

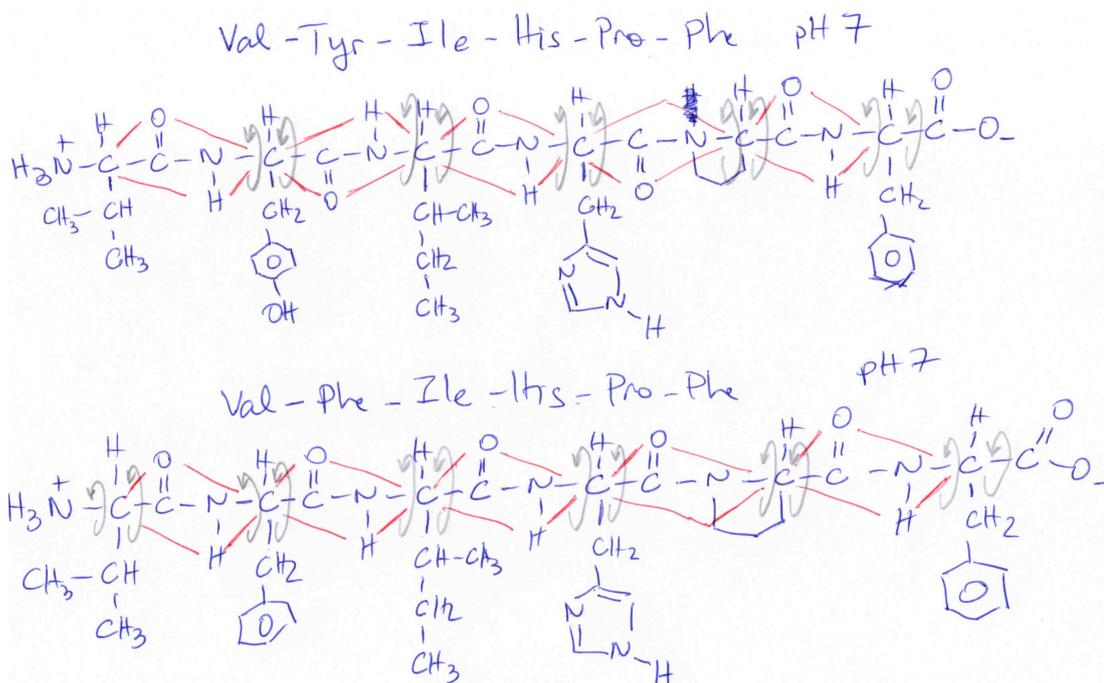
## QBQ1252 - Bioquímica Metabólica

### Prova 1

14/10/2016

1) A Angiotensina IV é um hexapeptídeo Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe que por muito tempo foi considerado biologicamente inativo. Depois descobriu-se que a Angiotensina IV tem uma ação inibitória sobre a enzima renina, que age sobre o substrato do sistema renina-angiotensina o qual é responsável pelo controle da pressão arterial. A síntese da Angiotensina IV gera um produto com 86% de pureza, e um subproduto contaminante que possui um resíduo de Phe no lugar da Tyr: Val- Phe -Ile-His-Pro-Phe.

- a) Desenhe a estrutura primária dos dois peptídeos (a Ang IV e o contaminante) com as cargas adequadas em pH 7. Identifique os átomos que formam o plano da ligação peptídica de cada aminoácido e indique os ângulos diedrais que orientam estes planos um em relação ao outro.



- b) Qual peptídeo (Ang IV ou subproduto) você espera que seja mais solúvel em água e por quê?

A Ang IV, Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe, deve ser um ligeiramente mais solúvel em água do que o subproduto (Val-Phe-Ile-His-Pro-Phe) devido à troca de uma cadeia lateral polar e com um grupo OH capaz de fazer ligações de hidrogênio com a água (a tirosina) por outro hidrofóbico, volumoso e incapaz de fazer ligações de hidrogênio com a água (fenilalanina)

2) Estudos de ressonância magnética nuclear (RMN) mostraram que um peptídeo de poli-Lisina não possui estrutura definida em pH 7 mas assume uma conformação de alfa-hélice quando o pH é aumentado para 10.

- a) O que pode explicar a dependência da conformação da poli-lisina com o pH?

