Aminoácidos y estructura primaria de las proteínas

Definición:

Constituyen las unidades básicas de las proteínas y son los precursores de hormonas, lípidos y ácidos nucleicos. Además, algunos pueden actuar como neurotransmisores. Pueden estar presentes en compuestos medicinales y nutricionales y en aditivos alimentarios.

Table 1. Estimated global production of amino acids (1996)*

Amino acid	Amount (ton/y)	Process	Uses
L-glutamate	1,000,000	Ferm.	Flavor enhancer
D, L. Methionine	350,000	Chemical	Food , Feed Pharm.
L-Lysine HCL	250,000	Ferm.	Feed Supplement
Glycine	22,000	Chemical	Pharm., soy sauce
L-Phenylalanine	8,000	Ferm., Synthesis	Aspartame
L-Aspartic acid	7,000	Enzymatic	Aspartame, Pharm.
L-Threonine	4,000	Ferm.	Feed supplement
L-Cysteine	1,500	Extraction, Enzyma.	Pharm.
D, L –Alanine	1,500	Chemical	Flavor, sweetener
L- Glutamine	1,300	Ferm.	Pharmaceuticals
L-Arginine	1,200	Ferm.	Flavor, pharm.
L- Tryptophan	500	Ferm., Enzymatic	Feed suppl., Pham.
L – Valine	500	Ferm.	Pharmaceuticals
L –Leucine	500	Ferm., Extraction	Pharmaceuticals
L –Alanine	500	Enzymatic	Pharm.
L –Isoleucine	400	Ferm.	Pharmaceuticals
L – Histidine	400	Ferm.	Pharmaceuticals
L – Proline	350	Ferm.	Pharmaceuticals
L – Serine	200	Ferm.	Pharmaceuticals
L - Tyrosine	120	Extraction	Pharmaceuticals

Ikeda (2003)

De los más conocidos que os sonarán en cuanto a volumen de producción podemos encontrar el **glutamato** en su forma de sal (glutamato monosódico, que en realidad es el aminoácido ácido glutámico) o el **ácido aspártico** que junto con la **fenilalanina** forma el aspartamo, utilizado como endulzante. También tenemos otros como la **metionina** que es utilizado en el aumento de la masa muscular del ganado. Muchos se utilizan como suplementos alimentarios, como el triptófano.

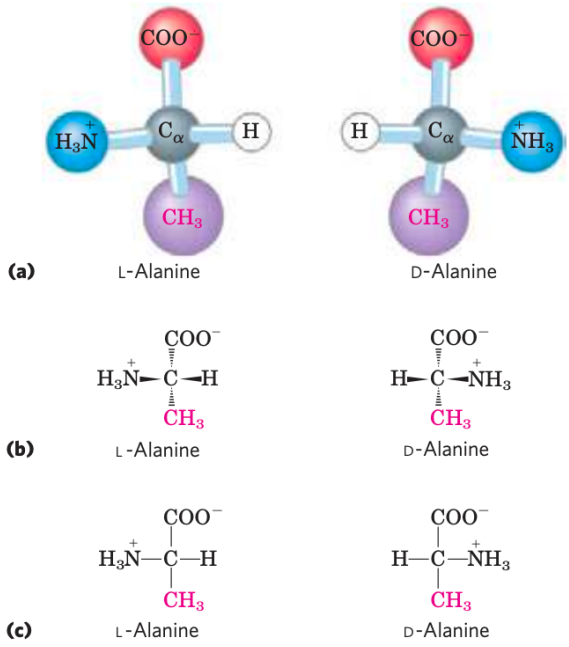


FIGURE 3–3 Stereoisomerism in α-amino acids. (a) The two stereoisomers of alanine, L- and D-alanine, are nonsuperposable mirror images of each other (enantiomers). **(b, c)** Two different conventions for showing the configurations in space of stereoisomers. In perspective formulas **(b)**, the solid wedge-shaped bonds project out of the plane of the paper, the dashed bonds behind it. In projection formulas **(c)**, the horizontal bonds are assumed to project out of the plane of the paper, the vertical bonds behind. However, projection formulas are often used casually and are not always intended to portray a specific stereochemical configuration.

Nelson & Cox (2017)

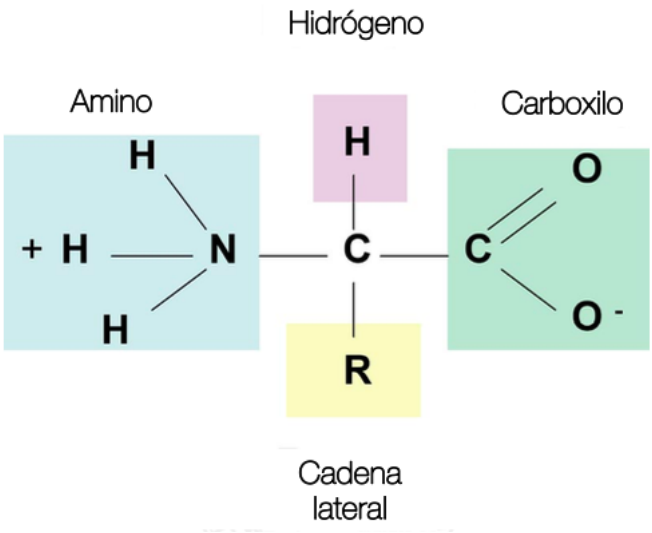
Un aspecto muy importante en su producción a nivel mundial es que no todas las formas son bioactivas, **sólo aquellas que se encuentran en conformación L**. Los aminoácidos presentan **quiralidad**, por tanto, en una síntesis química donde se producen **L** y **D**-aminoácidos debemos desechar el segundo tipo con procesos posteriores de purificación, encareciendo su producción. Por ello, en los últimos años está en auge el uso de la fermentación bacteriana para su obtención, ya que las bacterias sólo producen las formas L, las que son activas y biodisponibles para los animales y humanos.

