



# Protein Structure, Function and Methods of Analysis II

Dr. Abel Baerga Ortiz  
Bioquímica

Oficina: A626

Teléfono: x1603

Email: [abel.baerga@upr.edu](mailto:abel.baerga@upr.edu)

## **Referencias:**

Lieberman, M; Marks, AD. Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach, 3<sup>rd</sup> Edition, 2009

Devlin, Thomas M. Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations, 6<sup>th</sup> Edition, 2006

Nelson, DL; Cox, MM. Lehninger Principles of Biochemistry, 3<sup>rd</sup> Edition 2000

Bosquejo:

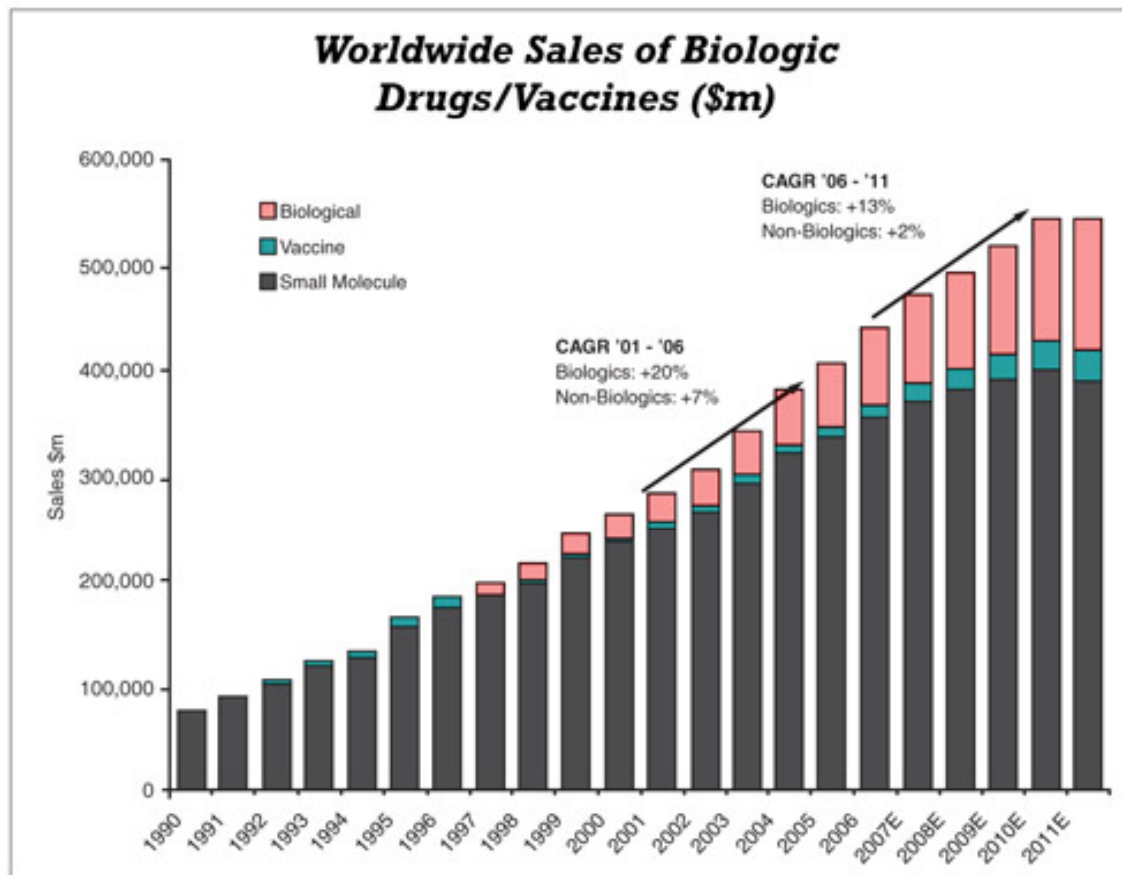
- A) ¿Qué hacen las proteínas?
- B) Relación estructura-función en proteínas
- C) Ejemplo: Myoglobina
- D) Ejemplo: Hemoglobina

Proteínas:

A) Importancia biológica – Las proteínas median los procesos biológicos

B) Importancia tecnológica – Innovación y procesos industriales.

C) Importancia económica



Source: Lehman Brothers PharmaPipelines estimates

# ¿Qué hacen las proteínas?

¡Prácticamente TODO! – Existen muy pocos procesos biológicos que no son mediados por proteínas.

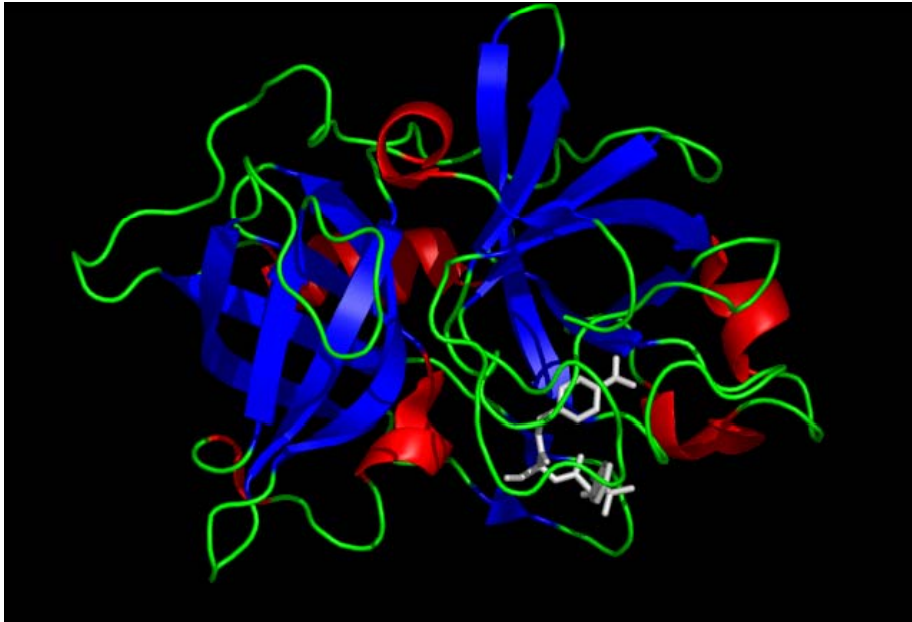
## Función de proteínas:

- A. Enzimas – catalizan casi todas las reacciones en los seres vivos
  - I. Catabólicas – digestión de material
  - II. Anabólicas – biosíntesis de moléculas esenciales
- B. Proteínas estructurales –
  - I. Colágeno
  - II. Keratina
- C. Transporte de materiales–
  - I. Hemoglobina, HDL, LDL
- D. Neurotransmisión – Neuroreceptores
- E. Regulación del crecimiento celular –
  - I. transducción de señales
- F. Transcripción de DNA -
- G. Traducción de RNA -
- H. Respuesta inmunológica - anticuerpos

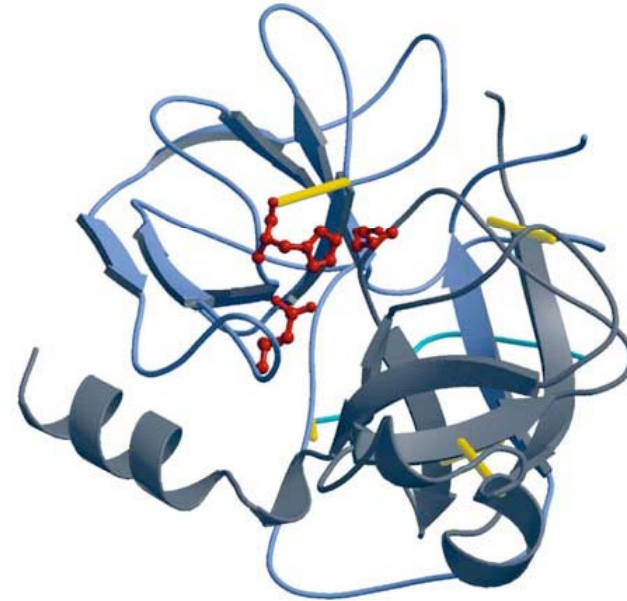
# ¿Qué hacen las proteínas?

