

Interacción Receptor-Ligando

Biofísica 2023

Luis Claro

¿Qué son los receptores?

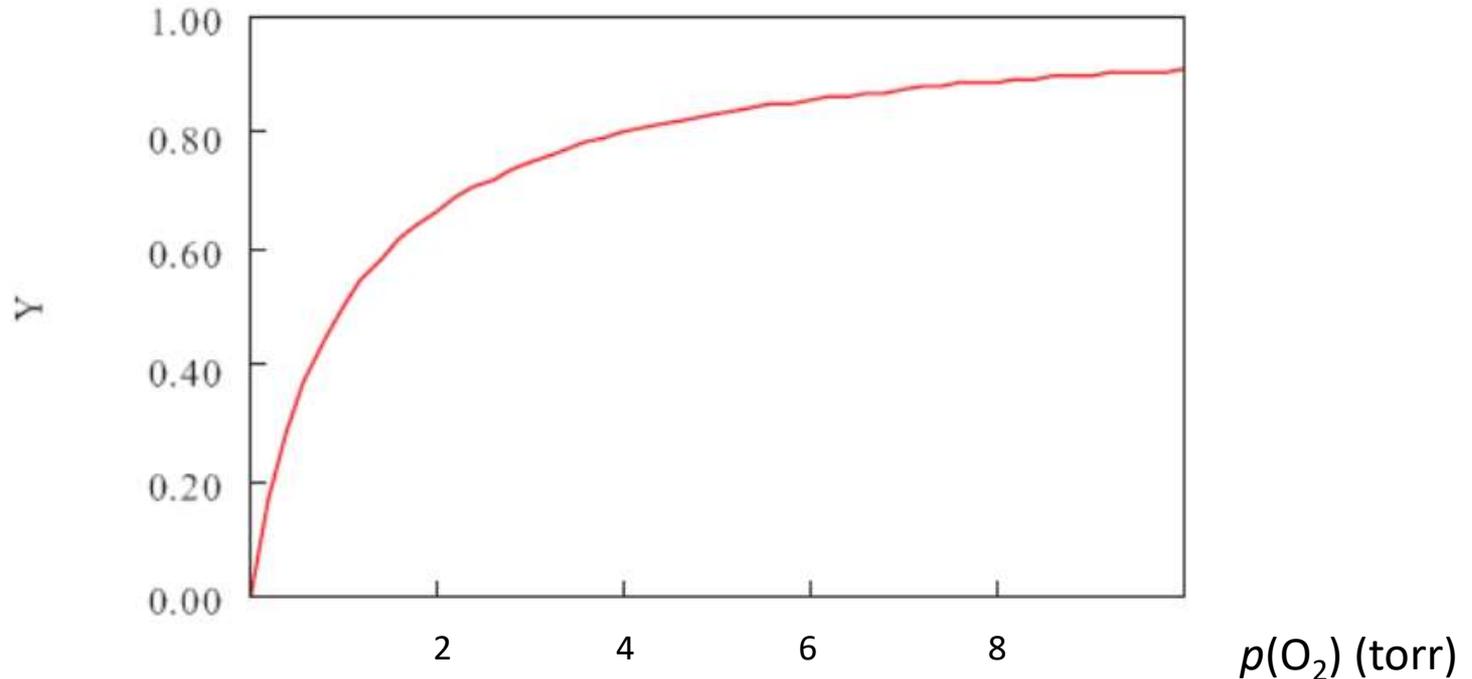
Los receptores en general son macromoléculas que presentan un sitio de unión a uno o un grupo reducido de ligandos, en general de menor tamaño.

- Receptores de membrana
 - Receptores intracelulares
 - Transportadores de O_2
 - Enzimas
- 
- Receptores hormonales y otras moléculas señalizadoras
 - Ciertos canales iónicos

Consideremos el caso de los transportadores de oxígeno

La mioglobina

- Hemoproteína citoplasmática localizada en fibras musculares. Es un monómero con un único sitio de unión reversible para el oxígeno en el grupo Hemo.



¿Es posible un modelo matemático que describa la curva de saturación de la mioglobina?

Consideremos un receptor con un único sitio de unión, que se une a un ligando de forma reversible



$$K_a = \frac{[RL]}{[R][L]} \longrightarrow [RL] = K_a [R][L]$$

Recordar: $K_a = 1/K_d$

Función de Saturación

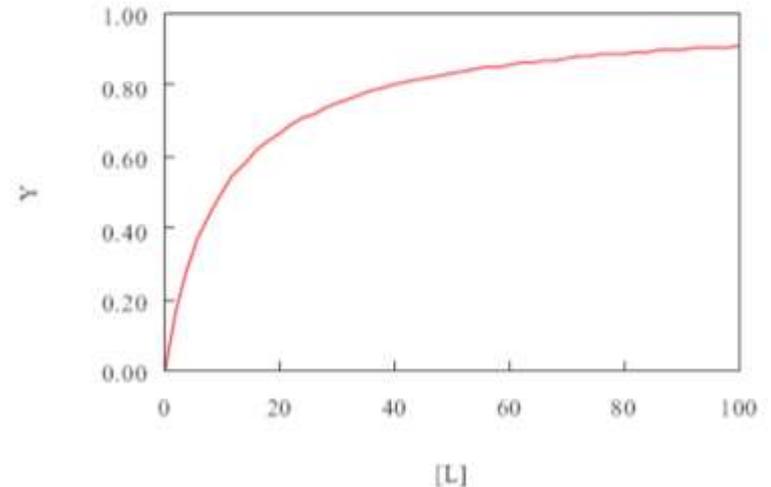
$$Y = \frac{[\text{sitios} \cdot \text{ocupados}]}{[\text{sitios} \cdot \text{totales}]} = \frac{[RL]}{[R] + [RL]}$$

