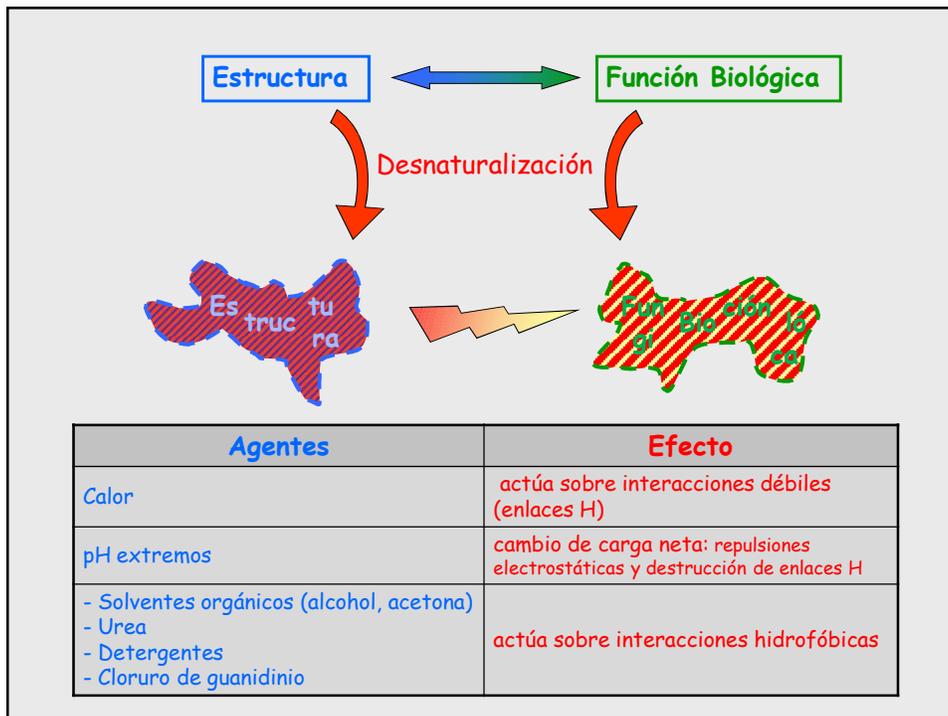


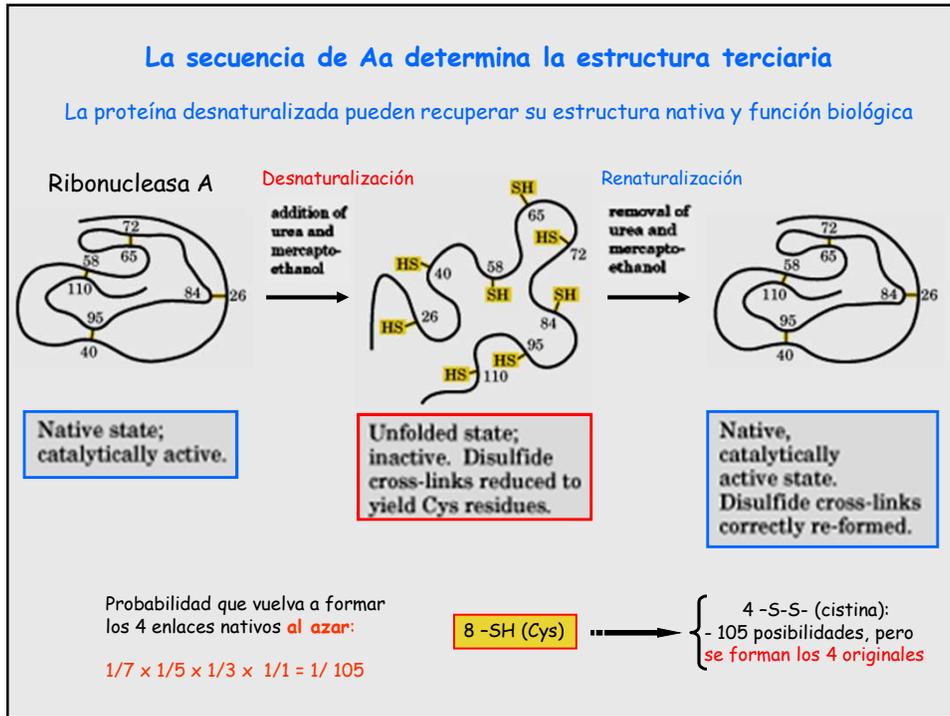
Contenido de la clase

- Formas estructurales de las proteínas
- Estructura secundaria de las proteínas
 - Hélice α (alfa)
 - Conformación β (beta)
- Estructura terciaria de proteínas
- **Desnaturalización y plegamiento**
- Plegamiento en la célula
- Estructura cuaternaria de las proteínas

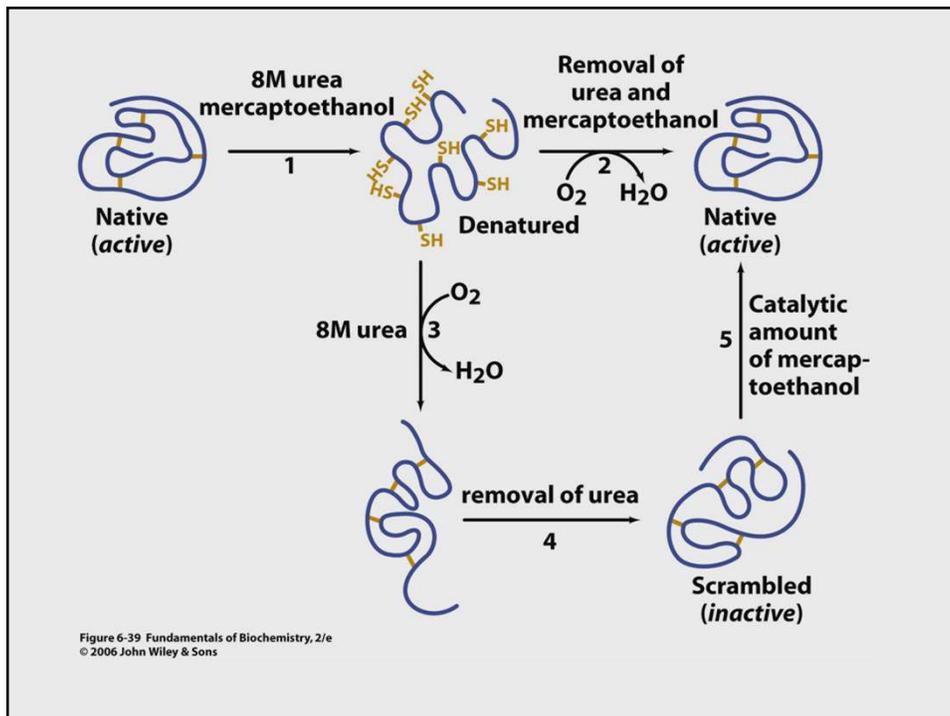
1



2



3



4

Inhibidor de la tripsina pancreática bovina (BPTI)

