

Aula de **Bioquímica**

Tema:

Estrutura, função e dinâmica de proteínas

Prof. Dr. Júlio César Borges

Depto. de Química e Física Molecular – DQFM

Instituto de Química de São Carlos – IQSC

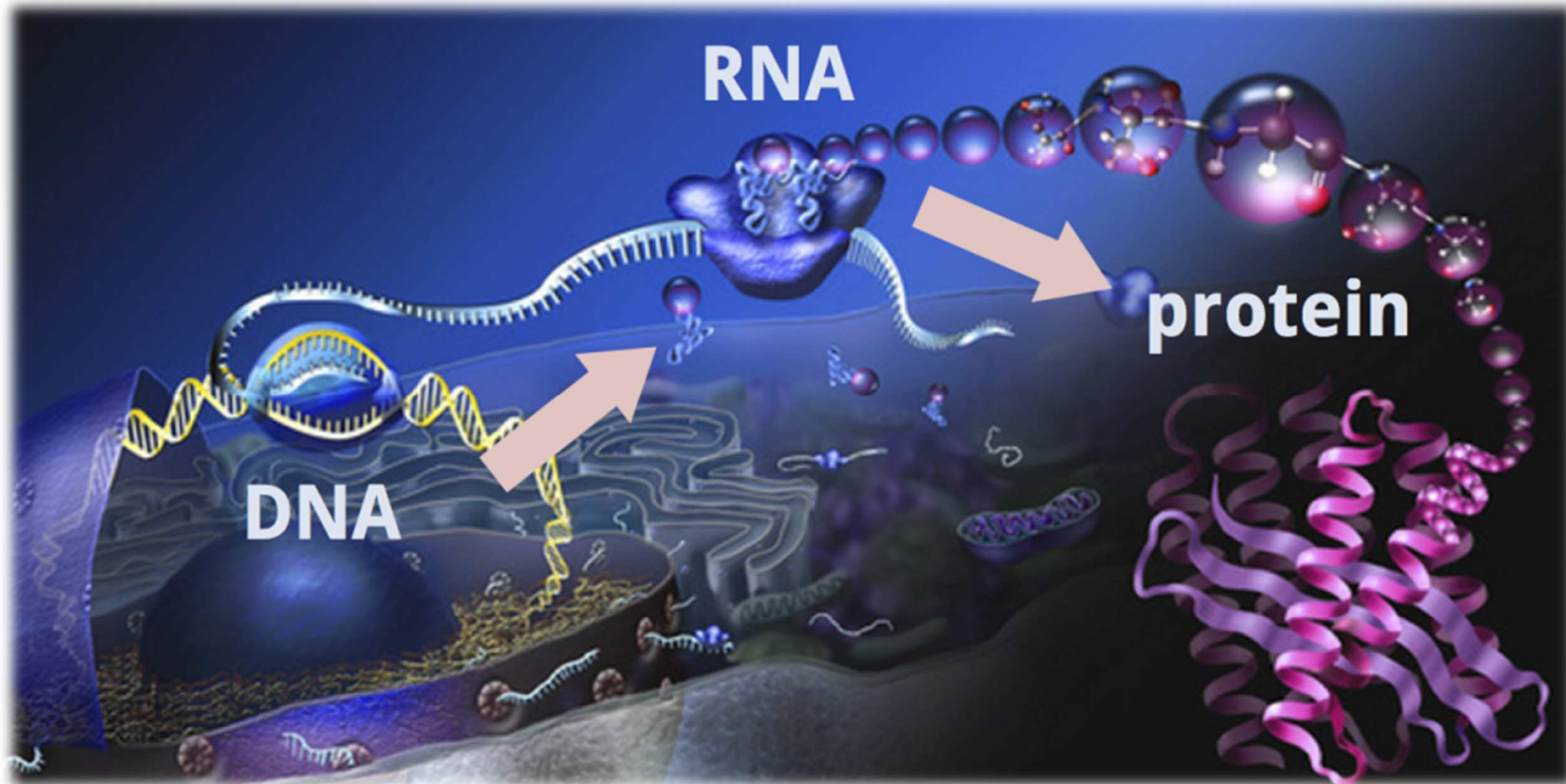
Universidade de São Paulo – USP

E-mail: borgesjc@iqsc.usp.br

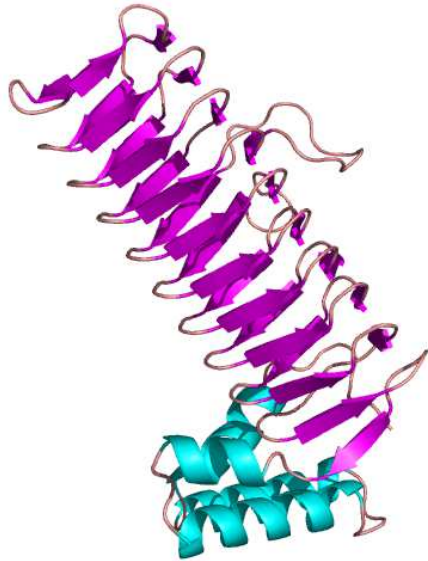
Dogma central da Biologia

A Informação é:

Armazenada → Decodificada → Executada



Proteínas



Importância e Função

Catálise enzimática;

Transporte e estoque;

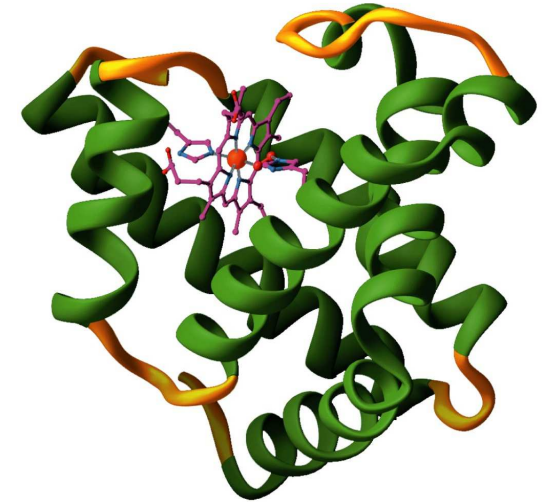
Movimento;

Suporte mecânico;

Proteção imune;

Sinalização intra e extracelular;

etc.



Variedade Funcional → Diferentes Estruturas Tridimensionais

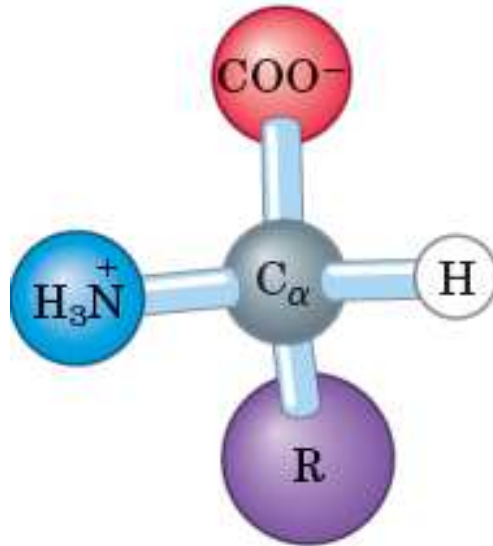
Estrutura 3D → Estrutura Estável em função do tempo

Estabilidade *versus* flexibilidade

Função e conformação.

Proteínas: Polímeros de aminoácidos

Repertório de 20 unidades básicas: Aminoácidos



Diferem entre si
pela cadeia lateral
(grupo R).

Aminoácidos: Propriedades

→ 20 Aminoácidos “Padrão” diferem no seu grupo R considerando:

1) Tamanho

2) Formato

3) Reatividade

4) Carga

5) Formação de ligações de Hidrogênio

Nomenclatura dos aminoácidos naturais

→ Código de 3 Letras: 1º letra maiúscula e duas minúsculas

ex: Alanina: Ala

→ Código de 1 Letra

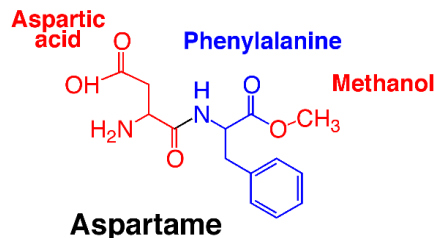
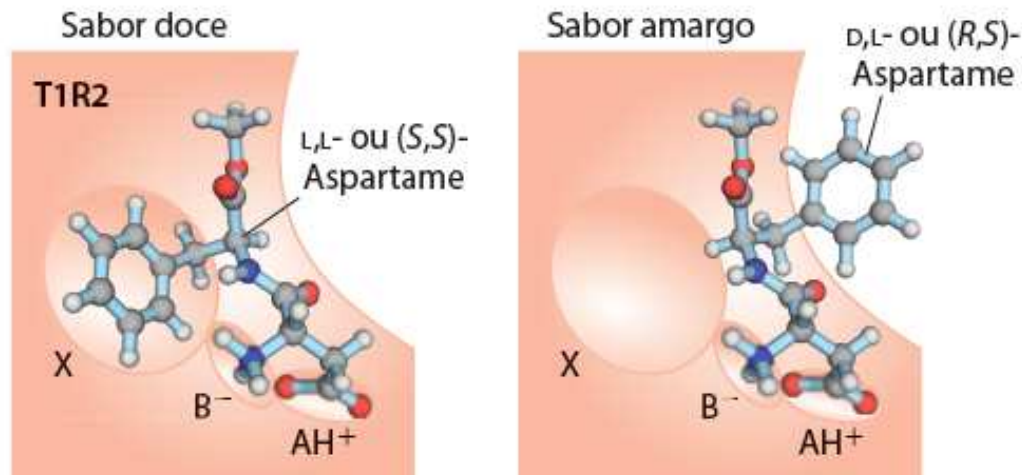
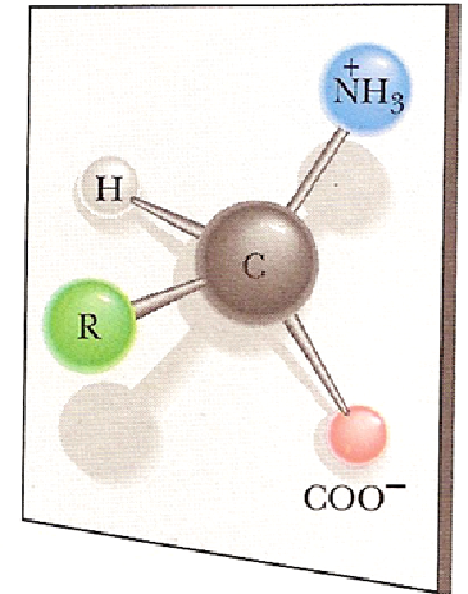
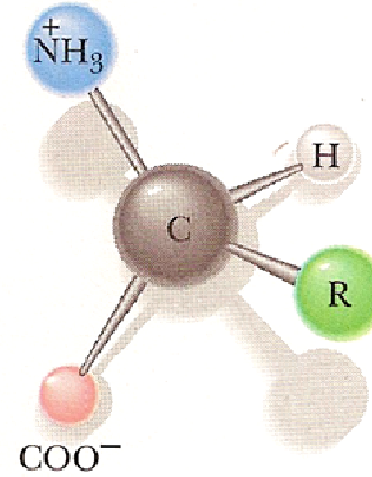
ex: Alanina: A

Proteínas: Composição

- Carbono $\alpha \rightarrow$ opticamente ativo (exceto glicina)

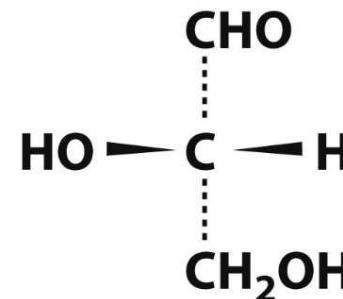
Aminoácidos possuem dois possíveis estereoisômeros (imagens especulares não superponíveis, ou enantiômeros):

\rightarrow devido ao arranjo tetraédrico dos ligantes ao redor do $C\alpha$

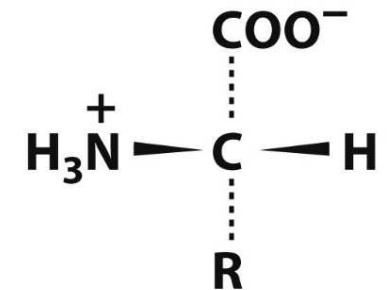


\rightarrow Interação espacial específica

\rightarrow Em proteínas: somente isômero L



L-Glyceraldehyde



L- α -Amino acid

Proteínas: Composição

Nomenclatura dos aminoácidos naturais

→ Código de 3 Letras: 1º letra maiúscula e duas minúsculas

→ Código de 1 Letra

ex: Alanina: Ala

ex: Alanina: A



Asparagina → aspargo

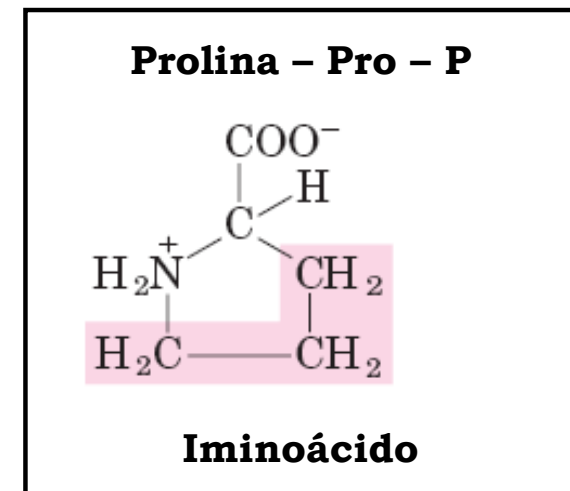
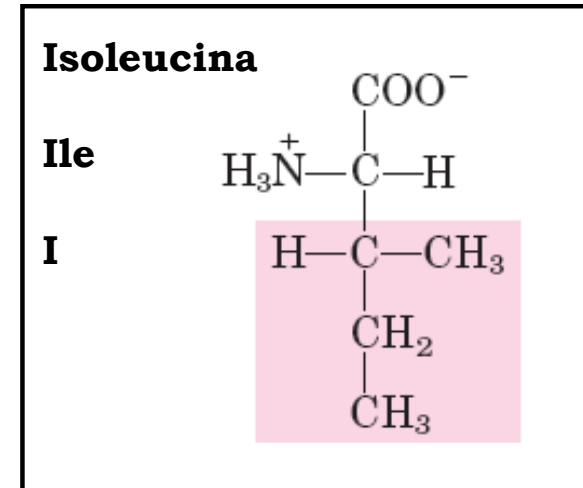
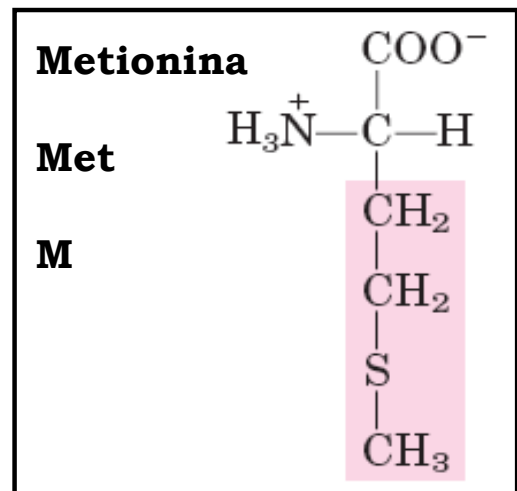
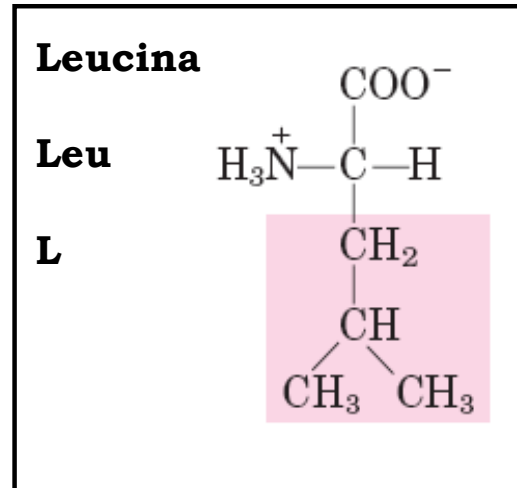
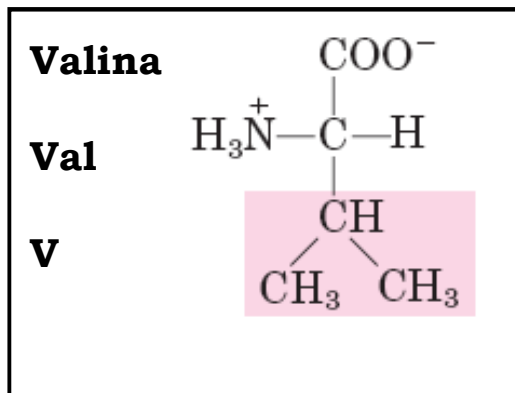
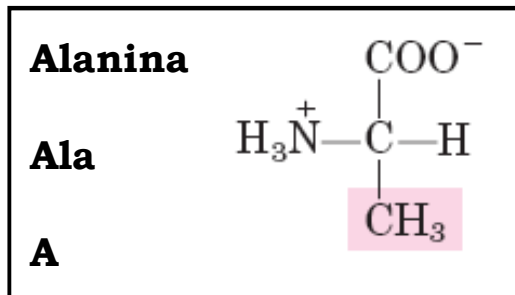
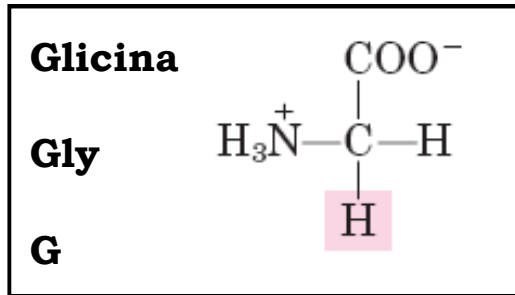
Glutamato → glúten de trigo

Tirosina → queijo (do grego: *tyros* = queijo)

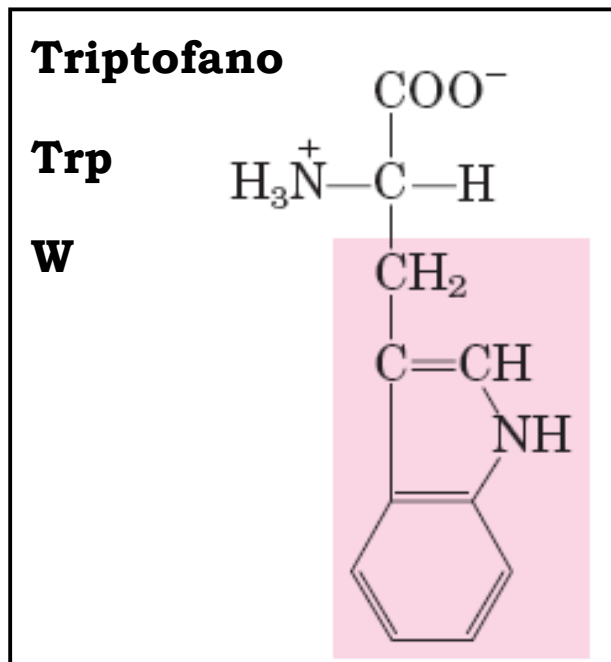
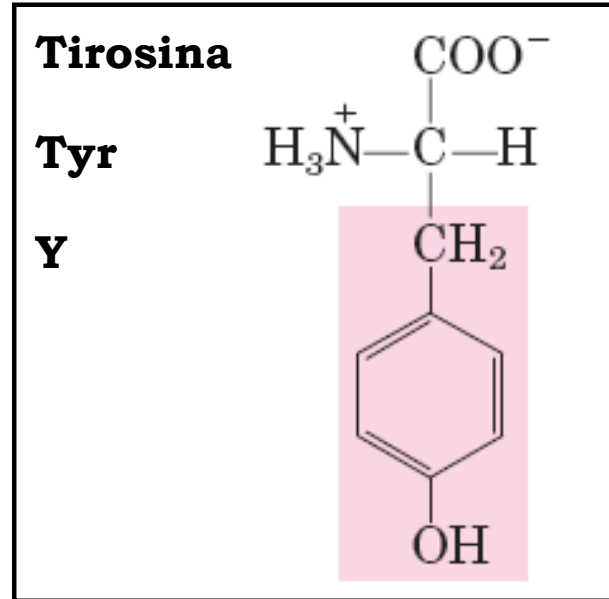
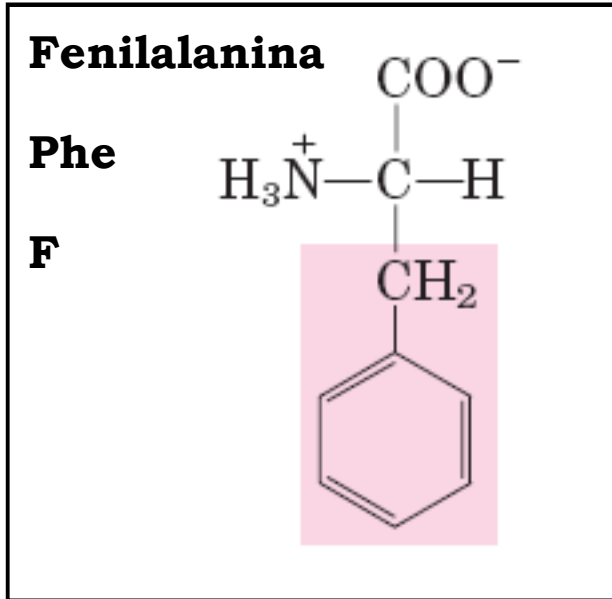
Glicina → doce (do grego *glykos* = doce)



Aminoácidos de cadeia Lateral alifática

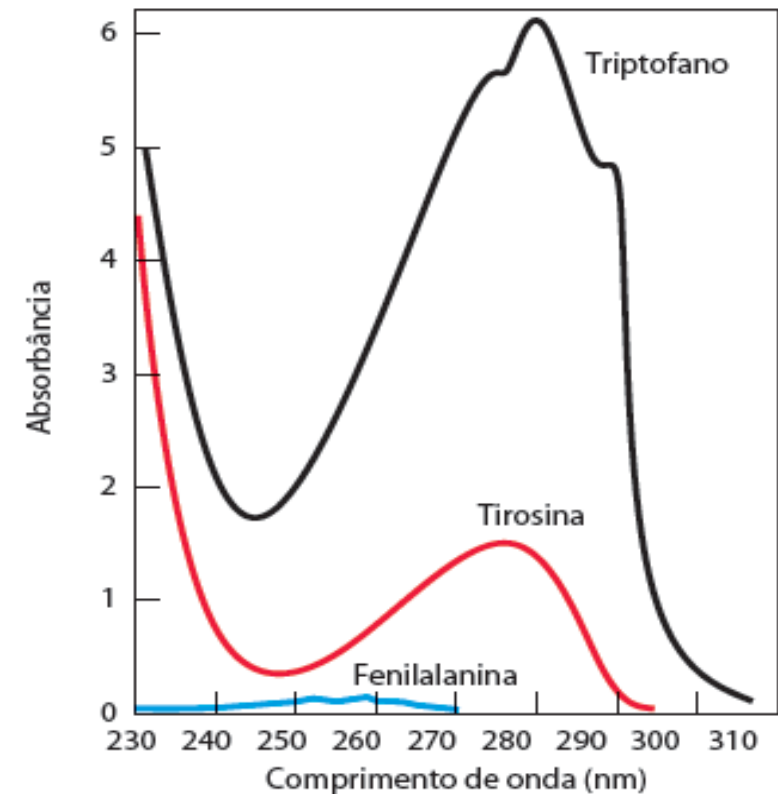


Aminoácidos de cadeia Lateral Aromática



Os Aminoácidos Trp e Tyr absorvem luz UV

Permite monitoramento e quantificação



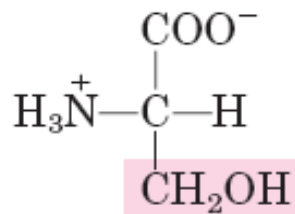
Aminoácidos de cadeia Lateral hidrofílica

São aminoácidos polares não carregados

Serina

Ser

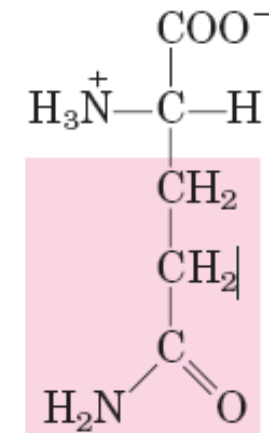
S



Glutamina

Gln

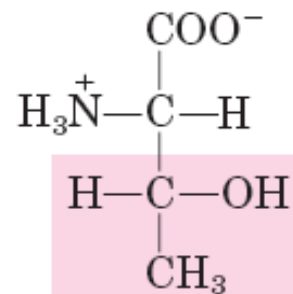
Q



Treonina

Thr

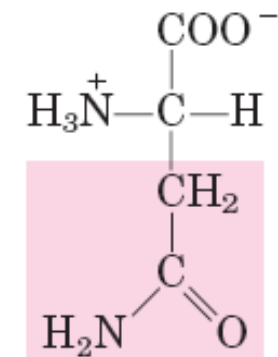
T



Asparagina

Asn

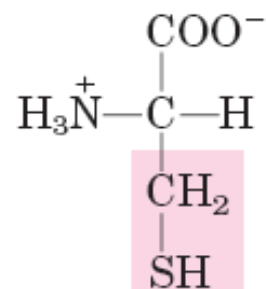
N



Cisteína

Cys

C



Aminoácidos de cadeia Lateral Carregada

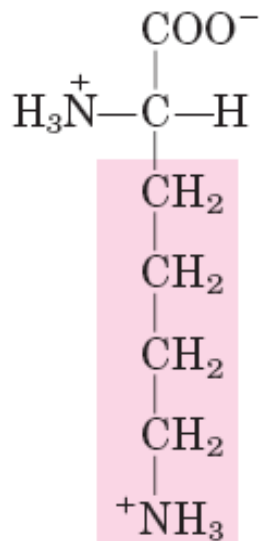
Carga Positiva

Básicos

Lisina

Lys

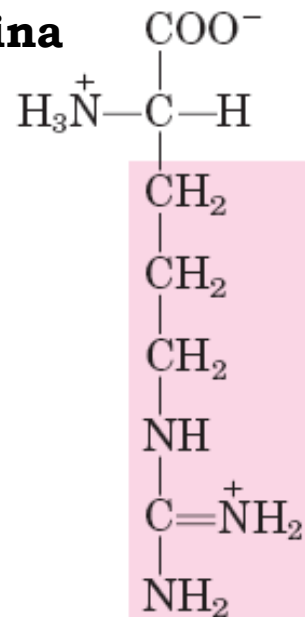
K



Arginina

Arg

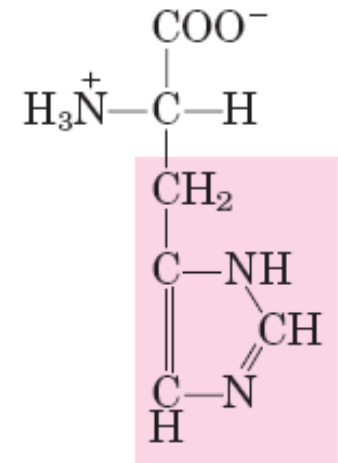
R



Histidina

His

H



Carga Negativa

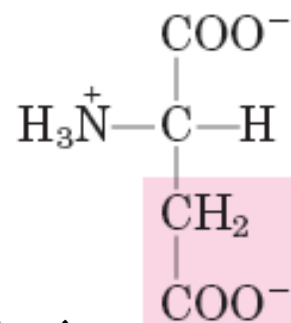
Ácidos

Aspartato

Asp

D

(Ác. Aspártico)

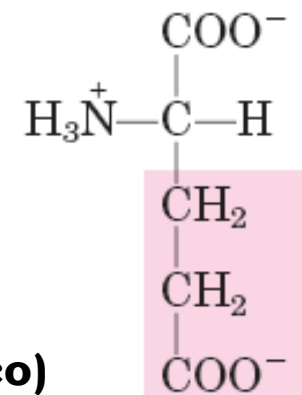


Glutamato

Glu

E

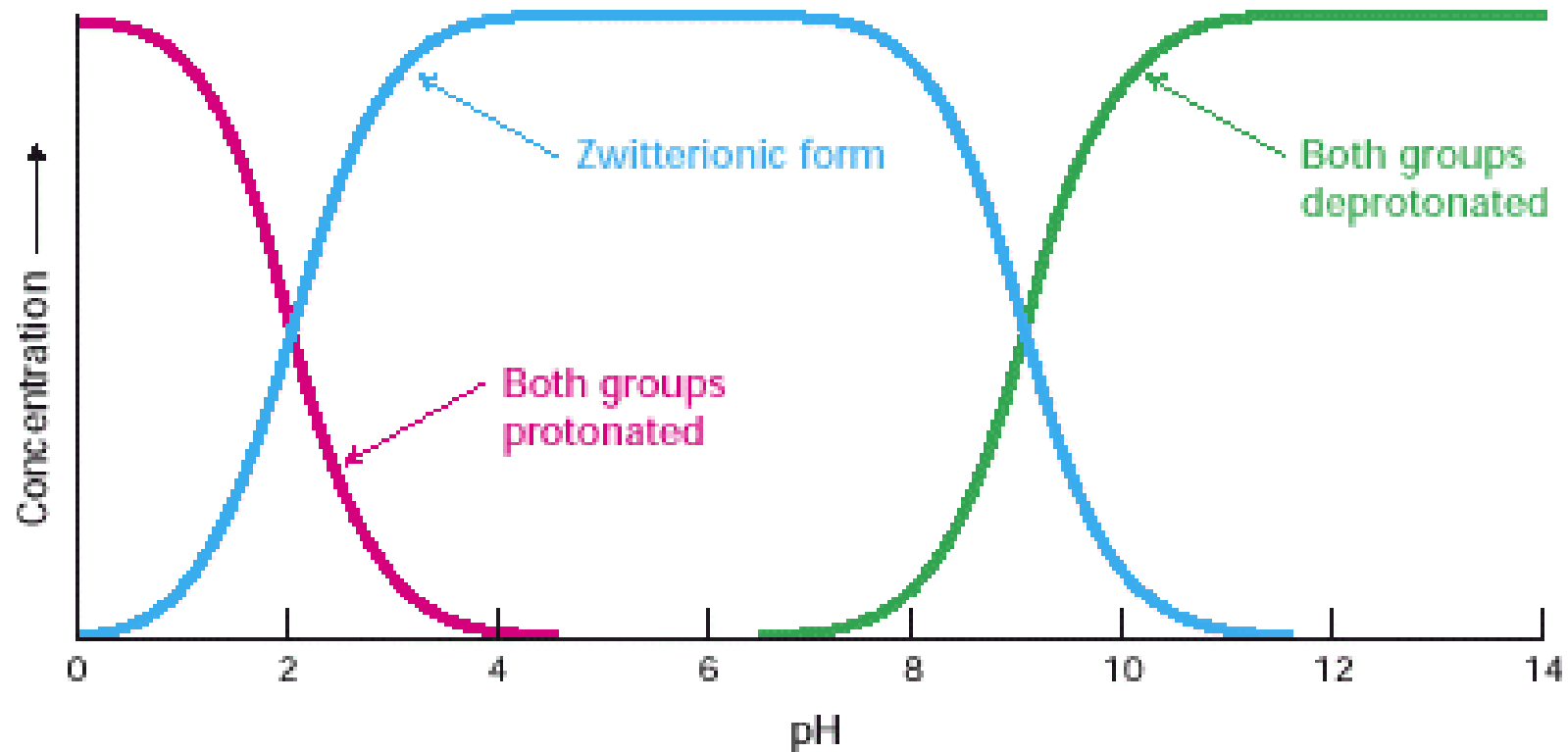
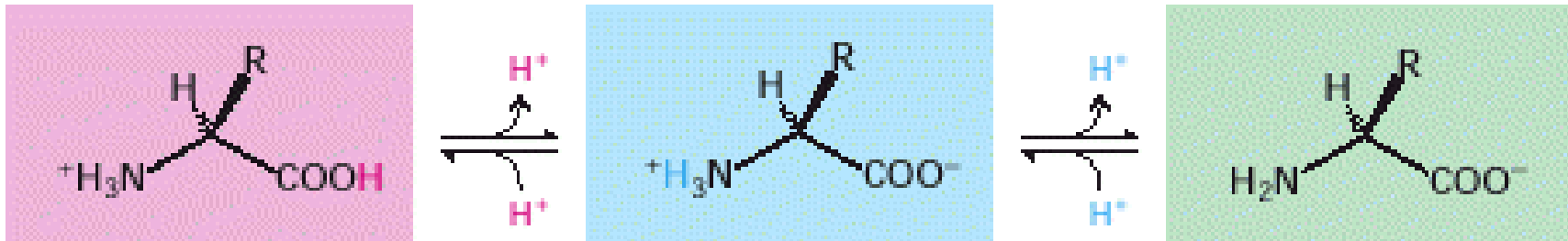
(Ác. Glutâmico)



Aminoácidos

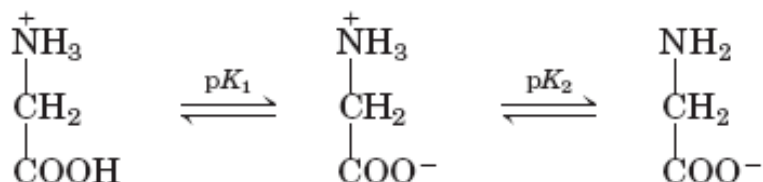
Curva de ionização de aminoácidos

Aminoácidos são Íons dipolares ou *Zwitterions* – Anfóteros ou Anfólitos.