% sitios ocupados = 100 Y

$$Y = \frac{K_a [R][L]}{[R] + K_a [R][L]} = \frac{K_a [L]}{1 + K_a [L]} = \frac{[L]}{K_d + [L]}$$

Propiedad:

$$L = K_d \Rightarrow Y = \frac{1}{2} \quad (\text{50\% de los sitios estan ocupados})$$

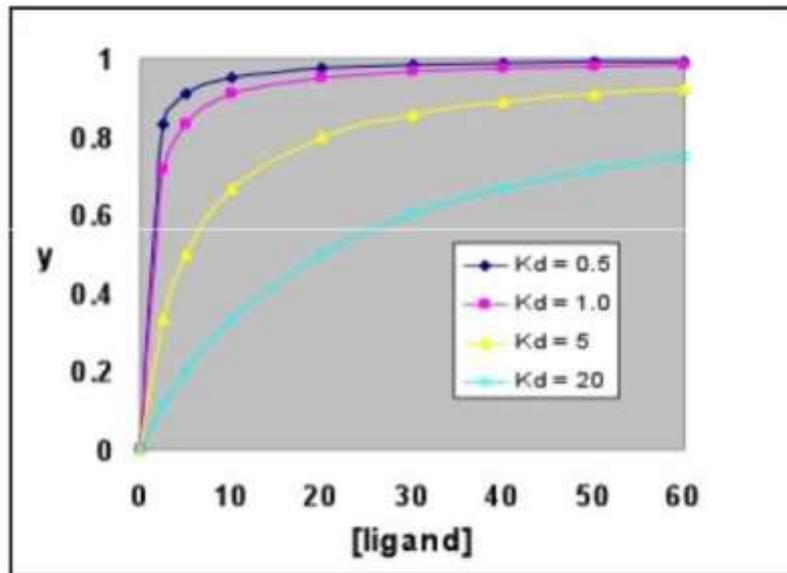


Se trata de una **hipérbola** rectangular.

Se le conoce como **receptor simple** o **hiperbólico**.

¿Cómo validar este modelo frente a datos reales?

