bases estructurales de sus funciones. Los alumnos se organizan en grupos que reciben cierto número de átomos de C, N, O e H y enlaces con los que construirán las moléculas. Con las formadas por cada grupo y su combinación con las de su asociado, comprenderán las conformaciones de los azúcares y las diferencias entre polisacáridos estructurales o de reserva, de las bases nitrogenadas púricas y pirimidínicas, de los nucleósidos y la especificidad de los apareamientos entre bases, las diferencias entre ácidos grasos saturados e insaturados, la estructura 3D de los L-aminoácidos, el carácter plano del enlace peptídico, y las posibilidades de giro de los aminoácidos en relación al enlace peptídico.

Título corto: Estructura de biomoléculas.

Palabras clave: modelos moleculares; azúcares, ácidos nucleicos, ácidos grasos, L- y D-aminoácidos, péptidos.

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

1.1. Objetivos

Se pretende que los alumnos afiancen sus conocimientos sobre las estructuras tridimensionales de las biomoléculas explicadas en las clases de Teoría construyendo modelos de azúcares (mono y disacáridos), bases N, nucleósidos, pares de bases, ácidos grasos, aminoácidos y péptidos, y realizando observaciones programadas. Los alumnos deben ser capaces de responder a sencillas cuestiones, como las que, como ejemplo, se incluyen al final de la práctica.

1.2. Instrucciones

Los alumnos se organizan en ocho grupos. Cada uno construirá las moléculas indicadas; luego con el grupo asociado (1-2, 3-4, 5-6, 7-8) las combinarán en otras más complejas. Cada grupo recibirá un número de átomos de C (negro), N (azul), O (rojo) e H (blanco) y enlaces para formar las biomoléculas.

Antes de salir del laboratorio cada grupo recontará y devolverá el material recibido. Si se rompe o pierde algún elemento responderá el grupo entero.

2. LISTADO DEL MATERIAL NECESARIO

Cada grupo recibe un estuche con material del "Cochranes Molecular Model Kit/Biochemistry" (Aldrich Z18,476-4) relacionado a continuación (Figura 1): 9 C (tetavalente), 8 C (trivalente), 2 N (tetavalente), 6 N (trivalente), 3 O (divalente), 4 O (monovalente), 3 H (divalente), 7 H (monovalente), 21 enlaces largos y 15 cortos, 3 enlaces para puentes de H y 4 piezas de dobles enlaces. El listado de material preciso en cada molécula se indica tras las observaciones que los alumnos deben hacer sobre ellas.

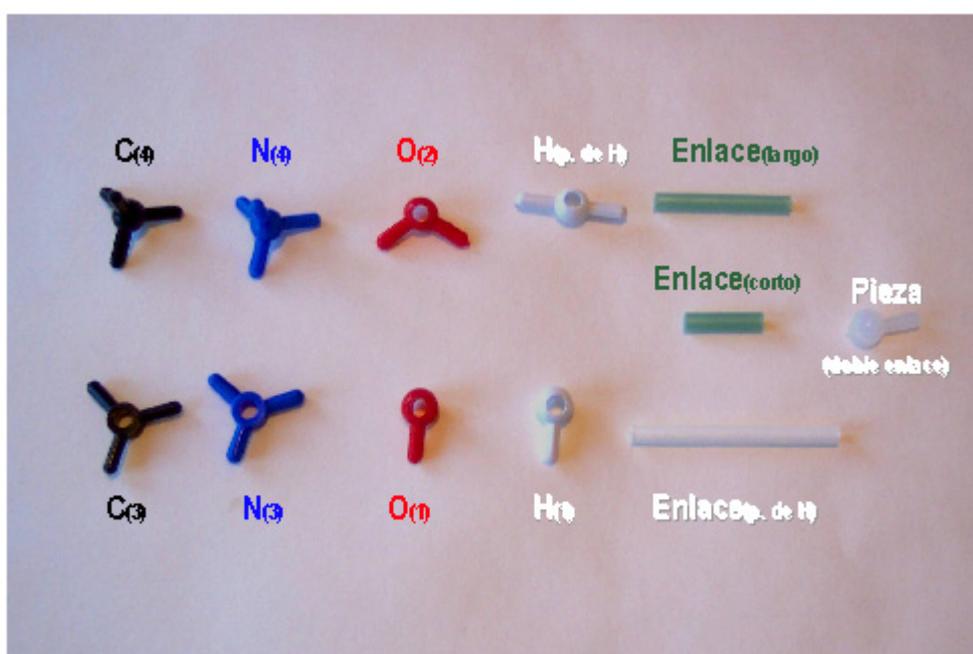


Figura 1. Átomos y enlaces del estuche. Se muestran los átomos (y valencias) de C, N, O e H y los enlaces con los que se unirán para formar las distintas moléculas.

Al final de la práctica el material se contará, se reorganizará en su estuche y se devolverá para que hagan prácticas los demás compañeros. Se nombrará un responsable en cada grupo, para que no se rompa o pierda nada.

