

# Índice

|                                                                  |      |
|------------------------------------------------------------------|------|
| Índice .....                                                     | v    |
| Los autores.....                                                 | xiii |
| Prefacio.....                                                    | xvi  |
| Capítulo I .....                                                 | 1    |
| Enzimología.....                                                 | 1    |
| 1. Introducción .....                                            | 1    |
| 2. Una breve historia de la enzimología .....                    | 2    |
| 2.1. Las enzimas en la antigüedad.....                           | 2    |
| 2.2. Enzimología temprana.....                                   | 4    |
| 3. El desarrollo de la enzimología mecanicista.....              | 7    |
| 4. Estudios de la estructura enzimática .....                    | 12   |
| 5. Enzimología hoy en día .....                                  | 14   |
| 6. Unidades de actividad enzimática .....                        | 18   |
| 7. La clasificación de las enzimas .....                         | 18   |
| 7.1. El sistema de clasificación de la Comisión de Enzimas ..... | 21   |
| 8. Las enzimas son poderosos y específicos catalizadores .....   | 29   |
| 9. La termodinámica y las enzimas .....                          | 31   |
| 9.1. Velocidades de reacción y orden de reacción.....            | 31   |
| 9.2. Reacciones de primer orden.....                             | 32   |
| 9.3. Reacciones de segundo orden.....                            | 36   |
| 9.4. Estado de transición .....                                  | 36   |
| 10. La ecuación de Michaelis - Menten.....                       | 38   |
| 11. Ecuación de Lineweaver - Burck .....                         | 48   |
| 12. Referencias.....                                             | 50   |

|                                                                            |     |
|----------------------------------------------------------------------------|-----|
| Capítulo II.....                                                           | 55  |
| Estructura de proteínas .....                                              | 55  |
| 1. Introducción .....                                                      | 55  |
| 2. Aspectos Históricos.....                                                | 57  |
| 3. Bases y avances en la determinación de la estructura de proteínas ..... | 61  |
| 3.1. Resonancia Magnética Nuclear de soluciones .....                      | 65  |
| 3.2. La unión peptídica .....                                              | 66  |
| 3.2.1. Propiedades de los aminoácidos .....                                | 68  |
| 3.3. Determinación de la estructura de proteínas .....                     | 70  |
| 3.4. Estructura secundaria .....                                           | 71  |
| 3.5. Estructura súper secundaria .....                                     | 77  |
| 3.6. Estructura terciaria.....                                             | 78  |
| 3.7. Estructura cuaternaria .....                                          | 78  |
| 3.8. Estabilidad de proteínas.....                                         | 78  |
| 3.8.1. Fuerzas no covalentes .....                                         | 80  |
| 3.8.2. Fuerzas covalentes.....                                             | 87  |
| 3.8.3. Desnaturalización de proteínas.....                                 | 90  |
| 4. Interacciones de proteína-proteína .....                                | 92  |
| 4.1. Gelación .....                                                        | 93  |
| 4.1.1. Particulado .....                                                   | 94  |
| 5. Perspectivas.....                                                       | 98  |
| 5.1. Cristalización y Rayos X.....                                         | 99  |
| 5.2. Resonancia Magnética Nuclear .....                                    | 99  |
| 6. Referencias.....                                                        | 100 |
| Capítulo III .....                                                         | 103 |
| Fotosíntesis .....                                                         | 103 |
| 1. Introducción .....                                                      | 103 |
| 2. Aspectos históricos.....                                                | 106 |
| 3. Avances.....                                                            | 108 |
| 3.1. Cloroplastos .....                                                    | 108 |