A ionização do grupo amina presente na cadeia lateral da lisina explica a dependência da conformação da poli-lisina com o pH. Em pH abaixo do pKa, estes grupos estão protonados e a repulsão entre as cargas positivas desestabiliza a hélice. Em pH acima do pKa, os grupos estão desprotonados, conseqüentemente a hélice torna-se mais estável. Lembre-se que o pKa da lisina em um polycation é provavelmente menor que o pKa da lisina isolada em água (~10.8)

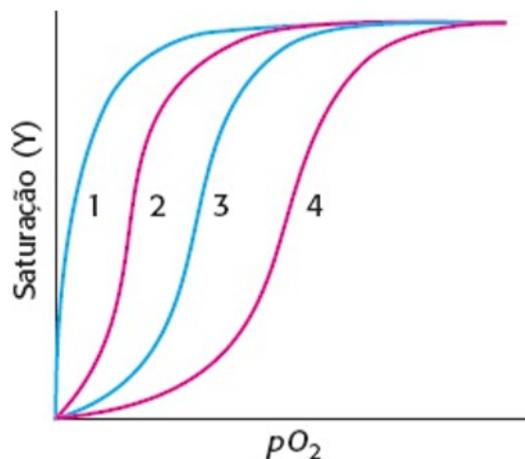
- b) Qual será a dependência da conformação do poli-glutamato com o pH? Explique.

Será análoga à dependência observada para a poli-lisina, mas o comportamento é invertido. O poli-glutamato forma uma alfa-hélice em pHs abaixo do pKa. Nesta situação os grupos de ácido carboxílico da cadeia lateral do glutamato estão protonados e conseqüentemente sem carga. A alfa-hélice será desestabilizada em pHs acima do pKa quando estes grupos estiverem ionizados, conseqüentemente com carga negativa. A repulsão eletrostática entre as cadeias laterais desestabiliza a hélice.

- c) Descreva um alfa-hélice

Estrutura secundária regular, conformação helicoidal, gira para a direita. As cadeias laterais encontram-se voltadas para fora da hélice, enquanto que os grupos polares do esqueleto polipeptídico encontra-se dentro da hélice. Esta conformação é estabilizada por ligações de hidrogênio entre a CO da cadeia principal do aminoácido "i" e o grupo HN da cadeia principal do aminoácido "i+4", sendo que a direção das ligações de hidrogênio é aproximadamente paralela ao eixo longo da hélice. Os ângulos diedrais  $\phi$  e  $\psi$  são aproximadamente  $-57^\circ$  e  $-47^\circ$ , respectivamente. São necessários aproximadamente 3,6 aminoácidos para completar uma volta, equivalente a uma distância de 5,4 Å ao longo do eixo da hélice

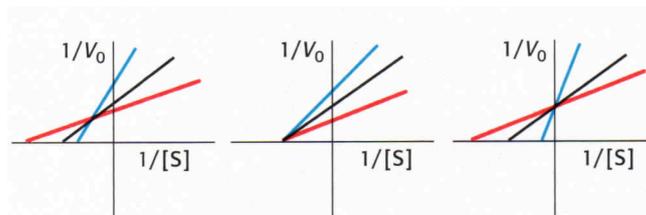
- 3) A ilustração abaixo mostra várias curvas de dissociação do oxigênio. Suponha que a curva 3 corresponda à hemoglobina com concentrações fisiológicas de CO<sub>2</sub> e 2,3-BPG em pH 7. Que curvas representam cada uma das seguintes perturbações?



- a) Aumento de 2,3-bifosfoglicerato (2,3 BPG) – curva 4, pois o aumento da concentração de 2,3-BPG, um efetor alostérico da hemoglobina, diminui a afinidade pelo oxigênio
- b) Aumento do pH – curva 2 pois o aumento do pH leva ao aumento da afinidade (efeito Bohr). Este é um mecanismo adaptativo. Em tecidos com alta atividade metabólica, o metabolismo de carboidratos acelerado leva à diminuição do pH e consequentemente à maior liberação de oxigênio pela hemoglobina. O efeito reverso é observado com aumento do pH.
- c) Perda da estrutura quaternária – curva 1 pois a cooperatividade da hemoglobina depende da interação entre as quatro subunidades ( $\alpha_2\beta_2$ )

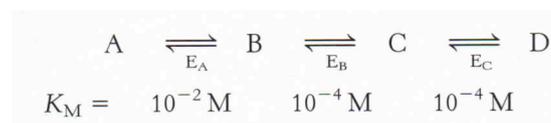
4)

a) As velocidades de uma determinada reação enzimática foram determinadas com três diferentes concentrações de enzima. Os gráficos de duplo-recíproco determinados são mostrados abaixo. Qual conjunto de três curvas seria obtido? Explique porque.