3. PROTOCOLO A REALIZAR

3.1. Azúcares y oligosacáridos

Cada grupo construirá una molécula de la hexosa *D-glucopiranososa* (Figura 2) y se harán en ella las siguientes observaciones:

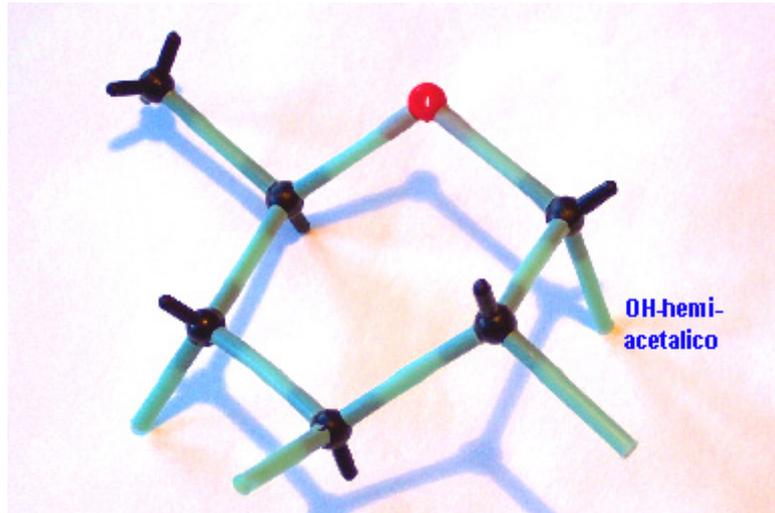


Figura 2. Estructura de la α -D-glucopiranososa. Modificando la estructura básica mostrada se harán las observaciones indicadas seguidamente.

1. Distinguir entre las conformaciones silla y bañera, alterando la posición del C_1 en el anillo piranósico respecto del plano formado por C_2 , C_3 , C_5 y O , manteniendo las posiciones de los restantes C de la molécula.
2. Diferenciar los anómeros α y β , en base a la orientación del $-OH$ hemiacetálico situado en el C_1 del anillo.
3. Diferenciar entre las posiciones axiales y ecuatoriales de los sustituyentes laterales del anillo piranósico.
4. Comprobar la dirección de los grupos voluminosos, $-OH$ y $-CH_2OH$ en las moléculas de α -D-glucopiranososa y β -D-glucopiranososa

Materiales: 6 C(4), 1 O(2), 11 enlaces largos.

Los grupos asociados (1-2, 3-4, 5-6, 7-8) unirán las moléculas de glucosa ya formadas para construir dos disacáridos. Primero formarán maltosa [O - α -D-glucopiranosil(1-4')- α -D-glucopiranososa] (Figura 3), base de las cadenas de glucógeno y almidón, los principales polisacáridos de reserva.

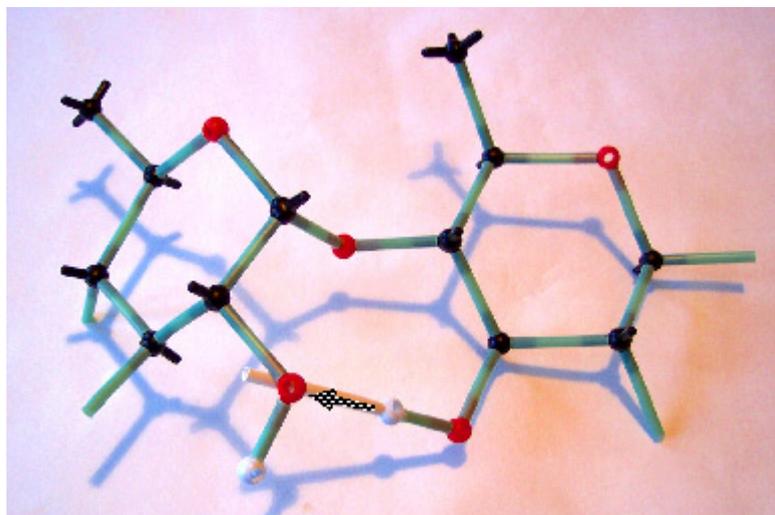


Figura 3. Estructura de la maltosa [O - α -D-glucopiranosil(1-4')- α -D-glucopiranososa]. La flecha muestra un puente de H que se forma entre el $-OH$ del C_3' y el del C_2 .

Luego, reorganizarán sus glucosas en celobiosa [O-β-D-glucopiranosil(1-4')-β-D-glucopiranososa] (Figura 4), base de las cadenas de celulosa, principal polisacárido estructural, y harán las siguientes observaciones:

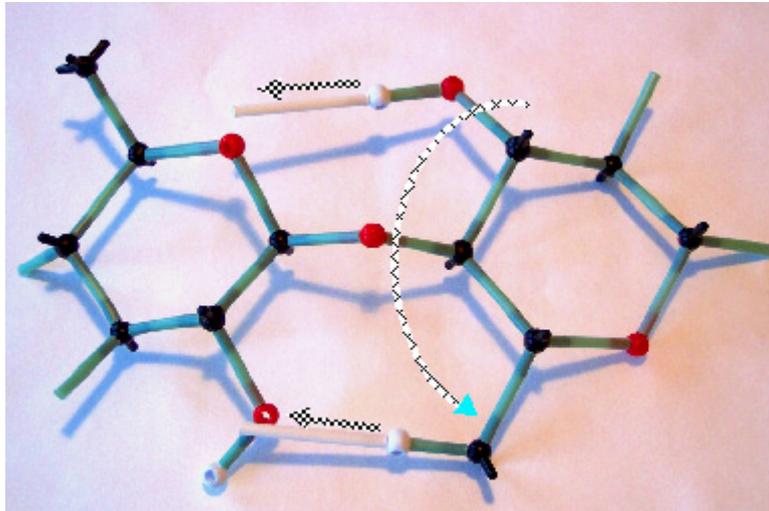


Figura 4. Estructura de la celobiosa [O-β-D-glucopiranosil(1-4')-β-D-glucopiranososa]. Hay dos puentes de H entre el -OH del C3' y O y el -OH del C6' y el C2.