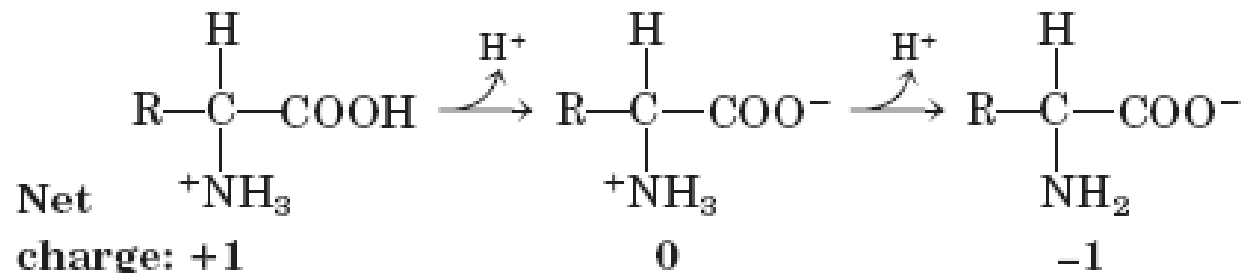
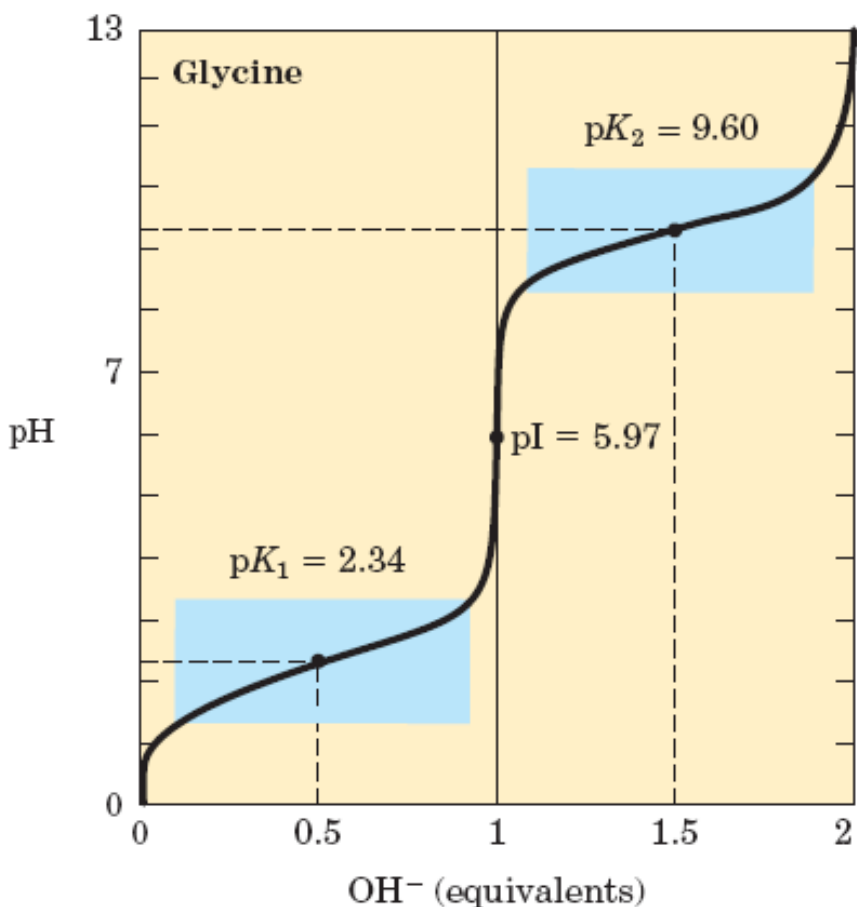
Aminoácidos

Curva de ionização de aminoácidos



Ponto Isoelétrico: pI

pH no qual o somatório das cargas de uma molécula iônica dipolar é igual a ZERO



Quanto mais distante o pH da solução do pI da molécula, maior será a carga desta

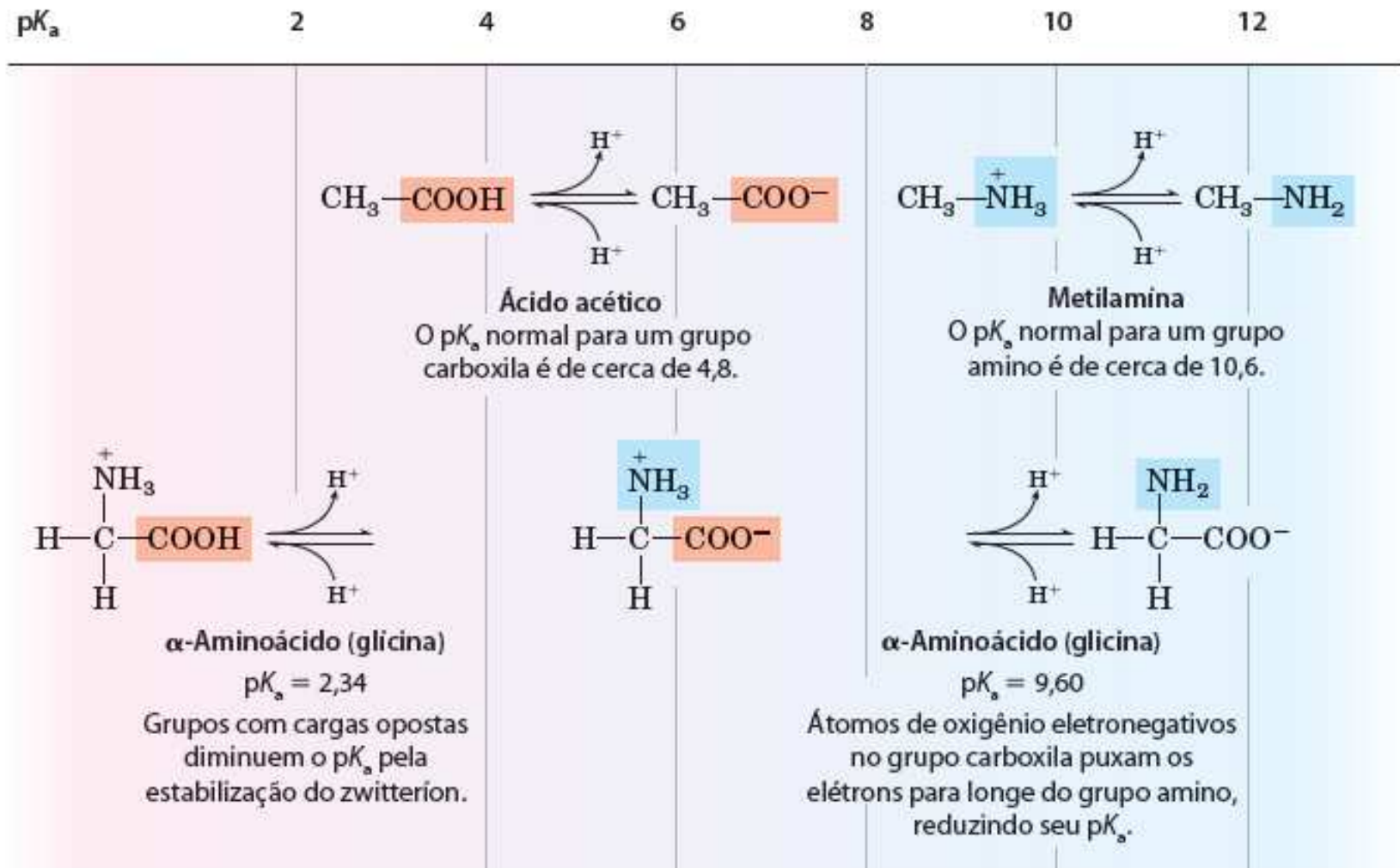
$$\text{pI} = \frac{1}{2} (\text{p}K_1 + \text{p}K_2) = \frac{1}{2} (2.34 + 9.60) = 5.97$$

Aminoácidos

A acidez de um aminoácido é maior do que o ácido correspondente

1- Repulsão entre o grupo NH_3^+ e o H^+ do grupo COOH

2- As cargas opostas dos grupos carregados estabiliza a espécie iônica dipolar



Aminoácidos

Cadeia Lateral Ionizável

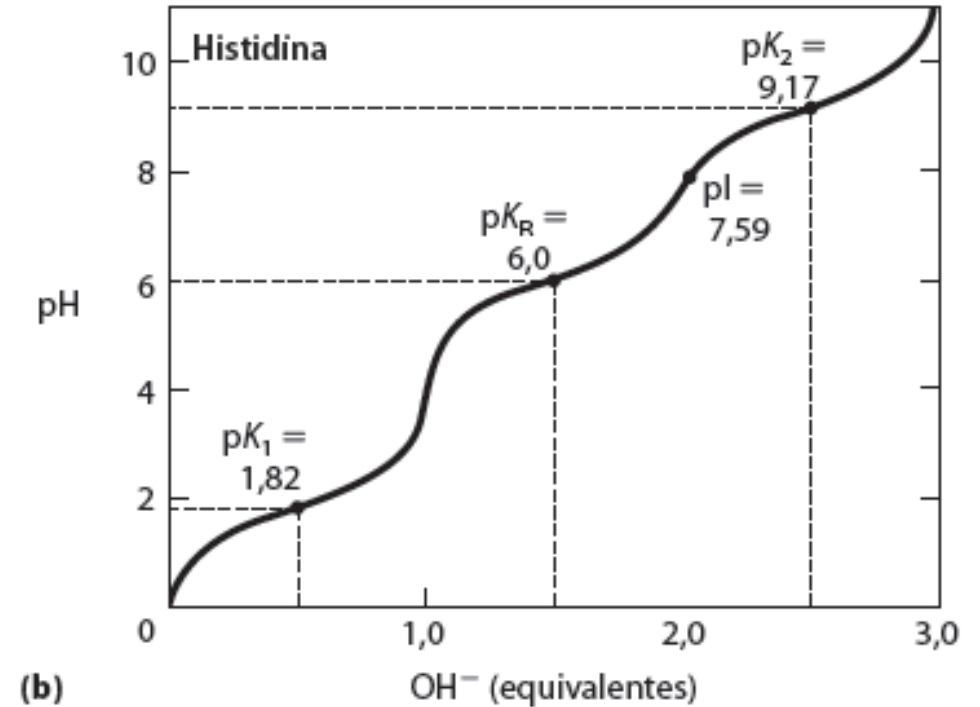
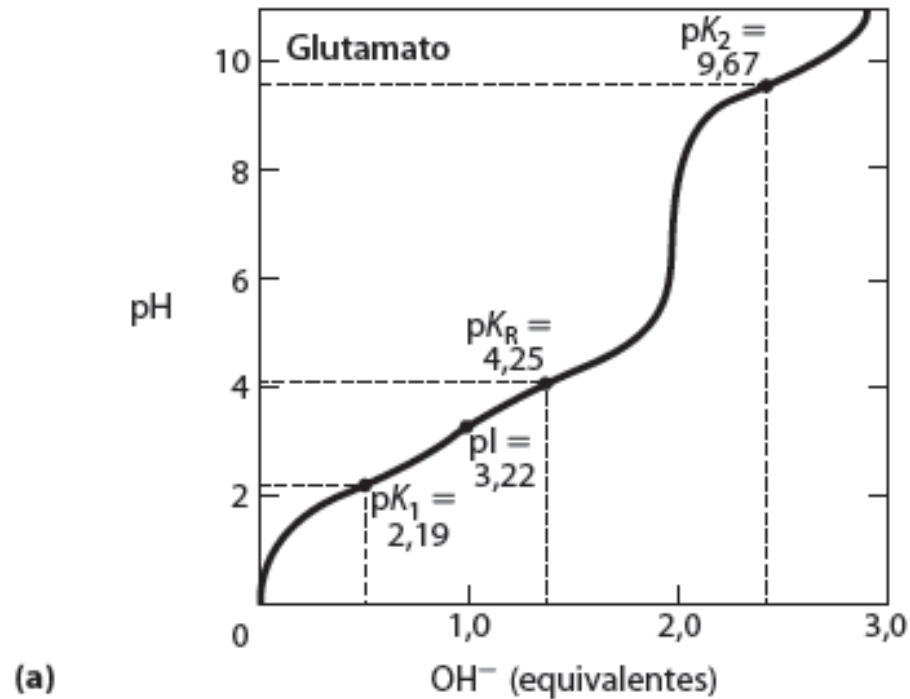
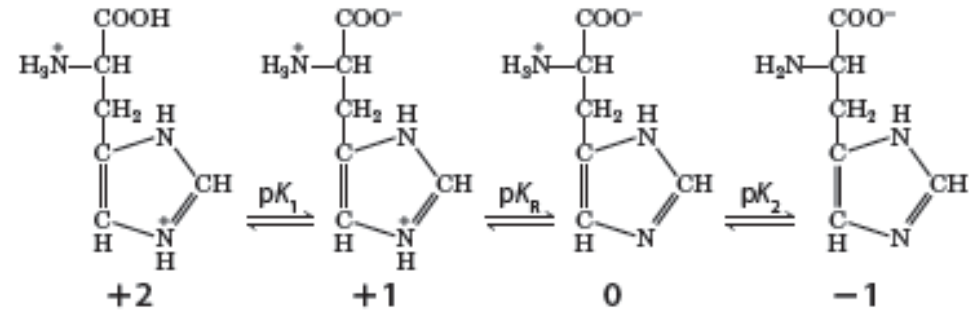
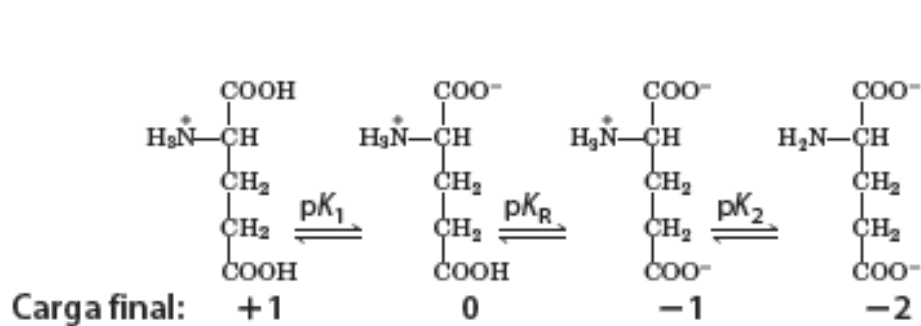


Tabela 2.1 Valores típicos de pK_a de grupos ionizáveis de proteínas.

Grupo	Ácido	\rightleftharpoons	Base	pK_a típico*
Carboxila α terminal		\rightleftharpoons		3,1
Ácido aspártico Ácido glutâmico		\rightleftharpoons		4,1
Histidina		\rightleftharpoons		6,0
Amina α terminal		\rightleftharpoons		8,0
Cisteína		\rightleftharpoons		8,3
Tirosina		\rightleftharpoons		10,9
Lisina		\rightleftharpoons		10,8
Arginina		\rightleftharpoons		12,5

*Os valores de pK_a dependem da temperatura, força iônica e do microambiente do grupo ionizável.

→ **Cadeia Lateral Ionizável**

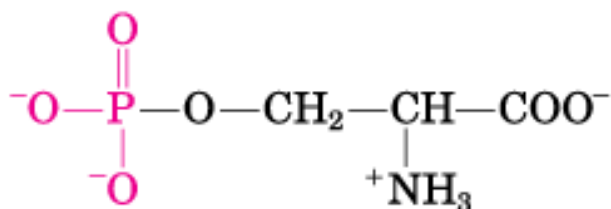
→ **A capacidade de ionização influencia a reatividade química do aminoácido.**

→ **As Cargas elétricas das cadeias laterais dos aminoácidos nas proteínas geram proteínas carregadas e portanto com pI**

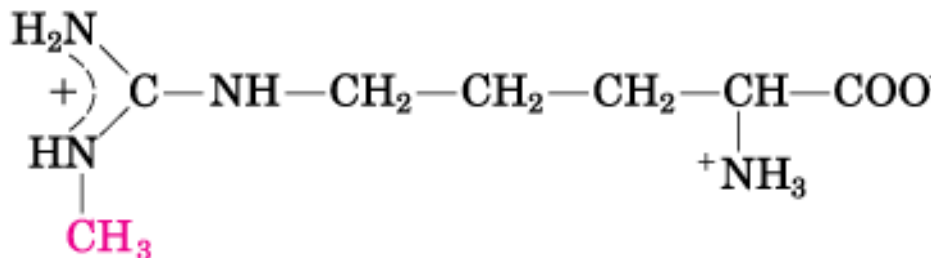
Aminoácidos: Outras modificações

Fosforilação, Hidroxilação, Carboxilação,

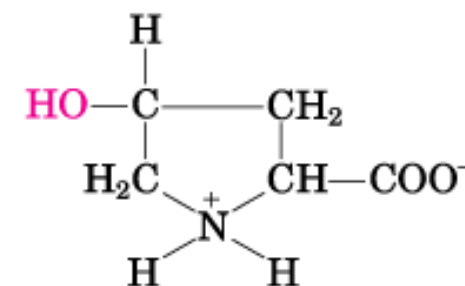
Acetilação, Metilação, Glicosilação, Pontes Dissulfeto



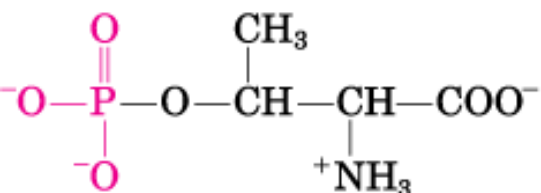
Fosfosserina



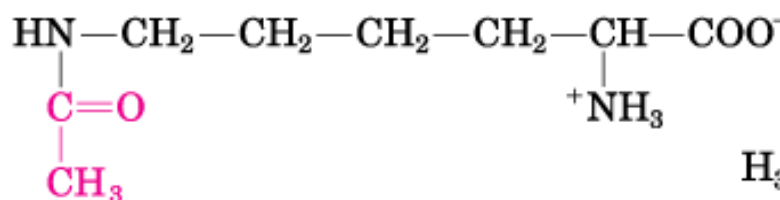
σ -N-Metilarginina



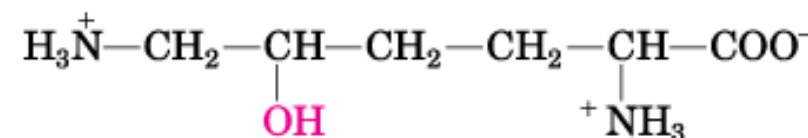
4-Hidroxi prolina



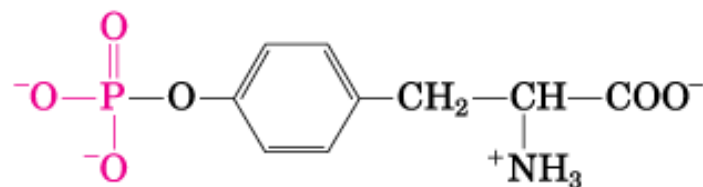
Fosfotreonina



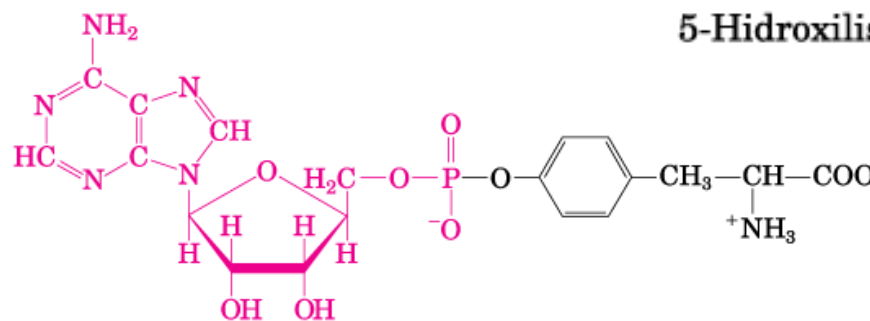
6-N-Acetil-lisina



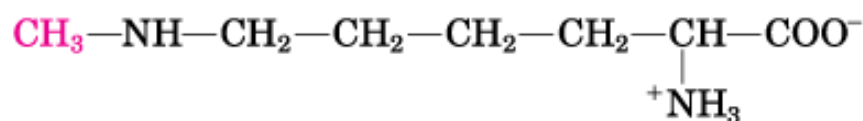
5-Hidroxisisina



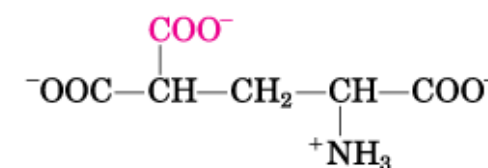
Fosfotirosina



Adenilil tirosina



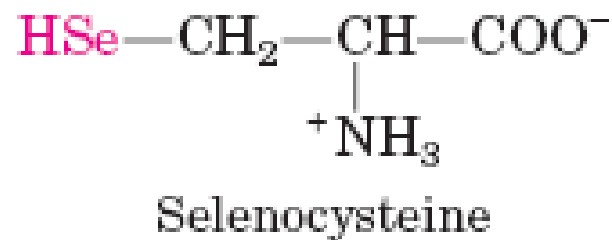
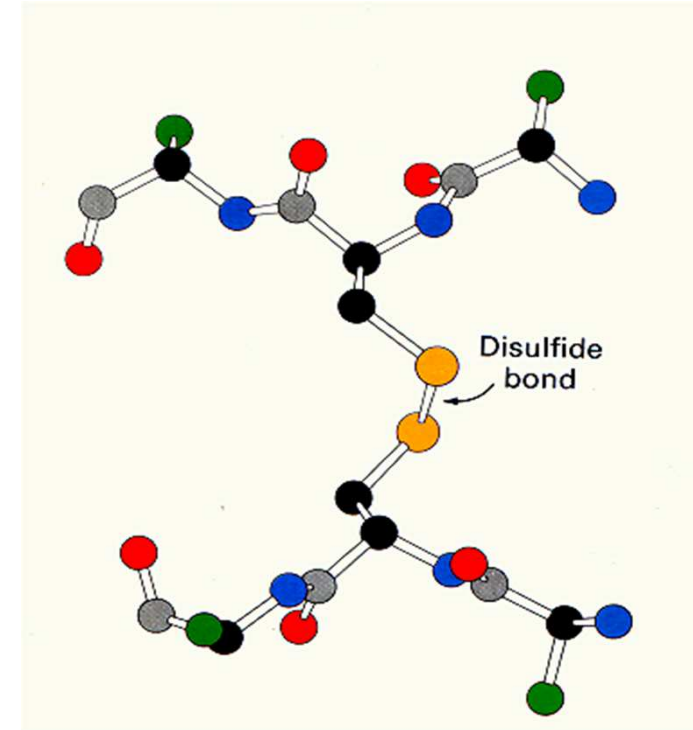
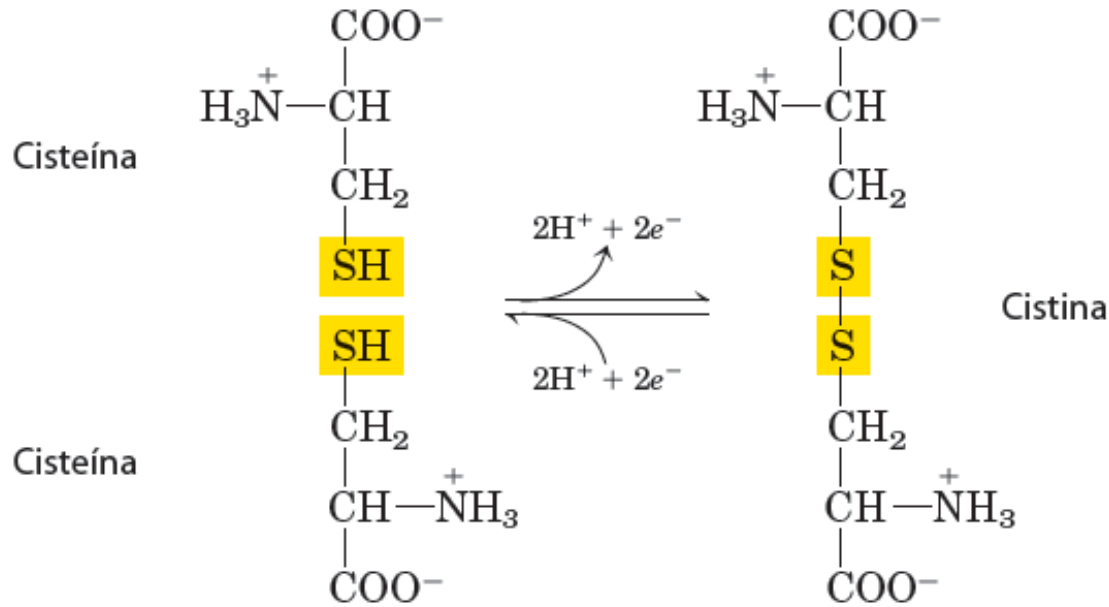
6-N-Metil-lisina



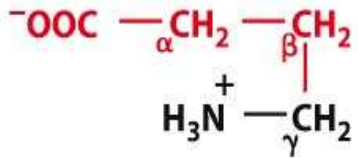
γ -Carboxiglutamato

Aminoácidos: Outras modificações

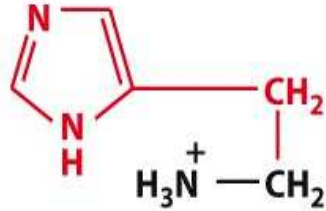
Fosforilação, Hidroxilação, Carboxilação,
Acetilação Glicosilação, Pontes Dissulfeto



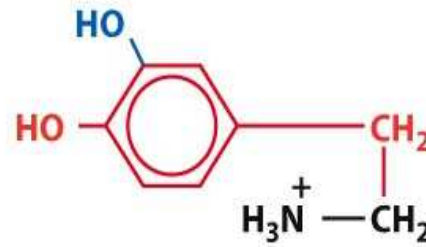
Aminoácidos: Derivados e variações



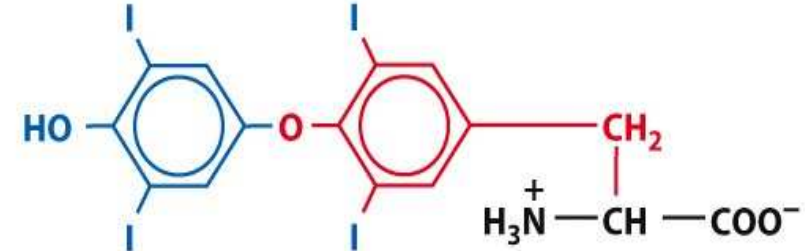
γ -Aminobutyric acid (GABA)



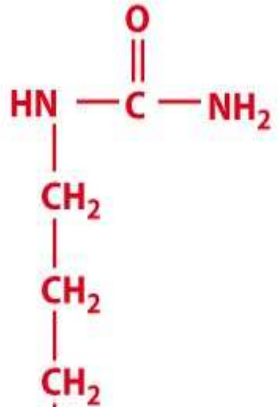
Histamine



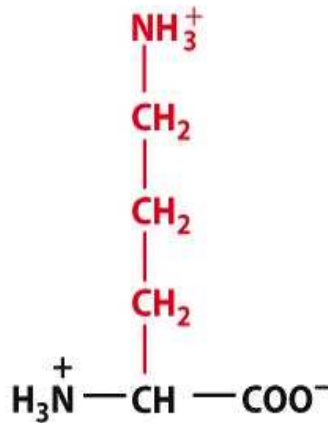
Dopamine



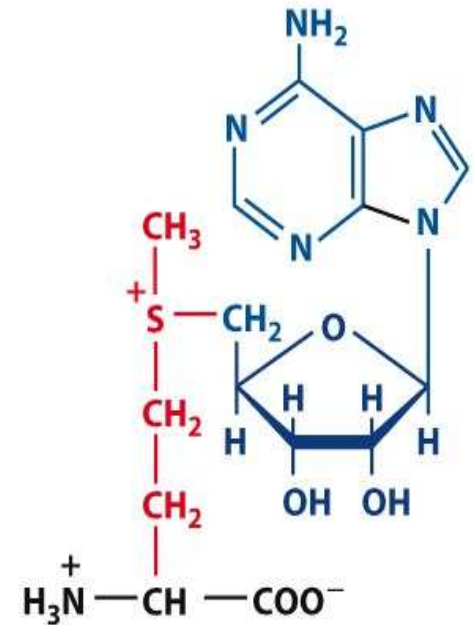
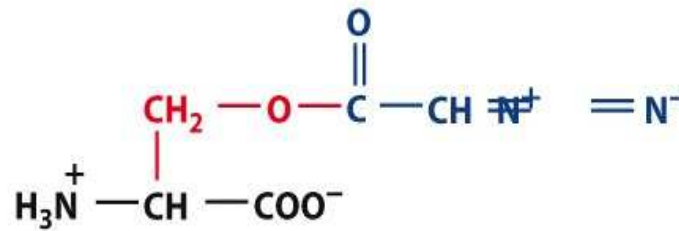
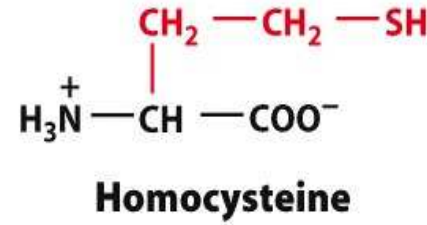
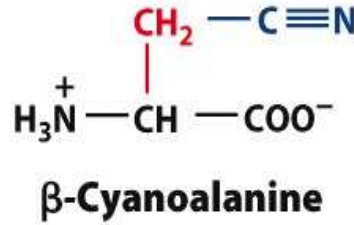
Thyroxine



Citrulline



Ornithine



S-Adosylmethionine

Aminoácidos moldam as propriedades das proteínas

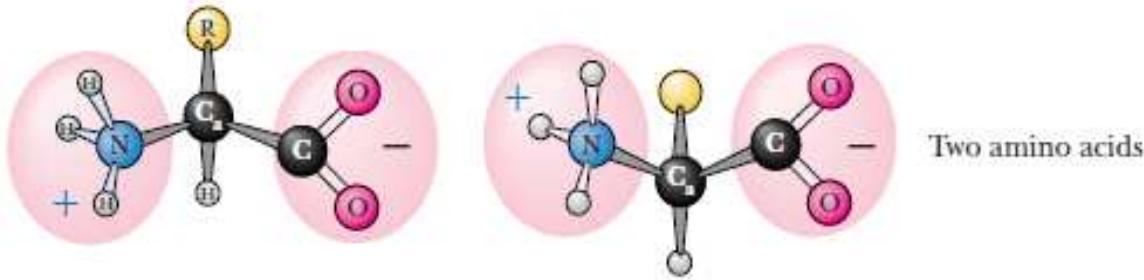
- **Diferentes cadeias laterais → tamanhos, formas, cargas;**
 - **Capacidade de preencher o interior da proteína;**
- **Capacidade de formação de estruturas secundárias;**
 - **Capacidade de ionização e reatividade química;**
 - **Capacidade de interação com íons;**
 - **Capacidade de formar ligações de Hidrogênio.**
 - **INTERAÇÃO COM A ÁGUA!!!!**

Observação

As funções das proteínas derivam da diversidade e versatilidade dos 20 aminoácidos naturais e suas variações

Polímeros de aminoácidos

Resultado da união do grupo α -carboxil no aminoácido n com o grupo α -amino do $n+1$



Ligação Peptídica

Equilíbrio: hidrólise

Resíduo \rightarrow Unidade Repetitiva

$\rightarrow t_{1/2} = 7$ anos em condições brandas

Nomenclatura:



\rightarrow Sequência de aminoácidos

XYZ # XZY

Peptídeos

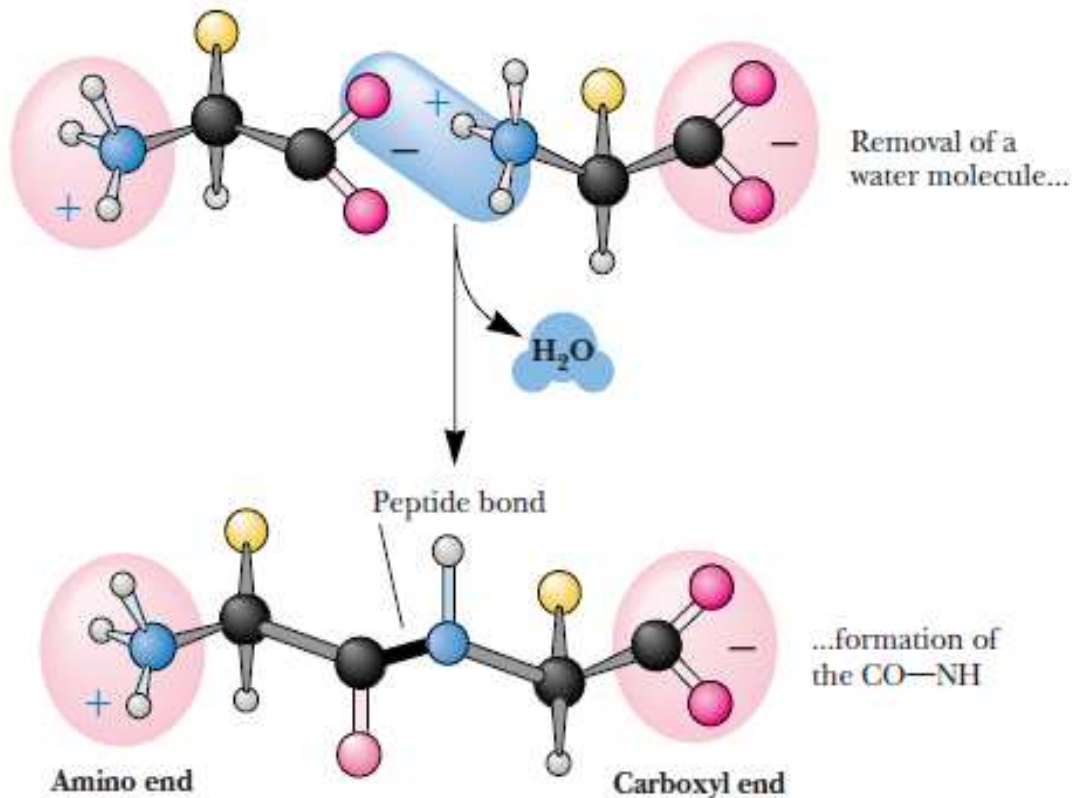
Composição variável de aminoácidos

Variação dependente de 20^n

n : número de aminoácidos no polímero

20^2 : 400 dipeptídeos com aa padrão

20^3 : 8000 tripeptídeos



Polímeros de aminoácidos

Peptídeos: < 50 aminoácidos → muitos com atividade biológica

Polipeptídios: >50 e <100 aminoácidos

Proteínas: *a priori* > 100 aminoácidos

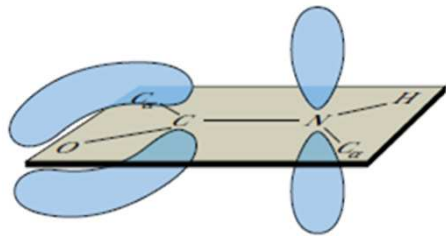
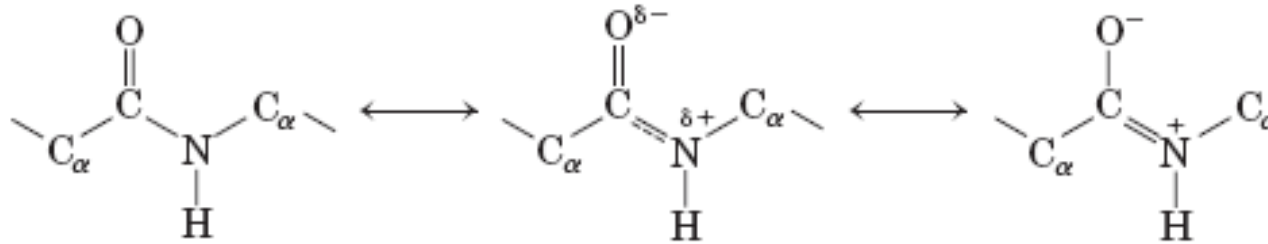
$n=100 \rightarrow 20^{100} = 1,27 \times 10^{130}$ proteínas diferentes de 100 aminoácidos padrão

	Massa molecular	Número de resíduos	Número de cadeias polipeptídicas
Citocromo <i>c</i> (humano)	12.400	104	1
Ribonuclease A (pâncreas bovino)	13.700	124	1
Lisozima (clara de ovo de galinha)	14.300	129	1
Mioglobina (coração de equinos)	16.700	153	1
Quimotripsina (pâncreas bovino)	25.200	241	3
Quimotripsinogênio (bovinos)	25.700	245	1
Hemoglobina (humana)	64.500	574	4
Albumina sérica (humana)	66.000	609	1
Hexocinase (levedura)	107.900	972	2
RNA-polimerase (<i>E. coli</i>)	450.000	4.158	5
Apolipoproteína B (humana)	513.000	4.536	1
Glutamina-sintetase (<i>E. coli</i>)	619.000	5.628	12
Titina (humana)	2.993.000	26.926	1

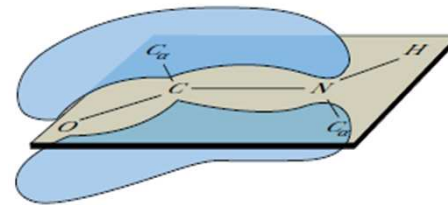
A Ligação Peptídica

É Rígida e Planar

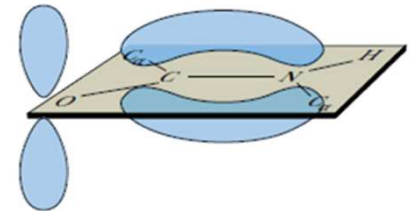
- Ressonância: Característica de ligação dupla



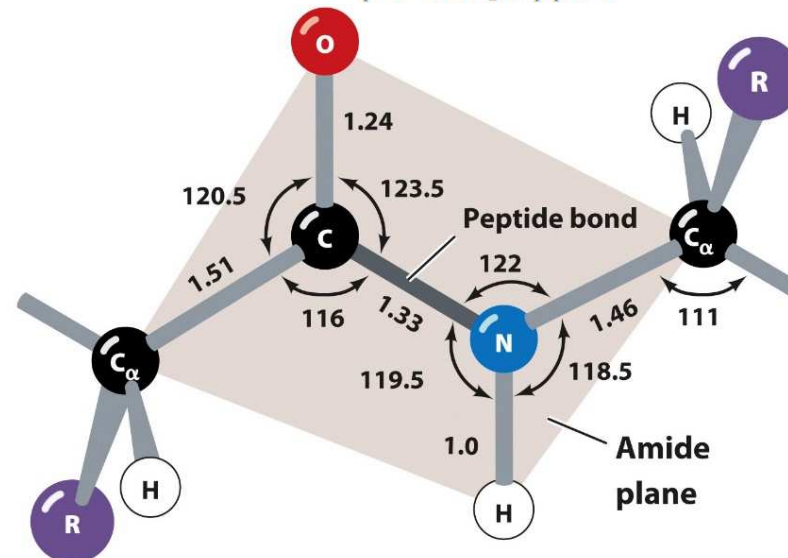
A pure double bond between C and O would permit free rotation around the C—N bond.



(c) The true electron density is intermediate. The barrier to C—N bond rotation of about 88 kJ/mol is enough to keep the amide group planar.



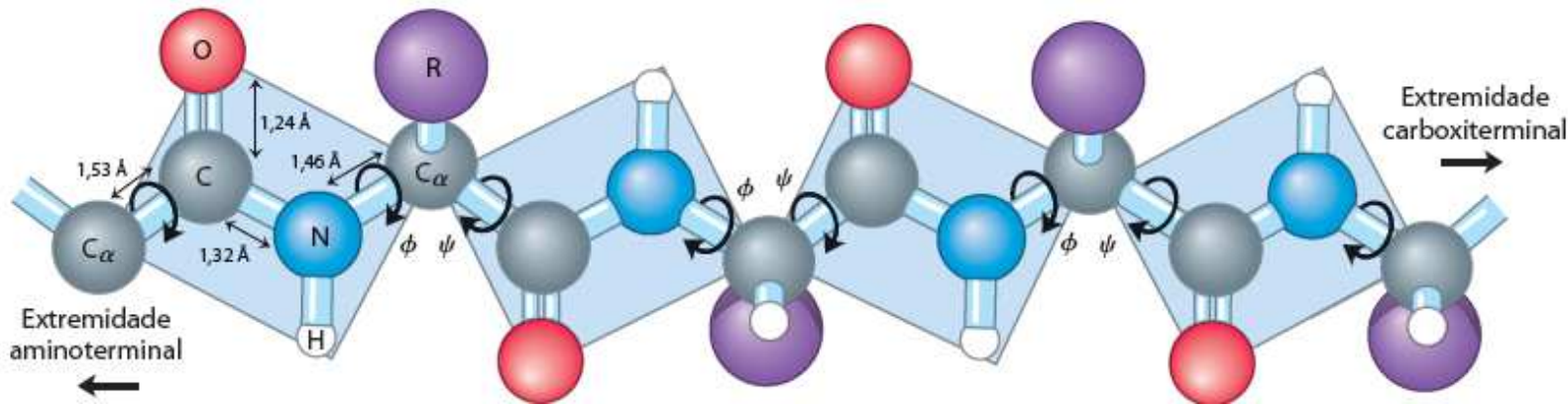
The other extreme would prohibit C—N bond rotation but would place too great a charge on O and N.