- Proteína con 58 R y 3 -S-S-, muy estable (bastante resistente a urea y shock térmico)

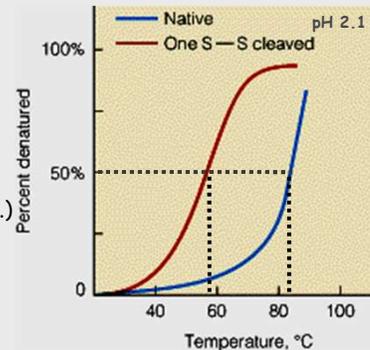
BPTI: reducción \Rightarrow 6 Cys

Re-oxidación aleatoria:

- 1° grupo -SH: 5 posibilidades
- 2° grupo -SH: 3 posibilidades
- 3° grupo -SH: una posibilidad

\Rightarrow 15 combinaciones igualmente posibles
 \Rightarrow ~7% BPTI se pliega con éxito por azar

Sin embargo ~100% de las moléculas (BPTI o otros ej.) muestran apareamientos correctos \Rightarrow es el plegado preferido el que ubica los -SH en posición correcta para formar los -S-S-, los que contribuyen a la estabilidad de la proteína



Conclusión: -S-S-: NO son esenciales para el plegado correcto, SÍ contribuyen a la estabilidad en la molécula plegada.

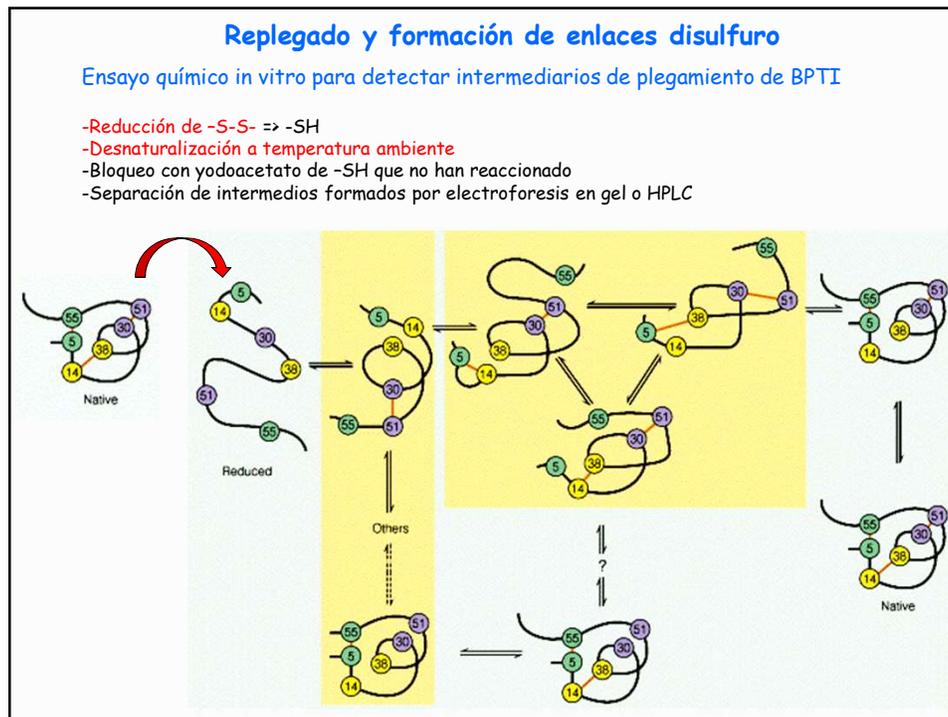
- Proteínas que tienen puentes -S-S- tiene menor N° de conformaciones posibles en la forma desplegada con respecto a una proteína comparable sin puentes \Rightarrow ganancia de "S" más pequeña \Rightarrow más estable.
- En el citoplasma celular existe un ambiente reductor \Rightarrow ausencia de -S-S- en proteínas, -S-S- presentes en algunas proteínas de exportación (medio extracelular oxidante \Rightarrow -S-S- estabilizados)

5

Contenido de la clase

- Formas estructurales de las proteínas
- Estructura secundaria de las proteínas
 - Hélice α (alfa)
 - Conformación β (beta)
- Estructura terciaria de proteínas
- Desnaturalización y plegamiento
- **Plegamiento en la célula**
- Termodinámica del plegamiento
- Estructura cuaternaria de las proteínas

6



7

La secuencia de Aa determina la estructura terciaria

La **similitud** entre las **estructuras terciarias** y las **secuencias de Aa** en proteínas homólogas (\neq citocromo c, \neq mioglobinas) llevó a la conclusión de que **la secuencia de Aa determina el modelo de plegamiento tridimensional**.

En **proteínas homólogas** muchos **R invariantes** se encuentran en puntos críticos:

- en los **giros** de la cadena o próximos a ellos,
- en los puntos de **entrecruzamientos** entre lazos de la estructura terciaria (Cys que forman -S-S-),
- en **centros catalíticos** (Ez), sitios de fijación de grupos prostéticos (p.ej. Hemo)

El **cambio natural** de un residuo por e.j. un **R invariante** => alterar la función de la proteína => **muerte** del organismo en estadios tempranos del **desarrollo** (selección natural) => imposibilidad de obtener información sobre la proteína.

La tecnología del DNA recombinante: **mutagénesis dirigida** => determinar la función de una secuencia específica.

8

La estructura terciaria no es rígida
 Las proteínas globulares presenta cierta flexibilidad

Cambios conformacionales

- unión de un ligando: Hb, receptor
- unión de un sustrato: enzima

Plegamiento de una proteína: rápido y en varias etapas
 Por ejemplo: una proteína de 100 Aa

- c/residuo (c/enlace simple) puede adoptar 10 conformaciones independientes
- la cadena podrá adoptar 10^{100} conformaciones
- velocidad de transformación de una conformación en otra muy rápida ($\approx 10^{-13}$ seg)
- tiempo promedio requerido para visitar todas las posibles conformaciones en el orden de 10^{81} años (edad del universo 15^9 años)

⇒ el plegamiento NO puede ser al azar (ensayo y error)

las proteínas generalmente adoptan su estructura tridimensional funcional en intervalos de milisegundos-segundos (nanosegundos).

- 5 segundos a 37°C en E.coli

The diagram illustrates the protein folding process. It starts with an 'Unfolded State' consisting of approximately 10^{100} different conformations, represented by several tangled lines. Arrows from these conformations point towards a central 'Intermediate' state, which is a partially folded structure with some regularity. From the intermediate, an arrow points to the final 'Folded state', which is a compact, globular structure.