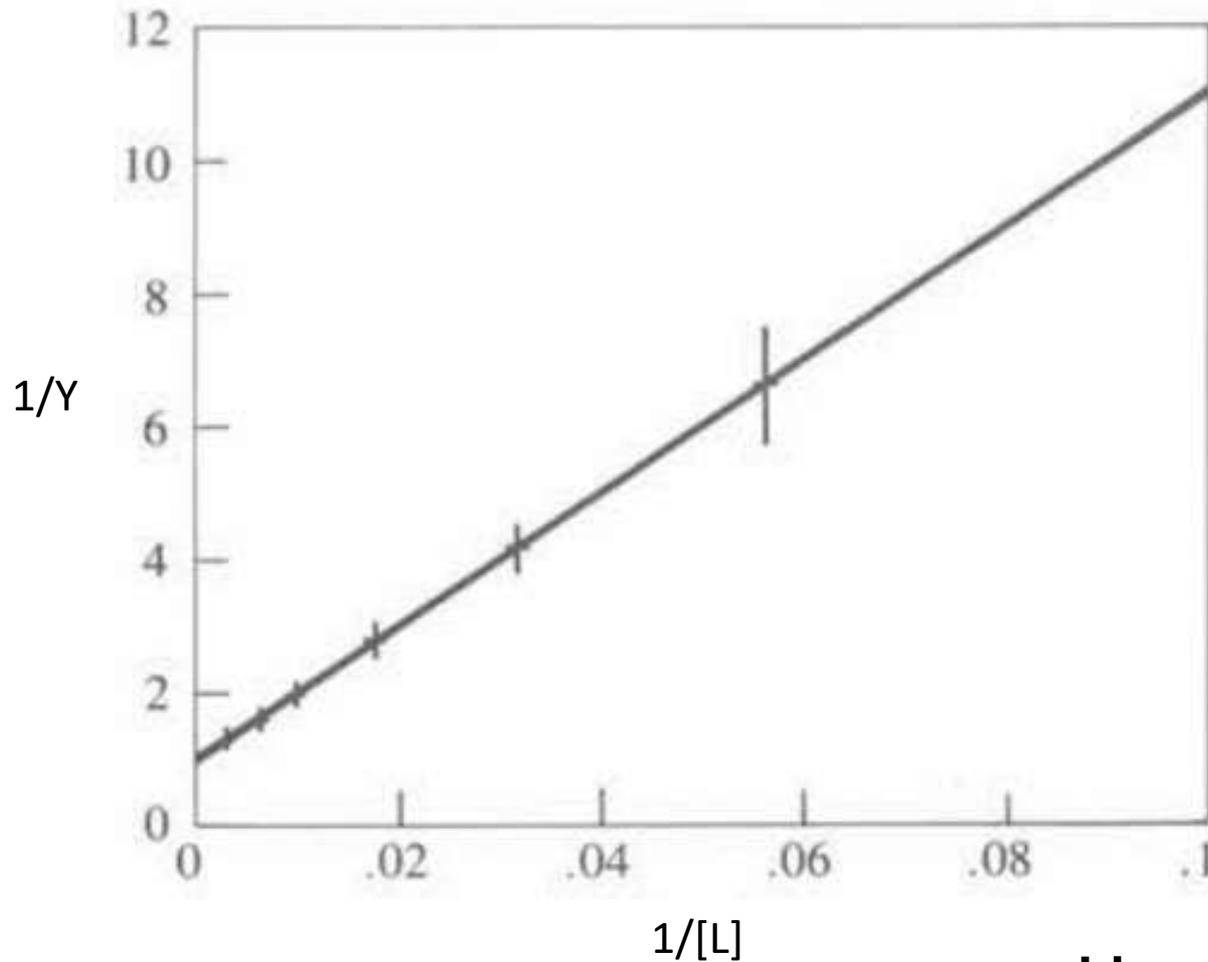
Representación gráfica



Rectificaciones o linealizaciones

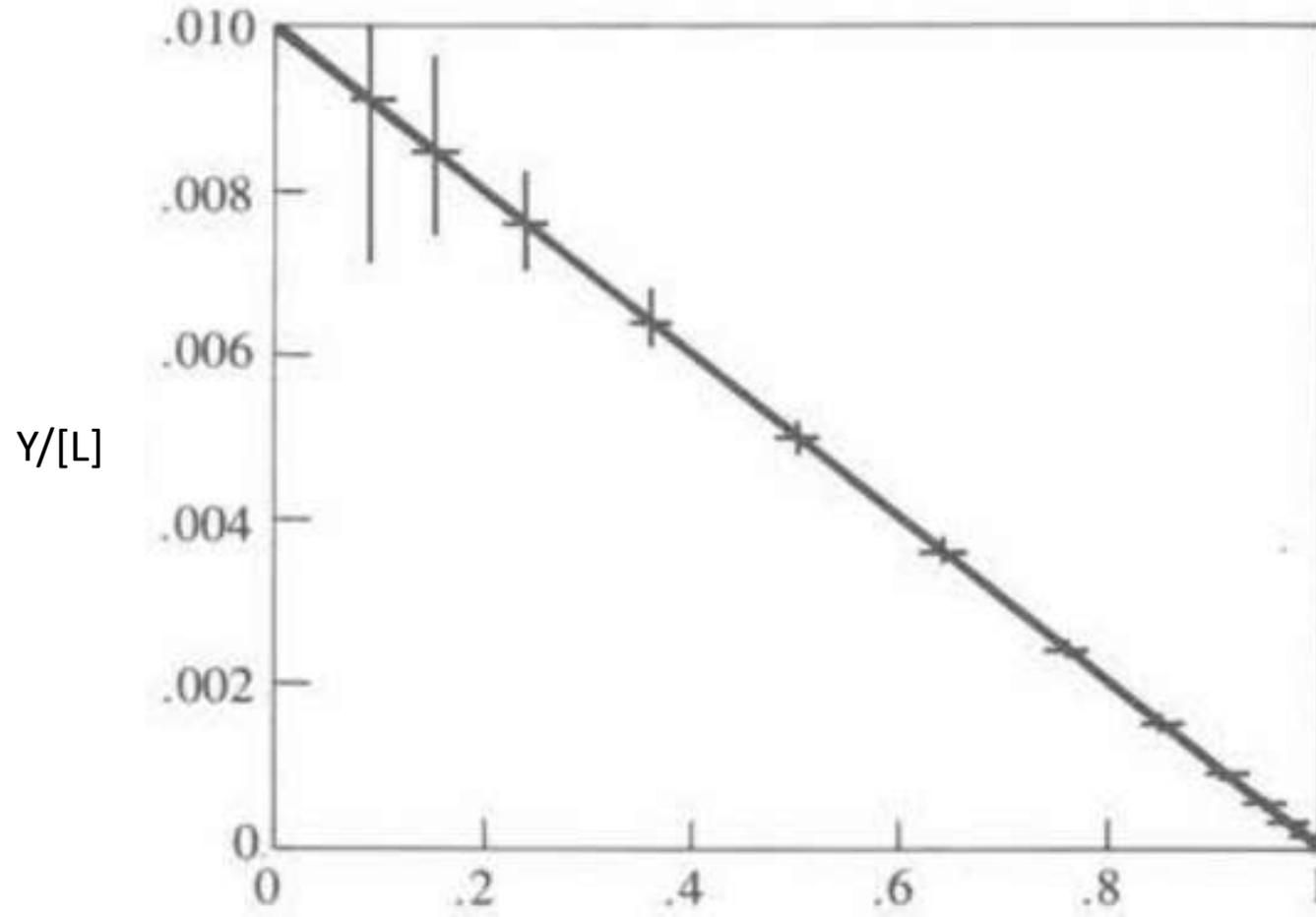
$$g(Y, [L]) = a * f(Y, L) + b$$

Doble recíproco: $1/Y$ vs $1/[L]$



Lineweaver-Burk

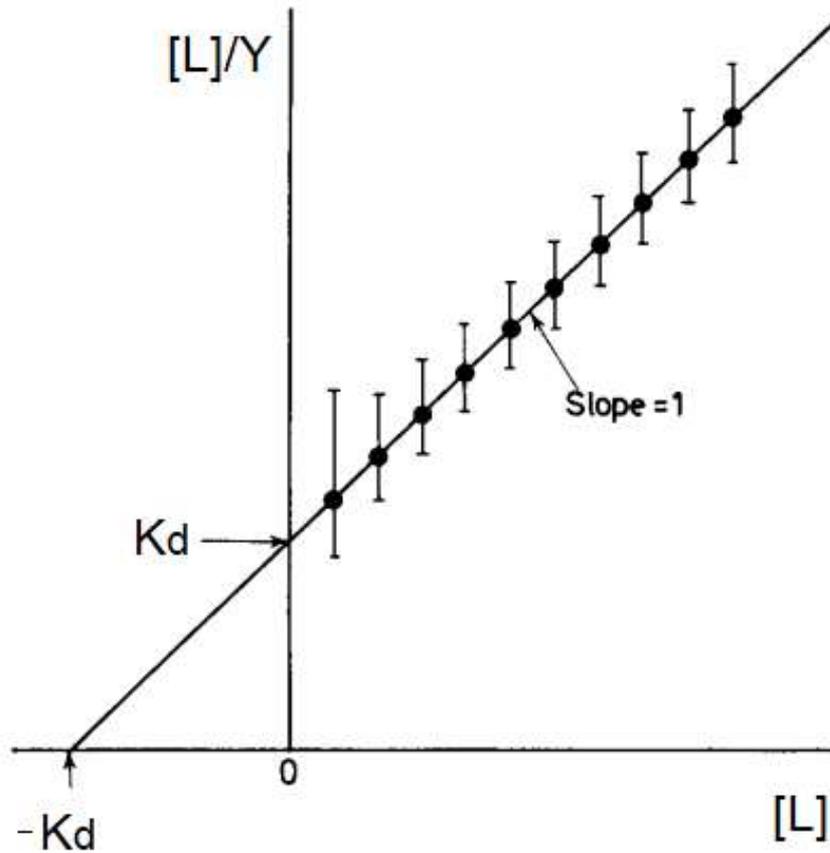
$Y/[L]$ vs $[Y]$



Y

Scatchard

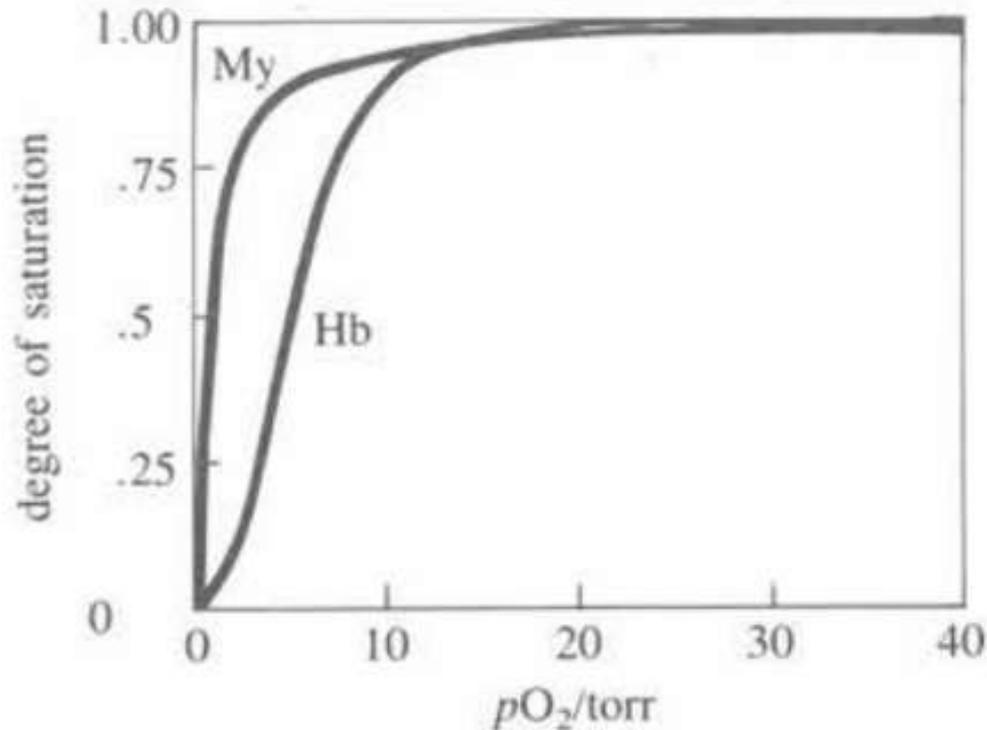
$[L]/Y$ vs $[L]$



Langmuir-Hanes

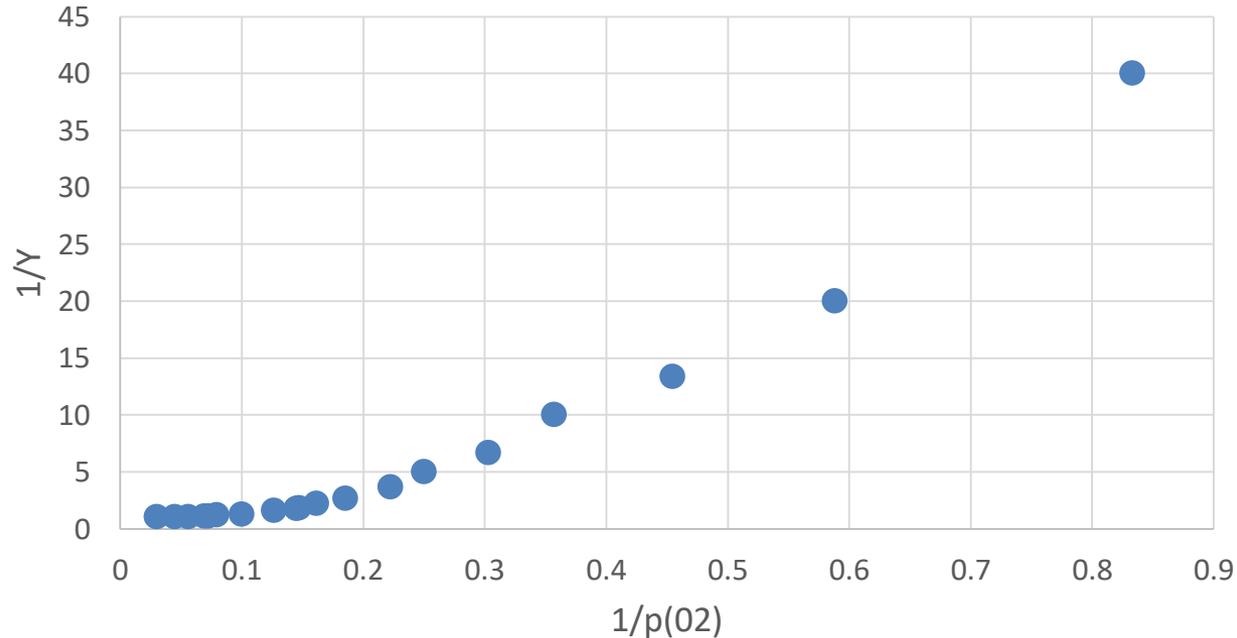
La hemoglobina A