5. Maltosa: el plano de la 2ª glucosa está inclinado respecto a la 1ª, y forma con ella un puente de H. Esto explica que al unirse muchas D-glucosas por enlaces α(1-4') se forman estructuras helicoidales, típicas de los polisacáridos de reserva, al acumular mucho azúcar en poco espacio.
6. Celobiosa: girar 180° la segunda molécula de glucosa y comprobar que se pueden formar dos puentes de H, y que los residuos glucosilo se disponen en forma horizontal y en línea recta que pueden originar fibras.

Materiales: 2 D-glucopiranosas ya formadas, 1 O(2).

3.2. Bases nitrogenadas y nucleósidos

Cada grupo construirá una molécula de la pentosa D-ribofuranosa (Figura 5), componente glucídico de los ácidos ribonucleicos (RNAs), que se unen por enlaces fosfodiéster y a las que se unen las bases nitrogenadas.

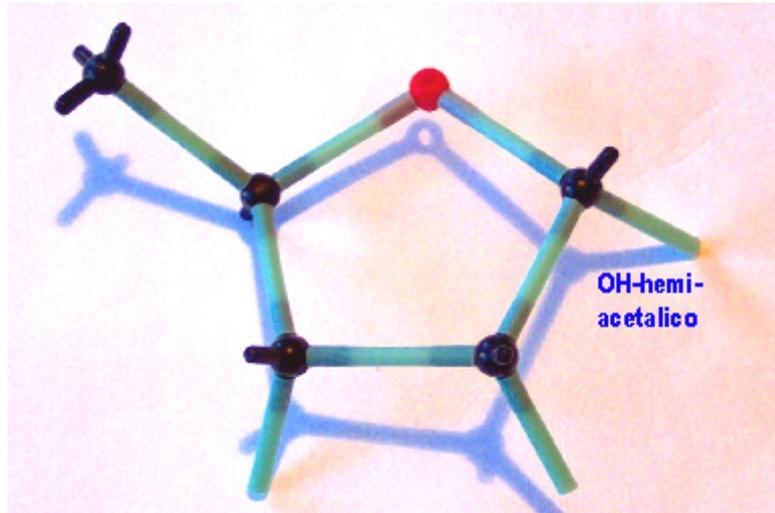


Figura 5. Estructura de la α -D-ribofuranosa.

Los alumnos harán las siguientes observaciones:

1. Comprobar las diferencias que hay entre las moléculas de D-ribosa y D-2-desoxiribosa, viendo que esta última, componente del ácido desoxirribonucleico (DNA), sólo puede formar enlaces fosfodiéster con los -OH de sus átomos C3' y C5'.
2. Comprobar la diferencia que hay entre las formas anoméricas β y α de la D-ribofuranosa, alterando de forma conveniente la orientación del -OH hemiacetalico, presente en su átomo C1'.
3. Comprobar que los distintos átomos que forman el anillo furanósico de ambas pentosas se disponen casi en el mismo plano y tiene conformación de sobre muy abierto. La forma mas abundante en el DNA es aquella que tiene desplazado hacia arriba del plano el C2' (C2'-endo). Los grupos conservarán la D-ribosa para posteriores actividades.

Materiales: 5 C(4), 1 O(2), 9 enlaces largos.

Cada grupo formará una base nitrogenada presente en los ácidos nucleicos, en concreto en el DNA. Los grupos 1 y 3 formarán adenina (A), 2 y 4 timina (T), 5 y 7 guanina (G) y 6 y 8 citosina (C) (Figura 6).

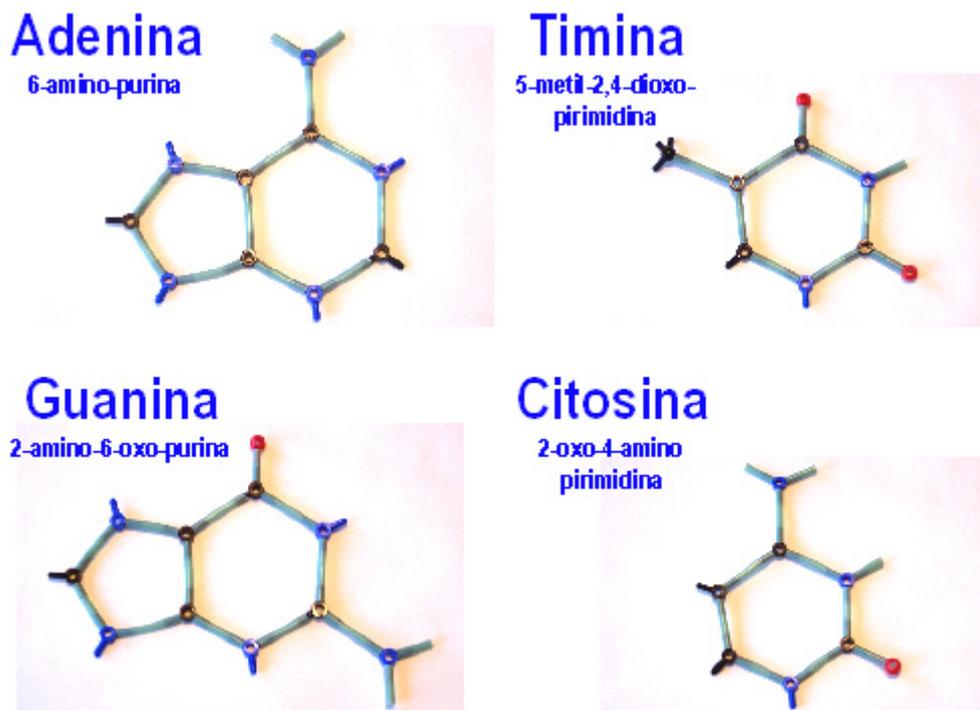


Figura 6. Estructura de la adenina, timina, guanina y citosina.

