

## Capítulo 2. LOS AMINOÁCIDOS, EL ENLACE PEPTÍDICO Y LA ESTRUCTURA SECUNDARIA

**Javier Sancho**

[jsancho@unizar.es](mailto:jsancho@unizar.es)

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular & Instituto de Biocomputación y Física de Sistemas Complejos. Universidad de Zaragoza

---

1. Fórmula general y estereoquímica de los aminoácidos
  2. Estructura y clasificación de los 20 aminoácidos codificados genéticamente
  3. Ionización e hidrofobia de los aminoácidos
  4. Los péptidos: concepto y nomenclatura
  5. Péptidos naturales de origen proteico y no proteico
  6. Síntesis química y secuenciación de péptidos y proteínas.
  7. El enlace peptídico: Naturaleza y propiedades
  8. Restricciones conformacionales de los polipéptidos: el diagrama de Ramachandran y los rotámeros de las cadenas laterales
  9. Los elementos de estructura secundaria
  10. Las hélices  $\alpha$
  11. Las láminas  $\beta$
  12. Giros y bucles
  13. Necesidad de la estructura secundaria
- 

### 1. Fórmula general y estereoquímica de los aminoácidos

Las proteínas son polímeros lineales que resultan de la condensación de aminoácidos. Conviene familiarizarse con la estructura y características de los distintos aminoácidos desde el primer momento porque las propiedades biológicamente

relevantes de las proteínas derivan de las propiedades fisicoquímicas de los aminoácidos. Con excepciones poco relevantes, en las proteínas vamos a encontrar 20 aminoácidos distintos, responsables de la versatilidad estructural y funcional que las caracteriza. Ningún otro tipo de molécula natural o sintética manifiesta una variedad de formas y funciones comparable a la de las proteínas. Veamos de cerca sus constituyentes.

Un aminoácido es una pequeña molécula orgánica que contiene, al menos, un grupo amino (-NH<sub>2</sub>), de naturaleza básica, y un grupo carboxilo (-COOH), de carácter ácido. Aunque los seres vivos sintetizan para distintos propósitos tipos diversos de aminoácidos, sin duda los más importantes son los que forman parte de las proteínas, todos los cuales pertenecen a la clase de los  $\alpha$ -aminoácidos. Éstos se caracterizan (FIGURA 1) por presentar los grupos ácido y amino unidos al mismo átomo de carbono (que se denomina carbono  $\alpha$ ). Además, a este carbono  $\alpha$  se une, como tercer sustituyente, un átomo de hidrógeno y, como cuarto sustituyente, un grupo adicional de tamaño y características diversas, que diferencia a cada aminoácido de los demás. Al cuarto sustituyente se le denomina cadena lateral del aminoácido y, a menudo, se le representa de forma simplificada por la letra R. Al ser los cuatro sustituyentes del carbono  $\alpha$  distintos y adoptar una disposición tetraédrica en torno a él, los  $\alpha$ -aminoácidos presentan isomería óptica, de modo que la imagen especular de un aminoácido no es idéntica al original (FIGURA 2). Así, dependiendo de la disposición espacial de los cuatro sustituyentes, los aminoácidos pueden ser D o L. Esta denominación histórica deriva del parecido que presentan, respectivamente, con las fórmulas tridimensionales del D y del L gliceraldehído (FIGURA 3). La denominación D y L, introducida por Fischer en 1891, no es ya utilizada habitualmente por los químicos, que prefieren distinguir a cualquier pareja de compuestos especulares denominándolos R o S, según la nomenclatura introducida por Cahn, Ingold y Prelog en 1956. Sin embargo, en Bioquímica se sigue utilizando la nomenclatura L/D quizá porque la nueva denominación R/S, aunque más clara y general, distingue a la L-cisteína (que es R) de los demás L-aminoácidos (que son S), a pesar de su evidente similitud estructural. Todos los aminoácidos que aparecen en las proteínas son L.

## **2. Estructura y clasificación de los 20 aminoácidos codificados genéticamente**

Las proteínas se sintetizan en los ribosomas siguiendo las instrucciones codificadas en moléculas de RNA mensajero. El código molecular (conocido como código genético) utilizado por la maquinaria celular de síntesis de proteínas incluye 20 instrucciones (en forma de tripletes de bases del RNA denominados codones) que corresponden a la orden de incorporación a la proteína en síntesis de uno de entre 20 aminoácidos posibles. Estos 20 aminoácidos (todos ellos  $\alpha$  y L) se conocen como aminoácidos codificados genéticamente o proteínogénicos (FIGURA 4). Algunas proteínas contienen otros aminoácidos, normalmente en baja proporción, que son siempre resultado de alteraciones químicas (a menudo catalizadas por enzimas) que sufren los aminoácidos codificados genéticamente después de su incorporación a la proteína en el ribosoma. Estas modificaciones se denominan postraduccionales, pues tienen lugar después de la “traducción” a proteína de la información genética contenida en el RNA mensajero.

Para explicar y destacar las propiedades que distinguen a los diferentes aminoácidos suele recurrirse a su clasificación en grupos, atendiendo fundamentalmente a las propiedades fisicoquímicas de su cadena lateral (FIGURA 5). Como es bien sabido, cualquier clasificación encierra una simplificación que debe tener como virtud destacada la de proporcionar ayuda mnemotécnica. No debe sorprendernos, por tanto, encontrar en distintos libros de texto clasificaciones que difieren en los detalles y que agrupan a los aminoácidos de diversas maneras. Lo importante es conocer la estructura y características principales de cada uno de ellos. Quizá la división más generalmente aceptada de los aminoácidos es la que los distingue en dos grupos (de frontera no demasiado precisa): los polares y los apolares. Atendiendo a la presencia o ausencia de dobles enlaces conjugados, los aminoácidos apolares se pueden subdividir en alifáticos (glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina y metionina) y aromáticos (fenilalanina, tirosina y triptófano). Y aquí comienzan las objeciones que se pueden hacer a cualquier clasificación pues, por ejemplo, no tiene mucho sentido considerar como apolar a la glicina cuya cadena lateral es un simple átomo de hidrógeno, que además no es demasiado apolar, o a la tirosina que, al extremo de su cadena lateral aromática, contiene un grupo -OH. Como ya ha quedado dicho que las clasificaciones simplifican, vamos a proseguir. A los aminoácidos polares, resulta apropiado

subdividirlos en neutros (serina, treonina, cisteína, asparragina, glutamina) y cargados. Éstos, a su vez, pueden ser ácidos (aspártico, glutámico) o básicos (lisina, arginina, histidina). Veamos ahora los 20 aminoácidos, uno a uno, destacando algunas de sus propiedades más interesantes.

La glicina es el menor y, como su cadena lateral es un átomo de hidrógeno, dos de los cuatro sustituyentes del carbono  $\alpha$  son iguales, de modo que no existen la L y la D glicina, pues no aparece isomería óptica. Es, además, el aminoácido que más flexibilidad proporciona a las proteínas pues su pequeña cadena lateral no obstaculiza el movimiento de los aminoácidos que lo flanquean (ver más adelante el diagrama de Ramachandran). La alanina, tiene como cadena lateral un grupo metilo ( $-\text{CH}_3$ ) y se utiliza a menudo como aminoácido de referencia para determinar las propiedades de los demás aminoácidos, que pueden considerarse derivados de él. Es apolar y no puede participar en ningún mecanismo catalítico por lo que su función es meramente estructural. Igual cometido tienen otros aminoácidos alifáticos mayores, como la valina, la leucina o la isoleucina. La isoleucina, como su nombre indica es un isómero de la leucina y presenta una cadena lateral con los mismos átomos que ésta, pero encadenados de manera distinta. La isoleucina se caracteriza por presentar en la cadena lateral un segundo carbono asimétrico que siempre tiene la configuración S. Tanto la valina como la isoleucina confieren cierta rigidez a las proteínas al presentar una ramificación de la cadena lateral en el carbono  $\beta$ . La prolina, en sentido estricto, no es un aminoácido sino un iminoácido, pues la cadena lateral termina uniéndose por su extremo con el grupo  $\alpha$  amino. A causa de ello, la prolina es particularmente rígida y, además, su grupo amino no puede actuar como donador en puentes de hidrógeno. La metionina es un tioeter que incluye un átomo de azufre en la cadena lateral. Aunque es un aminoácido apolar, el átomo de azufre aparece ocasionalmente implicado en reacciones bioquímicas en algunas enzimas. Los aminoácidos aromáticos son los responsables de la absorbancia a 280 nm, típica de las proteínas (FIGURA 6). Gracias a ellos, la concentración de una disolución proteica se puede medir con comodidad y de forma no destructiva con un simple espectrofotómetro. Quien trabaje con una proteína pura y de composición conocida, ¡que se olvide de los métodos colorimétricos (Biuret, Lowry, Bradford) y utilice el coeficiente de extinción de la proteína calculado a partir del contenido de tirosinas y triptófanos! (ver capítulo 6). Las nubes  $\pi$  de los anillos

aromáticos de estos tres aminoácidos pueden actuar como aceptores de puentes de hidrógeno y también pueden formar interacciones con grupos cargados positivamente (cadenas laterales de aminoácidos básicos o ligandos catiónicos). Tanto la tirosina como el triptófano (éste con menos frecuencia) aparecen implicados en los mecanismos de catálisis de algunas enzimas.