9

Modelos de plegamiento

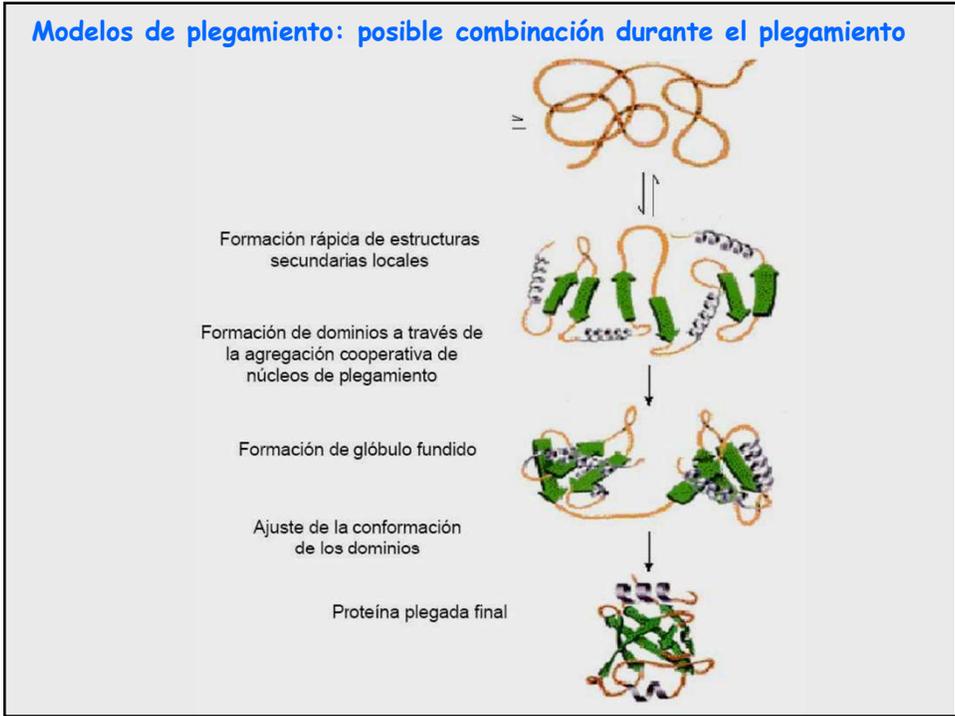
(a) Framework model
 (b) Hydrophobic collapse model
 (c) Nucleation-condensation mechanism

The diagram shows three pathways from an 'Unfolded state' (represented by a tangled line) to a 'Folded conformation' (represented by a globular structure):

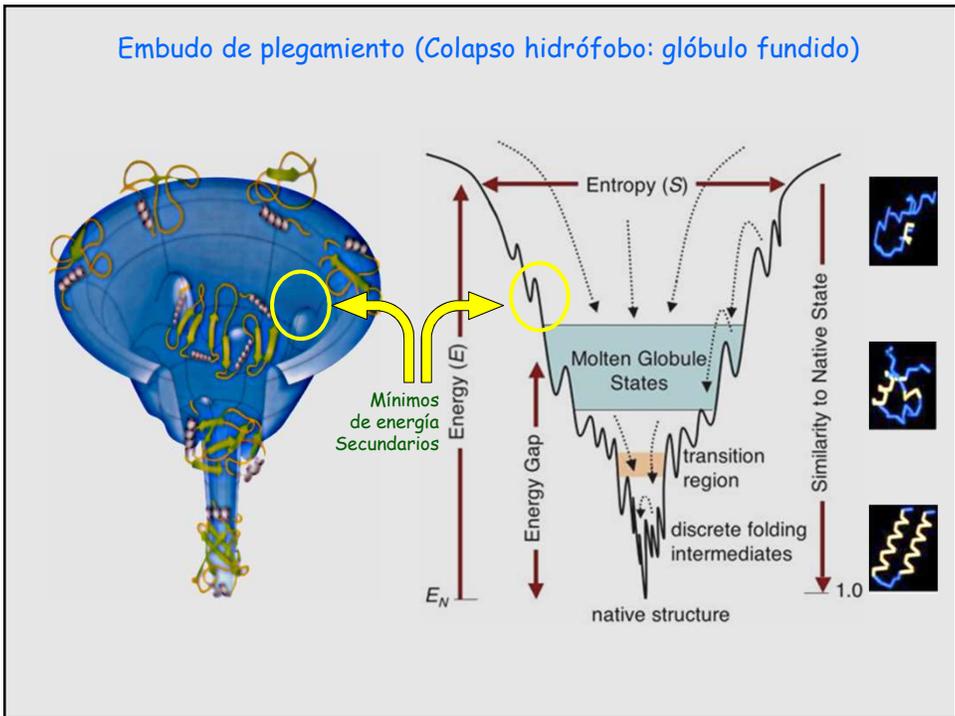
- (a) Framework model:** Labeled 'Formation of elements of secondary structure', it shows a red circle around a small alpha-helix and beta-strand. This is followed by 'Assembly of secondary structure'.
- (b) Hydrophobic collapse model:** Labeled 'Hydrophobic collapse', it shows the chain becoming more compact. This is followed by 'Growth of secondary structure'.
- (c) Nucleation-condensation mechanism:** Labeled 'Nucleation-condensation', it shows a 'Folding nucleus' (a small cluster of residues) and 'Pocos R adyacentes con interacciones estructurales secundarias correctas'. This is followed by 'Hierarchical assembly'.

Additional text in the diagram includes 'Interacción entre R hidrofóbicos' (Hydrophobic interaction between residues) and 'Folding nucleus'.

10



11



12

Plegamiento en varios pasos

1. **Formación de estructuras secundarias (α -hélice y β -lámina)**
Actúan como **núcleos de plegamiento**, estabilizando otras regiones ordenadas de la proteína
2. **Formación de dominios**
Por agregación cooperativa de distintos núcleos de plegamiento
3. **Formación del glóbulo fundido**
En proteínas con varios dominios, dichos dominios se agregan formando un glóbulo fundido
4. **Transformación del glóbulo fundido en una estructura terciaria que adopta la estructura nativa de una proteína monomérica**
Se logra mediante pequeños cambios conformacionales
5. **Adquisición de la estructura cuaternaria y obtención de la forma nativa**
Estructura cuaternaria exclusivamente en proteínas multiméricas

13

Interacción entre regiones de estructura secundaria

Formación de estructuras supersecundarias: "Motifs"

-Torsión dextrógira de la conformación β extendida, influye sobre la disposición de las hojas β y sobre la conformación del segmento que las conecta: **cadena que cruza dos hojas β paralelas, giro β , barril β y silla β .**