Los grupos harán las siguientes observaciones:

4. Comprobar que todas las bases tienen configuración plana, al tener sus anillos dobles enlaces conjugados que les dan carácter aromático.
5. Identificar el N9 de las bases púricas (A,G) y el N1 de las pirimidínicas (T,C). Con estos N las bases se unen al -OH hemiacetalico de las pentosas, formando enlaces β -N-glicosídicos, y originan los nucleósidos.
6. Identificar las regiones de las distintas bases que intervienen en la formación de puentes de H con otras adyacentes, y los grupos funcionales que pueden aceptar (C=O) o donar (NH) puentes de H.

Materiales: Adenina, 5 C(3), 5 N(3), 12 enlaces largos y 2 cortos (NH₂).

Guanina, 5 C(3), 5 N(3), 1 O(1), 12 enlaces largos y 4 cortos (C=O, NH, NH₂).

Timina, 4 C(3), 1 C(4), 2 N(3), 2 O(1), 8 enlaces largos y 3 cortos (C=O, NH).

Citosina, 4 C(3), 3 N(3), 1 O(1), 8 enlaces largos y 3 cortos (C=O, NH₂).

Cada grupo construirá un nucleósido (e.g. Figura 7), uniendo la β -D-2-desoxirribofuranosa ya formada, y guardada, al comienzo de este apartado con la base que acaba de construir.

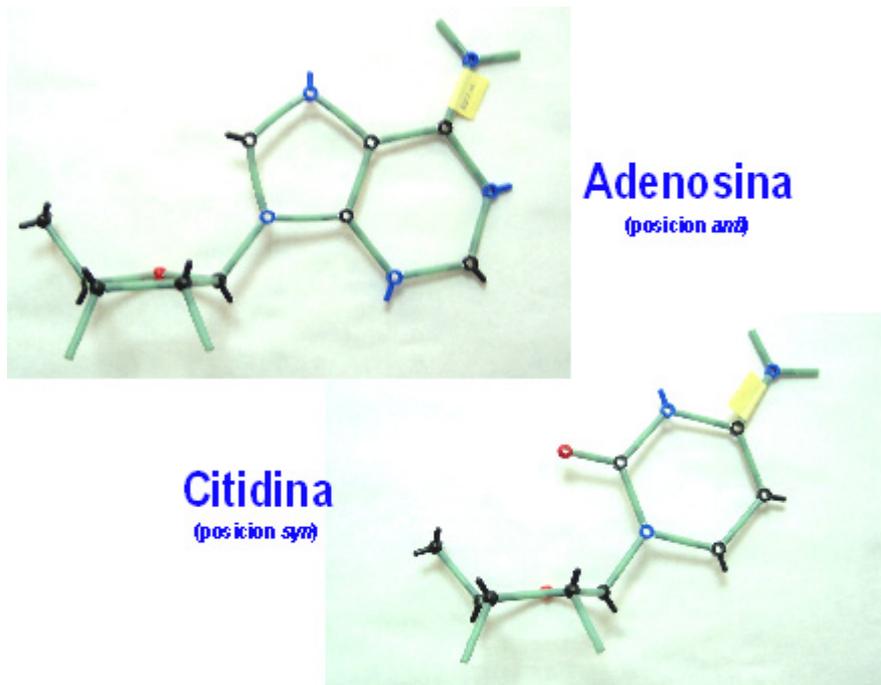


Figura 7. Estructura de la adenosina y la citidina. Adenosina se muestra en su conformación *anti*, y citidina en su conformación *syn*.

Para ello, el -OH hemiacetálico del $\text{C1}'$ de la pentosa se une por enlaces β -N-glicosídicos al N1 de las pirimidinas o al N9 de las purinas. Así se construirán cuatro desoxinucleósidos: desoxiadenosina (dA grupos 1 y 3), desoxiguanosina (dG gr 5 y 7), desoxitimidina (dT gr 2 y 4) y desoxicitidina (dC gr 6 y 8).

Los grupos harán las siguientes observaciones:

7. Comprobar las conformaciones *syn* y *anti* de las bases nitrogenadas respecto al azúcar. En *syn*, la base está girada hacia el azúcar, y el borde de ella que forma los puentes de H está sobre el anillo furanósico. En cambio, en la conformación *anti* el borde de la base con el que interviene en la formación de puentes de H se aleja del anillo furanósico. La conformación *syn* predomina en los nucleósidos y nucleótidos en solución, mientras que la *anti* predomina en el DNA.
8. Comprobar que la base se dispone en un plano perpendicular al que forma el anillo furanósico del azúcar. Esta conformación es de gran importancia en la estructura tridimensional del DNA, donde las bases son perpendiculares al eje central y los azúcares paralelos.

