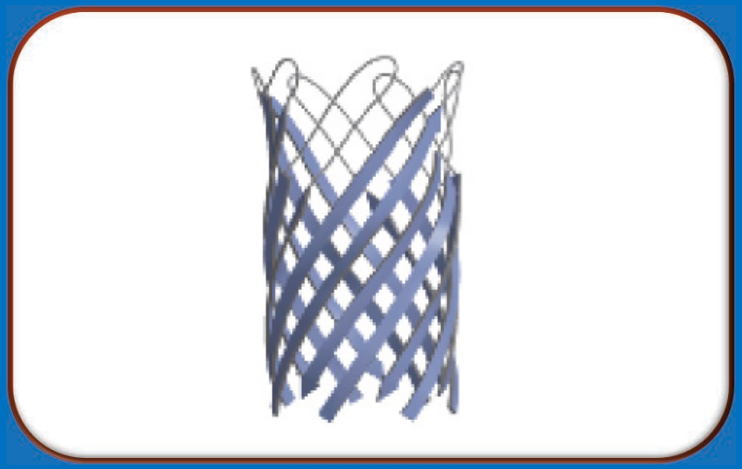


PROTEÍNAS: ESTRUTURA & FUNÇÃO – PARTE 2

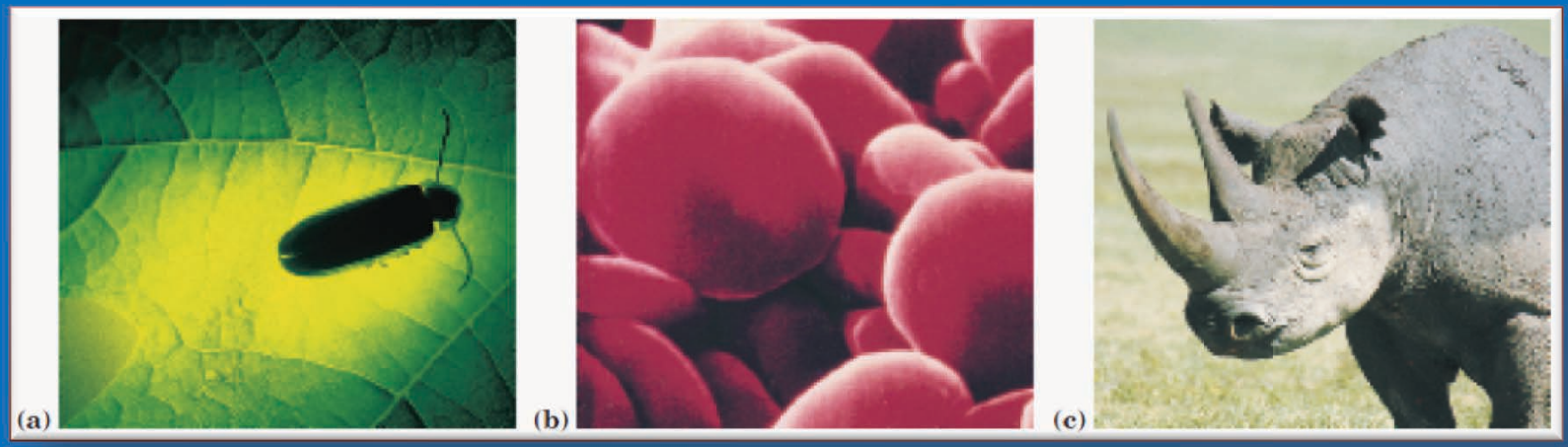
11-AGO-2017

QBQ-0230

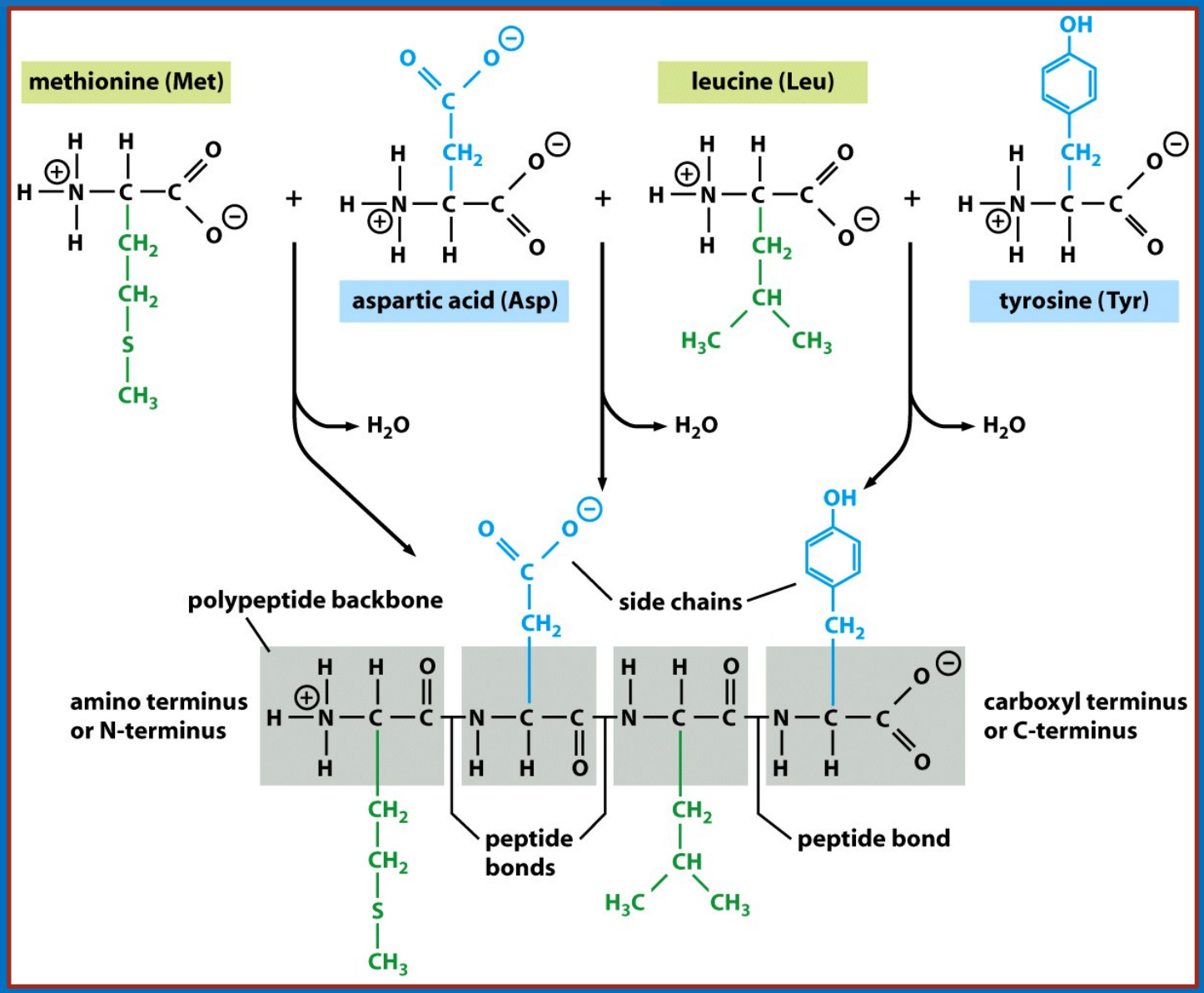
Bioquímica do Metabolismo – Biologia Noturno

Aminoácidos, peptídios e proteínas

- As proteínas são responsáveis por praticamente todos os processos que acontecem numa célula.
- Elas apresentam propriedades e funções quase 'infinitas'.
- As proteínas são as macromoléculas biológicas mais abundantes, presentes em todas as células.
- Proteínas são polímeros compostos pela combinação de 20 aminoácidos.
- Todas as proteínas, sejam humanas ou de bactérias, são compostas dos mesmos 20 aminoácidos.
- O mais impressionante é que as células podem produzir, a partir dos mesmos 20 aminoácidos, proteínas com propriedades absolutamente distintas.
- Por exemplo, destes 20 componentes, as células produzem enzimas, hormônios, anticorpos, a hemoglobina que transporta oxigênio, as fibras musculares, a lente dos olhos, penas, teia de aranha, o chifre do rinoceronte, unhas, e as proteínas do leite, para citar alguns exemplos.
- As enzimas, por exemplo, são os catalisadores de praticamente todas as reações biológicos.



Polipeptídeos e proteínas

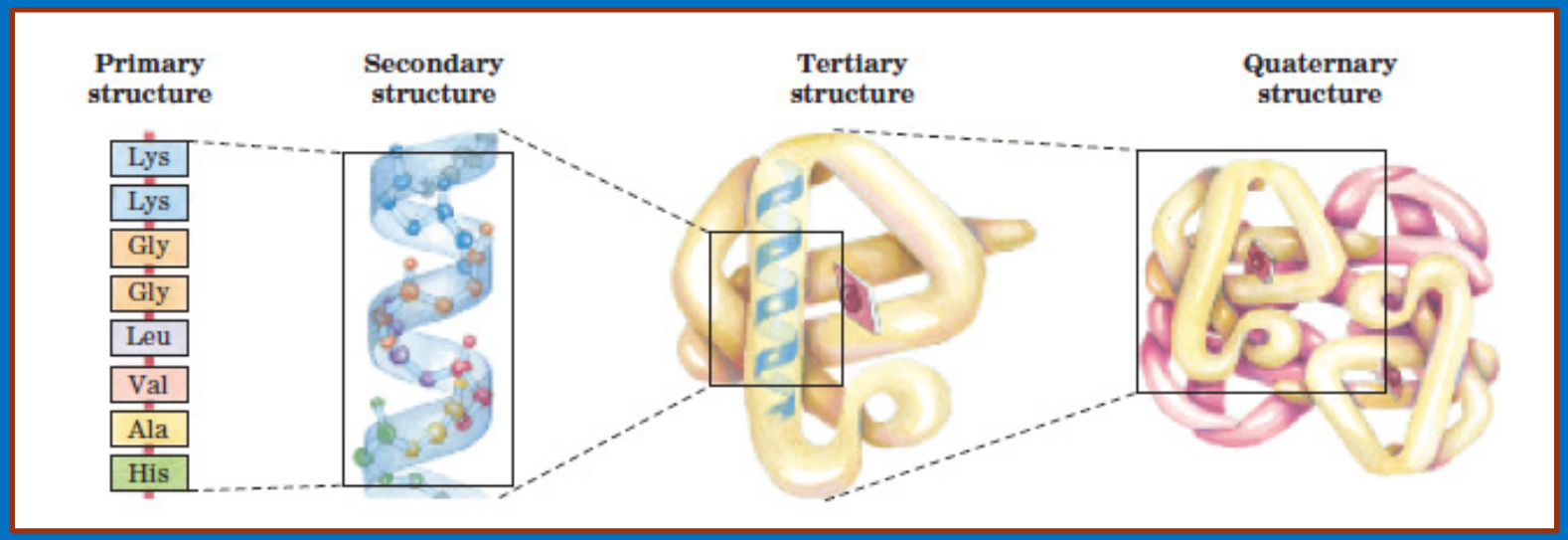


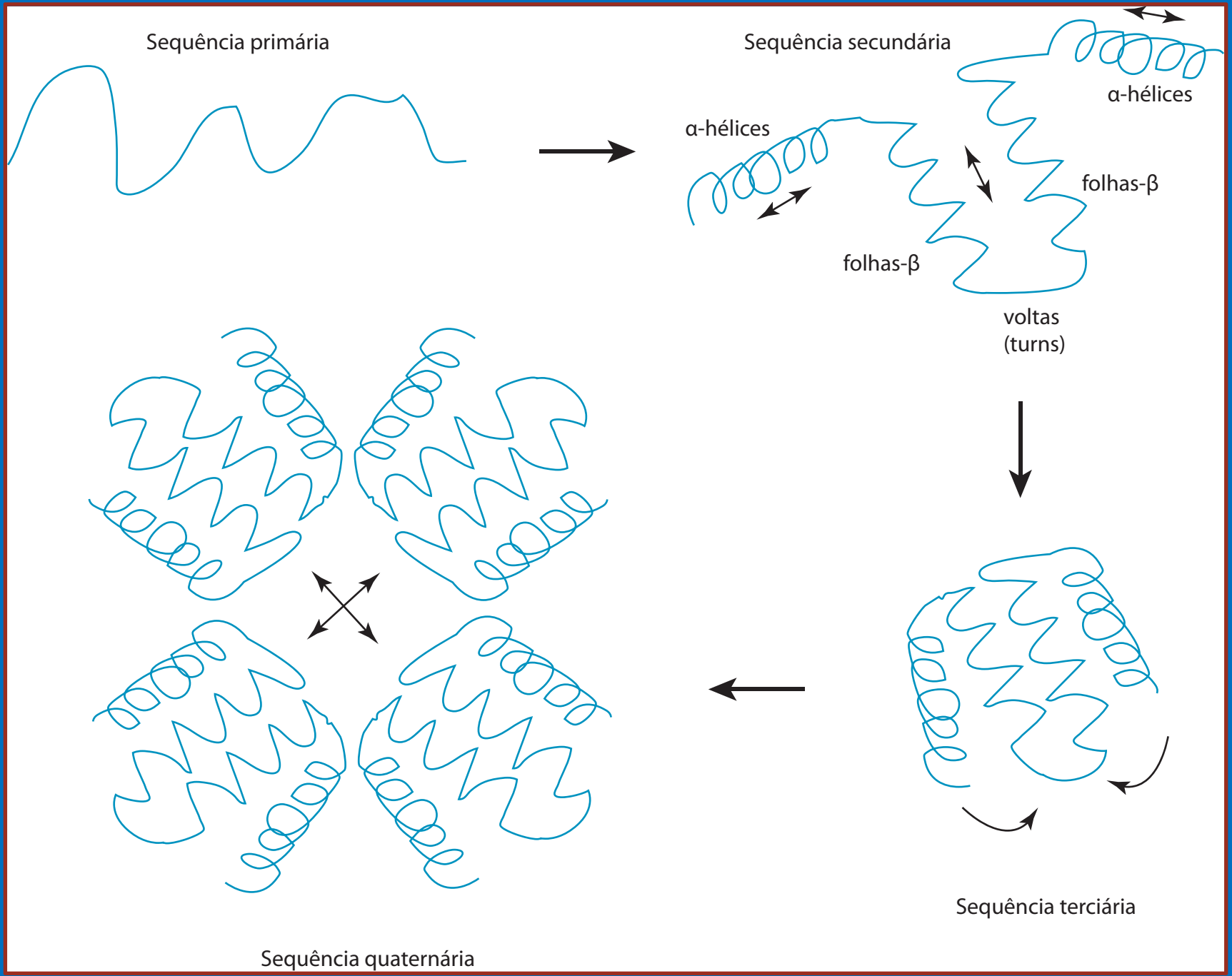
Qual é a dimensão da diversidade biológica ?

- O tamanho médio de uma proteína é de 375 aminoácidos.
- Como existem 20 aminoácidos, as possibilidades são de $20^{375} = 7 \times 10^{487}$ proteínas diferentes.
- O número de átomos no universo é estimado em ~ 10^{80}!