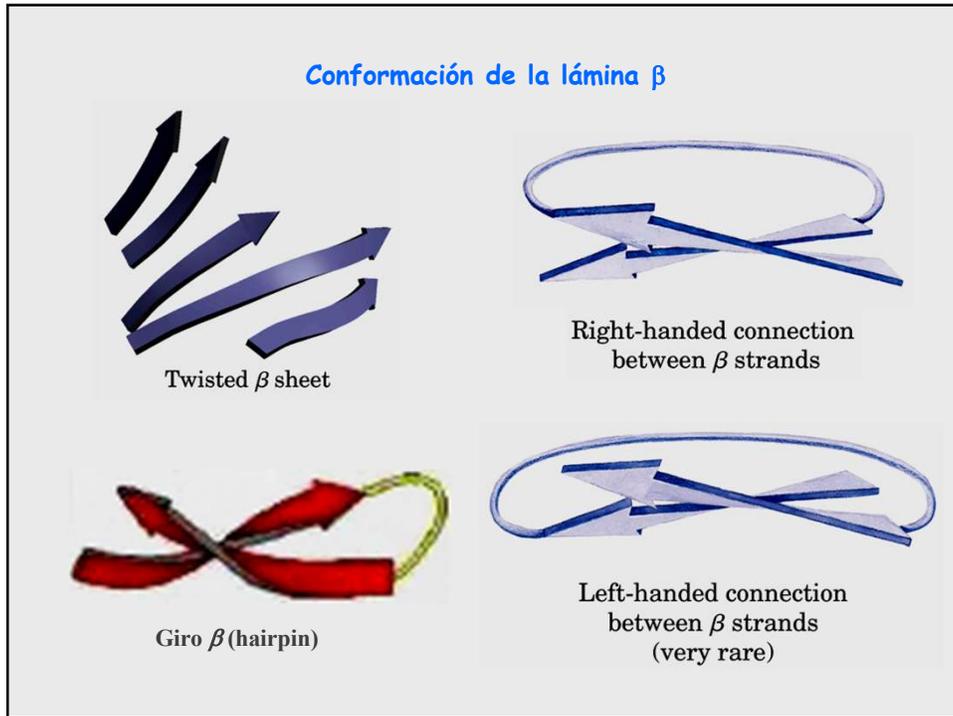
- **Lazo β - α - β** : oculta R hidrofóbicos en el interior de una proteína hidrosoluble

- **Hojas β encimadas**, con R hidrofóbicos en el espacio interior

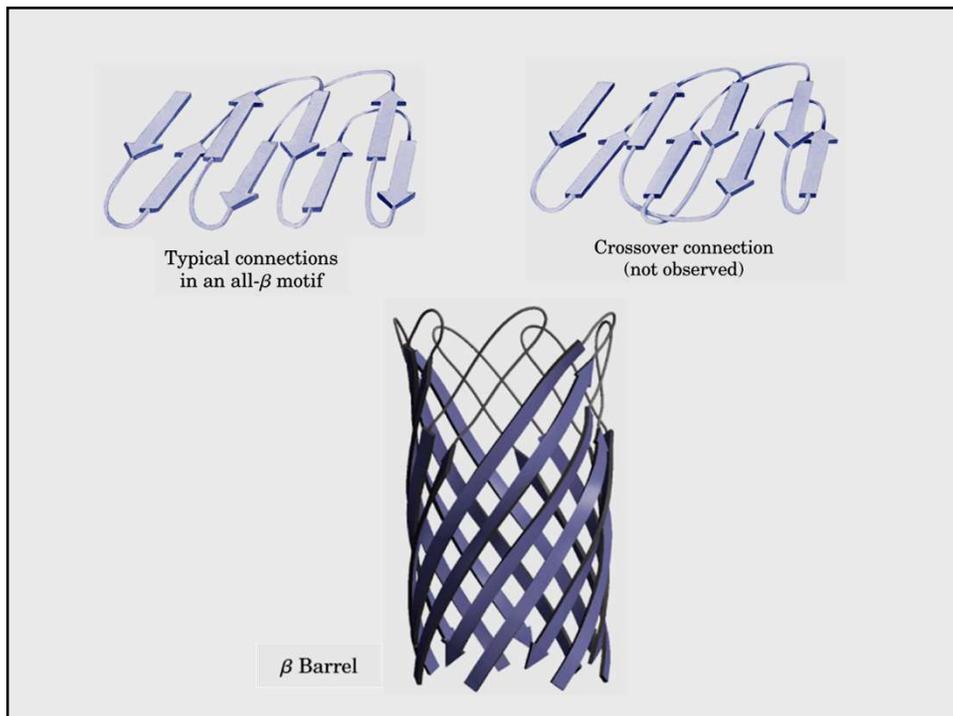
- **Hojas β cubiertas** en uno de sus lados por varias hélices α

Proteínas pequeñas: presentan inconvenientes para alojar R hidrofóbicos en su interior
=> mantienen conformación nativa en base a enlace covalentes p.ej. -S-S- (ribonucleasa, insulina), grupo Hemo unido a una proteína (citocromo c).