Los grupos unirán sus respectivos nucleósidos formando los siguientes pares de bases:

Par A:T (grupos 1-2 y 3-4) (Figura 8)

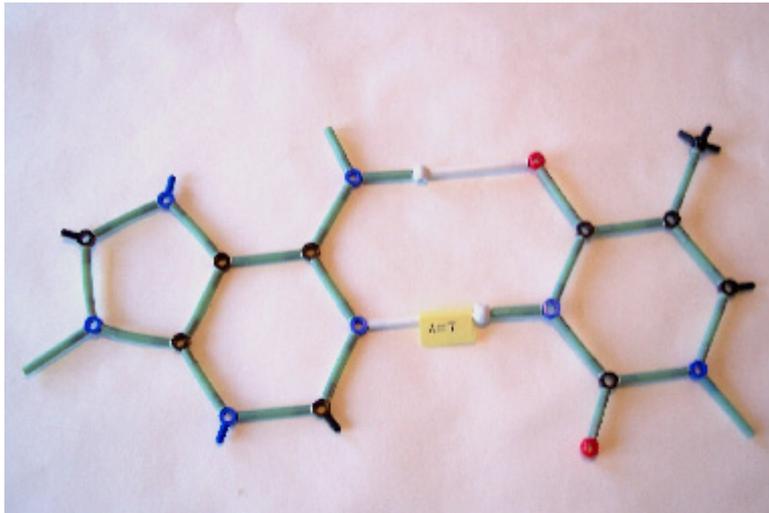


Figura 8. Estructura del par de bases adenina:timina.

Material: 1 adenosina, 1 timidina, 1 O(2), 2 H(2), 2 puentes de H(blanco).

Par G:C (grupos 5-6 y 7-8) (Figura 9)

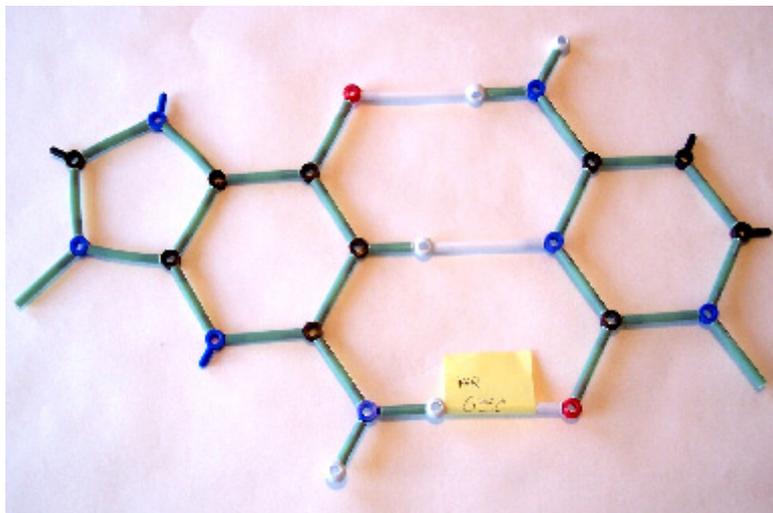


Figura 9. Estructura del par de bases guanina:citosina.

Material: 1 guanosina, 1 citidina, 2 O(2), 3 H(2), 3 puentes de H(blanco).

Los grupos harán las siguientes observaciones:

9. Comprobar que la adenina es incapaz de formar puentes de H con la citosina (0) y la guanina sólo puede formar uno con la timina (1). Esto significa que los puentes de H son muy específicos.
10. Superponer los pares A:T y G:C de dos grupos distintos. Comprobar en ellos que las dimensiones de ambos pares son similares en las cuatro orientaciones que son posibles [A:T/G:C, T:A/G:C, A:T/C:G, T:A/C:G].
11. Comprobar que los enlaces que unirían ambos pares de bases a las correspondientes pentosas forman casi el mismo ángulo en cualquiera de las cuatro orientaciones indicadas. Esto implica que ambos pares de bases son totalmente superponibles y caben bien en el DNA, sea cual sea su secuencia nucleotídica, propiedad esencial para una molécula de misión informativa.

3.3. Ácidos grasos

Formar una molécula de un ácido graso saturado de diez átomos de carbono [ácido decanoico, $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_8-\text{COO}^-$] (Figura 10).

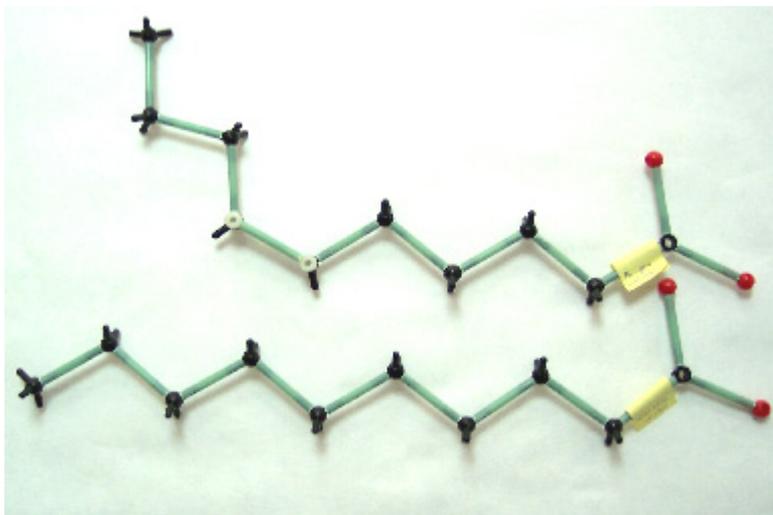


Figura 10. Estructuras del ácido decanoico y del ácido *cis*-6-decenoico.

Comprobar que la cadena hidrocarbonada de este ácido graso saturado puede disponerse en forma lineal debido a la absoluta libertad de giro que posee cada uno de los enlaces que unen sus sucesivos átomos de carbono, que los hace adoptar un forma totalmente extendida. El átomo de C trivalente se usará para formar el grupo carboxilo ($-\text{COO}^-$), cuyo doble enlace resuena entre los 2 O a los que se encuentra unido que, por lo tanto, tienen ambos carácter parcial de doble enlace.