Enzimas:

Urokinase: Ser Protease



Chymotrypsin: Ser Protease

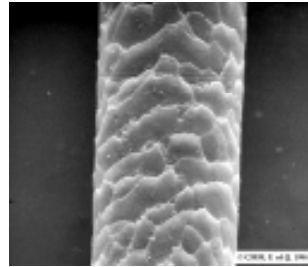


Chymotrypsin: Courtesy PDB

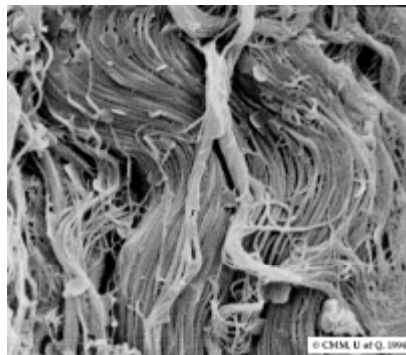
- Digests fibrin clots – Potent anticoagulant
- Digests extracellular matrix – Promotes tumor growth and metastasis

# ¿Qué hacen las proteínas?

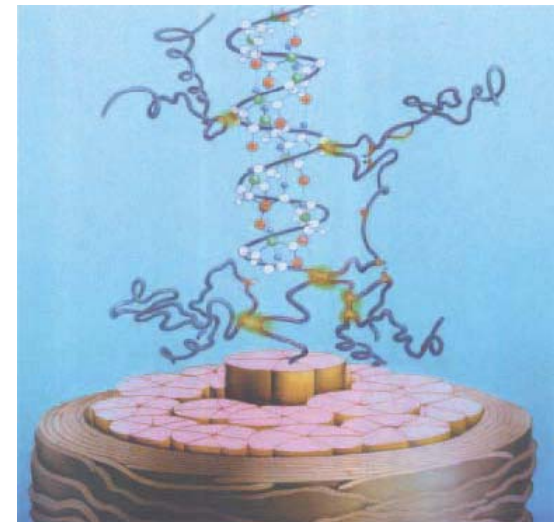
Proteínas Estructurales:



keratina – cabello/uñas



Colágeno – piel, tendones, vasos sanguíneos, córnea

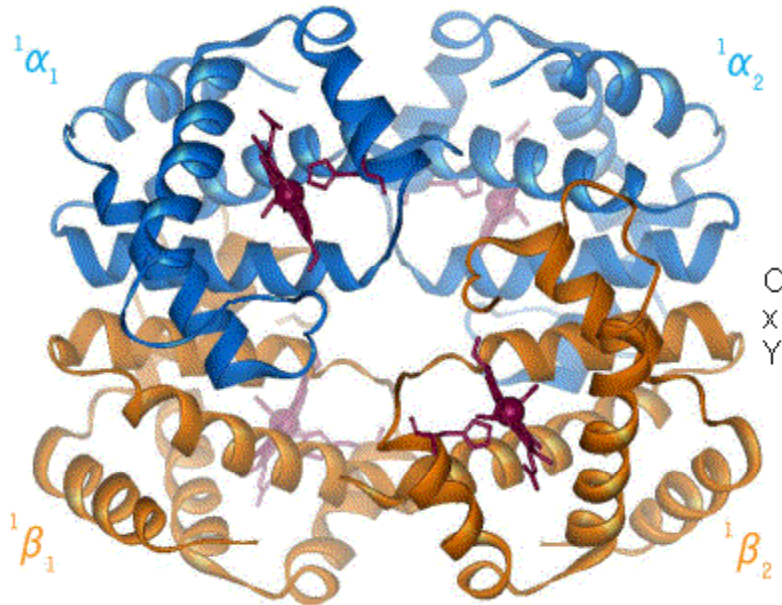


Wella professionals

# ¿Qué hacen las proteínas?

Proteínas de transporte:

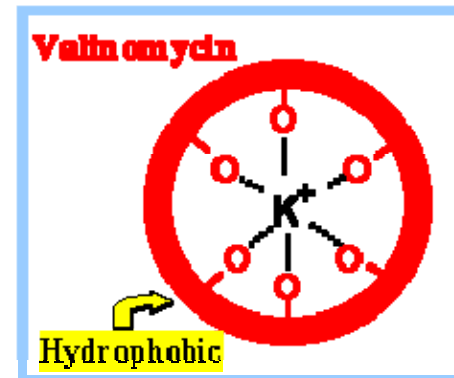
Hemoglobina – Transporte de O<sub>2</sub>



wikipedia

Transition between T and R states of Hemoglobin

Valinomicina – Transporte de K<sup>+</sup>

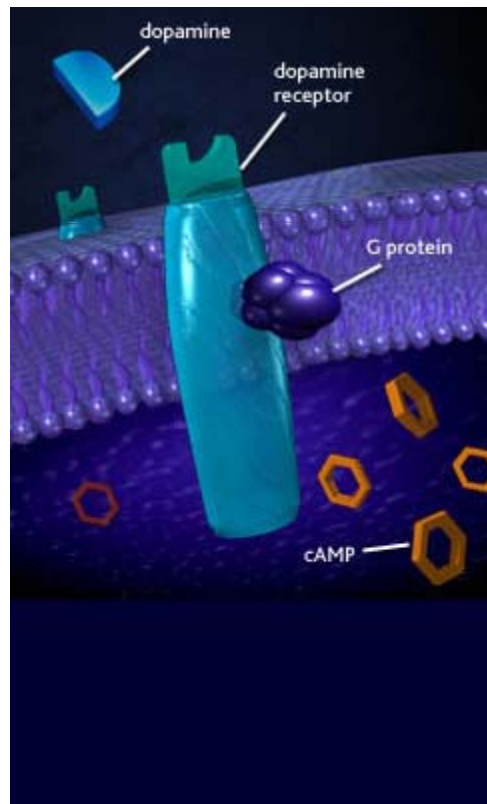


RPI - 1998-2006 by Joyce J. Diwan



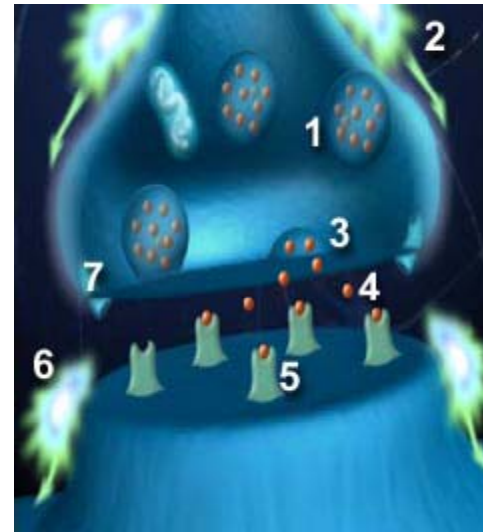
# ¿Qué hacen las proteínas?

Proteínas de neurotransmisión:



Lundbeck institute – Denmark

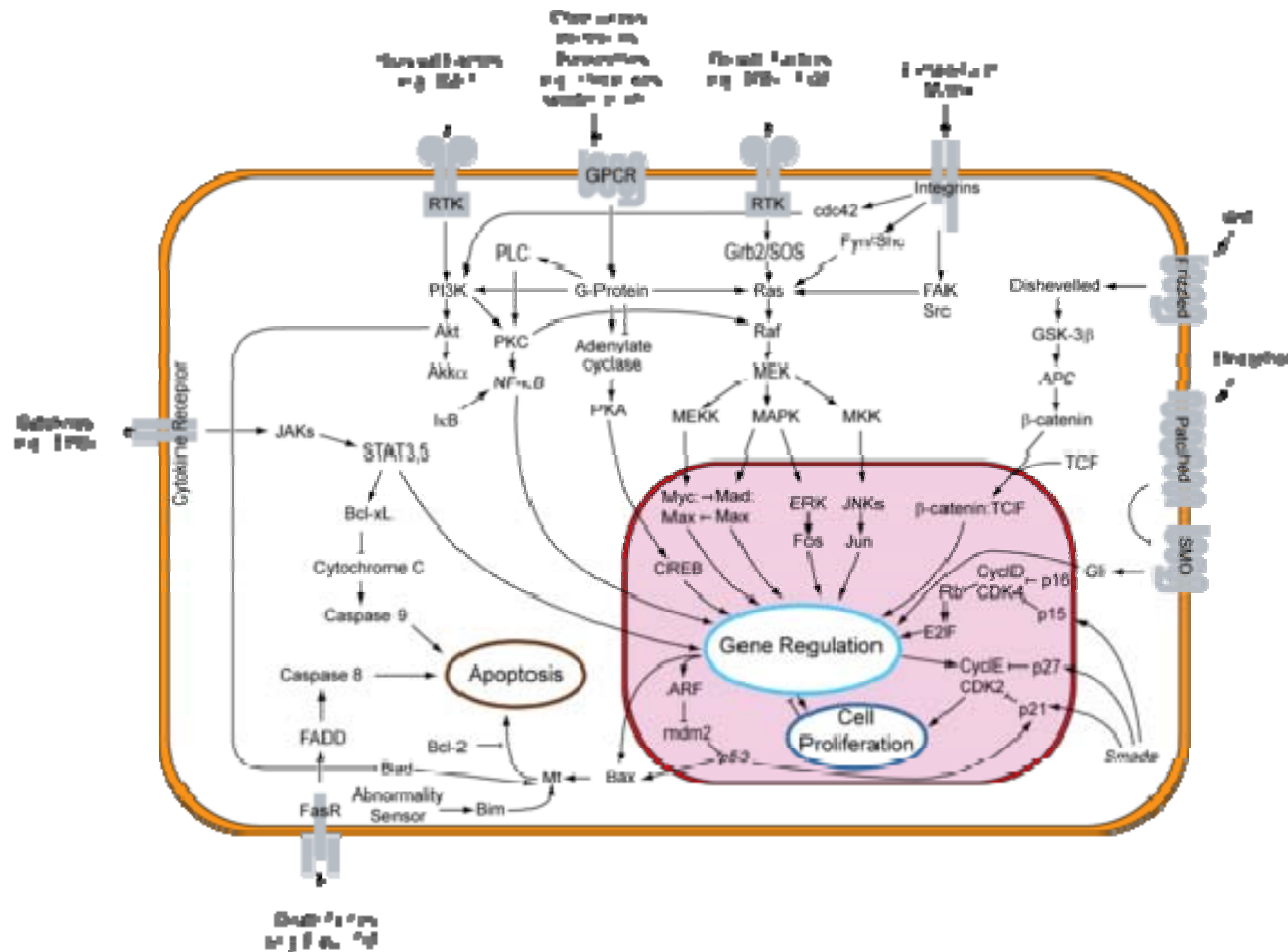
Activación de receptores en la sinapsis



Lundbeck institute – Denmark

# ¿Qué hacen las proteínas?

Proteínas de regulación:

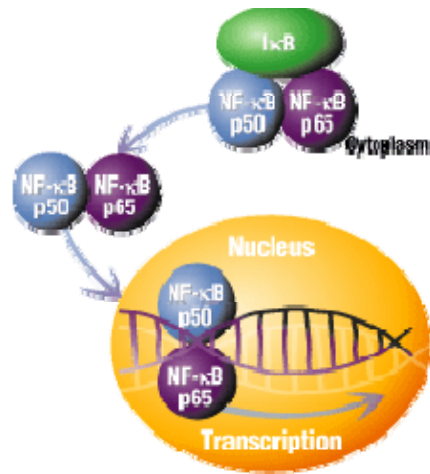


wikipedia

# ¿Qué hacen las proteínas?

Proteínas de Transcripción:

NFκ – B transcription factor



Pierce website

Ribosoma – 40% proteínas (+ 60 % RNA)

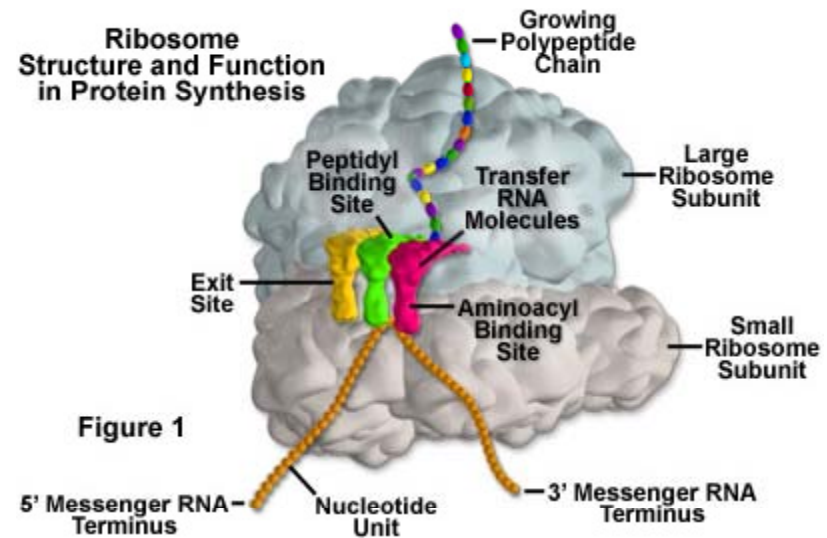
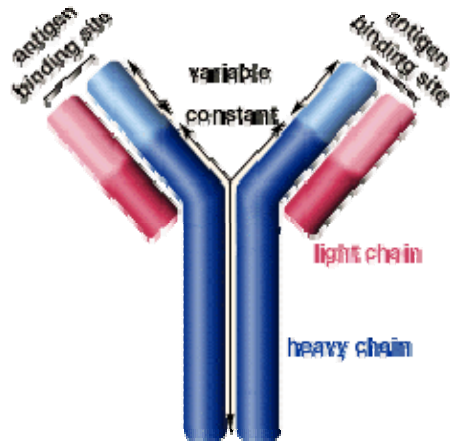


Figure 1

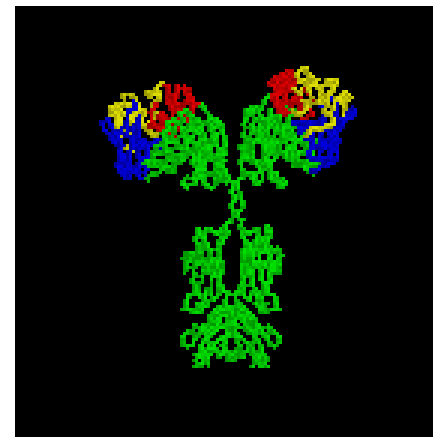
[Michael W. Davidson](#) and The [Florida State University](#)

# ¿Qué hacen las proteínas?

Anticuerpos:



Arizona State University



Jose Saldanha,  
Humanization by Design © 2000

IgA – First line of defense – Present in mucosa

IgM – First antibody in plasma as a response to an antigen

IgG - Highest Ig concentration in plasma – highest affinity antibody

# Ejemplo: Myoglobina

La primera estructura de una proteína por cristalografía de rayos X

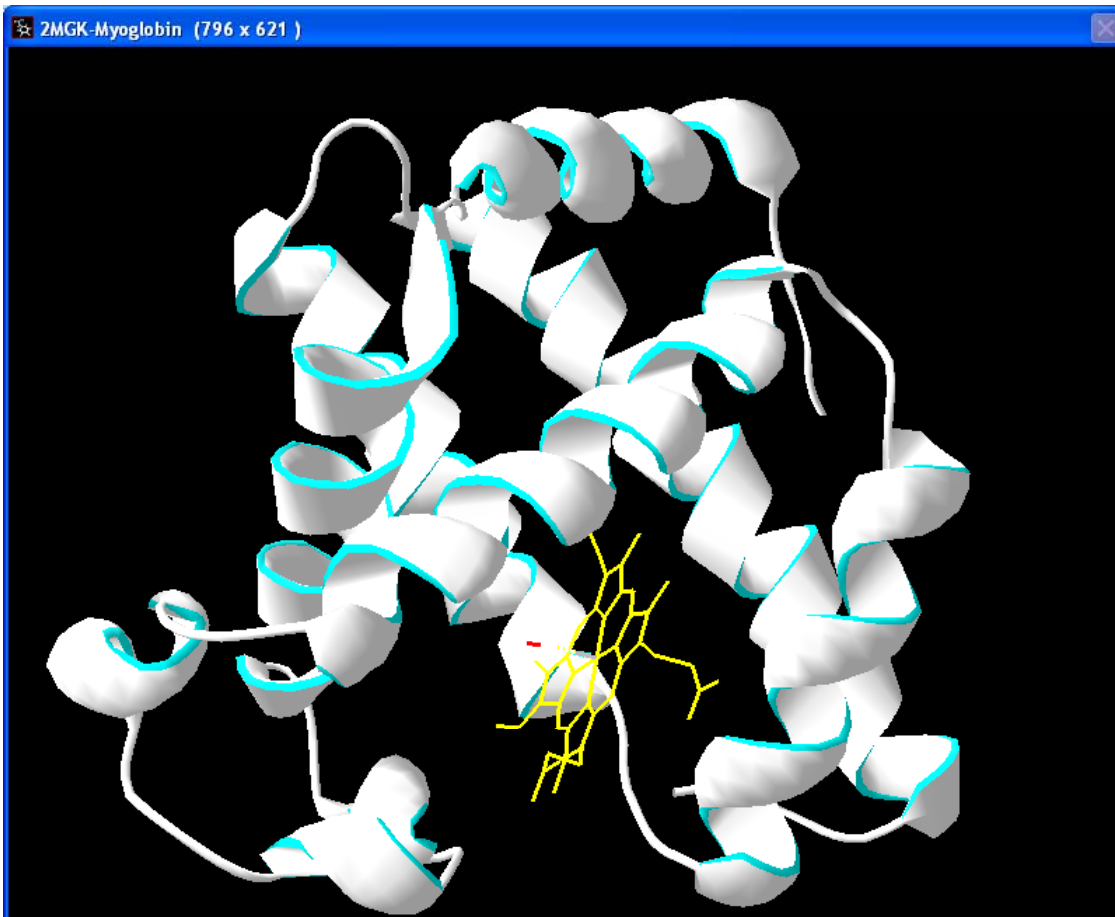


Max Perutz – Premio Nobel 1962

La estructura de myoglobina confirmó los resultados de años de experimentos bioquímicos, especialmente la existencia de  $\alpha$ -helices propuesta por Pauling

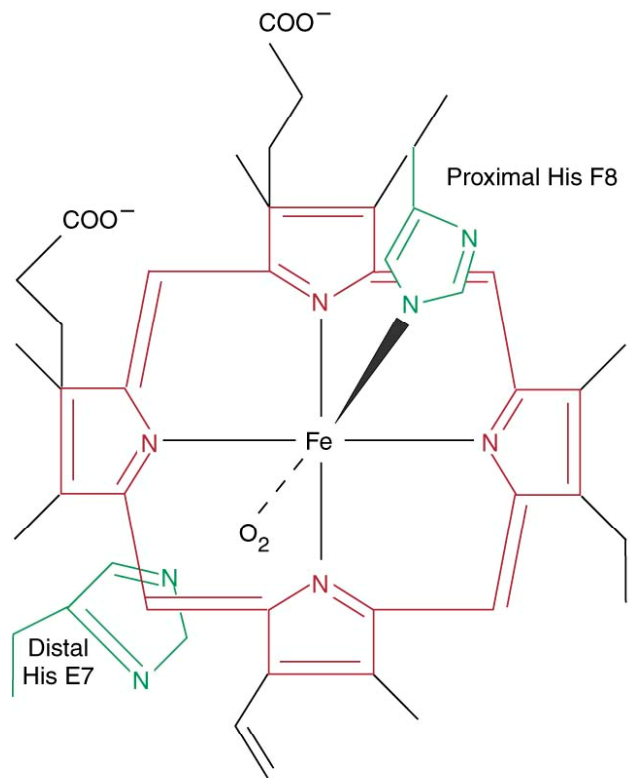
Relación estructura-función

# Ejemplo: Myoglobina



1. Monómero
2. Grupo Hemo contiene  $\text{Fe}^{2+}$
3.  $\text{O}_2$  se pega al  $\text{Fe}^{2+}$
4. Myoglobina almacena  $\text{O}_2$  en músculos.
4. Estructura secundaria:  $\alpha$ -hélices
5. Hemo permanece unido al polipéptido por interacciones hidrofóbicas

