



DONDE LA TERMODINÁMICA Y LAS PROTEÍNAS SE ENCUENTRAN

Resumen

Este es un ejemplo de cómo utilizar a las proteínas en la enseñanza de la termodinámica y, a la vez, de cómo emplear la termodinámica para estudiar el comportamiento fisicoquímico de las proteínas. Se hacen una serie de propuestas para facilitar la enseñanza e incrementar las habilidades de los estudiantes en asignaturas tales como bioquímica, química y termodinámica.

Palabras clave: Termodinámica; Proteínas; Estabilidad

WHERE THERMODYNAMICS AND PROTEINS MEET

Abstract

This is an example of how to use proteins in thermodynamics courses, as well as how to use thermodynamics when teaching the physical chemistry behavior of proteins. We make a series of proposals to facilitate teaching and increase abilities in the students in biochemistry, chemistry and thermodynamic courses.

Keywords: Thermodynamics; Proteins; Stability

^a Laboratorio de Físicoquímica e Ingeniería de Proteínas, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

^b Laboratorio de Biofísicoquímica, Departamento de Físicoquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

*Autor para correspondencia:
costasmi@unam.mx

Autores: Sergio Romero-Romero,^a D. Alejandro Fernández-Velasco^a y Miguel Costas.^{b*}

Esta Hoja Didáctica acompaña la Comunicación titulada “Estabilidad termodinámica de proteínas” que aparece en este mismo número de la revista Educación Química. En ella, se presentan una serie de propuestas para los docentes de asignaturas tales como bioquímica, química y termodinámica para que las empleen como herramientas para, por un lado, facilitar la enseñanza de diversos temas y, por otro, para incrementar las habilidades de sus estudiantes.

¿De dónde sale la ecuación?

La estabilidad termodinámica de una proteína puede estudiarse usando la dependencia con temperatura del cambio de energía libre de Gibbs ($\Delta G(T)$) para el proceso de desnaturalización ($\Delta G = G_{\text{final}} - G_{\text{inicial}} = G_{\text{D}} - G_{\text{N}}$), es decir para el proceso donde la proteína en el estado nativo (N) pasa al estado desplegado o desnaturalizado (D):

$$\Delta G(T) = \Delta H \left(1 - \frac{T}{T_m} \right) - \Delta C_p \left[T_m - T + T \ln \left(\frac{T}{T_m} \right) \right] \quad (1)$$

donde ΔH y ΔC_p son los cambios de entalpía y de capacidad calorífica a presión constante para el proceso de desnaturalización ($N \rightarrow D$) y T_m es la temperatura de referencia, en la cual la concentración de N y D es la misma y, por lo tanto, $\Delta G(T_m) = 0$ a la T_m . Un ejercicio interesante para los estudiantes es obtener la Eq. (1) a partir de tres expresiones básicas de la termodinámica: (i) $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, (ii) $d(\Delta H)/dT_p = \Delta C_p$ y (iii) $d(\Delta S)/dT_p = \Delta C_p/T$, con ΔS representando el cambio de entropía para el proceso $N \rightarrow D$. Empleando (i), $\Delta G(T) = d(\Delta G)/dT_p = (d\Delta H)/dT_p - T(d\Delta S)/dT_p$, las expresiones integradas entre T_m y T de (ii) y (iii) considerando que ΔC_p es independiente de T (una constante), y que como $\Delta G(T_m) = 0$ entonces $\Delta S(T_m) = \Delta H(T_m)/T_m$, en unos cuantos pasos algebraicos se obtiene la Eq (1).

¿Para qué sirve?

A la representación gráfica de ΔG v.s. T empleando la Eq. (1), se le conoce como curva de estabilidad termodinámica de la proteína. Esta curva delimita el intervalo de temperatura en el cual el estado nativo es estable; esto ocurre a la temperaturas donde $\Delta G > 0$ y por tanto la desnaturalización no es espontánea. El empleo de la Eq. (1) requiere del conocimiento de los valores de T_m , ΔH y ΔC_p que pueden obtenerse de experimentos de calorímetro diferencial de barrido. Una actividad ilustrativa para los estudiantes consistiría en construir una hoja de cálculo Excel, donde se calculen y grafiquen curvas de estabilidad con valores hipotéticos de T_m , ΔH y ΔC_p . La construcción de este archivo Excel permite, además, estudiar como varía la curva de estabilidad cuando estos valores se modifican. La figura 1 muestra un ejemplo de dichos cálculos y comparaciones.

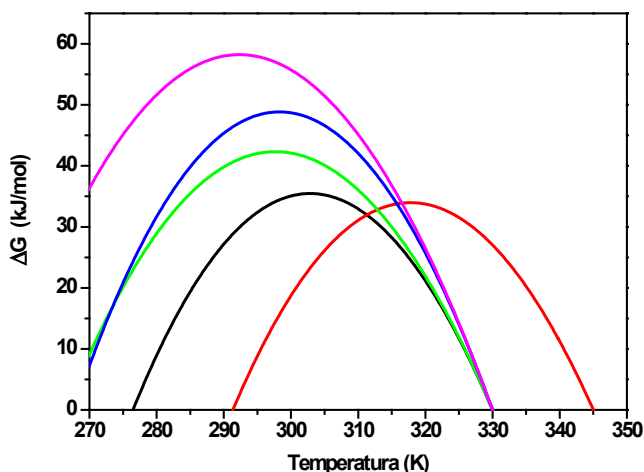


Figura 1. Curvas de estabilidad calculadas empleando la Eq. (1) utilizando los siguientes valores para (T_m (K), ΔH (kJ/mol), ΔC_p (kJ/K mol)) y el efecto de su variación: (330,850,30) en negro, efecto del aumento de T_m (345,850,30) en rojo, efecto de la disminución de ΔC_p (330,850,25) en verde, efecto del aumento de ΔH (330,1000,30) en azul, así como el efecto del aumento de ΔH y la disminución de ΔC_p (330,1000,25) en magenta.