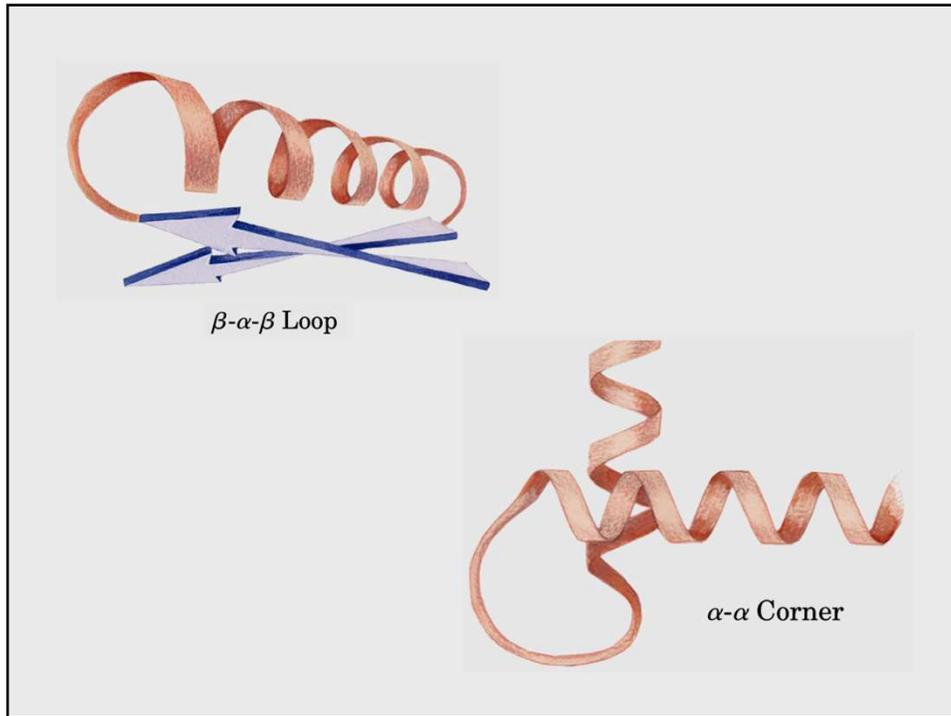
14



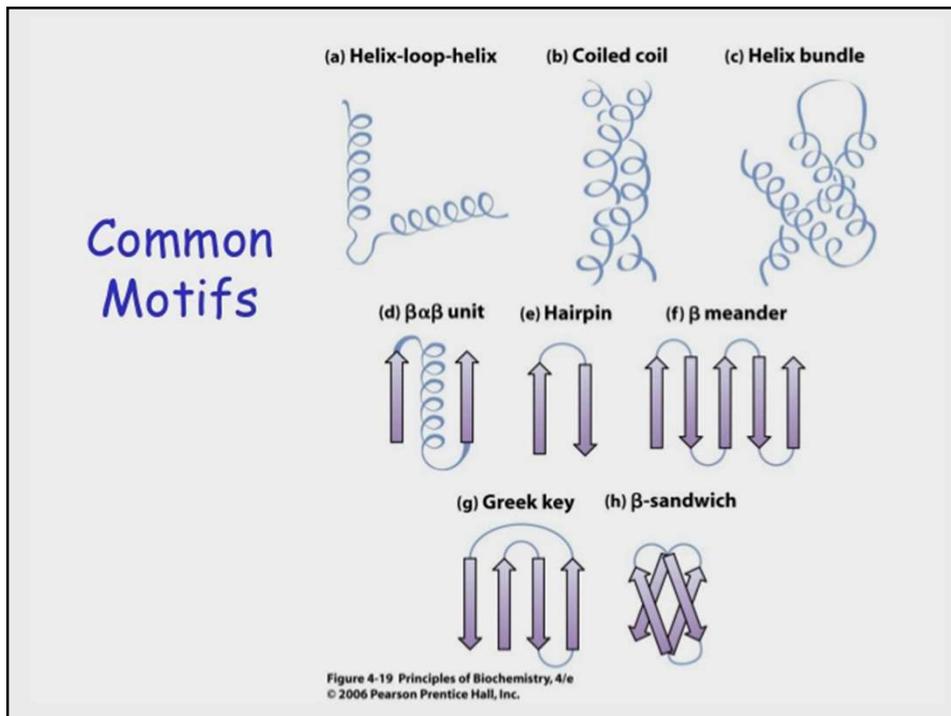
15



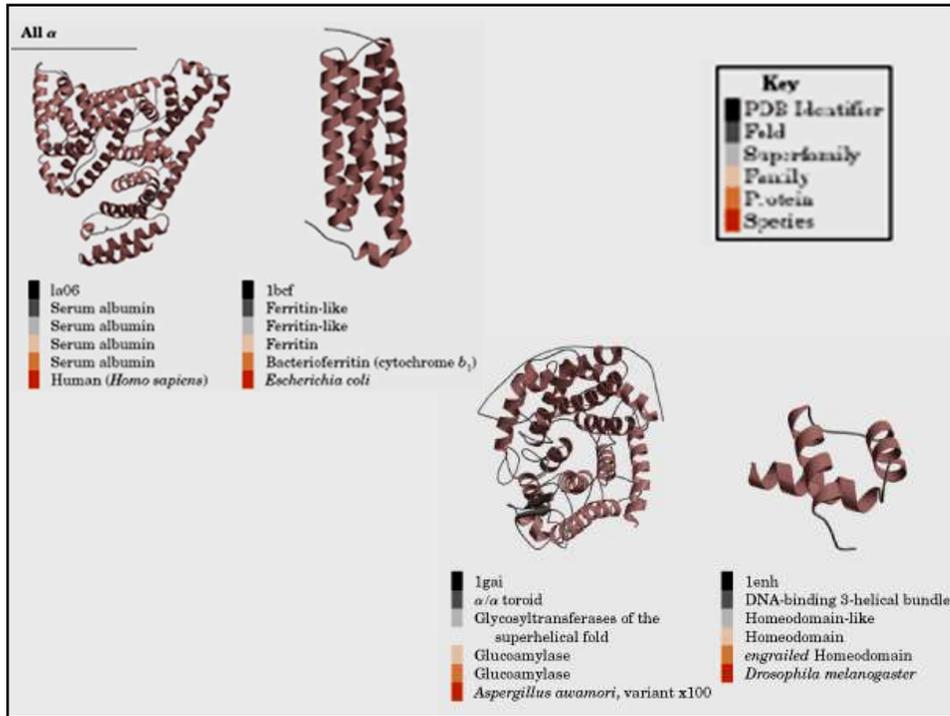
16



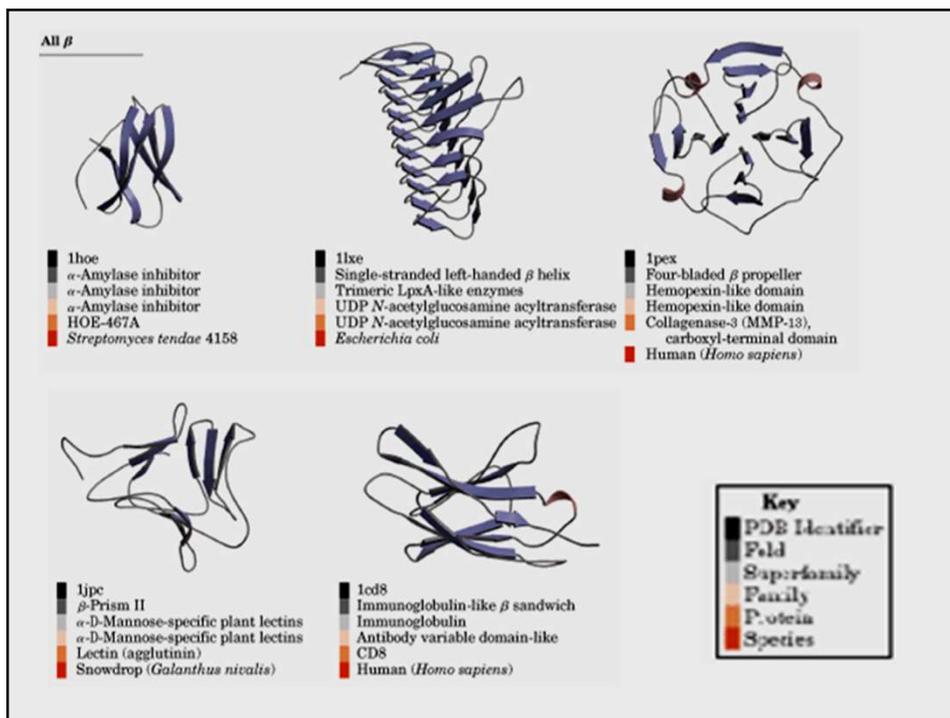
17



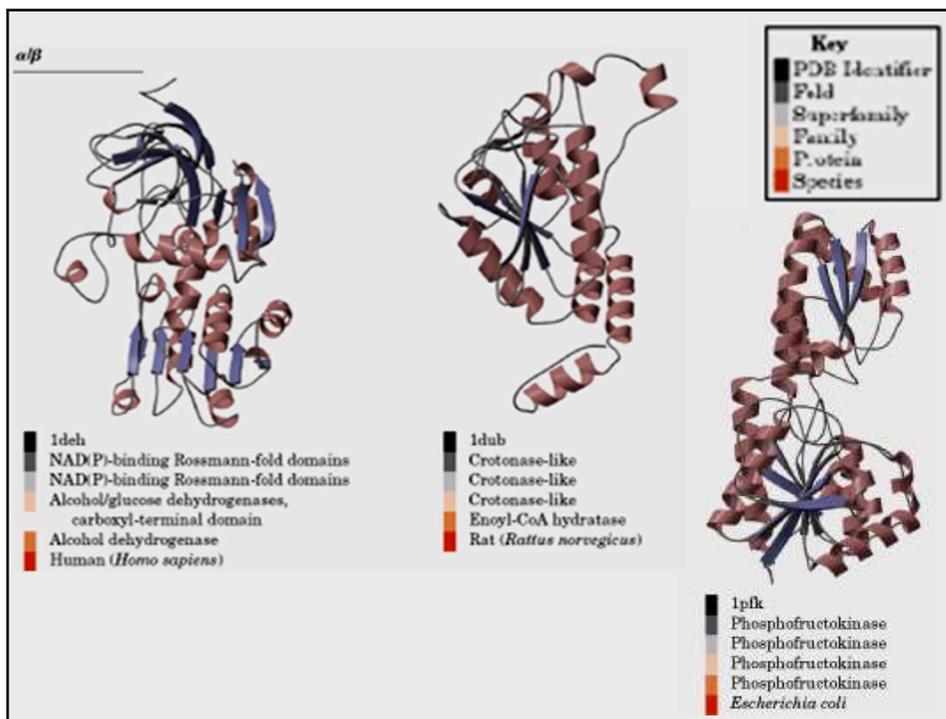
18



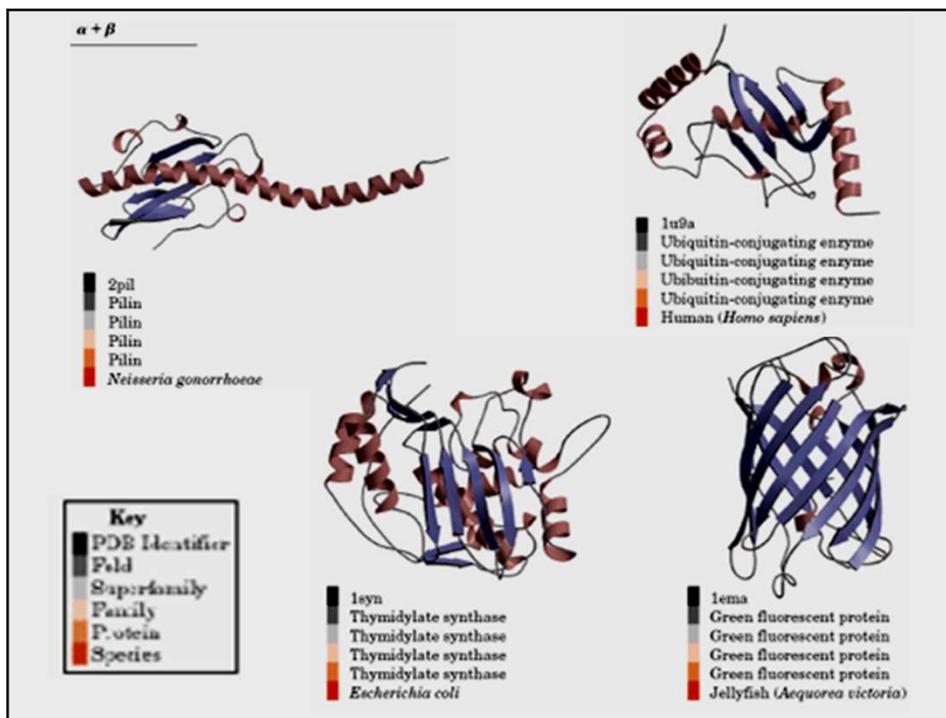
19



20



21



22

Contenido de la clase

- Formas estructurales de las proteínas
- Estructura secundaria de las proteínas
 - Hélice α (alfa)
 - Conformación β (beta)
- Estructura terciaria de proteínas
- Desnaturalización y plegamiento
- **Plegamiento en la célula**
- Termodinámica del plegamiento
- Estructura cuaternaria de las proteínas

23

Cómo se pliegan las proteínas en una célula?

Proteínas **chaperonas** moleculares: por medio de uniones débiles se unen a la proteína durante la síntesis **estabilizándola** y **evitando** que se **agregue** con otras.

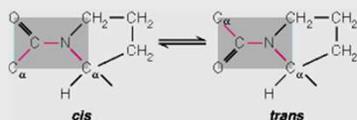
Mecanismo: chaperona unida a ATP expone un **bolsillo hidrófobo** que se une a regiones hidrófobas de la proteína blanco no plegada. Por su actividad ATPasa hidroliza ATP y se disocia de la proteína.

