

# ***EXAMEN DE BIOQUÍMICA RESUELTO***



**ACADEMIA CPU**  
CLASESPARAUNIVERSITARIOS.COM

1. Calcula el punto isoeléctrico del siguiente péptido: H-His-Asp-Arg-Asp-Lys-Met-Lys-Arg-Leu-Lys-Glu-Arg-OH.

pKa ( $\alpha$ -COOH) = 2; pKa (R-COOH) = 4; pKa (R-His) = 6; pKa ( $\alpha$ -NH<sub>2</sub>) = 9; pKa (R-Lys) = 11; pKa (R-Arg) = 12.

Puesto que la forma neutra del péptido se consigue cuando se desprotonan dos de los tres grupos de la lisina, podemos calcular la pI aplicando la ecuación de H-H al equilibrio de dichos grupos:

$$pI = pK_a \text{ Lys} + \log \frac{R\text{-Lys}}{R\text{-Lys}^+} = 11,0 + \log \frac{2}{1} = 11,3$$

2. Hablando de proteínas, define los términos homóloga, paróloga y ortóloga. Indica un ejemplo de estas dos últimas.

- Proteínas homólogas son aquellas que derivan de un antecesor común.
- Proteínas parálogas son aquellas proteínas homólogas presentes en la misma especie, pero con funciones diferentes.
- Proteínas ortólogas son aquellas proteínas homólogas presentes en especies diferentes pero que realizan la misma función.
- Ejemplo de parálogas: ribonucleasa humana y angiogenina humana.
- Ejemplo de ortólogas: las mioglobinas (o el citocromo c respiratorio u otra) de dos especies diferentes.

3. Cuando se comparan dos secuencias de proteínas, ¿qué son las identidades, sustituciones conservadoras y no conservadoras? Indica las sustituciones conservadoras en la siguiente comparativa de secuencias:

Glu-Pro-Val- Ile-Phe-Val-Tyr-Val-Ile-Tyr-Val-Pro-Ala- Met- Glu-Gln-Lys-Val-Leu  
 Asp-Pro-Glu-Ile-Phe-Val-Gly-Val-Ile-Phe-Val-Pro-Leu-Met- Asp-Gln-Arg-Gly-Leu

- Identidades: el mismo aminoácido en la misma posición de las dos secuencias
- Sustituciones conservadoras: aminoácidos de características similares en la misma posición de las dos secuencias
- Sustituciones no conservadoras: aminoácidos de características muy diferentes en la misma posición de las dos secuencias.

4. La  $\Delta G^{\circ}$  a 25 °C de la reacción  $A + B \rightleftharpoons C + D$  es 7,42 kJ mol<sup>-1</sup>. ¿Hacia qué sentido estará favorecida la reacción partiendo de condiciones estándar? Calcula la relación de productos respecto a reactivos en el equilibrio. R= 8,314 J mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>.

La reacción estará favorecida hacia la izquierda, dado que su  $\Delta G^{\circ}$  es positivo tal como está escrita. Podemos calcular fácilmente la relación de productos respecto a reactivos en el equilibrio cuando la reacción transcurre tal como está escrita:

$$\Delta G^{\circ} = 7,42 \text{ kJ mol}^{-1} = -RT \ln K_{eq} = -8,314 \times 10^{-3} \text{ kJ mol}^{-1} \text{ K}^{-1} \times 298 \text{ K} \times \ln K_{eq}$$

$K_{eq} = 0,05$  Efectivamente, en el equilibrio habrá 20 veces más reactivos que producto.

**5. Indica las posibles ventajas e inconvenientes del modelo llave-cerradura para explicar la interacción enzimasustrato.**

La ventaja fundamental de este modelo es que explica muy bien la altísima especificidad de la E por el S, ya que el sustrato encaja perfectamente en el sitio activo. La enorme desventaja de este modelo es que, al estabilizar la E al S en su estado basal, lo que haría es dificultar su paso al compuesto del estado de transición, lo que ralentizaría su transformación en producto. Precisamente las E, como sugiere el modelo del ajuste inducido, lo que hacen es justo lo contrario, favorecer la transformación del S en el intermediario del estado de transición.

**6. Explica el experimento que permitió demostrar la movilidad de las proteínas de membrana.**

Se marcaron las proteínas de membrana de células de ratón y humano con anticuerpos fluorescentes que emitían luz a diferentes  $\lambda$  (digamos azul y rojo). Se provocó la fusión celular mediante un virus y se analizó el patrón de fluorescencia de esas células híbridas. Justo después de la fusión, la mitad de la célula emitía luz azul y la otra mitad roja, pero pasado un tiempo la fluorescencia se fue dispersando, de forma que ambas luces eran emitidas en cualquier sitio de la célula, lo que demostraba que las proteínas de membrana se habían distribuido uniformemente por la nueva célula.