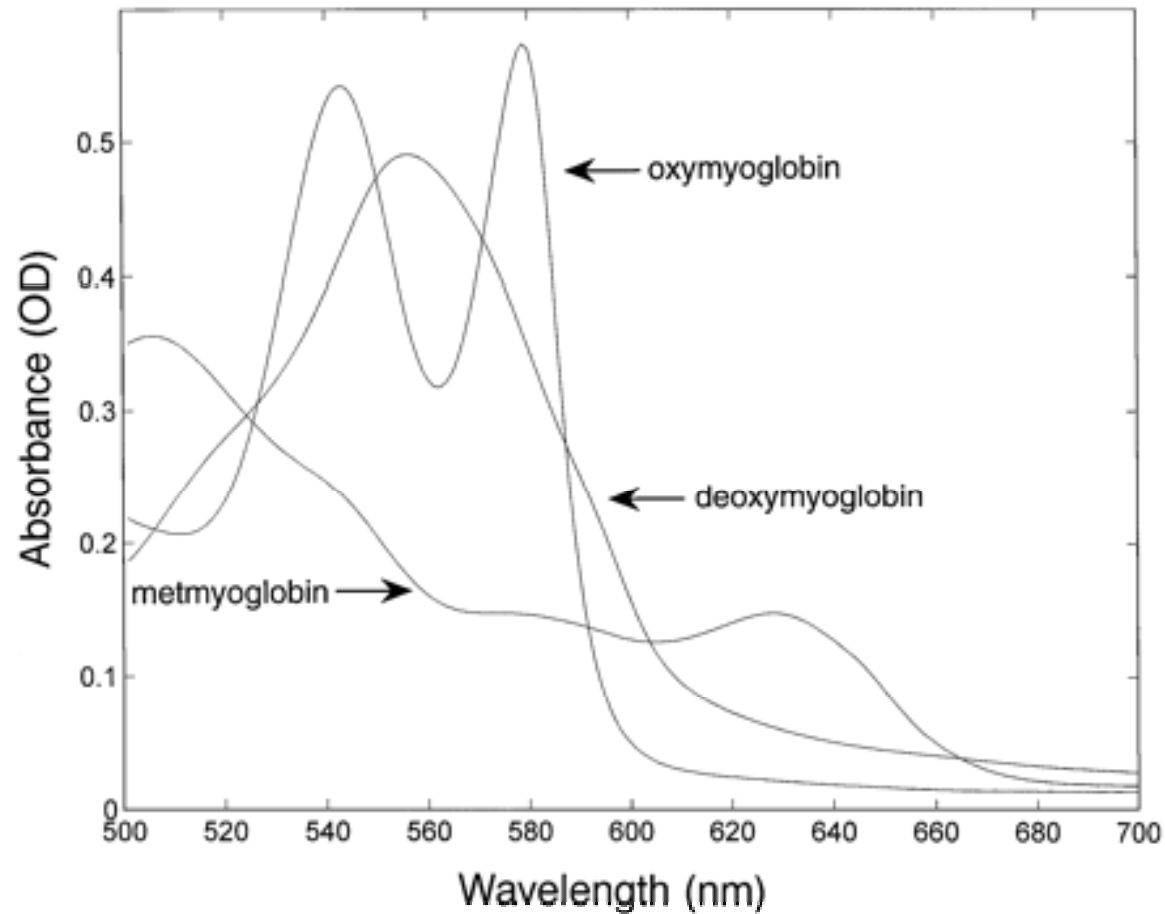
# Ejemplo: Myoglobina



- Grupo Hemo contiene Fe<sup>2+</sup>
- Fe<sup>2+</sup> tiene 6 enlaces
- 4 enlaces al pyrrole
- 1 enlace a la His proximal
- 1 enlace a O<sub>2</sub>

**Figure 9.20. Ligand bonds to ferrous atom in oxyhemoglobin.**

# Detecting Oxygen Binding in Myoglobin

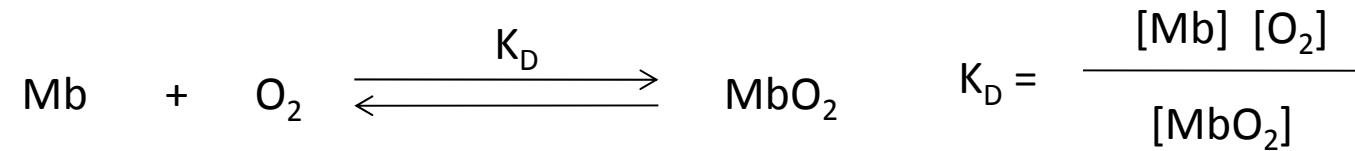


Schenkman et al., 1997, Journal of Applied Physiology



# Ejemplo: Myoglobina

Función de Myoglobina: Almacenar Oxígeno



$$[\text{Mb}_{\text{total}}] = [\text{Mb}_{\text{free}}] + [\text{MbO}_2]$$



$$[\text{Mb}_{\text{total}}] = \frac{K_D [\text{MbO}_2]}{[\text{O}_2]} + [\text{MbO}_2]$$



$$1 = \frac{K_D Y_{\text{bound}}}{[\text{O}_2]} + Y_{\text{bound}}$$



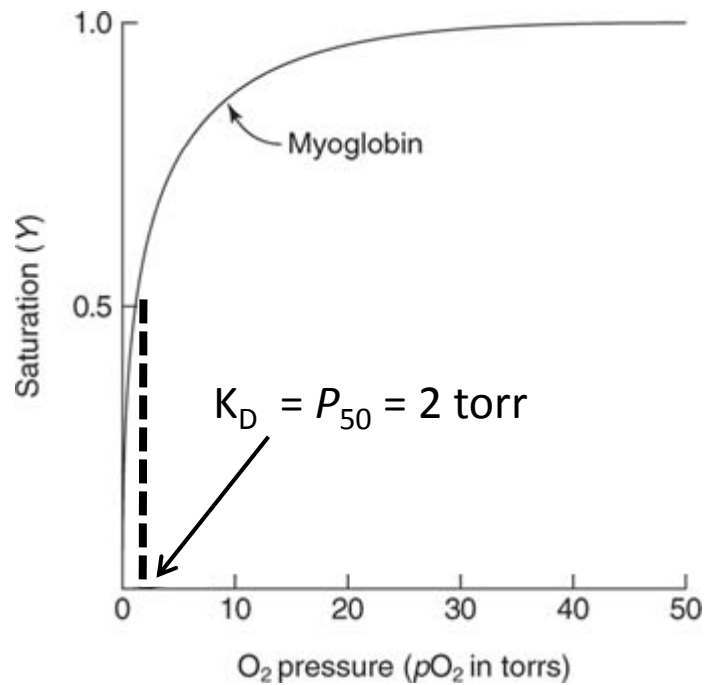
$$Y_{\text{bound}} = \frac{[\text{O}_2]}{K_D + [\text{O}_2]}$$

# Ejemplo: Myoglobina

Curva de pegamiento de oxígeno a myoglobina:

$$Y_{\text{bound}} = \frac{[\text{O}_2]}{P_{50} + [\text{O}_2]}$$

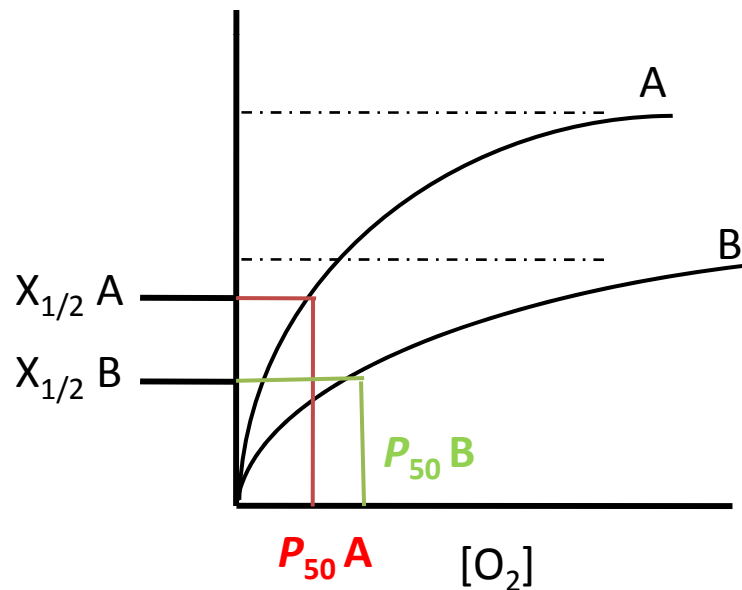
$P_{50}$  = la presión de  $\text{O}_2$  a la cual la proteína esta 50% pegada



# Ejemplo: Myoglobina

Curva de pegamiento de oxígeno a myoglobina:

$$X_{\text{bound}} = \frac{[O_2]}{K_D + [O_2]}$$



Which curve shows the highest  $P_{50}$  ?

Which curve has the highest affinity for  $O_2$  ?