Ligação peptídica

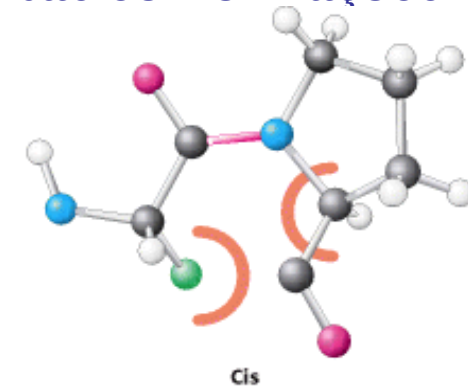
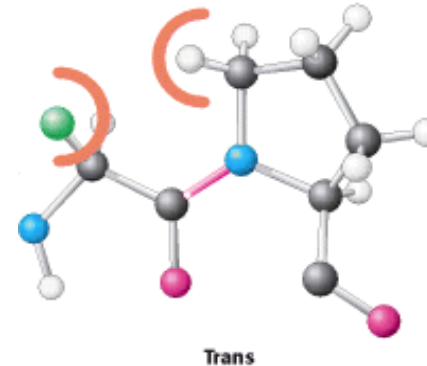
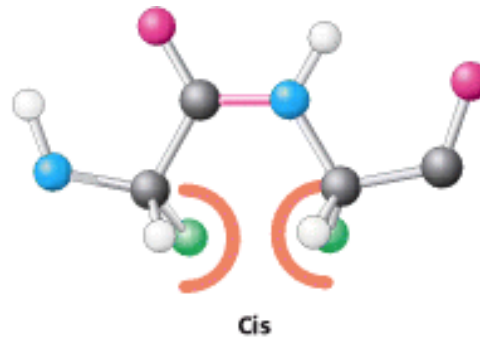
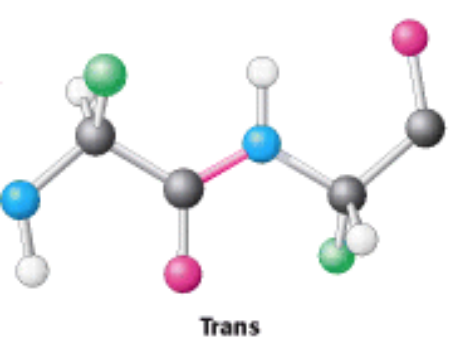
É Rígida e Planar

Restrição conformacional
angulação Phi e Psi →
Estrutura tridimensional



→ Conformação *Trans* é favorecida por reduzir choques estéricos entre os grupos R

- Exceto para a Prolina, choques ocorrem em ambas conformações



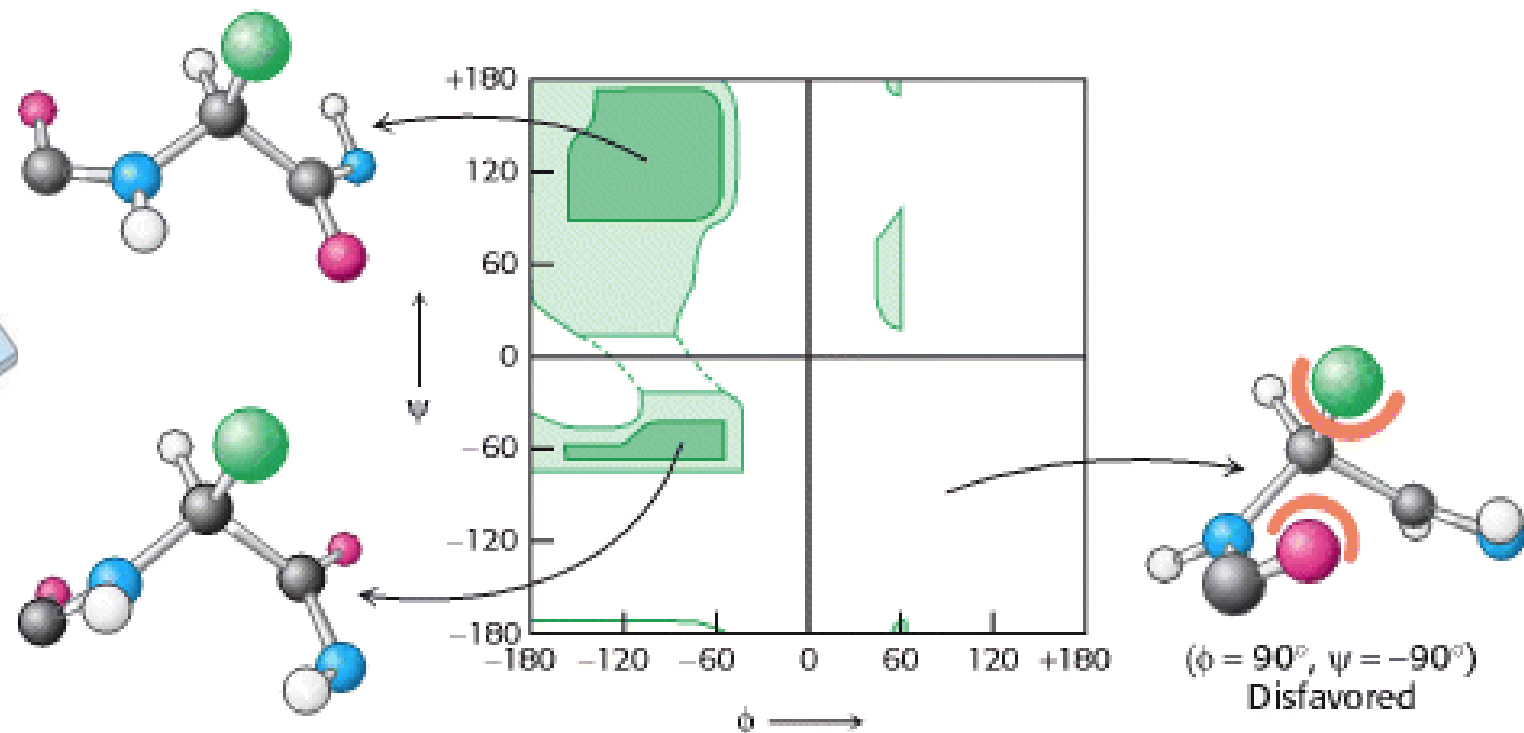
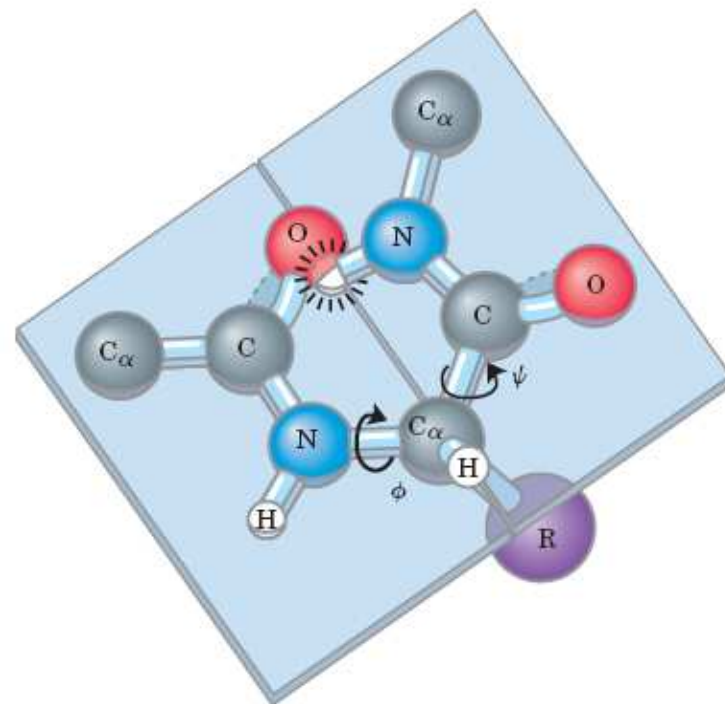
Ligação peptídica

Rigidez e Planaridade

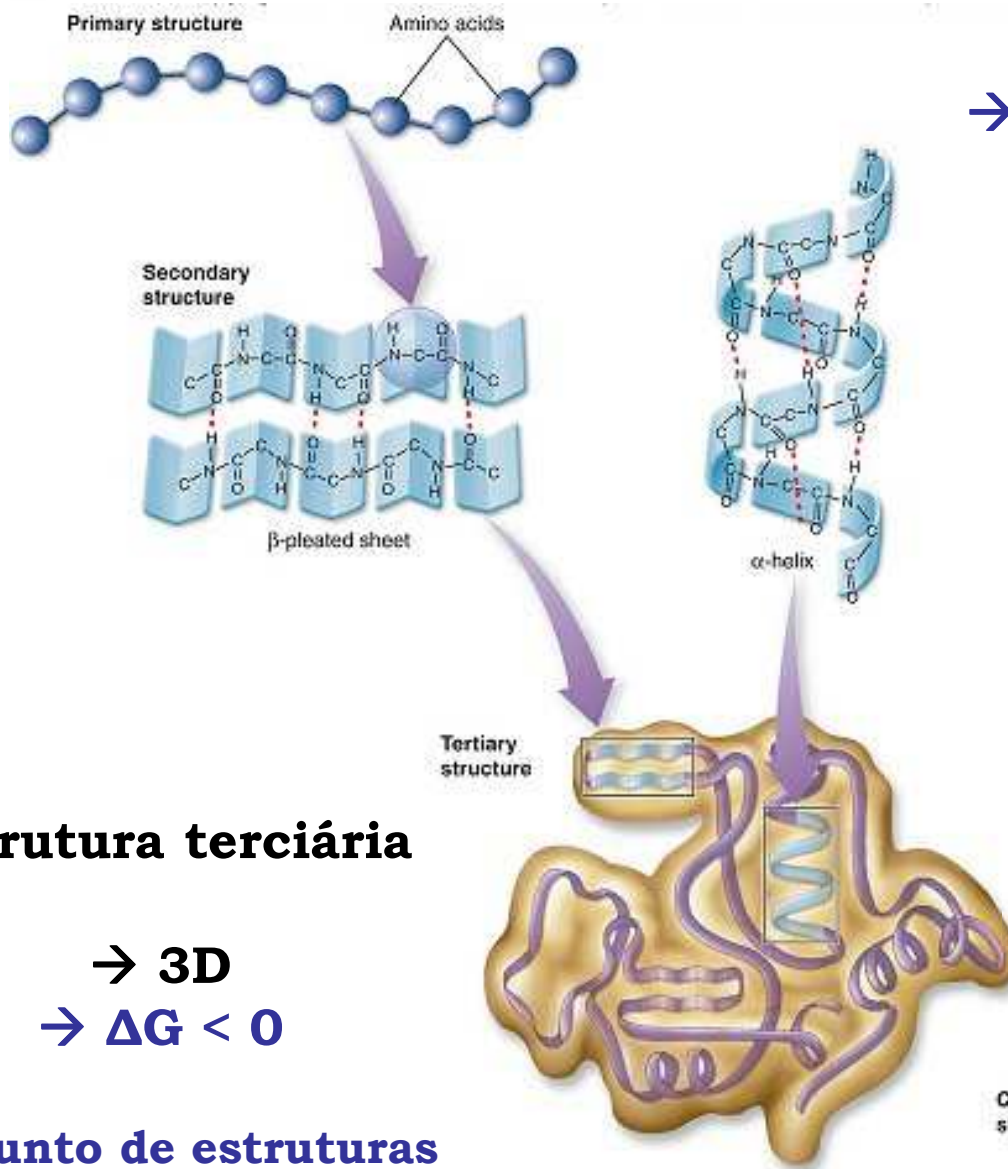
Ângulos Phi e Psi em 0° → Impedimento estérico devido à sobreposição entre:

- 1) Hidrogênio alfa-Amino do Aminoácido n e o Oxigênio alfa-carboxil $n + 1$
- 2) Grupos R

→ Diagrama de Ramachandram
Mostra os ângulos Φ e Ψ permitidos



Proteínas: Níveis estruturais



Estrutura Primária
→ sequencia de aminoácidos

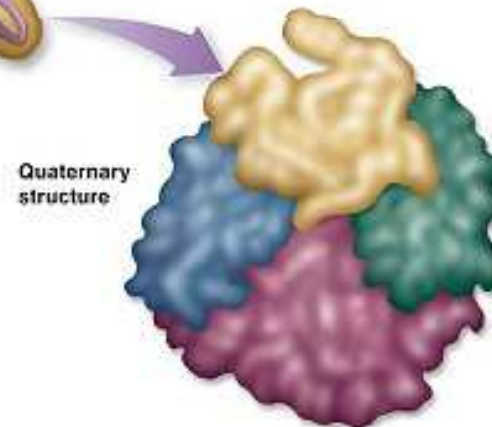
Estrutura Secundária
→ Hélice- α
→ Folhas- β
→ Outras

Estrutura nativa = Funcional
→ Estrutura 3D → Existem exceções
→ Proteínas naturalmente desoveladas
→ Regiões desprovidas de estrutura organizada

Estrutura terciária

→ 3D
→ $\Delta G < 0$

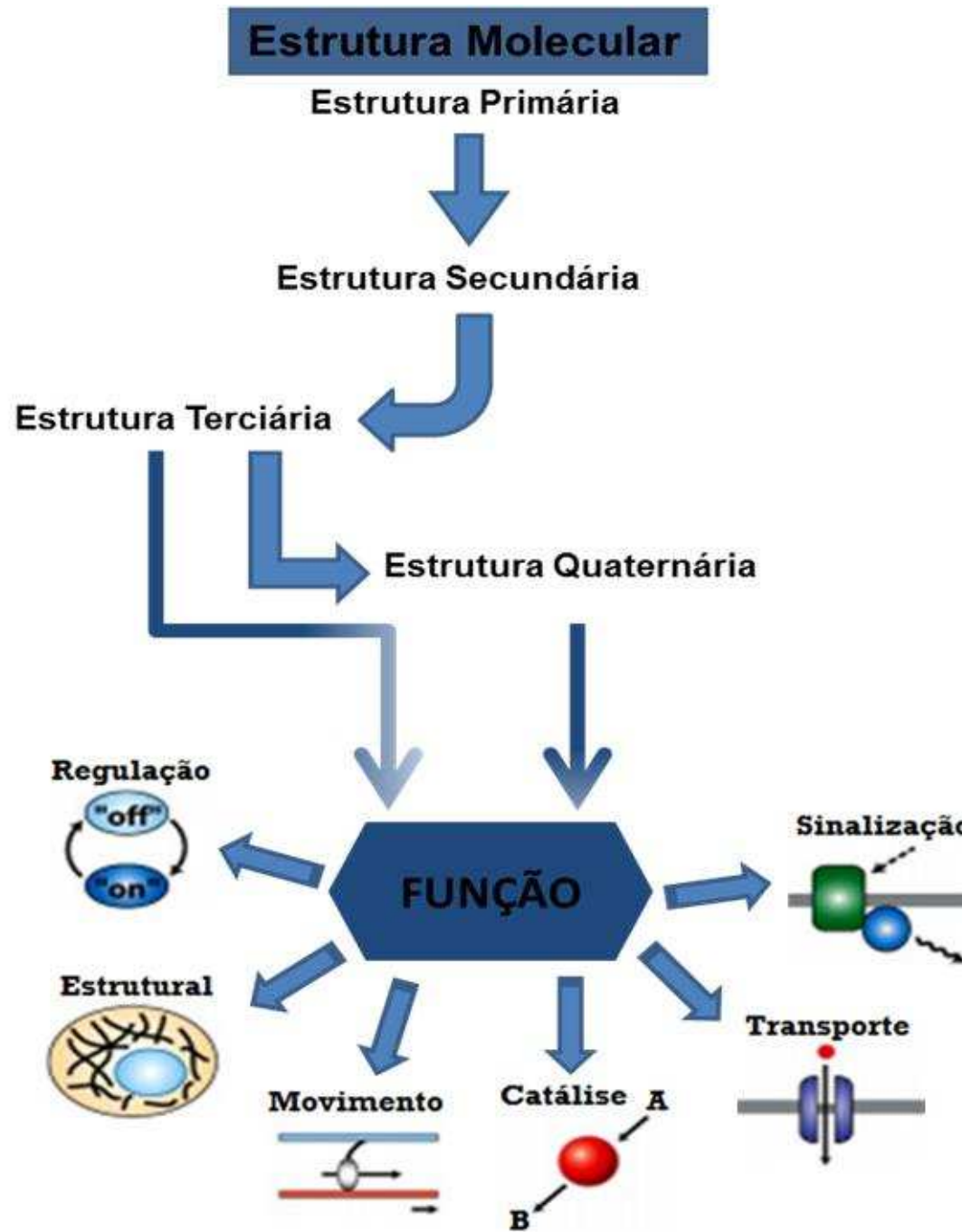
Conjunto de estruturas em conformações termodinamicamente similares



Quaternary structure

Estrutura Quaternária
Protômeros

Proteínas: Níveis estruturais



Proteínas: Níveis estruturais

quaternary structure

tertiary structure

secondary structure

α -helix

β -sheet

primary structure

Tyr-Lys- Ala-Ala-Val-Asp-Leu-Ser-His-Phe-Leu-Lys-Glu-Lys
Asp-Trp-Trp-Glu-Ala-Arg-Ser-Leu-Thr-Thr-Gly-Glu-Thr-Gly-Tyr-Pro-Ser



Linus Pauling
1901-1994

Robert Corey
1897-1971



Hélice α

→ Estrutura helicoidal à direita

Hélice com giro para a esquerda



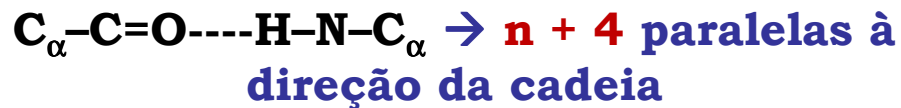
L-aa

Hélice com giro para a direita



D-aa

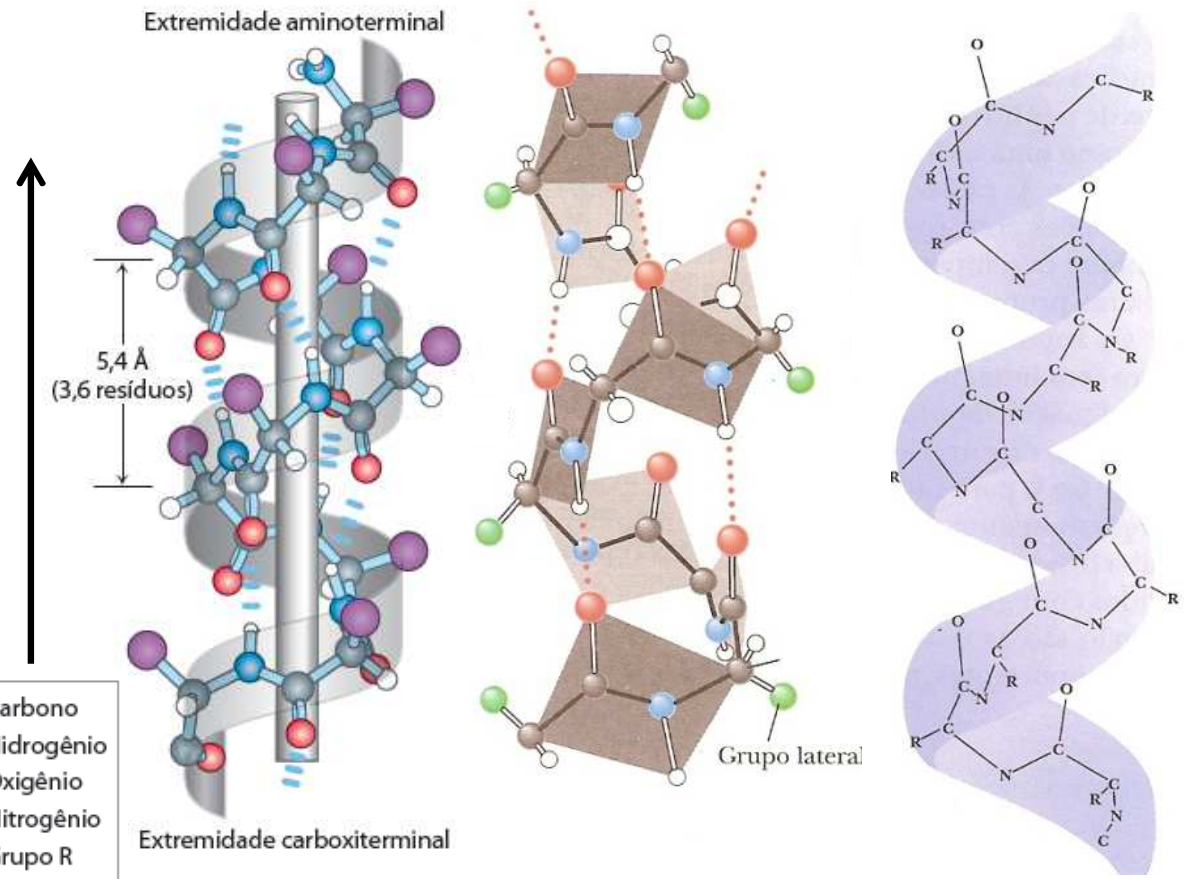
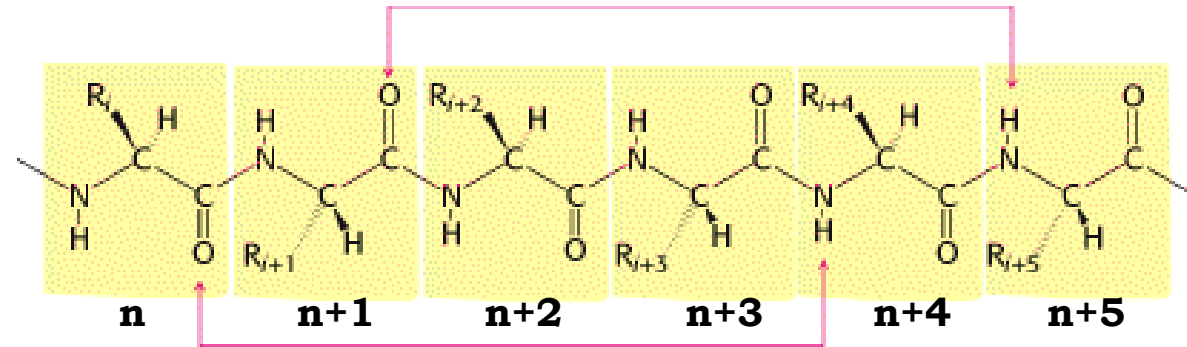
→ Estabilização por ligações de H entre AA próximos



→ Distância entre resíduos adjacentes = 1,5 Å

→ Rotação de 100° entre AA adjacentes = 3,6 resíduos por volta = passo

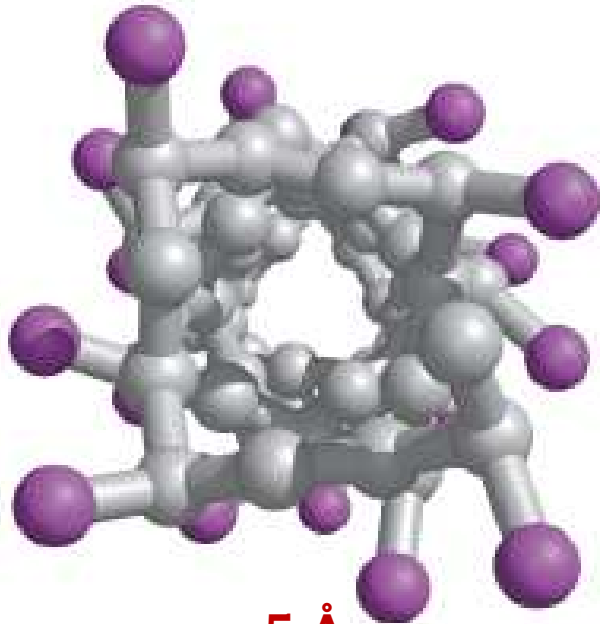
→ 1 Passo = 5,4 Å



Hélice α

Interações entre cadeias laterais adjacentes podem estabilizar ou desestabilizar a Hélice α

→ Gly e Pro não participam por flexibilidade e rigidez, respectivamente



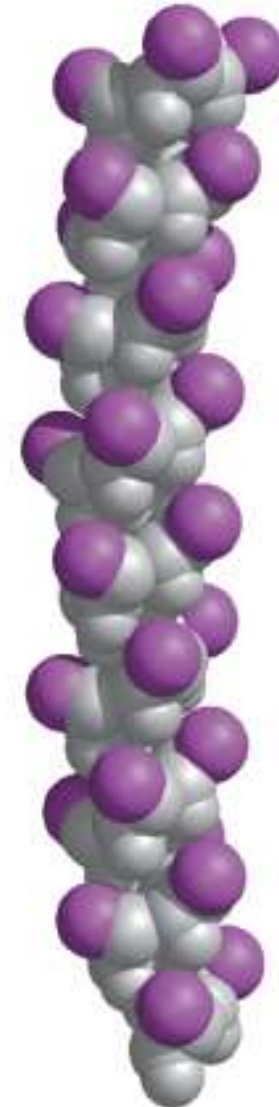
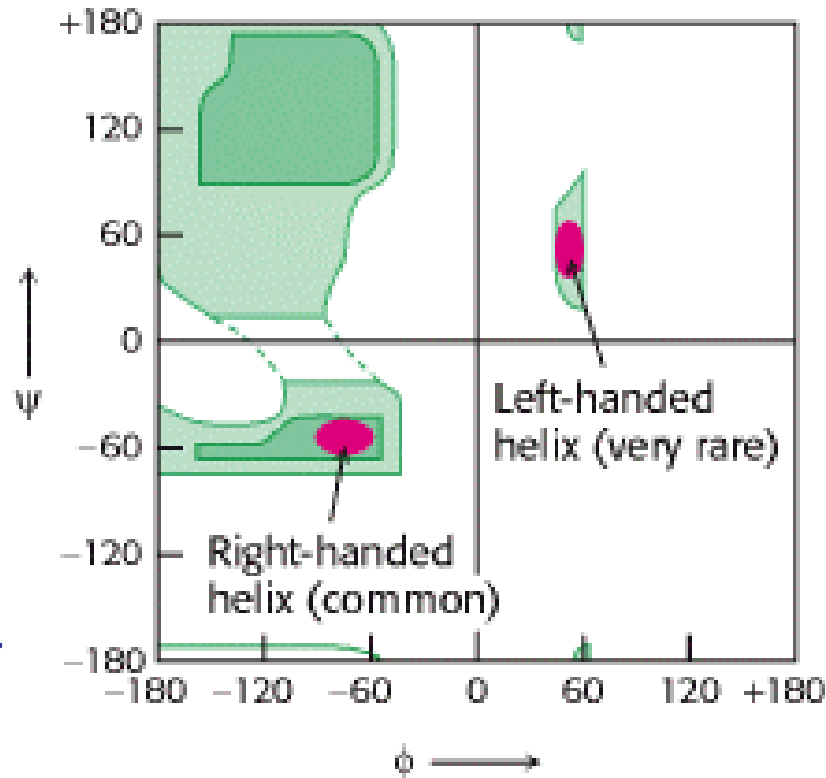
5 Å

Predileção de aminoácidos

Depende das características da cadeia lateral e volume de aminoácidos adjacentes

→ Plot de Ramachandram de Hélice α

- Angulação Phi e Psi característicos

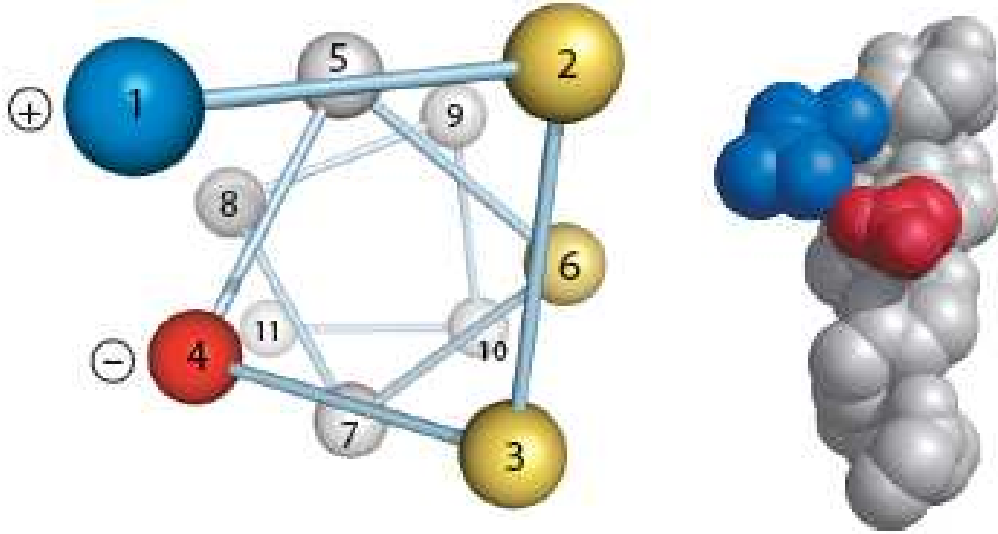


Torção de hélice

Favorece interações produtivas nas faces da hélice

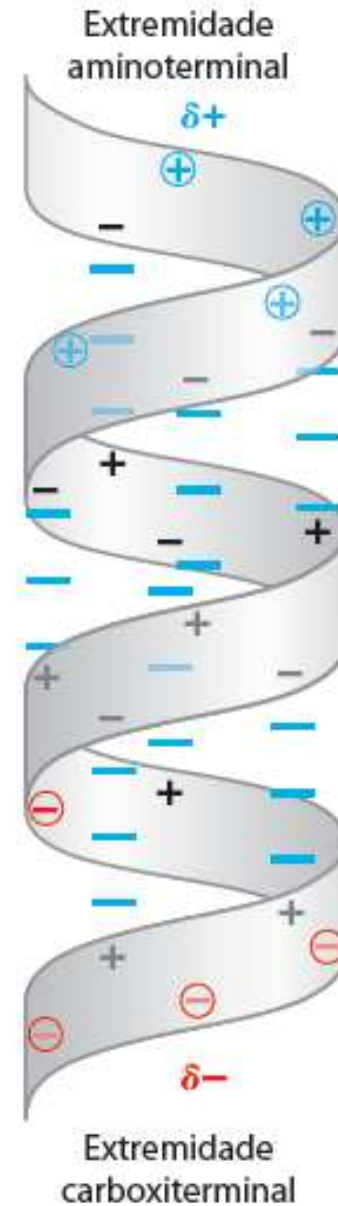
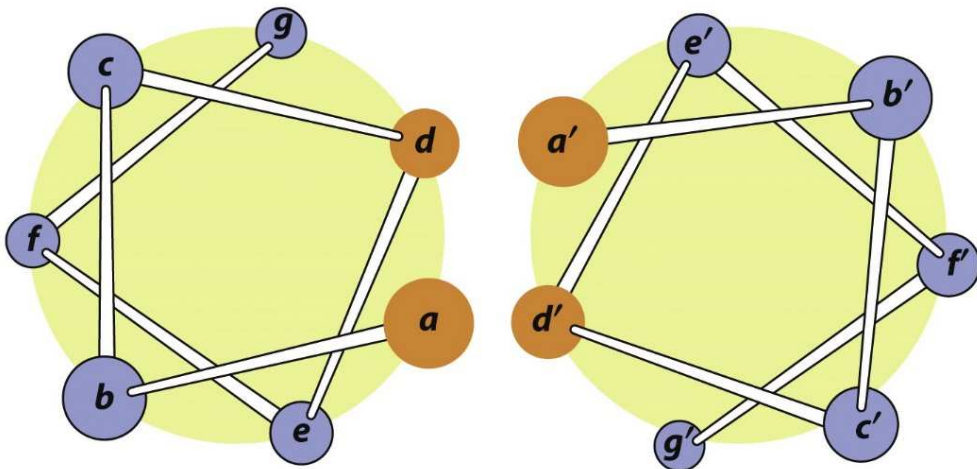
Hélice α

Interações entre cadeias laterais adjacentes podem estabilizar ou desestabilizar a Hélice α



Hélice α e suas faces

Volume e carga dos aminoácidos na faces adjacentes (a cada 3-4 aminoácidos) afetam a estabilidade



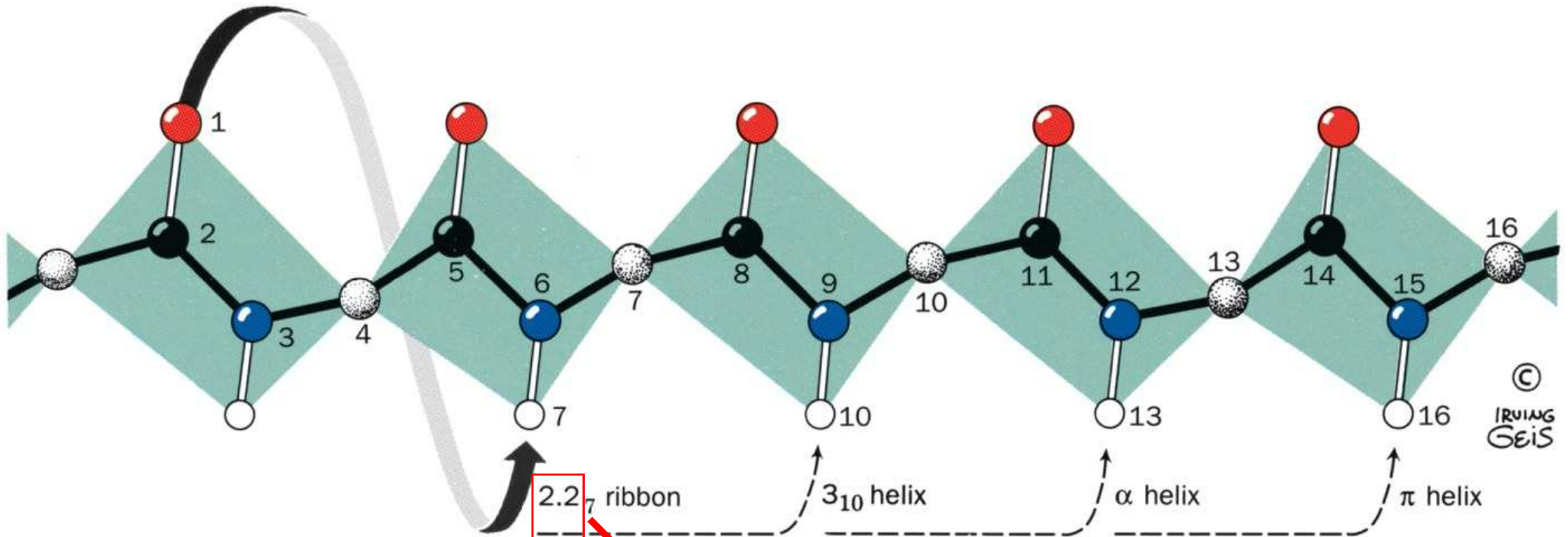
Momento dipolo da Hélice α

As extremidades da hélice não realiza ligações de H

→ Podem ser estabilizadas por Aminoácidos de carga oposta

Hélice α

Padrão de Ligações de H em hélices polipeptídicas



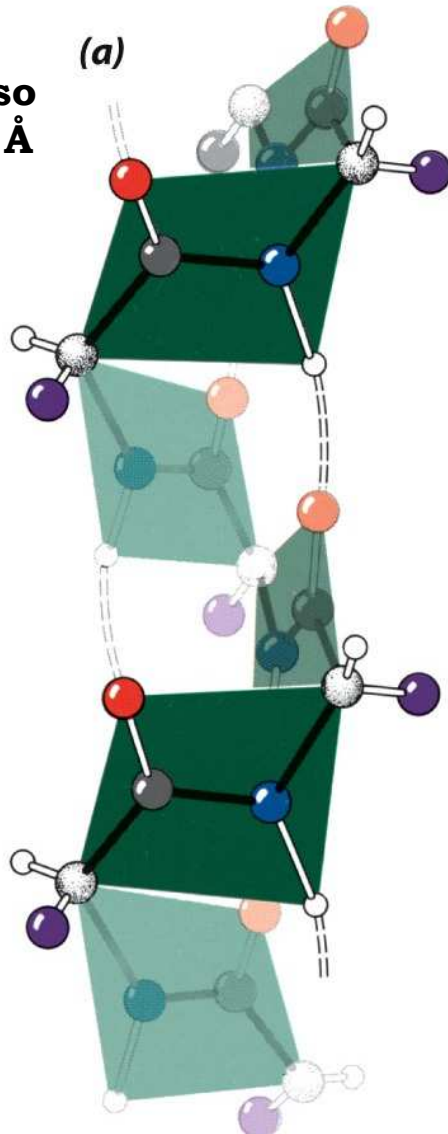
Nº de átomos conectados pela volta completa

Nº de resíduos envolvidos na volta completa

Hélice α

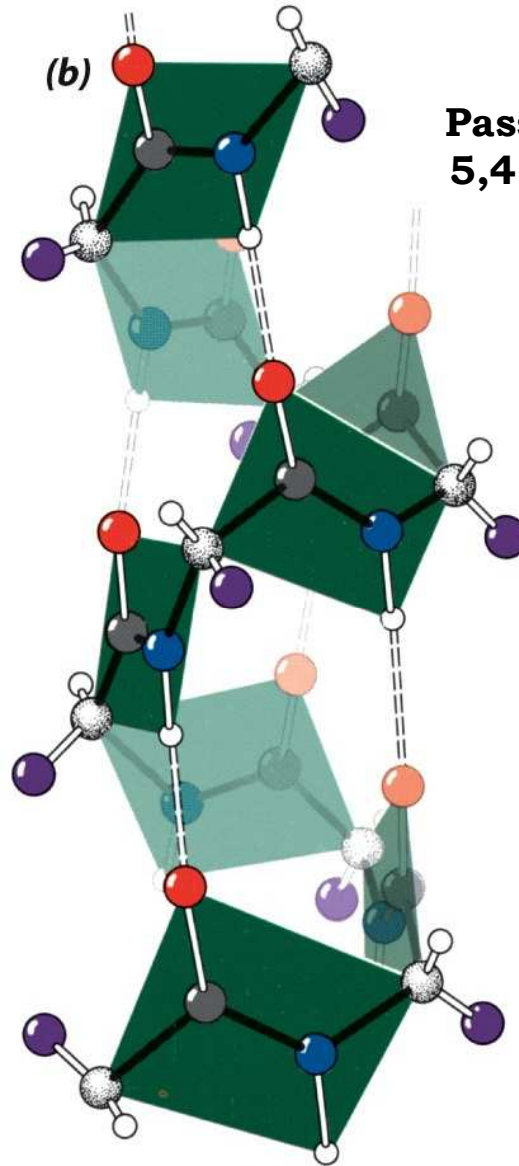
Padrão de Ligações de H em hélices polipeptídicas

