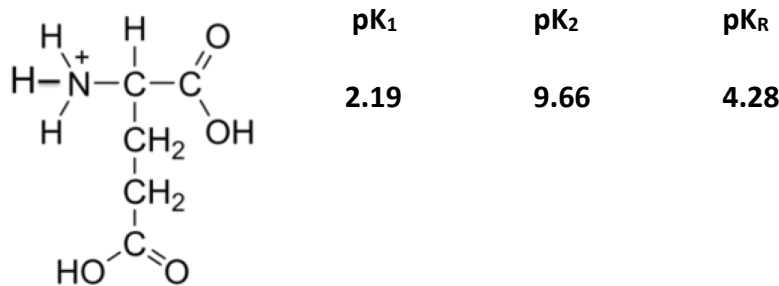


RESPUESTAS AL CUESTIONARIO GUÍA N°3: AMINOÁCIDOS Y BIOENERGETICA

A- AMINOÁCIDOS

1- A continuación, se presenta la estructura del aminoácido glutamato y los pKas de cada uno de sus grupos ionizables.

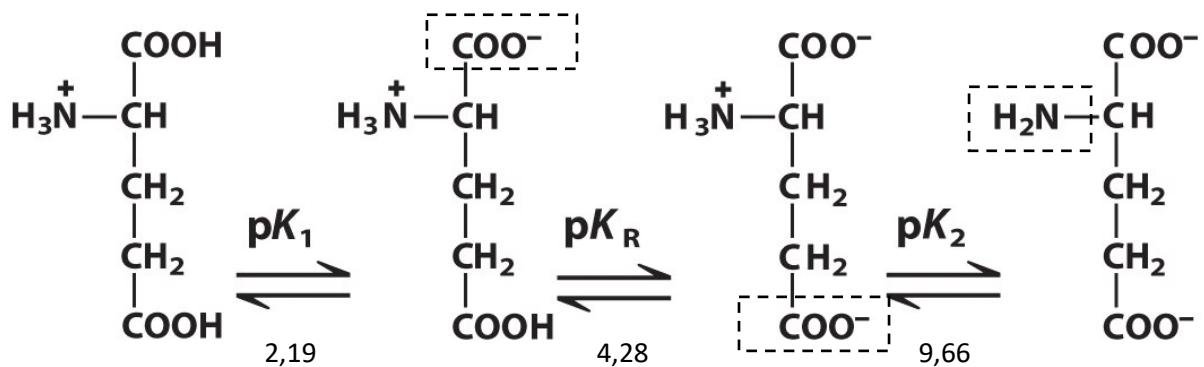


a) Escriba todas las formas posibles en que se puede encontrar el aminoácido dependiendo del pH.

Los aminoácidos tienen grupos ionizables (capaces de ceder o aceptar H<sup>+</sup>) en los grupos alfa-carboxilo y alfa-amino, e incluso algunos contienen grupos ionizables en la cadena lateral. El estado de ionización (protonado o desprotonado) de cada uno de estos grupos depende del pH y de su pKa.

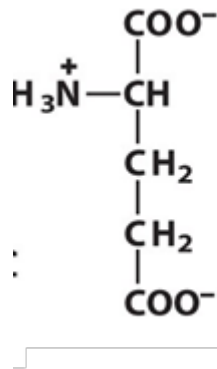
Si el pH es < pKa del grupo este se encuentra protonado, a la inversa si el pH > pKa, éste se encuentra desprotonado.

Para resolver el ejercicio comenzamos con la estructura del glutamato con todos sus grupos protonados, y luego continuamos dibujando las siguientes formas quitando un H<sup>+</sup> a un grupo ionizable a la vez, y en orden creciente de pKa:



b) ¿Cuál será la carga neta del aminoácido en una célula (pH=7,4)?