Algunas son conocidas como "heat shock proteins" (Hsp) ya que son inducidas por estrés térmico. Ayudarían a la estabilización de otras proteínas.

- **Chaperoninas:** TCiP (8 unidades de Hsp60 presente en eucariotas) y GroEL (14 subunidades presentes en bacterias).

-Enzimas coadyuvantes (RE)

- Enzimas que participan en la formación reversible de -S-S-
- Enzimas que participan en la isomerización de Pro (interconversión cis-trans).



Pro: 4 trans - 1 cis

Otros Aa: 1000 trans - 1 cis

24

Familia Hsp70/Hsp90: chaperonas

- HSP70 ubicuo (citosol/RE)
- HSP 90 (citosólico)
- Bajo Mr
- Unión a zonas hidrofóbicas
- Previene agregación/plegamiento prematuro

Familia Hsp60: chaperoninas

- Complejo macromolecular: cavidad de plegado
- Plegamiento asistido (catálisis)
- ATPasas: plegado ATP-dependiente

Enzimas coadyuvantes (RE)

- Proteína disulfuro isomerasa (PDI)
- Peptido-Prolil cis-tras isomerasa (PPI)

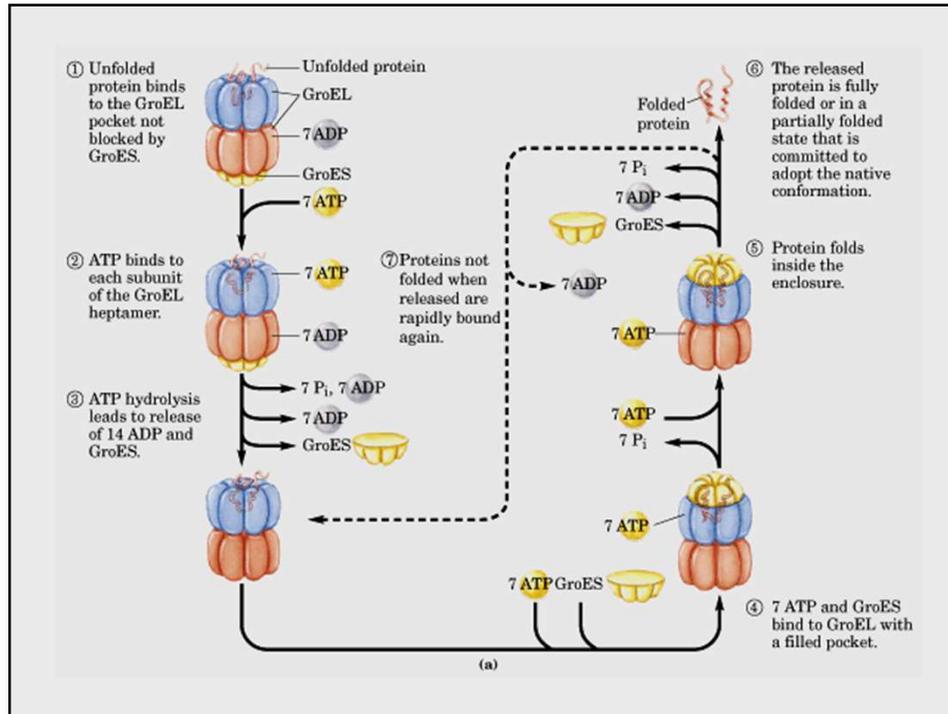
Chaperona Hsp70/Hsp90

Chaperonina Hsp60 (exclusivo citosol)