Passo
6,0 Å



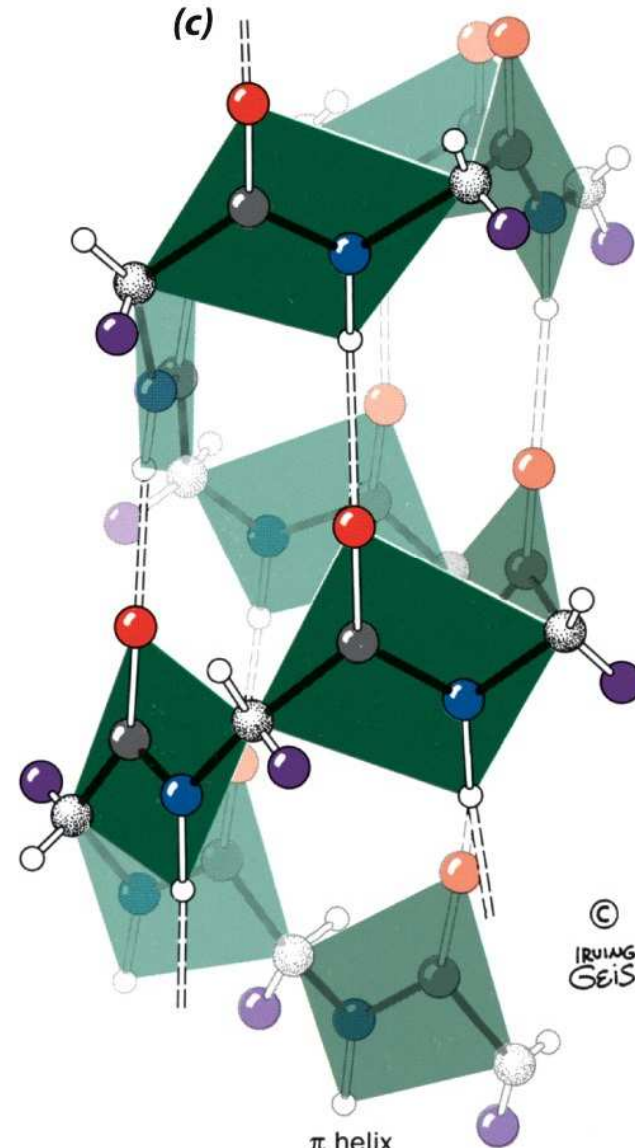
3_{10} helix

Passo
5,4 Å



α helix

Passo
5,2 Å



π helix

©
IRUIANG
GEIS

Folha β -pregueada

→ Estrutura estendida em ziguezague

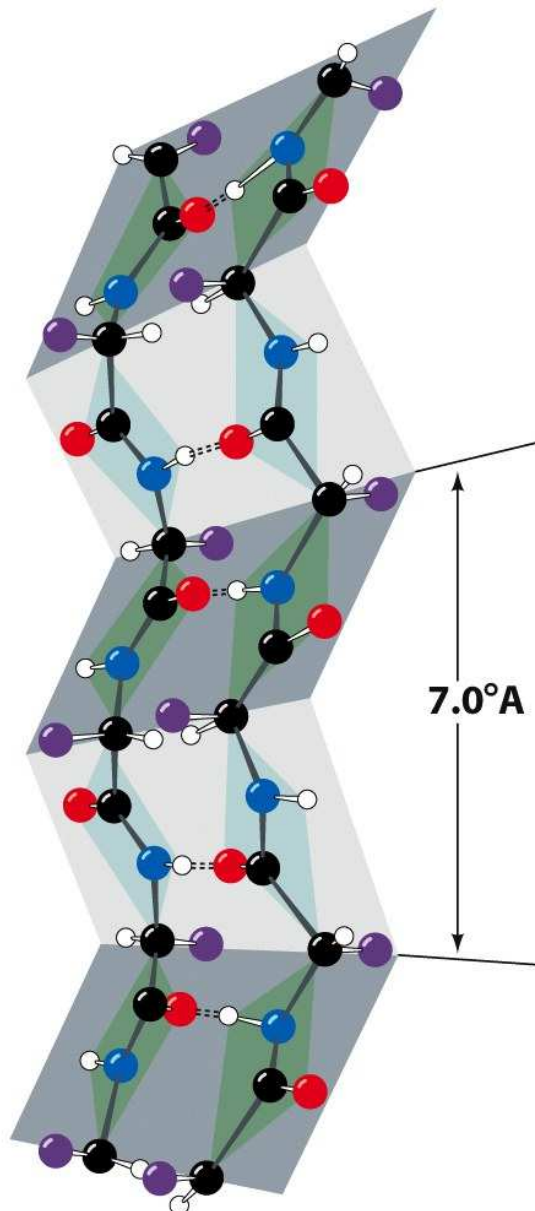
→ Estabilizada por ligações de H pela $C_{\alpha}-C=O$ e $H-N-C_{\alpha}$ da cadeia principal de AA distantes na sequência de aminoácidos

→ Requer segmento adjacente para formação das ligações de H

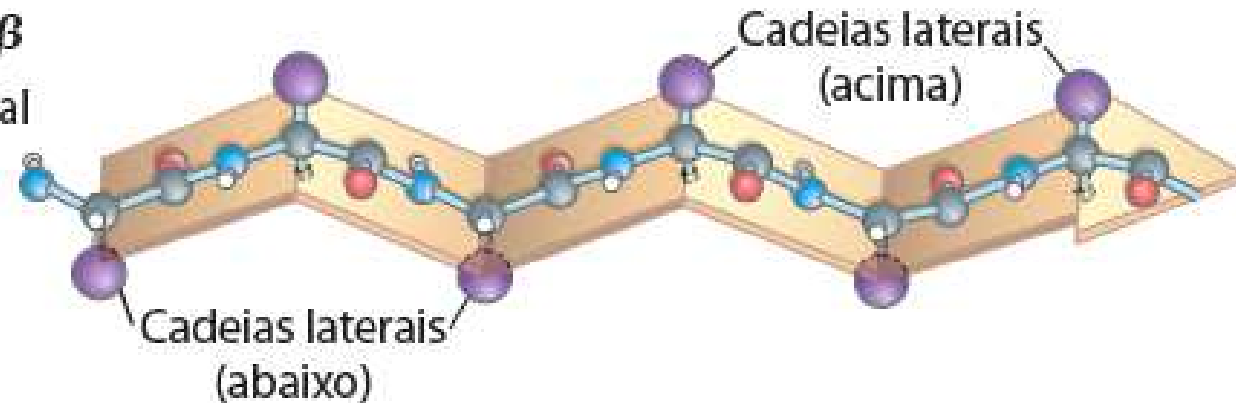
→ Distância entre os Carbono alfa de AA adjacentes de 3,5 Å

→ Ligações de H perpendiculares à direção da cadeia

→ Cadeia lateral se projetam da estrutura em ziguezague



(a) Folha β
Visão lateral



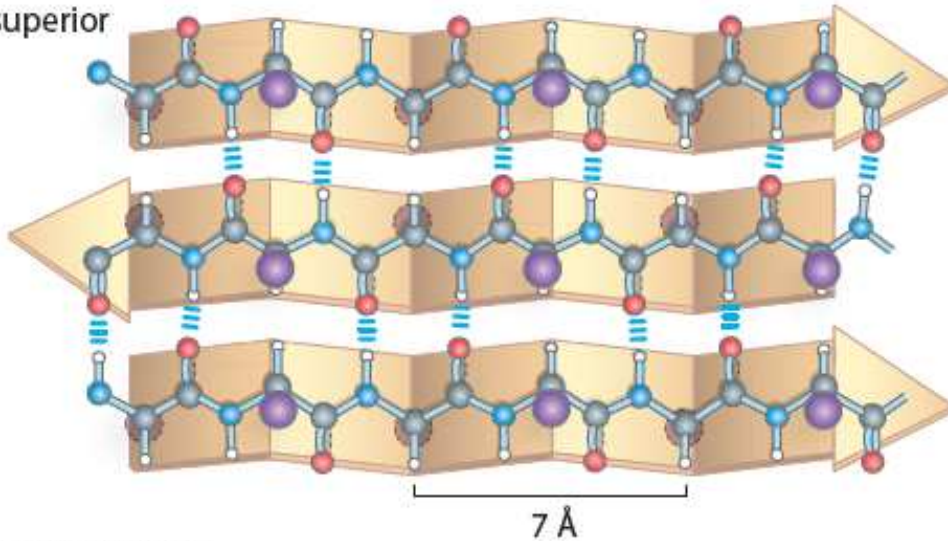
Estrutura distendida da cadeia peptídica em folha beta

Folha β -pregueada

→ 2 tipos com diferenças estruturais e padrão de formação de ligação de H

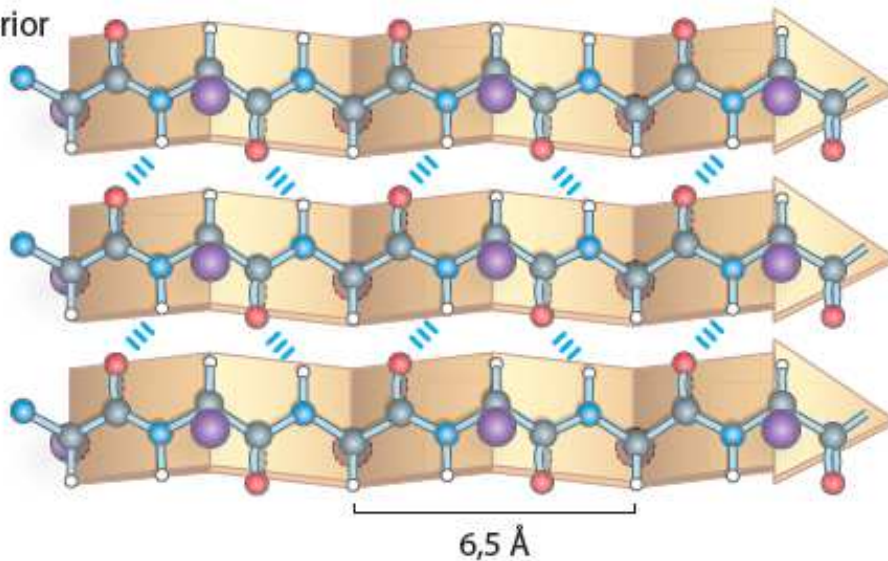
(b) Folha β antiparalela

Visão superior

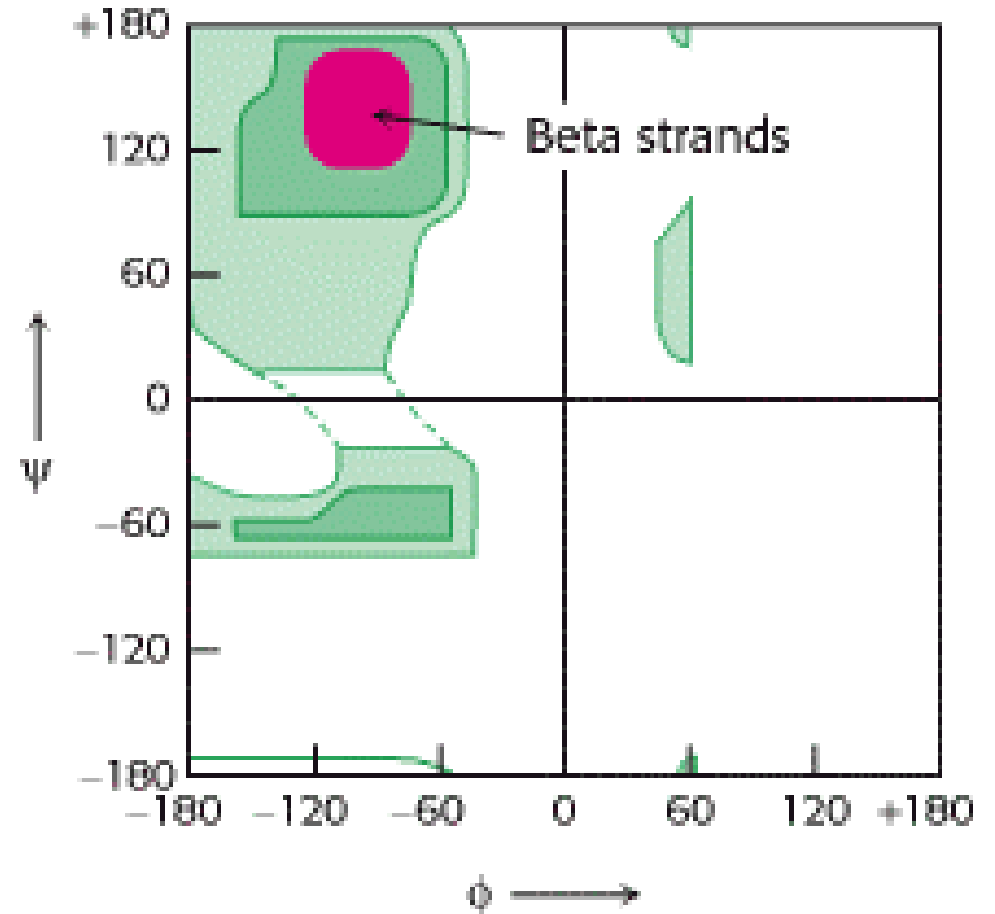


(c) Folha β paralela

Visão superior



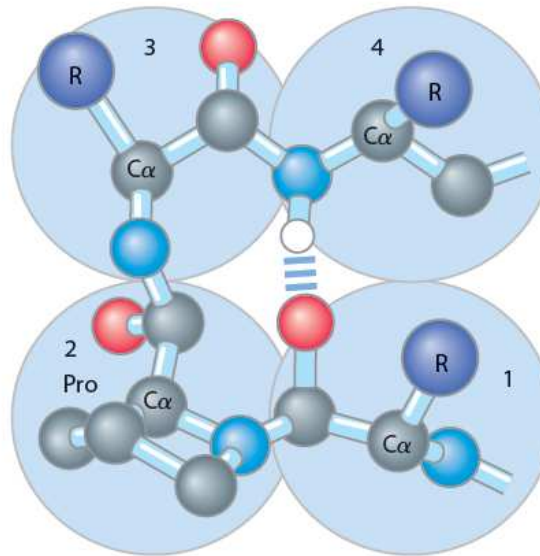
→ Plot de Ramachandram de Folha Beta
- Angulação Phi e Psi mais ampla



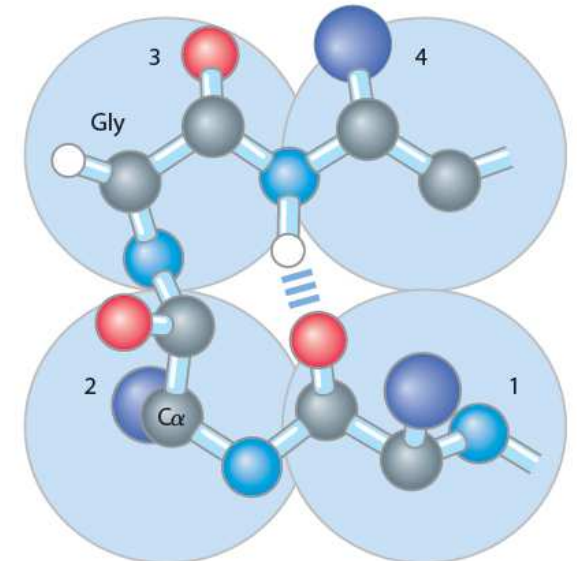
Voltas

→ Conectam os segmentos de Hélices Alfa e Folhas beta

→ Mudam a direção da cadeia



Volta β tipo I

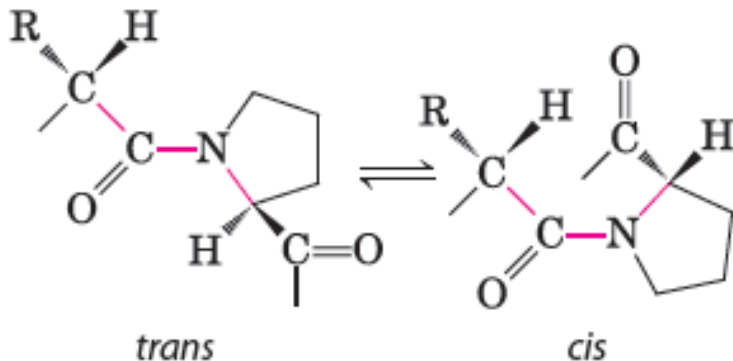


Volta β tipo II

São estruturas estabilizadas por ligações de H entre os grupos C_{α} - $C=O$ e $H-N-C_{\alpha}$ da cadeia principal do AA n e $n + 3$.

Pro: anel rígido e assume conformação *Cis* → comum no tipo I

Gly: pequeno e flexível → comum no tipo II



trans

cis

Isômeros de prolina

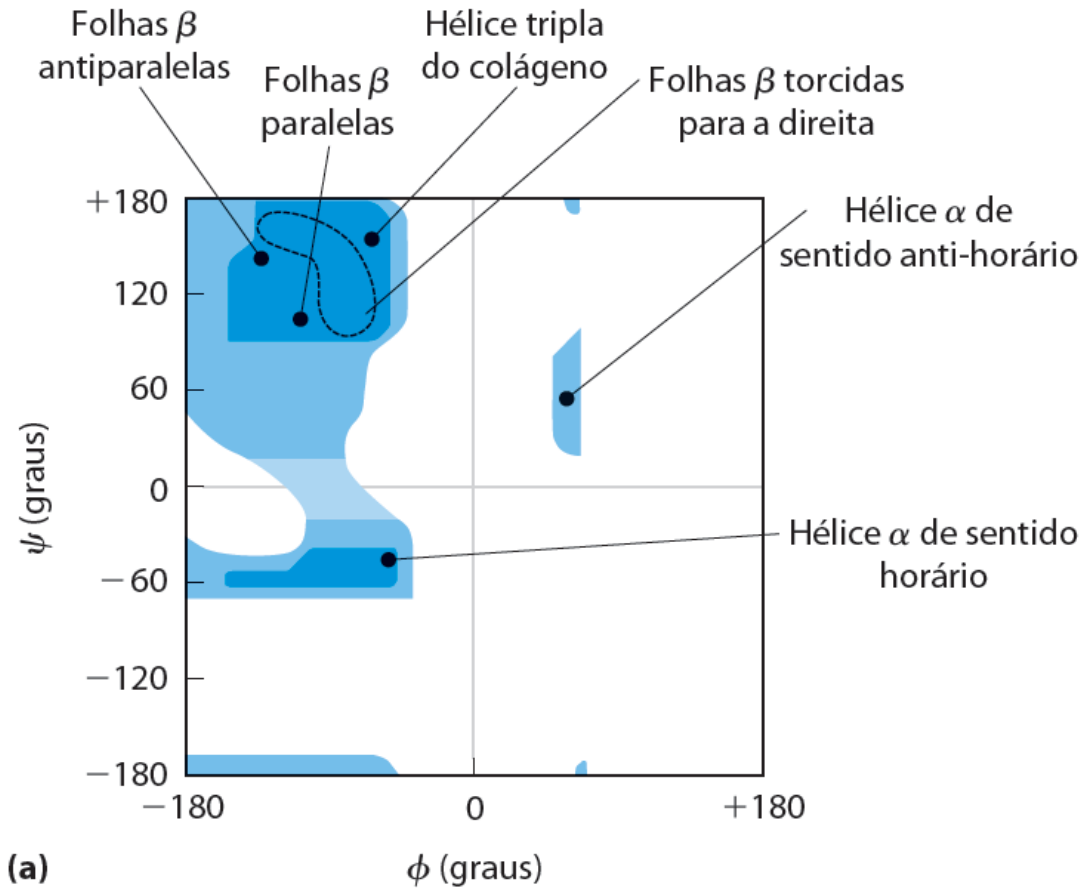
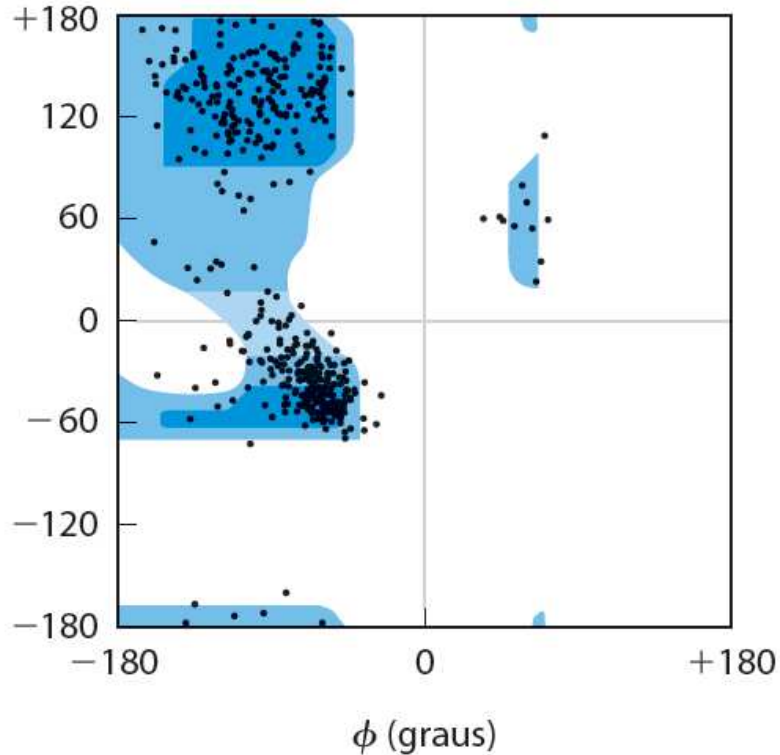
Alças

São segmentos maiores de 8 a 16 resíduos de AA com estrutura variável

Estrutura Secundária

→ Diagrama de Ramachandram dos diferentes tipos de Estruturas secundárias

→ Permite analisar a estereoquímica de modelos 3D de proteínas



→ Diagrama de Ramachandram da Piruvato Kinase

- Cada ponto representa 1 resíduo (Exceto Gly)

→ Ferramenta de análise da qualidade de estruturas de proteínas

Estrutura Secundária

Preferência relativa de estrutura Secundária pelos diferentes AA

→ Depende da seqüência de AA – estrutura primária

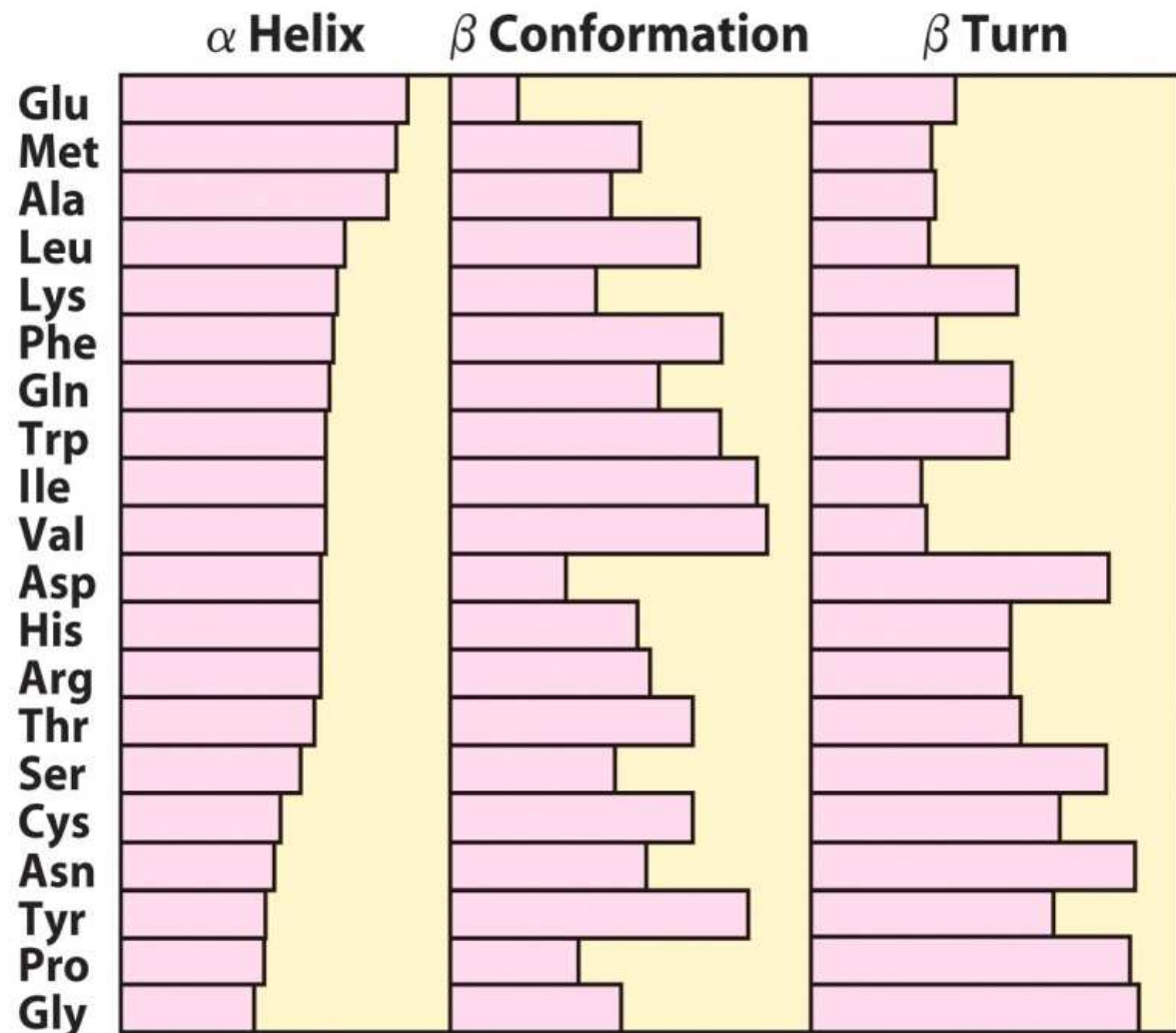
→ É possível predizer a estrutura secundária de uma seqüência por Bioinformática

Preferência relativa dos
diferentes aminoácidos em
assumir estrutura
secundária tipo:

Hélice α

Folha β

Voltas β



Estrutura terciária

Relacionamento espacial entre todos os aminoácidos de um polipeptídeo

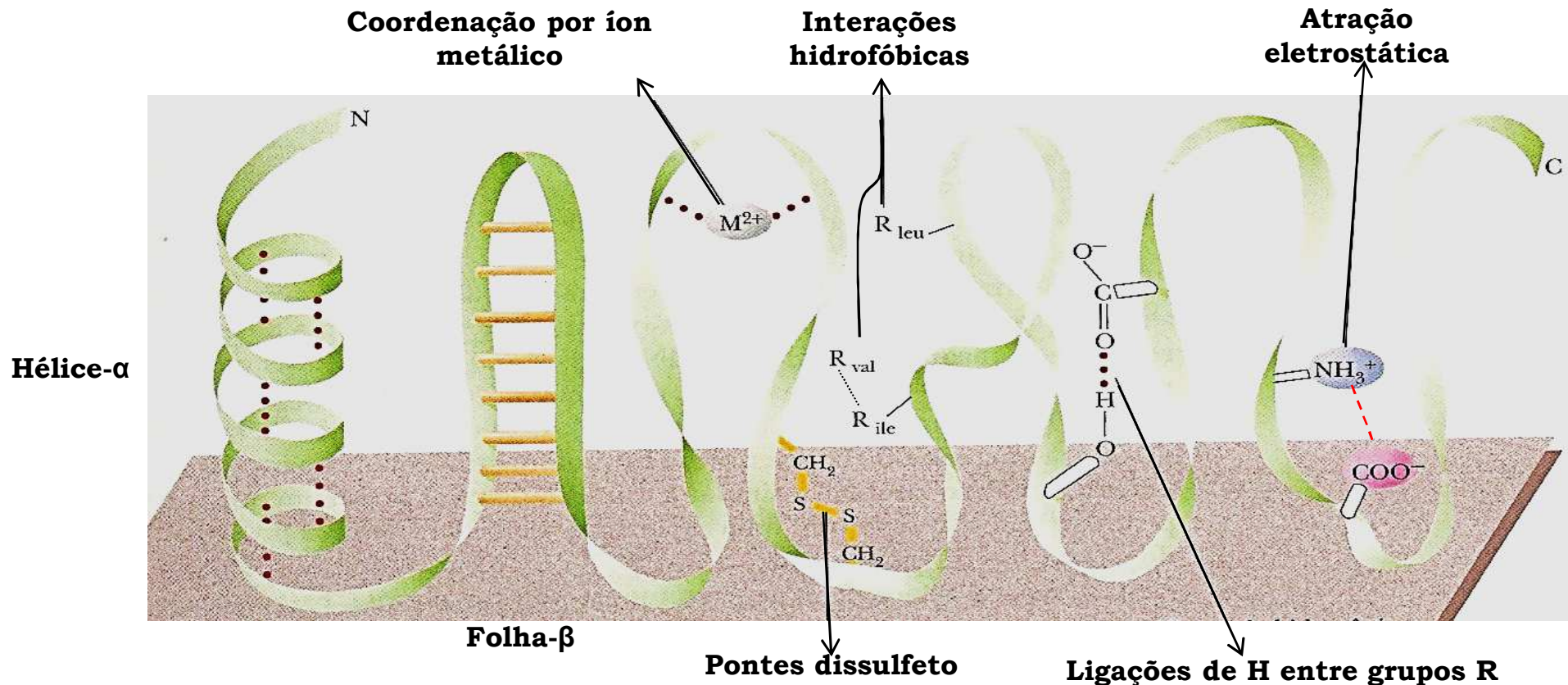
→ Representada pela Estrutura tridimensional (3D)

→ Depende do balanço geral das interações não-covalentes

→ Estabilizada por interações diversas entre as cadeias laterais e pontes dissulfeto

→ Ligações de H têm pequena contribuição → devido à competição com a água

- Especificam a estrutura secundária



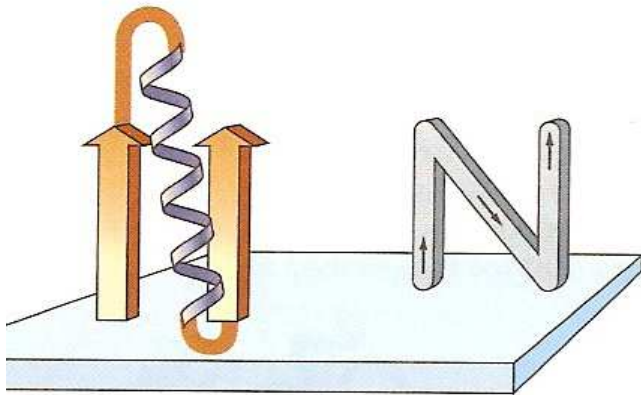
Motivos estruturais

Estrutura Supersecundária

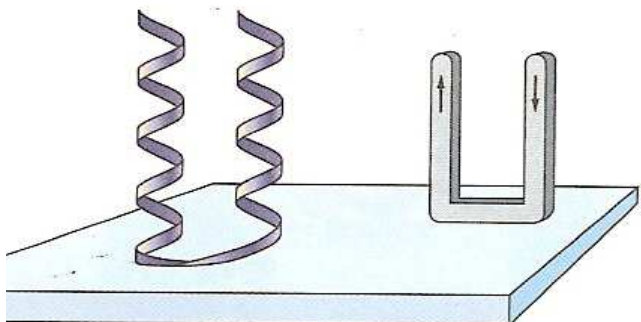
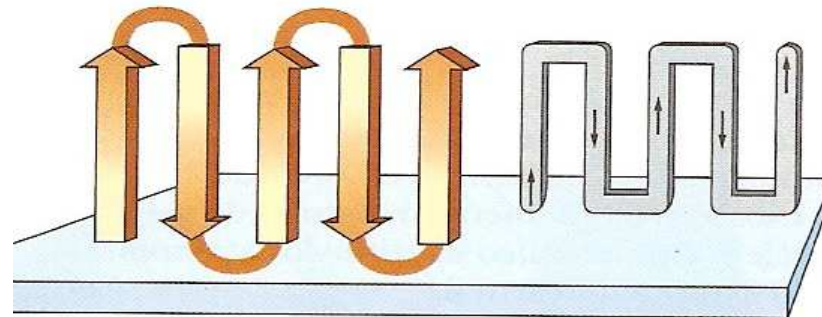
Combinações entre diferentes arranjos de estrutura secundária

- Formam padrões comuns/recorrentes de enovelamento:
- Formam domínios característicos de famílias de proteínas

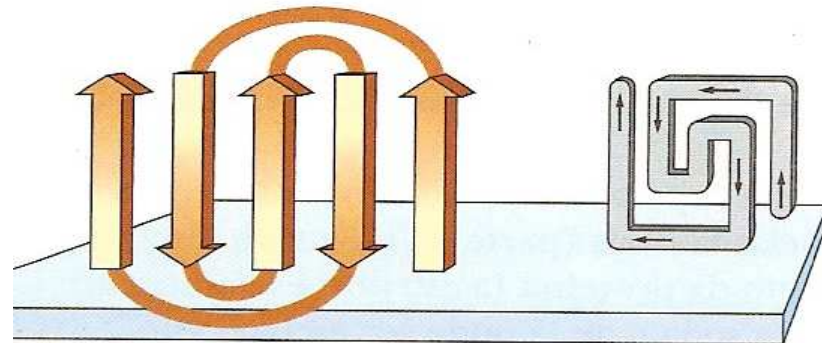
Unidade $\beta\alpha\beta$



Meandro β



Unidade alfa-alfa



Chave grega

(Barril β)

Domínios

- Estruturas autônomas funcionalmente;
- Consistem em combinações de motivos;
- Proteínas pequenas tem 1 domínio: é a própria proteína;
- Varia de 25 a 300 resíduos de aminoácidos;
- Proteínas com mais de 200 resíduos → multidomínios;
- Geralmente conectados por loops, dobradiças ou segmentos flexíveis ou por interações fracas;
- Conservação de domínios: famílias de proteínas.

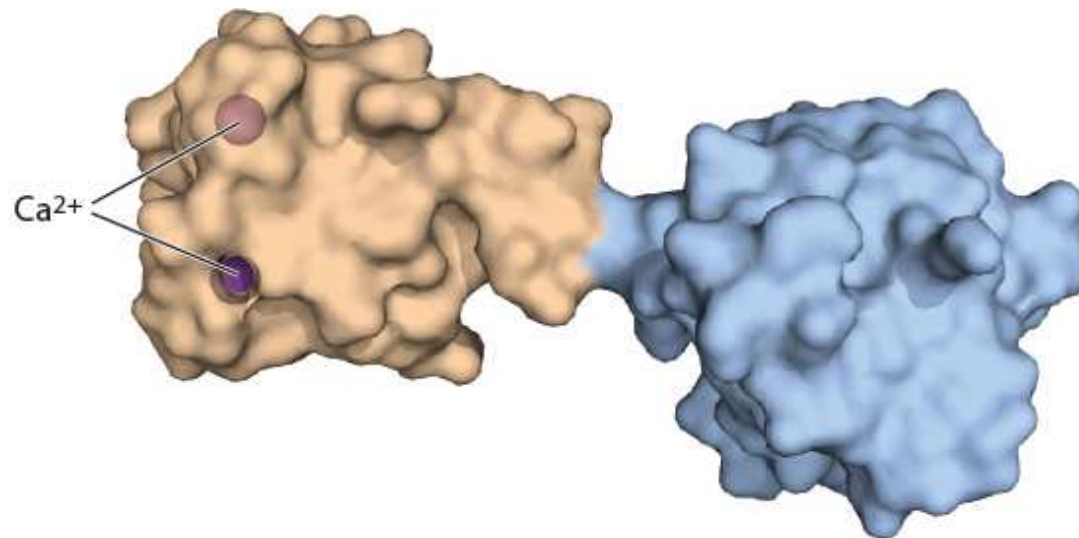
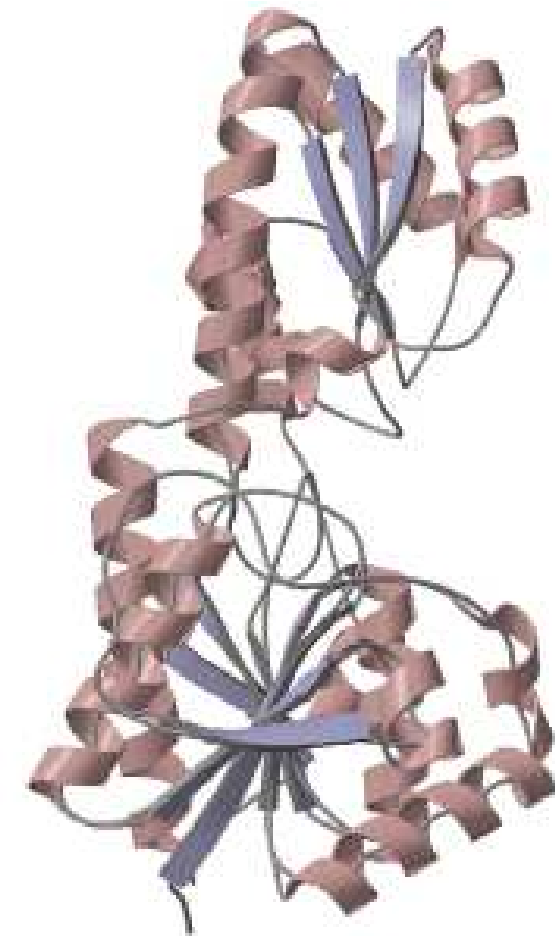


FIGURA 4-19 Domínios estruturais do polipeptídeo troponina C.