Estrutura de proteínas

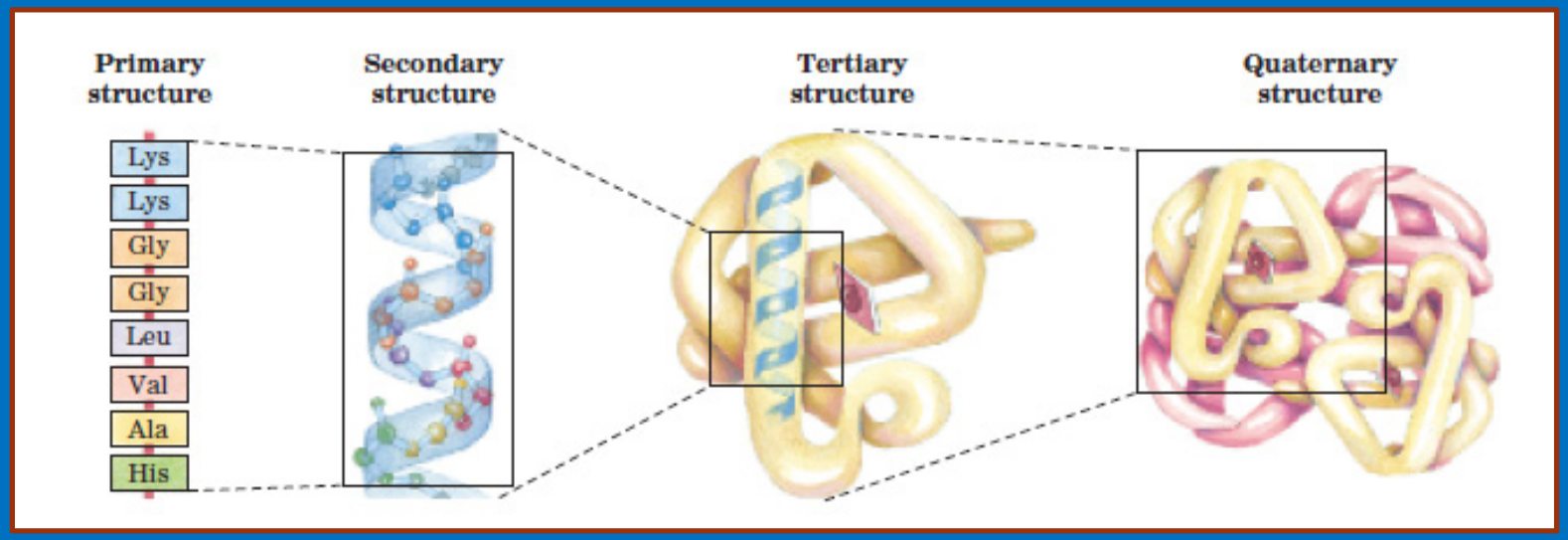
- Proteínas com dezenas ou centenas de aminoácidos poderiam assumir qualquer estrutura no espaço.
- Porém, isto não é o que se observa na prática.
- Cadeias polipeptídicas se organizam em estruturas comuns, dando origem a diversos formatos de proteínas.



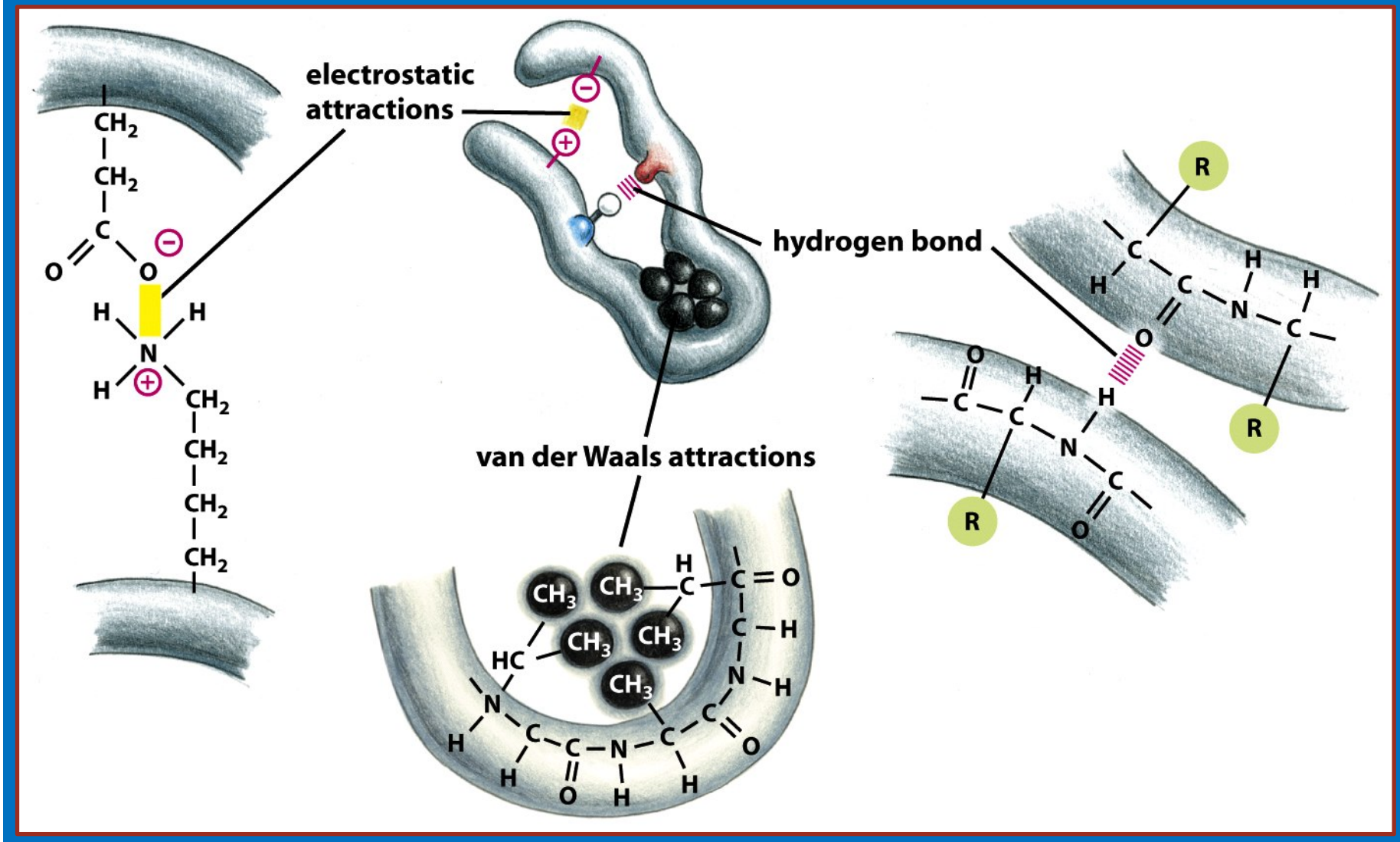

Sequência primária
Sequência secundária
α-hélices
α-hélices
folhas-β
folhas-β
voltas
(turns)
Sequência terciária
Sequência quaternária

Estrutura secundária.... e a terciária?

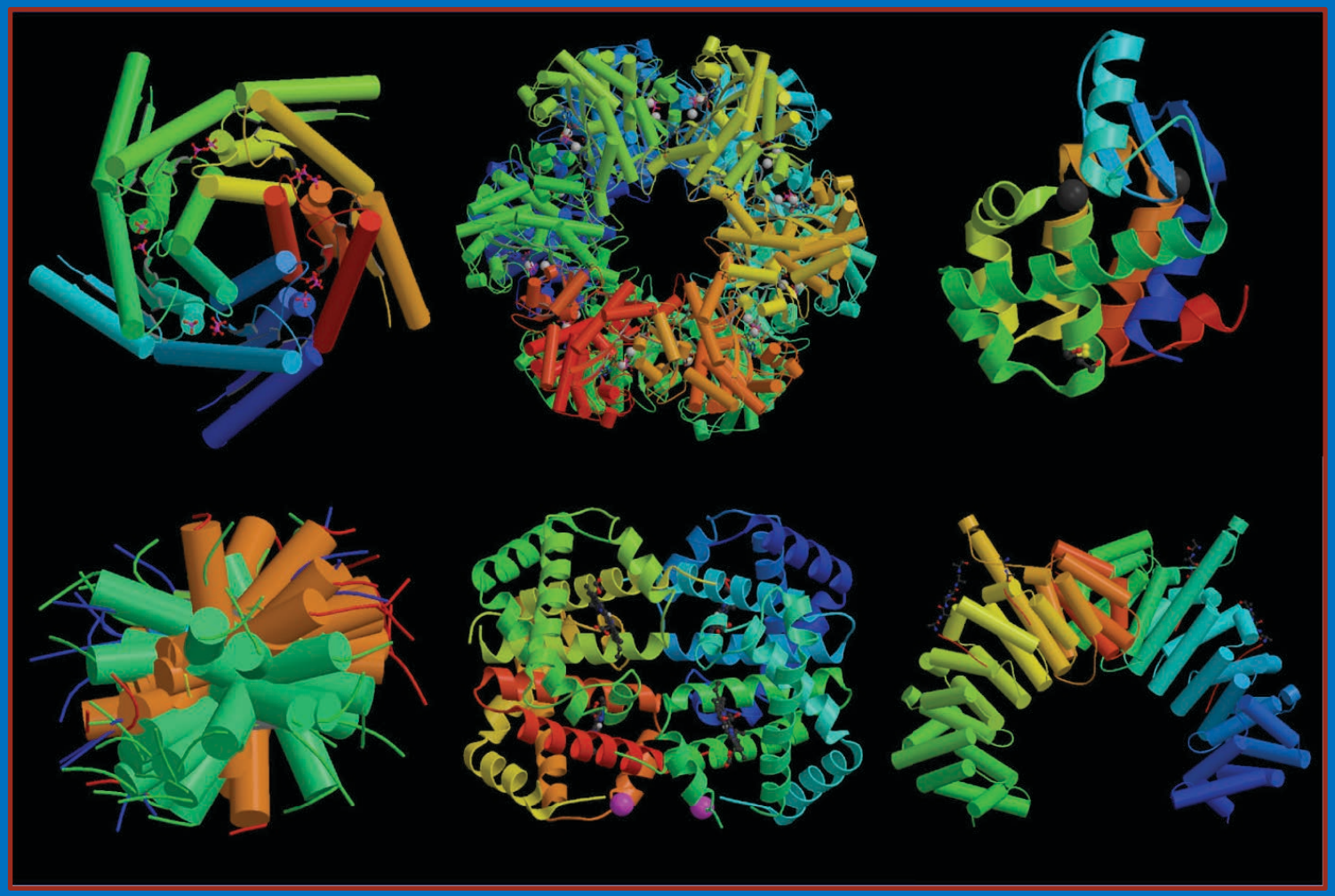
- A aula anterior, detalhamos a estrutura secundária (alfa-hélice e folha pregueada)
- Nesta aula, vamos discutir melhor estruturas terciárias e quaternárias e a suas implicações para a função das proteínas...



Estrutura de proteínas



Estrutura primária, secundária, terciária, etc...



Proteínas globulares e fibrosas

- Proteínas podem ser comparadas ao fio de um novelo.
- As proteínas globulares, são parecidas com o novelo, onde os fios estão enrolados e organizados.
- Já as proteínas fibrosas são iguais ao fio desenovelado.

As proteínas podem ser divididas em duas grandes classes:

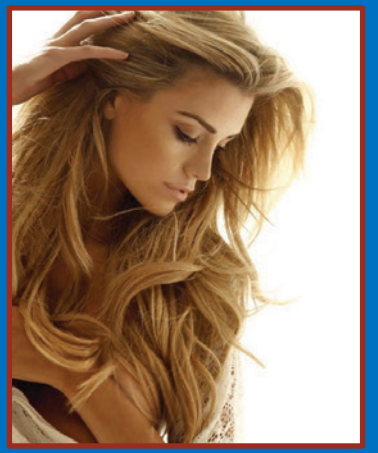
- As proteínas fibrosas (ou fibrilares) e
- As proteínas globulares

Proteínas globulares e fibrosas

- As proteínas pode se enovelar em diferentes formatos.
- Porém, 2 formatos principais podem ser identificados: proteínas globulares e proteínas fibrosas.
- As proteínas globulares são as mais diversas e se enovelam de uma forma mais compacta, com suas cadeias peptídicas organizadas em formatos mais ou menos esféricos.
- Já as proteínas fibrosas têm formatos alongados e são, geralmente, insolúveis.
- As proteínas fibrosas desempenham papel estrutural e são compostas de unidades repetitivas que se associam, permitindo a formação de grandes estruturas.

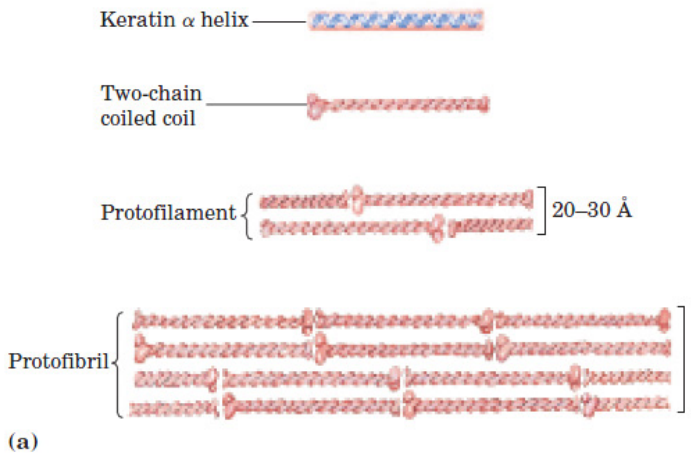
Proteínas fibrosas

- As proteínas fibrosas conferem resistência e/ou elasticidade.
- São sempre insolúveis devido ao seu alto conteúdo de aminoácidos hidrofóbicos.

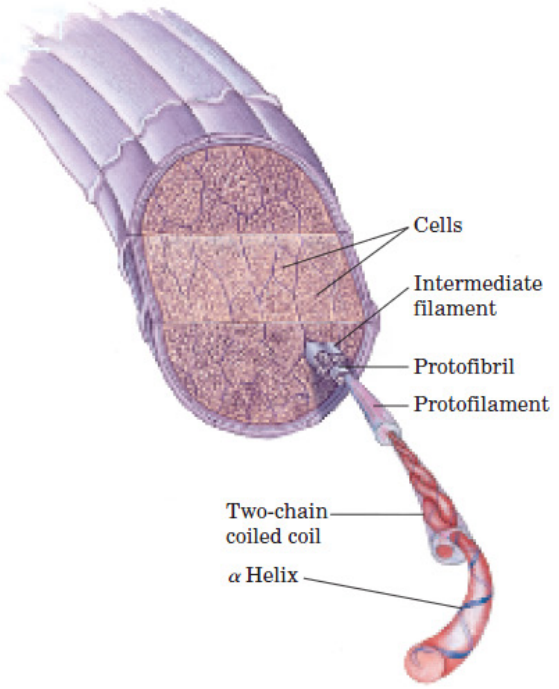


Proteínas fibrosas: α-queratinas

- As proteínas fibrosas são formadas por cadeias longas e estendidas, com formato regular.
- Por exemplo, as α-queratinas são formadas pela associação lateral de duas ou três cadeias em α-hélice, formando longos cabos laterais.
- Por isso, as α-queratinas são ricas em aminoácidos hidrofóbicos (Ala, Val, Ile, Met e Phe).