En cuanto a los aminoácidos polares, dos de ellos son alcoholes (serina y treonina) y uno es un tiol (un alcohol con azufre en lugar de oxígeno: la cisteína). La treonina, de forma análoga a la isoleucina, presenta un segundo centro quiral (que es R) en el carbono  $\beta$  de la cadena lateral. La serina y la cisteínas son parte esencial del centro catalítico de muchas enzimas por la capacidad de sus grupos OH- y SH- de actuar como nucleófilos y atacar a grupos deficitarios en electrones de otras moléculas (proteínas, grasas) promoviendo cambios químicos, a menudo hidrólisis. En realidad, la serina necesita un entorno especial para poder actuar como nucleófilo pues debe liberar antes el hidrógeno de su grupo OH-, lo que en condiciones normales no es favorable. La cisteína, pierde el hidrógeno equivalente con más facilidad. Es de notar sin embargo que, si no está ionizada, no es tan polar como la serina o la treonina. Una peculiaridad de la cisteína es que se puede oxidar y condensarse con otra cisteína formando un puente disulfuro (-S-S-) que tiene carácter covalente y sirve para entrecruzar dos regiones de una proteína o dos subunidades de un complejo proteico (FIGURA 7). Las proteínas que presentan puentes disulfuro son normalmente extracelulares, pues el potencial rédox del interior de la célula es reductor y destruye los puentes disulfuro. Aunque los puentes disulfuro estabilizan notablemente las proteínas que los contienen, conviene recordar que la mayor parte de las proteínas carecen de puentes disulfuro y son perfectamente estables. Otros dos aminoácidos polares son la asparragina y la glutamina, cuyas cadenas laterales contienen grupos amida (estos grupos no son apenas ácidos ni básicos de modo que permanecen neutros a pHs fisiológicos). Como sus nombres indican, son las amidas de los ácidos aspártico y glutámico. Estos ácidos, por su parte, pertenecen al grupo de los aminoácidos cargados, pues sus cadenas laterales poseen un grupo carboxilo adicional que se encuentra frecuentemente ionizado (cargado negativamente) a pH neutro. Participan en mecanismos de catálisis ácido/base. Finalmente los aminoácidos histidina, lisina y arginina poseen grupos básicos (imidazol, amino y guanidinio) que captan protones y se cargan positivamente a pH neutro. La

histidina, por su  $pK_a$  próximo a 7, es el catalizador ácido/base por excelencia de las enzimas.

Los aminoácidos poseen abreviaturas que es conveniente conocer (FIGURA 4). Las hay de dos clases. La más sencilla de recordar es la que sustituye el nombre de un aminoácido por tres letras de su nombre en inglés (casi siempre las tres primeras). Sin embargo hace tiempo que, por ahorrar espacio, se está imponiendo una nomenclatura distinta en la que cada aminoácido es identificado por una sola letra. En muchos casos se trata de su inicial, pero no siempre es así pues hay aminoácidos cuyos nombres comienzan por la misma letra. La nomenclatura de una letra es la preferida para escribir y registrar las secuencias de proteínas y es la que se debe utilizar casi siempre para realizar búsquedas informáticas en las bases de datos bioquímicos internacionales por lo que hay que conocerla, aprenderla y sentirse cómodo con ella.

### **3. Ionización e hidrofobia de los aminoácidos**

Como hemos indicado, todos los aminoácidos poseen un grupo ácido y un grupo amino ionizables. Las curvas de titulación de los aminoácidos ayudan a comprender como varía su carga en función del pH. Para un aminoácido “neutro” la curva de titulación (FIGURA 8) refleja que hay dos zonas de pH en las que la adición de cantidades moderadas de álcali o de ácido apenas modifica el pH. Estas zonas se centran en los  $pK_a$ s de los grupos  $-COOH$  y  $-NH_2$  del aminoácido, que ejercen así un efecto tampón. Para estos aminoácidos, el punto isoeléctrico (el pH en que el promedio de las moléculas es neutro) es simplemente la media aritmética de los dos  $pK_a$ s. Para los aminoácidos “ionizables”, existe una tercera zona de pH más estable localizada en torno al  $pK_a$  de su cadena lateral (ácida o básica). Para estos aminoácidos, el punto isoeléctrico es, aproximadamente, la media aritmética de los  $pK_a$ s que delimitan el intervalo de pH en que predomina la forma del aminoácido sin carga neta.

Para comprender el comportamiento en solución de las proteínas hay que tener siempre presente que los grupos carboxilo y amino, comunes a todos los aminoácidos, desaparecen cuando los aminoácidos se polimerizan para formar las proteínas. Sólo el grupo amino del aminoácido que ocupa uno de los extremos y el grupo carboxilo del

aminoácido al otro extremo de la proteína sobreviven a la polimerización (FIGURA 9). A pesar de ello, las proteínas presentan numerosos grupos cargados que corresponden a los residuos cuyas cadenas laterales son ionizables (FIGURA 4). Estos residuos hacen posible la solubilidad en agua de buena parte de las proteínas.

La hidrofobia de algunos aminoácidos, es decir, su tendencia a rehuir el contacto con el agua, es una de las propiedades fundamentales que determinan la estructura de las proteínas. Se puede cuantificar mediante sencillos experimentos de reparto en fase acuosa y fase orgánica (de compuestos que simulan a los aminoácidos en las proteínas: en concreto, sus N-acetil carboxiamidas) y expresarse en términos de energía (FIGURA 10). En general, los aminoácidos más apolares son más hidrófobos. Por otro lado, la tendencia de los aminoácidos a aparecer en el interior de las proteínas o en el exterior se puede cuantificar a partir de las estructuras tridimensionales de las proteínas por el simple procedimiento de contar cuántas veces aparece un determinado residuo en la superficie y cuantas en el interior (FIGURA 11). Con este dato se calcula una energía estadística de reparto entre el interior y el exterior de las proteínas, que se puede comparar con la escala de hidrofobia. La razonablemente buena correlación que se ha encontrado entre estas dos escalas de energía indica que la evolución ha seleccionado proteínas con secuencias capaces de plegarse de modo que los aminoácidos hidrófobos se oculten en el interior de la estructura y los polares aparezcan decorando la superficie. La razón es que esta distribución estabiliza el estado plegado del polipéptido (ver capítulo 7).

Aprovechando la carga de los aminoácidos y su hidrofobia, se han desarrollado técnicas que permiten separarlos mediante cromatografías de intercambio iónico o de fase reversa, que son fáciles de automatizar y estandarizar. En general, como pocos aminoácidos presentan propiedades espectroscópicas que faciliten su detección, es habitual hacerlos reaccionar antes (o después) con algún reactivo coloreado o fluorescente.