|                                          |                                                                           |     |
|------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.1.1.                                   | Reacciones de luz.....                                                    | 114 |
| 3.1.1.1.                                 | Fotosistemas II y I.....                                                  | 114 |
| 3.1.1.1.1                                | Pigmentos constituyentes .....                                            | 127 |
| 3.1.1.1.1.1.                             | Clorofilas .....                                                          | 127 |
| 3.1.1.1.1.2.                             | Carotenoides .....                                                        | 131 |
| 3.1.1.1.2                                | Transporte de electrones.....                                             | 132 |
| 3.1.1.1.2.1.                             | No-cíclico .....                                                          | 132 |
| 3.1.1.1.2.2.                             | Cíclico.....                                                              | 137 |
| 3.1.2.                                   | Reacciones de oscuridad.....                                              | 138 |
| 3.1.2.1.                                 | Ciclo de Reducción Fotosintética del Carbono (Ciclo Calvin-Benson) ..     | 139 |
| 3.1.2.1.1                                | Regulación.....                                                           | 140 |
| 3.1.2.2.                                 | Metabolismo C <sub>3</sub> .....                                          | 143 |
| 3.1.2.2.1                                | Fotorrespiración.....                                                     | 144 |
| 3.1.2.3.                                 | Metabolismo C <sub>4</sub> .....                                          | 146 |
| 3.1.2.4.                                 | Metabolismo CAM (Metabolismo Ácido de las Crasuláceas) .....              | 151 |
| 3.1.3.                                   | Regulación de la expresión genética entre el cloroplasto y el núcleo ...  | 153 |
| 3.1.4.                                   | Herbicidas .....                                                          | 156 |
| 3.1.5.                                   | Transformaciones genéticas del cloroplasto .....                          | 156 |
| 3.2.                                     | Conclusiones y perspectivas .....                                         | 157 |
| 3.3.                                     | Referencias .....                                                         | 160 |
| Capítulo IV                              | .....                                                                     | 163 |
| Regulación de la Expresión Genética..... |                                                                           | 163 |
| 1.                                       | Introducción .....                                                        | 163 |
| 2.                                       | Control de la expresión genética en procariontes.....                     | 164 |
| 3.                                       | Control de la expresión genética en eucariontes.....                      | 168 |
| 3.1.                                     | Control a nivel transcripcional .....                                     | 168 |
| 3.2.                                     | El papel de los factores de transcripción de la regulación genética ..... | 170 |
| 3.3.                                     | Activación de la transcripción en eucariontes.....                        | 171 |
| 3.4.                                     | La estructura de los factores transcripcionales .....                     | 172 |
| 3.5.                                     | Motivos estructurales más comunes en los factores de transcripción .....  | 172 |
| 3.5.1.                                   | Dedos de zinc .....                                                       | 173 |
| 3.5.2.                                   | Hélice-asa-hélice (helix-loop-helix).....                                 | 174 |
| 3.5.3.                                   | Cierre de leucina .....                                                   | 175 |
| 3.5.4.                                   | Caja HMG .....                                                            | 175 |

|                                                |                                                        |     |
|------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-----|
| 3.6.                                           | Represión de la transcripción en eucariontes.....      | 175 |
| 3.6.1.                                         | El papel de la metilación del ADN .....                | 176 |
| 3.6.2.                                         | La estructura de la cromatina y la transcripción ..... | 176 |
| 3.7.                                           | Control a nivel del procesamiento del transcrito.....  | 178 |
| 3.8.                                           | Control a nivel traduccional .....                     | 178 |
| 3.8.1.                                         | Localización citoplásmica de los ARNms.....            | 179 |
| 3.8.2.                                         | Control sobre la traducción de un ARNm.....            | 179 |
| 3.8.3.                                         | Control de la estabilidad de los mensajeros .....      | 179 |
| 3.9.                                           | Control postraduccional.....                           | 180 |
| Capítulo V.....                                |                                                        | 183 |
| Transducción de señales.....                   |                                                        | 183 |
| 1.                                             | Introducción .....                                     | 183 |
| 2.                                             | Aspectos históricos.....                               | 184 |
| 3.                                             | Conceptos básicos.....                                 | 186 |
| 3.1.                                           | Receptores y señales extracelulares .....              | 186 |
| 3.2.                                           | Receptores intracelulares.....                         | 187 |
| 3.3.                                           | Sistemas Transductores .....                           | 187 |
| 3.4.                                           | Proteínas G heterotriméricas .....                     | 187 |
| 4.                                             | Segundos mensajeros.....                               | 189 |
| 4.1.                                           | Calcio.....                                            | 189 |
| 4.2.                                           | AMP cíclico.....                                       | 190 |
| 4.3.                                           | Segundos mensajeros derivados de lípidos.....          | 191 |
| 5.                                             | Fosforilación de proteínas .....                       | 192 |
| 6.                                             | Conclusiones .....                                     | 193 |
| 7.                                             | Referencias.....                                       | 193 |
| Parte Práctica.....                            |                                                        | 195 |
| Determinación de la actividad enzimática ..... |                                                        | 195 |
| 1.                                             | Introducción .....                                     | 195 |
| 2.                                             | Materiales .....                                       | 196 |
| 3.                                             | Métodos .....                                          | 196 |