(a)



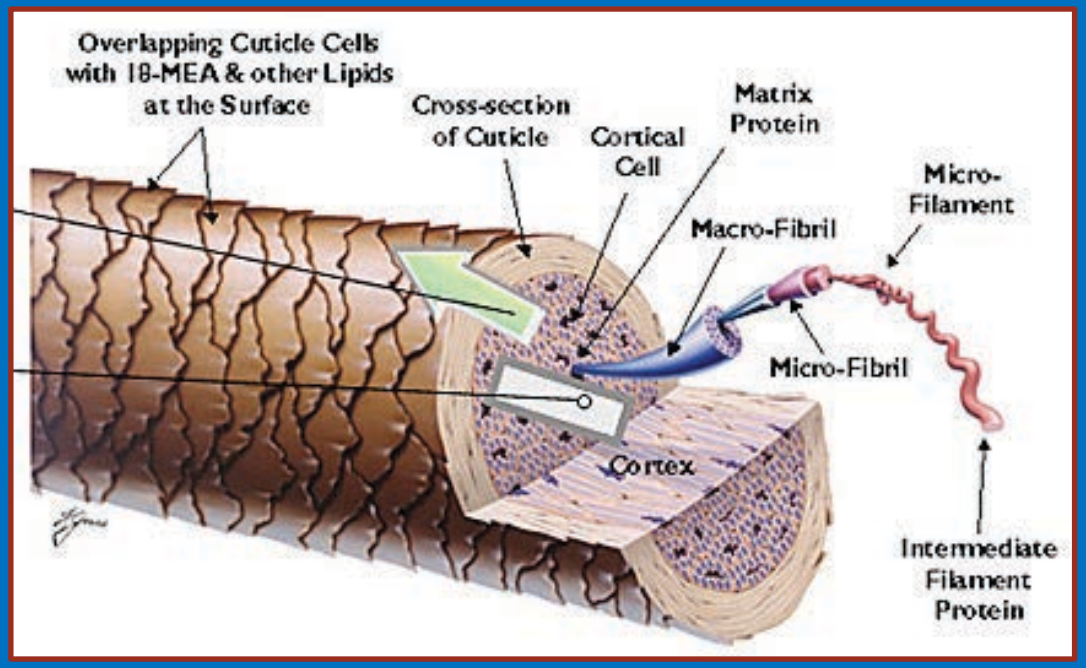
(b) Cross section of a hair

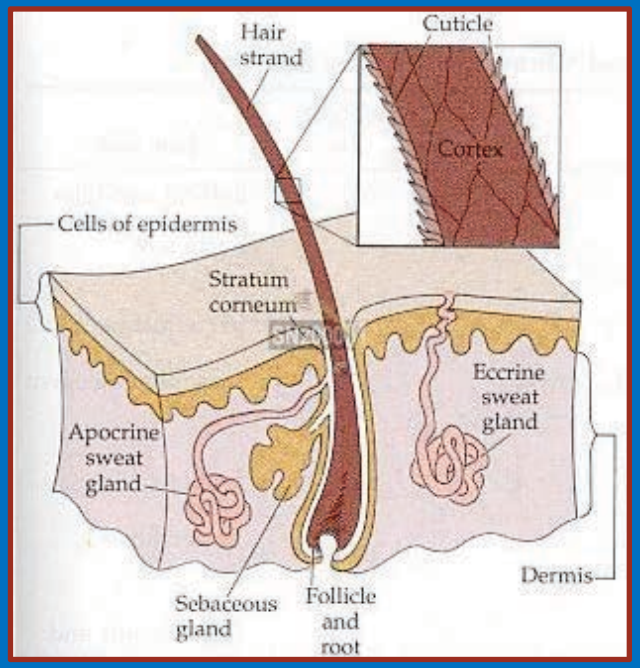
FIGURE 4–11 Structure of hair. **(a)** Hair α-keratin is an elongated α helix with somewhat thicker elements near the amino and carboxyl termini. Pairs of these helices are interwound in a left-handed sense to form two-chain coiled coils. These then combine in higher-order structures called protofilaments and protofibrils. About four protofibrils—32 strands of α-keratin altogether—combine to form an intermediate filament. The individual two-chain coiled coils in the various substructures also appear to be interwound, but the handedness of the interwinding and other structural details are unknown. **(b)** A hair is an array of many α-keratin filaments, made up of the substructures shown in **(a)**.

Proteínas fibrosas: α-queratinas

- As α-queratinas são produzidas pelas células epiteliais de vertebrados e são os principais constituintes de pele e estruturas relacionadas, tais como cabelo, unha, chifres, cascos, bicos e penas.

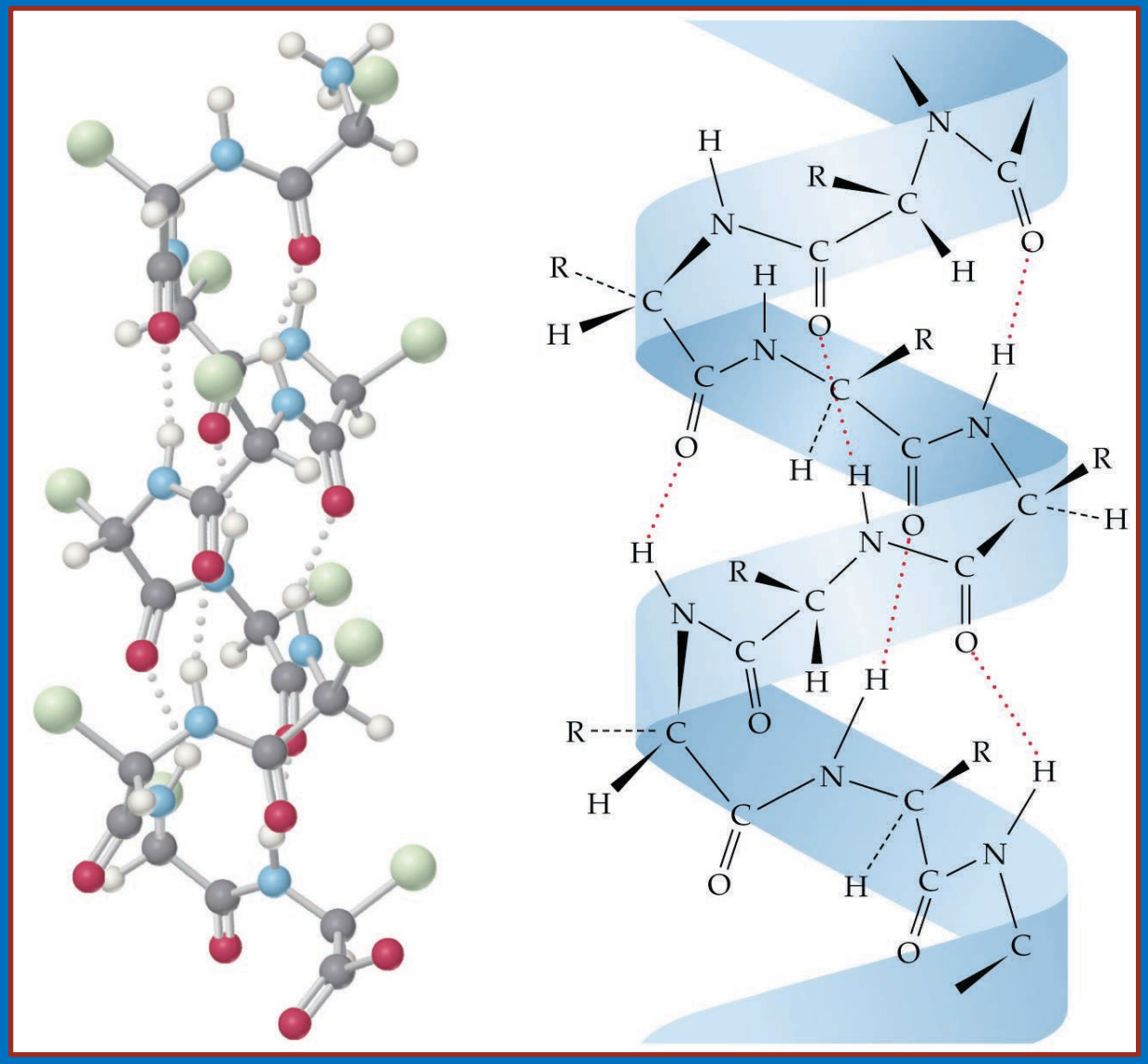
- A formação de pontes de dissulfeto entre as cadeias confere grande resistência às fibras de α-queratina.





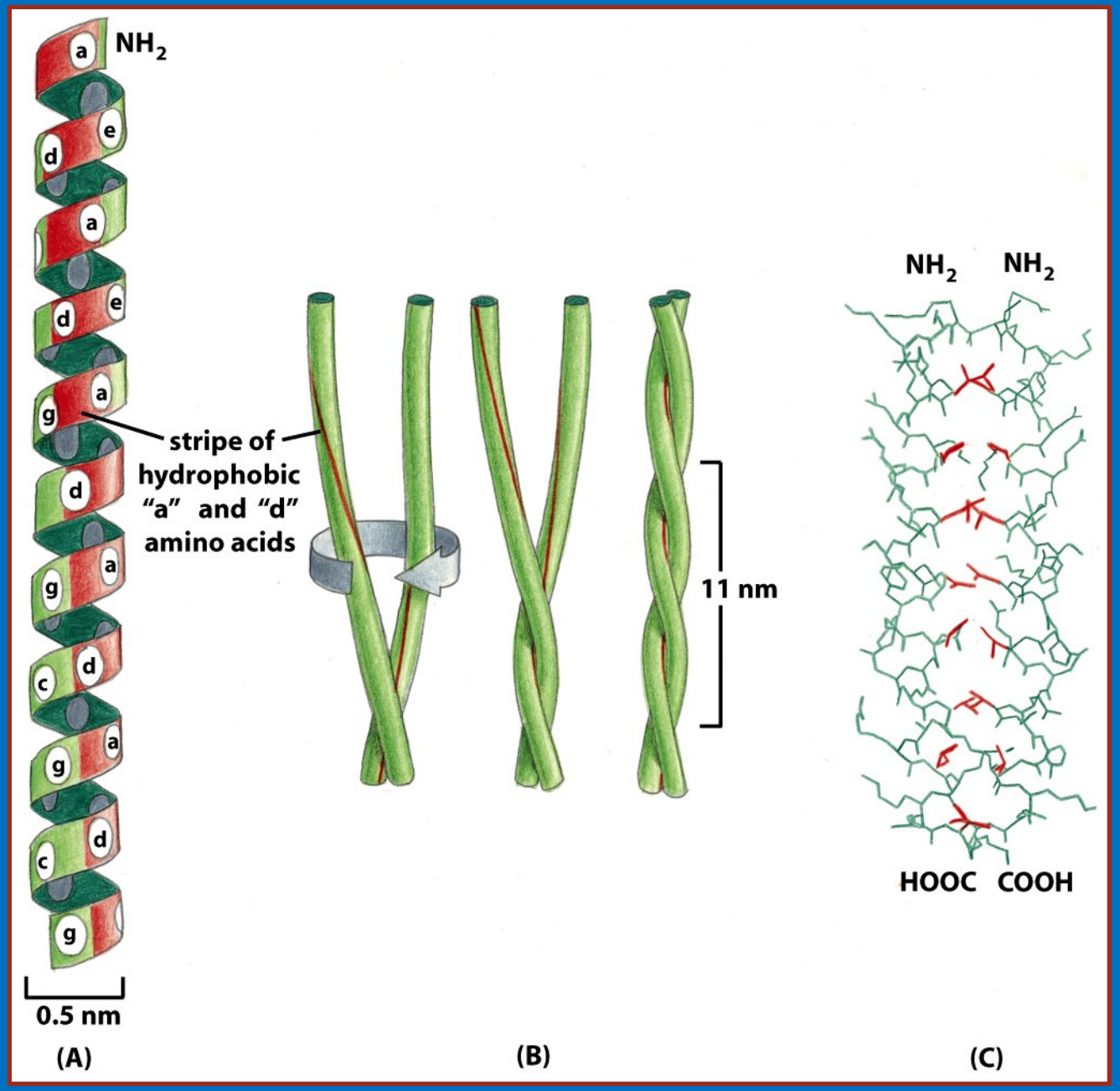
α-queratinas

- As α-queratinas são α-hélices ricas em aminoácidos hidrofóbicos (Ala, Val, Ile, Met e Phe).



α-queratinas

- As α-queratinas são α-hélices ricas em aminoácidos hidrofóbicos (Ala, Val, Ile, Met e Phe).
- Por isso, a queratina é insolúvel em meio aquoso.
- Para "esconder" as suas cadeias laterais, duas cadeias de queratina se associam em filamentos.



α-queratinas

- De fato, mais de duas α-hélices (cadeias distintas) podem se associam, formando um filamento de queratina.

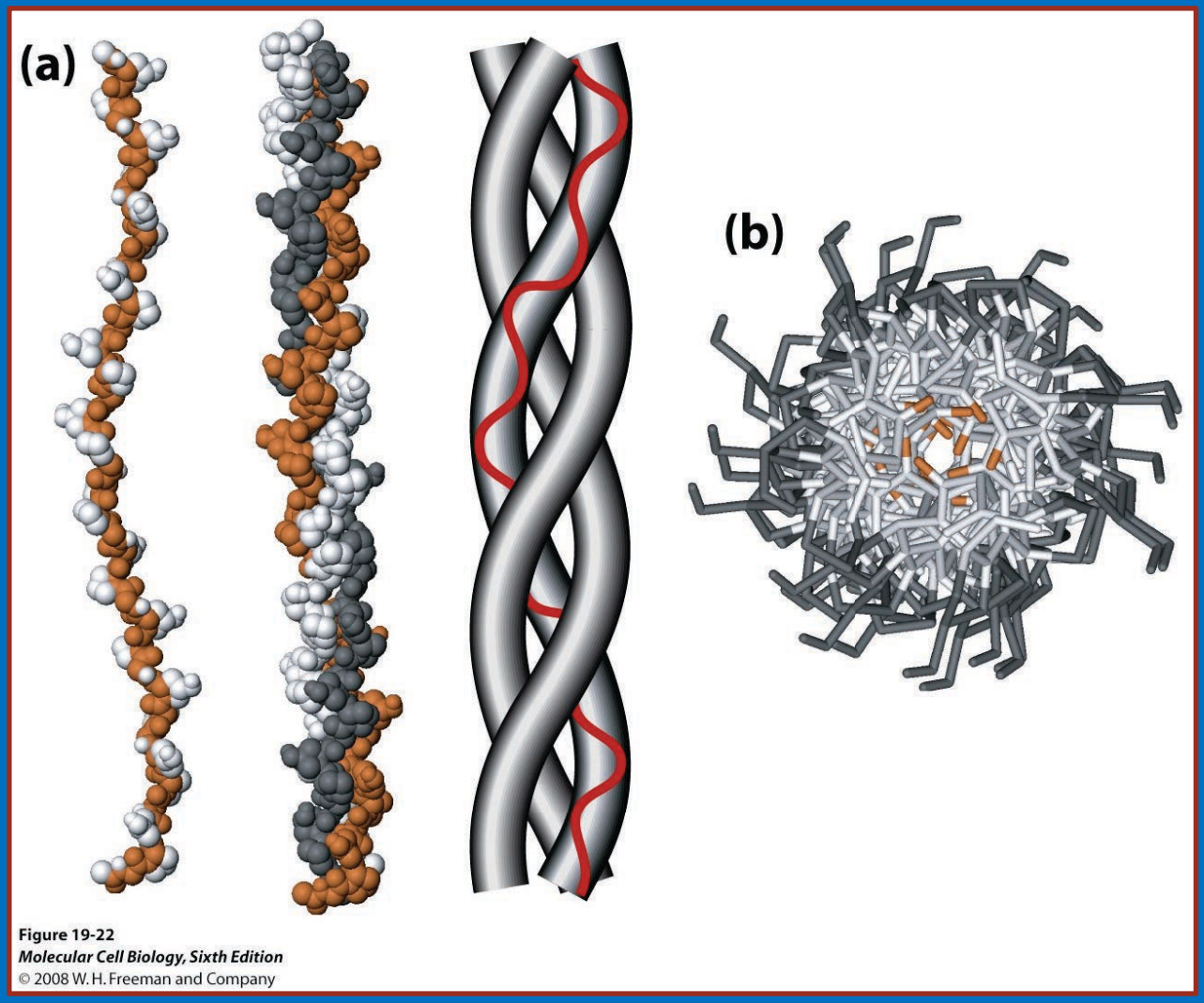


Figure 19-22
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

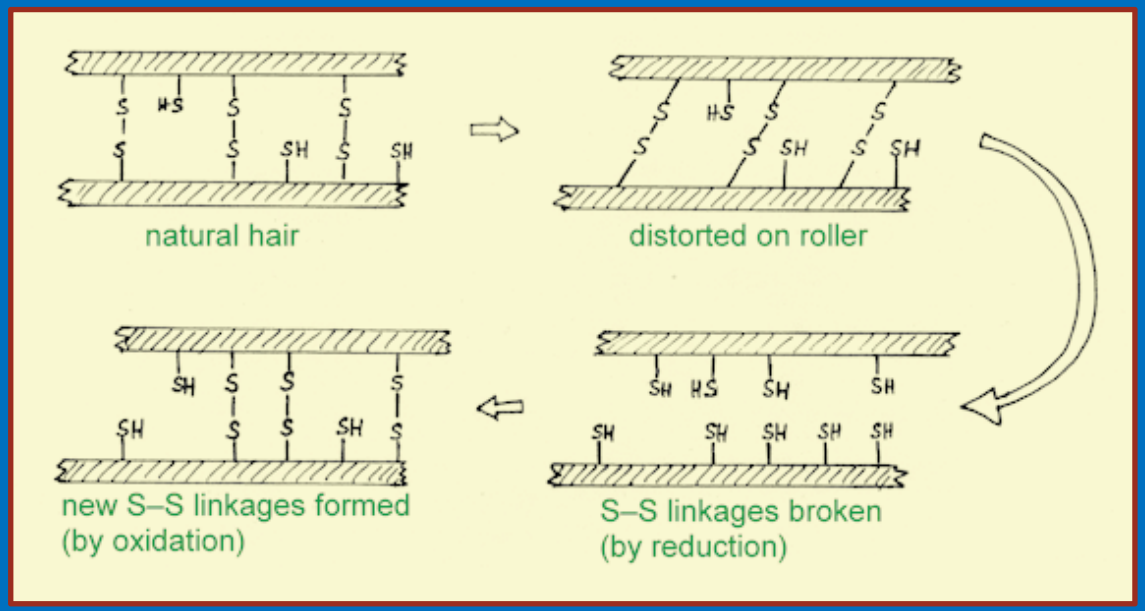
α-queratinas

- Duas ou três α-hélices (cadeias distintas) se associam, formando um filamento de queratina.