#### **4. Los péptidos: concepto y nomenclatura**

Los péptidos son el resultado de la unión covalente de aminoácidos mediante enlaces amida formados por condensación, con liberación de una molécula de agua, de un grupo carboxilo de un aminoácido y un grupo amino de otro (FIGURA 12). Los enlaces amida que unen los aminoácidos de las proteínas reciben el nombre de enlaces peptídicos. Los péptidos (al igual que las proteínas) presentan en sus extremos, un grupo amino y un grupo carboxilo sin reaccionar. Para especificar la fórmula de un péptido sencillo (y de una proteína) basta con enumerar los aminoácidos que lo componen, comenzando por el que tiene libre su grupo  $\alpha$ -amino (el aminoácido N-terminal) y terminando por el que presenta libre su grupo  $\alpha$ -carboxilo (aminoácido C-terminal). Aunque para péptidos cortos se puede utilizar la notación de tres letras, las secuencias de proteínas se escriben en código de una letra. Para nombrar un péptido (FIGURA 9), se lee su secuencia, comenzando por el aminoácido N-terminal y substituyendo las dos últimas letras de cada aminoácido por una "I" (ej: alanina→alanil; ¡pero el triptófano se nombra triptofanil!).

Los péptidos tienen un número de aminoácidos bajo (entre 2 y pocas decenas) y una conformación muy flexible en solución. De hecho, la diferencia tradicional que se establece entre un péptido grande y una proteína pequeña es que la última presenta una conformación definida, mucho menos flexible. Recientemente, se ha descubierto que algunas proteínas presentan una conformación desordenada y flexible, como la de los péptidos que, sin embargo, se ordena cuando interaccionan con otras macromoléculas de la célula.

## **5. Péptidos naturales de origen proteico y no proteico**

Algunos péptidos se sintetizan en el ribosoma en forma de polipéptidos precursores más largos, que son a continuación parcialmente hidrolizados en la célula dando lugar a un número variable de péptidos (iguales o distintos). Estos péptidos poseen a menudo potentes actividades biológicas (la vasopresina eleva presión sanguínea y aumenta la reabsorción de agua en el riñón; la encefalina disminuye la sensación de dolor; la oxitocina provoca la contracción del útero) y, en ocasiones, presentan marcadas modificaciones postraduccionales. Algunos péptidos, por el contrario, son sintetizados



en rutas metabólicas ordinarias con participación de enzimas. Suelen ser cortos y, a menudo, muestran peculiaridades, como ser cíclicos o contener D-aminoácidos. Aunque la síntesis de péptidos mediante reacciones enzimáticas convencionales permite introducir mayor variedad química, es fácil comprender que resultaría imposible que las proteínas se sintetizaran de esta manera, entre otras razones porque para sintetizar cada proteína harían falta tantas enzimas específicas como residuos contuviese. Cada una de estas enzimas, por ejemplo, catalizaría la unión específica de un trozo de la proteína con el siguiente aminoácido de la secuencia. Estas enzimas, a su vez, deberían ser sintetizadas con la participación de un número ingente de otras enzimas, y así sucesivamente. El ribosoma, con su peculiar falta de especificidad de sustrato, resulta de lo más conveniente.

## **6. Síntesis química y secuenciación de péptidos y proteínas.**

Los péptidos se sintetizan fácilmente en el laboratorio mediante la técnica de fase sólida. Aunque el rendimiento de cada reacción individual de condensación es muy elevado, el rendimiento neto (el producto de los rendimientos de cada etapa) es bajo. Además, separar la secuencia deseada de las impurezas que se van acumulando en el proceso (todas con secuencias muy parecidas) es difícil, por lo que no resulta práctico sintetizar proteínas por fase sólida. Para sintetizar proteínas se recurre habitualmente a técnicas de Biología Molecular que incluyen la clonación del gen y su expresión en un organismo adecuado. La síntesis en fase sólida permite, por otra parte, la preparación y ensayo de péptidos artificiales. Éstos pueden tener, también, potentes efectos biológicos. El aspartamo (FIGURA 13), por ejemplo, es mucho más dulce que el azúcar.

La determinación de la secuencia de aminoácidos de un péptido (su secuenciación) se realiza de forma muy sencilla y automática utilizando ciclos de la reacción de Edman, que permite separar y derivatizar el aminoácido N-terminal de un péptido, que es después identificado cromatográficamente. Más allá del aminoácido 20 ó 30, sin embargo, el resultado de la secuenciación ya no es fiable. Los péptidos se pueden secuenciar también por espectrometría de masas, técnica que está experimentando un gran desarrollo en la actualidad y que previsiblemente, sustituirá a la secuenciación de

Edman. El procedimiento consiste en fragmentar los péptidos automáticamente y deducir, de la masa de los fragmentos, la secuencia.

Para secuenciar proteínas, se rompen primero en péptidos de tamaño adecuado (utilizando enzimas o reactivos que cortan en sitios específicos) que se separan por cromatografía. Es necesario realizar dos roturas con reactivos de corte diferentes para poder obtener dos conjuntos de péptidos, todos los cuales son secuenciados. Los péptidos de un conjunto presentan secuencias que se solapan con las de los péptidos del otro grupo y, por comparación, se puede establecer el orden en que se encadenan los péptidos en la proteína entera. En la actualidad, es extraordinariamente más fácil y rápido determinar la secuencia de una proteína por secuenciación de su gen y traducción de la secuencia de nucleótidos a aminoácidos, utilizando el código genético. Este procedimiento, sin embargo, no identifica las posibles modificaciones postraduccionales que puede portar una proteína, ni tampoco la presencia y posición de posibles puentes disulfuro. De nuevo, la espectrometría de masas está resultando una ayuda importantísima para resolver este problema.

## **7. El enlace peptídico: Naturaleza y propiedades**

Hemos visto que el enlace peptídico es el resultado de la condensación del grupo carboxilo de un aminoácido con el grupo amino de otro, y que en esta reacción se libera agua (FIGURA 12). La condensación, al tener lugar en disolvente acuoso, no es espontánea y por ello la síntesis de proteínas requiere aporte de energía (los aminoácidos son activados *in vivo* cuando se acoplan a sus RNAs de transferencia). El enlace peptídico, como en general cualquier enlace amida, presenta resonancia entre dos formas extremas de representarlo: la forma neutra con un enlace sencillo uniendo el carbono carbonílico del primer aminoácido (aminoácido  $i$ ) y el nitrógeno amínico del segundo ( $i+1$ ), y la forma con separación de cargas en que los dos átomos se encuentran unidos por un enlace doble (FIGURA 14). La razón es que, al formarse el enlace peptídico, el nitrógeno conserva un par de electrones que puede compartir con el carbono al que está unido. Para que esto ocurra, el carbono debe perder uno de sus enlaces con el oxígeno vecino. El resultado de este reajuste electrónico es la forma con cargas y enlace doble C=N. En la realidad, el enlace peptídico no adopta ninguna de las

dos situaciones extremas sino que es un híbrido resonante de ambas, y sus propiedades son intermedias. Así, su distancia de enlace (1.32 Å) es más corta que la de un enlace sencillo C-N (1.49 Å), pero algo mayor que la de un enlace doble C=N (1.27Å), lo que indica que su fortaleza es intermedia.

La consecuencia más importante es, sin duda, que el enlace peptídico presenta un cierto carácter de enlace doble que va a determinar, como veremos, buena parte de las propiedades conformacionales de las proteínas. Una característica fundamental de los enlaces dobles es que se debilitan tanto, cuando las dos partes de la molécula unidas por ellos rotan una respecto a la otra, que tal rotación en la práctica no se produce. Por tanto, los átomos unidos por el enlace doble y los que están unidos a ellos permanecen de forma estable en un mismo plano (FIGURA 15). Esto se traduce, en el caso de los enlaces peptídicos, en que el C carbonílico, con su oxígeno y su carbono  $\alpha$  (los tres átomos del primer aminoácido:  $i$ ), y el nitrógeno, con su hidrógeno y su carbono  $\alpha$  (del aminoácido siguiente:  $i+1$ ) son coplanares. Estos seis átomos forman el plano peptídico que enlaza los dos aminoácidos. Como ocurre en cualquier compuesto orgánico con enlaces dobles en que cada uno de los dos átomos así enlazados presentan sus dos sustituyentes adicionales distintos, el enlace peptídico puede ser *cis* o *trans* (FIGURA 16). El enlace es *cis* cuando los dos carbonos  $\alpha$  se encuentran en el mismo semiplano de los definidos por el eje del enlace doble, y es *trans* cuando cada carbono alfa queda en un semiplano distinto. Aunque la barrera de energía entre los dos isómeros no es demasiado elevada (es mucho menor que en el caso de un auténtico enlace doble C=N), basta para que en la práctica cada enlace peptídico esté permanentemente en una de las dos formas. En general, la forma *trans* es la de menor energía porque es la que sitúa a los sustituyentes voluminosos (carbonos alfa con sus cadenas laterales) más alejados y por tanto con menor conflicto estérico. La inmensa mayoría de los enlaces peptídicos de las proteínas son, por esta razón, *trans*. La prolina, sin embargo, es especial debido a que su cadena lateral está unida covalentemente al nitrógeno del enlace peptídico. Para la prolina, la forma *trans*, con mayor impedimento estérico que en los demás aminoácidos, es sólo un poco más estable que la forma *cis*, de modo que no resulta inusual encontrar algunas de las prolinas de las proteínas formando enlaces X-Pro de tipo *cis* (FIGURA 17). Esta circunstancia complica el mecanismo de plegamiento de las proteínas que contienen enlaces de este tipo, haciéndolo algo más lento (ver capítulo