Estructura

Observamos en su estructura que los aminoácidos presentan quiralidad.

Están conformados por:

- Un **carbono alfa central**, que lleva unido:
    - Un grupo **carboxilo**
    - Un grupo **amino**
    - Un **hidrógeno**
    - Una **cadena lateral** de forma variable que es la que da la especificidad a los aminoácidos y sus características. La carga neta a un pH neutro es 0, aunque sea una molécula polar con cargas.



Berg et al. (2019)

Aminoácidos estándar

Los llamamos así, o aminoácidos comunes porque son los que realmente conforman las proteínas, por tanto, se pueden codificar en el código genético, y son un total de 20.

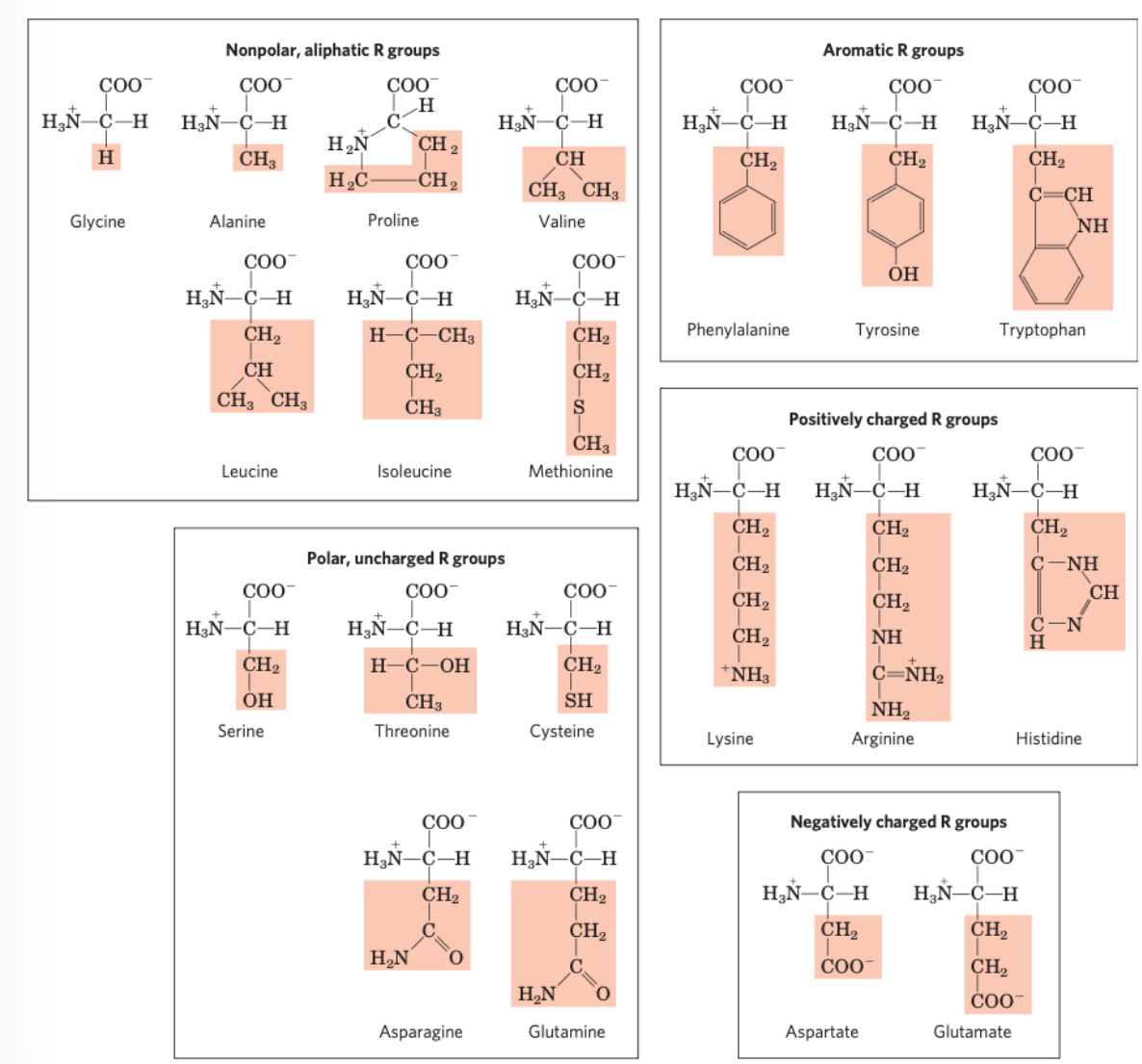


FIGURE 3–5 The 20 common amino acids of proteins. The structural formulas show the state of ionization that would predominate at pH 7.0. The unshaded portions are those common to all the amino acids; the shaded portions are the R groups. Although the R group of histidine is shown uncharged, its pK_a (see Table 3–1) is such that a small but significant fraction of these groups are positively charged at pH 7.0. The protonated form of histidine is shown above the graph in Figure 3–12b.

