

Estructura de Proteínas

Agosto de 2007

Introducción

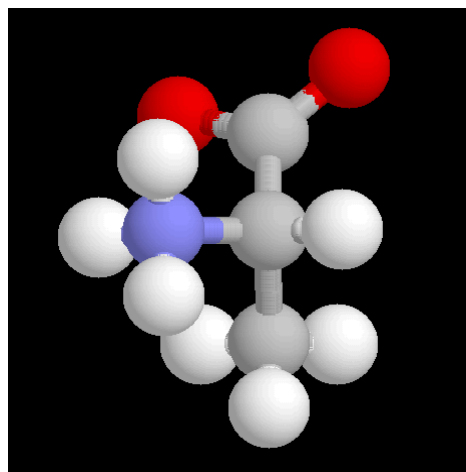
En esta guía, estudiarás la estructura de las proteínas. Inicialmente, conocerás la estructura tridimensional de los aminoácidos individuales. Después, analizarás la estructura de los enlaces peptídicos y las cadenas laterales de los aminoácidos en algunos oligopéptidos. Para terminar, estudiarás los niveles estructurales de las proteínas. Cuando sea necesario, aprenderás a usar nuevos comandos de **RasMol**. Si surge alguna duda respecto de los comandos ya conocidos, consulta el documento **Tutorial de RasMol** y si aún no la puedes resolver acude al profesor.

Para este tema debes descargar el archivo **Moléculas03.zip** y guardarlo en **Mis documentos**. Una vez guardado, busca el archivo en **Mis documentos** y desempaca la carpeta **Moléculas03** en **Mis documentos**. También en **Mis documentos**, crea una carpeta que tenga por nombre tus apellidos seguidos de la palabra Proteínas (ejemplo **Gonzales Moreno Proteínas**), esta será tu carpeta de trabajo, en la cual debes grabar todas las imágenes que se te pida que guardes durante esta sesión.

Estereoquímica de los aminoácidos proteínicos

Las proteínas naturales sólo contienen aminoácidos α -L ó **2S**; usaremos **RasMol** para visualizar la estructura tridimensional de este tipo de aminoácidos.

Arranca **RasMol** y abre el archivo **Ala.pdb** que esta en la carpeta **Moléculas03** que acabas de desempacar. Usa el menú **Display**, para visualizar la molécula en formato de **Ball & Sticks**. Recuerda que la molécula está coloreada según el código **CPK** (C = gris, H = blanco, O = rojo y N = azul). Para comprobar que este archivo corresponde a la forma **L**, selecciona el carbono alfa como centro de rotación (**set picking centre** y *clíc* sobre él) y gira la molécula para visualizarla según la convención de **Fischer** (ver **Esquema 1** del **Apéndice** al final de esta guía). La imagen debe verse como la figura de la derecha, con el radical α -amino hacia adelante y a la izquierda.



En otra ventana de **RasMol**, abre la molécula **dAla.pdb**, que también se encuentra en la carpeta **Moléculas**. Este archivo contiene las coordenadas de la **D-Alanina**. Visualiza la molécula en modo **Ball & Sticks** y oriéntala según la convención de **Fischer**, para que compruebes que efectivamente este par de enantiómeros son imágenes en el espejo uno del otro. Rota la imagen, sin importar que giros realices con esta molécula, no es posible que la imagen sea exactamente igual a la de **L-Alanina**. Guarda la imagen de la **D-Alanina** orientada según la convención de **Fischer**, en la carpeta de trabajo de **Mis Documentos**, usando la opción **GIF** del menú **Export**, con nombre **dAla**.

Cierra el archivo de la **D-Alanina**, sin cerrar la ventana, y abre **Asp.pdb**. Repite las maniobras que realizaste con la **L-Alanina**. En una tercera ventan, abre el archivo de co-

ordenadas de la Arginina (**Arg.pdb**) que se encuentran en la misma carpeta. Oriéntala igual que las anteriores. Podrás ver que al orientar los grupos carboxilo y amino de las tres moléculas siguiendo la convención de **Fischer**, la única diferencia entre ellas es la cadena lateral (**R**) que queda hacia atrás y en la parte inferior de la imagen. Guarda las imágenes de Aspartato y Arginina usando la opción **GIF** del menú **Export**, con nombre **Asp** y **Arg**, respectivamente, en la carpeta de trabajo. Cierra las ventanas del Aspartato y la Arginina. Repite el ejercicio de visualización con los otros aminoácidos de la carpeta, ya no es necesario guardar ninguna imagen. Todos los aminoácidos deben ser **L**, excepto uno ¿Cuál?

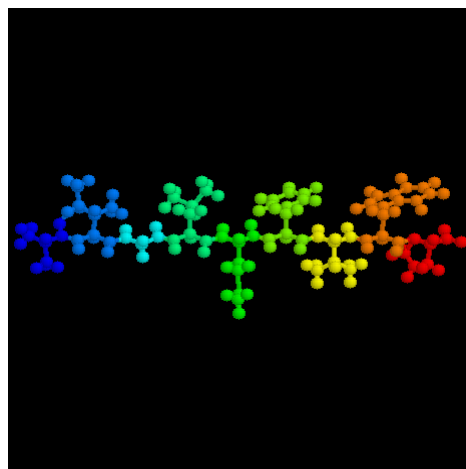
Visualización de aminoácidos en cadenas peptídicas

Al estudiar la estructura tridimensional de proteínas, es importante reconocer con facilidad los aminoácidos individuales en las cadenas, **RasMol** permite hacer esto en varias formas.

Cierra el archivo activo y abre **Nopolar.pdb**. Este archivo contiene las coordenadas de un oligopéptido formado exclusivamente por aminoácidos no polares. Gira la molécula para orientar su eje mayor en sentido horizontal, y ajusta el tamaño hasta que puedas verla completa en la pantalla.