8). Otra característica notable de los enlaces peptídicos es que los enlaces C=O y N-H están polarizados y, como son paralelos y el sentido de sus dipolos es el mismo, determinan que el enlace peptídico lleva asociado un dipolo (FIGURA 18; ver más adelante la estructura de las hélices  $\alpha$ ).

## **8. Restricciones conformacionales de los polipéptidos: el diagrama de Ramachandran y los rotámeros de las cadenas laterales**

El enlace peptídico introduce las principales restricciones que limitan las conformaciones que puede adoptar un polipéptido (y de esta manera contribuye a estabilizar las proteínas; ver capítulo 7). La flexibilidad de las moléculas depende del número de sus enlaces que permiten rotaciones de una parte de la molécula respecto al resto. Ya hemos visto que el enlace peptídico por su carácter de enlace doble no permite la rotación. Así, el ángulo de rotación en torno a un enlace peptídico (denominado  $\omega$  sólo puede tomar dos valores:  $0^\circ$ , cuando el enlace es *cis*, y  $180^\circ$ , que es un enlace *trans*. Cualquier otro valor sería muy desestabilizador, pues rompería la resonancia del enlace peptídico que se convertiría en un enlace sencillo ordinario.

Cualquier polipéptido puede ser considerado como una sucesión de planos peptídicos engarzados en los carbonos  $\alpha$ . Cada plano peptídico contiene átomos de dos residuos consecutivos. A su vez, cada carbono  $\alpha$  forma parte de dos planos peptídicos (anterior y posterior). La orientación de estos dos planos respecto al plano adicional formado por el propio carbono  $\alpha$ , su hidrógeno y el primer átomo de su cadena lateral está determinada por los ángulos  $\phi$  y  $\psi$ . El ángulo  $\phi$  mide el giro en torno al enlace que une el carbono  $\alpha$  de un residuo  $i$  con el N (situado en el plano peptídico anterior) del mismo residuo. El ángulo  $\psi$  mide el giro en torno al enlace que une el carbono  $\alpha$  con el C del mismo residuo en el plano peptídico posterior. La conformación global de una proteína queda perfectamente definida por los valores de los ángulos  $\phi$  y  $\psi$  de sus carbonos  $\alpha$ , conocidos los cuales se puede trazar el discurrir del polipéptido en el espacio, lo que equivale a conocer su estructura tridimensional a baja resolución. Los enlaces N-C $_{\alpha}$  y C $_{\alpha}$ -C son enlaces sencillos de modo que los ángulos  $\phi$  y  $\psi$  no están fijados *a priori* como el ángulo  $\omega$ . Sin embargo, no pueden adoptar valores cualesquiera porque en

algunos de ellos se producen choques estéricos (FIGURA 20) entre los planos anterior y posterior o con la cadena lateral del residuo. Ramachandran y colaboradores determinaron los valores permitidos de los ángulos  $\phi$  y  $\psi$ . Como los valores permitidos para cualquiera de estos ángulos depende del valor concreto que adopta el otro, idearon una representación conjunta de los valores permitidos de los dos ángulos que se conoce como diagrama de Ramachandran (FIGURA 21). En este diagrama, las coordenadas de cada punto representan a una pareja de valores de ángulos  $\phi$  y  $\psi$ . Con frecuencia, se dibujan sombreadas las zonas en que aparecen parejas de valores permitidos. El diagrama es muy similar para los distintos aminoácidos (salvo para la glicina) y consiste en dos grandes zonas permitidas con valores negativos del ángulo  $\phi$  y una pequeña región con valor positivo de dicho ángulo. La glicina, cuya escueta cadena lateral no provoca conflicto estérico con los planos peptídicos, dispone de zonas más amplias en el diagrama de Ramachandran que se consideran permitidas desde un punto de vista energético. Por ello permiten giros peculiares del polipéptido que ningún otro residuo puede facilitar. En las proteínas, los residuos adoptan, con muy pocas excepciones valores de ángulos  $\phi$  y  $\psi$  permitidos (FIGURA 22). Enseguida veremos la relación entre estos valores y los elementos de estructura secundaria más importantes. Hay que aclarar que la terminología de “valores permitidos” y “valores no permitidos” no es demasiado afortunada. Por un lado, en la frontera entre las dos clases de valores no se produce un salto brusco, sino que la energía va aumentando según los valores de los ángulos se adentran en la zona no permitida (a veces en el diagrama de Ramachandran se utilizan distintas intensidades de sombreado para sugerirlo). Por otro lado, el coste energético de adoptar valores no permitidos, aunque considerable, no es siempre tan elevado que no pueda ser compensado, en ocasiones, por el establecimiento de nuevas interacciones estabilizantes. De hecho, aunque de forma rara, a veces se encuentra en las proteínas algún residuo con valores “no permitidos”. Se ha sugerido que estos residuos desempeñan, en algún caso, papeles destacados en la función de su proteína.

Además de las restricciones conformacionales derivadas de los enlaces peptídicos, las proteínas ven limitadas aún más sus conformaciones posibles porque los ángulos de rotación de las cadenas laterales no adoptan valores al azar sino, con mucha frecuencia, los que conducen a conformaciones más estables. Los ángulos de rotación en torno a enlaces sencillos de las cadenas laterales (FIGURA 23) se denominan  $\chi_1$ ,  $\chi_2$ , etc. El

ángulo  $\chi_1$ , por ejemplo, es el del enlace entre el carbono  $\alpha$  del residuo y el carbono  $\beta$  (el primero de la cadena lateral). En general, los enlaces sencillos (los más abundantes en las cadenas laterales) tienden a preferir los ángulos que sitúan a los sustituyentes de los átomos enlazados lo más alejados que sea posible. Estas conformaciones se denominan *alternadas* (a diferencia de las conformaciones *eclipsadas* en que los sustituyentes están más próximos) (FIGURA 24). Para el ángulo  $\chi_1$  hay tres conformaciones alternadas distintas que se denominan *gauche+*, *gauche-* y *trans*. (<http://pps.life.nthu.edu.tw/PPS2/course/section3/conform.html>). Las más estables son la *gauche+* y después la *trans*. Cada una de las conformaciones que puede adoptar la cadena lateral de un residuo de una proteína se denomina rotámero. Cuanto mayor es una cadena lateral (salvo que sea aromática y sus enlaces dobles no permitan la rotación), mayor es el número de rotámeros distintos (y con distinta energía) en que se puede disponer. En una proteína nativa, cada residuo adopta la conformación de uno de sus posibles rotámeros.

Tomamos aliento para anotar lo siguiente. Podría parecer en este punto que las conformaciones posibles de cualquier polipéptido quedan al final restringidas a un número muy limitado. ¡Nada más lejos de la realidad! A pesar de todas las restricciones estudiadas en este epígrafe, el número de conformaciones posibles de una proteína pequeña es tan astronómicamente elevado que nos fascina e intriga extraordinariamente (ver capítulo 8) cómo puede preferir entre todas, con tanta precisión y en tan poco tiempo, la que es característica de su forma nativa.