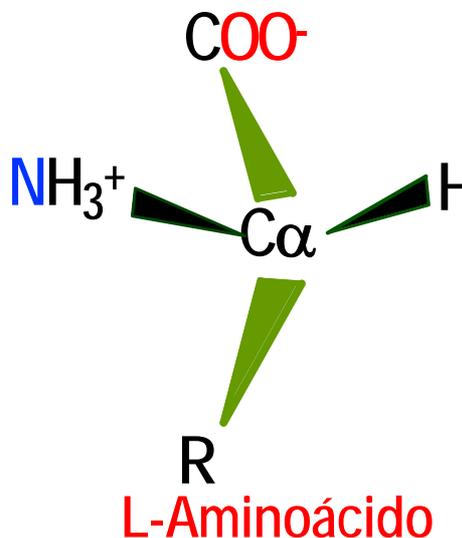
Materiales: 9 C(4), 1 C(3), 2 O (1), 11 enlaces largos.

Modificar el ácido graso introduciendo un doble enlace en configuración *cis* entre C_6 y C_7 [ácido *cis*-6-decenoico, $\text{C}_{10}:1^6$]. Comprobar que el doble enlace en *cis* obliga a la cadena a desviarse y formar un ángulo de unos 36° respecto a la dirección inicial de la cadena. Suponer lo que ocurriría si apareciesen dos o mas dobles enlaces en la misma cadena. Discutir las repercusiones de los dobles enlaces en la estructura y fluidez de las membranas

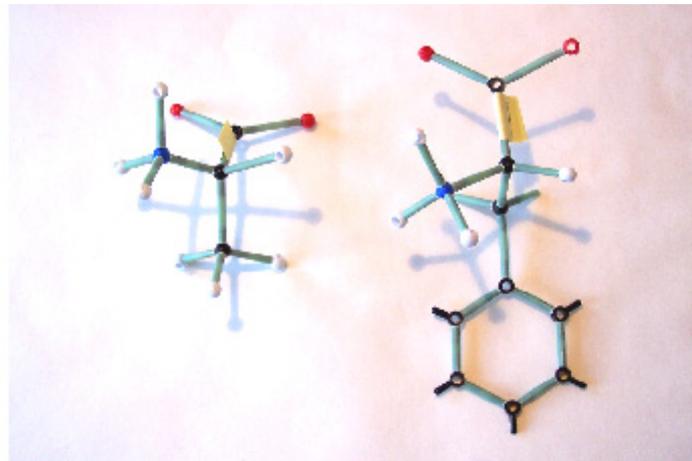
Materiales: 7 C(4), 3 C(3), 2 O(1), 12 enlaces largos y 2 piezas para dobles.

3.4. Aminoácidos y péptidos

Cada grupo construirá un L-aminoácido diferente. Un aminoácido L se distingue de uno D porque, como se ve en el esquema adjunto, al disponer su cadena carbonada en orientación vertical, con el grupo $\alpha\text{-COO}^-$ situado hacia arriba y dirigido hacia atrás y el resto de la cadena situado hacia abajo y dirigido hacia atrás, al mirar hacia su C_α el grupo $\alpha\text{-NH}_3^+$ está situado hacia la izquierda y el átomo de H hacia la derecha.

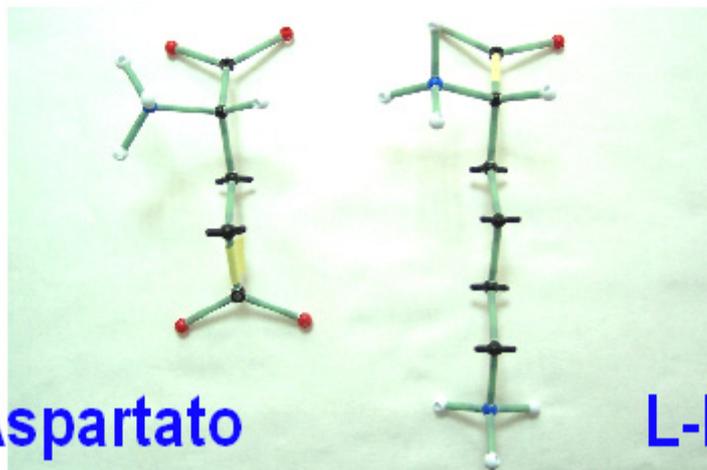


Los grupos 1 y 3 construirán el aminoácido L-alanina, 2 y 4 formarán moléculas de L-lisina, 5 y 7 formarán L-fenilalanina, y 6 y 8 construirán L-glutamato (Figura 11).



L-Alanina

L-Fenilalanina



L-Aspartato

L-Lisina

Figura 11. Estructuras los aminoácidos L-alanina, L-fenilalanina, L-aspartato y L-lisina.