Contrastando las cinco curvas de estabilidad en la figura 1, que corresponderían a cinco proteínas distintas, pueden plantearse una serie de preguntas que motiven una discusión entre los estudiantes. Algunos ejemplos son: (i) ¿cuál es el efecto sobre la curva de estabilidad de cada uno de los parámetros (T_m , ΔH , ΔC_p)?, (ii) ¿cuál de las proteínas es estable en un rango de temperaturas más amplio?, (iii) ¿en cuáles proteínas podrá observarse la desnaturalización tanto calentando como enfriando?, (iv) ¿cuál proteína es la más estable y cuál la menos estable a la temperatura fisiológica (310 K)?, (v) ¿cuál proteína tiene una temperatura de máxima estabilidad mayor y cuál menor?

¿Cuánto hay de cada una?

Los experimentos de Calorimetría Diferencial de Barrido muestran que las proteínas no se desnaturalizan a una sola temperatura, sino que lo hacen en un rango de temperaturas. Si la transición ocurre sólo entre dos estados (N y D), es decir sin intermediarios estables significativamente poblados, a la T_m la concentración de proteínas en el estado nativo es igual a la concentración de proteínas desplegadas ($[N] = [D]$) y, por esta razón, la T_m se denomina la temperatura media de desnaturalización. Para aumentar la comprensión de los estudiantes acerca del fenómeno de desnaturalización, una labor reveladora sería la obtener las expresiones para calcular las fracciones de proteína en el estado nativo (f_N) y en el estado desplegado (f_D) en la rango de temperatura donde ocurre la transición $N \rightarrow D$. Dado que para este proceso la constante de equilibrio $K = f_D/f_N = (1 - f_N)/f_N$ y que la termodinámica nos enseña que $K = \exp(-\Delta G/RT)$, $f_N = 1/(1+K)$. Así, utilizando los valores de ΔG ya obtenidos en la hoja cálculo Excel, es muy sencillo calcular las fracciones f_N y f_D . La figura 2 muestra estas fracciones para dos de las proteínas cuya curva de estabilidad termodinámica se muestra en la figura 1.

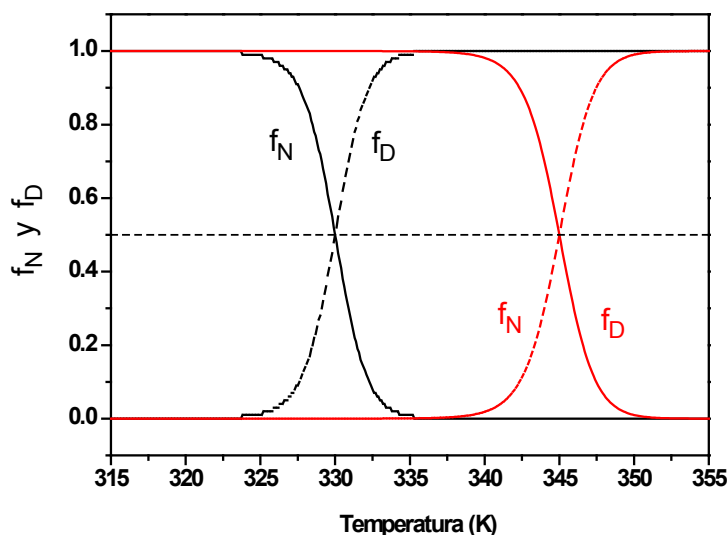


Figura 2. Fracción mol de proteínas que se encuentran en el estado nativo (f_N) y el desnaturalizado (f_D) como función de la temperatura. Estas curvas corresponden a las curvas de estabilidad termodinámica en negro y rojo en la figura 1; las curvas de f_N y f_D se intersectan en $f_N = f_D = 0.5$ a la temperatura T_m .

¿Quieres saber más?

En esta sección proponemos una serie de preguntas que el docente puede utilizar para motivar a sus estudiantes a ampliar sus conocimientos y profundizar en el tema, invitándolos a la lectura de libros y literatura especializada en él. Son las siguientes: (i) ¿cómo puede obtenerse el ΔG para la desnaturalización de una proteína empleando métodos espectroscópicos tales como el dicromismo circular y la fluorescencia?, (ii) muchas proteínas (Pt) son capaces de unir moléculas pequeñas (conocidas como ligando, L) para formar complejos Pt-L, ¿cómo podría obtenerse la curva de estabilidad termodinámica del complejo Pt-L?, (iii) ¿cómo puede medirse experimentalmente la cinética del proceso $N \rightarrow D$?, (iv) ¿Cómo se obtienen los parámetros termodinámicos para un proceso que no es de dos estados y se observan intermediarios estables al equilibrio? y (v) ¿qué es la estabilidad cinética de una proteína?