Figure 19-22
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

α-queratinas, cisteinas e as pontes de dissulfeto

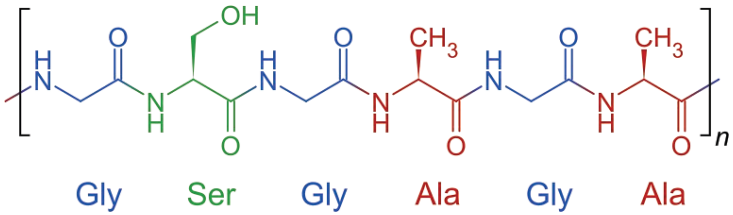
- As α-hélices de queratina podem se ligar covalentemente.
- Isto ocorre por ligação de dissulfeto entre as cisteínas.
- Diferenças em como estas pontes se forma, explicam as diferentes texturas do cabelo humano.

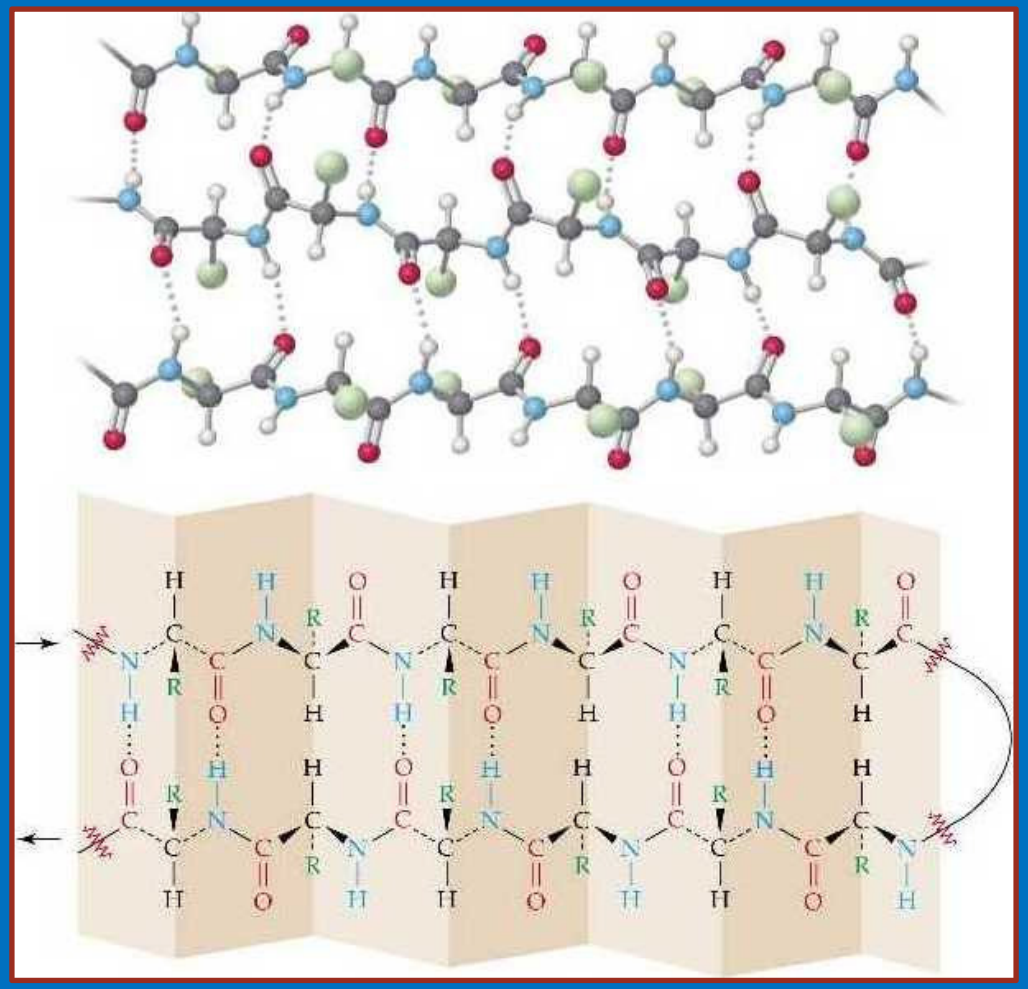


Proteínas fibrosas: β-queratinas

Proteínas fibrosas: β-queratinas

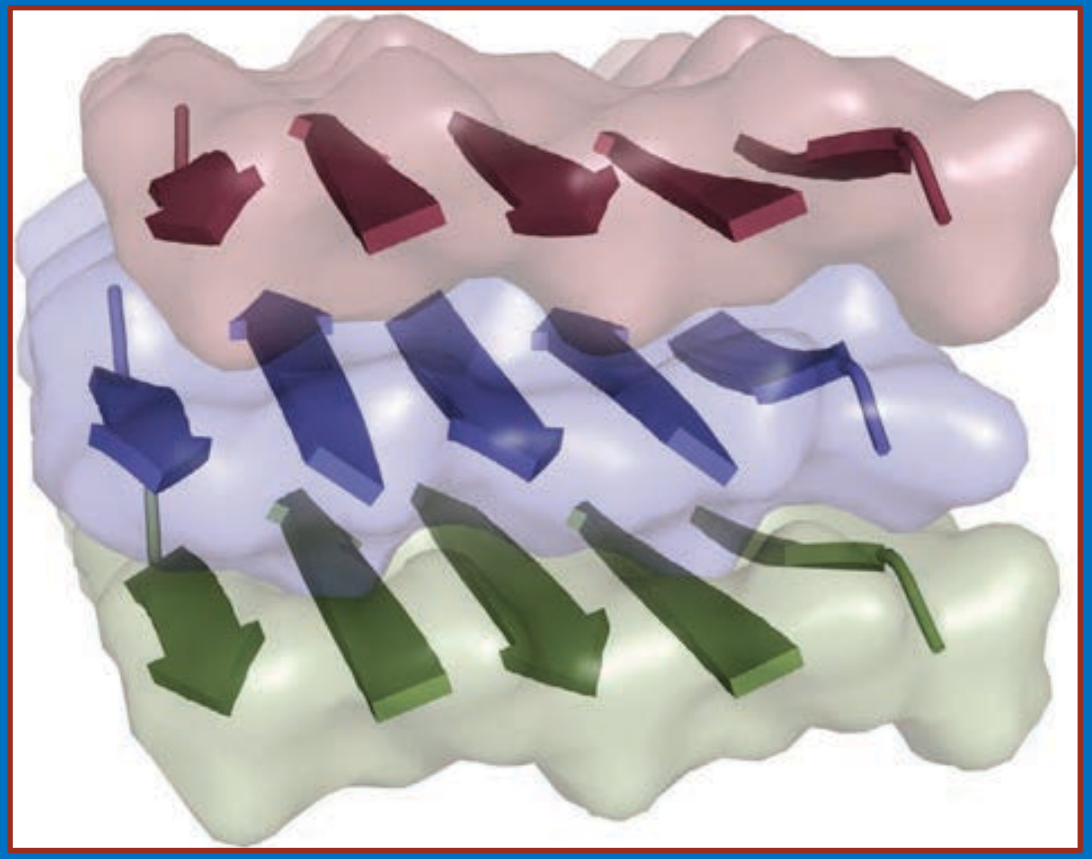
- Outra proteínas fibrosa importante é a fibroína, constituinte da seda e do fio das teias produzidas por aranhas.
- A fibroína é uma β-queratina, formada por cadeias polipeptídicas com estrutura de folha β pregueadas, ricas em aminoácidos de cadeia lateral pequena (Gly, Ala, Ser).
- Isto permite o "empacotamento" das cadeias lado a lado





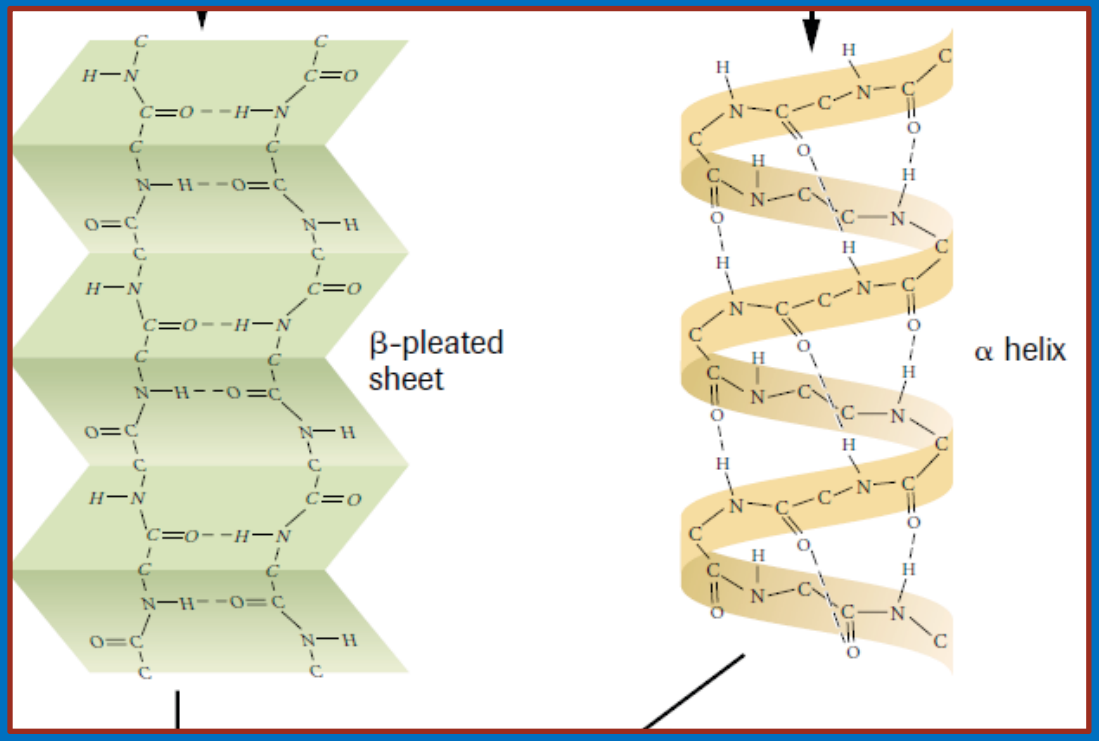
Proteínas fibrosas: β-queratinas

- O pequeno volume das cadeias laterais dos aminoácidos (Gly, Ala e Ser) permite que as cadeias fiquem bem próximas.



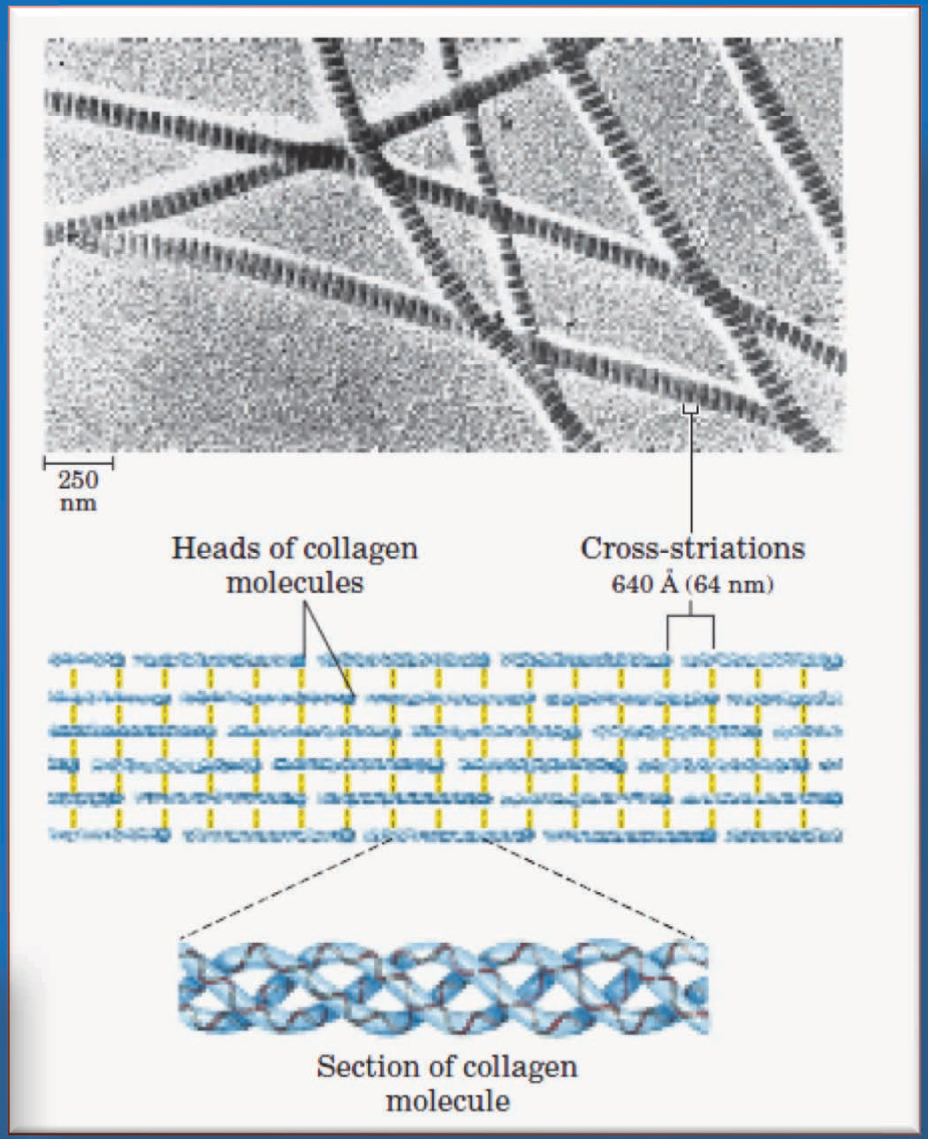
Estrutura e função: α-Hélice vs folha β-pregueada

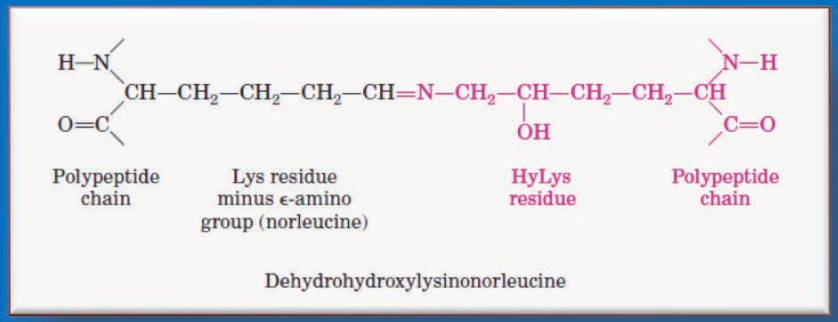
- Diferentemente do colágeno, a seda não é elástica.
- Isto porque as folhas β-pregueadas já estão na conformação estendida.