25

Chaperoninas: sistema GroEL en bacterias

26



27

Contenido de la clase

- Formas estructurales de las proteínas
- Estructura secundaria de las proteínas
 - Hélice α (alfa)
 - Conformación β (beta)
- Estructura terciaria de proteínas
- Desnaturalización y plegamiento
- Plegamiento en la célula
- Estructura cuaternaria de las proteínas

28

Contenido de la clase

- Formas estructurales de las proteínas
 - Estructura secundaria de las proteínas
 - Hélice α (alfa)
 - Conformación β (beta)
 - Estructura terciaria de proteínas
 - Desnaturalización y plegamiento
 - Plegamiento en la célula
 - **Estructura cuaternaria de las proteínas**
- Termodinámica del plegamiento

29

Estructura cuaternaria de las proteínas

disposición de proteínas y subunidades proteicas en complejos tridimensionales.

- **Interacciones de tipo no covalente entre las subunidades** => estabilización de la estructura cuaternaria.
- **Enzimas: unión de un sustrato** => cambio interacción entre subunidades => cambios grandes en la actividad.
- **Rutas metabólicas:** asociación de **enzimas en complejos supramoleculares** => eficacia en la transferencia de los intermedios entre enzimas consecutivas.
- **Complejos con funciones estructurales:** histonas, cápside lo virus

30

Hemoglobina

• 4 grupos prostéticos Hemo asociados a Fe^{2+}

(a) Diagram of a single hemoglobin subunit showing the α helix and the peptide loop (lazo peptídico). The heme group is highlighted in green. Labels include α hélice and lazo peptídico.

(b) Diagram of the tetramer structure showing the interaction between α and β chains. Labels include Cadenas α and Cadenas β .

Myoglobin and β subunit of hemoglobin are also shown with their respective heme groups.

- 4 cadenas polipeptídicas: globinas
 - 2 cadenas α (141 Aa c/u)
 - 2 cadenas β (146 Aa c/u)

Existen muchos puntos de contacto **entre α y β** por **R hidrofóbicos** y, en menor medida, **interacciones iónicas** de los **-COOH terminales**.

- 300 variaciones génicas en la población humano (cambios individuales de Aa: estructura y función de Hb sin alteraciones significativas)
- **Anemia falciforme**: Glu (6, superficial) por Val (hidrofóbico) en cada cadena β \Rightarrow asociación cuaternaria anómala de Hb).

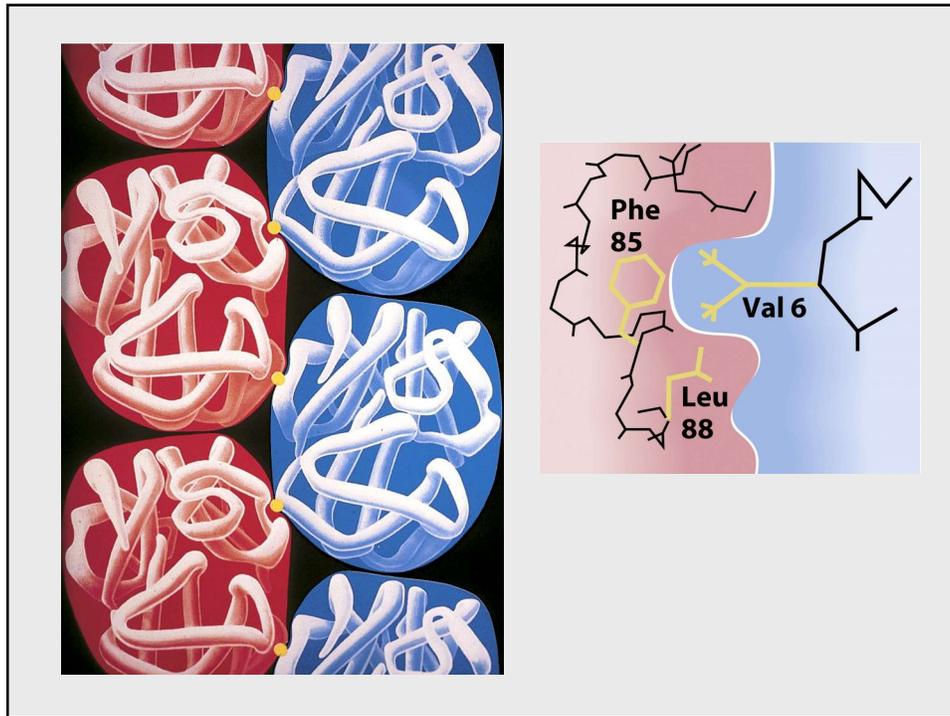
31

The diagram illustrates the process of hemoglobin fiber formation in three stages:

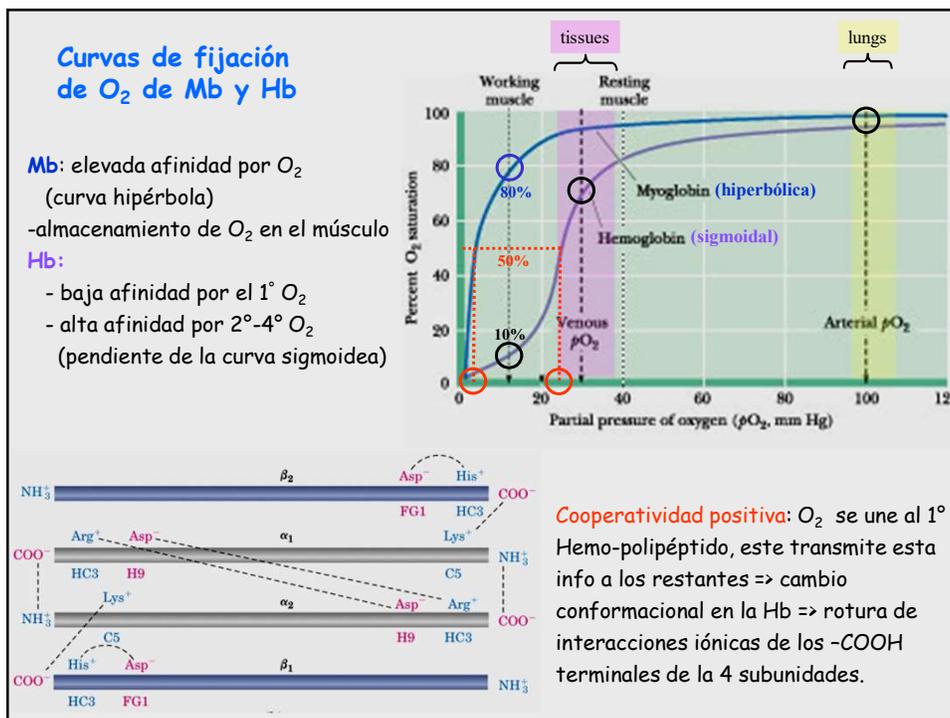
- Interaction between molecules**: Individual hemoglobin molecules (labeled $\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2$) interact.
- Strand formation**: The interaction leads to the formation of a double-stranded structure.
- Alignment and crystallization (fiber formation)**: The strands align and crystallize to form a dense fiber structure.