## 9. Los elementos de estructura secundaria

El diagrama de Ramachandran (FIGURA 22) muestra claramente que existen, *grosso modo*, dos zonas de ángulos  $\phi$  y  $\psi$  permitidos, ambas con valores negativos del ángulo  $\phi$ , que se diferencian por el valor positivo o negativo del ángulo  $\psi$ . Al analizar la estructura tridimensional de cualquier proteína, se aprecian regiones en las que los carbonos  $\alpha$  de varios residuos consecutivos adoptan ángulos  $\phi$  y  $\psi$  similares, que caen, todos ellos, en una de las dos zonas permitidas del diagrama de Ramachandran. Este simple hecho determina que la cadena polipeptídica adopte, en dichas regiones, una

disposición periódica de sus unidades peptídicas (FIGURA 25). Las dos disposiciones periódicas tienen, respectivamente, forma de hélice o de cadena extendida y se conocen como hélice  $\alpha$  y hebra  $\beta$ . La asociación mediante puentes de hidrógeno de varias hebras  $\beta$  adyacentes da lugar a las láminas  $\beta$ .

## 10. Las hélices $\alpha$

Una hélice  $\alpha$  es cualquier secuencia de 5 o más aminoácidos consecutivos de una proteína con ángulos  $\phi$  de  $\sim -57^\circ$  y  $\psi$  de  $\sim -47^\circ$  (FIGURA 26). Al adoptar estos ángulos, el grupo CO del aminoácido  $i$  queda a la distancia y orientación adecuadas para formar un puente de hidrógeno con el NH del aminoácido  $i+4$ . Los 4 grupos CO del extremo carboxilo de la hélice y los 4 grupos NH del extremo amino no cumplen esta regla, sencillamente, porque la hélice termina en ellos. Las hélices  $\alpha$  completan una vuelta alrededor de su eje cada 3.6 aminoácidos, recorrido en el que avanzan 0.54 nm a lo largo del eje (cada residuo avanza 1.5 Å). Como los planos de los enlaces peptídicos quedan dispuestos de forma casi paralela al eje de la hélice, sus dipolos quedan automáticamente alineados. Por su parte, las cadenas laterales de los residuos salen del "cilindro" de la hélice apuntando hacia el exterior de forma no enteramente perpendicular, sino inclinadas ligeramente hacia el extremo amino (FIGURA 27). Las hélices, en general, son objetos quirales, no idénticos a sus imágenes especulares. Las hélices  $\alpha$  de las proteínas son de tipo R (FIGURA 28). Aunque una hélice  $\alpha$  puede tener cualquier longitud a partir de 5 residuos, las hélices de las proteínas globulares solubles en medio acuoso constan, en promedio, de unos 12 residuos. Sin embargo, las hélices transmembrana características de las proteínas que atraviesan las membranas biológicas suelen ser bastante más largas.

La existencia de hélices  $\alpha$  en las proteínas fue predicha, antes de ser observada, por Pauling y Corey, quienes propusieron un modelo ideal. Respecto a este modelo, las hélices  $\alpha$  de las proteínas presentan con frecuencia distorsiones (FIGURA 29) causadas por el empaquetamiento específico de los átomos de la superficie de cada hélice con el resto de la proteína de la que forma parte, por la presencia de prolinas (cuya cadena lateral produce impedimento estérico y su N no puede formar puente de hidrógeno), y,

en el caso de hélices de la superficie, como consecuencia de sus interacciones con el agua, que se optimizan cuando la hélice se curva ligeramente para permitir puentes de hidrógeno entre los grupos CO de la hélice y las moléculas de agua. Además no es infrecuente que en el extremo carboxilo de las hélices  $\alpha$ , la última vuelta presente estructura de hélice  $3_{10}$  (ver más adelante).

La estabilidad de las hélices  $\alpha$  depende de: los aminoácidos que la componen, de la posición que ocupan esos aminoácidos en la hélice, de las interacciones que se puedan establecer entre cadenas laterales dispuestas a  $i$ ,  $i+3$  o a  $i$ ,  $i+4$  (que quedan una encima de la otra, FIGURA 27), y de las interacciones de empaquetamiento con el resto de la proteína

(<http://www.bioq.unizar.es/departamento/investigacion/JSS/PFS/alfahelix.html>). Salvo este último factor, que es más difícil de calcular, la energética de las hélices  $\alpha$  se conoce razonablemente bien, de modo que se puede calcular si una secuencia de aminoácidos determinada formará por sí sola una hélice  $\alpha$  al disolverla en agua (<http://www.embl-heidelberg.de/Services/serrano/agadir/agadir-start.html>).

Por otra parte, el grado de exposición al disolvente de una hélice  $\alpha$  de una proteína se puede deducir fácilmente utilizando la representación denominada “rueda helicoidal” (FIGURA 30). Cuando los residuos polares se agrupan en una cara y los apolares en otra, se trata de una hélice anfipática (con dos “pasiones”: el agua y la membrana). Si, en cambio, la práctica totalidad de la hélice consta de residuos apolares, se trata de una hélice enterrada en el interior de la estructura proteica y, si consta de residuos esencialmente polares, se trata de una hélice totalmente expuesta (no son frecuentes, pero en ocasiones aparecen conectando dos dominios de una proteína).

Además de las hélices  $\alpha$ , un polipéptido puede, en principio, adoptar otras conformaciones helicoidales. Así, las hélices con puentes de hidrógeno entre los aminoácidos  $i$  e  $i+3$  se denominan hélices  $3_{10}$  (y aparecen en ocasiones en el extremo carboxilo de las hélices  $\alpha$ , como se ha comentado). Por su parte, las hélices con puentes de hidrógeno entre los aminoácidos  $i$  e  $i+5$  se denominan hélices  $\pi$  y son muy poco frecuentes.



## 11. Las láminas $\beta$

Cuando 2 o más aminoácidos consecutivos de una proteína adoptan ángulos  $\phi$  de  $\sim -140^\circ$  y  $\psi$  de  $\sim +130^\circ$ , aparece una hebra  $\beta$ , que es sencillamente la conformación extendida estable del polipéptido (FIGURA 31). En una hebra  $\beta$ , cada residuo avanza 3.5 Å a lo largo del eje de la hebra. Cuando 2 o más hebras  $\beta$  se sitúan una al lado de la otra y establecen puentes de hidrógeno entre ellas, aparece una lámina  $\beta$ . Todos los grupos CO y NH de una hebra  $\beta$  forman puentes de hidrógeno con los de hebras adyacentes, salvo los que definen los bordes izquierdo y derecho de la lámina. Las láminas  $\beta$  pueden ser paralelas, antiparalelas o mixtas. Una lámina  $\beta$  es paralela (FIGURA 32) cuando todas las hebras que la componen se disponen en el mismo sentido bioquímico (N $\rightarrow$ C) de modo que los extremos N de cada una de ellas (los C también, claro) quedan agrupados. Para conseguir esto, la proteína debe reandar el camino recorrido por cada hebra en sentido contrario antes de disponer otra hebra al lado de la primera. Las láminas antiparalelas, sin embargo, disponen sus hebras contiguas alternando los dos sentidos posibles (N $\rightarrow$ C y C $\rightarrow$ N). Para ello, cuando una hebra termina, basta con que el polipéptido cambie de sentido y se disponga en paralelo para dar lugar a la siguiente hebra. Una lámina mixta está formada por hebras algunas de las cuales se disponen de forma paralela y otras antiparalela. En las proteínas solubles las hebras antiparalelas son las más frecuentes; en proteínas transmembrana son las únicas descritas hasta el momento.

La razón de denominar láminas a las agrupaciones de hebras, asociadas por puentes de hidrógeno, es que, al disponerse las hebras unas al lado de otras, forman en conjunto una superficie que, a primera vista, parece plana. De esta superficie salen las cadenas laterales de los residuos de las hebras (FIGURA 33). En cada hebra, si un residuo  $i$  sobresale, más o menos perpendicularmente de una de las caras de la lámina, el siguiente residuo,  $i+1$ , sobresale por la otra cara de modo que todos los residuos pares de una hebra apuntan hacia el mismo semiespacio y los impares hacia el contrario. En realidad, las hebras de las láminas suelen formar entre sí ángulos de  $\sim 25^\circ$ , por lo que las láminas están alabeadas (¿un buen momento para consultar el Diccionario de la Real

Academia?). Un plano alabeado, también es un objeto quiral y puede estar alabeado a izquierdas o a derechas. Las láminas de las proteínas están alabeadas a izquierdas.