Nelson & Cox (2017)

Aminoácidos no polares (hidrofóbicos)

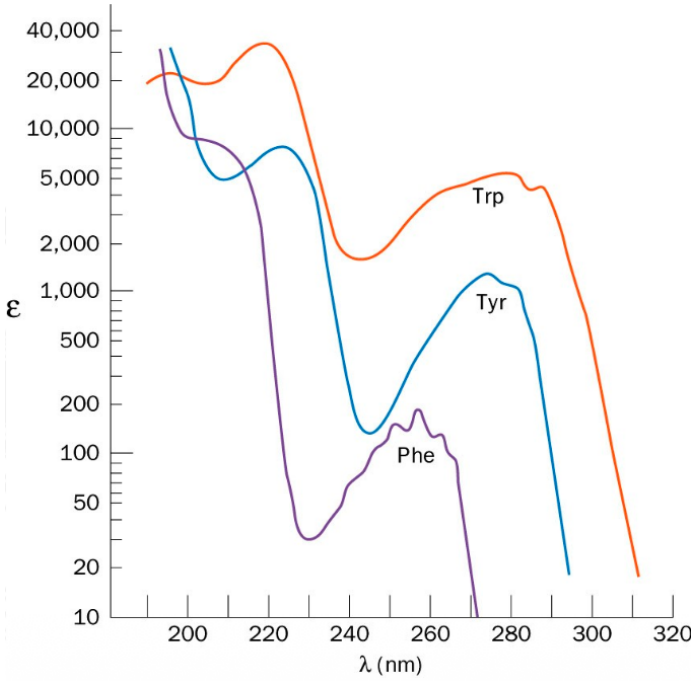
El aminoácido más simple es la **glicina**, que tiene un único átomo de hidrógeno como cadena lateral, **es el único aminoácido que es aquiral**. La **alanina**, el siguiente más simple, tiene como cadena lateral un **grupo metilo**. Luego ya empezamos a encontrar cadenas laterales con hidrocarburos laterales más largas, la **Valina, Leucina e Isoleucina**. La **metionina** contiene una **cadena alifática** larga que incluye un **grupo tioéter** (**con -S-**). Todas estas cadenas laterales son especialmente hidrofóbicas, esto quiere decir que **tienden a agruparse juntas en vez de contactar con el agua**. Son las responsables de que las estructuras tridimensionales de las proteínas solubles en agua se estabilicen por la tendencia de estos grupos hidrofóbicos a agruparse entre sí, también conocido como "**efecto hidrofóbico**".

La **prolina** también tiene un **grupo alifático** como cadena lateral, pero curiosamente este grupo **va unido no sólo al carbono central sino también al nitrógeno**, conocido como **anillo de pirrolidina**, lo cual implica **restricciones conformacionales** y es de gran importancia porque **influirá en la estructura terciaria de las proteínas**.

Aminoácidos aromáticos

Como aminoácidos aromáticos encontramos en primer lugar la **fenilalanina**, que como su nombre indica contiene un **anillo fenilo** unido en lugar de uno de los átomos de hidrógeno de la alanina. Es puramente hidrofóbica. Luego encontramos la **tirosina**, donde su grupo hidroxilo puede formar puentes de hidrógeno y **su grupo funcional es importante para el funcionamiento de algunas enzimas**. Tiene **polaridad**, por lo que puede encontrarse cargado a pH mayores a 9.5.

Por último, el aromático por excelencia es el **triptófano**, que tiene un **grupo indol unido a un grupo metileno**. El grupo indol está **compuesto por los dos anillos** unidos que **contienen un grupo NH**. Tiene unas **capacidades ópticas mayores** a los otros dos ya que nos arroja valores de absorbancia de luz polarizada mayores a los otros dos por su doble anillo. **Son capaces de absorber la luz ultravioleta**. Esto sucede gracias a la ley de Lambert-Beer.



Berg et al. (2019)

Aminoácidos básicos (con carga positiva)

Pasamos ahora a los aminoácidos **con carga positiva completa** que los torna altamente hidrofílicos. La **lisina** y la **arginina** tienen **largas cadenas** que **terminan en grupos con carga positiva a pH neutro**. La **lisina** tiene un **grupo amino al final** y la **arginina** un **grupo guanidinio**. La **histidina** contiene un **grupo imidazol**, un **anillo aromático** que también puede tener carga positiva a pH menor a 6. **La histidina se encuentra a veces en los sitios activos de las enzimas, donde el anillo imidazol puede unirse y soltar protones durante las reacciones enzimáticas.**