**7. Calcula  $\Delta G'$  para el transporte de iones  $\text{Na}^+$  hacia el exterior de una célula nerviosa asumiendo una concentración de  $\text{Na}^+$  externa de 150 mM e interna de 10 mM. El potencial eléctrico de la membrana de la célula nerviosa es de -70 mV a 37°C.  $R = 8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ;  $F = 96,5 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ V}^{-1}$ .**

$$\Delta G' = RT \ln C_2/C_1 + ZF\Delta\psi = 8,314 \times 10^{-3} \text{ kJ mol}^{-1} \text{ K}^{-1} \times 310 \text{ K} \times \ln 150 \text{ mM}/10 \text{ mM} + (+1) \times 96,5 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ V}^{-1} \times (0,07 \text{ V}) = 13,73 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ de } \text{Na}^+$$

**8. ¿Qué ocurre cuando se trata de disolver un compuesto hidrófobo en agua? Explica a qué se debe ese comportamiento y cuál es su importancia biológica.**

Al tratar de disolver un compuesto hidrófobo en agua, las moléculas hidrófobas tienden a agregarse. Esto se debe a que las moléculas de agua se organizan en torno a la especie hidrófoba, siendo esta bajada de entropía muy desfavorable energéticamente. Cuanto más agrupadas estén las moléculas hidrófobas, menor relación superficie/volumen y, por tanto, menor número de moléculas de agua ordenadas y menos desfavorable será el proceso. Esta tendencia de las moléculas hidrófobas a asociarse en agua, conocida como efecto hidrófobo, es un factor muy importante en la determinación de la estructura y la función de las moléculas biológicas.

**9. En general, ¿cómo reconocen las proteínas que interaccionan con el ADN el sitio concreto de la molécula al que tienen que unirse? Indica algunos ejemplos característicos de esos sitios de unión.**

Lo que reconocen las proteínas que interaccionan con el ADN son distorsiones estructurales de la doble hélice asociadas a secuencias concretas. Algunas de estas estructuras características asociadas a secuencia son el ADN Z, el ADN H, o de triple hélice, y los palíndromos. Aunque hay distorsiones estructurales que no presentan un patrón tan característico como las anteriores.

**10. Describe brevemente el experimento que permitió demostrar que la información para el plegado tridimensional de una proteína reside en su estructura primaria.**

El experimento de la ribonucleasa de Anfinsen. Partiendo de ribonucleasa, la desnaturalizaron in vitro elevando la temperatura a un pH ácido. Siguió esta desnaturalización de diferentes formas: cambios de absorbencia, de fluorescencia o de viscosidad. Comprobaron que al desnaturalizarse la enzima perdía su capacidad de romper ARN. Si dejaban que la proteína volviera lentamente a la situación inicial, comprobaron (con los mismos métodos de antes) que recuperaba su estructura nativa y su actividad biológica. La enzima tiene 4 puentes disulfuro. Si hacían el experimento en condiciones reductoras, en que los puentes S-S se rompían, comprobaron que la enzima desnaturalizada se renaturalizaba igual que antes, formándose correctamente de nuevo los 4 puentes S-S. Este experimento demostró que toda la información para el plegado tridimensional de una proteína reside en su estructura primaria, y no necesita nada más para plegarse en su forma nativa.

**11. Explica cómo afecta un inhibidor no competitivo a la  $K_M$  y  $V_{máx}$  de una reacción enzimática.**

El inhibidor no competitivo se une de forma indistinta y con la misma afinidad tanto a la E libre como al complejo ES. Por tanto, el equilibrio de formación del complejo ES no se verá afectado; es decir, la  $K_M$  no se alterará. Sin embargo, siempre habrá una población de la E, o del complejo ES, que tengan unido el inhibidor, y que no podrán llevar a cabo la catálisis, por lo que el efecto neto será como si hubiéramos reducido la concentración de E total, y por tanto la  $V_{máx}$  que puede alcanzarse en el ensayo.

**12. Un extracto crudo enzimático contiene 20 mg de proteína/ml. 20  $\mu$ l de ese extracto crudo catalizan la producción de 3  $\mu$ moles de producto en 1 min, en condiciones óptimas de ensayo. Calcular:**

- La concentración de la enzima en el extracto crudo en U/ml.
- La actividad específica de esta enzima en el extracto en U/mg de proteína.
- La actividad total del extracto si tenemos 100 ml del mismo.

Los 20  $\mu$ l de extracto crudo contienen 3 U.

- $[Enzima] = 3U/20\mu l = 3U/0.02 \text{ ml} = 150 \text{ U/ml}$
- $A.E. = [E] \text{ (U/ml)} / [proteína] \text{ (mg/ml)} = 150 \text{ U ml}^{-1} / 20 \text{ mg ml}^{-1} = 7,5 \text{ U/mg}$
- $A.T. = 150 \text{ U/ml} \times 100 \text{ ml} = 15.000 \text{ U}$

**13. Describe brevemente los diferentes tipos de ATPasas transportadoras de iones.**

- ATPasas de tipo P. Así llamadas porque se fosforilan durante el proceso de transporte. Transportan iones contra gradiente a costa de ATP. Se encuentran en las membranas plasmáticas (y en otras) de todos los eucariotas. En nuestro caso una fundamental es la ATPasa de  $Na^+/K^+$ .
- ATPasas tipo V. Llamadas así porque aparecen en las vacuolas de plantas y hongos, aunque también en nuestros lisosomas y endosomas. Acidifican el compartimento (a costa de ATP) para activar proteasas.
- ATPasas de tipo F. Están en todos los organismos. Son las encargadas de generar ATP a costa del gradiente de protones generado por la fotosíntesis o la respiración. También pueden funcionar como ATPasas.