Proteínas fibrosas: colágeno

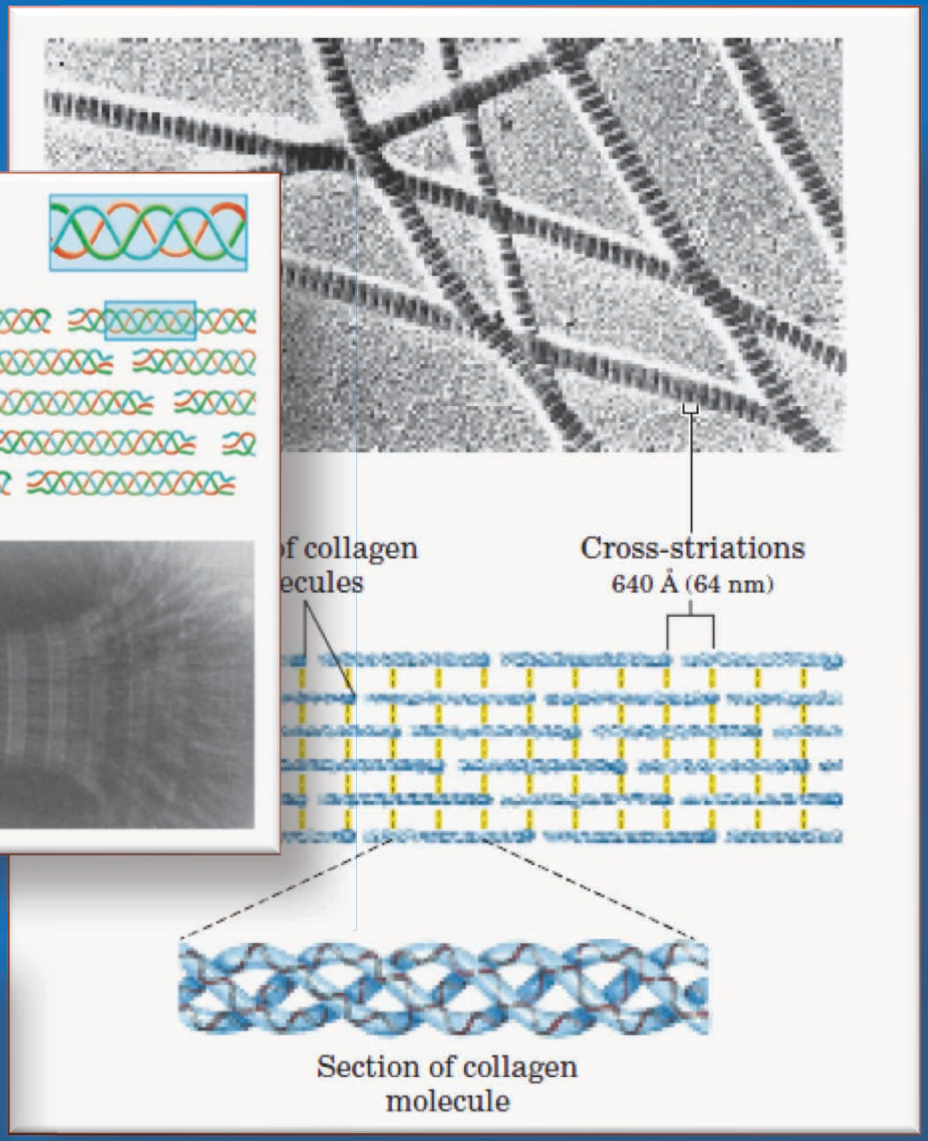
- Outra proteína fibrosa de extrema importância para os animais é o colágeno.
- Colágeno é o formado por três cadeias polipeptídicas em hélice enroladas umas às outras, formando longas fibras.
- Por ser rico na sequência Gly-X-Y (X geralmente é Pro e Y, 4-hidroi-Pro), a cadeia polipeptídica se enrola numa hélice para a esquerda com 3 aminoácidos por volta.
- Da mesma forma que na α-queratina, estas fibras se associam lateralmente, formando longas estruturas.
- Pontes de dissulfeto e outras ligações especiais conectam as diferentes fibras de colágeno, dando-lhes uma resistência maior que a do aço.
- Colágenos são os constituintes do tecido conectivo: cartilagens, tendões, ossos e a córnea do olho.

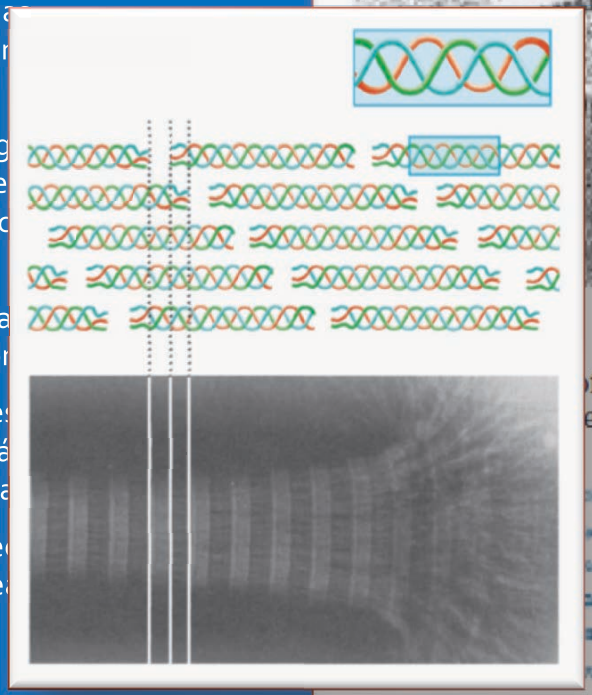


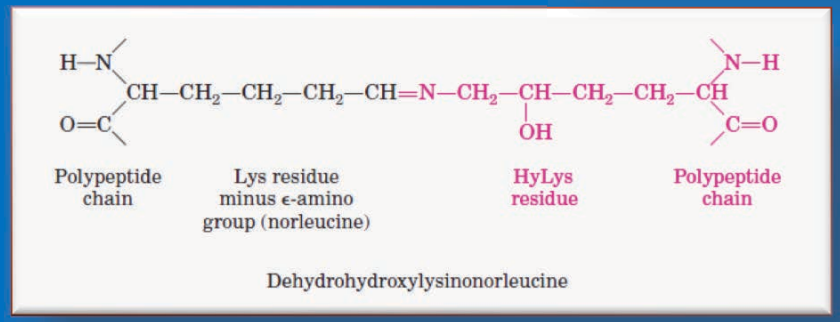


Proteínas fibrosas: colágeno

- Outra proteína fibrosa de extrema importância para os animais é o colágeno.
- Colágeno é o formado por três cadeia polipeptídicas em hélice enroladas ur formando longas fibras.
- Por ser rico na sequência Gly-X-Y (X g Pro e Y, 4-hidroi-Pro), a cadeia polipe enrola numa hélice para a esquerda c aminoácidos por volta.
- Da mesma forma que na α-queratina associam lateralmente, formando lor
- Pontes de dissulfeto e outras ligações conectam as diferentes fibras de colá lhes uma resistência maior que a do a
- Colágenos são os constituintes do te cartilagens, tendões, ossos e a córne



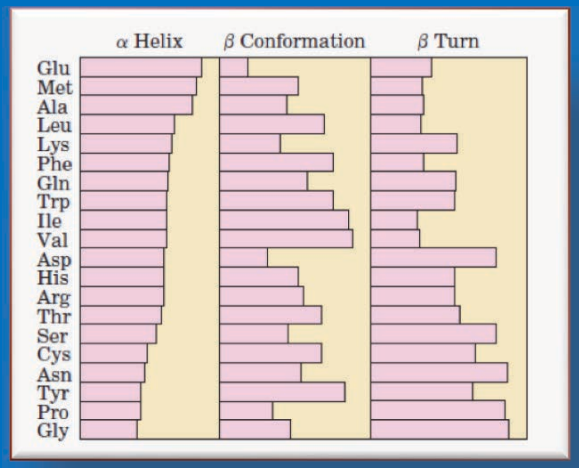


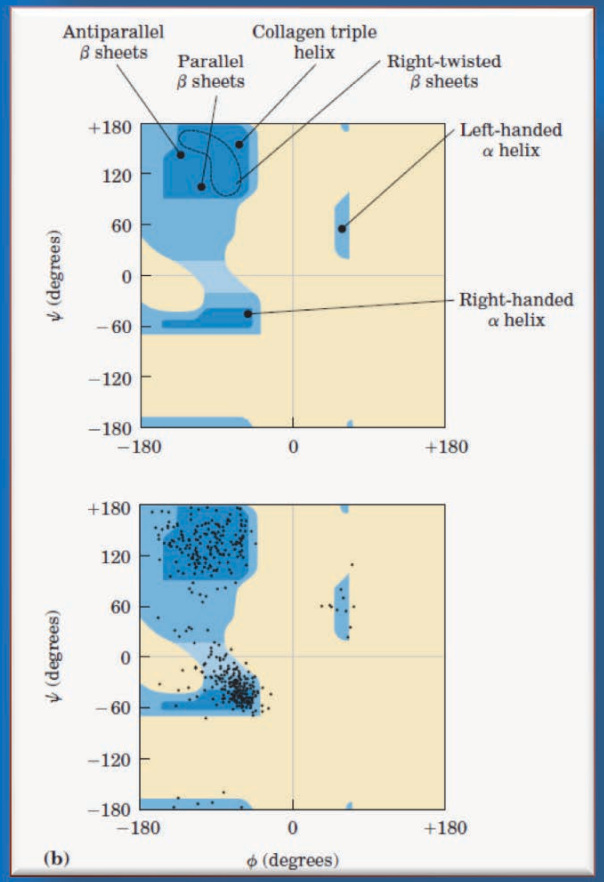


Proteínas fibrosas

- Comparação entre as diferentes proteínas fibrosas.
- Notem que a principal diferença entre a alfa e beta-queratina está no volume das cadeias laterais dos aminoácidos.

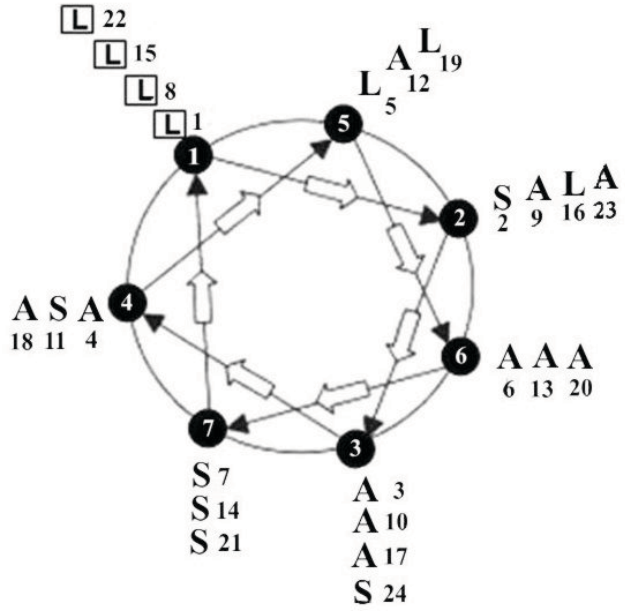
Amino Acid	α-Keratin	Fibroin	Collagen
Gly	8	45	32
Ala	5	29	12
Ser	10	12	3
Glu,Gln	12	1	8
Cys	11	0	0
Pro	8	0.3	22
Arg	7	0.5	5
Leu	7	0.5	2
Thr	6	1	2
Asp,Asn	6	1	4
Val	5	2	2
Tyr	4	5	0.4
Ile	3	1	1
Phe	2	0.5	1
Lys	2	0.3	4
Trp	1	0.2	0
His	1	0.2	0.3
Met	0.5	0	1



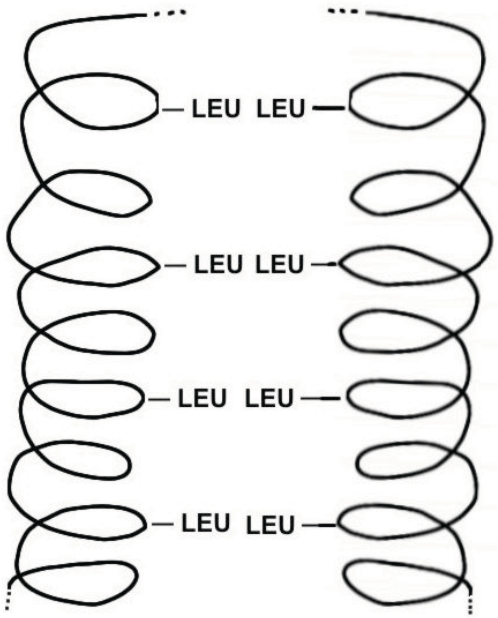


A sequência primária afeta a secundária

- Alguns aminoácidos impedem a formação de α-hélices ou folhas β.
- Por exemplo, muitos aminoácidos carregados (com a mesma carga) inibem a formação de hélice.
- Aminoácidos com cadeia lateral volumosa alteram a formação de folhas β.



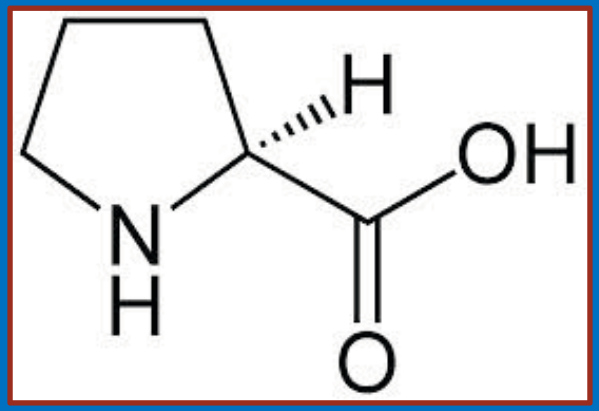
Top view for polypep I.
~3.5 AAs/turn
7 AAs --> aligned over one another

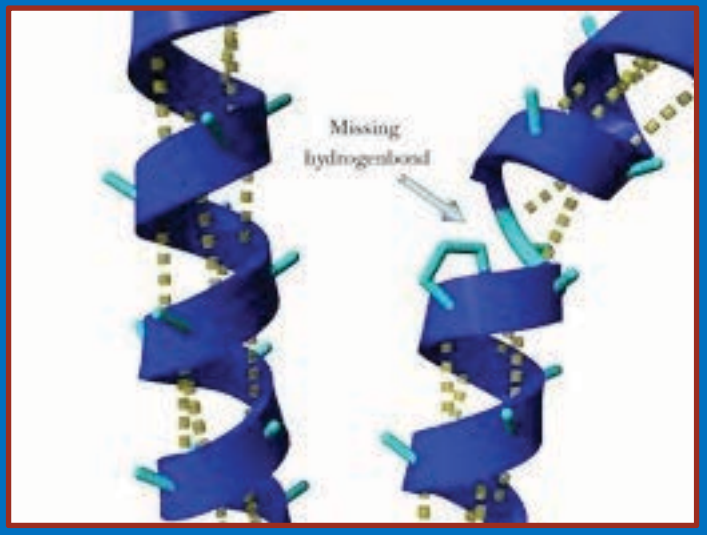


Leu zipper dimer interface.
Each leu is 7 AAs (~2 helical turns) from the next.

A sequência primária afeta a secundária

- Residuos de prolina também afetam a formação de α-hélices
- Mas favorem a formação da estrutura em hélice do colágeno (anti-horária, 3 aminoácidos por volta).