■	1PFK
■	Fosfofrutocinase
■	Fosfofrutocinase
■	Fosfofrutocinase
■	Fosfofrutocinase
■	ATP-dependente
■	<i>Escherichia coli</i>

Relação Estrutura – Função Biológica

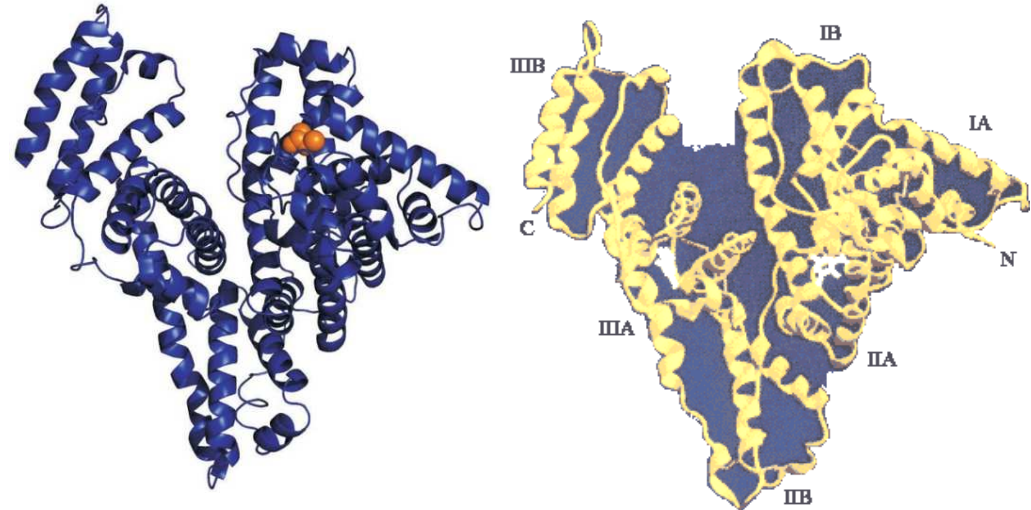
Ausência de estrutura nativa → Ausência de função

BSA: ~600 AA

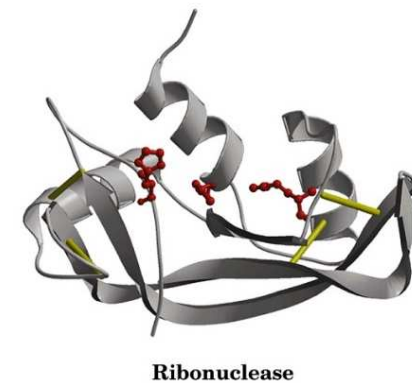
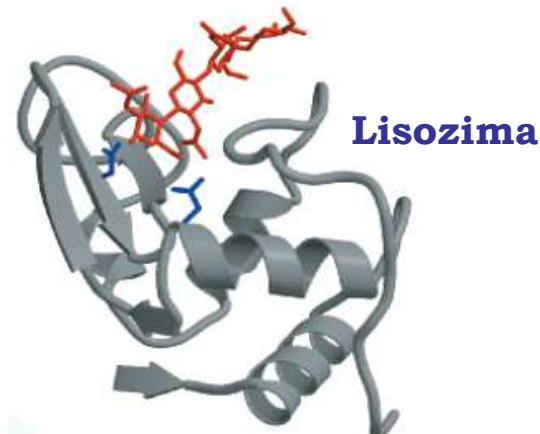
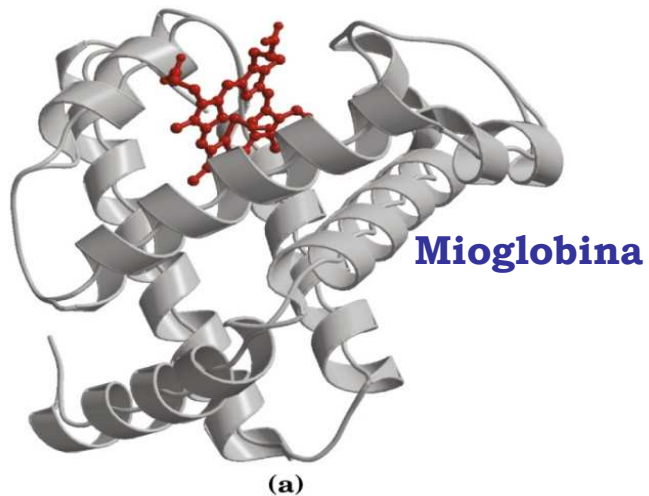
Conformação β
2.000 × 5 Å

Hélice α
900 × 11 Å

Forma globular nativa
100 × 60 Å



Proteínas pequenas → 1 domínio globular

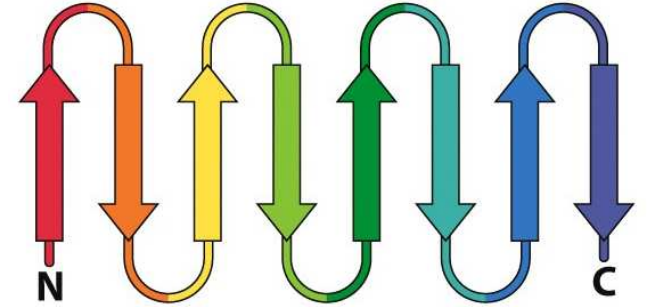
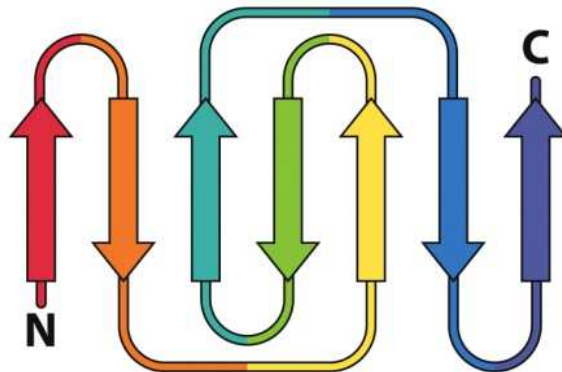


Domínios

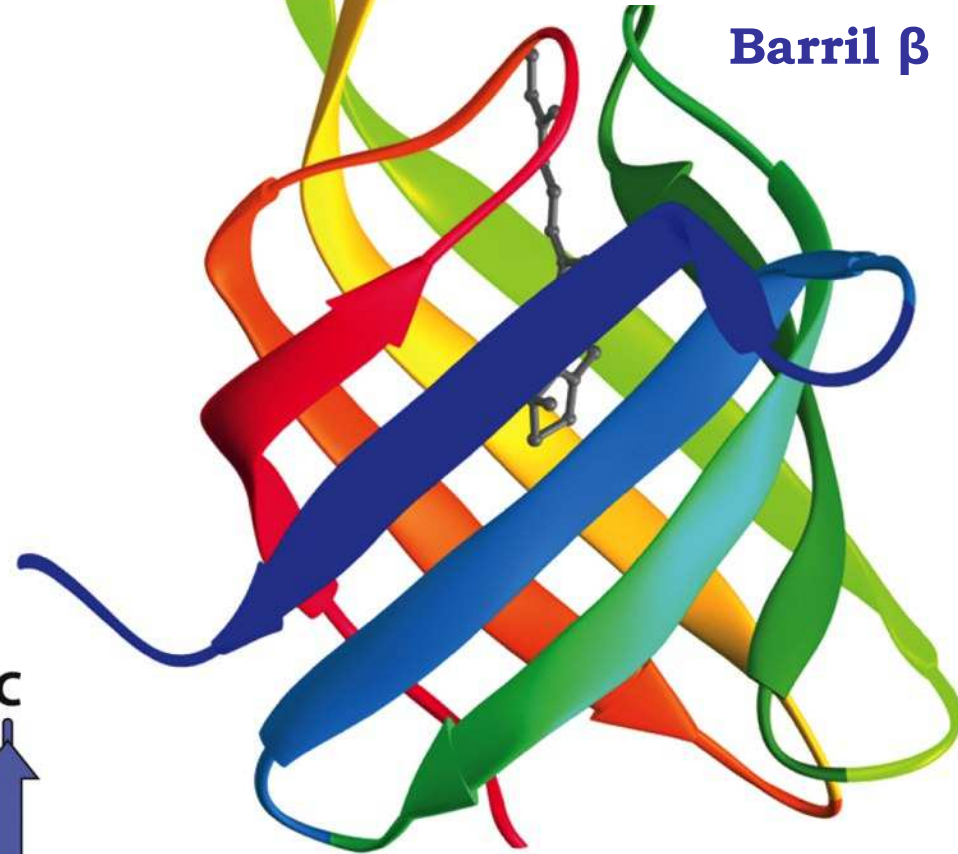


Domínio N-terminal da
imunoglobulina humana
(PDB acc. Number: 7FAB)

Sanduíche β

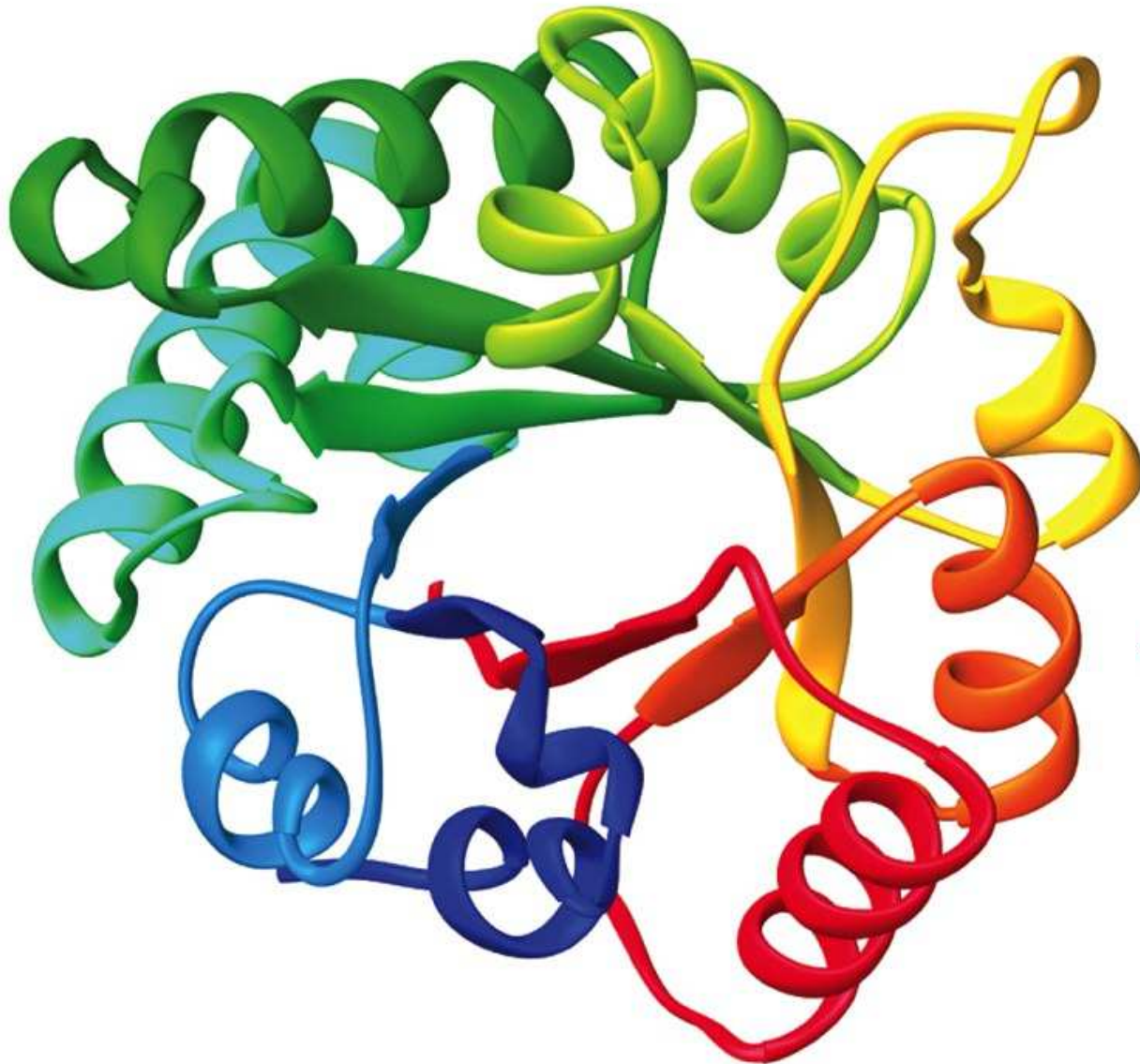


Barril β



Proteína de ligação ao retinol (PDB acc.
Number: 1RBP)

Domínios

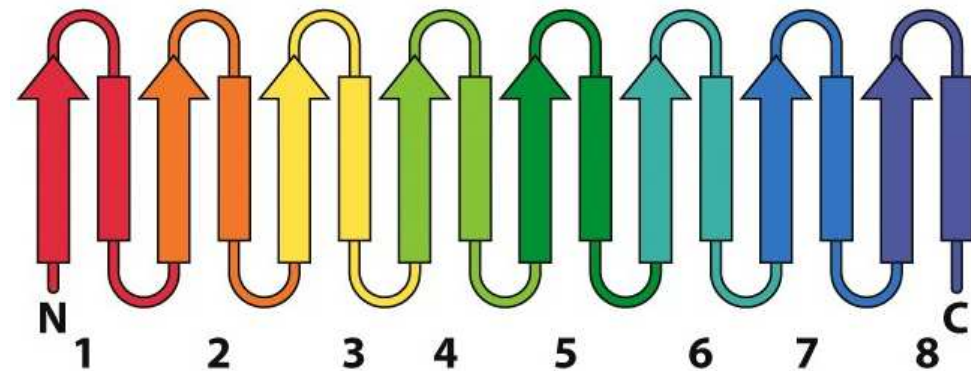


Triose-fosfato-isomerase (TIM)

247 resíduos

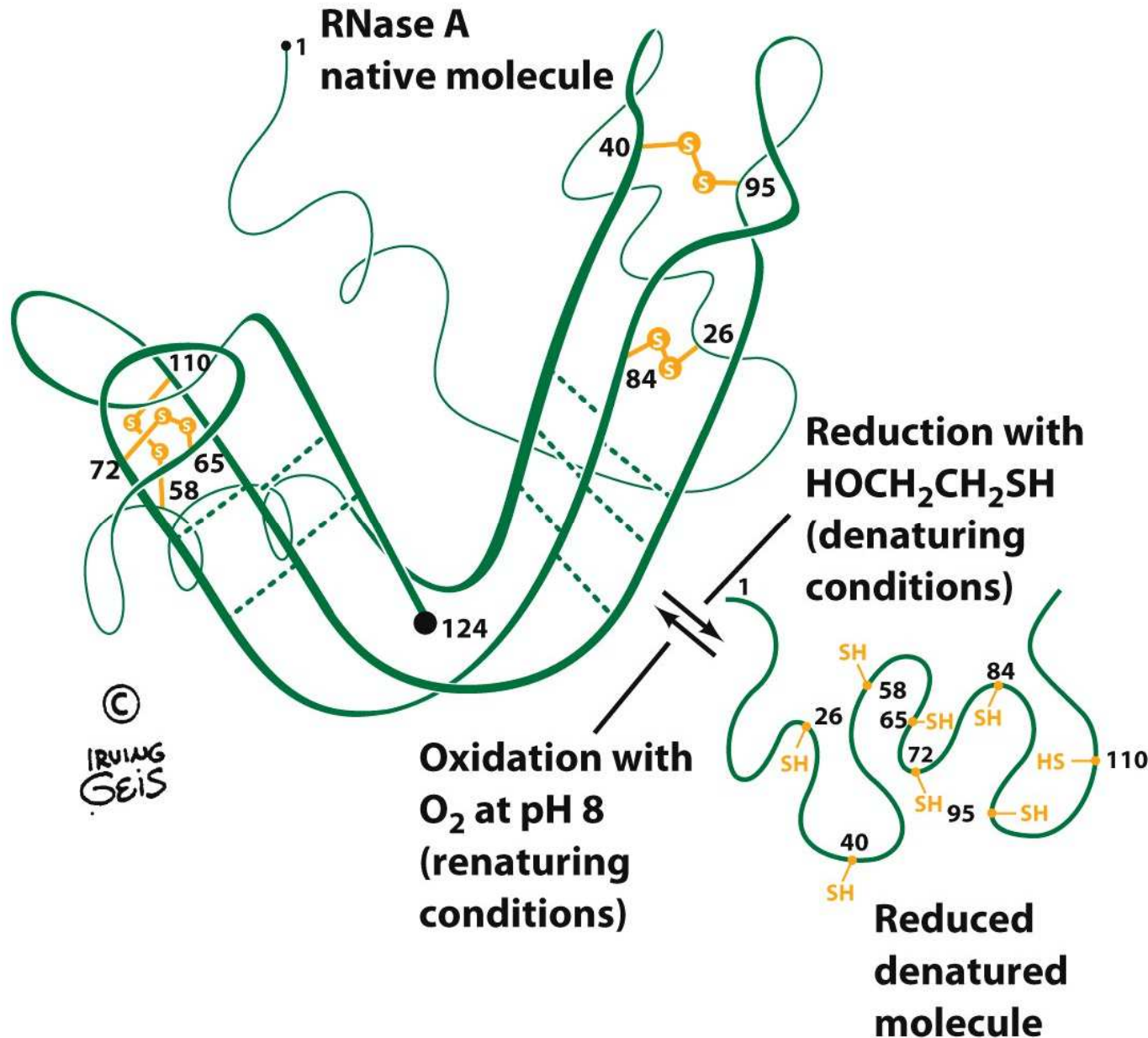
Enzima de galinha

(PDB acc. number: 1TIM)

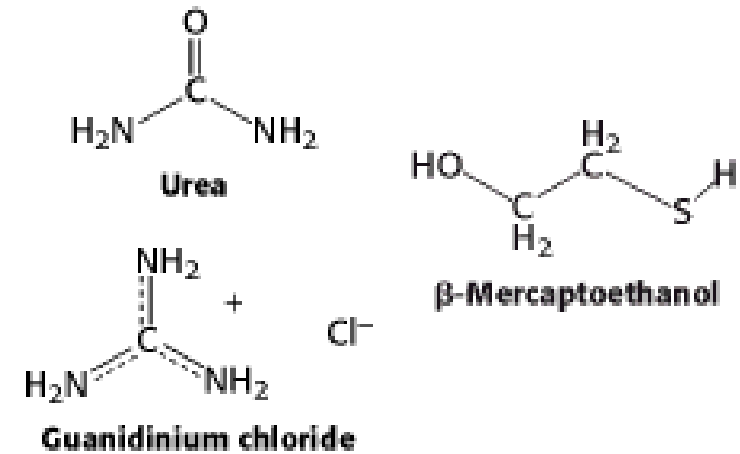


Enovelamento de proteínas

→ Algumas proteínas desnaturadas podem renaturar *in vitro*



Agentes desnaturantes de proteínas frequentemente utilizados no Lab de Bioquímica:

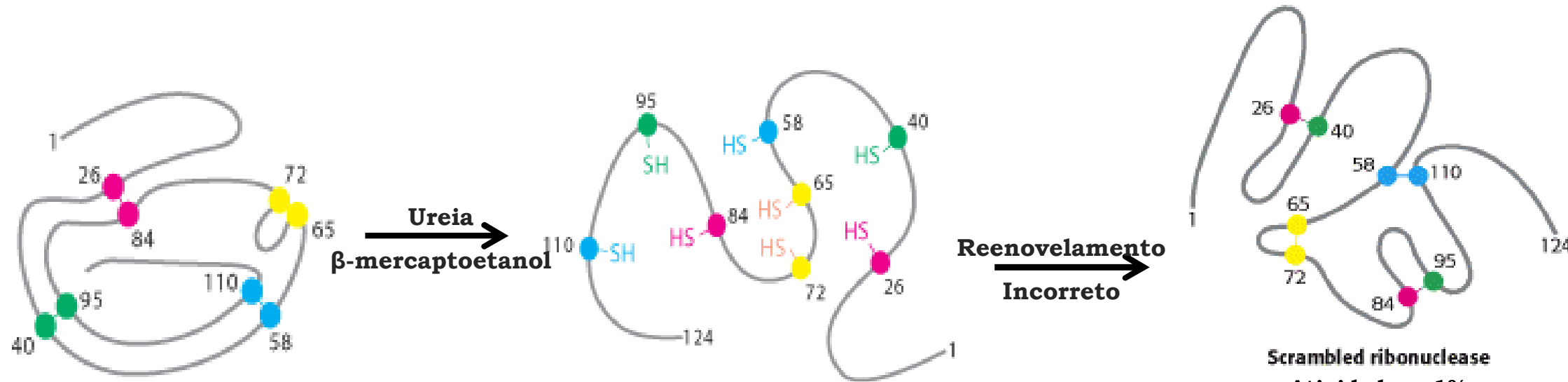


- Acidez
- Temperatura
- Detergentes

Enovelamento de proteínas

→ A Rnase A pode ser renaturada pela diálise na presença de um agente redutor

- Agente redutor “catalisa” o enovelamento correto



Native ribonuclease
Atividade = 100%

Denatured and reduced ribonuclease
Atividade = 0%

Scrambled ribonuclease
Atividade= ~1%

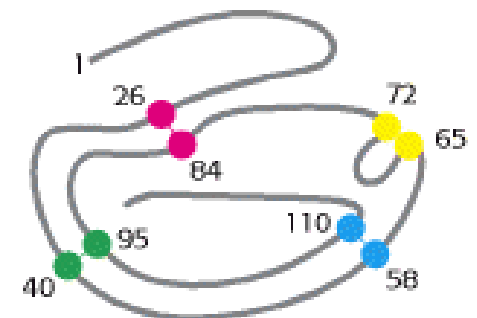
→ RNase A possui 4 pontes dissulfeto:

$$\frac{1}{7} \times \frac{1}{5} \times \frac{1}{3} \times \frac{1}{1} = \frac{1}{105}$$

105 combinações diferentes possíveis

1 delas está relacionada a estrutura funcional

Atividade
~ 100%



Native ribonuclease

Enovelamento de proteínas

-Cristian Anfinsen

→ As informações necessárias para uma proteína obter sua estrutura nativa estão na seqüência de aminoácidos da proteína.

→ Dogma de Anfinsen

Cristian
Anfisen
1926-1995
Nobel Prize
in Chemistry
in 1972



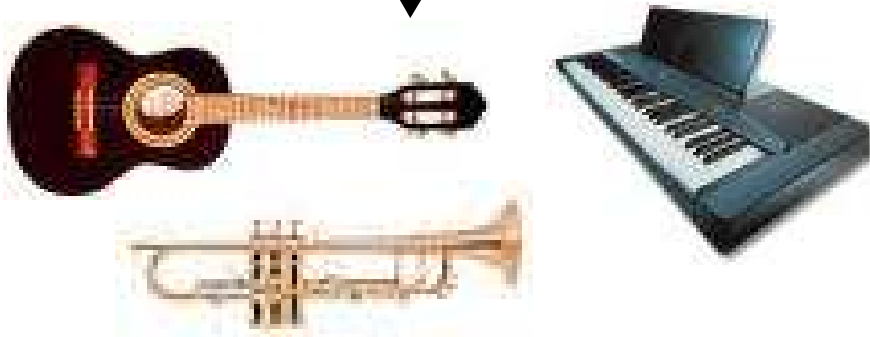
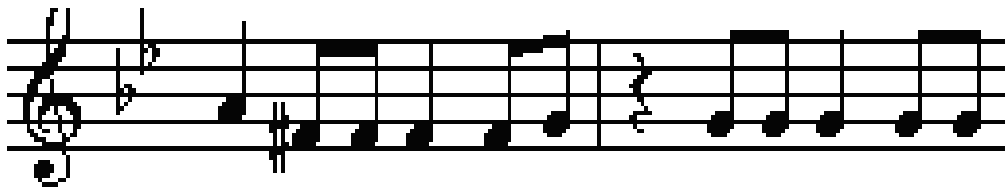
Anfinsen escreveu em 1964:

*“Me ocorreu recentemente que alguém deveria considerar a **SEQUÊNCIA** de uma molécula **PROTÉICA**, enovelada em uma forma **GEOMÉTRICA** precisa, como uma linha de uma **MELODIA** escrita de forma **CANÔNICA** e então desenhada pela **NATUREZA** para enovelar **SOZINHA**, criando acordes **HARMÔNICOS** de interação consistente com a **FUNÇÃO BIOLÓGICA....”***

Dogma central da Biologia

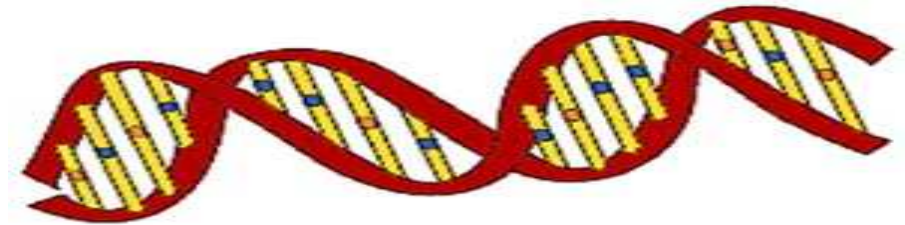
A Informação é:

Armazenada → Decodificada → Executada



=

MÚSICA



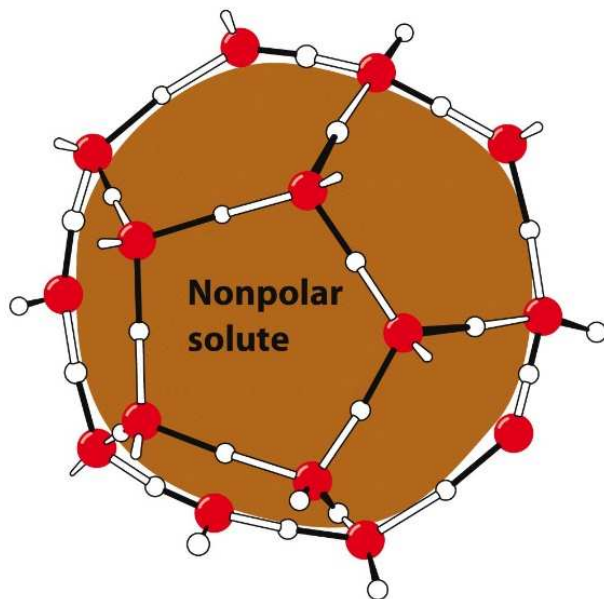
=

VIDA

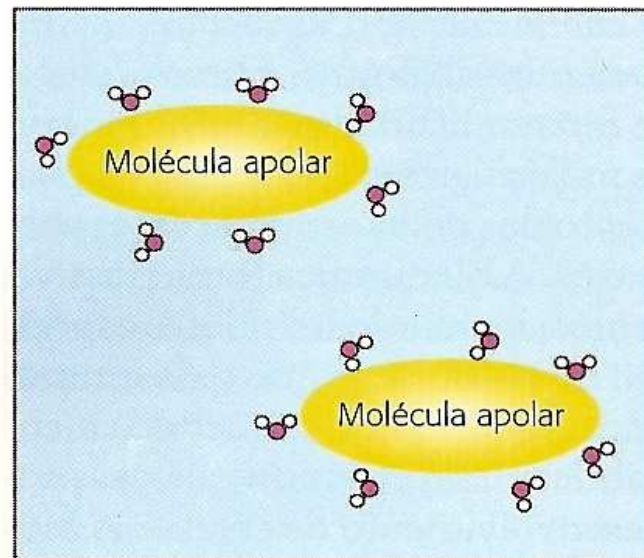
Enovelamento protéico

“O efeito ou colapso hidrofóbo”

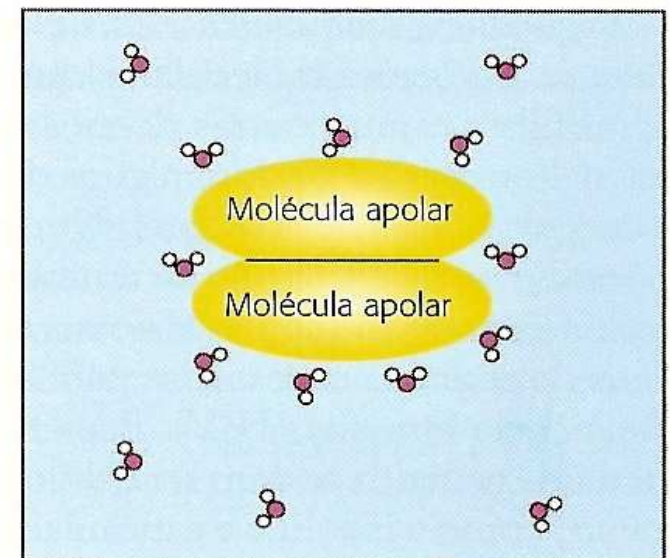
- A introdução de um composto hidrofóbico perturba a rede de água;
- A água tende em minimizar seu contato com as moléculas hidrofóbicas;
- A organização de camadas ou “gaiolas” de água entorno de compostos apolares
 - Alto custo entrópico.
- Exclusão do composto apolar da fase aquosa → Interações hidrofóbicas ($\Delta H < 0$)
 - Formação de aglomerados apolares reduz a área de contato com a água
 - Liberação de moléculas de H_2O das gaiolas → Menor perda total de Entropia



Gaiola de H_2O



14 H_2O “presas” na gaiola



9 H_2O “presas” na gaiola
5 H_2O “livres” no meio

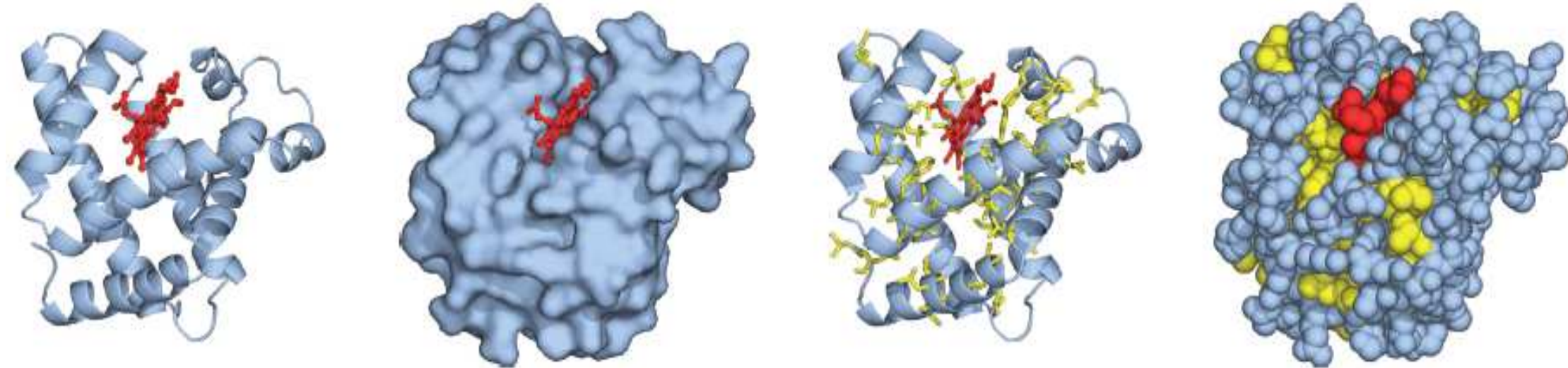
Enovelamento protéico

“O efeito ou colapso hidrófobo”

Ex: Mioglobina

John Kendrew et al., 1950.

- Polipeptídeo de 153 resíduos
 - 8 hélices α (70% dos resíduos)
 - Azul: Aminoácidos Hidrofóbicos enterrados no interior \rightarrow Excluídos da água
 - Resíduos polares no interior estão interagindo com o Ferro e Oxigênio
- 45 x 35 x 25 Å \rightarrow muito compacta
- Algumas hélices α são anfipáticas



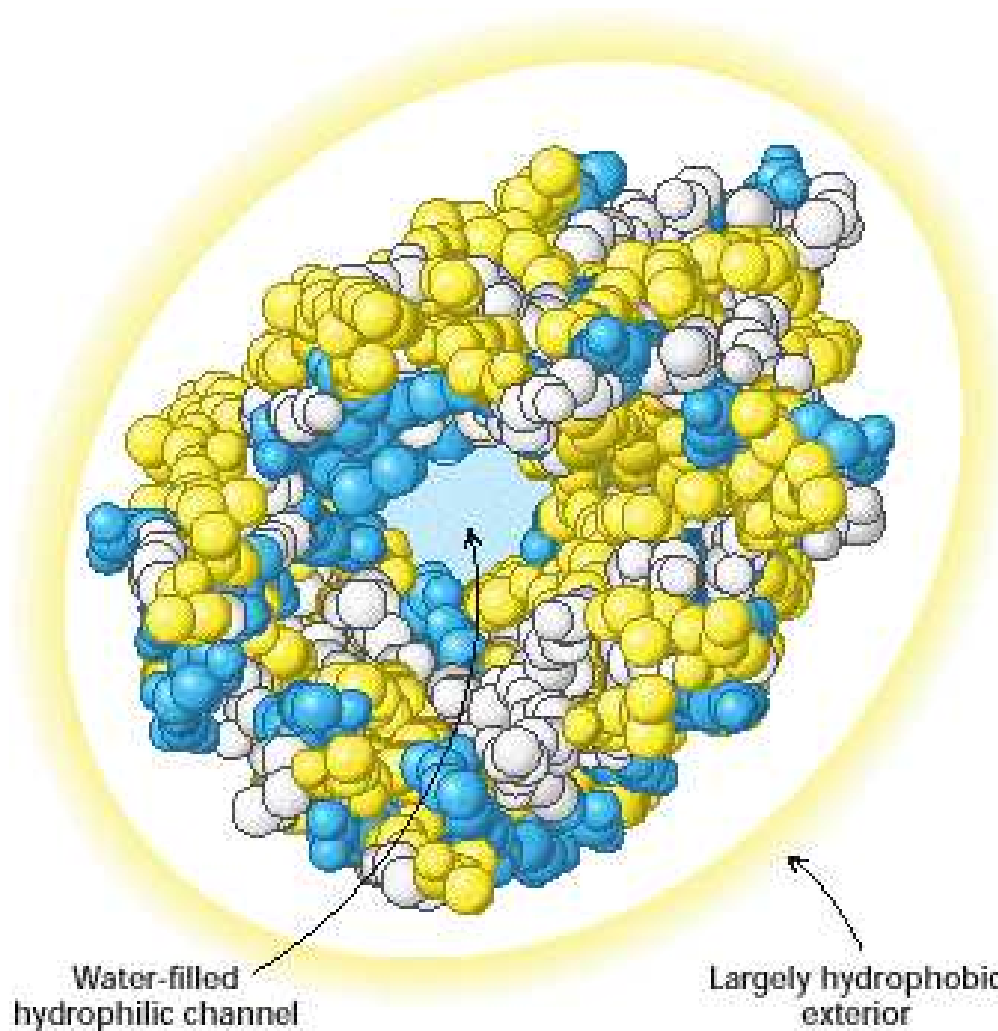
Aminoácidos hidrofóbicos (em amarelo) estão, na maioria, protegidos do solvente!

A estabilidade depende do empacotamento hidrofóbico

Enovelamento protéico

“O efeito ou colapso hidrófobo”

→ Existem exceções à regra → proteínas de membrana



Linguagem de 20 aminoácidos
permite a diversidade estrutural
das proteínas

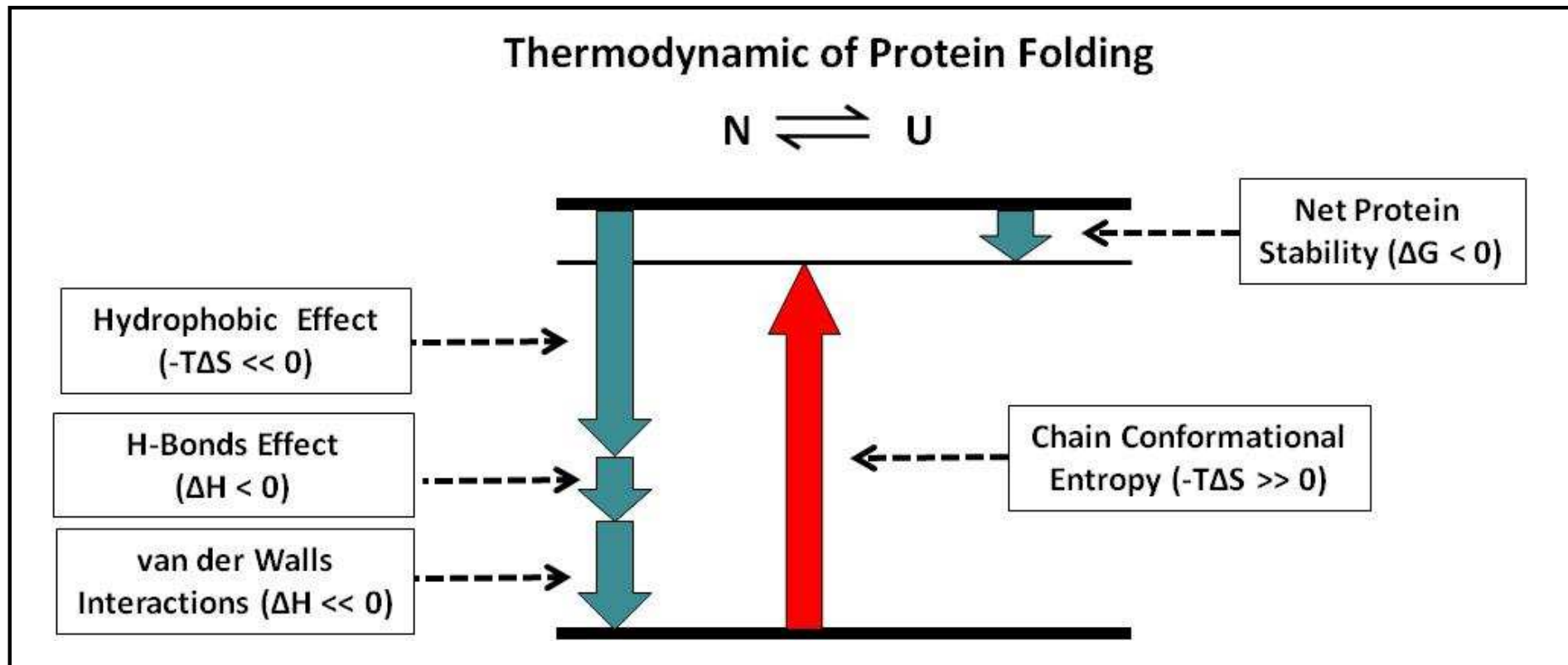
O Enovelamento de Proteínas em termos da ΔG

Um conjunto de proteínas não-enoveladas no meio aquoso enovelam-se, espontaneamente ($\Delta G < 0$), para atingirem um estrutura organizada com baixa ΔS .