Las láminas  $\beta$  son más o menos estables dependiendo de los aminoácidos que las componen, de las interacciones que establecen las cadenas laterales de hebras adyacentes y del empaquetamiento de la lámina con el resto de la proteína de la que forma parte. En general, la energética de las láminas  $\beta$  se comprende peor que la de las hélices  $\alpha$ , entre otras razones, porque tienden a ser insolubles en agua y, por tanto, más difíciles de estudiar.

## 12. Giros y bucles

Si las proteínas sólo contuviesen hélices  $\alpha$  o hebras  $\beta$ , no serían otra cosa que filamentos extraordinariamente alargados de escasa utilidad. Para adquirir estabilidad conformacional y poder generar complejas superficies de interacción, la mayor parte de las proteínas adoptan estructuras globulares (es decir: sus formas son groseramente esféricas). Para conseguir estas formas, el polipéptido debe cambiar de dirección varias veces, volver sobre sí mismo y construir, adosando sus elementos de estructura secundaria, algo parecido a una esfera. Las regiones en las que la cadena polipeptídica cambia de dirección carecen de la repetición de valores de ángulos  $\phi$  y  $\psi$  característica de las hélices y hebras  $\beta$  (de otra manera no habría cambio de dirección) y se denominan genéricamente bucles. Los bucles pueden ser de distinta longitud y aparecen, típicamente, en la superficie de las proteínas. Los bucles más cortos se denominan giros reversos y están formados por tan sólo cuatro residuos: los  $i$  e  $i+3$  enlazados por puente de hidrógeno entre sus grupos CO y NH, respectivamente, y los  $i+1$  e  $i+2$  sin enlazar. Hay dos tipos principales de giros reversos (tipos I y II) que se diferencian en los ángulos  $\phi$  y  $\psi$  que adoptan los residuos  $i+1$  e  $i+2$  (FIGURA 34). Por otra parte, los giros cortos de cuatro residuos que conectan con frecuencia hebras  $\beta$  de láminas antiparalelas se denominan giros  $\beta$  de tipo I' y II' y sus residuos  $i+1$  e  $i+2$  presentan ángulos perfectamente definidos pero distintos de los característicos de los giros reversos. En los giros abundan los residuos de glicina dado que los ángulos que

deben adoptar algunos de sus residuos se localizan en zonas del diagrama de Ramachandran que están prohibidas para los demás aminoácidos.

### **13. Necesidad de la estructura secundaria**

Recordemos una vez más que en el diagrama de Ramachandran hay dos regiones permitidas principales, una de las cuales permite la formación de hélices  $\alpha$  cuando varios residuos consecutivos localizan sus ángulos en ella, y otra que permite la aparición de las hebras  $\beta$  que constituyen, por asociación, las láminas  $\beta$ . Podría parecer, por tanto, que el hecho de que aproximadamente dos tercios de los residuos de las proteínas aparezcan formando parte de elementos de estructura secundaria responde simplemente a las restricciones conformacionales impuestas por la geometría del enlace peptídico. Sin embargo, también hemos visto que nada impide a largos segmentos de las proteínas adoptar conformaciones no periódicas (bucles) en las que los ángulos son los mismos que los de las hélices o hebras, con la única diferencia de que a lo largo de dichas secuencias los ángulos “helicoidales” y “de hebra  $\beta$ ” se alternan de forma más o menos caprichosa. La ubicuidad de la estructura secundaria en el interior de las proteínas exige, pues, una explicación adicional. El hecho es que, aunque cuando una proteína se pliega para adoptar su conformación nativa los residuos apolares tienden a situarse en el interior mientras que los polares casi exclusivamente aparecen en la superficie, el enterramiento de un residuo apolar arrastra necesariamente, sin escapatoria, a los enlaces peptídicos a los que está asociado, y éstos poseen grupos polares (CO y NH). En el estado desplegado estos grupos polares interactúan favorablemente con el agua pero, al plegarse la proteína, pierden tales interacciones lo que significa que, si no ocurriera nada más, centenares de enlaces de hidrógeno deberían destruirse para poder plegar una proteína y el proceso sería desfavorable. Para evitar esta situación, los grupos polares que quedan en el interior de las proteínas (fundamentalmente los CO y NH de los enlaces peptídicos), buscan pareja y establecen puentes de hidrógeno con grupos vecinos. El emparejamiento debe ser maximizado para evitar la destrucción neta de puentes de hidrógeno y es aquí donde los elementos de estructura secundaria permiten, mucho mejor que las estructuras no periódicas, emparejar los grupos polares de una forma eficaz. En el caso de las hélices  $\alpha$ , la propia

secuencia se encarga de formar todos los puentes de hidrógeno necesarios (utilizando sus propios grupos peptídicos) y, en el caso de las hebras  $\beta$ , la disposición estirada de las mismas permite, de forma sencilla, emparejar sus grupos peptídicos polares con los de las hebras vecinas. En cuanto a los grupos polares de los extremos de las hélices o de los bordes de las láminas, al quedar de forma natural situados cerca de la superficie de la proteína, pueden fácilmente encontrar moléculas de agua con las que formar puentes de hidrógeno. Aunque no está claro todavía, por sorprendente que parezca, si los puentes de hidrógeno de las proteínas las hacen más estables (pues se forman a expensas de la rotura de puentes semejantes con las moléculas del disolvente en el estado desplegado; ver capítulo 7), resulta evidente que todos los grupos polares que quedan enterrados en la estructura nativa deben tener pareja y que los elementos de estructura secundaria son probablemente la única forma capaz de garantizar el emparejamiento de todos los grupos polares del enlace peptídico y, al mismo tiempo, la adopción de una estructura compacta, estable, sin huecos en el interior. Por esta razón, los puentes de hidrógeno son probablemente el tipo de interacción que más directamente contribuye a establecer la estructura tridimensional de las proteínas. En cuanto a los bucles que conectan a los distintos elementos de estructura secundaria de una proteína, su localización en la superficie proteica garantiza la buena solvatación de sus grupos peptídicos y les permite adoptar conformaciones variadas.

## **Bibliografía:**

### Libros recomendados:

- **Introduction to Protein Structure**, 2<sup>nd</sup> edition, Garland Publishing, 1999. C. Branden and J. Tooze
- **Introduction to Protein Architecture**, Oxford University Press, 2001. A.M. Lesk.
- **Proteins. Structures and Molecular Properties**. 2<sup>nd</sup> edition, W.H. Freeman and Co. New York, 1994. T. E. Creighton.

### Cursos en Internet:

- **Principles of Protein Structure: Internet course from Birkbeck college**  
<http://pps.life.nthu.edu.tw/PPS2/top.html>
- **Protein architecture: in Biochemistry in 3D–Lehninger Principles of Biochemistry**  
<http://www.worthpublishers.com/lehninger3d/stills/index.html>

## Leyendas de las figuras

**FIGURA 1. Estructura general de los  $\alpha$ -aminoácidos que forman las proteínas.** El denominado carbono  $\alpha$  tiene cuatro sustituyentes distintos: un grupo carboxilo (-COOH), un grupo amino (-NH<sub>2</sub>), un átomo de hidrógeno y un grupo adicional (R), diferente en cada uno de los aminoácidos. Los grupos carboxilo y amino se representan en su estado de ionización predominante a pH neutro.

**FIGURA 2. Isomería óptica de los  $\alpha$ -aminoácidos.** Se representa, como ejemplo, un modelo de bolas y varillas de los dos isómeros ópticos de la alanina. Los átomos de oxígeno se muestran en rojo, el de nitrógeno en azul oscuro, los de carbono en gris y los de hidrógeno en azul claro. El estado de ionización es el que corresponde a pH neutro.

**FIGURA 3. Nomenclatura D/L de los isómeros ópticos de los  $\alpha$ -aminoácidos.** Los isómeros de los  $\alpha$ -aminoácidos se denominan D o L en atención a su semejanza con el D y L-gliceraldehído, respectivamente. Se representa la serina. Los aminoácidos de las proteínas son todos L.