Identificación de los extremos amino y carboxilo

Para una molécula pequeña como esta, una forma fácil para identificar los extremos es hacer *clic* **Colours – Group**. La cadena de aminoácidos se colorea de azul en el extremo amino terminal y va cambiando hasta el rojo, en el extremo carboxilo terminal. Sí es necesario, gira la molécula para que el extremo amino terminal quede del lado izquierdo de la ventana. Como recordarás, esta es la forma convencional de representar la secuencia de aminoácidos de las proteínas, cambia la visualización a modo **Ball & Sticks**, la imagen debe ser semejante a la figura de la derecha. Cambia el color a CPK e intenta identificar los aminoácidos que forman la cadena, comparando sus estructuras con las de la **Tabla 1** del **Apéndice**, que se encuentra al final de esta guía. Escribe la secuencia, usando símbolos de una letra y consérvala a la mano.



Etiquetas de identificación de aminoácidos

En la ventana de **Línea de Comandos** escribe el comando siguiente:

```
select alpha
```

Con este comando se seleccionan únicamente los carbonos alfa de la molécula. Ahora escribe:

```
label %n
```

RasMol escribe una etiqueta con el nombre del aminoácido (**%n**). Finalmente, cambia el color de las etiquetas a amarillo. Si las etiquetas se superponen y no se pueden leer bien, orienta la imagen de manera que puedas leerlas, pero manteniendo el extremo

amino del lado izquierdo de la ventana. Compara la secuencia de la pantalla con la que tu escribiste para darte cuenta si eres capaz de identificar los aminoácidos por su estructura o si necesitas repasarlos. Guarda la imagen del péptido marcado, con formato **GIF** y nombre **Nopolar**, en la carpeta de trabajo.

Además de las que ya conoces, el comando **label** de **RasMol** tiene otras opciones para desplegar información específica, los más útiles en el análisis de proteínas son:

| | |
|-------------------------------------|--|
| %a = nombre del átomo en el archivo | %c ó %s = identificación de la cadena |
| %e = símbolo del elemento | %i = número del átomo |
| %n = nombre del aminoácido | %r = número del residuo de aminoácido en la cadena |

Codificación de aminoácidos por color

Los esquemas de colores **Amino** y **Shapely**, se pueden usar para identificar aminoácidos o clase de ellos. Escribe en la línea de comandos:

colour amino

Revisa el color asociado a cada aminoácidos.

En otra ventana de **RasMol**, vuelve a abrir el archivo **Nopolar.pdb**, visualiza la molécula con las mismas propiedades que la anterior. Escribe en las línea de comandos:

colour shapely

Compara los colores que se asigna a cada aminoácido en los dos esquemas.

Repite el ejercicio de identificación por colores primero con el archivo **Polar.pdb** y después **lonico.pdb**, que se encuentran en la misma carpeta. Observa los tipos diferentes de colores que se asignan a cada clase de aminoácidos, trata de encontrar una regla.

El enlace peptídico y esqueleto de oligopéptidos

Cierra todas las ventanas abiertas menos una, en ella abre el archivo **1asm.pdb**. Primero, intenta identificar los aminoácidos, comparándolos con la tabla del **Apéndice**. Después, empleando el métodos para poner etiquetas que acabas de aprender, identifica los aminoácidos que forman el péptido. Ahora en la **Línea de comandos** escribe:

show sequence

En la ventana **Línea de Comandos** se muestra la secuencia de la cadena, comenzando en el extremo amino terminal.

Este método funciona con todas las proteínas y péptidos obtenidos del **Protein Data Bank**, porque tienen el formato completo. Cuando los archivos provienen de otras fuentes, la instrucción puede no funcionar.

Es posible obtener más información sobre el péptido haciendo *clíc* menú **File – Information**. Con este comando, se obtiene información de la molécula, que los autores escriben en el archivo de coordenadas:

- *Molecule name*. Es el nombre de la molécula. Puede o no estar presente
- *Classification*. Por lo general señala la función que realiza la proteína.

- **Brookhaven code.** Es el nombre del archivo de coordenadas, asignado por el **Protein Data Bank**.
- **Number of chains.** Si la proteína es simple, indica el número de cadenas de aminoácidos. Si tiene grupos conjugados, cada grupo no proteínico cuenta como una cadena adicional. Si sólo hay una cadena, este apartado no aparece.
- **Number of groups.** En las cadenas simples, corresponde al número de aminoácidos, en las conjugadas, al número de aminoácidos más el número de grupos conjugados.
- **Number of atoms.** Indica el número total de átomos de aminoácidos y entre paréntesis, el número total de átomos en el archivo, aunque no sean de aminoácidos.
- **Number of bonds.** Es el número de enlaces que el programa encontró en el archivo o que calculó, si no están incluidos en el archivo

Cuando algún dato no está incluido en el archivo, el apartado correspondiente no aparece en la ventana de información. Además, no todos los archivos ***.pdb**, contiene información.

Esqueleto continuo

En la línea de comandos escribe:

restrict backbone

Backbone, es el nombre en inglés que se usa en Bioquímica para referirse a la cadena continua o **esqueleto** de las proteínas, y **RasMol** lo usa para agrupar todos los átomos que la forman. Cambia la visualización a **Ball & Stick** y color a **CPK**. Escribe en la Línea de Comandos:

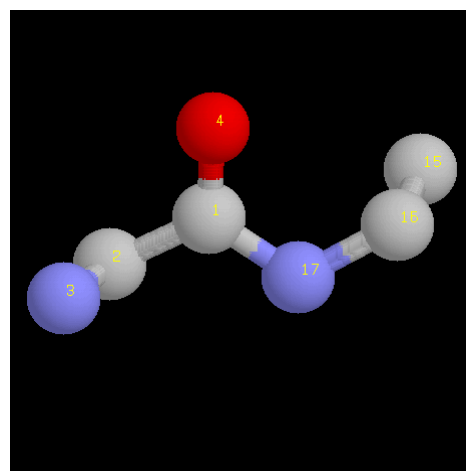
label %a

set fontsize 12

El segundo comando cambia el tamaño de letra a 12 puntos. Aumenta el tamaño de la molécula hasta que puedas ver claramente la secuencia de átomos de la cadena continua del esqueleto. Observa la secuencia repetitiva de átomos del esqueleto del péptido. ¿Que átomos forman la cadena continua?