Proteínas são marginalmente estáveis!

$$\Delta G = -20-65 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta G = \Delta H_{System} - T\Delta S_{System} < 0$$



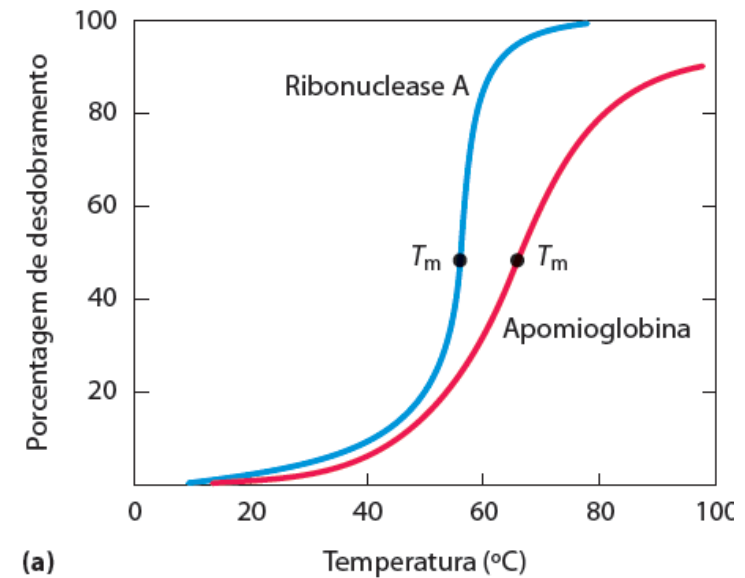
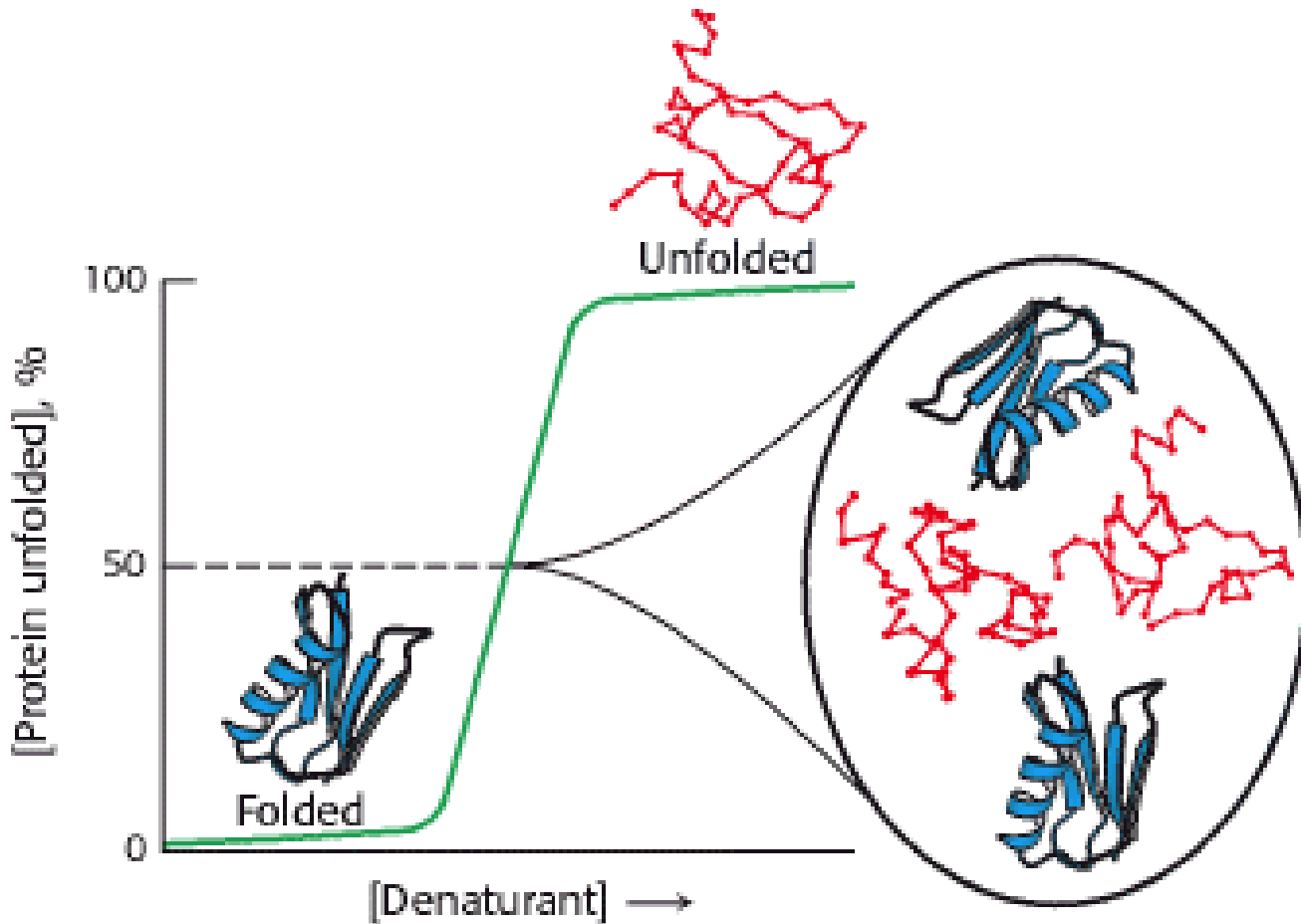
Enovelamento de proteínas

→ O enovelamento ou a desnaturação é cooperativo ou abrupto

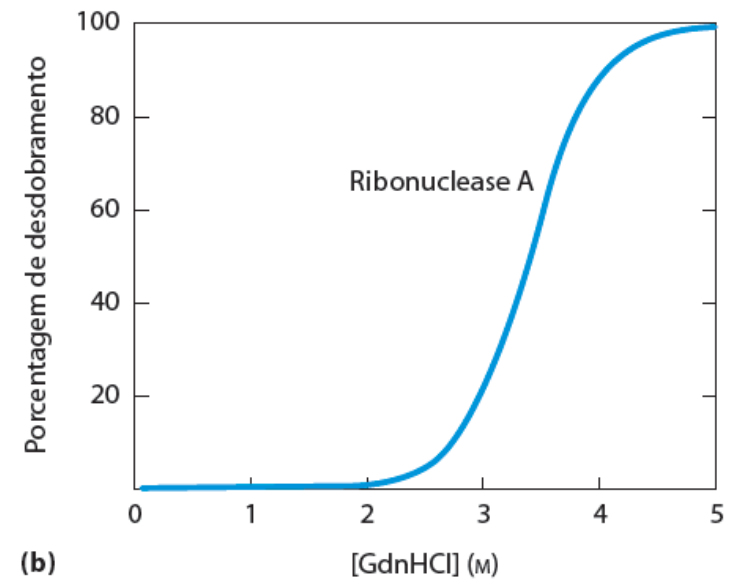
→ O enovelamento ocorre de maneira hierárquica → porções locais enovelam primeiro e sucessivamente

→ Intermediários do enovelamento são observados

→ Falhas no enovelamento ocorrem → doenças



(a)



(b)

Enovelamento de proteínas

Paradoxo de Levinthal

→ 1 proteína de 100 resíduos

- Cada resíduo experimentando 3 posições → 3^{100}

- Tempo de teste para cada posição → 10^{-13} seg

→ Tempo total = $3^{100} \times 10^{-13}$ seg = 10^{87} seg = $1,6e^{27}$ anos

“o tempo necessário para uma proteína de 100 aminoácidos enovelar-se testando 3 de todas as possibilidades conformacionais possíveis, ou seja randomicamente, seria maior do que o tempo do Universo”

t= 13,7 bilhões de anos = $4,3 \times 10^{17}$ seg

In vitro

→ O enovelamento ocorre em menos de 1 segundo

In vivo

→ Nós estamos aqui!!!!

O Enovelamento de Proteínas é Hierárquico

→ Proteínas se enovelam por uma série de ajustes conformacionais que reduzem sua energia livre e entropia até atingir o estado nativo

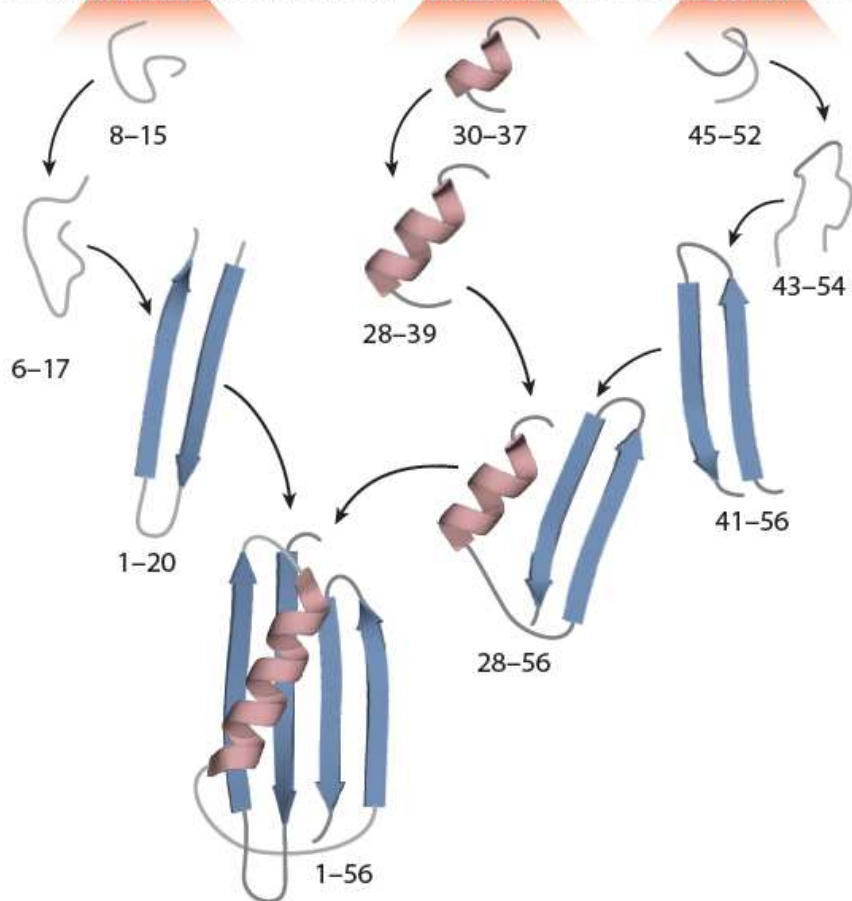
→ Tem controle termodinâmico

→ Tem controle Cinético

Vias de Enovelamento

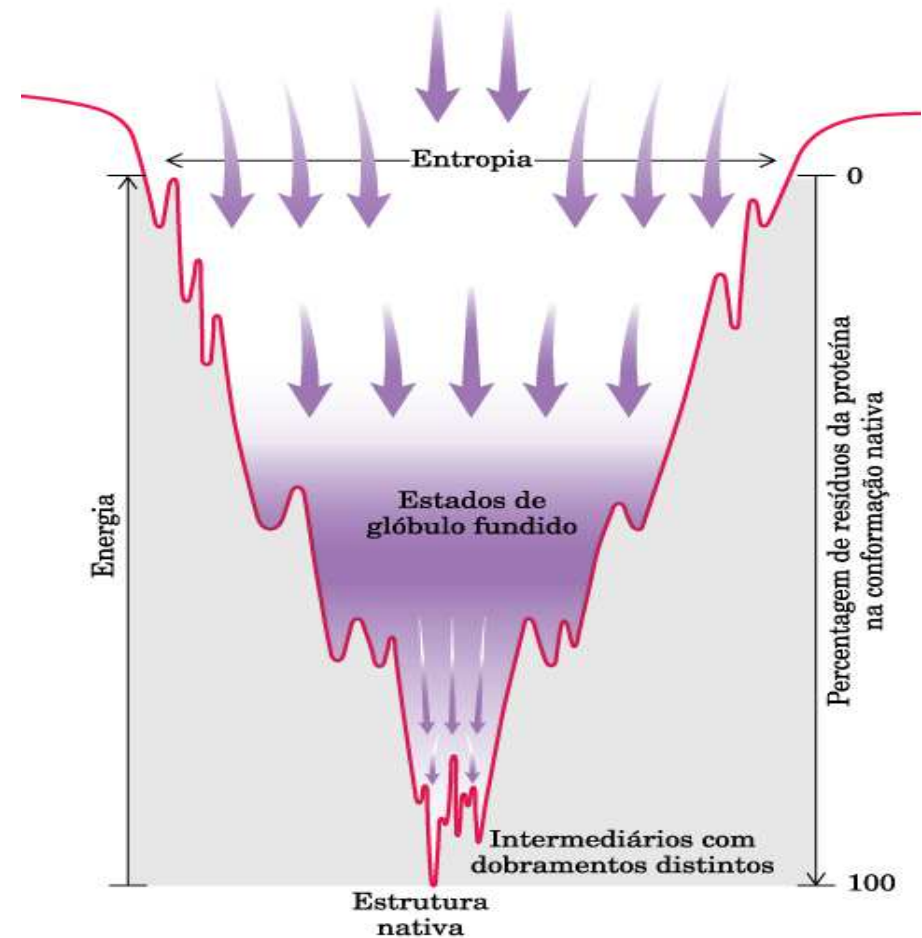
Sequência de aminoácidos de um peptídeo de 56 resíduos.

MTYKLIL **NGKTLKGE** TTTEAVDAATAEKV **FKQYANDN** GVDGEWT **YDDATKTF** TVTE



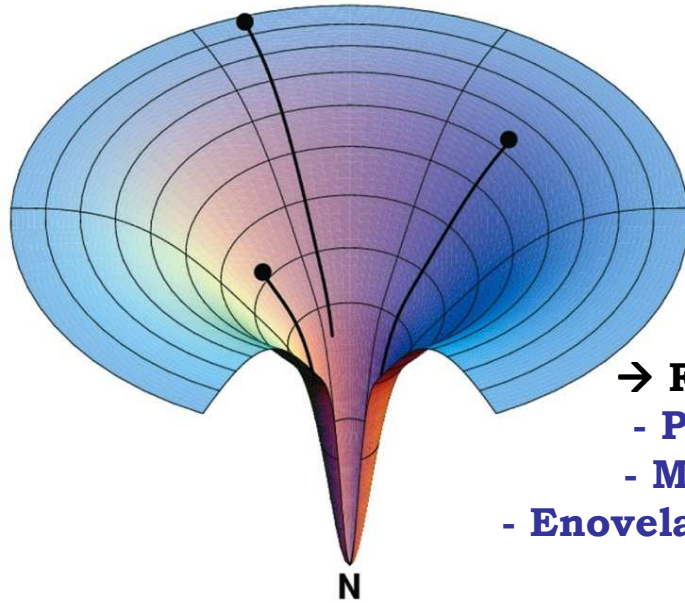
Teoria do Funil

Começo da formação da hélice e colapso

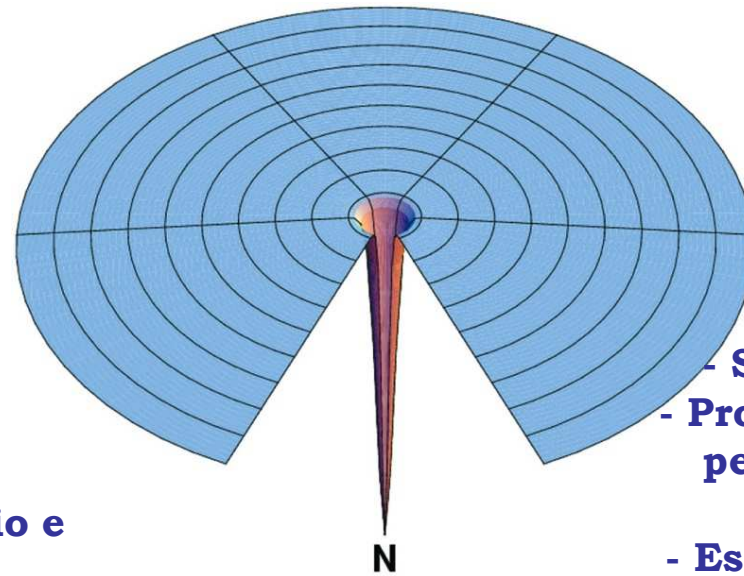


O Enovelamento de Proteínas é Hierárquico

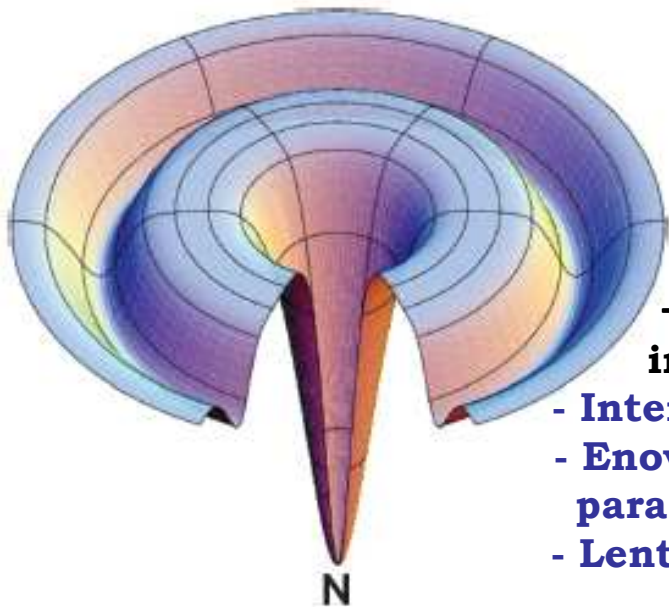
Diagrama energia-entropia: funil de energia



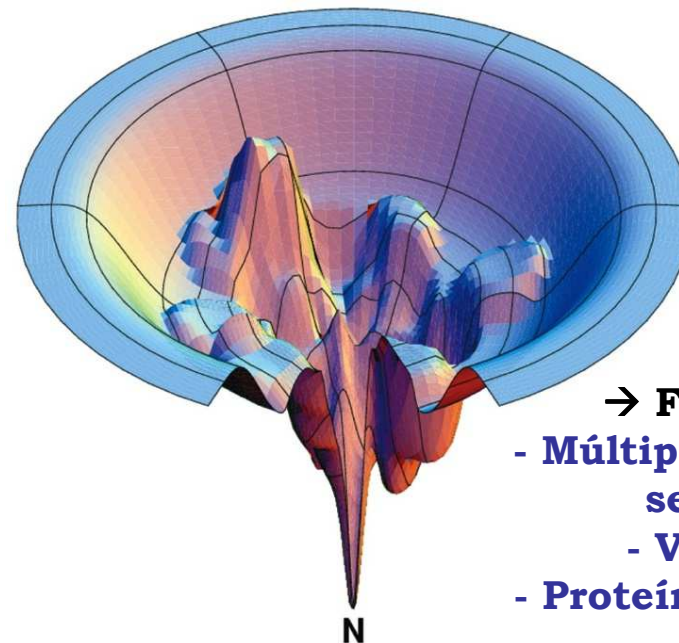
- **Funil simples**
- Parede suave
 - Múltiplas vias
 - Enovelamento aleatório e rápido
 - Sem intermediários



- **Funil direto**
- Sem intermediários
 - Processo lento de busca pela estrutura nativa estável
 - Espaço conformacional aleatório amplo



- **Funil com intermediário**
- Intermediário estável
 - Enovelamento rápido para o intermediário
 - Lento para a proteína Nativa



- **Funil + comum**
- Múltiplos intermediários semi-estáveis
 - Vias definidas
 - Proteínas multidomínios

Enovelamento de proteínas

Segue vias ou rotas sem testar todas as possibilidades!

1) Segmentos locais de estrutura secundária → < 5 ms

→ fase explosiva envolve a formação de estrutura secundária local

→ *foldons*: elementos locais estruturados → Choque de *foldons*

→ Formação de cernes hidrofóbicos locais

→ Colapso hidrofóbico → *molten globule* ou glóbulo fundido

Rg 10-15% do que o da proteína enovelada

2) Estabilização da estrutura secundária

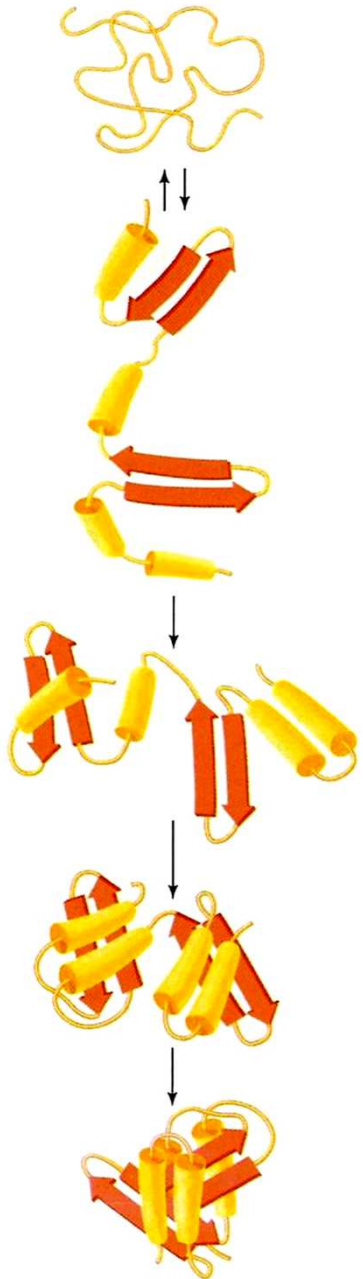
→ Formação da estrutura terciária → 5 a 1000 ms

→ Estruturas “domain-like”

3) Organização sutil e rígida das interações

→ Direcionamento das ligações de H

→ Expulsão da água do cerne hidrofóbico



Enovelamento de proteínas

→ O enovelamento é auxiliado ou assistido

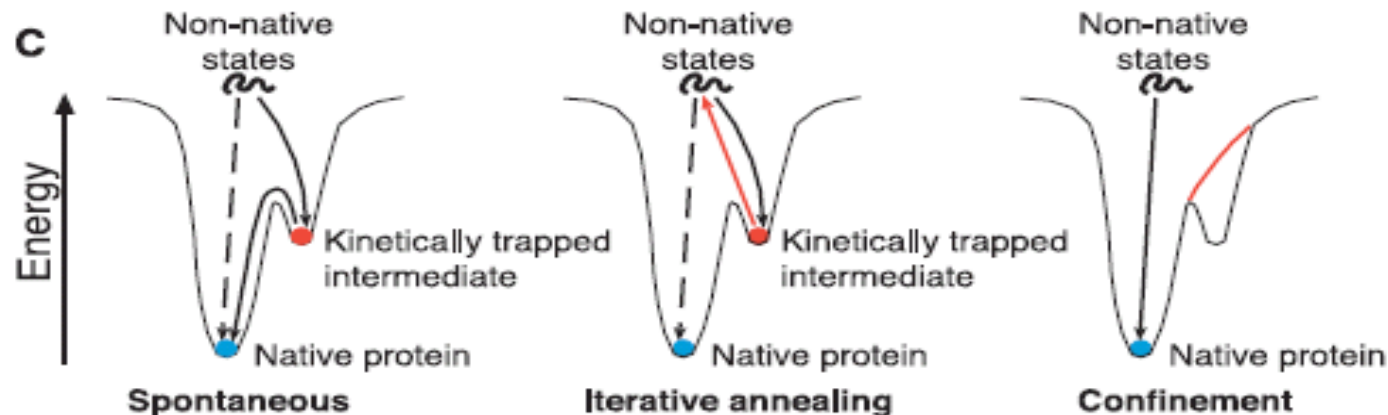
Chaperonas moleculares

→ 15 a 20 % das proteínas bacterianas em condições não estresse necessitam de auxílio para o enovelamento

→ As chaperonas moleculares auxiliam o enovelamento e previnem a agregação de proteínas em condições de estresse

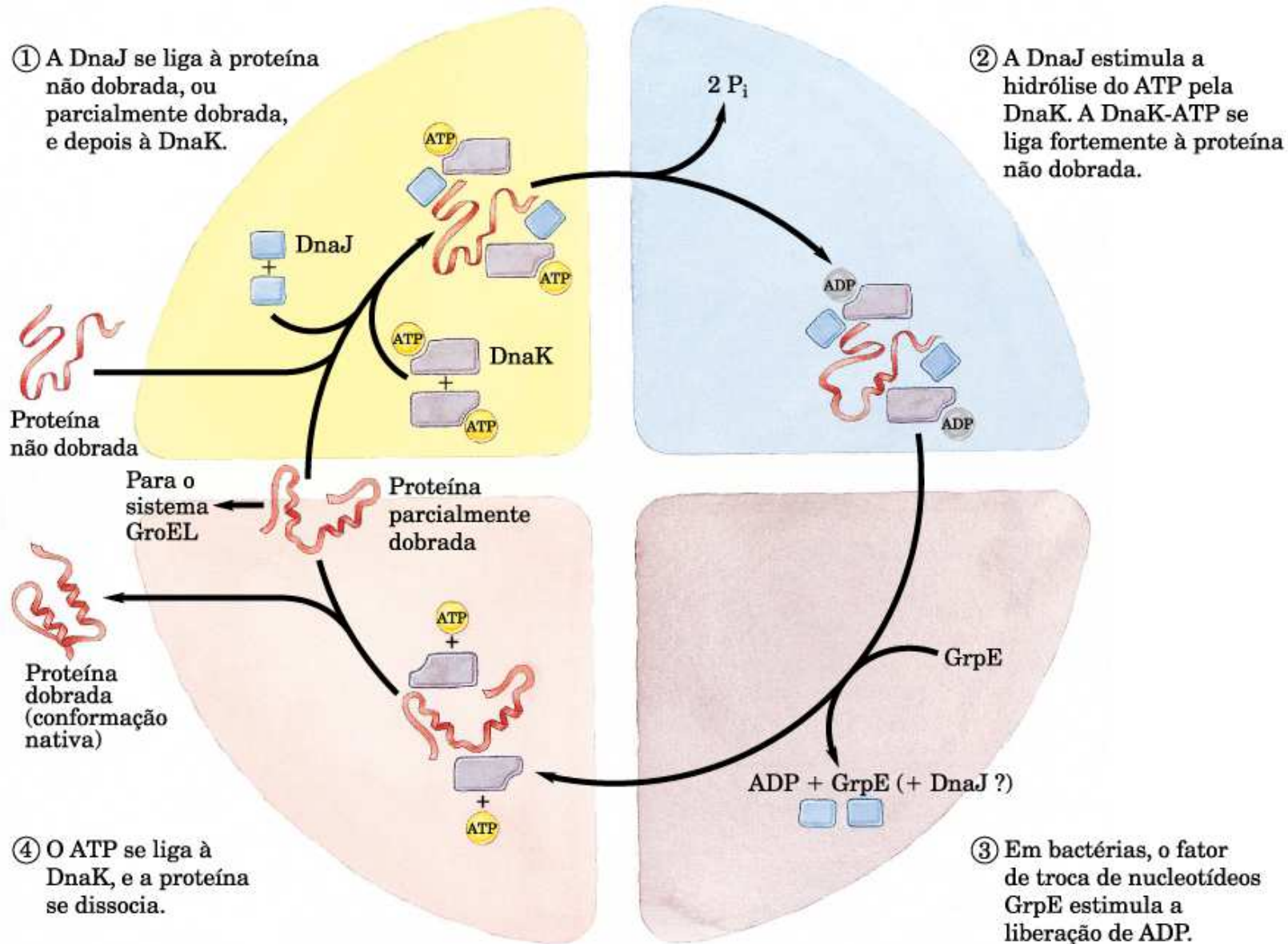
→ Elas não interferem na estrutura final das proteínas

→ O Princípio de Anfinsen é respeitado – “A estrutura de uma proteína é codificada pela seqüência de aminoácidos”



Enovelamento de proteínas

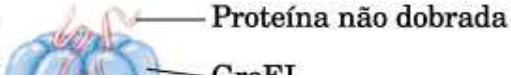
→ O enovelamento é auxiliado ou assistido



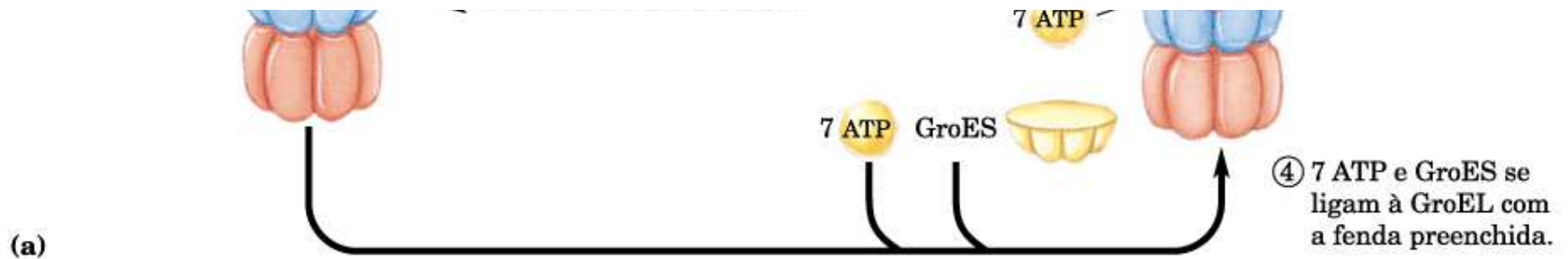
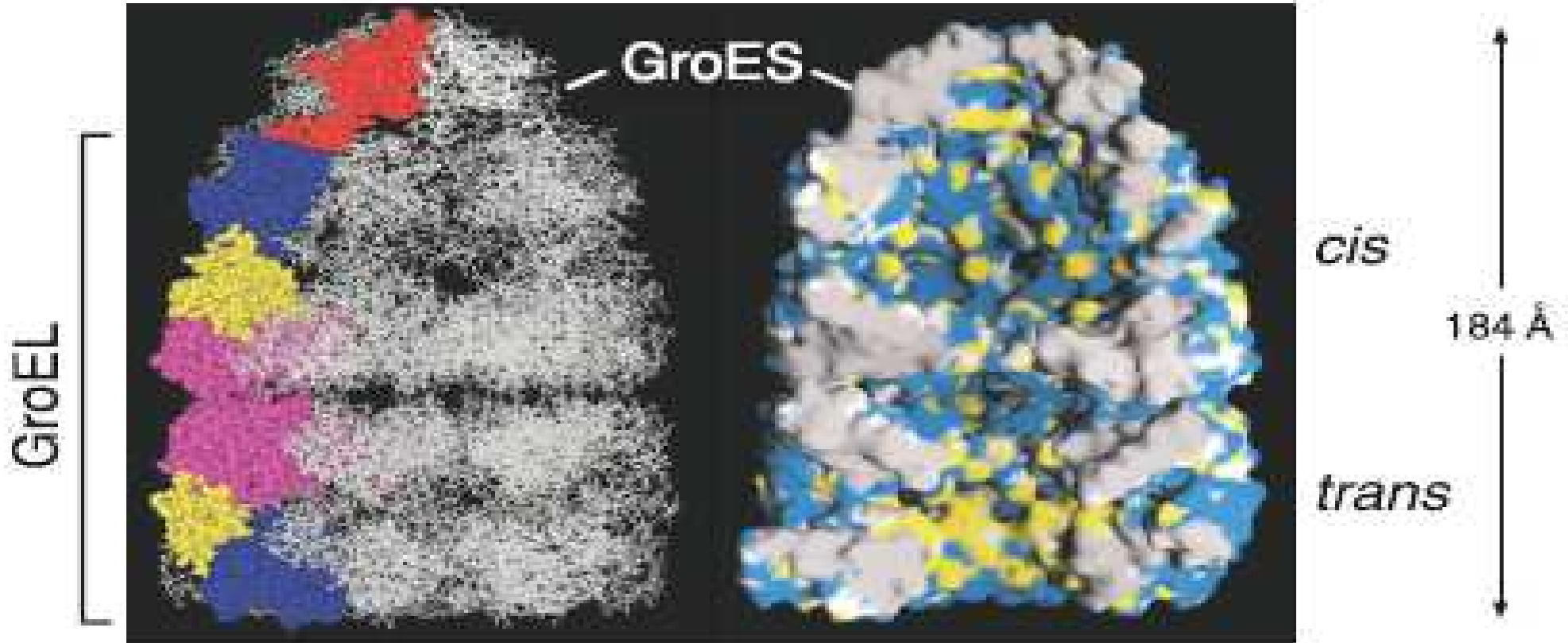
Enovelamento de proteínas

→ O enovelamento é auxiliado ou assistido

① A proteína não dobrada se liga



⑥ Liberação da proteína em seu estado



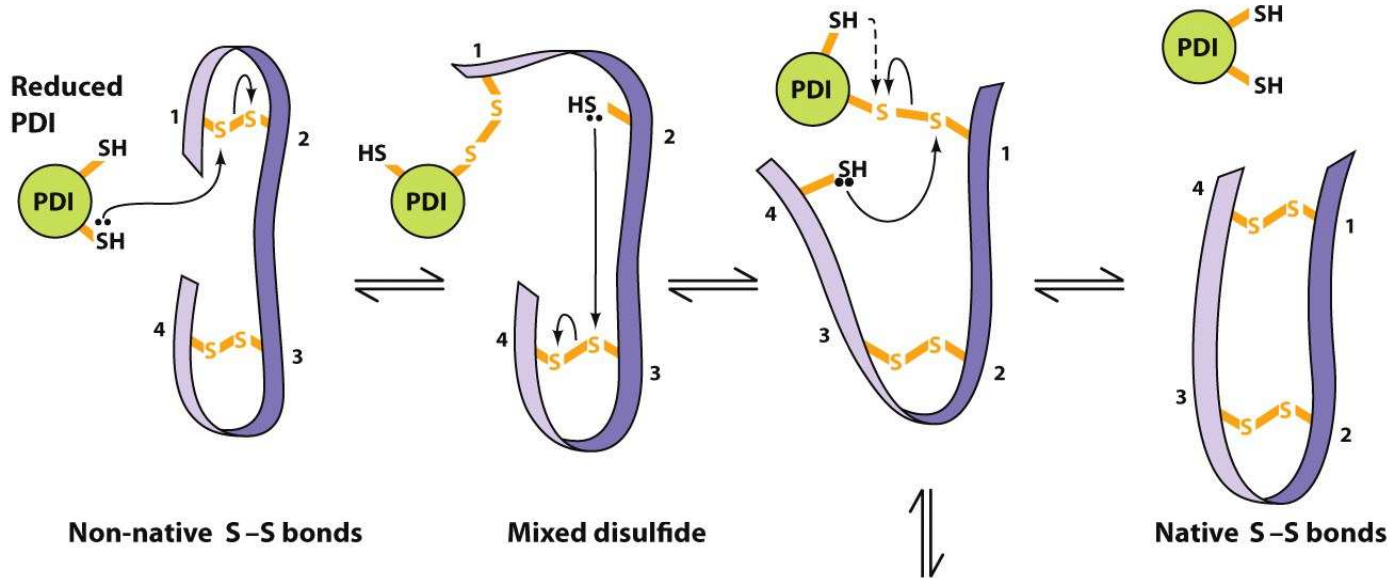
Enovelamento de proteínas

→ O enovelamento é auxiliado ou assistido

→ **Foldases**

Pontes dissulfeto errôneas

→ **Proteína inativa**



Proteína Dissulfeto isomerase

→ Isomerização de pontes dissulfeto

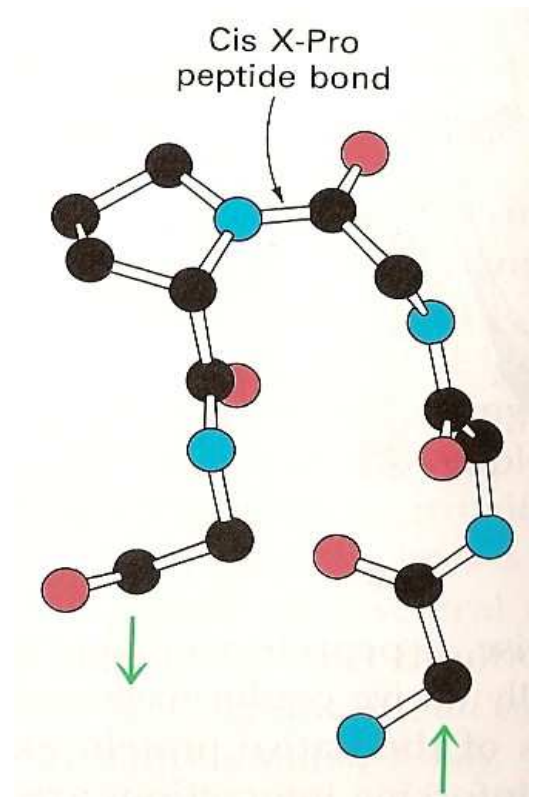
→ Reações de oxido-redução

Pontes dissulfeto corretas

→ **Proteína ativa**

Prolil-peptidil-cis-trans isomerases

→ **Isomerização de cis-trans de prolinas**

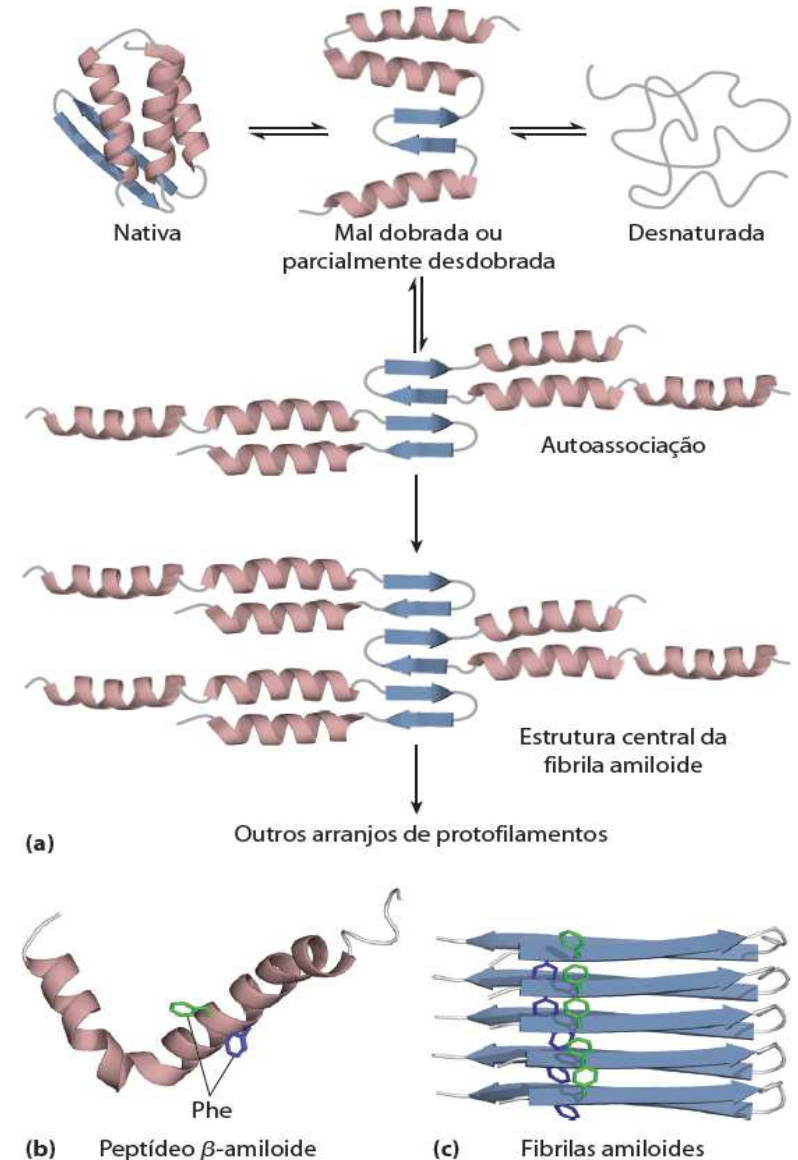
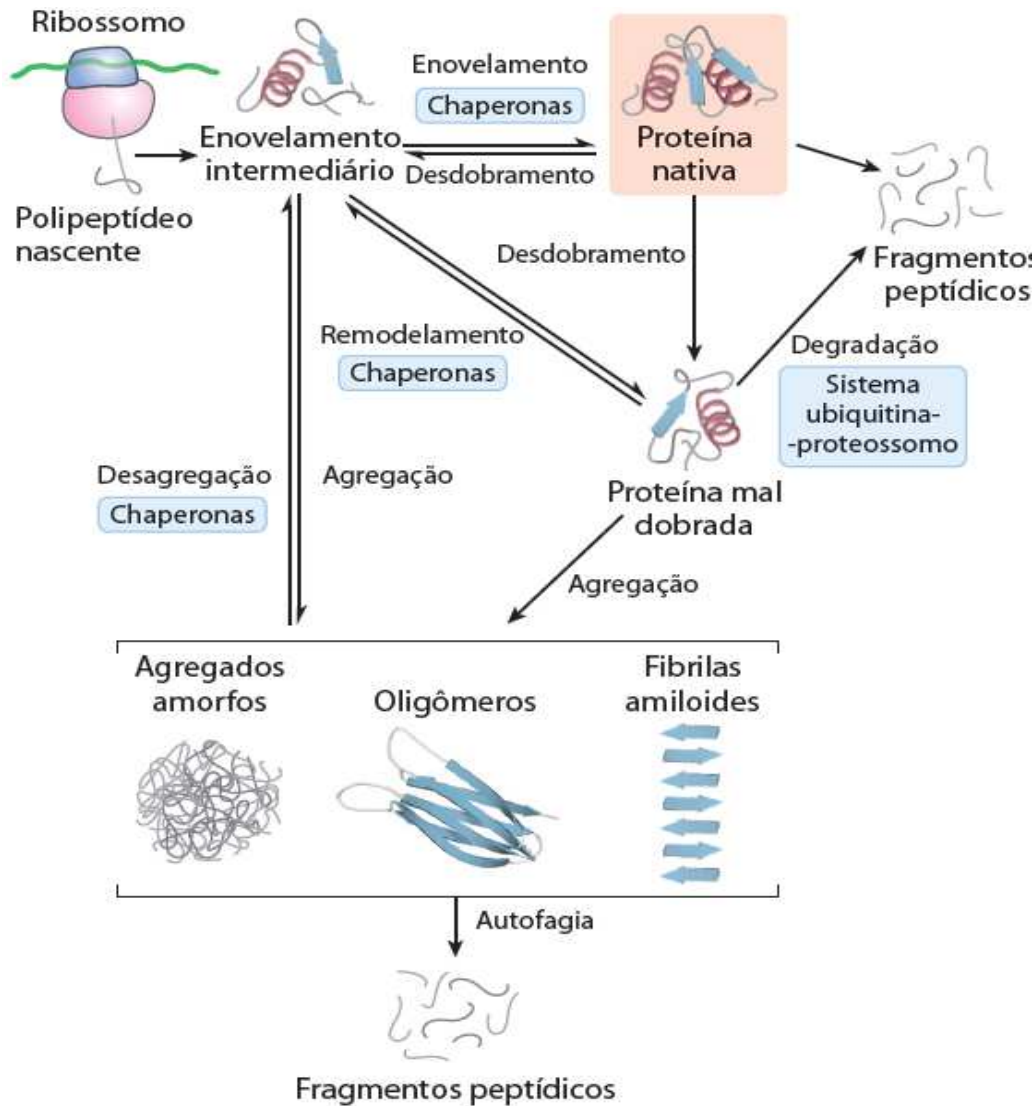