Es un tetrámero, donde cada una de sus subunidades es parecida a la mioglobina y porta un grupo Hemo. Transportador de O_2 en sangre.



Curvas de saturación de Mioglobina y Hemoglobina a pH 7.4 y 25°C

¿La relación entre Y_{Hb} y $p(O_2)$ se ajusta al modelo del receptor simple?

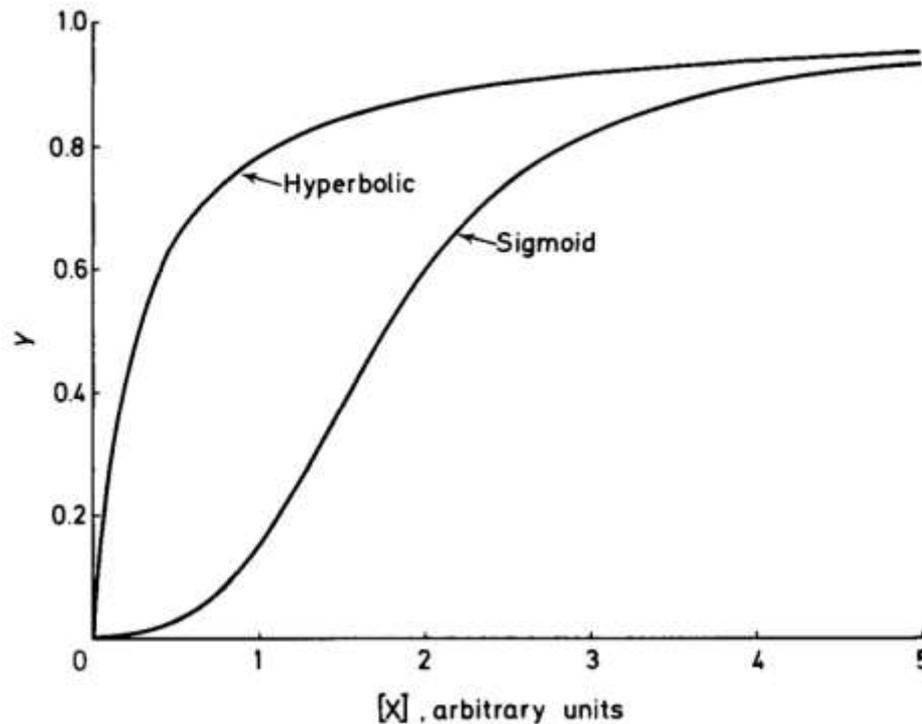


- Además, para que un **receptor simple** pase de $Y=0,1$ a $Y=0,9$, se debe aumentar la concentración de ligando **81 veces**, mientras que para la **hemoglobina**, solamente