Geometría del enlace peptídico

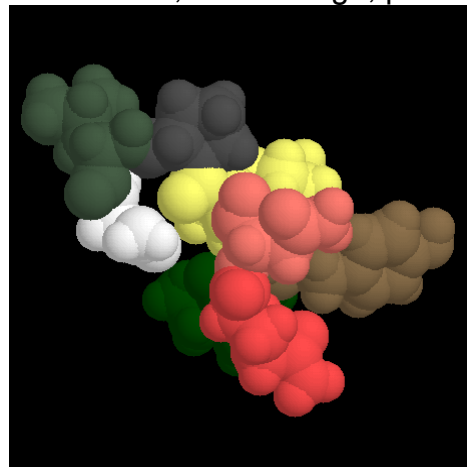
Cambia las etiquetas al número del átomo (**%i**). Haz un acercamiento al enlace peptídico formado por el carbono α -carboxílico (1) del Aspartato y el α -amino (17) de la Tiro-sina. La imagen debe ser semejante a la figura de la derecha. Aplica el comando **set picking distance**, para medir la distancia entre los átomos 1 y 17. El enlace peptídico es parcialmente doble, por lo tanto, su longitud debe ser menor que la del enlace sencillo, pero mayor que la del totalmente doble. Compara el valor medido, con los valores de la **Tabla 2** del **Apéndice**. Ahora mide las distancias del carbono alfa al carboxilo (2 – 1) y del amino al carbono alfa (17 – 16). Compáralos con los estándares tabulados.



Usando el comando **set picking torsion**, mide los ángulos ϕ (3-2-1-17) y ψ (1-17-16-15), equivalentes a los del **Esquema 2** del **Apéndice**, y compáralos con los valores estándar que se muestran en la **Tabla 3** del **Apéndice**. Por lo que toca al ángulo ω definido en el **Esquema 2**, aunque puede tener valores cercanos a 0° ó 180° , en la mayoría de las proteínas es de 180° . ¿El enlace del Aspartame, cumple con las condiciones estándar del enlace peptídico?

Simplificación de la estructura

Cierra el archivo activo y abre el archivo **5oxy.pdb**. Esta es la molécula de la hormona Oxitocina, un oligopéptido formado tan sólo por nueve aminoácidos, sin embargo, puedes ver que su estructura tridimensional es bastante compleja, y resulta laborioso identificar los aminoácidos individuales. Cambia la visualización a **Spacefill** y el color a **Shapely**. La imagen debe ser semejante a la figura de la derecha. ¿Que clase de aminoácidos forman la Oxitocina, polares, no polares o iónicos?



La forma más fácil de simplificar la estructura de péptidos y proteínas es con el comando **Backbone** de **RasMol**. Selecciona la opción **Backbone** del menú **Display**. La imagen que resulta se conoce como un **diagrama de carbonos alfa**, cada vértice de la línea corresponde a la posición de un carbono alfa. Esta forma de visualización resalta los rasgos principales del esqueleto.

Selecciona la opción **Ribbons** del menú **Display**. La imagen que se obtiene es semejante pero ahora el esqueleto se representa como un listón, que pasa por las posiciones de los átomos que forman el esqueleto continuo del péptido. Algo semejante se obtiene con el comando **Strands**, pero el listón está formado por líneas individuales.

Por último, cambia la visualización a **Cartoons**. Este comando también representa el esqueleto pero además codifica el tipo de estructura secundaria de la cadena, como se explica más adelante. El tipo de visualización empleado, depende del problema que se esté resolviendo.

Este tipo de imágenes son útiles para estudiar la estructura de las proteínas, pero en ocasiones es necesario representar otros detalles de la estructura, un ejemplo son los enlaces por puente bisulfuro como el que tiene la Oxitocina. Regresa la visualización a **Backbone** y escribe en la ventana Línea de comandos:

ssbonds

Se dibuja el enlace bisulfuro, para verlo con más claridad escribe:

ssbonds 40

El ancho de la línea dibujada aumenta, mientras mayor sea el número, mayor es el diámetro. Para eliminar el puente bisulfuro escribe:

ssbonds off

El enlace se dibujó entre los átomos de Azufre de los restos Cys₁ y Cys₆ de la Oxitocina, a pesar de que no están visibles. Para dibujarlo desde el esqueleto, escribe en la línea de comandos:

```
set ssbonds backbone
ssbonds
```

El enlace se dibuja entre los carbonos α de los restos de Cisteína de la cadena, resaltando la naturaleza cíclica de la molécula. Por omisión, el color del enlace bisulfuro es el mismo que el del esqueleto donde se genera, pero se puede cambiar, escribe en la Línea de Comandos:

```
color ssbonds cyan
```

Guarda la imagen con formato **GIF**, en la carpeta de trabajo con el nombre “**bisulfuro**”, y cierra el archivo.

Estructura primaria de las proteínas

Abre el archivo **1mbn.pdb**. Selecciona la opción **Information** del menú **File**. ¿De qué molécula se trata? Usa el comando **Backbone** del menú **Display** para mostrar el diagrama de carbonos alfa de la proteína. Cambia la coloración a **Chain**. ¿Cuántas cadenas de aminoácidos forman la proteína? Despliega la secuencia de aminoácidos escribiendo el comando **show sequence**, en la línea de comandos. ¿Cuántos aminoácidos tiene la proteína? ¿Qué restos ocupan los extremos amino y carboxilo?

Como te diste cuenta, esta información es fácil de obtener porque ya se conoce la estructura de la proteína. Sin embargo, aún hoy en día la determinación directa de la estructura primaria de las proteínas es una tarea difícil.