**FIGURA 4. Propiedades y nomenclatura de los aminoácidos codificados genéticamente.** Se recoge, para cada aminoácido, la abreviaturas de 3 y de 1 letras, la masa molecular, los pK<sub>a</sub> de sus grupos amino y carboxilo (y de su cadena lateral, si procede), el punto isoeléctrico y la abundancia relativa en un conjunto representativo de 1150 proteínas (Doolittle, R.F. (1989) en *Prediction of protein structure and the principles of protein conformation* (Fasman G.D., ed) Plenum Press, New York, pp 599-623).

**FIGURA 5. Estructura covalente y clasificación de los 20 aminoácidos codificados genéticamente.** Los aminoácidos de cadena lateral apolar se pintan en amarillo, con un fondo más claro para los aromáticos. Los polares neutros se pintan en verde, los cargados positivamente en azul y los cargados negativamente en rojo.

**FIGURA 6. Espectros de absorción en el ultravioleta cercano de los aminoácidos aromáticos tirosina y fenilalanina.** Los espectros corresponden a disoluciones de

concentración aproximada 1 mM. El espectro de la fenilalanina es de menor intensidad y apenas contribuye a la absorbancia a 280 nm de las proteínas.

**FIGURA 7. Puentes disulfuro entre residuos de cisteína.** La oxidación de dos residuos de cisteína que estén próximos y con la orientación adecuada ocurre espontáneamente en la atmósfera dando lugar a un enlace covalente entre dos átomos de azufre que se denomina puente disulfuro. Como el potencial rédox del citosol es reductor, los puentes disulfuro sólo se encuentran en proteínas extracelulares. Cistina es un nombre que se utiliza, en ocasiones, para referirse a dos cisteínas unidas por puente disulfuro.

**FIGURA 8. Curvas de titulación de los aminoácidos.** A la izquierda se muestra la titulación de la glicina, los  $pK_a$  de sus grupos carboxilo y amino y su punto isoeléctrico. En las proximidades de los  $pK_a$ s los grupos carboxilo y amino actúan como tampones. En la parte superior se muestran las especies iónicas predominantes de la glicina en las distintas zonas de pH. A la derecha aparecen las curvas de titulación de dos aminoácidos (histidina y glutámico) cuyas cadenas laterales también son ionizables.

**FIGURA 9. Polimerización de aminoácidos con pérdida de grupos ionizables amino y carboxilo.** Al formarse los enlaces peptídicos los grupos amino y carboxilo desaparecen como tales. En un péptido, sólo los grupos amino de un extremo y carboxilo del otro se mantienen como tales. Estos dos grupos, junto con las cadenas laterales ionizables de algunos aminoácidos son los responsables principales de la solubilidad en agua de las proteínas.

**FIGURA 10. Reparto de aminoácidos entre fase orgánica y agua.** Para cuantificar la tendencia de los aminoácidos a agruparse evitando contacto con el agua se realizan experimentos de reparto entre un disolvente orgánico, que se supone que representa adecuadamente el interior apolar de las proteínas, (octanol habitualmente) y agua. En lugar de los aminoácidos, se utilizan compuestos modelo (aminoácidos con el extremo amino acetilado y el extremo carboxilo amidado) que representan mejor el modo en que aparecen en las proteínas. Midiendo la concentración de cada uno de los compuestos modelo en las dos fases se puede determinar sus constantes de reparto y, a partir de ellas, las energías libres de transferencia.

**FIGURA 11. Energías estadísticas de reparto de residuos entre el interior y el exterior de las proteínas.** Para calcularlas, se cuenta el número de veces en que un residuo determinado (por ejemplo: alanina) aparece expuesto al disolvente en la superficie de un conjunto de proteínas, y el número de veces que aparece enterrado en el interior de dichas proteínas. Dividiendo los dos números, se puede calcular, para cada aminoácido, su constante de reparto estadístico entre el interior y exterior de las proteínas y, de ahí, su energía libre de transferencia estadística entre el interior y el exterior. Cuando se comparan estas energías con las de reparto entre fase orgánica y agua (FIGURA 10) se encuentra una buena correlación lineal que indica que la disposición de los aminoácidos en el interior o exterior de las proteínas según su polaridad está gobernada por el efecto hidrófobo.



**FIGURA 12. Condensación de aminoácidos.** La formación del enlace peptídico entre dos aminoácidos es una reacción de condensación en la que se libera una molécula de agua. En disolución acuosa, no es una reacción espontánea, por lo que la síntesis de proteínas requiere energía.

**FIGURA 13. Fórmula del aspartamo.** El aspartamo es un conocido edulcorante artificial que consiste en un dipéptido de ácido aspártico y fenilalanina, con el extremo carboxilo metilado.

**FIGURA 14. Resonancia del enlace peptídico.** Al formarse el enlace peptídico, el átomo de nitrógeno conserva un par de electrones. Este par de electrones puede ser compartido con el átomo de carbono del enlace a condición de que éste rompa uno de sus enlaces con el oxígeno. De esta manera, aparece una forma resonante iónica, con doble enlace, que presenta carga positiva en el nitrógeno y negativa en el oxígeno. En realidad, como ocurre cuando cualquier molécula presenta formas resonantes, el comportamiento del enlace peptídico refleja un compromiso entre las dos formas y, así, su longitud es intermedia entre las de los enlaces C–N sencillo y doble que se observan en otros compuestos. Lo más importante es que el carácter de enlace doble (aunque parcial) que caracteriza al enlace peptídico, va a determinar muchas de las propiedades de las proteínas.

**FIGURA 15. Geometría del enlace peptídico.** Los átomos C $\alpha$ , C y O del primer aminoácido y los átomos N, H y C $\alpha$  del segundo permanecen necesariamente en el mismo plano debido al carácter doble del enlace, que se perdería si hubiese rotación respecto al enlace C–N. Se muestran las distancias de enlace y los ángulos entre los átomos del plano peptídico.

**FIGURA 16. Isomería *cis/trans* del enlace peptídico.** Al ser un enlace doble, aparecen dos isómeros: *cis* (con los carbonos  $\alpha$  al mismo lado) y *trans*. El isómero *trans* es más estable al minimizar las repulsiones estéricas. Es la forma que aparece habitualmente en las proteínas.

**FIGURA 17. Isomería cis/trans de la prolina.** La prolina constituye una excepción al presentar poca diferencia de energía entre los isómeros *cis* y *trans* de los enlaces X-Pro. Esto es debido a que el isómero *trans* está más desestabilizado que en los otros aminoácidos por la peculiar forma de la cadena lateral de la prolina. A pesar de ello la forma *trans* sigue siendo la más estable y predomina en las proteínas, aunque no es infrecuente observar enlaces X-Pro en *cis*.

**FIGURA 18. Momento dipolar del enlace peptídico.** La polaridad de los enlaces C=O y N-H determina que el grupo peptídico CONH presente momento dipolar. Estos momentos se alinean en las hélices  $\alpha$  (FIGURA 26).

**FIGURA 19. Ángulos  $\phi$  y  $\psi$  de los residuos de las proteínas.** El ángulo  $\phi$  mide el giro en torno al enlace que une el carbono  $\alpha$  de un residuo  $i$  con el N (situado en el plano peptídico anterior) del mismo residuo. Su valor es de  $0^\circ$  cuando los átomos C (carbonílicos) de los residuos  $i-1$  e  $i$  quedan eclipsados en *cis*, y aumenta su valor cuando, mirando desde el N hacia el carbono  $\alpha$ , el C del residuo  $i$  gira en el sentido de las agujas del reloj. El ángulo  $\psi$  mide el giro en torno al enlace que une el carbono  $\alpha$  con el C del mismo residuo en el plano peptídico posterior (de forma semejante, vale cero cuando los N de los residuos  $i$  e  $i+1$  quedan eclipsados en *cis*) (<http://www.chem.qmw.ac.uk/iupac/misc/biop.html>).