Aminoácidos con carga negativa

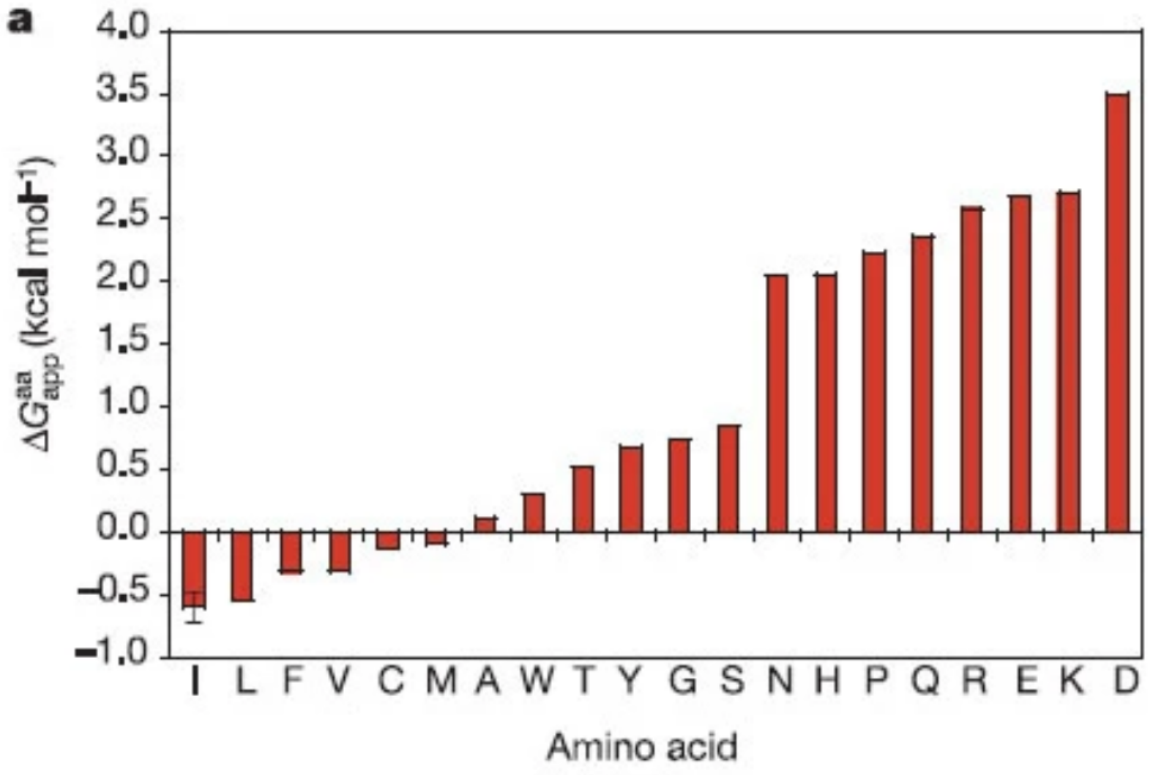
Tienen **dos cadenas laterales acídicas**: El **ácido aspártico** y el **ácido glutámico**. Son **derivados de la asparagina y la glutamina**, pero tienen un **grupo carboxilo**. También se les llaman **aspartato y glutamato,** para enfatizar que, a pH fisiológico, a las cadenas laterales les falta un protón, por lo que están cargados negativamente.

Aminoácidos neutros polares

Estos aminoácidos son la **serina, treonina, cisteína, asparagina y glutamina**. Sus **cadenas laterales no tienen carga**. Estos **tenderán a estar en el interior** de las membranas biológicas.

Escalas de hidrofobicidad

Podemos decir que **el efecto hidrofóbico es el que gobierna el plegamiento de las proteínas**. Aquí tenemos una escala de mayor hidrofobicidad a la izquierda (isoleucina, leucina, fenilalanina, valina..) a aminoácidos más hidrofílicos (ácido glutámico, lisina, ácido aspártico..).



Hessa et al. (2005)

Aminoácidos no estándar

Los aminoácidos estándar o también llamados proteinogénicos son los que forman parte de las proteínas y que están en el código genético. Los no proteinogénicos, o no estándar, no están en el código genético pero pueden tener funciones biológicas muy relevantes. Suelen ser derivados de los proteinogénicos. Un ejemplo es **el triplete UGA** que **no produce ningún aminoácido en concreto**, pero **si se encuentra seguido por un elemento SECIS** (*selenocystein insertion sequence*) **se formará una selenocisteína**, muy similar a la cisteína.

Otro ejemplo es la **pirrolisina**, codificado por el codón **UAG** en el genoma de sólo algunas arqueas, que de normal produce un **codón de stop**, la arquea productora de metano *Methanosarcina barkeri* es capaz de producirlo.

Otros no proteinogénicos son:

- **Neurotransmisores como: GABA** (Gamma AminoButiric Acid) que es un derivado de la Glicina, o la **serotonina**, que es un derivado del triptófano.
- **Hormonas**: **Tiroxina**, derivada de la tirosina, o el **ácido indolacético**, derivado del triptófano.
- **Precursores o intermediarios metabólicos**: **Citrulina** que es **vasodilatador** y también se utiliza como suplemento deportivo, o la **ornitina**, que se encuentra en el mismo ciclo y también es **precursor de la hormona de crecimiento humana**.