Enovelamento de proteínas

→ Balanço de síntese, enovelamento e depuração de proteínas

→ O enovelamento incorreto → causa doenças degenerativas e amiloides

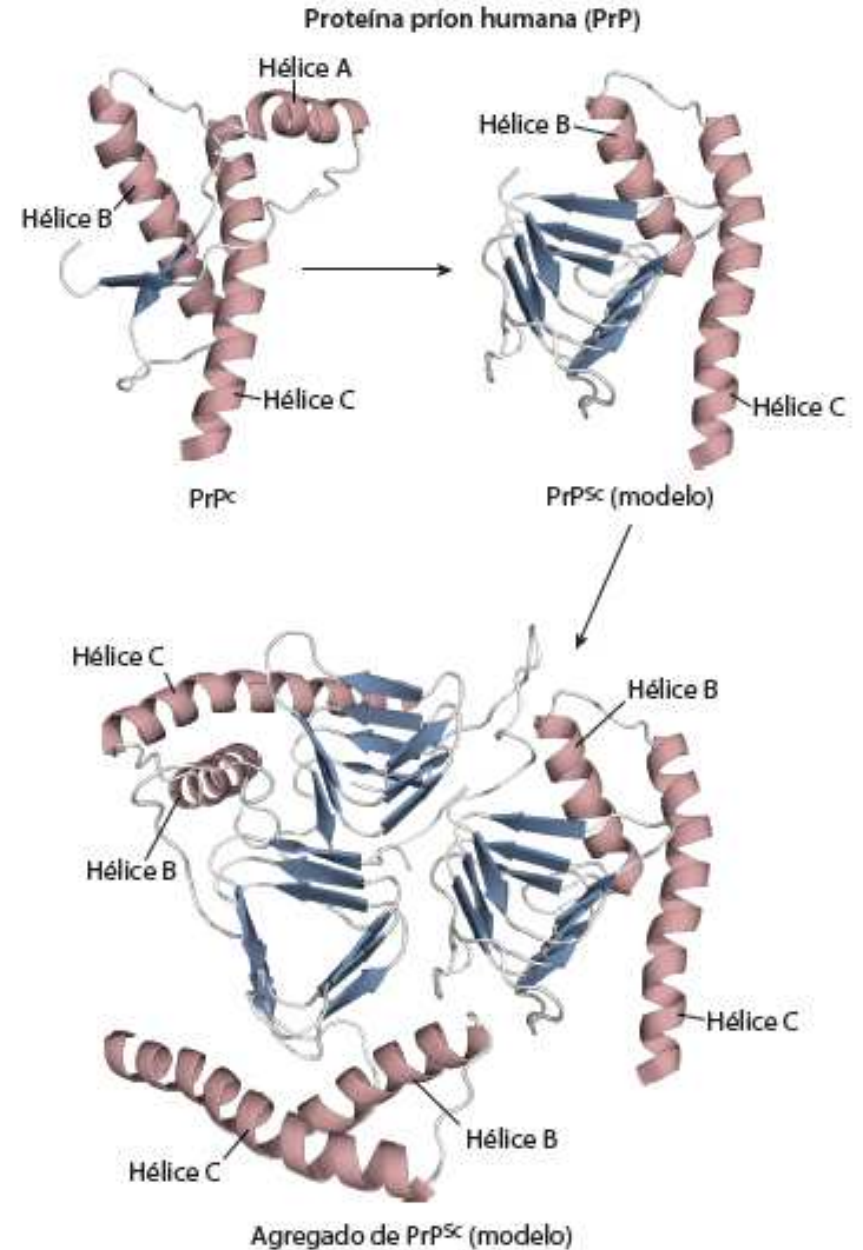
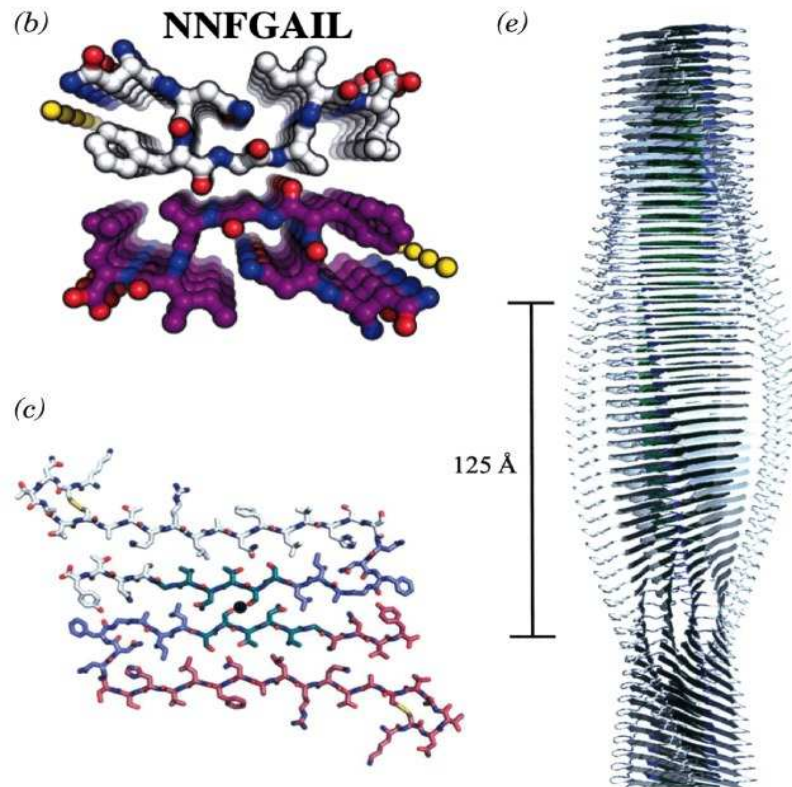
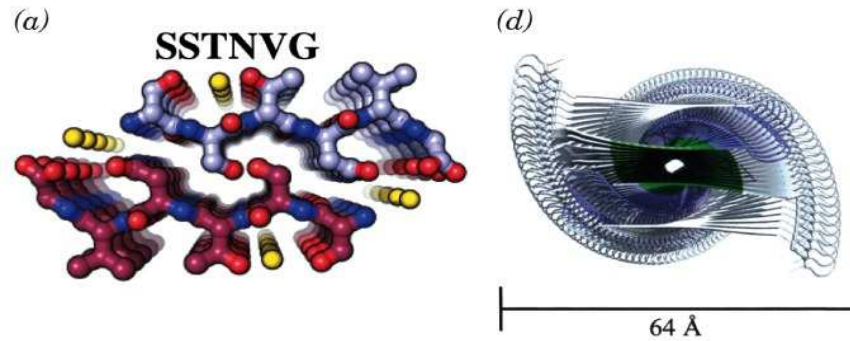
Ex: mal de Parkinson e Alzheimer



Enovelamento de proteínas

Ex: Doença da vaca louca

- Causa doenças degenerativas e amiloides
- Ex: mal de Parkinson e Alzheimer

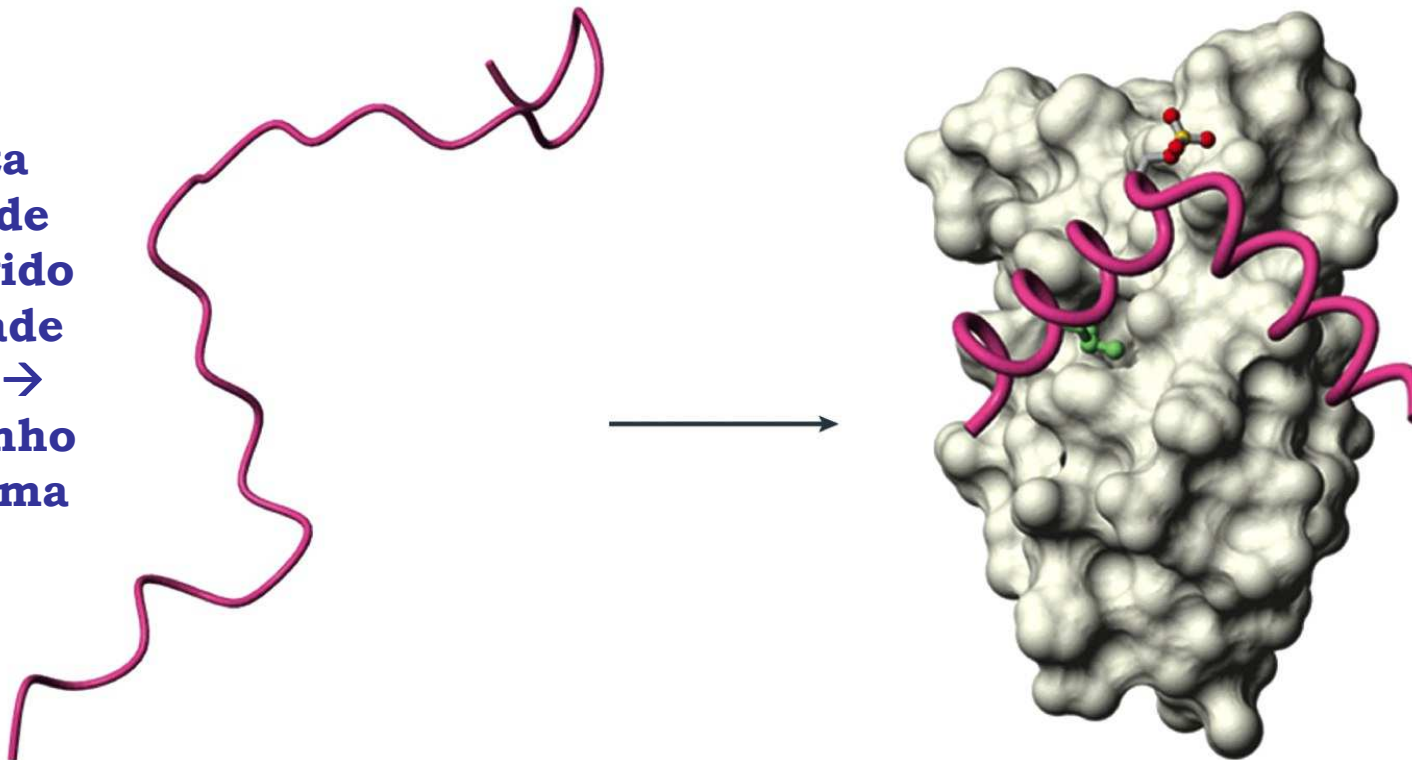


Proteínas naturalmente desenoveladas

IUPs: intrinsically unfolded proteins

- 1/3 das proteínas humanas são ou possuem regiões desordenadas
 - carecem de estrutura terciária ordenada
 - ricas em aminoácidos hidrofílicos (Arg, Lys, Glu, entre outros)
- desprovidas de aminoácidos hidrofóbicos volumosos → dificuldade em compactar
- proteínas regulatórias → enovelam-se quando interagem com o alvo molecular

- maximiza superfície de contato devido a flexibilidade molecular → reduz tamanho relativo a uma proteína globular

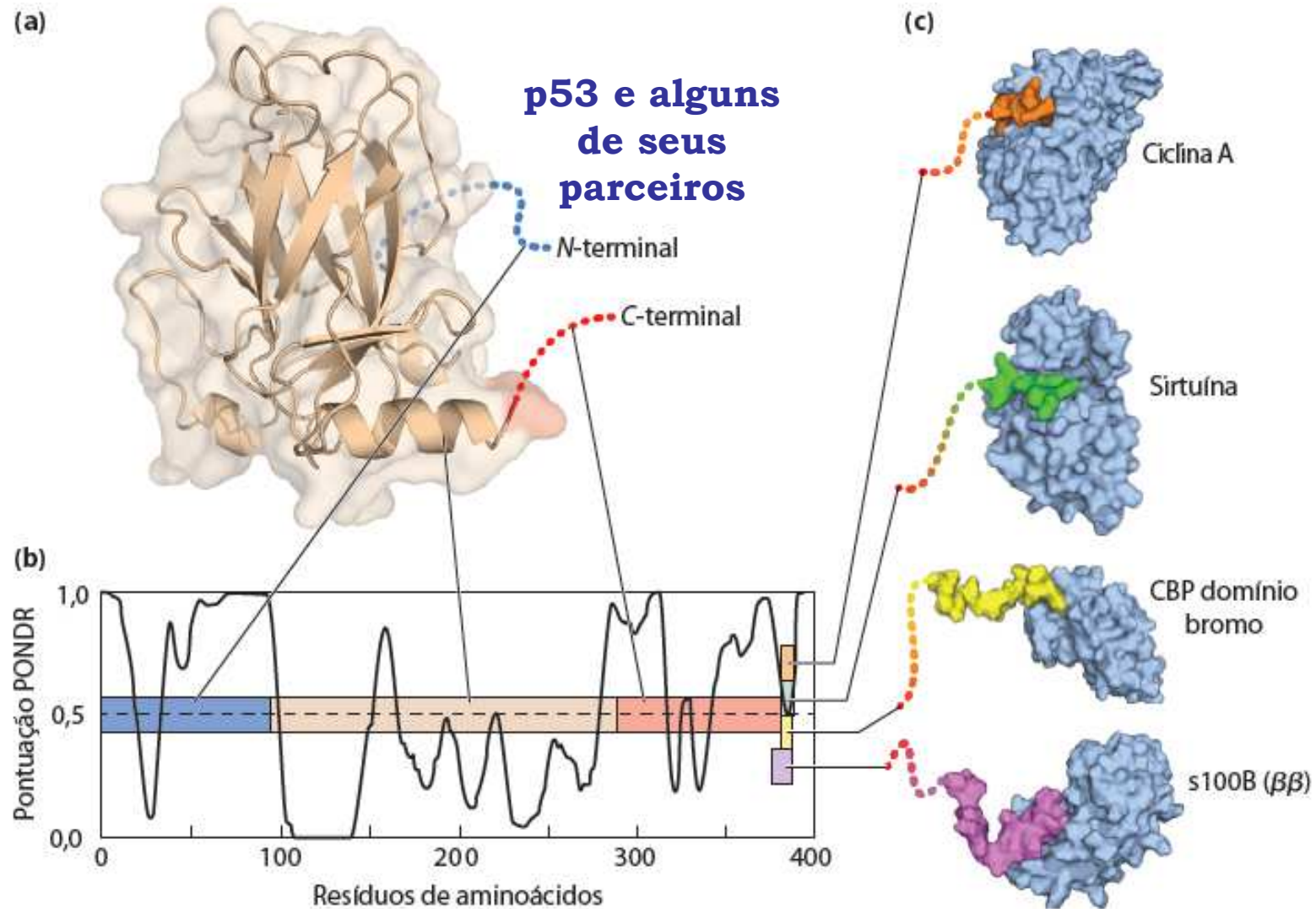


- Podem funcionar como inibidores por se “enrolarem” nas proteínas parceiras

Proteínas naturalmente desenoveladas

IUPs: intrinsically unfolded proteins

- Podem funcionar como “linkers” entre domínios ou regiões de recrutamento de ligantes
- 1 IUP pode interagir com dezenas de parceiras



Dinâmica de proteínas

→ As proteínas “Pulsam” ou “respiram”

→ Medidas termodinâmicas mostram que as proteínas são “marginalmente” estáveis

- Proteínas de termófilos
- Mutações sítio-dirigidas
- Colágeno de diferentes espécies têm diferentes estabilidades

Movimentos intramoleculares

→ oscilações atômicas: deslocamento espacial das ligações levando variações de 0,01 – 1 Å com tempos de 10^{-15} - 10^{-11} seg.

→ movimentos coletivos de grupos de átomos covalentemente ligados de 0,01 – 5 Å com tempos de 10^{-12} - 10^{-13} seg. → Frequência variável.

→ ajuste induzido: deslocamento espacial de grupos/domínios com variações de 0,01 – 10 Å com tempos de 10^{-9} - 10^{-3} seg.

Dinâmica de proteínas

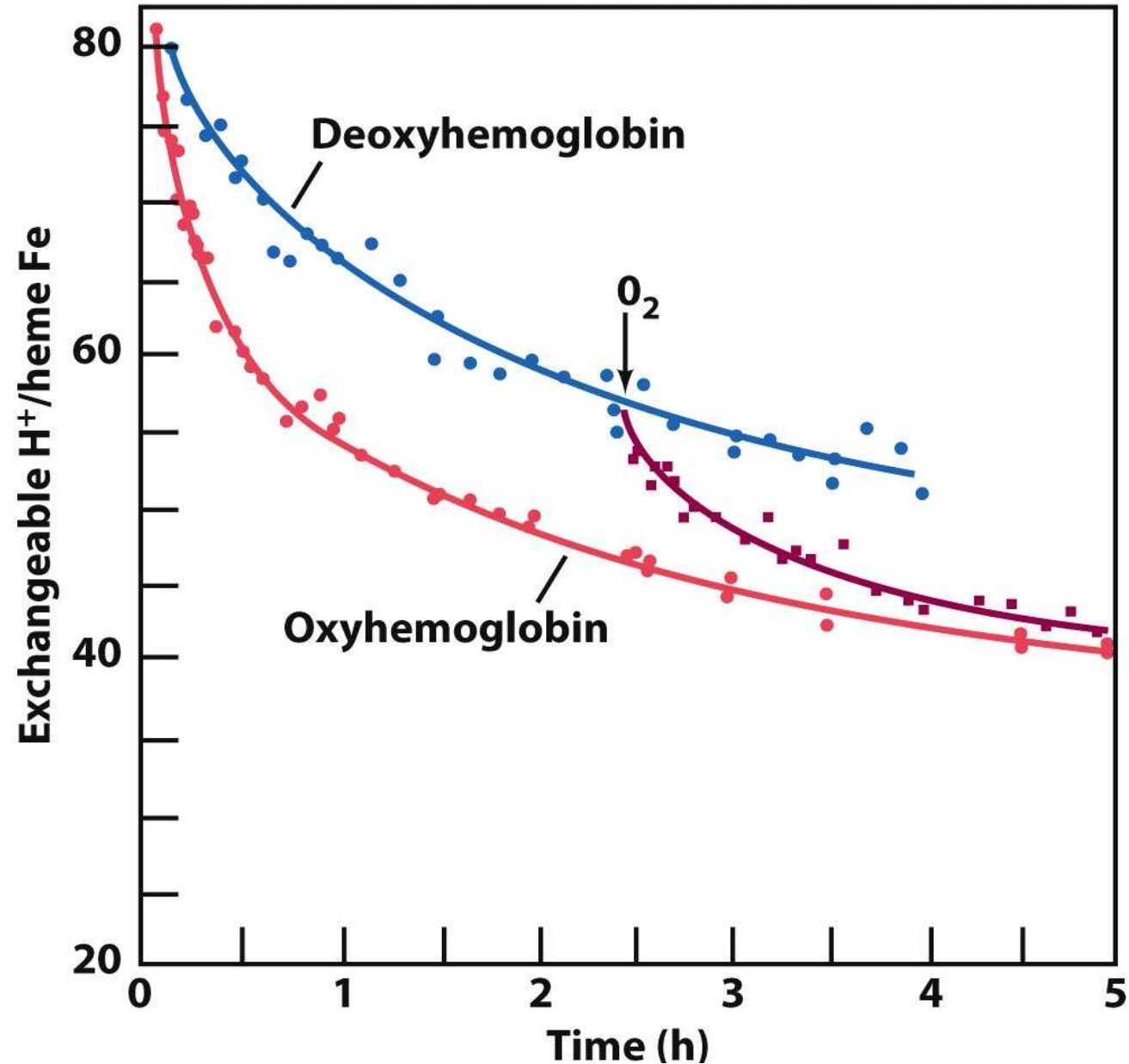
Experimentos de troca Trítio- H^+

- troca de deutério no núcleo

compacto da proteína dependente
de temperatura e tempo

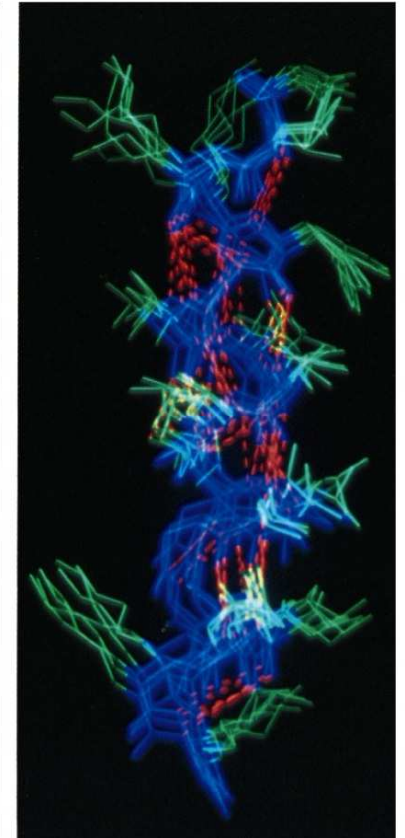
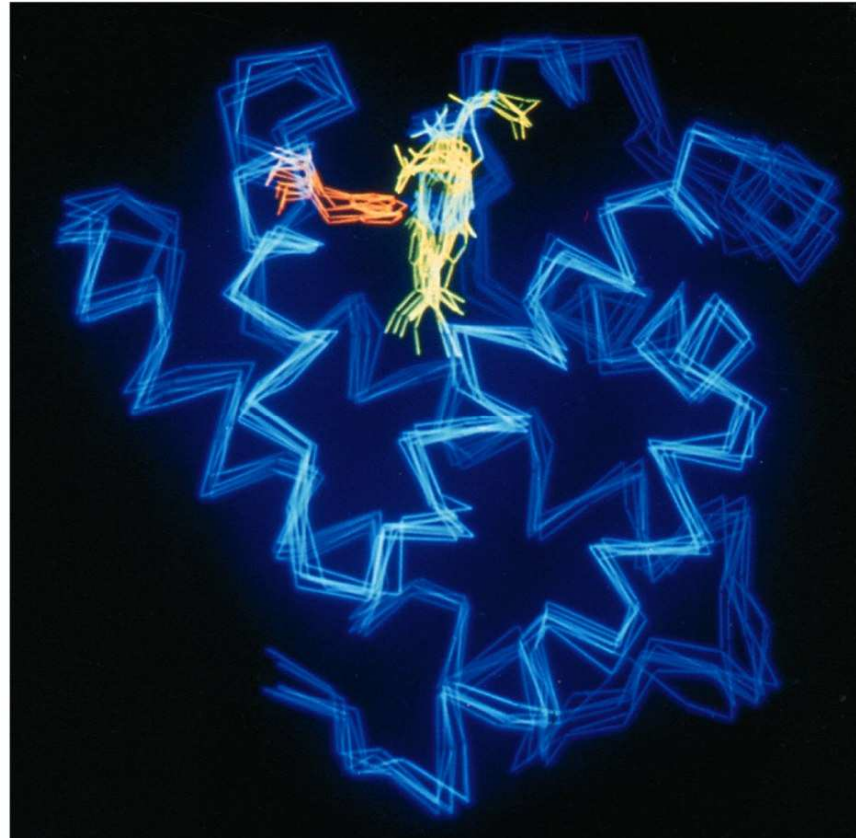
- desenovelamento local

transiente devido ao movimento
de inflar/desinflar



Dinâmica de proteínas

- estrutura por difração de Raios X → fotografia instantânea
- RMN → mais realístico



→ A estabilidade das proteínas é controlada para manter suas funções

→ Mudanças conformacionais e flexibilidade → estabilidade maior → rigidez

→ Permitir regulação por ligantes diversos → Alostéria → ativação e inativação regulada

→ Permitir rápida degradação → quanto maior a estabilidade mais difícil seria a degradação

→ Permitir transporte por membranas → os poros e canais são pequenos

→ Permitir o escape de armadilhas nas vias de enovelamento

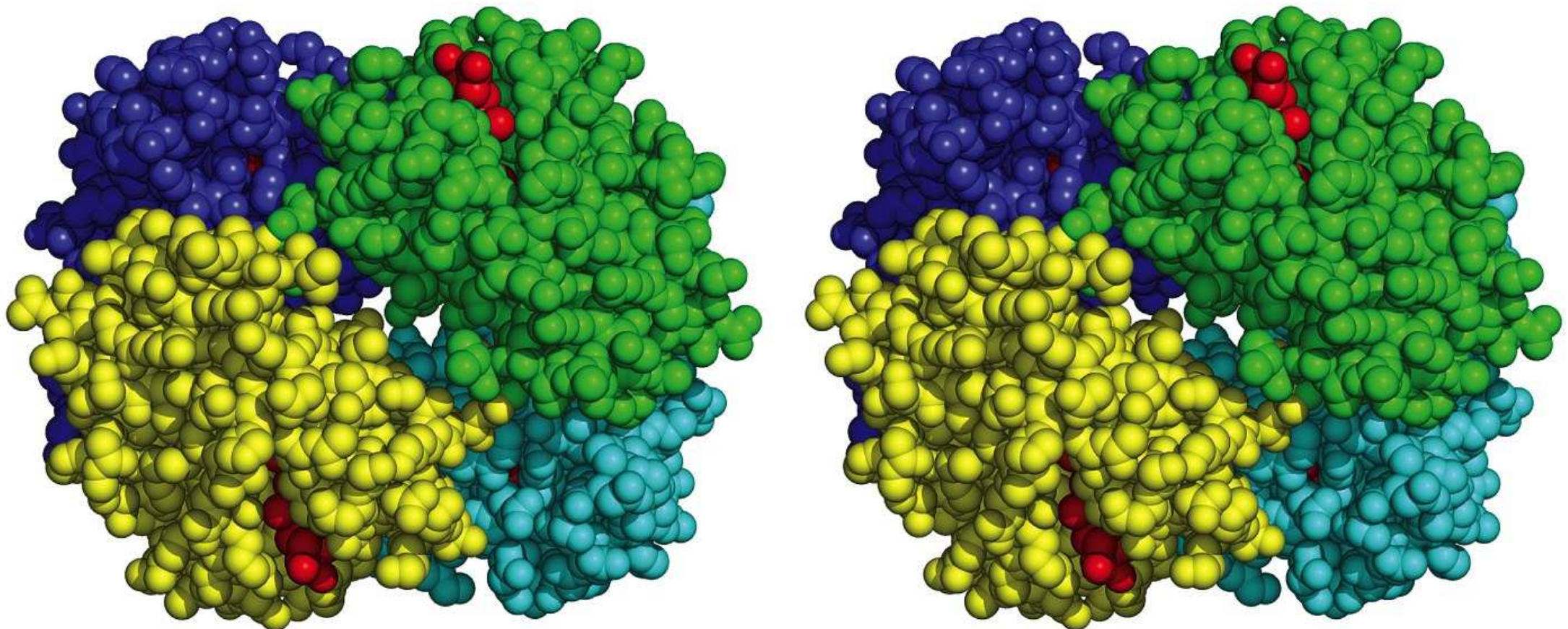
Estrutura Quaternária

Reunião de diferentes subunidades

Interações entre grupos laterais de cadeias diferentes

Mesmas interações que na estrutura terciária

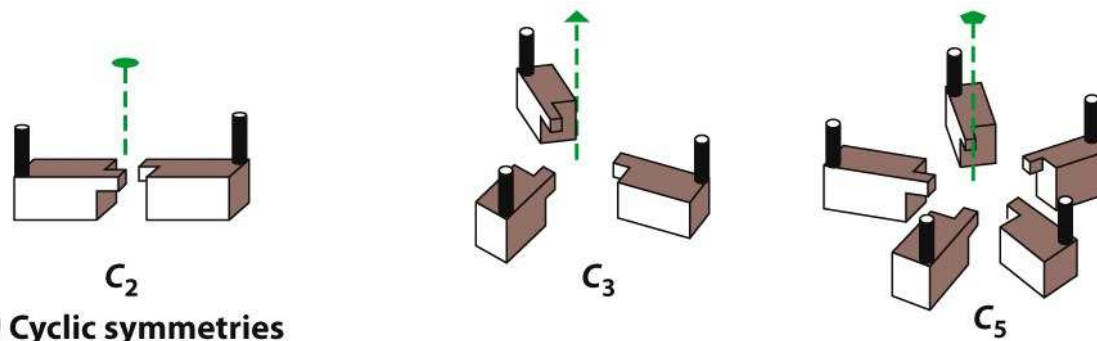
→ Possuem diversos eixos de simetria cristalina



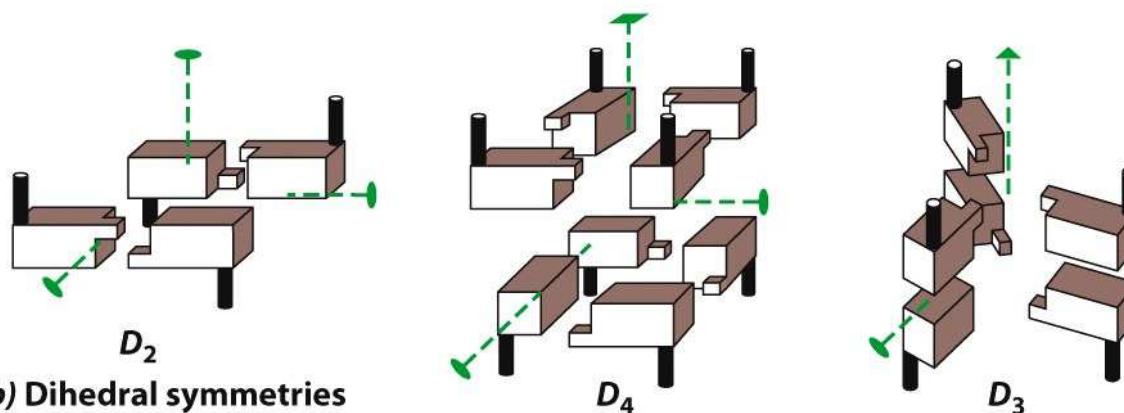
Holoemoglobina

Estrutura Quaternária

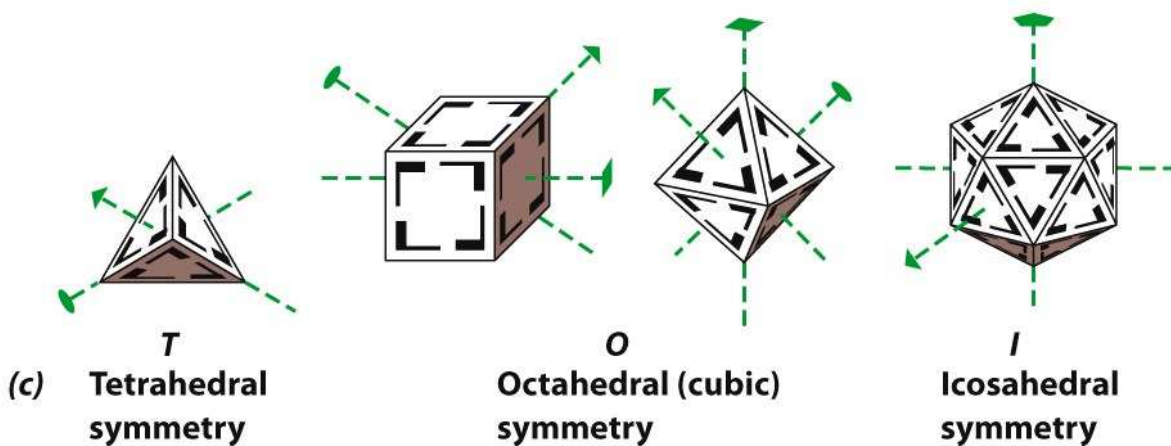
→ Possuem diversos eixos de simetria cristalina



(a) Cyclic symmetries

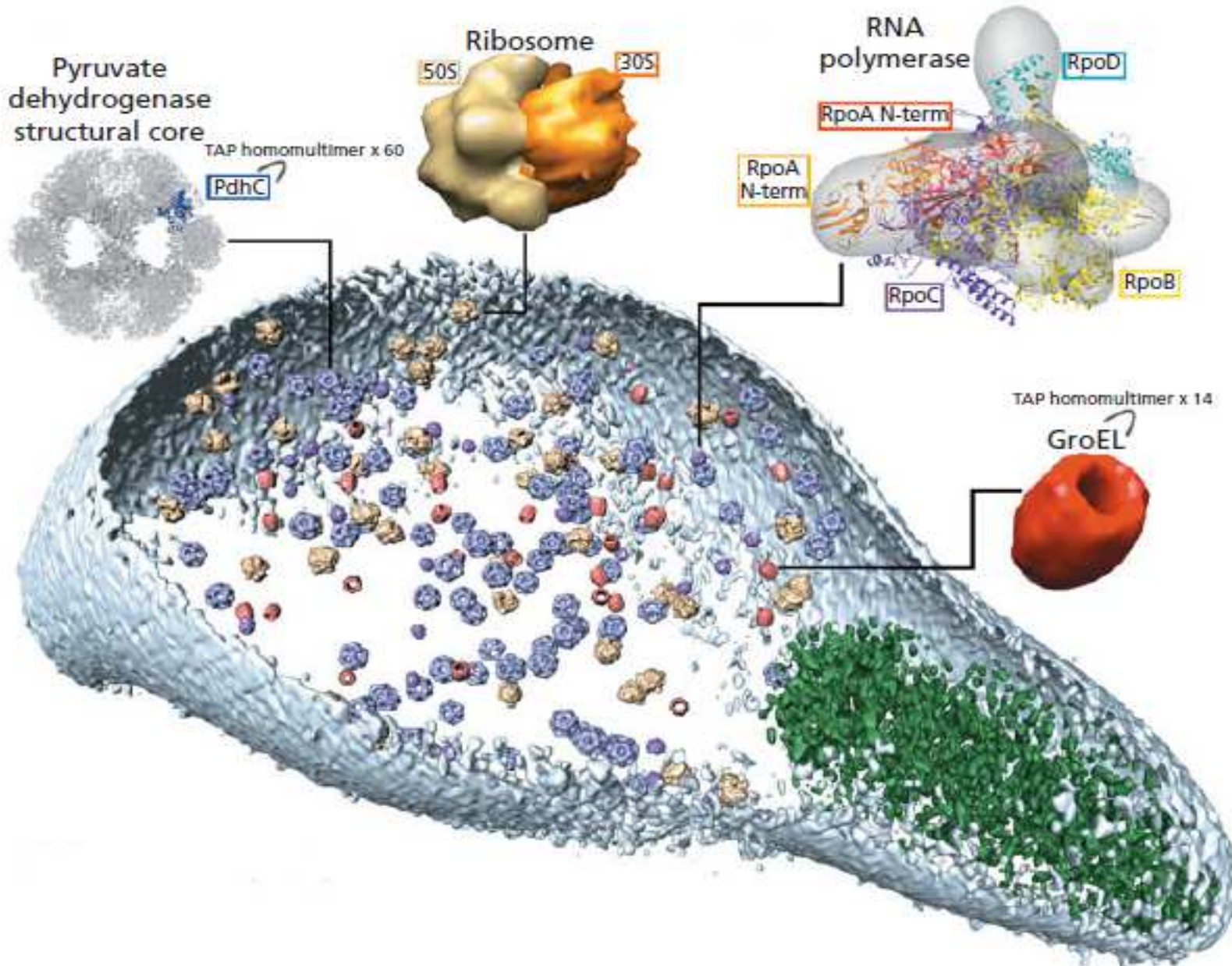


(b) Dihedral symmetries



Estrutura Quaternária

Reunião de diferentes subunidades



Complexos proteicos

Large protein complexes in the bacterium *Mycoplasma pneumoniae*. *M. pneumoniae* causes some forms of pneumonia in humans. This species has one of the smallest genomes known (689 protein-encoding genes). Most of those genes are likely to represent the minimum proteome of a living cell. The cell contains several large complexes found in all cells: pyruvate dehydrogenase (purple), ribosome (yellow), GroEL (red), and RNA polymerase (orange). It also contains a rod (green) found only in some bacteria. [Adapted from Kühner et al. (2009). Proteome organization in a genome-reduced bacterium. *Science* 326:1235–1240]