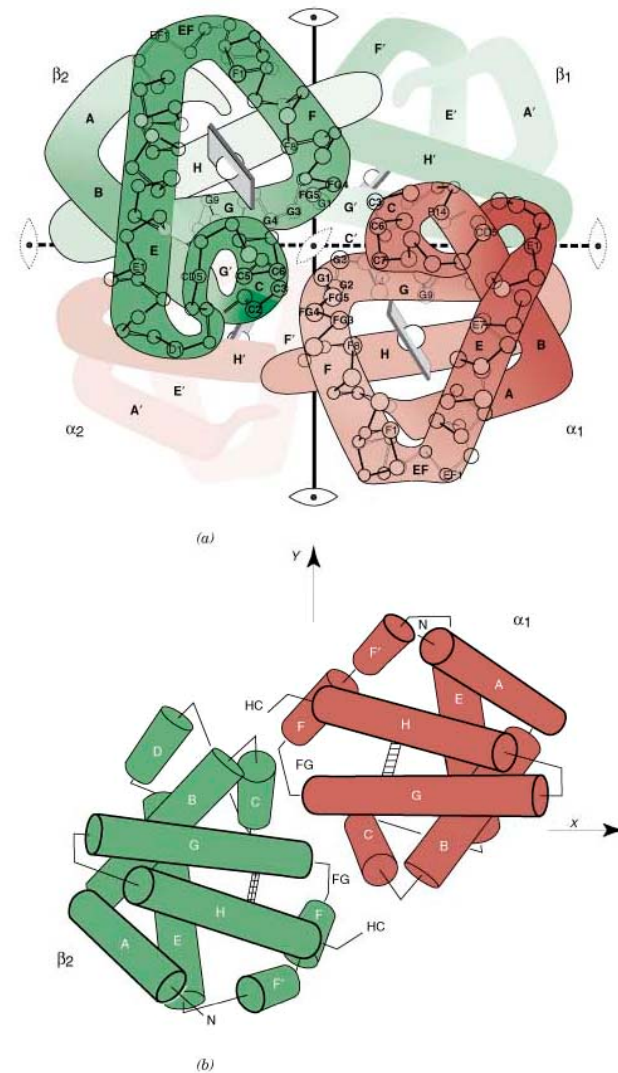
# Ejemplo: Hemoglobina

Se encuentra exclusivamente en glóbulos rojos

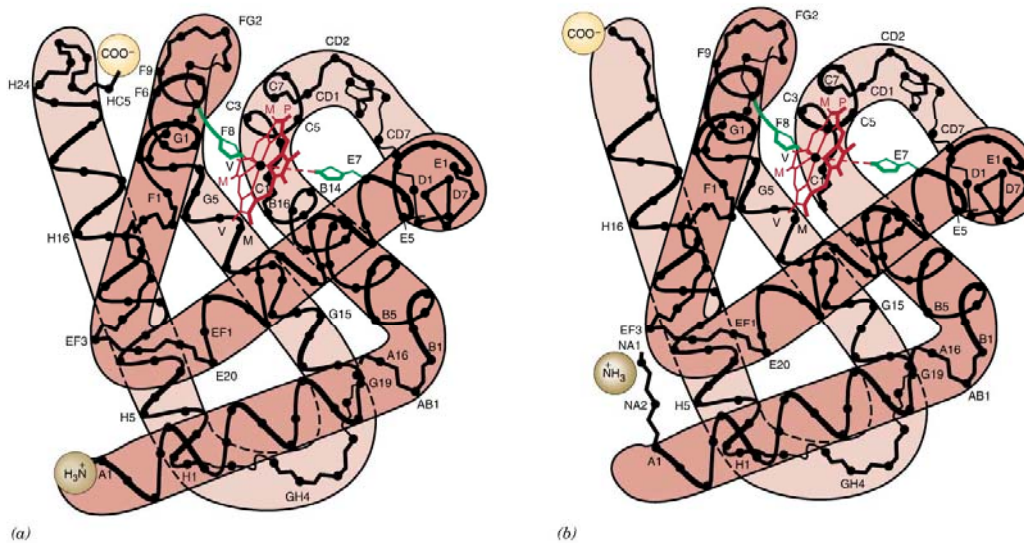
Transportador de oxígeno en la sangre

**Tetrámero** de proteínas de hemo ( $2\alpha + 2\beta$ )

El pegamiento de oxígeno es **cooperativo**



# Ejemplo: Hemoglobina



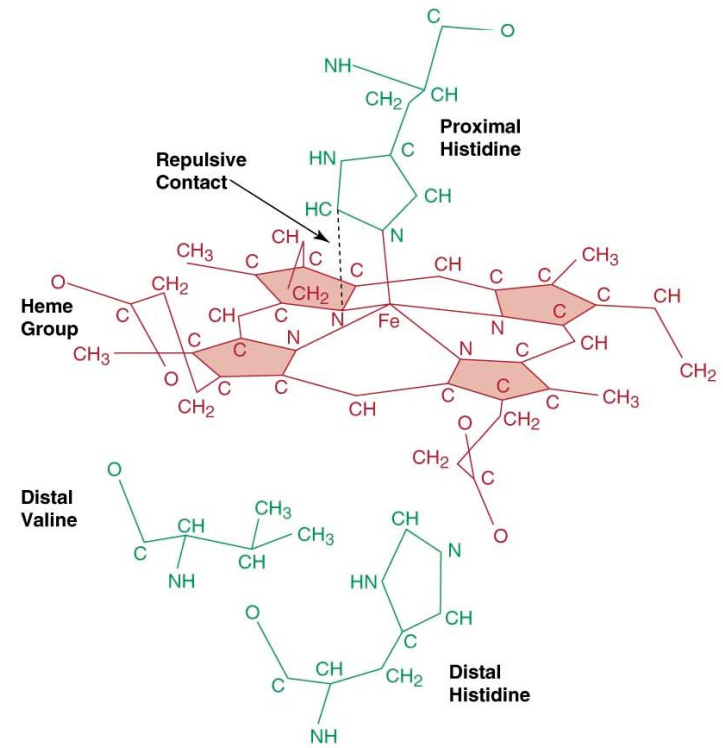
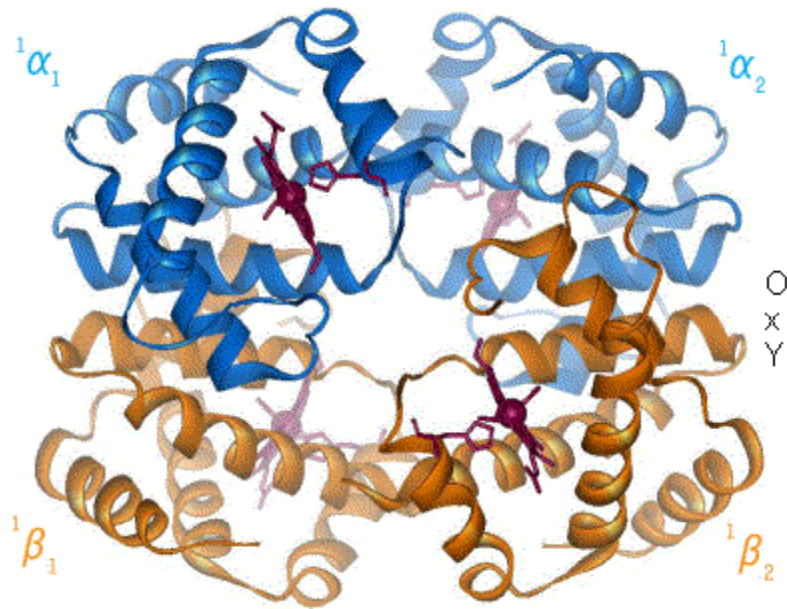
A pesar de las diferencia en secuencia de amino ácidos entre myoglobina y hemoglobina, ambas tiene un plegamiento de globina con el hemo sujetado de igual manera.

**Figure 9.22.** Comparison of conformation of (a) myoglobin and (b)  $\beta$  chain of HbA<sub>1</sub>. Reprinted with permission from Fersht, A. *Enzyme Structure and Mechanism*. San Francisco: Freeman, 1977, pp. 12, 13.

*Textbook of Biochemistry With Clinical Correlations, Sixth Edition*, Edited by Thomas M. Devlin. Copyright © 2006 John Wiley & Sons, Inc.

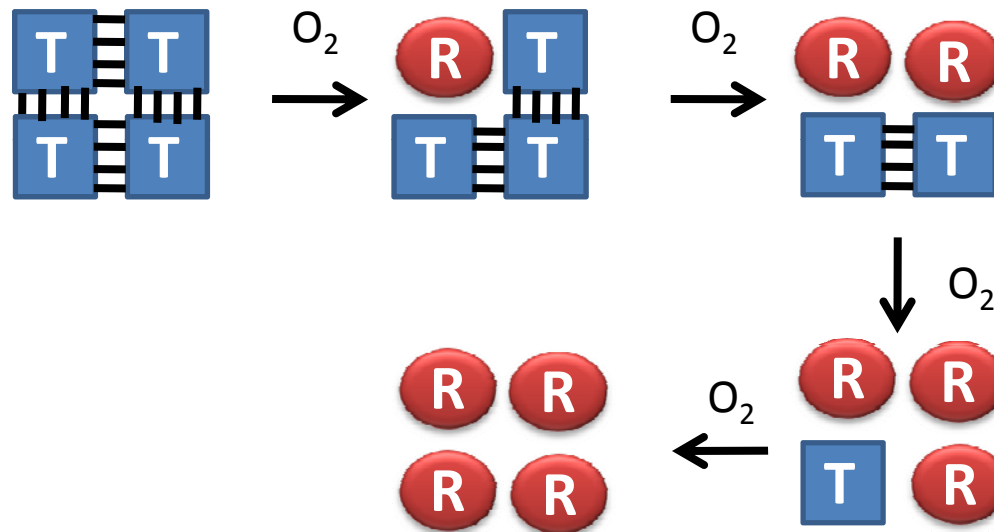
# Ejemplo: Hemoglobina

El pegamiento de oxígeno es **cooperativo**



# Hemoglobin is a tetramer which binds $O_2$ with cooperativity

In myoglobin oxygen binding is **cooperative** since binding of the first oxygen molecule increases the likelihood of binding a second one...**Cooperativity** can be **positive** or **negative**



Ionic interactions are disrupted during  $T \Rightarrow R$  transition. The R conformation has a higher affinity for  $O_2$ . Thus, the binding of the first  $O_2$  molecule to one subunit induces **allosteric** changes in the neighboring subunit.