Estudio de los Grupos Conjugados

Para encontrar los grupos conjugados, cambia la visualización a **Spacefill**. La cadena de proteína queda de color azul y el grupo conjugado en rojo. Seleccionar sólo la proteína con el comando:

```
select protein
```

Cambia la visualización a **Wireframe**. ¿Cuál es el grupo conjugado de esta proteína? Has *click* sobre cualquier átomo del grupo conjugado y busca en la ventana de la línea de comandos el nombre que se le da en el archivo (es el último conjunto de símbolos, antes del número al final de la línea). En la ventana de línea de comandos de **RasMol** escribe el comando **select** y después el nombre que tiene el grupo conjugado en el archivo. Para comprobar que realizaste la seleccionaste correctamente, cambia la visualización a **Sticks** y el color a **CPK**.

El grupo hemo conjugado tiene un átomo de Hierro. En **RasMol** es posible seleccionar átomos individuales. Para ello se usa el comando **select** seguido del nombre del átomo a seleccionar, que es una expresión formada por el nombre de la cadena, grupo o resto de aminoácido al que pertenece, un punto y el nombre del átomo, para seleccionar el átomo de Hierro escribe:

```
select hem.fe
```

Comprueba que seleccionaste el Hierro cambiando la visualización a **Spacefill**, que es la única forma de visualización que funciona para átomos individuales. La imagen debe ser semejante a la figura de la derecha.

En este archivo hay un átomo de Oxígeno, de una molécula de O₂ unida al Hierro, que no se logró localizar completa en la difracción de rayos X, y que se llama **OH**. Selecciona dicho Oxígeno y cambia la visualización a **Spacefill** para visualizarlo.

Selecciona la proteína (**select protein**) y cambia la visualización a **Backbone** y el color a **Group**. Gira la molécula para que se vea claramente el Oxígeno y guarda la imagen obtenida en la carpeta de trabajo, con formato **GIF** y nombre **1mbn**.

¿Que aminoácidos se encuentran en contacto con el Hierro? Para contestar preguntas como esta, se usa el comando **restrict**. El formato del comando es:

restrict within (2.0,hem.fe)

Sólo se muestran en la pantalla los átomos que se encuentran a una distancia menor o igual a 2.0 Å del átomo de Hierro. Para ver los átomos, selecciona la opción a **Spacefill** del menú **Display**.

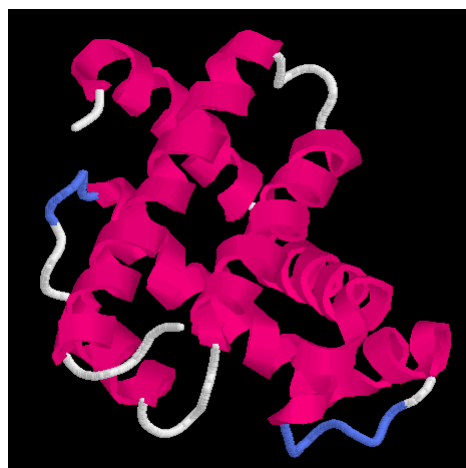
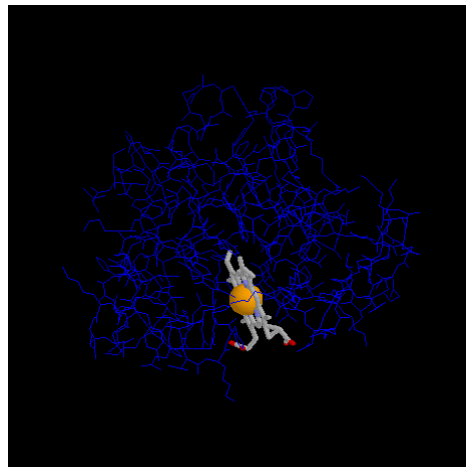
Repite el comando, aumentando 1.0 Å cada vez, hasta que sea visible algún átomo de la proteína. Marca el átomo encontrado usando el comando **label %a%r**. Continua aumentando la distancia hasta que puedas determinar cuáles son los dos aminoácidos más próximos al Hierro.

En la misma forma que lo acabas de hacer para el Hierro, utiliza el comando **restrict within** para identificar los aminoácidos que rodean a todo el grupo conjugado. Guarda la imagen generada en la carpeta de trabajo, con formato **GIF** y nombre **hemo**. ¿Qué tipo de aminoácidos rodean al grupo conjugado de la proteína?

Estructura Secundaria

Hélice α . Si es necesario, abre el archivo **1mbn.pdb**. Selecciona la apo-proteína con **select protein**. Usa las opciones **Cartoon** del menú **Display** y **Structure** del menú **Colours**. Se presentan los tramos de hélice α como espirales de listón de color rosa, las vueltas en azul y la estructura al azar en blanco, la imagen será semejante a la de la derecha. ¿Cuántos tramos de hélice- α tiene la Mioglobina?

Cambia la representación a **Backbone**, selecciona los carbonos alfa (**select alpha**) y márcalos con etiquetas que tengan el número del resto de aminoácido en la cadena (**%r**).



Haz *clíc* sobre el primero y el último vértice color rosa del segmento de hélice α más próximo al extremo amino. ¿Que número y nombre tienen el primero y el último resto de aminoácido de este segmento de hélice?

Selecciona este segmento de hélice escribiendo en la línea de comandos:

select número del resto inicial–número del resto final

Debes escribir sólo los números, sin nombres, de los aminoácidos. Ahora escribe:

save "c:\Mis documentos\"carpeta de trabajo"\alfa.pdb"

En lugar de "carpeta de trabajo" escribe el nombre de la carpeta en que estás guardando tus imágenes. Con este comando se guarda únicamente la porción seleccionada de la molécula.

Geometría de la hélice alfa. Para estudiar la geometría de la hélice alfa cierra el archivo actual y abre el archivo **alfa.pdb** que acabas de grabar en la carpeta de trabajo de **Mis documentos**. ¿Cuántos aminoácidos tiene el péptido?

Cambia el modo de visualización a **Ribbon** y el color a **Shapely**. ¿Cuántos giros da la hélice?