**FIGURA 20. Valores prohibidos de los ángulos  $\phi$  y  $\psi$ .** Fijado el valor de uno de los dos ángulos, el otro ángulo no puede adoptar cualquier valor, pues en algunos casos aparecerían choques estéricos inaceptables. Por esta razón, hay muchas parejas de valores de los ángulos de un residuo determinado que nunca se van a dar. A estas parejas se las considera valores prohibidos, aunque muchos de ellos lo son sólo hasta cierto punto pues, en presencia de otros efectos estabilizadores, pueden llegar a ser observados. En la figura se representa el conflicto estérico que impide la adopción simultánea de valores de cero grados para los dos ángulos.

**FIGURA 21. Diagrama de Ramachandran.** Consiste en una representación en dos dimensiones de los valores posibles de los ángulos  $\phi$  y  $\psi$  de los residuos de las proteínas. Fue concebida y caracterizada por Ramachandran y colaboradores. Es

habitual colorear en el diagrama las zonas en que se concentran las parejas de valores permitidas. Las zonas con color intenso son las más favorables energéticamente.

**FIGURA 22. Ángulos experimentales de los residuos de una proteína.** A la izquierda se representan sobre el diagrama de Ramachandran los valores de los ángulos de cada uno de los residuos de una proteína de estructura tridimensional conocida (salvo sus glicinas). Como se puede observar, con poquísimas excepciones, los ángulos recaen en las zonas permitidas. A la derecha se representan únicamente las glicinas de la misma proteína. Se puede ver que estos residuos gozan de mayor libertad conformacional debido a su pequeña cadena lateral y que sus ángulos se adentran con frecuencia en regiones que están prohibidas a los demás residuos. Todas las proteínas se comportan de igual manera.

**FIGURA 23. Ángulos de torsión de las cadenas laterales.** Además de en torno a los ángulos  $\phi$  y  $\psi$ , las proteínas pueden efectuar giros en torno a algunos enlaces de sus cadenas laterales. Los ángulos de giro de estos enlaces (que conectan los carbonos  $\alpha$  y  $\beta$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ , etc) se denominan  $\chi_1$   $\chi_2$   $\chi_3$ , ...

**FIGURA 24. Rotámeros de las cadenas laterales.** Las distintas conformaciones que puede adoptar un residuo al girar en torno a los enlaces de su cadena lateral se denominan rotámeros. En general, se adoptan conformaciones alternadas (más estables) que reciben los nombres de *trans*, *gauche+* y *gauche*, según el valor concreto del ángulo  $\chi$ . Se representan las conformaciones alternada y eclipsada del etano (a) y los tres rotámeros de la serina (b).

**FIGURA 25. Estructura secundaria y diagrama de Ramachandran.** Los elementos de estructura secundaria más característicos de las proteínas, las hélices  $\alpha$  y las hebras de las láminas  $\beta$ , están formados por residuos consecutivos de la secuencia cuyos ángulos  $\phi$  y  $\psi$  aparecen en una de las dos grandes zonas permitidas del diagrama. Por el contrario, cuando los ángulos de varios aminoácidos consecutivos se reparten entre las dos zonas, no se forma estructura secundaria sino que aparece un bucle en que el polipéptido puede cambiar de dirección. Las hélices  $\alpha$  de las proteínas son R.

**FIGURA 26. Geometría de la hélice  $\alpha$ .** Las hélices  $\alpha$  contienen 3.6 residuos por vuelta y, en cada vuelta, avanzan 5.4 Å, por lo que cada residuo avanza 1.5 Å a lo largo del eje de la hélice. Cada grupo CO (salvo los 4 del extremo C) está enlazado por puente de hidrógeno al grupo HN del aminoácido situado en posición  $i+4$ . Los 4 grupos HN del extremo N, obviamente, no forman puente de hidrógeno intrahelicoidal. Los dipolos de los grupos CONH están alineados con el eje de la hélice dando lugar a la aparición de carga parcial negativa en el extremo C y carga parcial positiva en el extremo N de la hélice. Debido a esta carga parcial positiva y a la presencia de grupos NH libres, formadores de puentes de hidrógeno, los extremos N de las hélices alfa constituyen buenos sitios de unión de moléculas fosforiladas. Los residuos de las hélices  $\alpha$  se caracterizan por adoptar ángulos  $\phi$  y  $\psi$  en torno a  $-58^\circ$  y  $-47^\circ$ , respectivamente.

**FIGURA 27. Las cadenas laterales en las hélices  $\alpha$ .** Las cadenas laterales salen del cilindro abrazado por la hélice apuntando ligeramente hacia el extremo N. Sus vecinas más cercanas no son las cadenas laterales de los residuos que las flanquean sino las de los residuos a  $i+3$  e  $i+4$  (que quedan justo encima en dirección C) y las de los residuos a  $i-3$  e  $i-4$  (que quedan debajo). Las interacciones entre residuos con estos espaciamentos contribuyen significativamente a estabilizar las hélices  $\alpha$ .

**FIGURA 28. Quiralidad de las hélices  $\alpha$ .** Las hélices son objetos quirales que presentan dos orientaciones distintas. Las hélices  $\alpha$  de las proteínas son R y sus residuos describen la trayectoria de los dedos de una mano derecha al cerrarse mientras el dedo pulgar extendido avanza por el eje de la hélice hacia el extremo C terminal.

**FIGURA 29. Distorsiones de las hélices  $\alpha$ .** Respecto al modelo ideal, las hélices  $\alpha$  de las proteínas muestran diversas distorsiones debido a la presencia ocasional de prolinas (que producen un quiebro de la hélice, (a)), a su tendencia a curvarse para optimizar los puentes de hidrógeno de los grupos CO con el agua (c) y, sobre todo, al empaquetamiento con el resto de la proteína (b) mediante el cual se estabiliza la estructura tridimensional de la misma.

**FIGURA 30. Representación de rueda helicoidal y exposición de la hélice  $\alpha$  al disolvente.** Al representar de esta manera la posición de las cadenas laterales de una hélice vista desde un extremo, se puede apreciar como en las hélices anfipáticas (con una cara expuesta al disolvente y otra empaquetada contra el resto de la proteína) los residuos apolares se concentran en un lado (a), en las hélices enterradas todo son residuos apolares (b) y en las hélices completamente expuestas (poco abundantes) los residuos polares se distribuyen por toda la rueda (c). Esta representación permite predecir la exposición al disolvente de una secuencia predicha como hélice sin conocer la estructura tridimensional.

**FIGURA 31. Geometría de las láminas  $\beta$ .** Las hebras que forman las láminas  $\beta$  adoptan una conformación extendida (con ángulos  $\phi$  y  $\psi$  de  $-120^\circ$  y  $+120^\circ$ , respectivamente) que les permite asociarse con otras hebras vecinas mediante puentes de hidrógeno. En las hebras  $\beta$  cada residuo avanza  $3.5 \text{ \AA}$  a lo largo del eje de la hebra. Hay dos orientaciones posibles de dos hebras que se asocian para constituir una lámina. En la orientación paralela ambas hebras se disponen en el mismo sentido NC mientras que en la orientación antiparalela una hebra corre en sentido contrario a la otra.

**FIGURA 32. Láminas  $\beta$  paralelas y antiparalelas.** Esquema de láminas  $\beta$  paralelas y antiparalelas mostrando los puentes de hidrógeno entre las hebras. Una lámina  $\beta$  mixta es, simplemente la que contiene algunas hebras dispuestas en paralelo y otras antiparalelamente.

**FIGURA 33. Cadenas laterales en las láminas  $\beta$ .** En una hebra  $\beta$  (a) las cadenas laterales de los residuos pares apuntan hacia un lado del plano de la lámina de la que forma parte (b) y las de los impares hacia el otro lado. Así, tampoco en las láminas  $\beta$  se establecen interacciones entre cadenas laterales de residuos consecutivos sino entre residuos de hebras adyacentes.

**FIGURA 34. Giros reversos.** Son la forma más sencilla de invertir el sentido de avance de un polipéptido. Constan de cuatro residuos (con enlace de hidrógeno entre el primero y el cuarto). Los ángulos  $\phi$  y  $\psi$  de los residuos centrales tienen que adoptar valores perfectamente definidos. Como algunos de estos valores caen en zonas

prohibidas del diagrama de Ramachandran, las glicinas son muy abundantes en los giros reversos.