Sequência primária colágeno

31
- Gly - Pro - Met - Gly - Pro - Ser - Gly - Pro - Arg -
22
- Gly - Leu - Hyp - Gly - Pro - Hyp - Gly - Ala - Hyp -
31
- Gly - Pro - Gln - Gly - Phe - Gln - Gly - Pro - Hyp -
40
- Gly - Glu - Hyp - Gly - Glu - Hyp - Gly - Ala - Ser -
49
- Gly - Pro - Met - Gly - Pro - Arg - Gly - Pro - Hyp -
58
- Gly - Pro - Hyp - Gly - Lys - Asn - Gly - Asp - Asp -

Gly-X-Y onde X = Pro Y = Ala, Ser,…

Proteínas globulares

- Numa proteína globular, os diferentes segmentos de um polipeptídios se dobram uns sobres os outros,gerando uma estrutura mais compacta, se comparada com as proteínas fibrosas.

- As proteínas globulares podem assumir uma grande variedade de formatos.

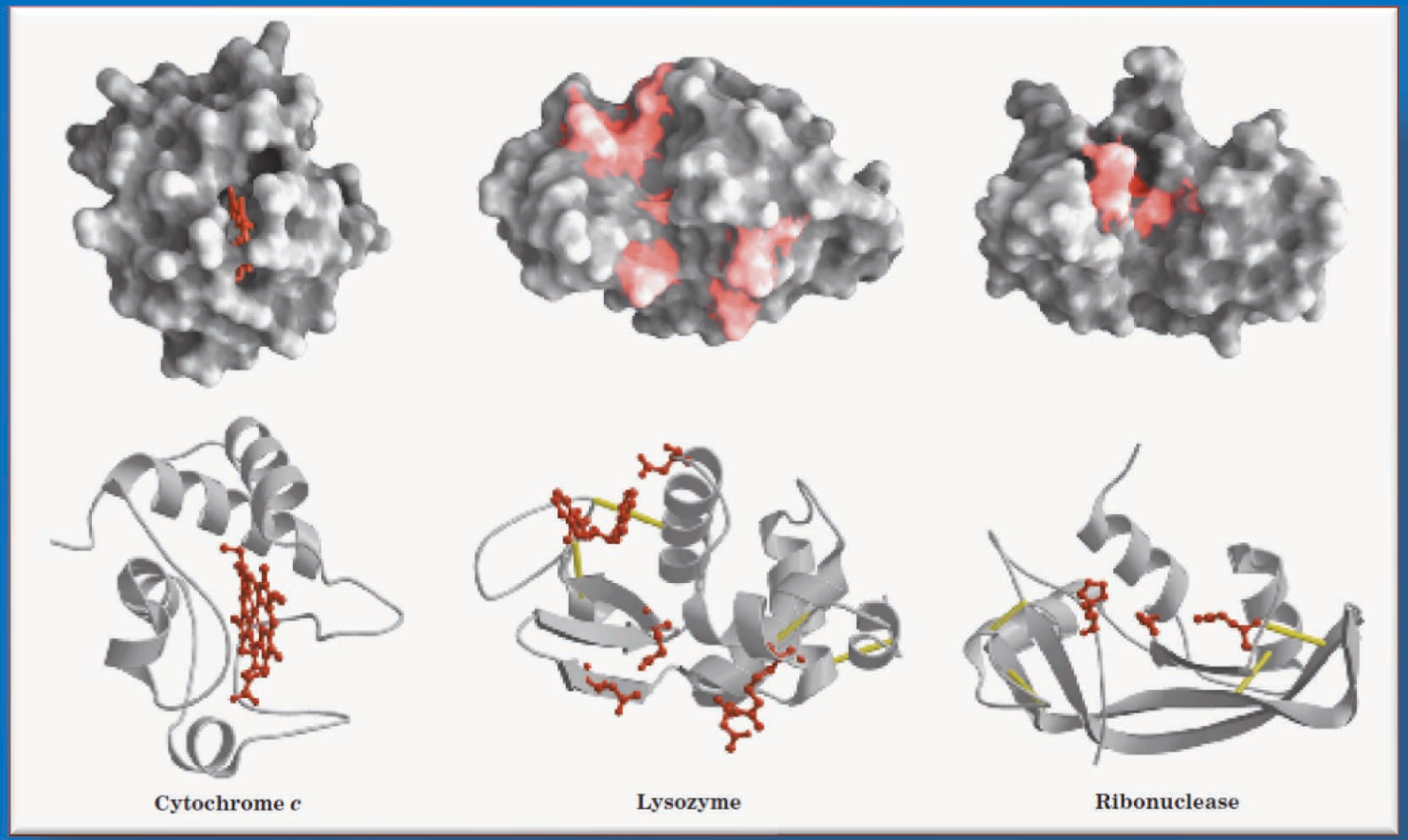
- Proteínas globulares podem ser formadas por α-hélices, folhas β-pregueadas e voltas.

TABLE 4–2 Approximate Amounts of α Helix and β Conformation in Some Single-Chain Proteins

	*Residues (%)**	
Protein (total residues)	*α Helix*	*β Conformation*
Chymotrypsin (247)	14	45
Ribonuclease (124)	26	35
Carboxypeptidase (307)	38	17
Cytochrome *c* (104)	39	0
Lysozyme (129)	40	12
Myoglobin (153)	78	0

Proteínas globulares

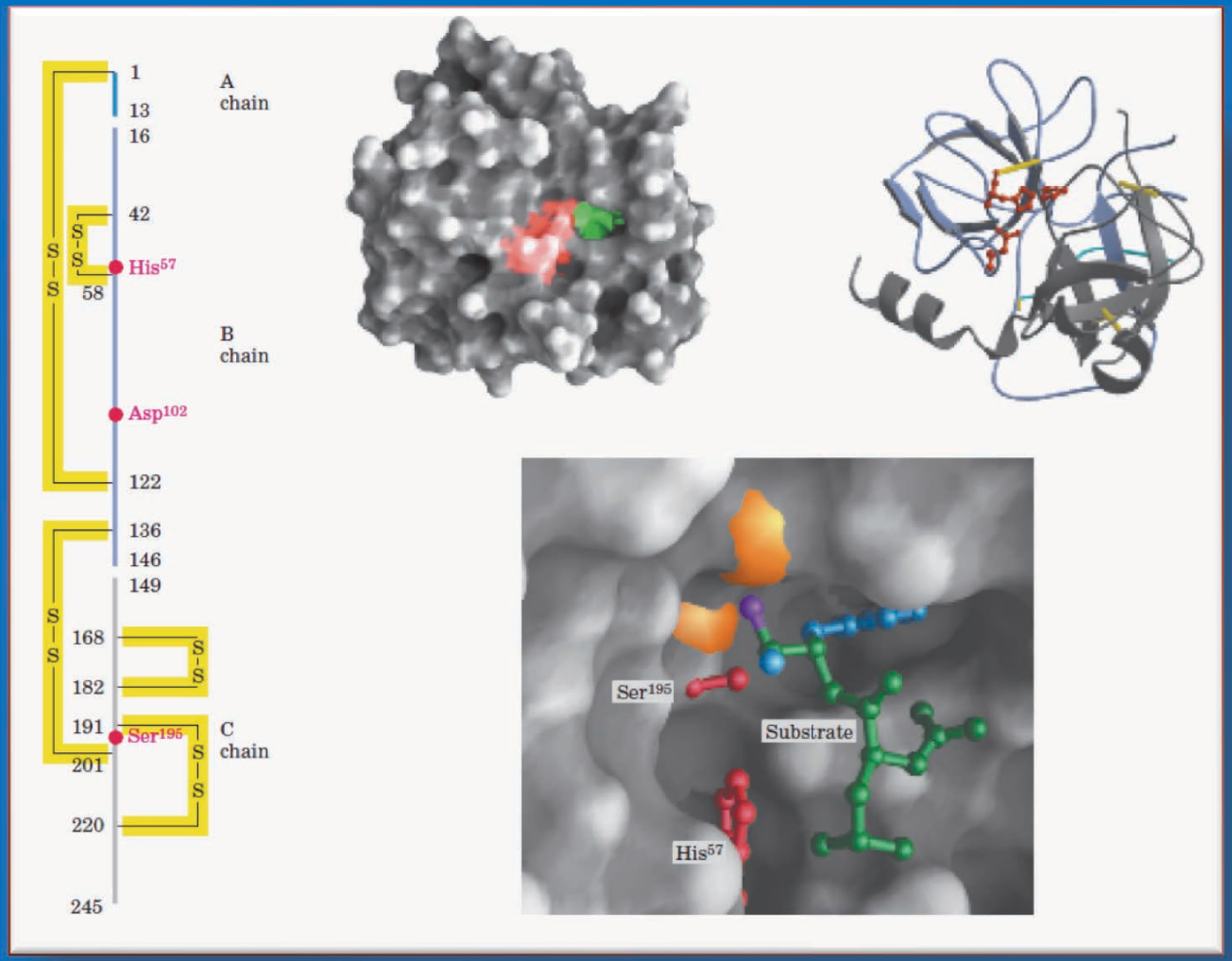
- A orientação dos diferentes segmentos da cadeia polipeptídica permite que as cadeias laterais se aproximem formando grupos ativos.



Sítio ativo de uma proteína

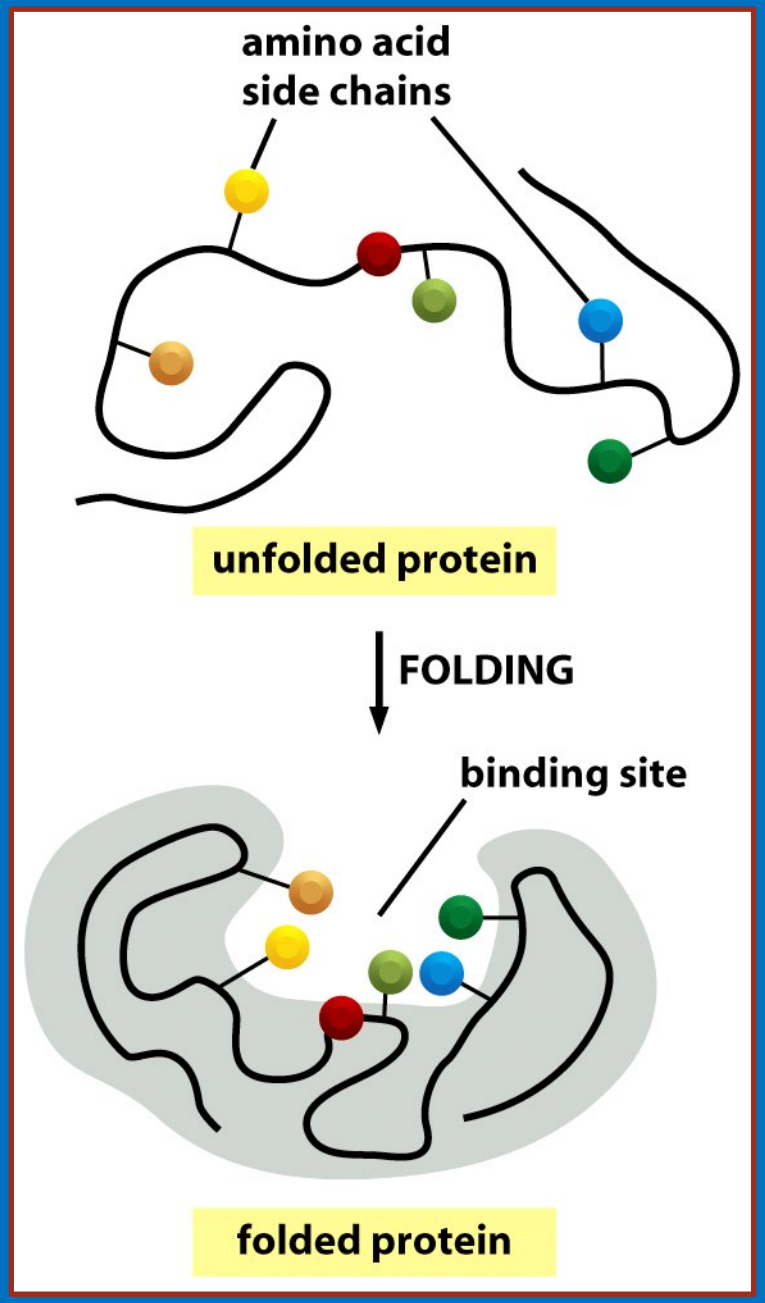
- Ao se enovelarem, as proteínas posicionam as cadeias laterais de seus aminoácidos de tal forma que eles possam participar de reações químicas específicas ou interações com outras proteínas.

- Essas regiões, são chamadas de sítios ativos de uma proteína.



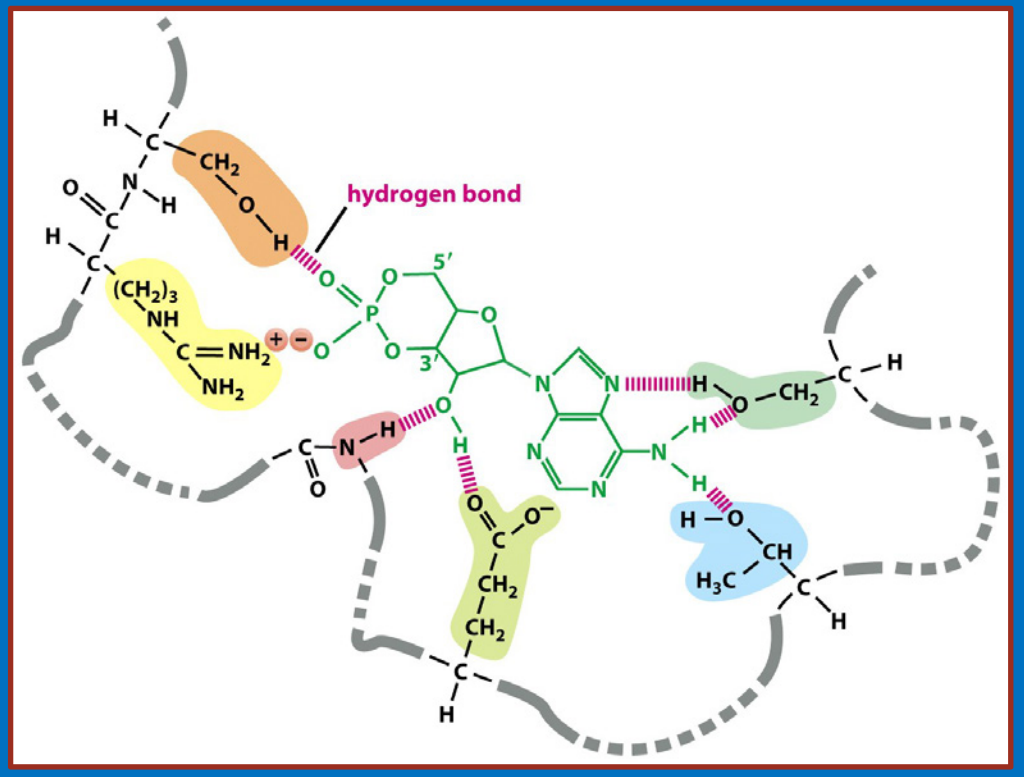
Sítio ativo de uma proteína

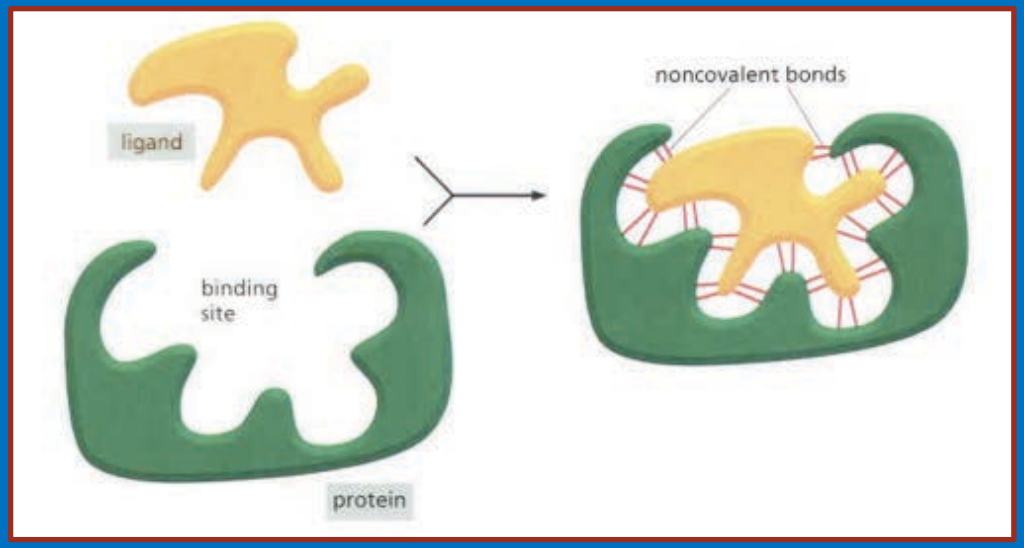
- Os aminoácidos que formam um sítio de ligação podem estar próximos ou distantes na sequência primária.