Cambia la visualización a **Ball & Stick** y el color a **CPK**. Usa los comandos siguientes para seleccionar el enlace peptídico central; recuerda que después de cada comando debes presionar <Enter>.

restrict backbone

label %i

color label white

restrict 10-11

zoom 300

El primer comando **restrict** visualiza únicamente el esqueleto continuo de la molécula. **Label** marca los átomos con el número que les corresponde en el archivo y **color label** asigna color blanco a las etiquetas. El segundo comando **restrict** aísla los dos aminoácidos que están a la mitad de la cadena y el **zoom** final aproxima los restos seleccionados. Si la computadora en que estás trabajando no acepta el valor de 300 en el **zoom**, usa el número más grande posible.

Con el comando **set picking distance**, mide las dimensiones de los enlaces entre Carbono α – Carbono carbonílico (61-62) enlace peptídico (62-67) y Nitrógeno – Carbono α (67-68). Compara los valores obtenidos con los de la **Tabla 1** del **Apéndice**.

Empleando el comando **set picking torsion**, mide los ángulos de torsión psi (ψ) (60-61-62-67) y fi (ϕ) (62-67-68-69). Compara los valores medidos con los estándar de la **Tabla 2** del **Apéndice**.

Puentes de Hidrógeno en la hélice α . Selecciona todos los átomos, borra las etiquetas, cambia la visualización a **Sticks** y haz **zoom 100** para visualizar toda la molécula. Los puentes de Hidrógeno se hacen visibles escribiendo en Línea de comandos:

hbonds

Aparecen todos los puentes de Hidrógeno del péptido. Repite el comando **restrict backbone**, para que poder observar los puentes de Hidrógeno mejor. Cambia el color de los puentes de hidrógeno a amarillo con el comando:

color hbond yellow

Para hacerlos más visibles usa el comando:

hbond 15

¿Cuántos puentes de hidrógeno hay en toda la molécula? ¿Cuántos puentes de Hidrógeno hay en cada vuelta completa de la hélice α ? Mide la distancia de enlace, de todos los puentes de Hidrógeno de la molécula. ¿Cual es el valor promedio de la distancia de enlace de los puentes de Hidrógeno de esta molécula?

Cadenas laterales en la hélice α . Borra los puentes de Hidrógeno con el comando **hbond off** y también las etiquetas. Cambia la visualización a **Backbone**, y colorea la imagen en modo **Amino**. Gira la molécula para verla a lo largo del eje mayor, observa que se aleja del punto de visión girando en el sentido de las manecillas del reloj, porque es una hélice derecha. En línea de comandos escribe

select sidechain

Ahora, selecciona la opción **Sticks** del menú **Display**. Guarda esta imagen en la carpeta de trabajo con formato **GIF** y nombre **Alfa**.

Cadenas β . Abre el archivo **2trx.pdb** que se encuentra en la carpeta **Moleculas03**, este archivo contiene la estructura de la enzima **Tiorredoxina**. Para mostrar la organización que tiene la cadena, usa el modo **Cartoon** y la opción de color **Structure**. Las regiones de cadena β se dibujan como flechas en el sentido amino-carboxilo y se colorean de amarillo. Observa la forma como se organizan las cadenas β , dividiendo la proteína en dos. Esta organización se conoce como una “pared” o “muro” β . La imagen debe ser semejante a la de la derecha. ¿Cuántos tramos de cadena β forman el muro?



Cambia la representación a **Backbone**, selecciona los carbonos alfa (**select alpha**) y márcalos con etiquetas que tengan el número del resto de aminoácido en la cadena (**%r**).

Haz *click* sobre el primero y el último vértice color amarillo del segmento de cadena β más próximo al extremo amino. ¿Que número y nombre tienen el primero y el último resto de aminoácido de este segmento?

Selecciona este segmento de cadena β escribiendo en la línea de comandos:

select número del resto inicial–número del resto final

Recuerdas que debes escribir los números de los restos. Guarda el segmento seleccionado en tu carpeta de trabajo, en la misma forma que hiciste con la hélice alfa, con nombre **beta.pdb**

Cierra el archivo actual y abre el archivo **beta.pdb** que está en la carpeta **Moléculas03**. Usa los comandos que aprendiste en el ejercicio anterior para visualizar los átomos del esqueleto continuo de los restos 8 y 9 y etiquétalos con el número de átomo (%i). Mide los ángulos de torsión ϕ (137-138-139-153) y ψ (139-153-154-155) del enlace peptídico entre los restos 8 y 9. Compara los valores medidos con los estándar de la **Tabla 2 del Apéndice**.

Borra las etiquetas, selecciona toda la molécula y gírala para verla a lo largo del eje mayor. Cambia la visualización a **Cartoon** y el color a **Structure**, observa como el esqueleto se aleja del punto de visión haciendo zig-zag con un ligero giro en sentido contrario a las manecillas del reloj. En la línea de comandos escribe

select sidechain

Visualiza las cadenas laterales en modo **Stick** y color **Amino**. Guarda la imagen en la carpeta de trabajo con formato **GIF** y nombre **beta**.

Hélice de Colágeno. Abre el archivo **2CLG.pdb** de la carpeta Moléculas. Este archivo contiene las coordenadas atómicas del Colágeno, la proteína más abundante en el organismo ¿Cuántas cadenas tiene esta proteína? En la línea de comandos escribe:

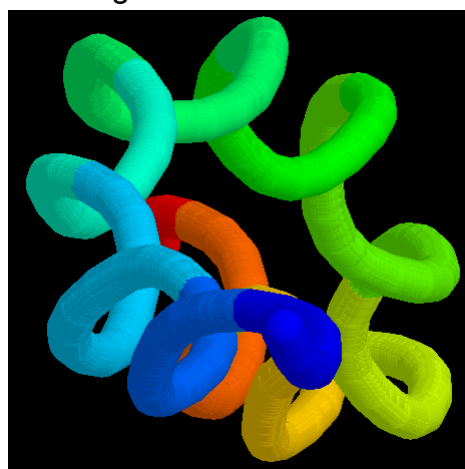
restrict *A

Con este comando se visualiza únicamente la cadena A, el asterisco es necesario para que se seleccionen todos los átomos de la cadena, si se omite el asterisco, no se selecciona nada.