Los grupos harán las siguientes observaciones:

1. Todos los aminoácidos formados deben tener configuración L. Si el grupo $\alpha\text{-NH}_3^+$, unido a su C_{α} , estuviese dirigido a la derecha, tras cumplir las orientaciones indicadas al comienzo de este apartado, serían de la serie D. Salvo raras excepciones, como en las paredes de ciertas bacterias, todos los aminoácidos naturales tienen configuración L.
2. Diferenciar entre los aminoácidos L-Ala y L-Phe. Los restos alifáticos ($-\text{CH}_3$) o aromáticos ($-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_6$) de estos dos aminoácidos son hidrofóbicos. Por esta razón ambos aminoácidos se sitúan alejados del agua en la estructura terciaria o cuaternaria de las proteínas (efecto hidrofóbico), muy importante en la estructura 3D de las proteínas.
3. Por el contrario, los aminoácidos L-Glu y L-Lys tienen otros grupos polares en sus cadenas laterales, además del α -amino y α -carboxilo. Así, el L-Glu posee un grupo $\text{R}-\text{COO}^-$ al final de su cadena lateral, con carga

negativa a pH 7. Además, la L-Lys posee un grupo $R-NH_3^+$ al final de su larga cadena lateral, con carga positiva a pH 7. Por ello, estos dos aminoácidos polares muy hidrofílicos se disponen en contacto con el agua en la estructura terciaria o cuaternaria de las proteínas.

Materiales: L-Ala, 2 C(4), 1 C(3), 1 N(4), 2 O(1), 4 H(1), 5 en. largos, 7 cortos (H). L-Phe, 2 C(4), 7 C(3), 1 N(4), 2 O(1), 4 H(1), 6 en. largos, 12 cortos (H, anillo). L-Lys, 5 C(4), 1 C(3), 2 N(4), 2 O(1), 7 H(1), 9 en. largos y 7 cortos (H). L-Glu, 3 C(4), 2 C(3), 1 N(4), 4 O(1), 4 H(1), 9 en. largos y 4 cortos (H).

Cada uno de los ocho grupos construirá un enlace peptídico (Figura 12).

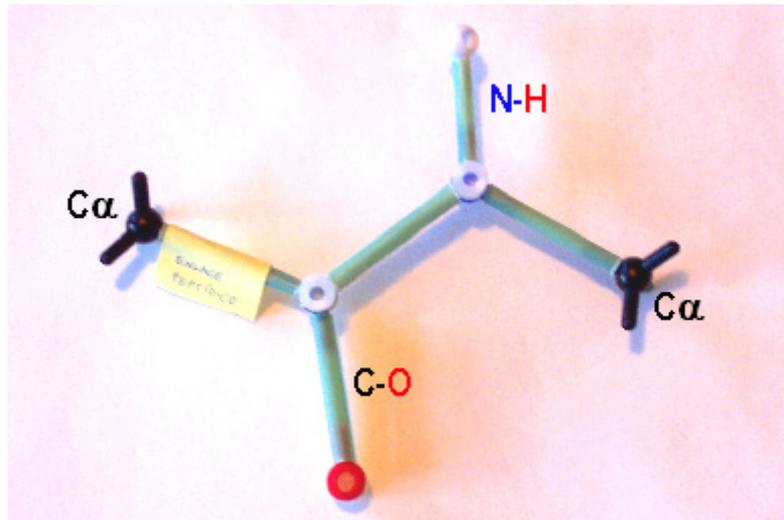


Figura 12. Estructura del enlace peptídico. Se muestran los dos $C\alpha$ unidos por el enlace y los grupos CO y NH que forman parte de él.

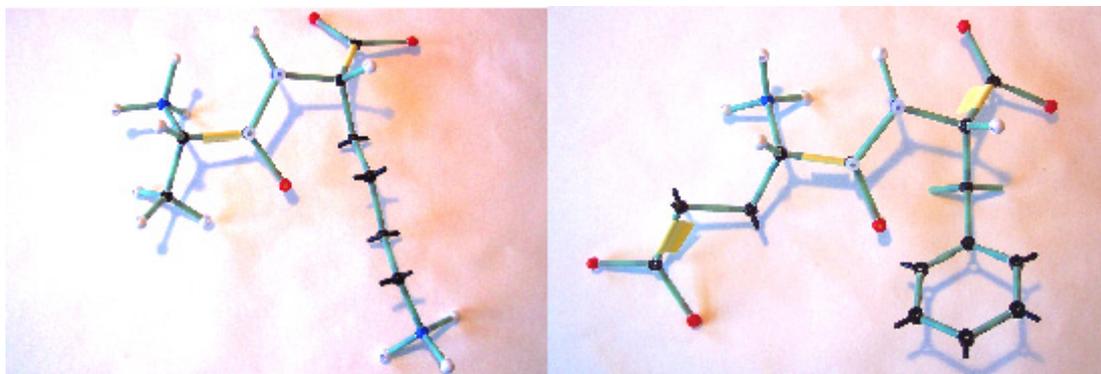
El carácter parcial de doble enlace de la agrupación O–C–N del enlace peptídico se consigue añadiendo un segundo enlace entre los átomos O–C y otro entre C–N. Esto se logra añadiendo en los orificios de los átomos (que deben ser trivalentes) sendas piezas blancas entre las que se une el enlace adicional. Comprobar que así el enlace peptídico tiene configuración plana y es muy rígido, con lo que sólo tienen libertad de giro los enlaces que unen cada plano peptídico a los $C\alpha$ adyacentes (llamados Φ y Ψ). La rigidez de estos planos simplifica mucho las estructuras 2ª, 3ª y 4ª de las proteínas, al disminuir el número de enlaces de su estructura primaria que poseen libertad de giro.

Materiales: 2C(4), 1C(3), 1N(3), 1 O(1), 1 H(1), 6 enlaces largos y 1 corto, 4 piezas para dobles enlaces.