Micrographs (a) and (b) show red blood cells. Micrograph (a) shows normal biconcave disc cells with a 2 μm scale bar. Micrograph (b) shows cells with sickle-shaped cells, characteristic of sickle cell anemia.

32



33



34

Limitación en el tamaño de las proteínas

Tamaño limitado por

a)- la capacidad de codificación de los ácidos nucleicos.

Es más eficiente sintetizar **muchas copias** de una **proteína pequeña** que una copia de una proteína grande.

- p.ej. cápside de un virus: es una estructura muy grande sin embargo el genoma pequeño del virus codifica muchas copias de una o varias proteínas pequeñas

b)- la exactitud del proceso de biosíntesis de proteínas.

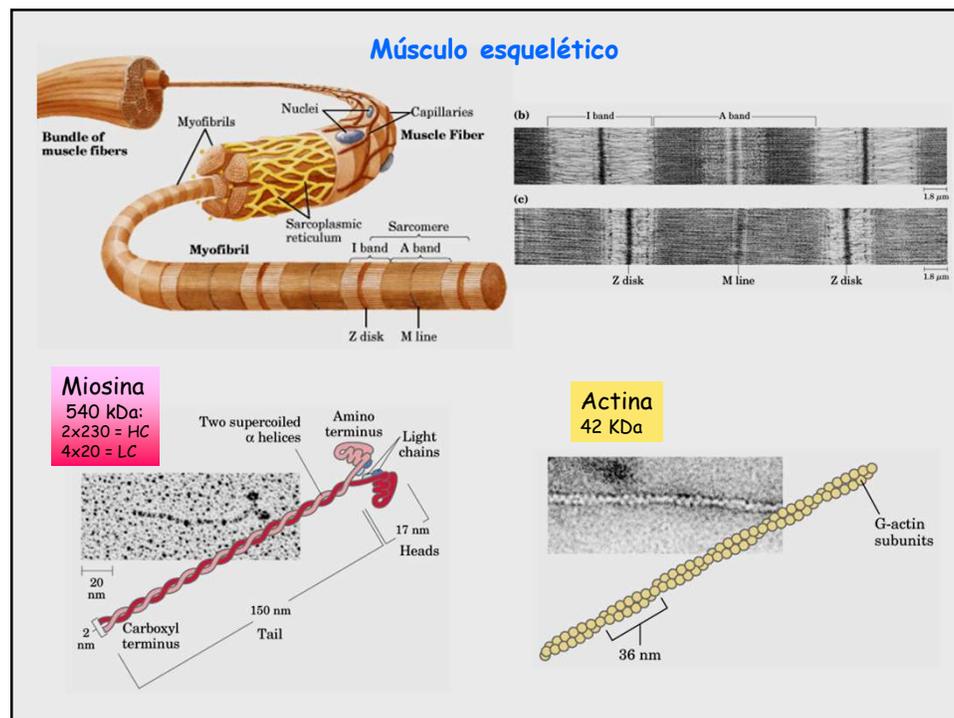
Frecuencia de **errores**: baja, pero más significativa en **proteínas grande**

Complejos supramoleculares

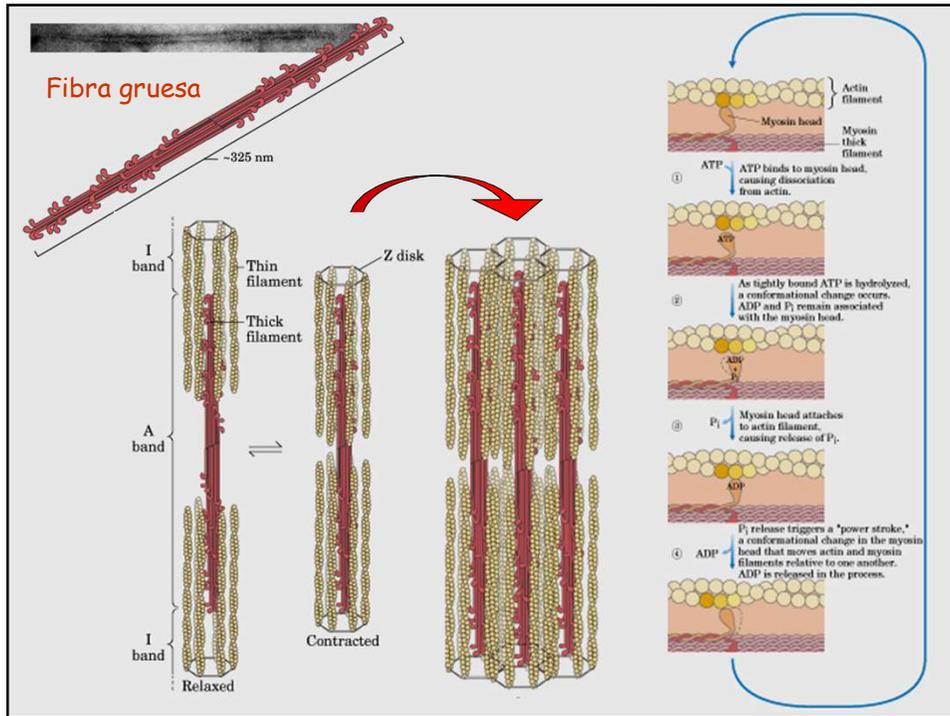
Complejos proteicos:

- músculo
- citoesqueleto
- empaquetamiento de DNA
- maquinaria de la síntesis proteica
- Cápside del virus
- etc.

37



38



39

Virus de mosaico del tabaco
 2130 copias de una única proteína conformando un cilindro

Rinovirus 14 (resfriado)
 - Forma de icosaedro con 12 vértices,
 - 20 triángulos equiláteros
 - 60 unidades de proteínas
 - c/unidad: 4 polipéptidos ≠

RNA, Protein subunit

(b)

Fivefold, Threefold, Twofold

40