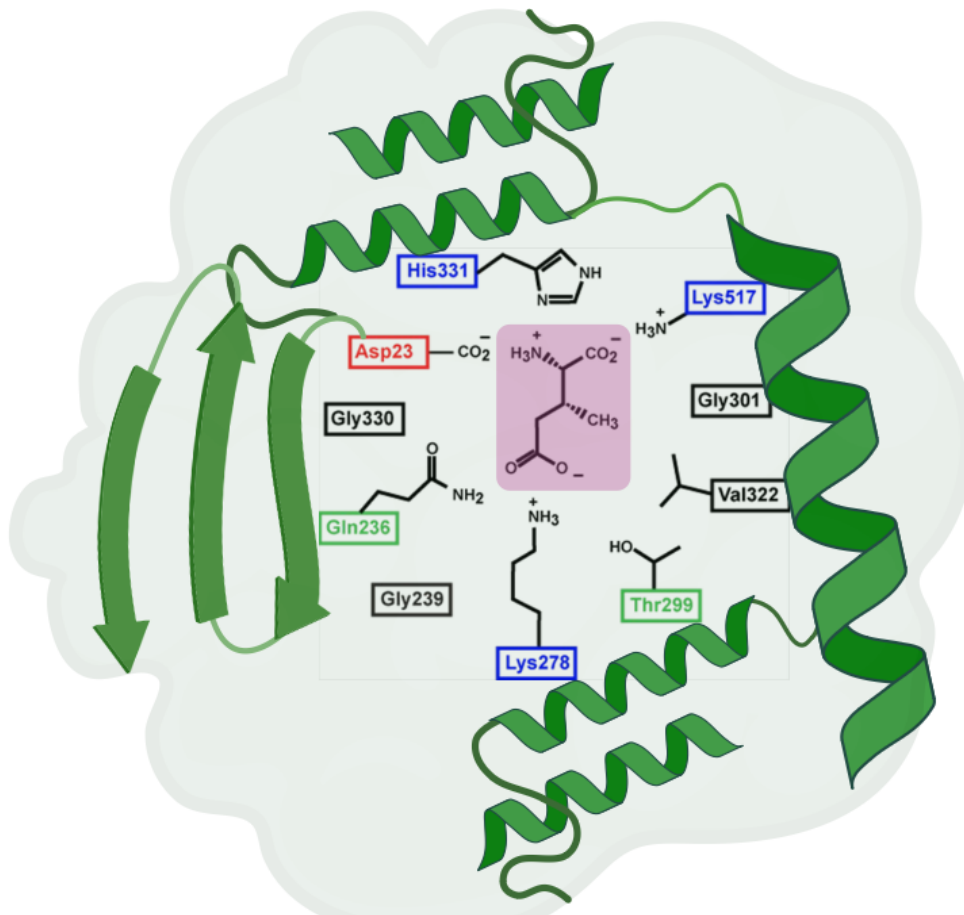
R: El glutamato se encontrará en la forma que dibujamos en tercer lugar, ya que el pH=7,4 es mayor al pKa del grupo R (4,28) y menor al pKa del grupo amino (pKa2=9,66).



2- En la figura se muestran los aminoácidos del sitio activo de una enzima (en colores) y el sustrato de la misma en el centro (recuadro rosado) a un pH = 7.4

a) El sustrato se mantiene en el sitio activo de la enzima debido a la presencia de (marque la opción correcta):

- Interacciones Hidrofóbicas - *correcta*
- Enlaces covalentes
- Interacciones iónicas- *correcta*
- Puentes disulfuro



A partir de la figura, podemos inferir que la unión del sustrato con el sitio activo depende de interacciones electrostáticas, ya que los grupos del sustrato cargados negativamente se orientan hacia los grupos cargados positivamente de la enzima. Y de la misma manera el grupo  $\text{NH}_3^+$  del sustrato, con carga positiva, interacciona con un carboxilo presente en la enzima (con carga negativa).