Aminoácidos esenciales y no esenciales

Este nombre **hace referencia a si los humanos somos capaces de sintetizarlos o no**. En el caso de los **no esenciales**, los humanos **somos capaces** de sintetizarlos, por lo que los **esenciales** al contrario, **debemos ingerirlos** a través de la dieta ya que no somos capaces de sintetizarlos. Aquí tenemos una tabla en el caso de los humanos:

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

Propiedades ácido-base de los aminoácidos

Los aminoácidos **en solución a pH neutro** existen predominantemente como i**ones dipolares**, también llamados como **zwitteriones**. En esta forma dipolar, presentan **tanto carga como positiva,** por el grupo amino que se encuentra protonado**, como negativa,** por el grupo carboxilo, que está desprotonado**. El estado de ionización de un aminoácido varía con el pH.** En una solución ácida, por ejemplo, a **pH 1**, el **grupo amino está protonado** y el grupo carboxilo no está disociado. Conforme **aumenta el pH**, el **grupo carboxilo es el primer grupo**

que suelta un protón. La **forma dipolar persiste hasta que se aumenta el pH hasta 9.5, donde se pierde un protón del grupo amino.**

Forma catiónica <> Zwitterión <> Forma aniónica
(ambos grupos protonados) (forma neutra) (ambos grupos desprotonados)

Por esta propiedad es que pueden actuar como ácidos y bases débiles.

Las proporciones de cada especie se pueden calcular con la ecuación de Henderson-Hasselbach:

$$\mathbf{pH = pHa + \log([base]/[ácido])}$$

¿Por qué es importante el pK?

- **Determina la carga del aminoácido según el pH** del medio.
- Es **clave en la estructura y función** de las proteínas
- Ayuda a **calcular el punto isoeléctrico** de un aminoácido

Entonces, el **pK1** es el **pH** en cual el **grupo carboxilo** (cuando pasa de **-COOH a -COO-**) **pierde un protón** y el **pK2** cuando lo hace el **grupo amino** (cuando pasa de **-NH3+ a NH2+**).

Por tanto, el pK de un aminoácido que no tiene cadena lateral ionizable, será:

$$\mathbf{(pK1 + pK2) / 2.}$$

Sin embargo, **7 de los 20 aminoácidos tienen cadenas laterales ionizables**. Estos siete aminoácidos son capaces de **donar o aceptar protones** para facilitar reacciones o para formar enlaces iónicos.

Para los que sí tienen cadenas laterales ionizables, tenemos dos opciones:

- **Grupos negativos (o ácidos)**: **Cisteína, ácido aspártico y glutámico, tirosina**. Fórmula: **(pK1 + pkR) / 2.**
- **Grupos positivos (o básicos): Histidina, lisina y arginina: (pK2 + pKR) / 2.**

Punto isoeléctrico

El **pI** es el pH para el cual la **carga neta del aminoácido es 0**. Es el **valor medio de los pKa de las especies que "flanquean" la estructura isoeléctrica**. Cuando el pH es igual al pI, la carga neta es 0 y por tanto **la solubilidad en agua disminuye**. En el caso de la **glicina**, que **como veíamos no tenía grupo ionizable** en su cadena lateral, el **punto isoeléctrico** es la media de los valores **de pK1 y pK2. (2,34 + 9,6) / 2 = 5,97.**

Curvas de valoración y pI

En el caso de los aminoácidos que sí tienen **cadenas laterales ionizables**, su **curva de titración o de valoración es más compleja porque tiene 3 fases**, correspondiendo a los **tres pasos de ionización**, por eso **tienen 3 valores pK.**

Hagamos un ejemplo con la histidina. ¿Qué ocurre con ella? Tenemos tres valores de pK, el pK1 en 1,8 del grupo carboxilo, el pKR, en 6 de la cadena lateral, y el pK2 en 9,2, del grupo amino. Su **pI se encuentra en 7,6**, este valor lo obtenemos porque como es **una cadena con grupos positivos**, tenemos en cuenta el valor de **pK2 + pKR / 2**, de forma que **(9,2+6)/2=7,6.**

Ejercicio:

Calcula la carga neta de los siguientes aminoácidos a pH 1, 2.1, 4, 10: Gly, Asp, Lys, His. Sabiendo que pK1 = 2.1, pK2 = 8, pKR(Asp) = 4, pKR(Lys) = 12, pKR(His) = 6.

Ejemplo con Lisina:

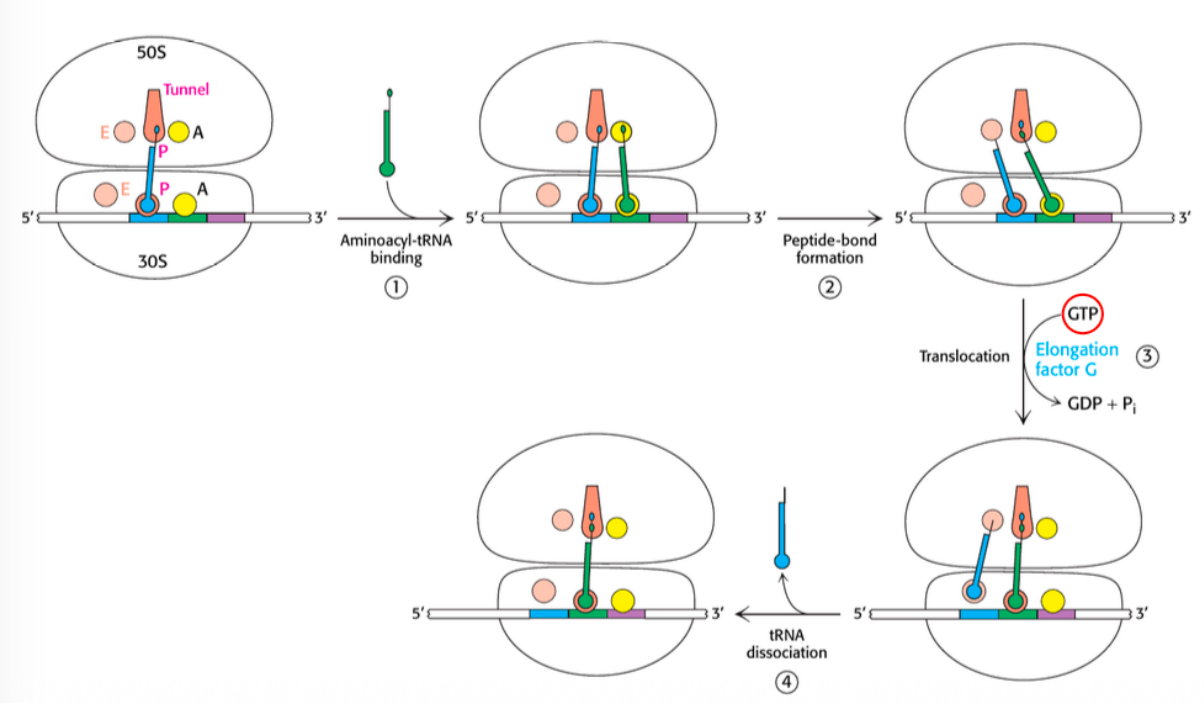
pH	COOH (-1)	NH_3^+ (+1)	R-NH_3^+ (+1)	Carga neta
1	COOH (0)	NH_3^+ (+1)	R-NH_3^+ (+1)	**2**
2.1	COO^- (-1) (50%) / COOH (50%)	NH_3^+ (+1)	R-NH_3^+ (+1)	**≈ +1.5**
4	COO^- (-1)	NH_3^+ (+1)	R-NH_3^+ (+1)	**1**
10	COO^- (-1)	NH_2 (0)	R-NH_3^+ (+1)	**0**

La determinación de la carga y del punto isoeléctrico es determinante, por ejemplo para los procesos industriales ya que cuando **el pH = pI** como los aminoácidos no interaccionan con moléculas de agua en solución, **podemos precipitarlos** y **concentrarlos para purificarlos**, como es el caso del **glutamato**, que se obtiene tras la fermentación de *Corynebacterium glutamicum* y la **precipitación del sobrenadante donde ha crecido,** algo que veremos más adelante cómo se hace y también en prácticas de laboratorio.

El enlace peptídico

Se lleva a cabo por la **unión de dos aminoácidos** entre el grupo **alfa-carboxilo** de uno y el grupo **alfa-amino** de otro, donde tras producirse este **enlace covalente se libera una molécula de agua**. Al unirse este dipéptido se libera una molécula de agua y **se requiere de energía**, ya que **no surge de manera espontánea**, y **esta reacción está catalizada por los ribosomas**. Previamente veíamos la importancia de las estructuras que eran capaces de formar las moléculas de RNA, en este caso **ARNt**, junto con la **peptidil transferasa**, son los **encargados de que se produzcan los enlaces peptídicos.** La molécula de formil-metionina unida al iniciador del ARNt será transferida al grupo amino del aminoácido en el sitio A. La formación del enlace peptídico, una de las reacciones más importantes en la vida, es una reacción termodinámicamente espontánea **catalizada por el centro peptidil transferasa.** Este **centro catalítico** se encuentra **dentro de la subunidad 50S cerca del túnel** que permite al nuevo péptido soltarse del ribosoma. Se podría decir que lo que hace el ribosoma es **posicionar y orientar a los dos sustratos necesarios para que se produzca el enlace.**

El gasto energético asociado a la síntesis del enlace peptídico: En resumidas cuentas, el ciclo comienza con **la unión del peptidil-ARNt al sitio P**. Un **aminoacil-ARNt se une al sitio A**, **con los dos sitios ocupados, se forma un nuevo enlace peptídico**, con el **gasto de energía correspondiente de GTP (GDP +Pi).** Gracias al **factor de elongación, el ARNt se mueve al sitio E, una vez allí, el ARNt está libre de ser disociado para volver a comenzar el ciclo**.



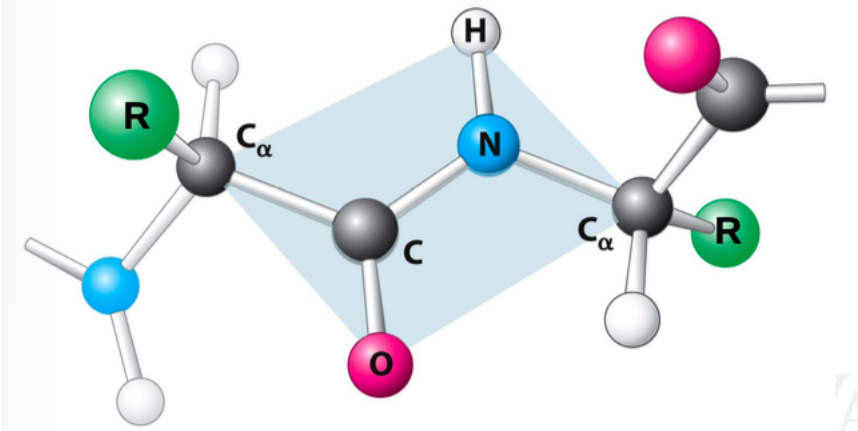
Berg et al. (2019)