Selecciona los carbonos α y márcalos con los nombres de los aminoácidos. Si las etiquetas se enciman, repite el comando **restrict *A**. ¿Qué aminoácidos se repiten en molécula?

Con los mismos comandos que usaste para la hélice α y la cadena β , visualiza el esqueleto continuo y marca los átomos con sus números. Restringe la visualización a los restos 18 y 19. Mide los ángulos de torsión ϕ (121-122-123-130) y ψ (123-130-131-132). Compara los valores medidos con los estándar de la **Tabla 2 del Apéndice**.

Borra las etiquetas, selecciona toda la molécula y cambia la visualización a **Cartoon** y el color a **Group**. Gira la molécula para verla a lo largo del eje mayor, observa como el esqueleto se aleja del punto de visión girando en sentido contrario a las manecillas del reloj, y al mismo tiempo la espiral formada tiene un giro en el sentido de las manecillas del reloj, la imagen debe ser semejante a la de la derecha. Selecciona las cadenas laterales con el comando **select si-**



dechain and *A, visualízalas en modo **Stick** y color **Amino**. Guarda la imagen en la carpeta de trabajo con formato **GIF** y nombre **Colágeno**.

Vueltas ó dobleces. Las vueltas o dobleces de las cadenas polipeptídicas, se clasifican con base en la posición de los enlaces por puente de Hidrógeno que los estabilizan y los valores de los ángulos de torsión ϕ (ϕ) y ψ (ψ) de los residuos que los forman.

Los dobleces más pequeños son los llamados dobleces gama u horquillas, formados únicamente por 3 residuos, con un enlace por puente de hidrógeno entre el carbonilo de residuo del extremo amino de la horquilla y el amino del residuo del lado carboxilo. El residuo central de este doblez tiene valores de $\phi \approx 80^\circ$ y $\psi \approx -65^\circ$. Este tipo de doblez es poco frecuente.

Las vueltas más comunes tienen cuatro residuos y un enlace por puente de Hidrógeno entre el carbonilo del residuo 1 y el amino del residuo 4. A veces se designan como **dobleces- β** , porque los mejores ejemplos se forman en cadenas- β . Se clasifican con base en los valores de ϕ y ψ de los residuos intermedios, como se muestra en la **Tabla 3 del Apéndice**. El tipo **I** es el más común.

Abre el archivo **3lzm.pdb** que está en la carpeta **Moléculas**. Este archivo contiene las coordenadas de una molécula de la enzima **Lisozima**. Cambia la visualización a **Ball & Stick** y el color a **Structure**, recuerda que las **hélices- α** son de color **rosa**, las **cadenas- β** de color **amarillo** y los **dobleces** de color **azul**. En la ventana de línea de comandos escribe los comandos siguientes:

```
Restrict backbone
hbonds on
hbonds 15
color hbonds green
select alpha
label %r
color label white
select
```

En la imagen que generaste, identifica los números de los aminoácidos que forman el doblez más cercano al extremo amino terminal. Borra los puentes de Hidrógeno (**hbonds off**). Selecciona los aminoácidos que componen este doblez escribiendo en la línea de comandos:

```
restrict 20-23
```

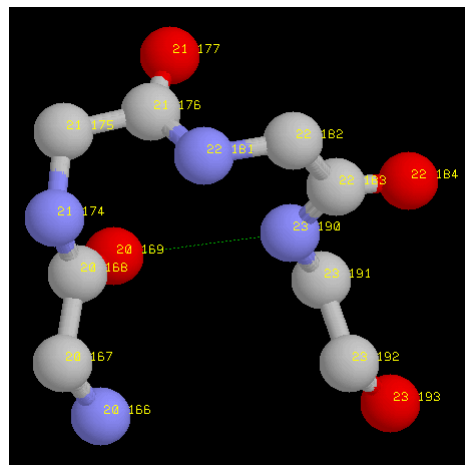
Cambia el color a **CPK** y haz un acercamiento al fragmento seleccionado. En la ventana de línea de comandos escribe:

```
hbond
label %r %i
restrict 20-23 and backbone
```

color label yellow

En este comando **restrict** se combinan dos condiciones mediante la opción **and** (y). La expresión requiere que los átomos seleccionados sean de los restos 20 a 23 **y** también que formen parte del esqueleto continuo. Se aplica para borrar las etiquetas de los átomos de las cadena laterales.

Selecciona como centro de rotación (**set picking center**) el carbono 176. Gira la molécula para que puedas ver todos los enlaces entre los restos intermedios, con el extremo amino del péptido del lado izquierdo, la imagen debe ser semejante a la de la derecha. En el archivo original, sólo se colorearon de azul los restos 21, 22 y 23, sin embargo, al visualizar los puentes de Hidrógeno, puedes ver que el doblez se inicia en el residuo 20 (resto 1), el Oxígeno (169) del carboxilo de este, forma un puente de Hidrógeno con el grupo amino (190) del resto 23 (resto 4). Por lo tanto, el doblez está formado por cuatro restos 20, 21, 22 y 23. Emplea cualquiera de los métodos que ya conoces para identificar el nombre de los cuatro restos. Los restos intermedios del doblez son los que no participan en el enlace por puente de Hidrógeno, el 21 (resto 2) y el 22 (resto 3).



Mide los ángulos de torsión ϕ y ψ de los restos intermedios del doblez. Resto 21 ($\phi = 168-174-175-176$ y $\psi = 174-175-176-181$). Resto 22 ($\phi = 176-181-182-183$ y $\psi = 181-182-183-190$).

Compara los valores obtenidos con los de la **Tabla 3** del **Apéndice**. ¿A qué grupo de la clasificación pertenece este doblez?

Compara la secuencia de aminoácidos del doblez, con las de la **Tabla 4** del Apéndice. ¿La secuencia que encontraste, es congruente con la clasificación del tipo de doblez?