- a) Indique qué ocurriría si se somete a esta enzima a un  $\text{pH} < 2$ . ¿Se mantienen las mismas interacciones con la enzima? ¿Por qué? ¿Qué espera que ocurra con la actividad enzimática? ( $\text{pKa} \text{-COOH} = 2$ ;  $\text{pKa} \text{-NH}_3^+ = 9\text{-}10$ )

R: A un  $\text{pH}$  tan extremadamente bajo, los grupos carboxilo que participan de las interacciones en este ejemplo se encontrarían protonados, modificándose la carga. Los grupos carboxilato ( $\text{COO}^-$ ) cuando se protonan ( $\text{COOH}$ ) pierden la carga y se transforman en neutros, perdiéndose la interacción electrostática con la enzima.

Si el sustrato no se une a la enzima eficientemente, no puede ocurrir la catálisis y no hay actividad enzimática.

**B- BIOENERGÉTICA**

1. Calcule la variación de energía libre de la hidrólisis del ATP a pH 7.0 y 25°C bajo condiciones de estado estacionario (tal como existen en las células), en las cuales las concentraciones de ATP, ADP y Pi son mantenidas en 1.0 mM, 0.1 mM y 10 mM, respectivamente. Considere que la  $\Delta G^{\circ}$  para la hidrólisis de ATP a 25°C y pH 7.0 es  $-30.5$  kJ/mol.

La reacción de hidrólisis del ATP es la siguiente:



$\Delta G^{\circ} = -30.5$  kJ/mol (Variación de energía libre de hidrólisis en condiciones estándar)

En condiciones reales, o de estado estacionario, tal como se encuentran las células la variación de energía libre real  $\Delta G$  es:

$$\Delta G = \Delta G^{\circ} + RT \ln [\text{productos}]/[\text{reactivos}]$$

De esta manera, sabiendo el  $\Delta G^{\circ}$  de la reacción, el  $\Delta G$  real depende de las concentraciones existentes de reactivos y productos en la célula, datos que se dan en el problema. Debemos expresar las concentraciones en molar y sustituir en la ecuación.

R (constante de los gases) 0,00831 kJ/molK y T (temperatura Absoluta) 298 K, por tanto  $RT = 2,48$  KJ/mol.

$$\Delta G = -30.5 \text{ KJ/mol} + 2,48 \text{ KJ/mol} \ln [\text{ADP}][\text{Pi}]/[\text{ATP}]$$

$$\Delta G = -30.5 \text{ KJ/mol} + 2,48 \text{ KJ/mol} \ln [0.1 \times 10^{-3} \text{ M}][10 \times 10^{-3} \text{ M}]/[1 \times 10^{-3} \text{ M}]$$

$$\Delta G = -30.5 \text{ KJ/mol} + 2,48 \text{ KJ/mol} \ln 1 \times 10^{-3}$$

$$\Delta G = -30.5 \text{ KJ/mol} + 2,48 \text{ KJ/mol} (-6,9)$$

$$\Delta G = -30.5 \text{ KJ/mol} + (-17,112 \text{ KJ/mol})$$

**Respuesta:  $\Delta G = -47,6$  KJ/mol**

Esto significa que en condiciones celulares, la hidrólisis del ATP libera mucho más energía que en condiciones estándar.

2. La variación de energía libre estándar para la hidrólisis de ATP a 25°C y pH 7.0 es  $\Delta G^{\circ} = -30.5$  kJ/mol. Se sabe que la variación de la energía libre estándar para la hidrólisis de glucosa-6-fosfato en las mismas condiciones es  $\Delta G^{\circ} = -13.8$  kJ/mol.

Calcule la variación de energía libre estándar para la reacción que cataliza la hexoquinasa (HK):

*HK*



Este ejercicio se trata de reacciones acopladas, donde una reacción libera energía para que la otra reacción la utilice y se lleve a cabo. Lo primero que hay que mirar en estos ejercicios es quien se está hidrolizando (liberando el grupo fosfato Pi y liberando energía) y quien se está fosforilando (ganando el grupo Pi). La  $\Delta G^{\circ}$  se expresa siempre en dirección de la hidrólisis del grupo fosfato, por lo que, si la reacción no es de hidrólisis, sino de fosforilación, el signo del  $\Delta G^{\circ}$  debe invertirse.