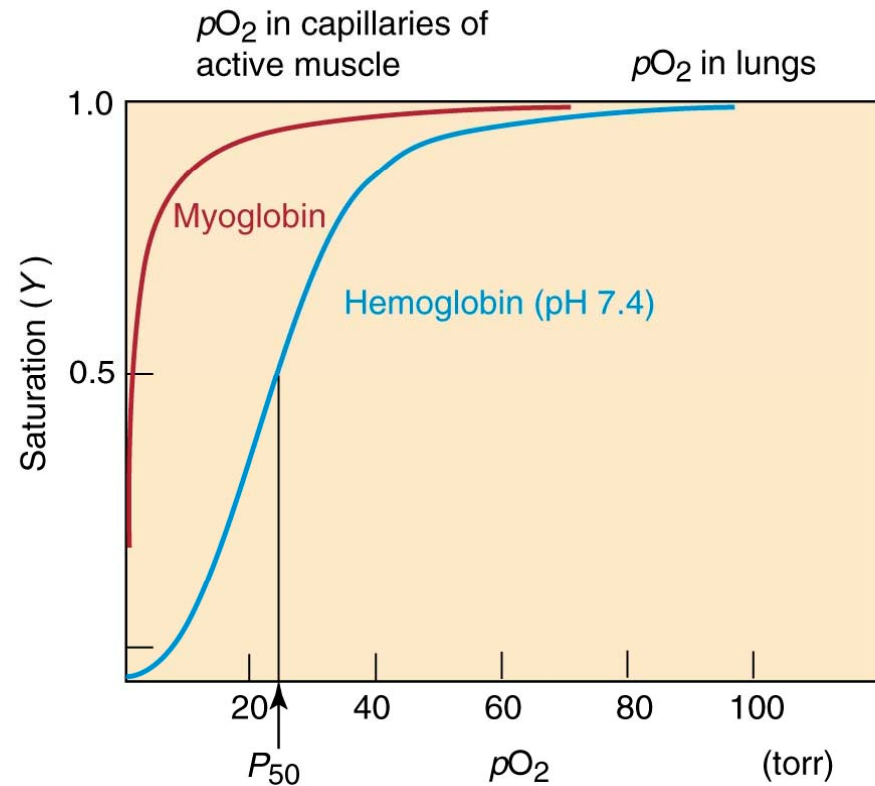
# Ejemplo: Hemoglobina

Cooperatividad

Curva de pegamiento sigmoideal

Afinidad menor que la myoglobina

Apropiada para transportar oxígeno



**Figure 9.23. Oxygen-binding curves for myoglobin and hemoglobin.**

*Textbook of Biochemistry With Clinical Correlations, Sixth Edition, Edited by Thomas M. Devlin. Copyright © 2006 John Wiley & Sons, Inc.*



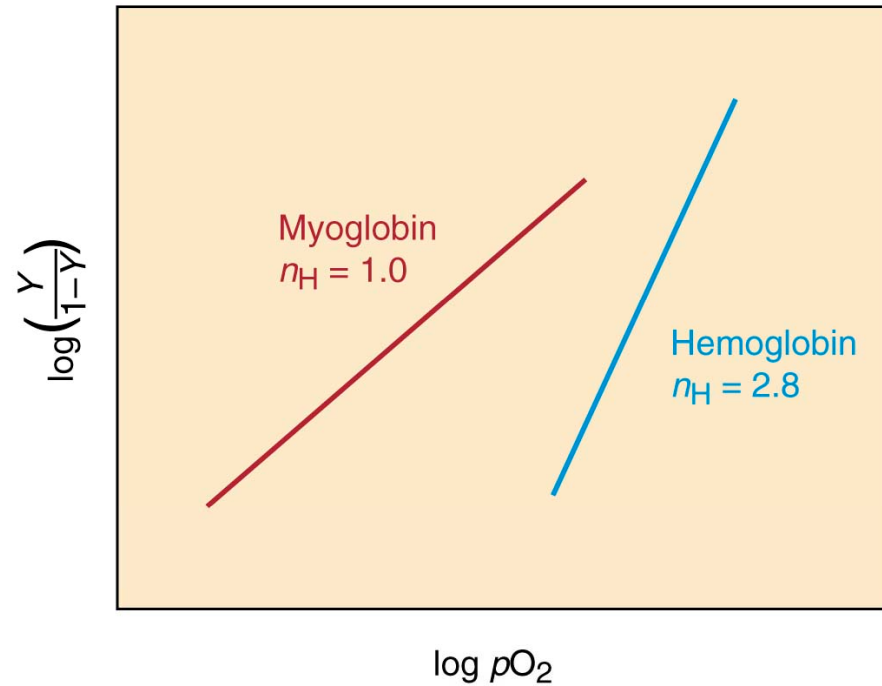
# Ejemplo: Hemoglobina

Cooperatividad

$$\log \frac{Y}{1-Y} = n_H \log pO_2 - C$$

$n_H$  = Hill number

Cooperativity index



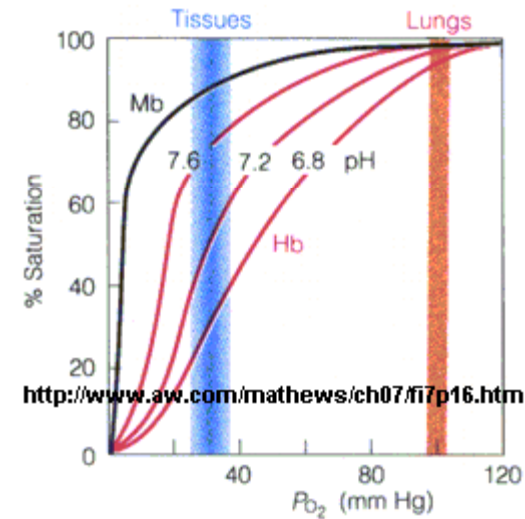
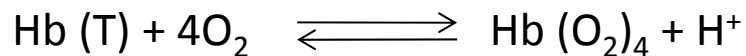
**Figure 9.24. Hill plots for myoglobin and hemoglobin A<sub>1</sub>.**

*Textbook of Biochemistry With Clinical Correlations, Sixth Edition, Edited by Thomas M. Devlin. Copyright © 2006 John Wiley & Sons, Inc.*

# Ejemplo: Hemoglobina

## Efecto Bohr -

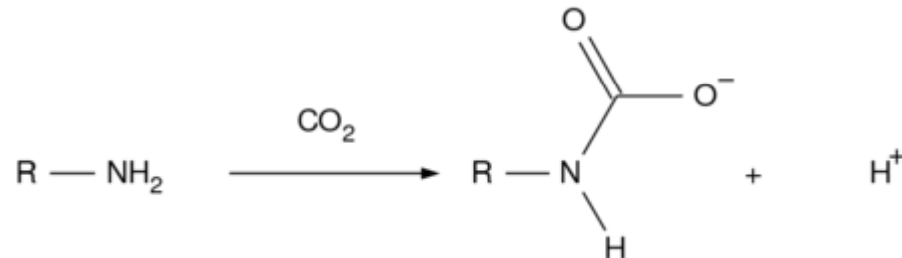
Descubierto por Christian Bohr  
(padre de Nils Bohr)  
El pH ácido disminuye la afinidad  
por oxígeno -



## Hemoglobina como transportador de CO<sub>2</sub> -

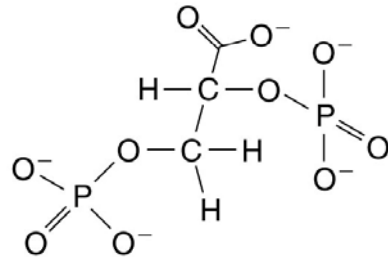
La mayor parte del CO<sub>2</sub> de la sangre viaja como bicarbonato

Pero el CO<sub>2</sub> también viaja asociado a la hemoglobina en forma de un carbamato. Estos carbamatos estabilizan la forma T.