es necesario aumentar la presión parcial de oxígeno unas **4,8 veces**.
- Aunque la $K_{0,5}$ es mayor, los datos sugieren que la unión de nuevas moléculas de ligando (O_2) se ve fuertemente favorecida.

Hasta acá tenemos:

- Curva de saturación Hiperbólica:
Receptor simple, hiperbólico o **no cooperativo**.

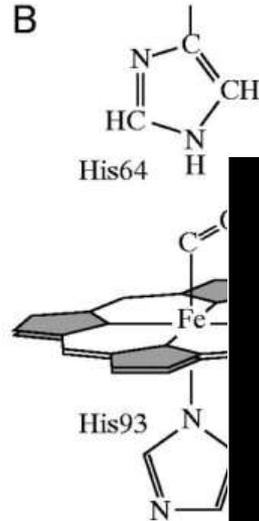
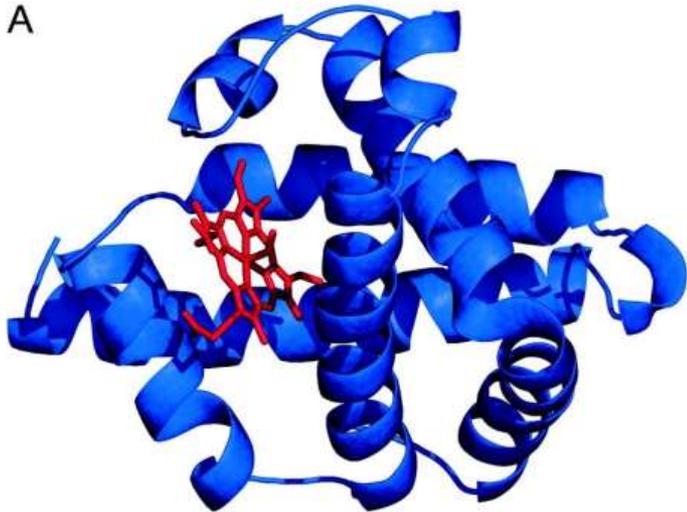
- Curva de saturación no-hiperbólica \Rightarrow
Cooperatividad