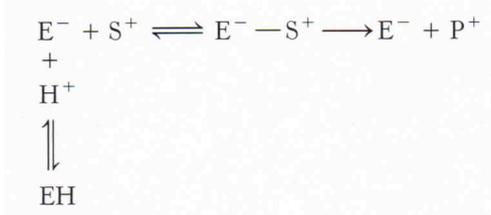
O único fator que variou entre os três experimentos foi a quantidade total de enzima. Por isso, o conjunto obtido seria o conjunto do meio, pois é o único que indica aumento de  $V_{max}$  enquanto o  $K_M$  permanece constante

b) Uma dada via metabólica utiliza quatro reações enzimáticas para converter a molécula A em D. As enzimas  $E_A$ ,  $E_B$  e  $E_C$  possuem os valores de  $K_M$  indicados na figura abaixo. Se todos os substratos e produtos estão presentes na mesma concentração ( $10^{-4}$  M), e as quatro enzimas possuem aproximadamente o mesmo  $V_{max}$ , qual será a etapa determinante do fluxo de metabolitos através da via? Por quê?

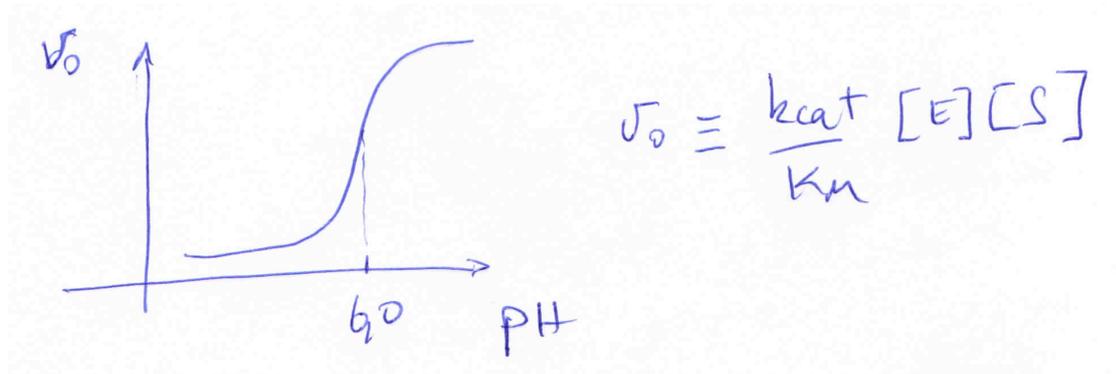


As enzimas  $E_B$  e  $E_C$  estão operando a uma velocidade igual à metade da velocidade máxima, pois a concentração de substrato é igual ao  $K_M$ . No caso da enzima  $E_A$ , a concentração de substrato é 100x menor do que o  $K_M$ , o que indica que ela estaria trabalhando a uma velocidade aproximadamente 100x menor do que a  $V_{max}$ . Dessa forma, a primeira etapa é a etapa lenta e determinante do fluxo de metabolitos através da via.

c) Uma determinada enzima possui um grupo ionizável que deve necessariamente estar carregado negativamente para a ligação do substrato e para a catálise ocorrer. O pKa deste grupo ionizável é 6,0. Um experimento para medir a velocidade da reação catalisada pela enzima foi realizado, sendo que o substrato está carregado positivamente durante toda a faixa de pHs utilizada no experimento.



- i) Desenhe a curva de velocidade inicial de reação em função do pH em concentrações baixas de substrato ( $\ll K_M$ )  
 O gráfico será equivalente à curva de titulação da enzima



- ii) Em qual pH a velocidade igual à metade de  $V_{max}$  é atingida?  
 No pKa do grupo ionizável da enzima, ou seja, em pH 6,0 quando metade das moléculas de enzima estarão carregadas negativamente e a outra metade estará sem carga. Neste pH a concentração de molécula de enzima disponíveis para a catálise equivale à metade da concentração total