Cada dos grupos se asociarán para formar dipéptidos (Figura 13) con los aminoácidos que ya han formado y uno de los dos enlaces peptídicos construídos. Los grupos 1-2 y 3-4 harán alanil-lisina. Los grupos 5-6 y 7-8 formarán glutamil-fenilalanina. Se comprobará que los aminoácidos pueden adoptar muchas conformaciones al girar los enlaces que unen sus $C\alpha$ al plano peptídico, Φ y Ψ , todos los ángulos posibles. La configuración mas estable de los dipéptidos es aquella en la que ambos residuos están en direcciones opuestas respecto al plano peptídico que los une. Comprobar que al alterar el orden de los aminoácidos del dipéptido se obtienen estructuras distintas, pues

pierden diferentes partes de su molécula para formar agua durante su condensación. Es decir la secuencia de un péptido es muy importante.

Materiales: Ala, Lys y un enlace peptídico ya construido; Glu, Phe y un enlace peptídico.



Alanil-Lisina

Glutamil-Fenilalanina

Figura 13. Estructura de los dipéptidos alanil-lisina y glutamil-fenilalanina. Se muestran sólo una de las múltiples conformaciones al girar todos los ángulos posibles Φ y Ψ

4. RESULTADOS ESPERADOS

Los alumnos deben venir habiendo leído con atención el protocolo de la práctica. A lo largo de la práctica construirán las moléculas que se van indicando, siguiendo en el orden mostrado los modelos de las Figuras incluidas en el protocolo y todas aquellas otras, no incluidas en este protocolo, que se indican en las observaciones que deben realizar los alumnos.

Al final de esta práctica, los alumnos deberán ser capaces de contestar a una serie de preguntas relacionadas con la práctica, como las que se indican a modo de ejemplo en el apartado final. Estas preguntas servirán como control de asistencia y de aprovechamiento en la práctica. A modo de ejemplo se incluyen a continuación algunas preguntas tipo:

- ✓ ¿En qué posición (axial/ecuatorial) están los OH en la α -D-glucopiranososa?
- ✓ ¿Por qué está girado 180° el segundo residuo de glucosa en la celobiosa?
- ✓ ¿Es cierta la afirmación "las bases nitrogenadas del ADN están en conformación *syn*"?
- ✓ Escribir la fórmula completa de la desoxiadenosina.
- ✓ ¿Por qué los ácidos grasos saturados poseen un punto de fusión mayor que los insaturados de igual número de átomos de C?
- ✓ Representar un doble enlace en configuración *cis* y otro en *trans*.
- ✓ Escribir la fórmula completa del ácido graso C18:2^{9,12} y distinguir en su molécula las regiones polar y apolar.
- ✓ Escribir la fórmula completa de la L-fenilalanina y distinguir las regiones polar y apolar de su molécula.
- ✓ Representar en tres dimensiones la D-alanina.
- ✓ Escribir la fórmula completa del dipéptido L-alanil-L-glutamato.

5. DISCUSIÓN Y COMENTARIOS

Los resultados que se vayan obteniendo en el desarrollo de la práctica se discutirán de forma conjunta, en cada grupo y con los grupos asociados, y con el profesorado responsable de impartir la práctica, que responderá a las preguntas que le planteen los alumnos.

Por su parte, los profesores sondearán a los alumnos durante el desarrollo de la práctica para calibrar su comprensión de la estructura de las biomoléculas y su grado de cumplimiento de los objetivos planteados.

6. BIBLIOGRAFÍA COMENTADA

Devlin TM (2004): "Bioquímica, Libro de Texto con Aplicaciones Clínicas" (4ª ed. española), Editorial Reverté, Barcelona. Capítulos 2, 3, 12, 14 y 15. Excelente texto con especial dedicación a las aplicaciones médicas. Figuras en dos dimensiones, que no facilitan la comprensión de sus estructuras.

Louisot P (1977): "Bioquímica estructural" (1ª ed. española), Editorial AC, Madrid. Capítulos 3, 4, 6, 8 de la 1ª parte, 1-3 de la 2ª, 2 de la 3ª, y 1-2 de la 5ª. Aunque es el texto más detallado de estructura de biomoléculas, sus figuras son estrictamente bidimensionales.

Lowrie RS, Riley P (1973). "Biochemistry. Instructions and notes on the use of the Minit and Orbit molecular building system", Cochranes of Oxford Ltd, Oxford UK. Libro que describe los átomos y enlaces usados en el sistema Minit y las instrucciones detalladas para construir numerosas moléculas, incluyendo esquemas tridimensionales de muchas de ellas.

Mathews CK, Van Holde KE, Ahern KG (2002): "Bioquímica" (3ª ed. española), Addison Wesley, Madrid. Capítulos 4, 5, 9 y 10. Otro excelente texto general de Bioquímica. Sus figuras son mejores que en los anteriores, incluyendo algunas en tres dimensiones aceptables.

Nelson DL, Cox MM (2001) "Lehninger Principios de Bioquímica" (3ª ed. española), Ediciones Omega, Barcelona. Capítulos 5, 6, 9, 10 y 11. Uno de los más reputados textos. Sin embargo muestra la estructura de la mayoría de las biomoléculas en dos dimensiones.

Stryer L, Berg JM, Tymoczko JL (2003): "Bioquímica" (5ª ed. española), Editorial Reverté, Barcelona. Capítulos 3, 5, 11, y 12. Con diferencia es el texto general que muestra las mejores figuras en tres dimensiones de todas las moléculas, aunque muchas de ellas son mejorables.

Un comentario general a la bibliografía es la falta de estructuras en 3D de la mayoría de los libros de texto, y las presentaciones hechas en clase de teoría. Esto justifica el interés de la práctica, en la que los alumnos deben formar modelos de muchas moléculas y comprender mejor su estructura.