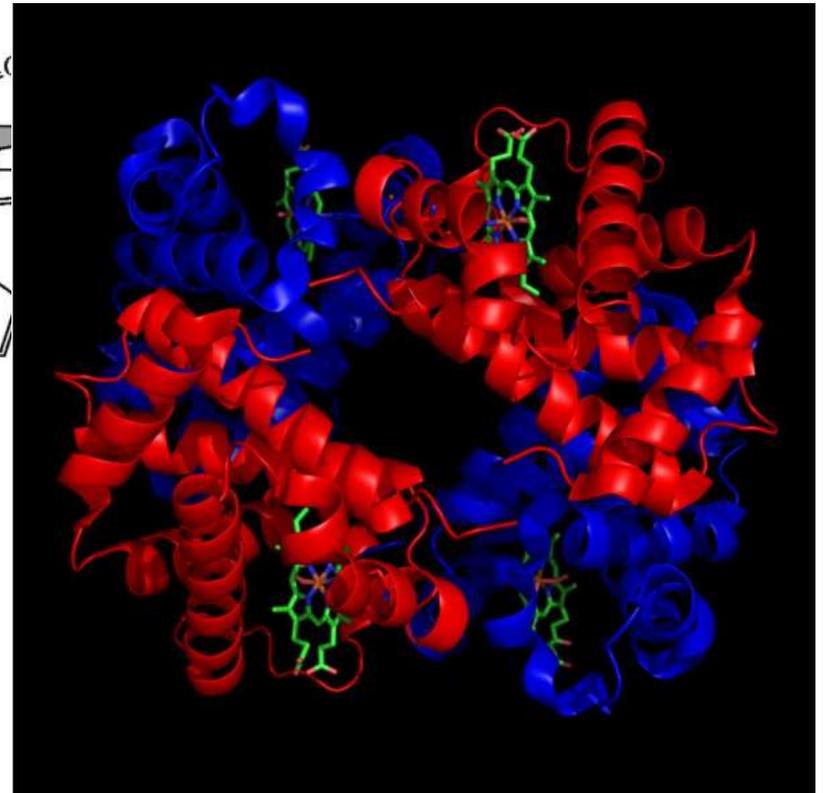
La cooperatividad está asociada a la presencia de más de un sitio de unión.

Hoy sabemos esto:

Mioglobina



Hemoglobina A



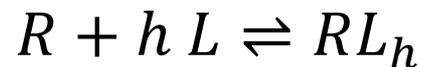
Pero a principios del siglo XX no contábamos con estas herramientas.

Archibald Vivian Hill (1886-1977)

P Nobel de Fisiología 1922



Hill propuso que la hemoglobina A forma polímeros



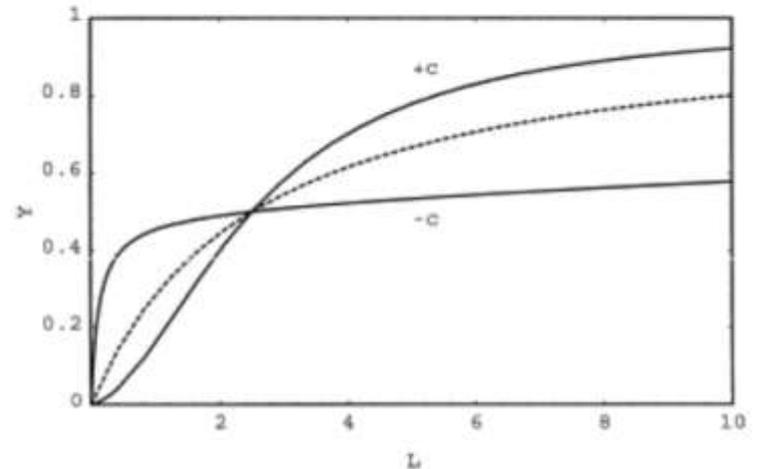
$$K_a = \frac{[RL_h]}{[R][L]^h}$$

Una ecuación empírica

- Ecuación de Hill

$$Y = \frac{L^h}{(K_{0.5})^h + L^h}$$

$$L = K_{0.5} \Rightarrow Y = \frac{1}{2}$$

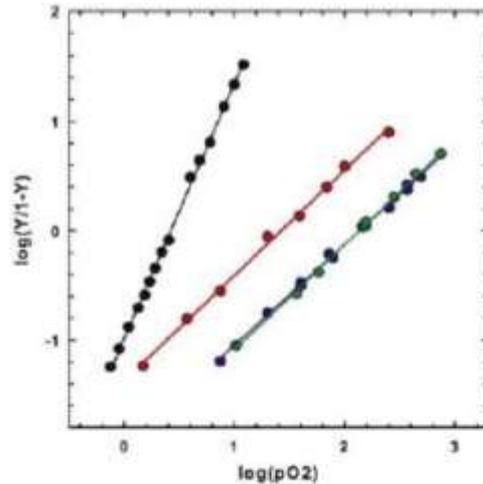


- $h = \text{coef. de Hill}$

- $h = 1$ unión receptor-ligando no cooperativa (---) [hiperbólica]
- $h > 1$ cooperatividad positiva (c+) [sigmoide]
- $h < 1$ cooperatividad negativa (c-)