Como se ve en la reacción global, quien se está fosforilando es la glucosa para dar Glucosa-6-P (se fosforila en la posición 6) y quien se está hidrolizando es el ATP, por tanto las reacciones parciales quedarían como sigue:

Glucosa + Pi  $\rightarrow$  Glucosa-6-P  $\Delta G^{\circ} = 13.8$  kJ/mol (el valor de  $\Delta G^{\circ}$  es positivo porque es de fosforilación)

ATP  $\rightarrow$  ADP + Pi  $\Delta G^{\circ} = -30.5$  kJ/mol (En este caso no se invierte porque la reacción es de hidrólisis)

La suma de las dos reacciones nos tiene que dar la reacción original (se elimina lo que se encuentra igual en reactivos y productos):

Glucosa + ~~Pi~~  $\rightarrow$  Glucosa-6-P  $\Delta G^{\circ} = 13.8$  kJ/mol

ATP  $\rightarrow$  ADP + ~~Pi~~  $\Delta G^{\circ} = -30.5$  kJ/mol

Glucosa + ATP  $\rightarrow$  Glucosa-6P + ADP  $\Delta G^{\circ} = -16,7$  KJ/ml

**Respuesta:  $\Delta G^{\circ} = -16,7$  KJ/ml**

Como se observa, la energía que se libera de la hidrólisis del ATP se utiliza para la fosforilación de la Glucosa.

3. Las células utilizan reacciones de oxidación y reducción (redox) para sintetizar ATP.

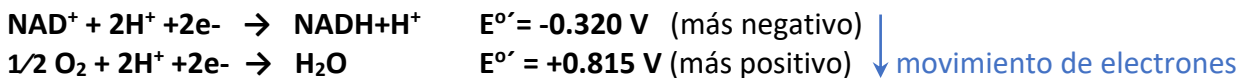
El  $\text{NAD}^+$  es la principal molécula transportadora de electrones a nivel celular. El NADH cede los electrones a la cadena respiratoria donde el último receptor de los electrones es el oxígeno ( $\text{O}_2$ ).

A continuación, se plantean las semi-reacciones de reducción del  $\text{NAD}^+$  y el  $\text{O}_2$  y sus potenciales redox estándar ( $E^\circ$ ):

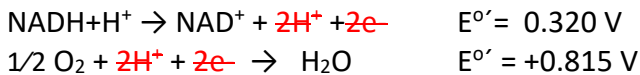


a) Si el par  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  y el par  $\frac{1}{2} \text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$  reaccionan directamente en condiciones estándar ¿quién se llevaría los electrones, es decir quién es el agente oxidante? Plantee la reacción global y determine la variación de energía libre.

Para resolver este ejercicio, primero nos tenemos que fijar de donde a donde se mueven los electrones viendo los potenciales de reducción. Siempre del más negativo al más positivo:



Por tanto, la reacción  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  es quien da los electrones (se oxida), y el oxígeno es el que acepta los electrones, el agente oxidante. La ecuación del par  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  hay que escribirla entonces como reacción de oxidación e invertir el símbolo del potencial



$$\Delta G^\circ = -nF \Delta E^\circ$$

$$\Delta G^\circ = -2 (96,4 \text{ kJ/V mol}) (1,135 \text{ V}) = -218,8 \text{ kJ/mol}$$

Respuesta:  $\Delta G^\circ = -218,8 \text{ kJ/mol}$  (Se liberan 218 kJ/mol de energía)

b) ¿Cuántas moléculas de ATP se podrían formar si se produce esta reacción de óxido-reducción? Recuerde que la energía libre necesaria para la síntesis de un mol de ATP en condiciones estándar es de 30,5 kJ/mol.

Sabemos que precisamos 30,5 kJ/mol para poder sintetizar 1 mol de ATP

La reacción anterior de óxido-reducción, nos libera 218 kJ/mol de energía

Por tanto:

Moles de ATP que puedo sintetizar =  $218/30,5 = 7,15$  moles

**Respuesta: con 218 KJ/mol podemos sintetizar 7,15 moles de ATP**