Estructura Súper-secundaria

La estructura súper-secundaria de las proteínas está constituida por conjuntos de segmentos de hélice- α , cadena- β y dobleces, organizados en forma característica. Las estructuras super-secundarias se encuentran en forma consistente en varias proteínas de tamaño, función y secuencia diferentes. Las unidades básicas de la estructura súper-secundaria a veces reciben el nombre de **motivos estructurales**. Algunos de los motivos clásicos de la estructura súper-secundaria se enlistan en la **Tabla 5** del **Apéndice**.

Cierra el archivo activo y abre **2kau.pdb** que está en la carpeta **Moléculas**. Este archivo contiene las coordenadas de una molécula de la enzima **Ureasa** microbiana. En la ventana de comandos escribe:

restrict *A

Se visualiza sólo la cadena A de la enzima. Cambia la visualización a **Cartoon** y el color a **Structure**. Busca las secciones de estructura súper-secundaria ¿Cuántas estructuras super-secundarias encontraste y de que tipo?

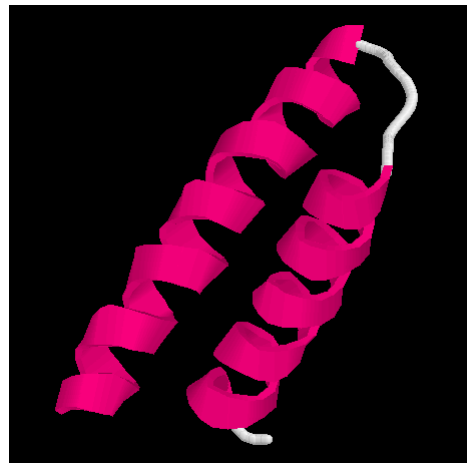
En el extremo amino de esta proteína hay una estructura super-secundaria de tipo **alfa – alfa**. Para seleccionarla escribe:

restrict 4-50 and *a

La imagen resultante debe ser semejante a la figura de la derecha. Activa los puentes de Hidrógeno. Dirígelos al esqueleto escribiendo en la línea de comandos:

set hbonds backbone

Observa que todos están ocupados en mantener la estructura de las hélices alpha y el doblaje que las separa. Guarda la imagen que generaste en la carpeta de trabajo, en formato **GIF**, con nombre **alfa_alfa**.



En el extremo carboxilo de la misma molécula hay un motivo **beta – beta**, para visualizarlo, selecciona toda la cadena A (***A**) visualízala en formato **Cartoons** y color **Structure**. Selecciona el motivo escribiendo en la línea de comandos:

restrict 78-97 and *a

Activa los puentes de Hidrógeno, desde el esqueleto continuo, igual que en el ejercicio anterior.

¿Puedes observar alguna diferencia entre la posición de los puentes de Hidrógeno en esta estructura super-secundaria respecto de la anterior? Guarda la imagen que generaste en la carpeta de trabajo, en formato **GIF**, con nombre **beta_beta**.

Dominios

Los dominios son regiones de una cadena polipeptídica, con forma tridimensional específica, semi-independientes de otras porciones de la cadena. Los dominios están separados entre si por regiones de estructura al azar, y por lo general tienen funciones específicas, que pueden repetirse en diferentes proteínas.

Cierra el archivo activo y abre el **1gc1.pdb**. Cambia la forma de visualización a **Cartoon** y el color a **Chain**. ¿Cuántas cadenas tiene esta proteína? Busca las cadenas que presenten regiones que puedan ser dominios. ¿Cuáles cadenas de la proteína tienen dominios? ¿Cuántos dominios hay en cada cadena?

Estructura Terciaria

En dos ventanas diferentes de RasMol abre los archivos **2clg.pdb** y **1mbn.pdb** que están en la carpeta **Moléculas03**. Estas moléculas son ejemplos clásicos de los tipos extremos de la estructura terciaria de las proteínas, la globular en **Mioglobina** y la fibrosa en **Colágeno**, ahora conocerás otras, que no se clasifican tan fácilmente.

Abre el archivo **1slk.pdb** en otra ventana de RasMol. Este archivo contiene la estructura cristalina de la **Seda**. Compara las tres estructuras ¿Que diferencia hay entre la estructura fibrosa del colágeno y de la seda? Guarda el archivo en la carpeta de trabajo en formato **GIF** y con nombre **seda**.

ta la imagen en la misma forma. ¿Qué diferencias observas entre ambas imágenes? Guarda el archivo en la carpeta de trabajo en formato **GIF** y con nombre **oxihb**.

Abre el archivo **1hds.pdb** el cual tiene las coordenadas de la **Desoxihemoglobina S**, Aplica los mismos comandos que en el caso anterior y orienta la imagen en la misma forma. ¿Qué diferencias observas respecto de las imágenes anteriores? Guarda el archivo en la carpeta de trabajo en formato **GIF** y con nombre **desoxihbs**.

Usando los comandos que aprendiste para la Ureasa, genera imágenes y determina las interacciones entre las cadenas A y B de la **desoxihemoglobina**, la **oxihemoglobina** y la **desoxihemoglobina S**. Guarda las imágenes en la carpeta de trabajo con formato **GIF** y los nombres **HBD**, **HBO** y **HBS**, respectivamente. ¿Cuántos pares de aminoácidos interactúan en cada caso? ¿Los aminoácidos que interactúan en los tres casos son los mismos?

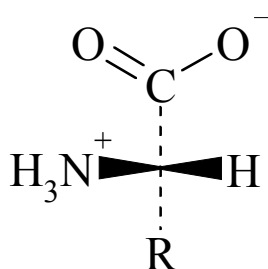
Muchos autores incluyen un nivel quinario de la estructura de proteínas. Nosotros lo revisaremos al estudiar los Ácidos Nucleicos.

Ahora abre el archivo Proteínas.doc que está en la carpeta Moléculas03 y resuélvelo; al terminar guárdalo en la carpeta de trabajo con tus imágenes y comprime la carpeta. envía el archivo comprimido, adjunto a un correo electrónico dirigido a:

bioquimica_esm@yahoo.com.mx

El mensaje debe tener como asunto **Proteínas**, e incluir el **nombre** y **grupo** de quien lo envía, y el nombre y contenido del archivo adjunto.