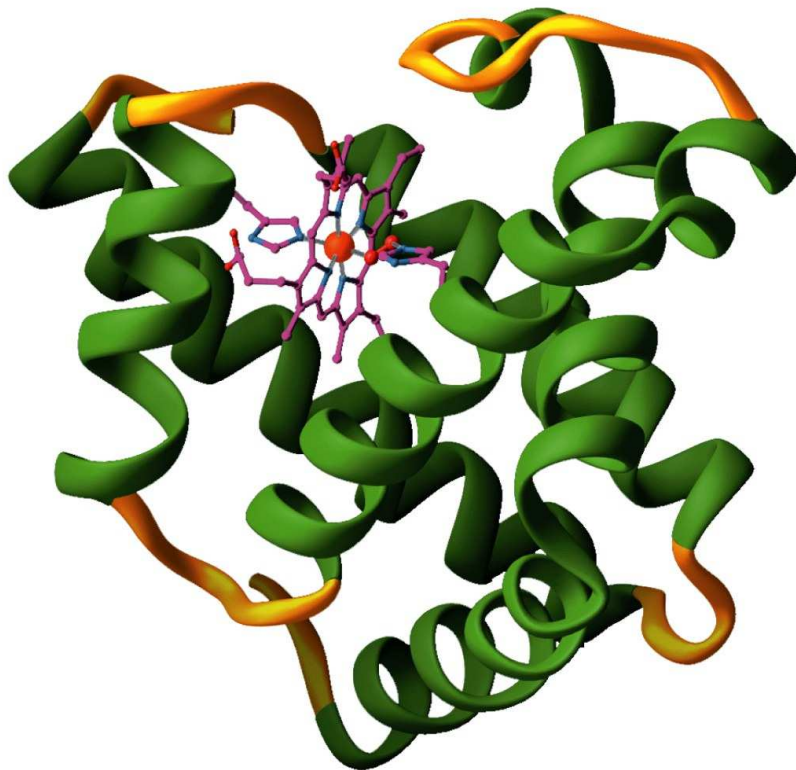
Proteínas Globulares

Proteínas assume uma forma aproximadamente esférica

→ A cadeia se enovela entorno de si mesma formando uma estrutura compacta

→ Geralmente solúveis em água

→ **Mioglobina e Triose fosfato isomerase**



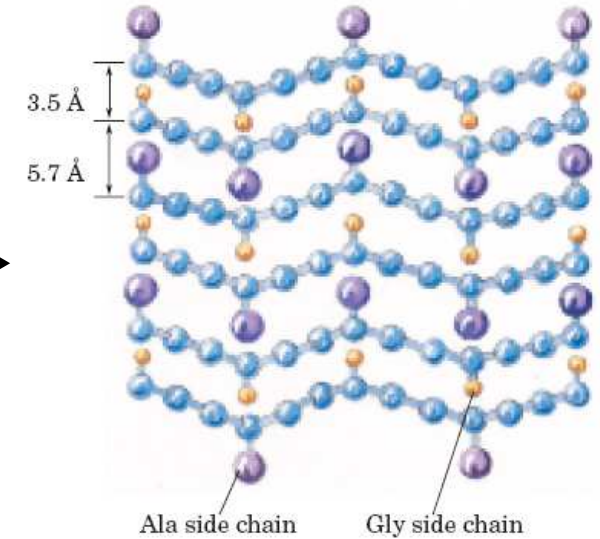
Proteínas Fibrosas

Proteínas filamentosas com a cadeia distendida ao longo de um eixo

- Função estrutural e de sustentação
- Insolúveis em água
- Colágeno e Queratina → helicoidal
- Fibroína (seda) → Folha β antiparalela

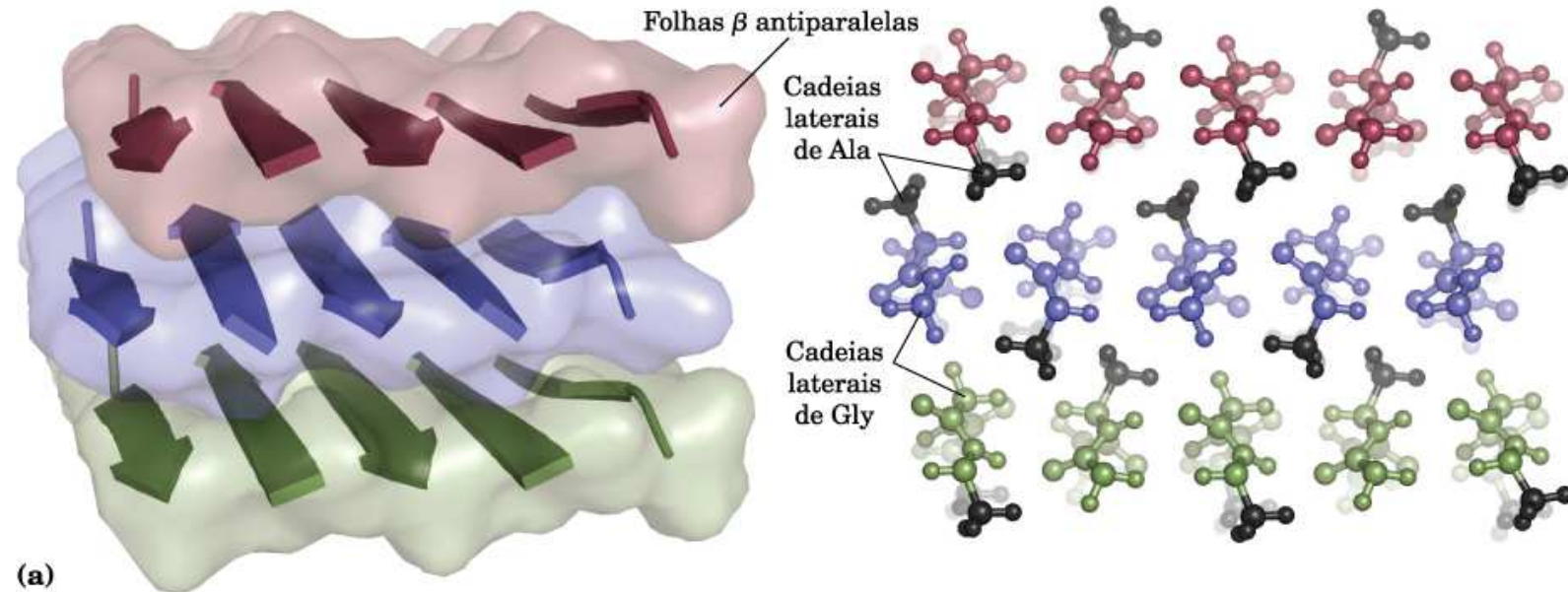
Presente em insetos e aranhas

Flexibilidade devido ao deslizeamento dos planos de folhas β



70 μm

Fiandeiras da aranha



Proteínas Fibrosas

→ Colágeno

→ Principal proteína de sustentação

→ 30 genes → 19 tipos diferentes de colágeno

- Tendões, cartilagens, matriz orgânica óssea e córnea

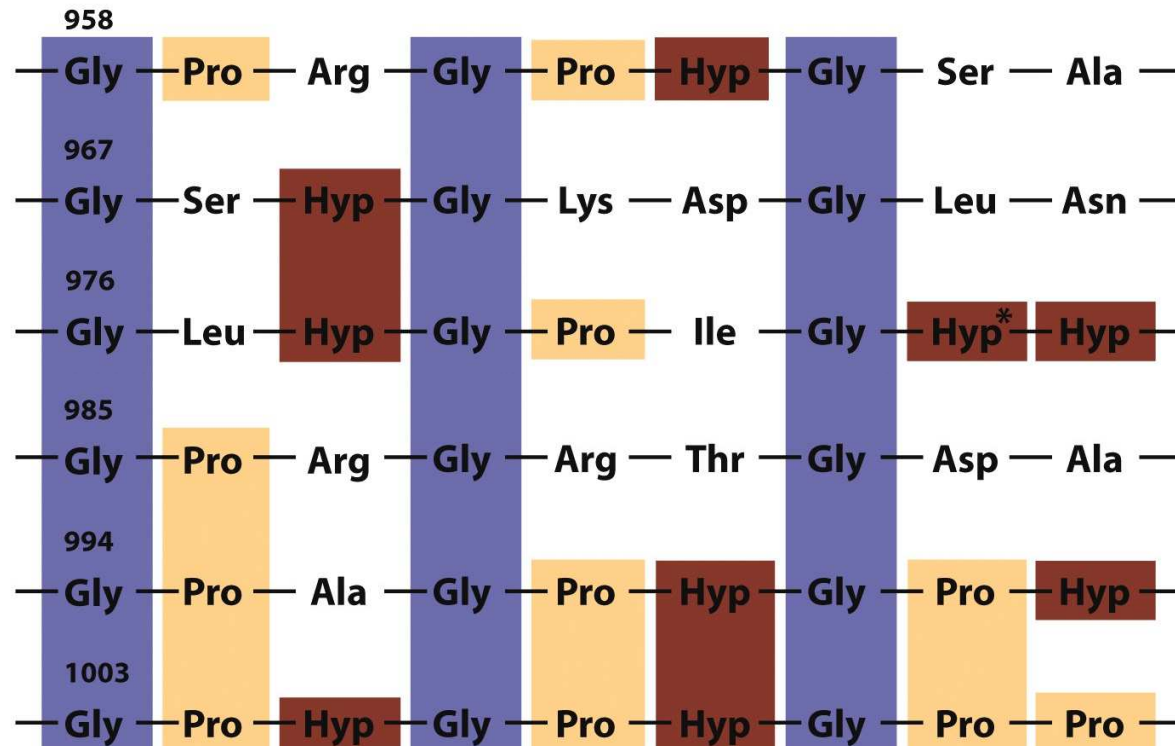
~ 1000 resíduos

35%= Gly

11%= Ala

21% = Pro ou Hyp

→ Baixo valor nutricional: gelatina



Repetição do tripeptídeo

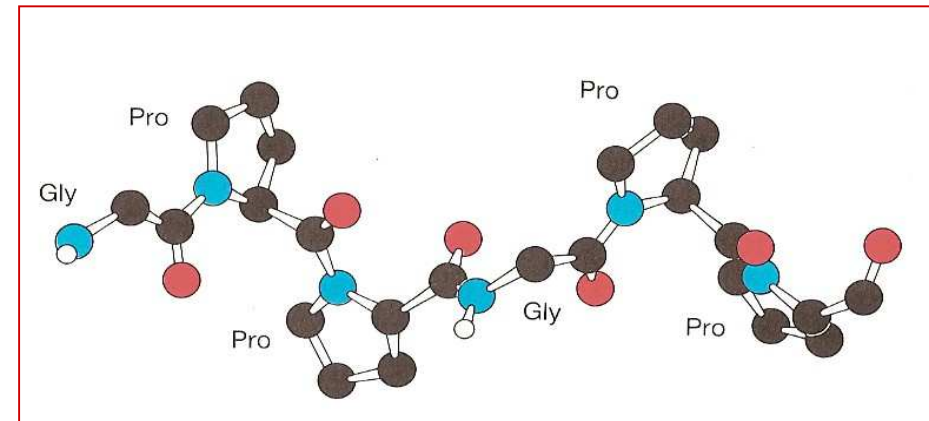
Gly-X-Y

X= Pro

Y= Hyp

→ Forma uma tripla-hélice a direita

Somente Gly pode ser acomodada entre as cadeias



Proteínas Fibrosas

→ Colágeno

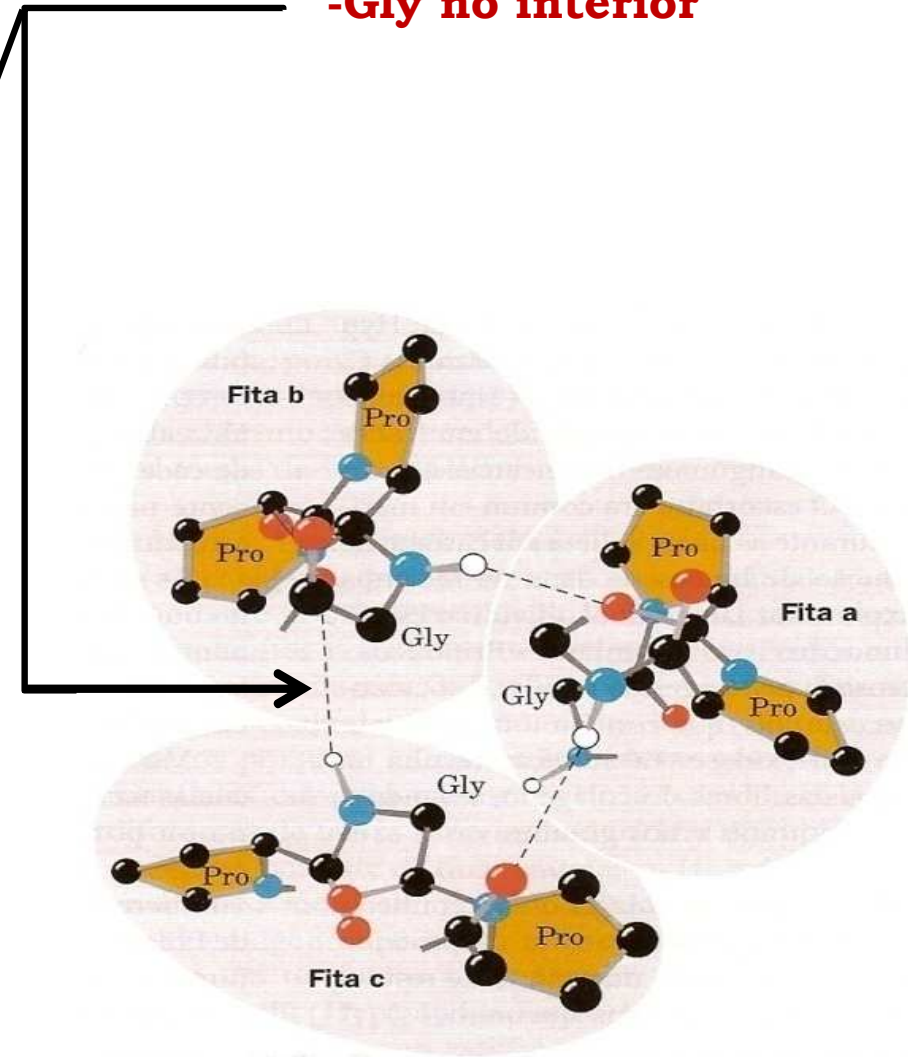
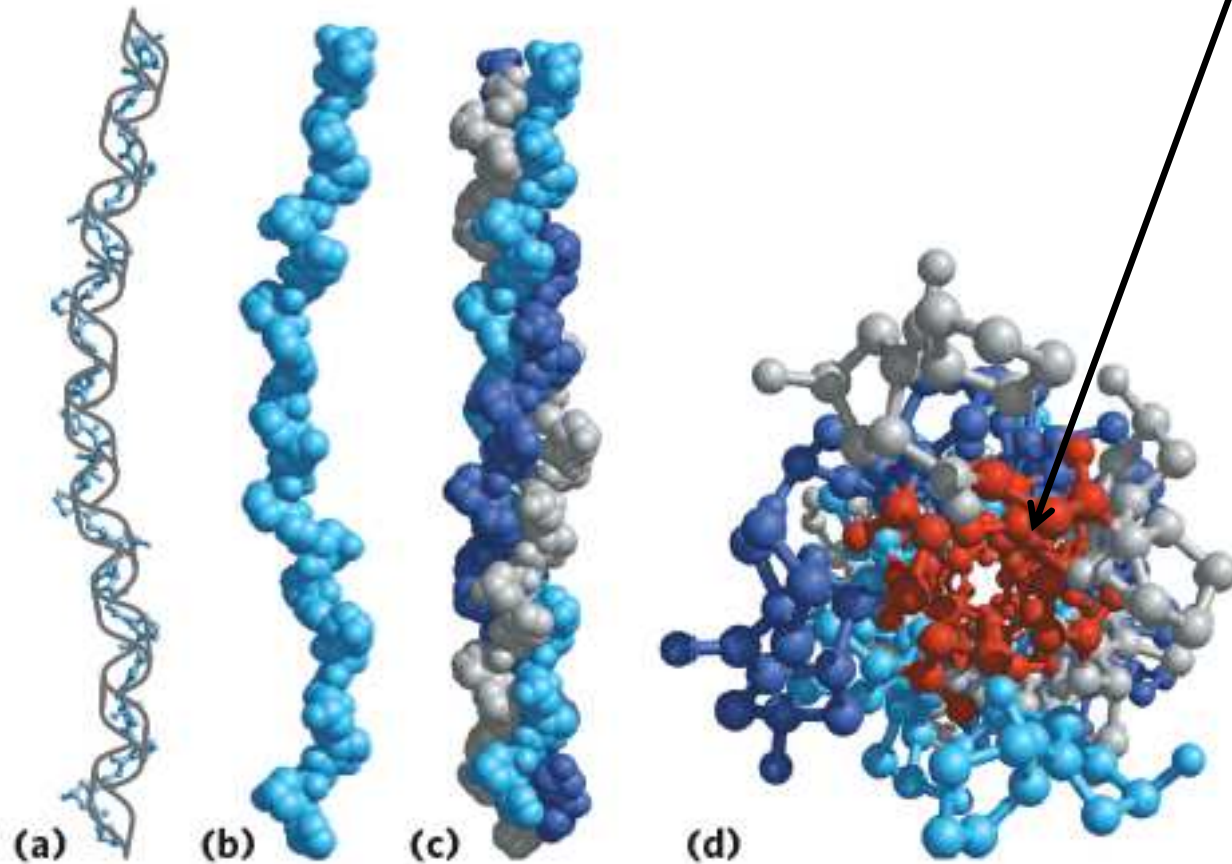
→ Hélice com volta à esquerda → cadeias alfa

→ Tripla-hélice com giro sutil à direita

- 3 cadeias supertorcidas entre si

→ 3 aminoácidos por volta:

-Gly no interior

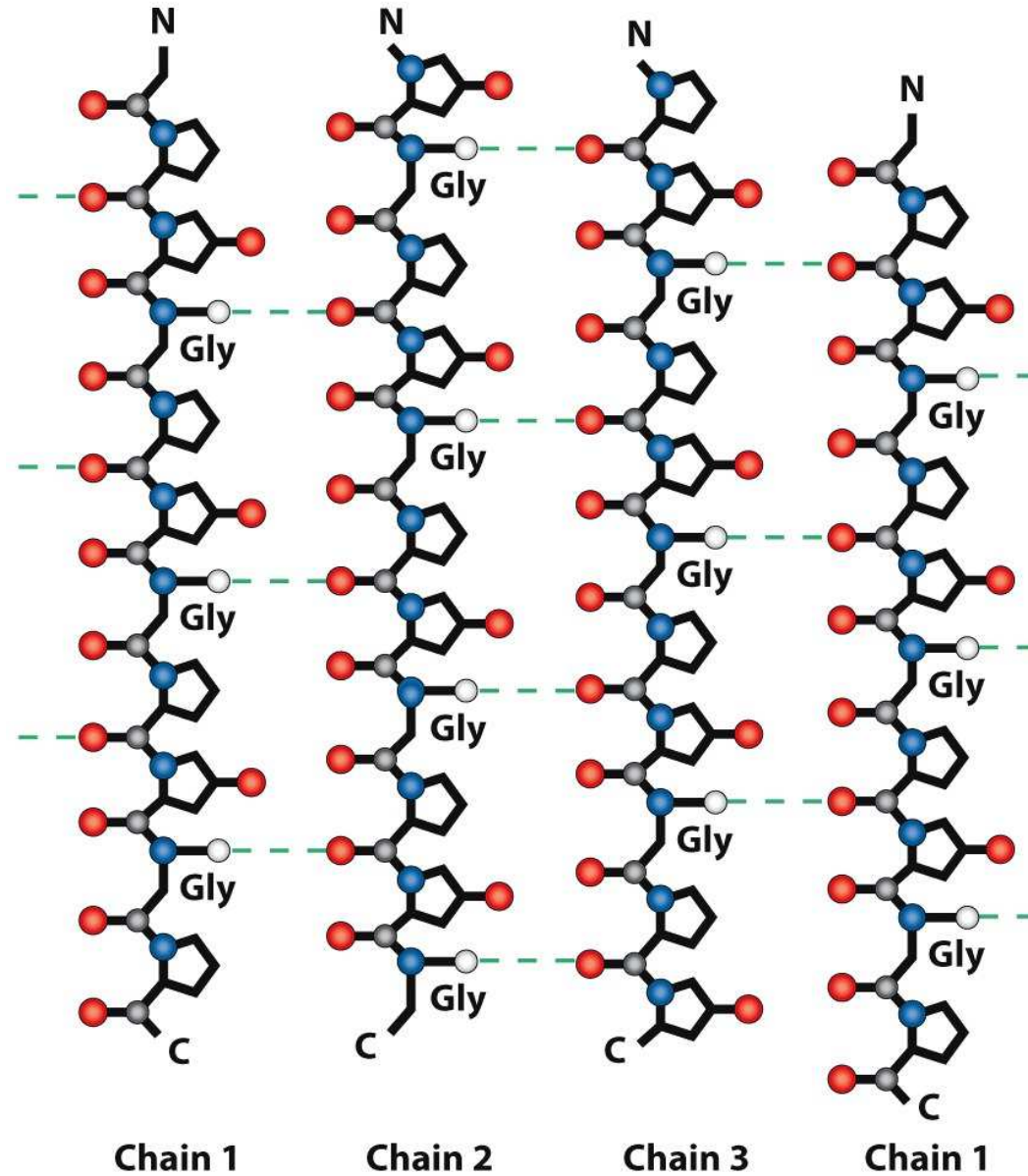
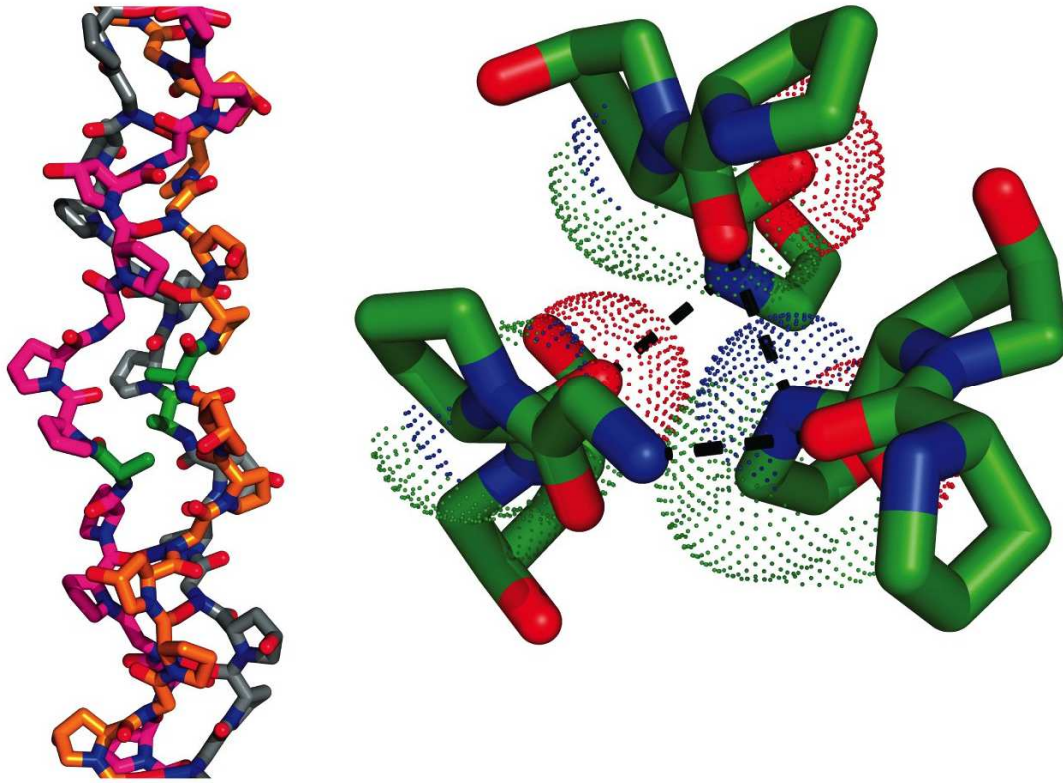


Proteínas Fibrosas

→ Colágeno

-ligações de H intercadeias

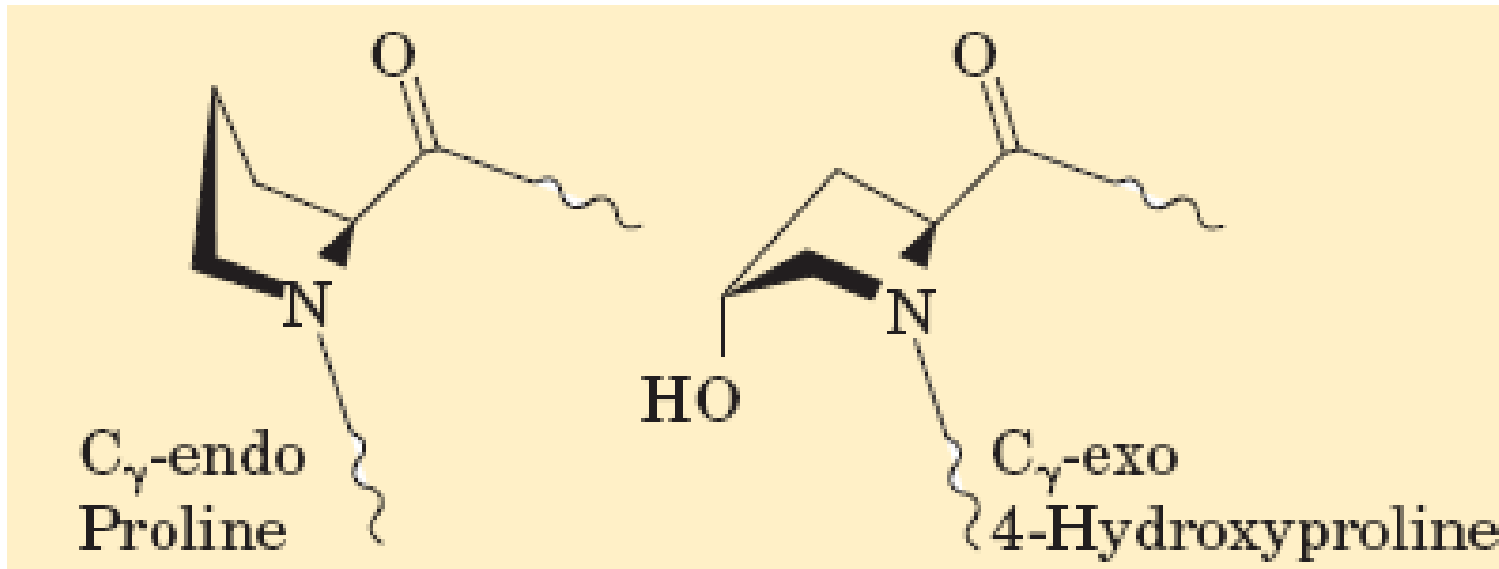
Pro e 4-Hyp induz torção acentuada da hélice



Proteínas Fibrosas

→ Colágeno

→ A Conformação do C gama da Pro e HyPro interferem no enovelamento da cadeia → G-P-HyP



Resistência térmica

Sem HyPro

Com HyPro

T_m 41°C

T_m 69°C

→ A reação de hidroxilação da Pro é independente de Vitamina C → Prolina-4-hidroxilase
- Entretanto, a mesma enzima participa de outra reação que gera Fe³⁺ → sem atividade HyPro

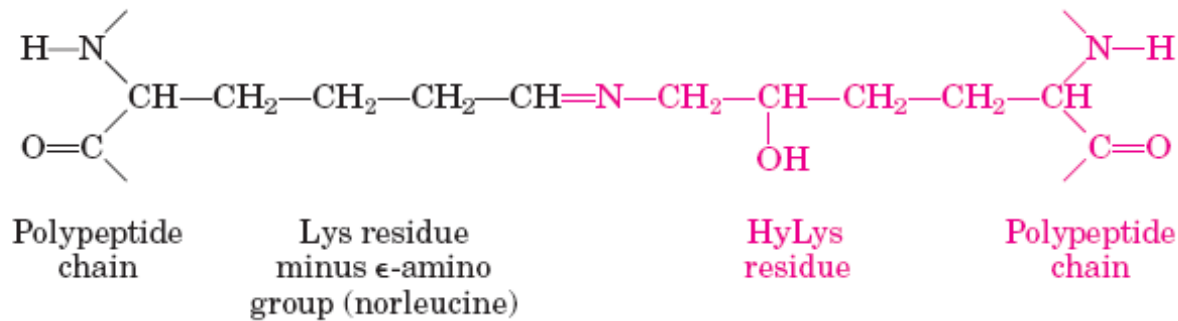
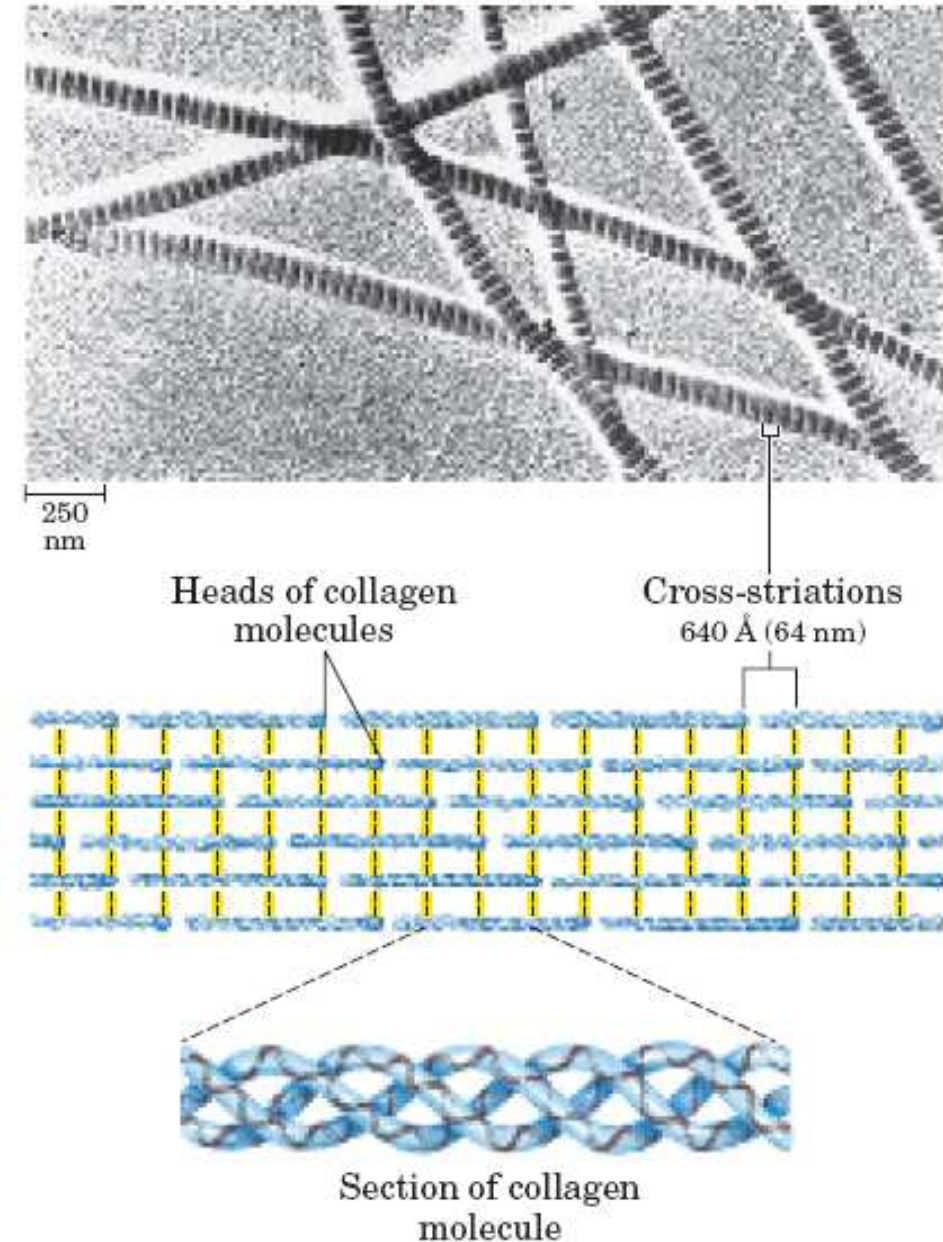
- A Vitamina C regenera o Fe²⁺

Proteínas Fibrosas

→ Colágeno

→ O entrelaçamento do colágeno suporta a pressão

→ Pontes covalentes entre Lys-HyLys



Dehydrohydroxylysinonorleucine

→ Acúmulo destas ligações causa perda de flexibilidade do colágeno

Proteínas Fibrosas

→ Alfa-Queratina

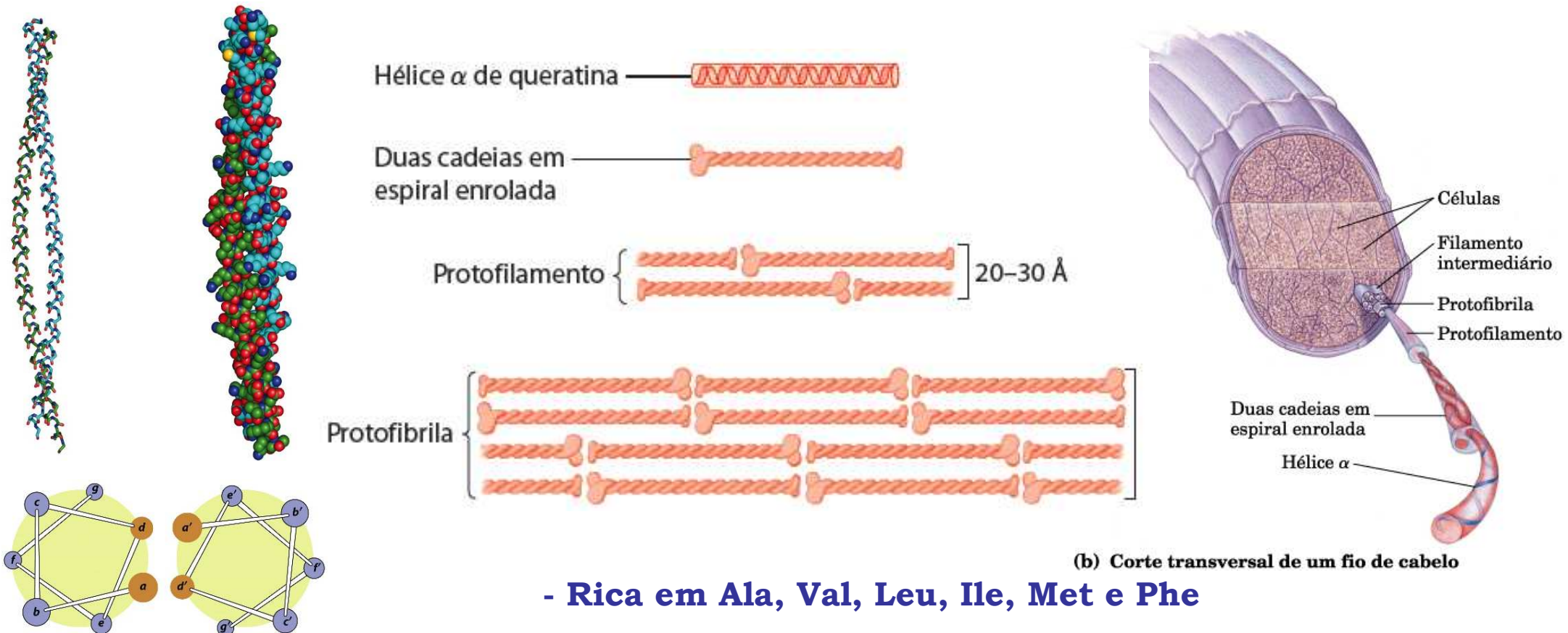
→ Mamíferos tem 50 genes para alfa-queratina → expressão tecido-específico

- proteína do cabelo, pelos, unhas, chifres, garras, cascos e camada externa da pele

- Conteúdo de Cys forma alfa-queratina com diferentes graus resistência

→ Forma uma hélice alfa a direita em um *Coiled-coil*: duas hélices alfa entrelaçadas

- Passo de 5,15-5,20 Å devido a torção de hélice



Classificação de proteínas

→ Proteínas simples

Compostas apenas por aminoácidos naturais

→ Proteínas Conjugadas

Contêm aminoácidos modificados ou outros grupos ligados

Grupo prostético (ex: grupo heme)

Holoproteínas → proteína + grupo prostético (ex: holomioglobina)

Apoproteínas → proteína sem o grupo prostético (ex: apomioglobina)

→ Proteínas monoméricas

Formada por apenas uma cadeia polipeptídica

Desprovidas de estrutura quaternária

Classificação de proteínas

→ Proteínas oligoméricas

Formadas por associações de subunidades polipeptídicas

Homo = associação de cadeias idênticas

Hetero = associação de diferentes cadeias

→ Proteínas Estruturais

Dão forma e sustentação ao organismo

Ex: colágeno

→ Proteínas Funcionais

Desempenham funções diversas

Ex: Catálise enzimática; transporte, defesa, etc.