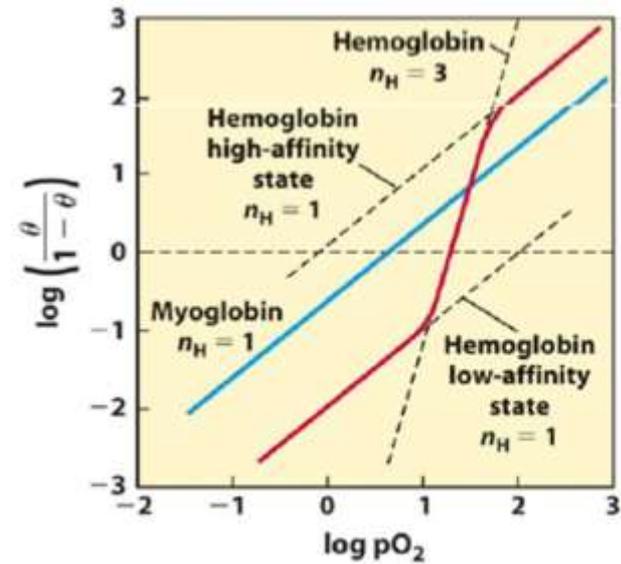
- Gráfico de Hill:

$\log [Y/(1-Y)]$ vs $\log [L]$



$$Y = \frac{(pO_2)^h}{(P_{50})^h + (pO_2)^h}$$

$$\text{Log} \left[\frac{Y}{1-Y} \right] = h \text{Log} [pO_2] - h \text{Log} [P_{50}]$$



- Problema:

El gráfico de Hill para la hemoglobina A presenta pendiente no entera en el intervalo de mejor ajuste ($h=2,8$).

Desde el inicio, Hill entendió que h no tenía un claro significado físico. Hoy sabemos que h es un límite inferior al número de sitios de unión del receptor.

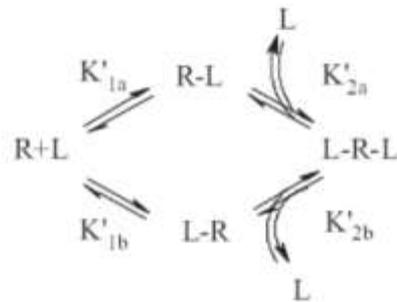
Actualmente sabemos que usar h , definido como la pendiente del gráfico de Hill permite establecer la cooperatividad de la unión receptor-ligando.

Bibliografía recomendada

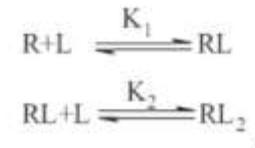
- “Bioquímica”, Berg, Tymoczko & Stryer, Capítulo 7 (En español). **Biblioteca.**
- En el libro “El segundo secreto de la vida”, el Profesor de Biofísica Eduardo Mizraji cuenta la historia apasionante del encuentro entre la biología molecular y la evolución, en la concepción de las enzimas alostéricas como sistemas adaptativos y cibernéticos. Eduardo, que fue el fundador de la Sección Biofísica y el Profesor de todos nosotros, tiene un estilo único y apasionado por las ideas en la ciencia. ¡Fuertemente recomendable su lectura! **EVA.**
- El libro “Binding and Linkage” de Wyman, es la obra en la que resume su trabajo de décadas. De matemática elegante, se lo proporcionamos para que lo miren un poco, y lo tengan como referencia en el tema de unión receptor-ligando. **EVA.**
- El libro “Principles of Enzyme Kinetics”, de Cornish-Bowden es un clásico de la enzimología. Es un libro de texto. Hay una versión más actualizada, pero creo que esta versión clásica es la más adecuada para el curso. (Página 116). **EVA.**

La cooperatividad como interacción entre sitios. El modelo de Adair

- El caso de un dímero



-----Constantes macroscópicas-----



con $K_1 = \frac{[RL]}{[R][L]}$, y $K_2 = \frac{[RL_2]}{[RL][L]}$, las constantes de asociación macroscópicas.