Apéndice



Esquema 1. Representación del carbono α de los aminoácidos según la convención de Fischer

Tabla 1. Estructura de los Aminoácidos proteínicos codificables

| Aminoácidos Alifáticos | | | | | |
|--|-------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|
| | | | | | |
| Glicina Gly G 2.34, 9.60 | Alanina Ala A 2.34, 9.69 | Valina Val V 2.32, 9.60 | Leucina Leu L 2.36, 9.60 | Isoleucina Ile I 2.36, 9.68 | Prolina Pro P 1.99, 10.60 |
| Glucogénico | Glucogénico | Esencial Glucogénico | No Polares Esencial Cetogénico | Esencial Mixto | Glucogénico |
| Aminoácidos Aromáticos e Hidroxilados | | | | | |
| | | | | | |
| Triptofano Trp W 2.39, 9.39 | Fenilalanina Phe F 1.83, 9.13 | Tirosina Tyr Y 2.20, 9.11 | Serina Ser S 2.21, 9.15, >13 | Treonina Thr T 2.63, 10.43, >13 | |
| No Polares | | | Polares Sin Carga | | |
| Esencial Mixto | Esencial Mixto | (1) Mixto | Glucogénico | Esencial Glucogénico | |

Aminoácidos Azufrados y Amídicos

| | | | |
|----------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| | | | |
| Metionina Met M | Cisteina Cys C | Asparagina Asn N | Glutamina Gln Q |
| 2.28, 9.21 | 1.71, 10.78, 8.33 | 2.02, 8.80 | 2.17, 9.04 |
| No Polar Esencial | Polares Sin Cargas | | |
| Glucogénico | (2) | | |
| Glucogénico | Glucogénico | Glucogénico | Glucogénico |

Aminoácidos Iónicos

| | | | | |
|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | | | |
| Lisina Lys K | Arginina Arg R | Histidina His H | Aspartato Asp D | Glutamato Glu E |
| 2.18, 8.95, 10.53 | 2.17, 9.04, 13.48 | 1.82, 9.17, 6.0 | 2.09, 9.82, 3.86 | 2.19, 9.67, 4.25 |
| Catiónicos | | | Aniónicos | |
| Esencial | (3) | | (3) | |
| Cetogénico | Glucogénico | Glucogénico | Glucogénico | Glucogénico |

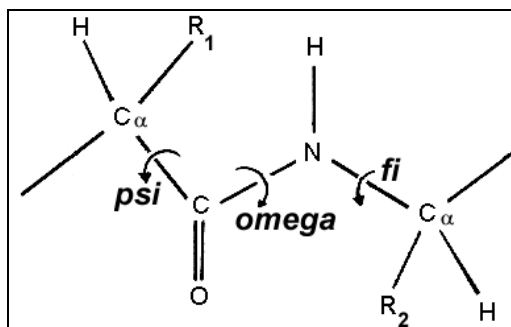
- 1) Esencial para los Fenilcetonúricos.
- 2) Requerido en dietas pobres en Metionina.
- 3) Requerido en individuos en crecimiento.

Tabla 2. Longitud estándar de enlace

| Enlace | Longitud / Å | Enlace | Longitud / Å |
|--------|--------------|--------|--------------|
| C—C | 1.54 | C—N | 1.43 |
| C=C | 1.34 | C=N | 1.38 |
| C≡C | 1.20 | C≡N | 1.16 |
| C—O | 1.43 | C—H | 1.00-1.09 |
| C=O | 1.21 | O—H | 0.96 |

Tabla 3. Ángulos de torsión en las estructuras secundarias de proteínas

| Ángulo | Hélice α | Cadena β | | Colágeno |
|--------|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------|
| | | Paralela | Antiparalela | |
| ϕ | -57° | -119° a -139° | -119° a -139° | -77° |
| ψ | -47° | $+113^\circ$ a $+135^\circ$ | $+113^\circ$ a $+135^\circ$ | $+146^\circ$ |



Esquema 2. Ángulos diedros del enlace peptídico

Tabla 3. Características de los dobleces- β

| Tipo | Residuo 2 | | Residuo 3 | |
|------|-----------|--------|-----------|--------|
| | ϕ | ψ | ϕ | ψ |
| I | -60 | -30 | -90 | 0 |
| II | -60 | 120 | 80 | 0 |
| III | -60 | -30 | -60 | -30 |
| V | -80 | 80 | 80 | -80 |
| Vla | -60 | 120 | -90 | 0 |
| Vlb | -120 | 120 | -60 | 0 |
| VIII | -60 | -30 | -120 | 20 |

Tabla 4. Residuos que favorecen o (dificultan) la formación de dobleces β

| Tipo | Residuo 1 | Residuo 2 | Residuo 3 | Residuo 4 |
|------|--------------------|-----------|-----------|-----------|
| I | Asp, Asn, Ser, Cys | Pro | (Pro) | Gly |
| II | Asp, Asn, Ser, Cys | Pro | Gly, Asn | Gly |
| Vla | | | Pro | |
| Vlb | | | Pro | |

Tabla 5. Tipos de estructura súper-secundaria

| Motivo | Descripción |
|---------------------------------|---|
| Alfa-alfa | Dos secciones de hélice α antiparalelas, unidas por un dobléz de 180° . |
| Beta-beta | Dos secciones antiparalelas de cadena β unidas por un dobléz de 180° . |
| Beta-alfa-beta | Dos cadenas β paralelas, separadas por una hélice α antiparalela a ellas, todas unidas por dos dobleces. |
| Alfa-beta-beta | Una hélice α , seguida de un par beta-beta. |
| Beta-beta-alfa | Un par beta-beta, seguido de una cadena α . |
| Beta-alfa-beta-alfa-beta | Dos estructuras beta-alfa-beta alternadas. También denominada Estructura de Rossmann |