Sítio ativo de uma proteína

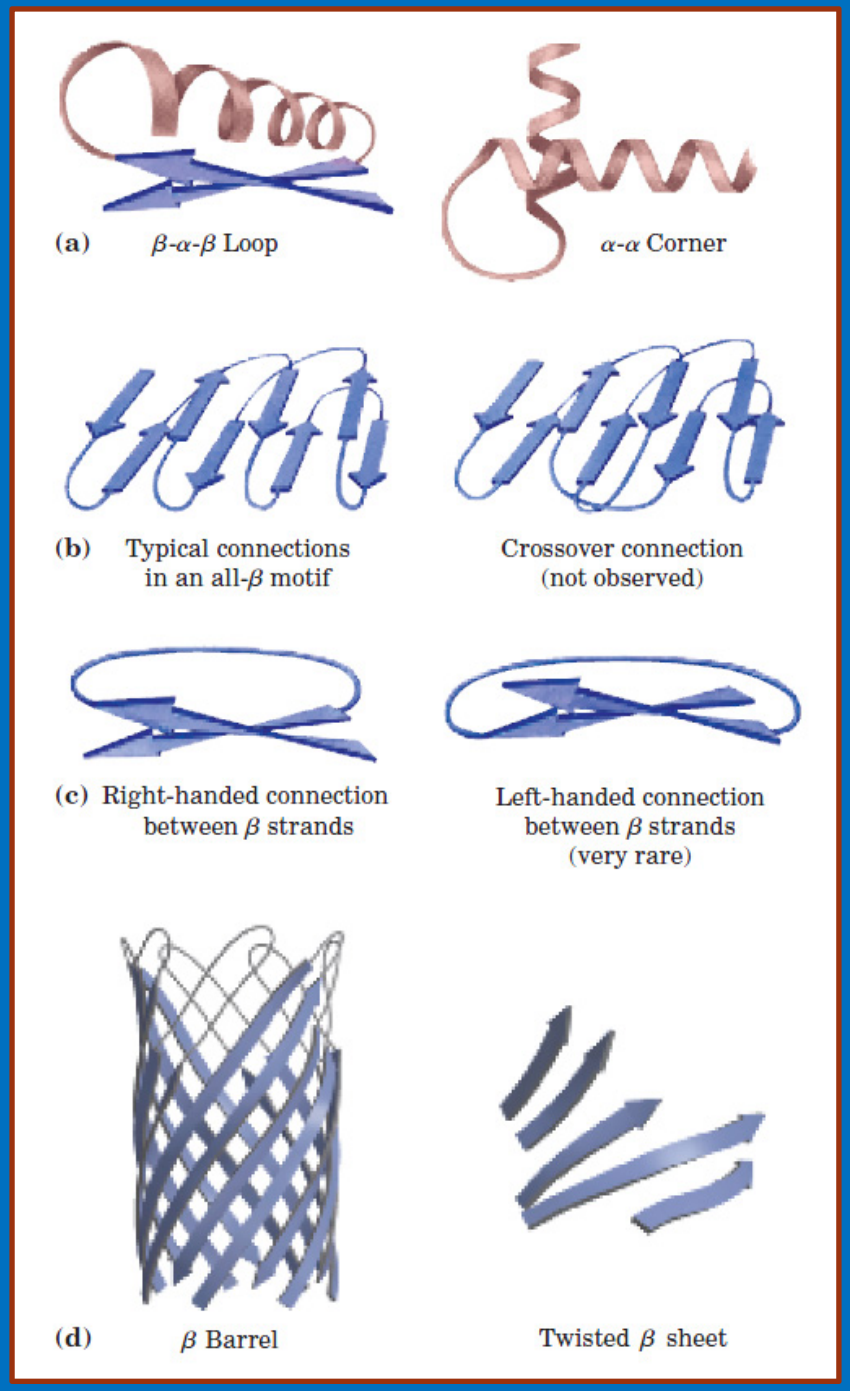
- O sítio ativo é responsável pela atividade da proteínas.
- Ele pode mediar a interação com outra proteína ou com uma pequena molécula.





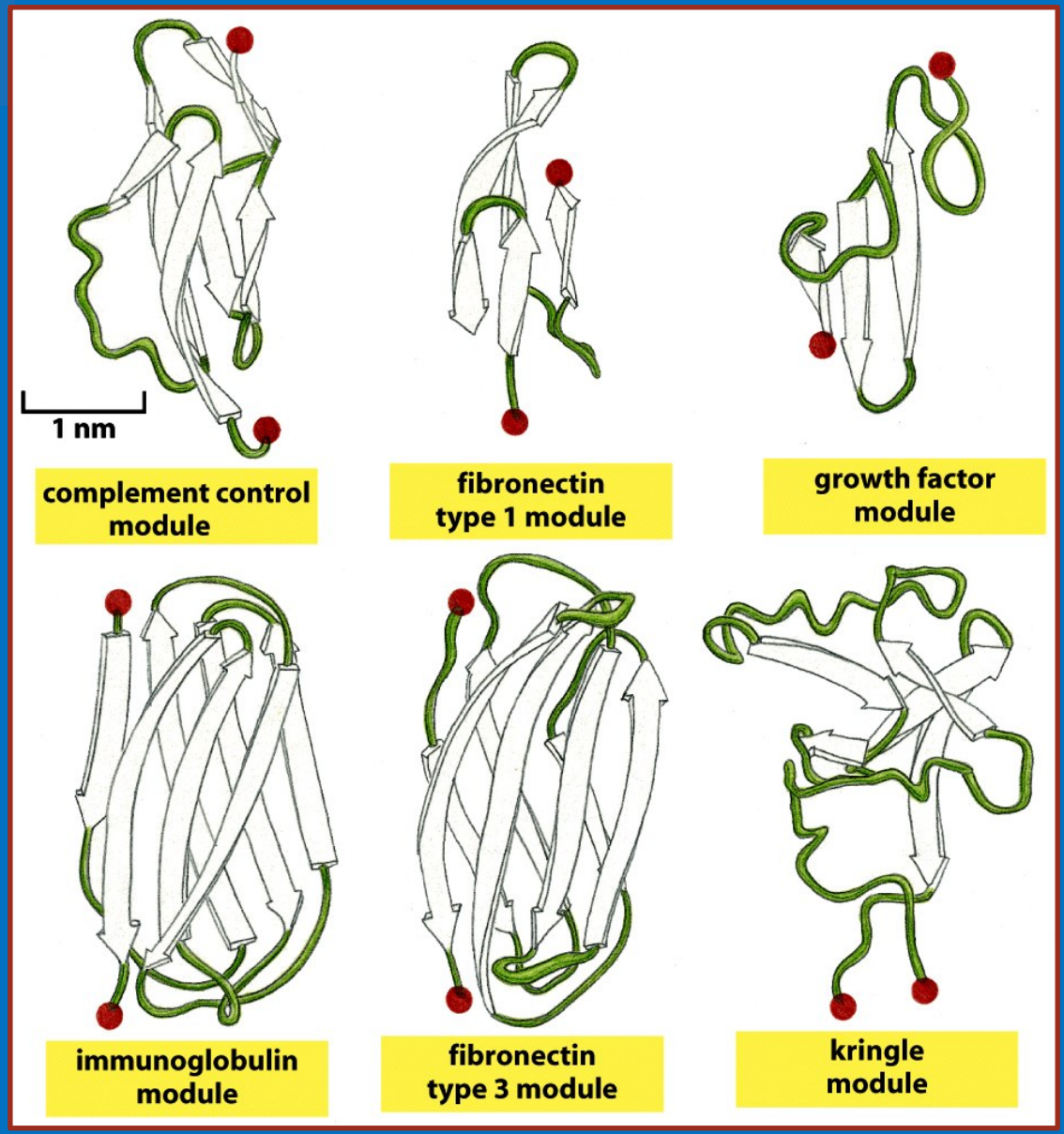
Padrões de enovelamento

- Atualmente, várias proteínas tiveram estrutura tridimensional elucidada.
- Essas estruturas podem ser encontradas no banco de dados PDB (Protein data bank, www.pdb.org).
- O estudo cuidadoso destas estruturas demonstrou que alguns padrões são bastante comuns, enquanto outros são mais raros.



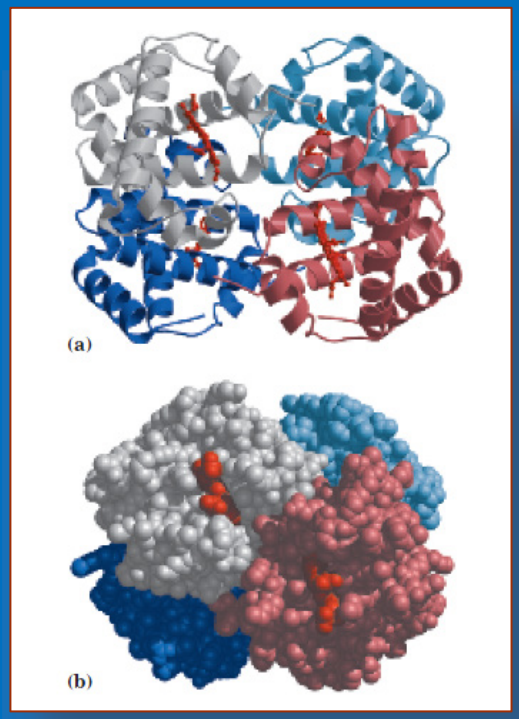
Domínios proteicos

- Estes domínios recebem nomes, geralmente relacionados com a proteína onde foram identificados inicialmente.
- Por exemplo, domínio do complemento (proteínas do sistema complemento sanguíneo), etc.

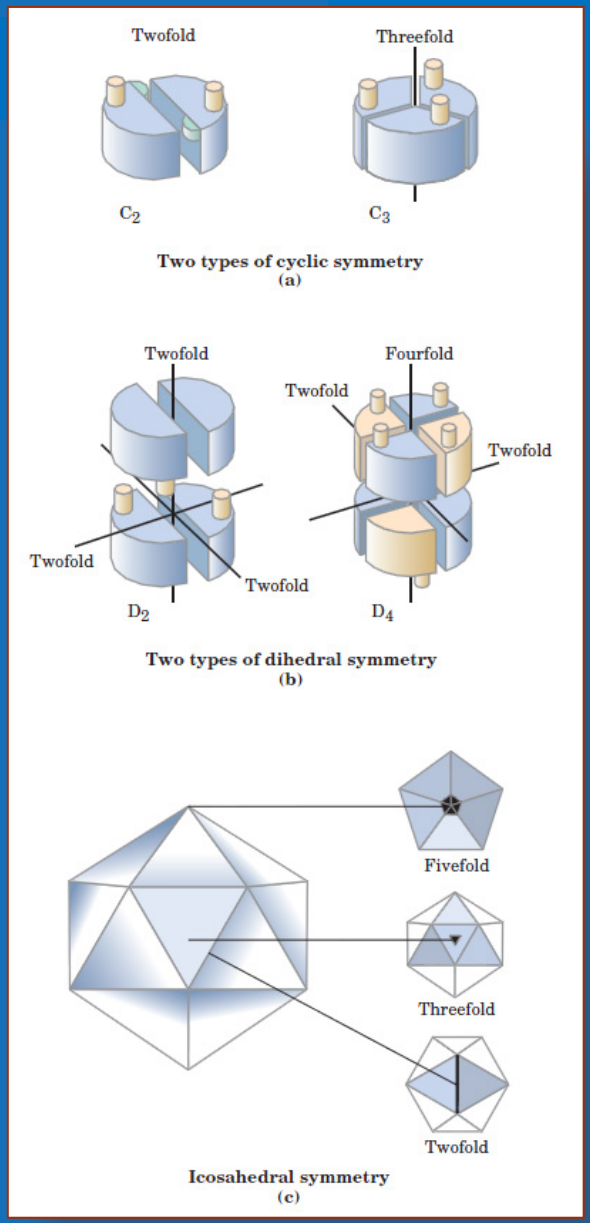


Estrutura quaternária e a formação de oligomeros

- Proteínas podem formar oligomeros, contendo multiplos unidades identicas ou diferentes.
- Múltiplas unidades idênticas formam estruturas simétricas.
- Porém, múltiplas unidades diferentes, que se repetem, também podem formar estruturas simétricas.

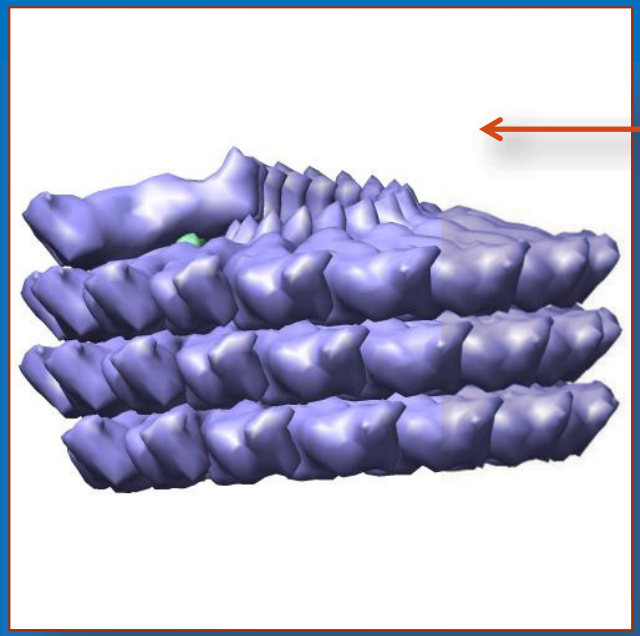


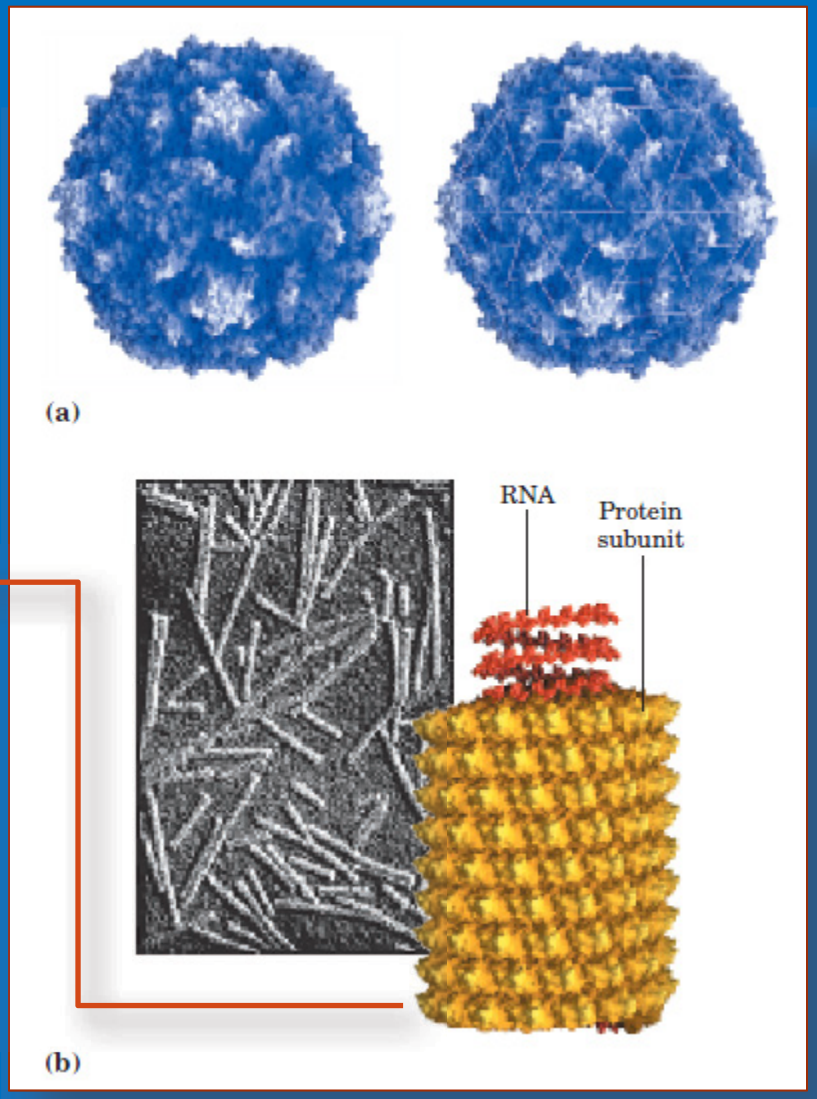
Hemoglobina é composta de duas cadeias α e duas β