Propiedades del enlace peptídico

Si prestamos atención a la **geometría** del enlace peptídico, podemos ver como se encuentra bajo **un mismo plano**. Por tanto, **para una pareja de aminoácidos** unidos por enlace peptídico, **tenemos 6 átomos que caen en el mismo plano**, el carbono alfa y grupo carboxilo del primer aminoácido junto al grupo amino y carbono alfa del segundo aminoácido. Dadas las características de este enlace, principalmente **la distancia entre el carbono y nitrógeno**, que es **inferior a la de un enlace simple pero superior a un doble enlace**, se habla que forman **estructuras resonantes**. Se comporta como un **enlace intermedio**. Esto tiene como **consecuencia** principalmente que:

- La **estructura** tiene más **rigidez**. El enlace **no tiene libertad de giro**
- **Planaridad**: Los **carbonos están en el mismo plano**
- **Dipolo permanente**: **Esta resonancia genera una distribución desigual de la carga**

Para el enlace peptídico planar, existen **dos configuraciones posibles**. En la configuración **trans**, los dos **carbonos alfa están en lados opuestos del enlace**. Casi todos los enlaces en proteínas son de tipo trans, encontrándolos en **abundancia en una ratio 1000:1**, ya que en la posición **cis las cadenas laterales están muy próximas y pueden chocar entre ellas**, cosa que no pasa en la trans. Dentro de los enlaces más comunes de tipo **cis**, encontramos los enlaces **tipo X-Pro,** que no tiene tantos impedimentos estéricos como el resto de cis.

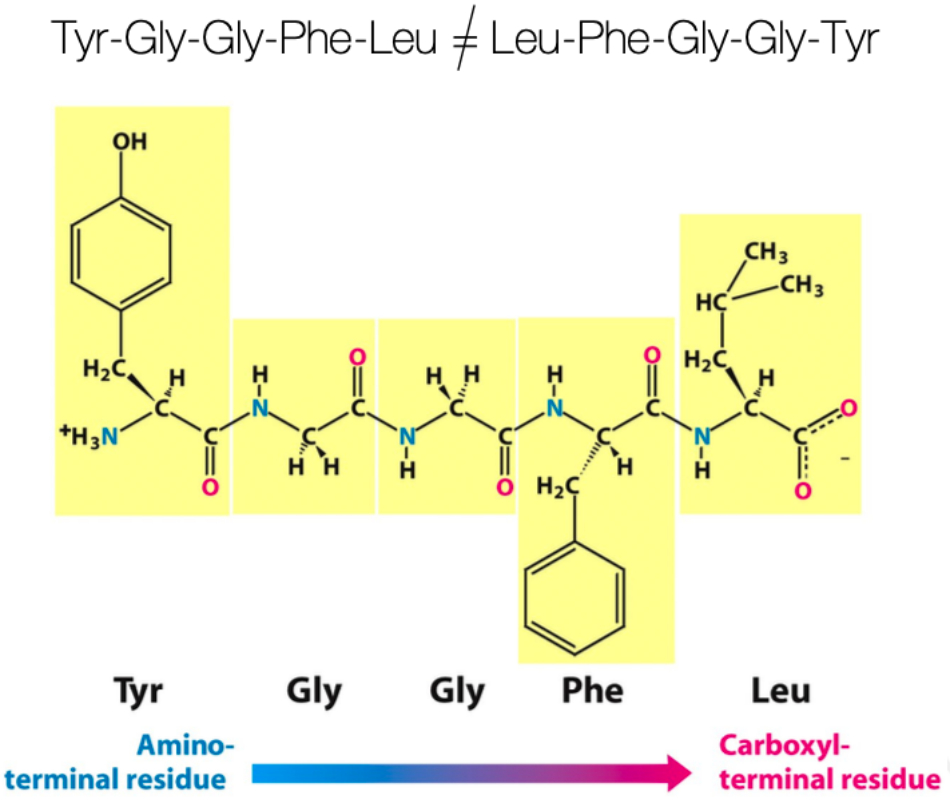


Berg et al. (2019)

Direccionalidad de la cadena polipeptídica

La consecución de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos forma una cadena polipeptídica, y **a cada unidad de aminoácido** en estas cadenas se le conoce como **residuo.** Una cadena polipeptídica tiene **direccionalidad** porque sus extremos son distintos: tomamos como referencia el **grupo amino** para decir que es el **principio de la cadena**, y el **grupo carboxilo** para decir que es **el final**. Por lo que estos dos polipéptidos, aunque estén compuestos por los mismos residuos, forman polipéptidos distintos con también diferentes propiedades químicas.

Una **cadena polipeptídica** consiste en una **parte que se repite** regularmente, la **cadena principal o esqueleto**, y una **región variable**, que está **compuesta de las cadenas laterales de los aminoácidos.**



Berg et al. (2019)

Péptidos

Son **polímeros de unos pocos aminoácidos**. Al ser pocos, tienen **poca riqueza estructural**, no hay muchísima variabilidad en su estructura, sin embargo, son **fundamentales en numerosos procesos celulares**. Aquí tenéis unos ejemplos de péptidos:

- **Glutatión**: Que está compuesto **solo por tres aminoácidos** y es un **agente reductor. Altamente antioxidante.**
- **Vasopresina y oxitocina**: No tienen nada que ver en cuanto a funcionalidad, pero solo se diferencian por dos aminoácidos. La **vasopresina** es una **hormona antidiurética, controla la cantidad de agua que los riñones excretan**, y la **oxitocina**, que es una **hormona sexual**, conocida como la "**hormona del amor"** que se libera no sólo tras el orgasmo, sino durante el **parto y la lactancia.**
- **Péptidos opiáceos**: Que intervienen en el **alivio del dolor**.
- Péptidos **antimicrobianos**: Del **sistema inmune** lideran respuestas **contra patógenos**.