**14. Describe concisamente dos motivos estructurales de proteínas en los que intervengan hélices  $\alpha$ .**

Barril  $\alpha/\beta$ . Se trata de un cilindro formado por láminas  $\beta$  paralelas en el que las hebras  $\beta$  están unidas entre sí por hélices  $\alpha$ . Las hebras  $\beta$  constituyen la pared interna del cilindro, mientras que las hélices se suelen disponer en el exterior, rodeando al sistema  $\beta$ .

Haz de cuatro hélices. Cuatro hélices  $\alpha$ , antiparalelas dos a dos, unidas por giros  $\beta$  o bucles, estrechamente asociadas, que habitualmente presentan un nicho hidrófobo en su interior que permite la unión de un cofactor.

**15. ¿Qué efecto produce el 2,3-bisfosfoglicerato sobre la hemoglobina? Explica brevemente su modo de acción.**

El 2,3 BPG es un efector alostérico de la Hb que disminuye su afinidad por oxígeno. El BPG se une en la cavidad central de la desoxihemoglobina, entre las subunidades  $\beta$ , donde encaja perfectamente e interacciona electrostáticamente con hasta ocho grupos positivos. Lo que hace de esta forma es estabilizar la forma tensa (T) de la Hb, desplazando el equilibrio:

T  $\rightleftharpoons$  R hacia la izquierda y haciendo que la Hb pierda afinidad por el oxígeno.

**16. Explica el fundamento de la cromatografía de intercambio iónico. ¿En qué orden eluirían de una columna de CM-celulosa, equilibrada a pH 6,5, las siguientes proteínas tras aplicar un gradiente de fuerza iónica: A (pI 8,0), B (pI 9,5), C (pI 7,0), D (pI 4,5) y E (pI 5,5).**

En esta técnica, la matriz de la columna tiene unidos covalentemente grupos cargados, bien positiva o negativamente. Al pasar una mezcla de proteínas, las proteínas con carga opuesta a la de la matriz al pH del ensayo se unirán a ella y quedarán retenidas con mayor o menor fuerza dependiendo de su carga. La elución de las proteínas se hace con un gradiente de fuerza iónica creciente. En este caso la matriz es negativa, así que a pH 6,5 las proteínas D y E no quedarían retenidas, al estar cargadas negativamente. El resto saldría en orden creciente de pI (C, A y B), es decir, en función de su mayor o menor carga.

**17. ¿Qué mecanismos de control de la actividad enzimática están presentes en la coagulación de la sangre? Explica brevemente el último paso de este proceso.**

Fundamentalmente la activación proteolítica de zimógenos, la mayoría de ellos proteasas de serina, aunque también interviene la activación por unión de proteínas. El paso final de la cascada de activación es la activación de la trombina, una proteasa muy específica que va a eliminar cuatro pequeños péptidos de la molécula de fibrinógeno, lo que hace que encajen unas con otras, promoviendo la polimerización y formación del coágulo. El coágulo se estabiliza además mediante enlaces cruzados entre residuos de Gln y Lys.

**18. Define una enzima alostérica. Indica un ejemplo, incluyendo posibles efectores.**

Una enzima alostérica es aquella cuya actividad es modulada por la unión no covalente, reversible, de una serie de pequeñas moléculas, denominadas efectores, que pueden ser inhibidores o activadores. Un ejemplo muy bien conocido es el del aspartato transcarbamilasa, enzima que interviene en la síntesis de las piridinas, y que está formada por seis subunidades catalíticas y seis reguladoras. El ATP es un activador de esta enzima, mientras que el CTP es un inhibidor alostérico.

19. Añade la punta de la flecha en la dirección en que creas que está favorecida la siguiente reacción de óxido- reducción y ajusta la estequiometría si crees que es necesario. Determina la cantidad de energía liberada en el proceso de transferencia de electrones.



$$E^{\circ} \text{ Citocromo } c_{ox}/ \text{ Citocromo } c_{red} = +0,25 \text{ V}; E^{\circ} \text{ NADH}_{ox}/\text{NADH}_{red} = -0,32 \text{ V}; F = 96,5 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ V}^{-1}$$

$$\Delta G^{\circ} = -n.F.\Delta E^{\circ}_0 = -2 \times 96,5 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ V}^{-1} \times ((+0,25 \text{ V} - (-0,32 \text{ V})) = -110 \text{ kJ mol}^{-1}$$

La reacción es exergónica en la dirección en que está escrita y se liberarían 110 kJ mol<sup>-1</sup>