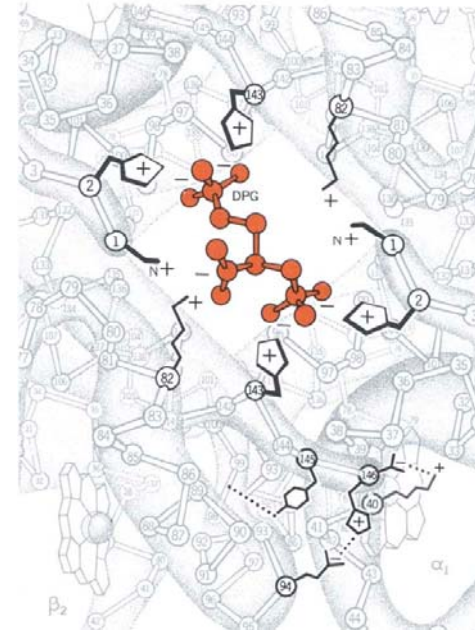
# Ejemplo: Hemoglobina

## 2,3-bisphosphoglycerate (BPG)



Metabolito del ciclo de glucosa

Estabiliza la forma T – Disminuye la afinidad por O<sub>2</sub>



## Oxido nítrico

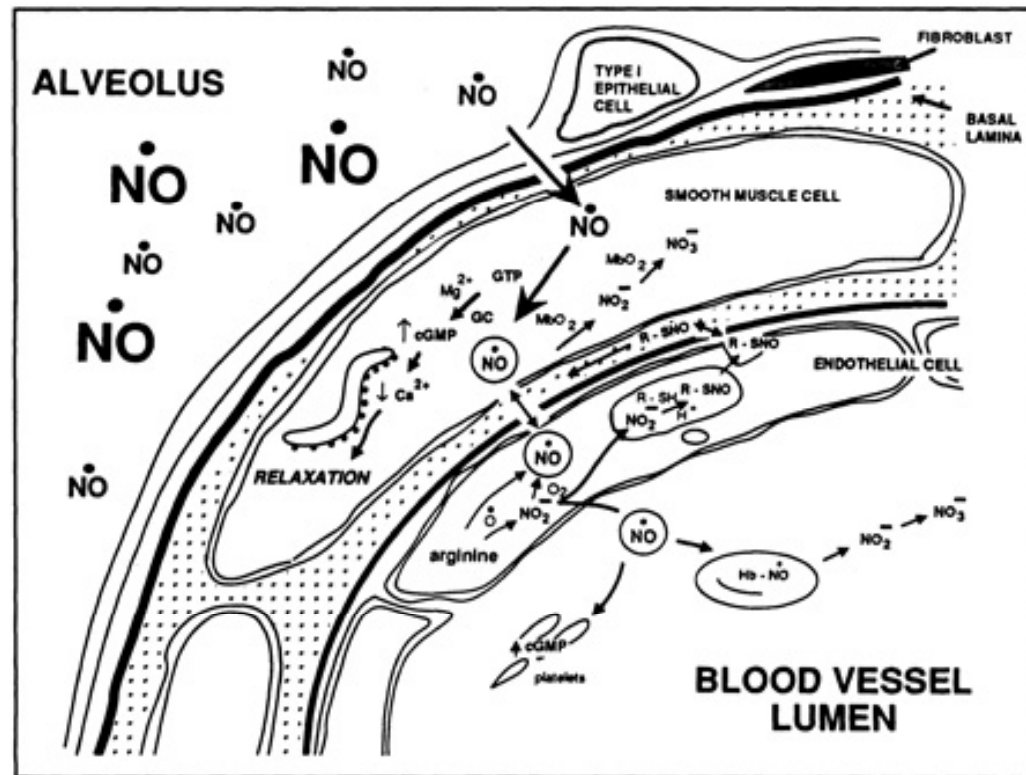
Oxido nítrico (NO) es un vasodilatador con un tiempo de vida relativamente corto

Hemoglobina transporta NO enlazado covalentemente a la cisteína-93

Se libera NO cuando la hemoglobina esta en la forma T: en los tejidos.

# Ejemplo: Hemoglobina

## Nitric Oxide Transport

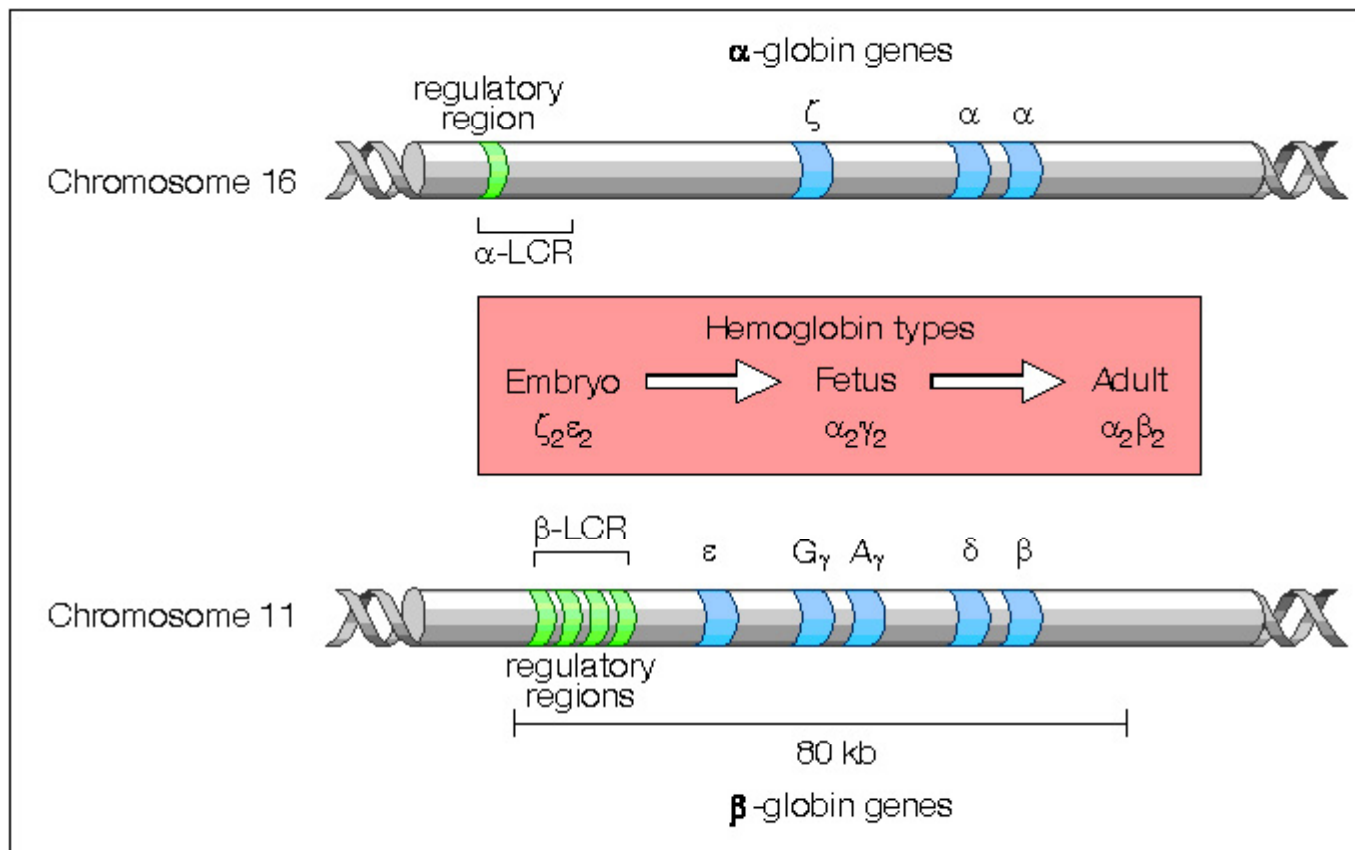


Mayo Clinic Proceedings

# Ejemplo: Hemoglobina

Hemoglobinopatías

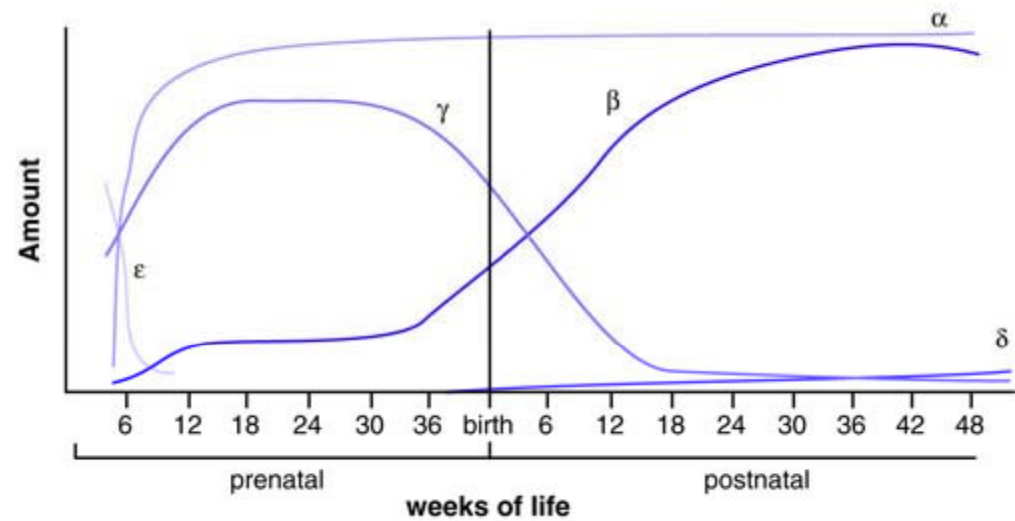
Genes de hemoglobina:



# Ejemplo: Hemoglobina

Hemoglobinopatías

Genes de hemoglobina:



$\alpha_2\epsilon_2$  embryonic hemoglobin

$\alpha_2\gamma_2$  fetal hemoglobin

$\alpha_2\beta_2$  hemoglobin A

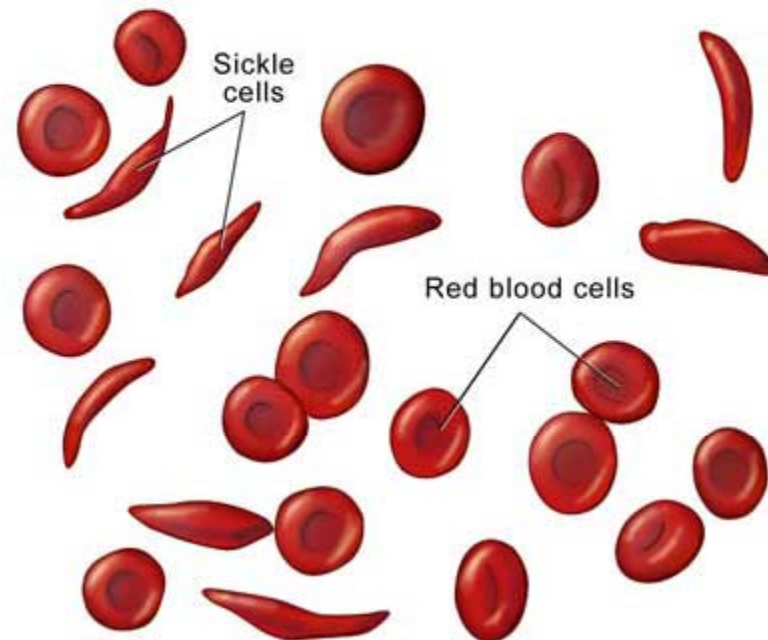
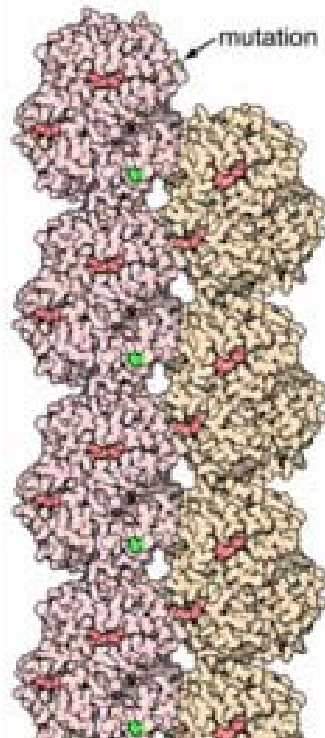
$\alpha_2\delta_2$  hemoglobin A<sub>2</sub>

# Ejemplo: Hemoglobina

## Hemoglobinopatías

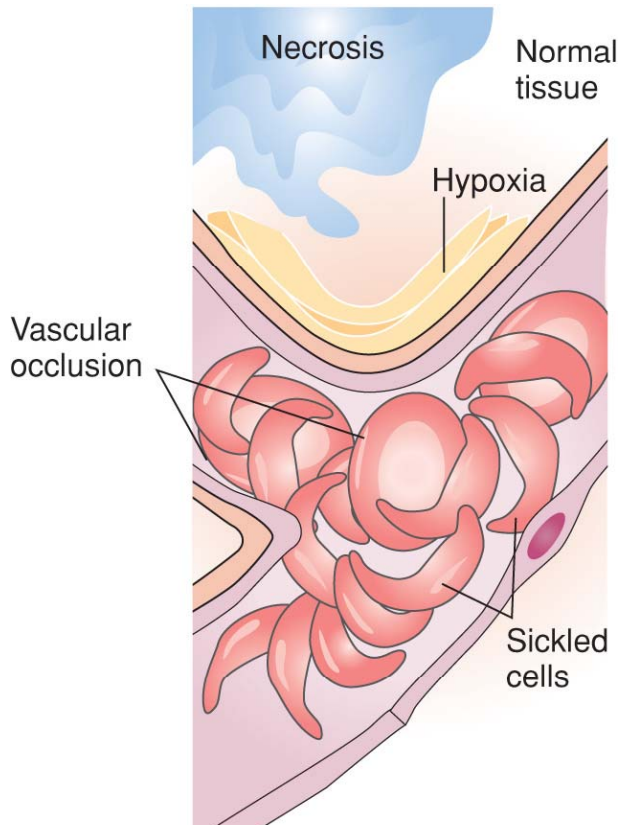
a. Sickle cell anemia – una mutación sencilla que causa cambio estructural en la hemoglobina

Mutation in  $\beta$ -hemoglobin causes oligomerization



## Hemoglobinopatías

a. Sickle cell anemia – una mutación sencilla que causa cambio estructural en la hemoglobina



**Symptoms:** pain, ischemia, organ damage

Often times complicated by spleen damage during childhood.

**Treatment:** Hydroxyurea

**Early detection:** New borns are screened by IEF

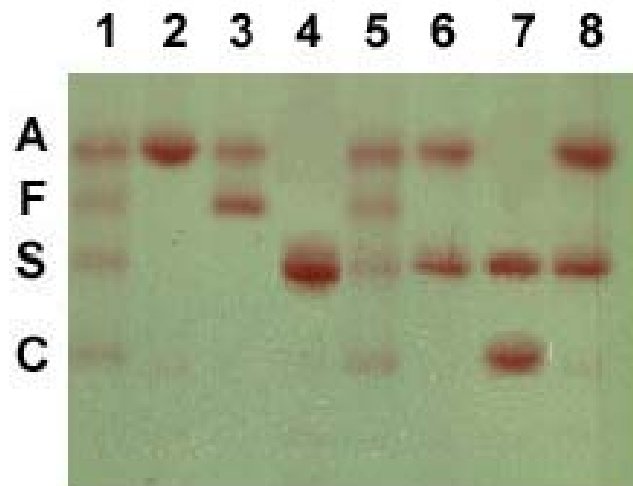
**Genetics:** Homozygous – prevalent in sub-Saharan Africa



# Ejemplo: Hemoglobina

## Hemoglobinopatías

a. Sickle cell anemia – una mutacion sencilla que causa cambio estructural en la hemoglobina



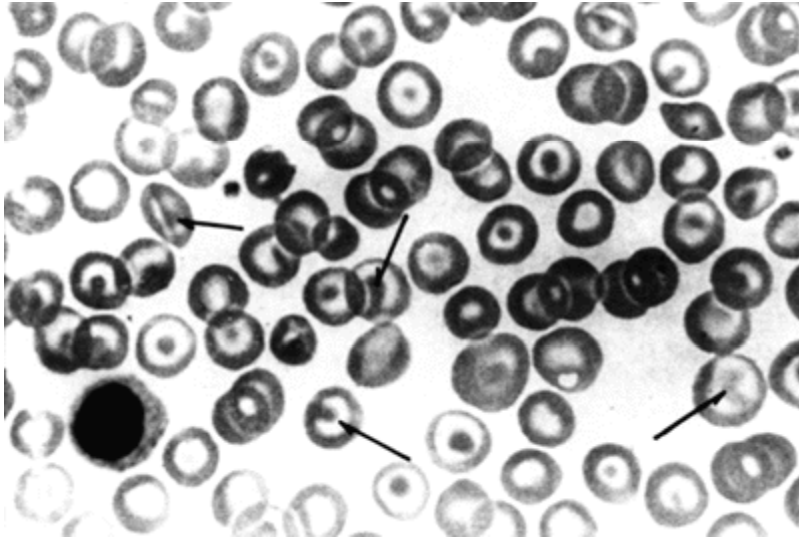
A – normal adult

F – normal fetal

S- Sickle Cell

C- Hemoglobin C Disease

# Hemoglobin C disease



Substitution of Glu6=> Lys6

Forms Hb Crystals and causes hemolytic anemia

# $\alpha$ -thalassemia

## Hemoglobinopatías

b. Talasemias – deficiencia de uno de los genes de hemoglobina

- There are four genetic loci for  $\alpha$  globin
- \*If one is affected – silent carriers
- \*If two are affected – alpha thalassemia trait – sometimes confused with iron deficiency anemia and treated erroneously with iron
- \* If three are affected – Hemoglobin H disease – Hemoglobin H –  $\beta$ -hemoglobin tetramers – too high affinity for  $O_2$
- \* If four are affected – Hydrops fetalis

# $\beta$ -thalassemia

## Hemoglobinopatías

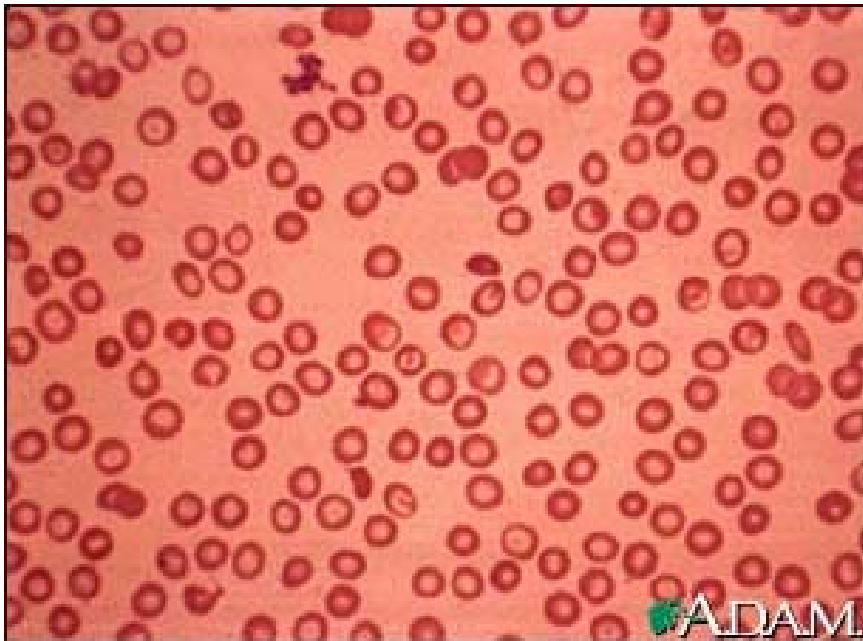
b. Talasemias – deficiencia de uno de los genes de hemoglobina

- There are two genetic loci for  $\beta$  globin

\*If one is affected –  $\beta$ -thalassemia minor - mostly undetected.  
slightly decreased fraction of Hemoglobin A

\*If two are affected –  $\beta$ -thalassemia major –  $\alpha$ -hemoglobin tetramers  
Are unstable and precipitate

$\beta$ -thalassemia minor



$\beta$ -thalassemia major