<u>Proteínas</u>

Son más largas, **más de 50 aminoácidos**, que se pliegan con una **estructura definida**. Son las **responsables de la gran mayoría de funciones bioquímicas** como: catálisis, estructura, transporte, almacenamiento, movimiento, detoxificación, defensa, regulación, etc. Podemos clasificarlas **según su forma**, en:

- **Globulares** como la mioglobina
- **Fibrilares** o fibrosas como el colágeno

Según su composición:

- **Simples** (holoproteínas)
- **Conjugadas** (heteroproteínas)
    - Glucoproteínas
    - Lipoproteínas
    - Metaloproteínas (ión metálico como **cofactor**)
    - Hemoproteínas (ión **hierro**)
    - Fosfoproteínas (ácido **fosfórico**)

Estructura de las proteínas

Como vimos con los ácidos nucleicos, se distinguen cuatro niveles estructurales:

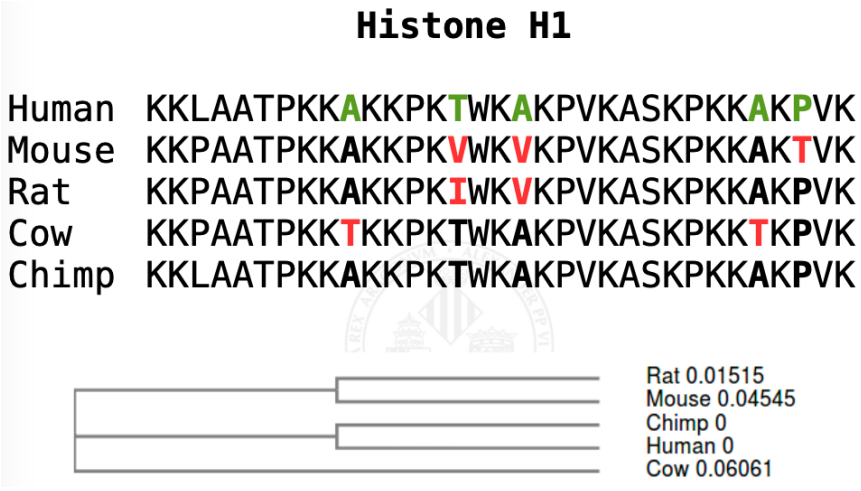
- **Primaria**: Hace referencia a la **secuencia de aminoácidos**
- **Secundaria**: **Plegamiento local** de la secuencia de aminoácidos.
- **Terciaria**: **Plegamiento global** de la proteína.
- **Cuaternaria**: Organización **multimérica** de la proteína.

Estructura primaria

La **secuencia** como hemos visto es **específica de cada proteína**. Esta secuencia nos permite **establecer relaciones evolutivas**. Las **proteínas homólogas tienen funciones y secuencias semejantes**. Las proteínas tienen **identidad y similaridad**:

- **Identidad**: Hace referencia a la **unión de cada aminoácido en la secuencia**.
- **Similaridad**: **Tiene en cuenta aquellos aminoácidos que han cambiado** (son diferentes).

A modo de ejemplo, tenemos **parte de la secuencia de la histona**. Como vemos, respecto al humano, **la del chimpancé es idéntica** ya que tiene el **mayor grado de similitud**, mientras que según nos alejamos filogenéticamente, observamos cambios en los aminoácidos. Estos pequeños cambios que van surgiendo por mutaciones que van siendo seleccionadas a lo largo de generaciones por evolución, **son los que nos permiten establecer árboles filogenéticos.**



Berg et al. (2019)

Es más común que estas variaciones se den en lugares poco relevantes para su función, por tanto, aquellos que permanecen inmóviles nos pueden dar una pista sobre su importancia a la hora de realizar su función. Las mutaciones conservadoras, sin embargo, pueden darse entre aminoácidos que, aunque estén en zonas fundamentales para la función proteica, dada que los residuos son semejantes, pueden no alterar la función. Existen **mutaciones asociadas a enfermedades**, como la **eliminación de la fenilalanina** en la posición 508 en la **proteína CFTR que produce fibrosis quística**, o mutaciones asociadas a tratamientos, como los **cambios de aminoácidos en las posiciones 275** (**histidina a tyrosina**) y 295 (asparagina a serina) **en la proteína M2 del virus de la gripe**, que **produce resistencia al fármaco Tamiflu.**

Referencias:

- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Gatto, G. J., & Stryer, L. (2019). *Biochemistry* (9th ed.). W.H. Freeman and Company.
- Hessa, T., Kim, H., Bihlmaier, K. *et al.* Recognition of transmembrane helices by the endoplasmic reticulum translocon. *Nature* 433, 377–381 (2005). https://doi.org/10.1038/nature03216
- Ikeda M. Amino acid production processes. Adv Biochem Eng Biotechnol. 2003;79:1-35. doi: 10.1007/3-540-45989-8_1.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2017). *Lehninger principles of biochemistry* (7th ed.). W.H. Freeman.