Vírus são comumente constituídos de unidades oligoméricas

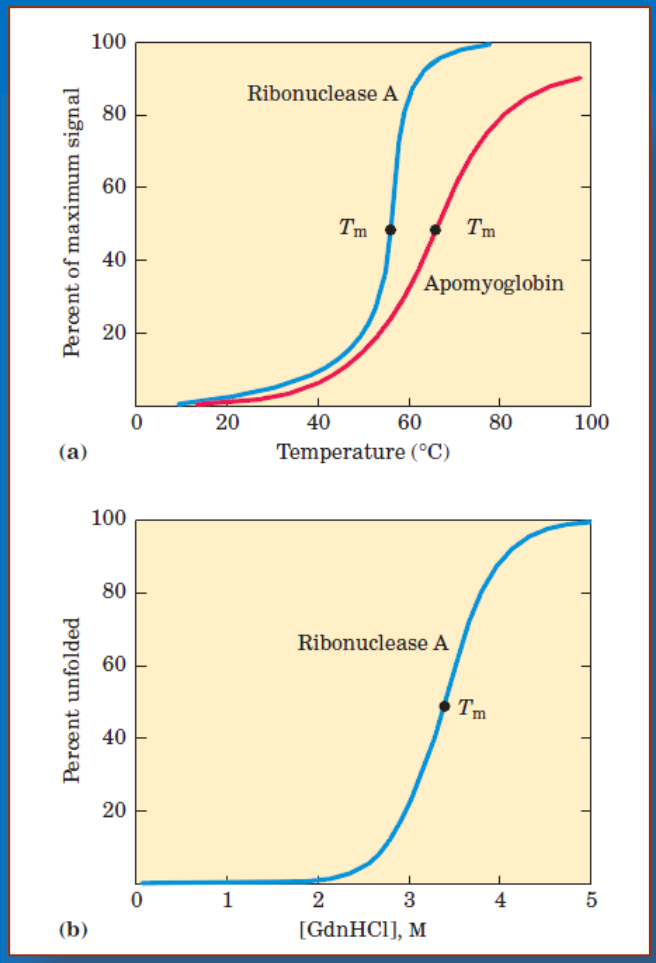
- As proteínas que compõem o capsídio viral são comumente oligoméricas.
- O capsídio pode se composto de mais de uma proteína (vírus da pólio, **a**) ou de uma única proteína (mosaico do tabaco).





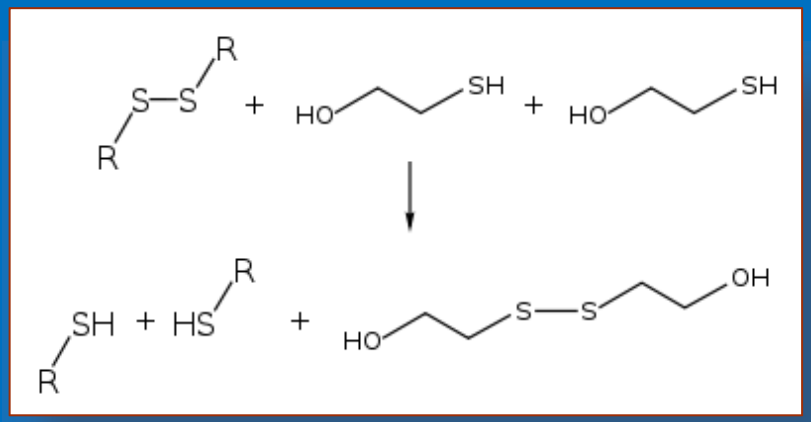
Desnaturação

- Mudanças estruturais podem alterar a atividade biológica de uma proteínas.
- Isto ocorre porque há quebra da ligações não covalentes que mantém as estruturas secundárias e terciárias de uma proteína.
- Porém, as ligações covalentes e a ligação peptídica, estão intactas. Portanto, a proteína se encontra desenovelada ou desestruturadas, numa conformação estendida.
- Por exemplo, a exposição de proteínas a altas temperaturas (100°C), leva a desnaturação (Td = Temperatura de desnaturação).
- Uma exceção importante são as proteínas de seres que vivem a altas temperaturas, com as proteínas dos extremófilos *Thermus aquaticus*. Esses microorganismos vivem em temperaturas próximas de 100°C.
- Mudanças de pH (que afetam a ionização dos aminoácidos), solventes orgânicos, detergentes, ou substâncias que forma ligações de hidrogênio com a água (uréia), também podem desnaturar proteínas.

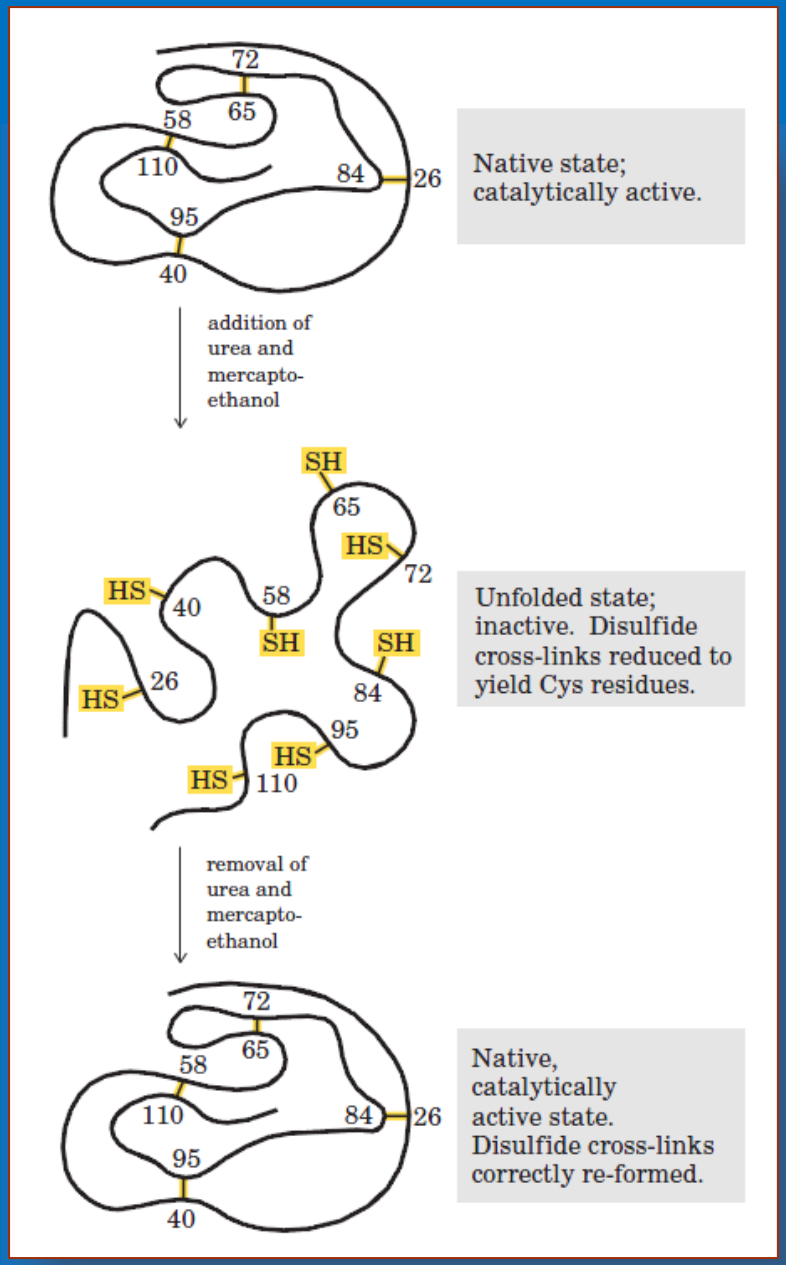


Desnaturação

- Pontes de dissulfeto contribuem para a estrutura e atividade de uma proteína.
- Agentes como β-mercaptoetanol (2-mercaptoetanol) ou ditiotreitol (DTT), reduzem pontes de –S-S –, inativando proteínas.
- Porém, se as pontes de –S-S – foram refeitas, a proteína pode ser re-enovelada na conformação ativa.

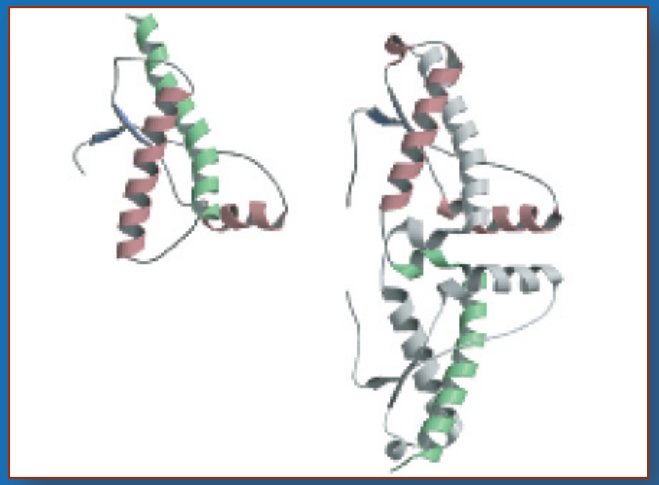


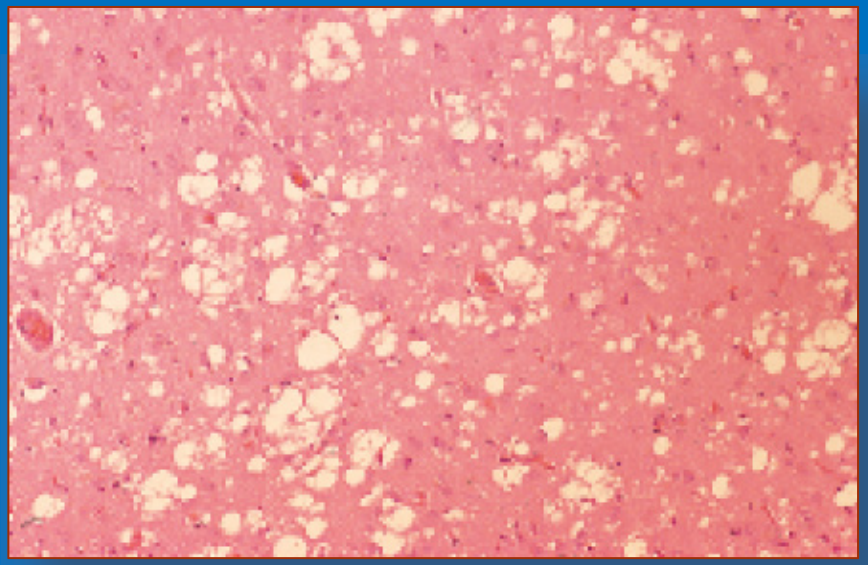
β– mercaptoetanol reduz pontes de –S-S –



Em humanos, proteínas desnaturadas podem causar doenças

- A desnaturação de proteínas pode causar doenças cerebrais degenerativas.
- A doença conhecida como "Vaca-louca" (encefalopatia bovina espongiforme ou, em humanos doença de Creutzfeldt-Jakob) é talvez a mais conhecida delas.
- Esta doença é o resultante da má formação de uma proteína conhecida como Príon (PrP).
- Quando a proteína PcP normal (PrP^{C}) entra em contato com a proteína alterada (PrP^{Sc}), elas dimerizam e mudam de conformação.
- Isto leva a formação de agregados insolúveis no cérebro e a degeneração do tecido cerebral.



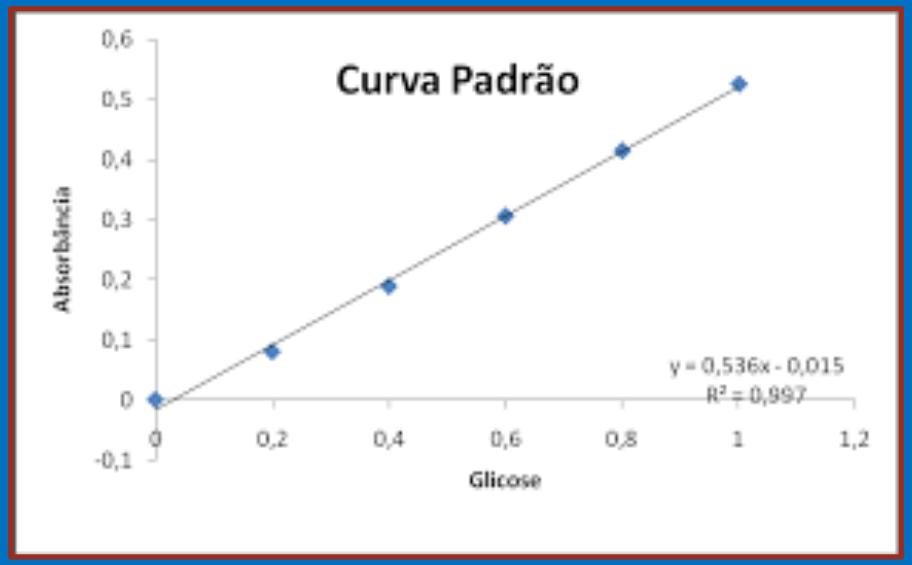


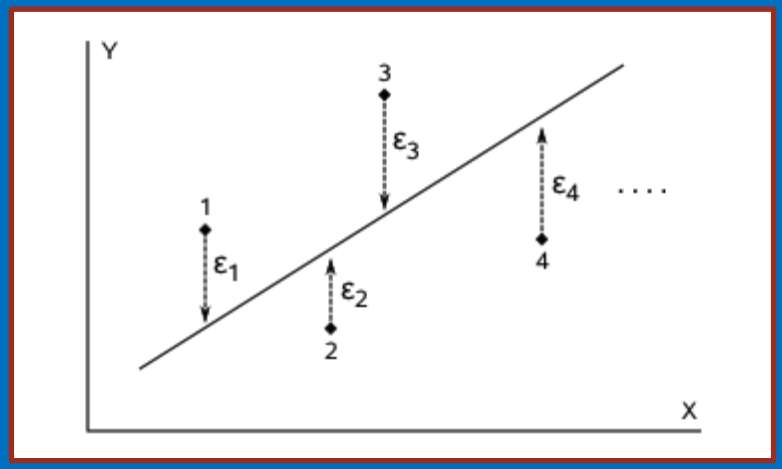
Curva padrão

A curva padrão é essencial para descobrir a concentração de uma amostra desconhecida

Ela é a relação entre a absorbância (A) e a concentração de uma substância

A curva padrão pode ser obtida através da análise de regressão linear





$y = ax + b$ e r^2

Bibliografia

- Capítulo 2 (Aminoácidos e proteínas) do livro Bioquímica Básica (Marzzoco e Torres)

- Capítulo 4 (A estrutura tridimensional de proteínas) do Lehninger – Princípios de Bioquímica