-----Constantes microscópicas-----

$$K'_{1a} = \frac{[R-L]}{[R][L]}$$

$$K'_{1b} = \frac{[L-R]}{[R][L]}$$

$$K'_{2a} = \frac{[L-R-L]}{[R-L][L]}$$

$$K'_{2b} = \frac{[L-R-L]}{[L-R][L]}$$

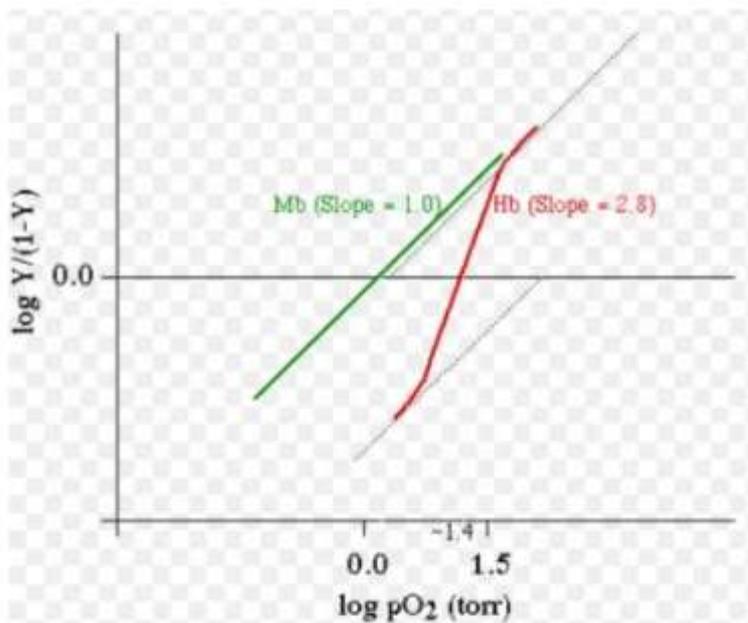
$$[RL] = [L-R] + [R-L]$$

debe cumplirse $K'_{1a} K'_{2a} = K'_{1b} K'_{2b}$.

Se ve que la constante $K_1 = K'_{1a} + K'_{1b}$ y que $K_2 = \frac{K'_{2a} K'_{2b}}{K'_{2a} + K'_{2b}}$

Si el dímero es simétrico $K_1 = 2K'_1$ y $K_2 = K'_2/2$.

Ctes. microscópicas, número de Hill (n_H) y cooperatividad



Para el dímero simétrico:
$$n_H = \frac{2}{1 + \sqrt{\frac{k_1}{k_2}}}$$

- $k_1 = k_2$

Pendiente (n_H) = 1 \rightarrow No-cooperativo

- $k_1 < k_2$

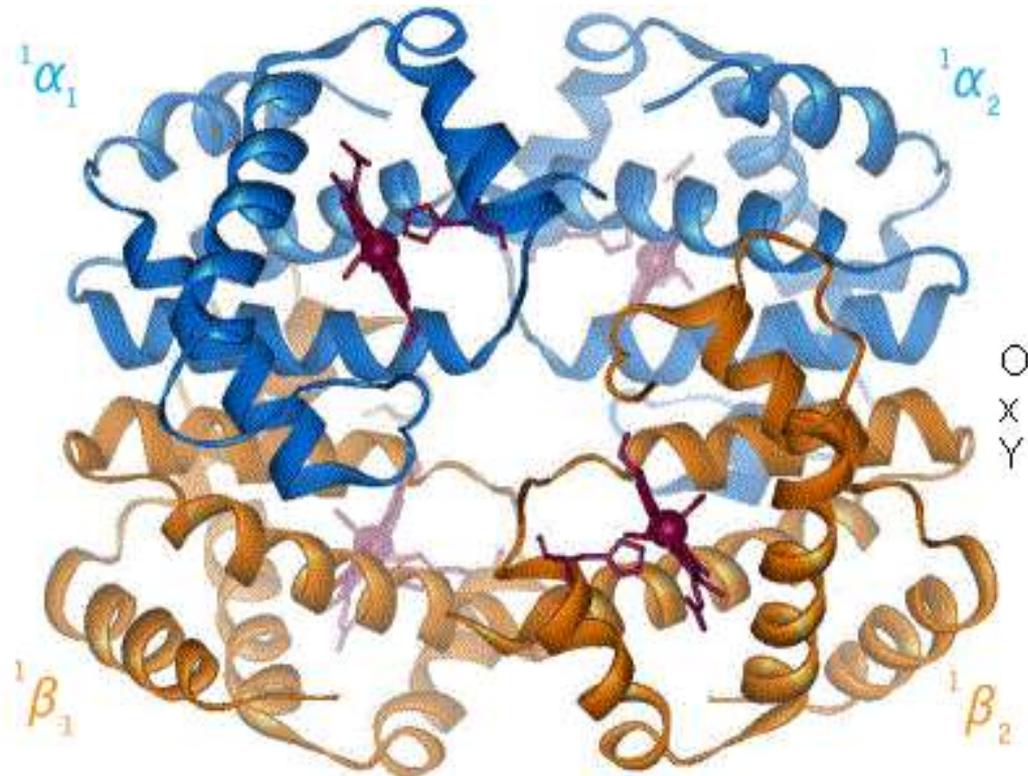
Pendiente (n_H) > 1 \rightarrow Cooperatividad (+)

- $k_1 > k_2$

Pendiente (n_H) < 1 \rightarrow Cooperatividad (-)

- Pendiente máxima del gráfico de Hill = número de Hill (n_H)
- En ambos casos:
 - valor 1 = No-cooperativo
 - valor > 1 = Cooperatividad positiva
 - valor < 1 = Cooperatividad negativa

Interacción entre sitios



Importancia de la Cooperatividad

“Sin embargo, incluso si hay varios efectores actuando concertadamente, la situación cualitativa es la misma: un cambio drástico en el entorno es necesario en orden de conseguir incluso un modesto cambio de velocidad. Los requerimientos metabólicos son exactamente los opuestos: por un lado, las concentraciones de los metabolitos principales deben ser mantenidos dentro de una pequeña tolerancia, y por otro lado, las velocidades de reacción deben ser capaces de cambiar muy grandemente – probablemente más que el rango 0,1V a 0,9V que hemos considerado en muchos casos – en respuesta a fluctuaciones dentro de esas pequeñas tolerancias.”