|                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.1. Preparación del extracto enzimático.....                                                                      | 196 |
| 3.2. Determinación de la actividad de la glutamato deshidrogenasa (EC 1.4.1.2) en el sentido aminativo.....        | 197 |
| 3.3. Determinación de la actividad de la glutamato deshidrogenasa (EC 1.4.1.2) en el sentido desaminativo.....     | 197 |
| 3.4. Elaboración de la curva de calibración para el NAD(P)H.....                                                   | 198 |
| 3.5. Determinación de la $K_M$ para la enzima.....                                                                 | 198 |
| Estructura de Proteínas.....                                                                                       | 199 |
| 1. Introducción.....                                                                                               | 199 |
| 2. Materiales y equipo.....                                                                                        | 202 |
| 3. Ensayo de la fluorescencia.....                                                                                 | 202 |
| 4. Resultados.....                                                                                                 | 202 |
| Fotosíntesis.....                                                                                                  | 204 |
| Práctica 1.....                                                                                                    | 204 |
| 1. Extracción y cuantificación de clorofilas.....                                                                  | 204 |
| 2. Materiales.....                                                                                                 | 204 |
| 3. Métodos.....                                                                                                    | 204 |
| 3.1. Preparación de soluciones.....                                                                                | 204 |
| 3.2. Preparación del extracto.....                                                                                 | 204 |
| 3.3. Cuantificación.....                                                                                           | 205 |
| 4. Cromatografía de capa fina de clorofilas (opcional).....                                                        | 206 |
| Práctica 2.....                                                                                                    | 207 |
| 5. Materiales.....                                                                                                 | 207 |
| 6. Métodos.....                                                                                                    | 207 |
| Determinación de la influencia de un factor del medio sobre la expresión de la resistencia en <i>E. coli</i> ..... | 209 |
| 1. Antecedentes.....                                                                                               | 209 |
| 2. Materiales y métodos.....                                                                                       | 209 |
| 3. Métodos.....                                                                                                    | 210 |
| 3.1. Minipreps.....                                                                                                | 210 |

|                                                                                             |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.2. Electroforesis en geles de agarosa.....                                                | 211 |
| 4. Referencias.....                                                                         | 211 |
| Transducción de señales.....                                                                | 213 |
| 1. Obtención y estimulación del material biológico .....                                    | 213 |
| 2. Obtención de extractos .....                                                             | 213 |
| 3. Técnica para la determinación de proteínas.....                                          | 216 |
| 4. Técnica para la extracción de lípidos.....                                               | 218 |
| 5. Técnica para la separación de lípidos por cromatografía en capa fina (TLC) .....         | 220 |
| 6. Técnica para la cuantificación de la actividad enzimática de la fosfolipasa C (PLC)..... | 221 |
| 7. Referencias.....                                                                         | 224 |

## Extracción y cuantificación

|                                                                             |     |
|-----------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4. Materiales.....                                                          | 211 |
| 5. Métodos.....                                                             | 213 |
| 3.1. Preparación de extractos.....                                          | 213 |
| 3.2. Determinación de proteínas.....                                        | 216 |
| 4. Extracción de lípidos.....                                               | 218 |
| 5. Separación de lípidos por cromatografía en capa fina (TLC) .....         | 220 |
| 6. Cuantificación de la actividad enzimática de la fosfolipasa C (PLC)..... | 221 |
| 7. Referencias.....                                                         | 224 |