

PROTEÍNA: ESTRUTURA E FUNÇÃO - HEMOGLOBINA

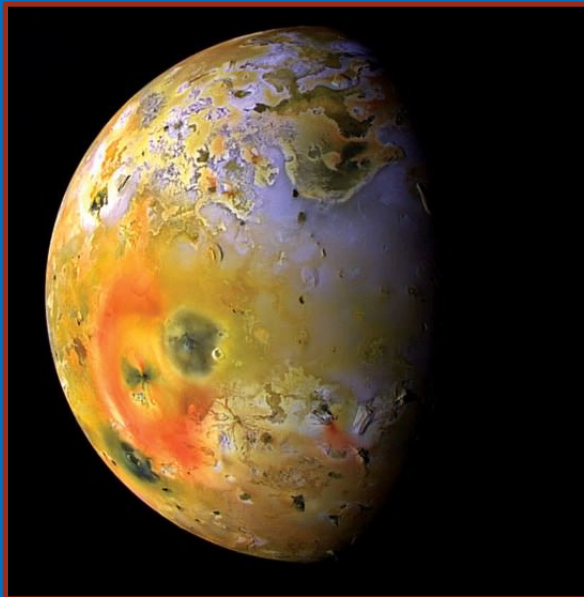
17-AGO-2017

QBQ-0230

Bioquímica do Metabolismo – Biologia Noturno

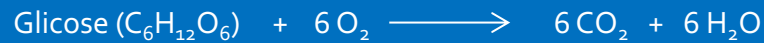
O oxigênio na terra prebiótica (early earth)

- O terra prebiótica era bem diferente da terra que conhecemos hoje.
- Sem oxigênio molecular na atmosfera, íons ferroso e férrico podiam ser encontrados solúveis nos oceanos e lagos.
- Com o advento dos microorganismos fotossintéticos, houve uma grande liberação de oxigênio molecular na atmosfera, subproduto da reação de hidrólise da água para gerar energia.
- Este subproduto, ao longos dos milhões de anos, resultou na atmosfera de 21% de O₂ que temos hoje.

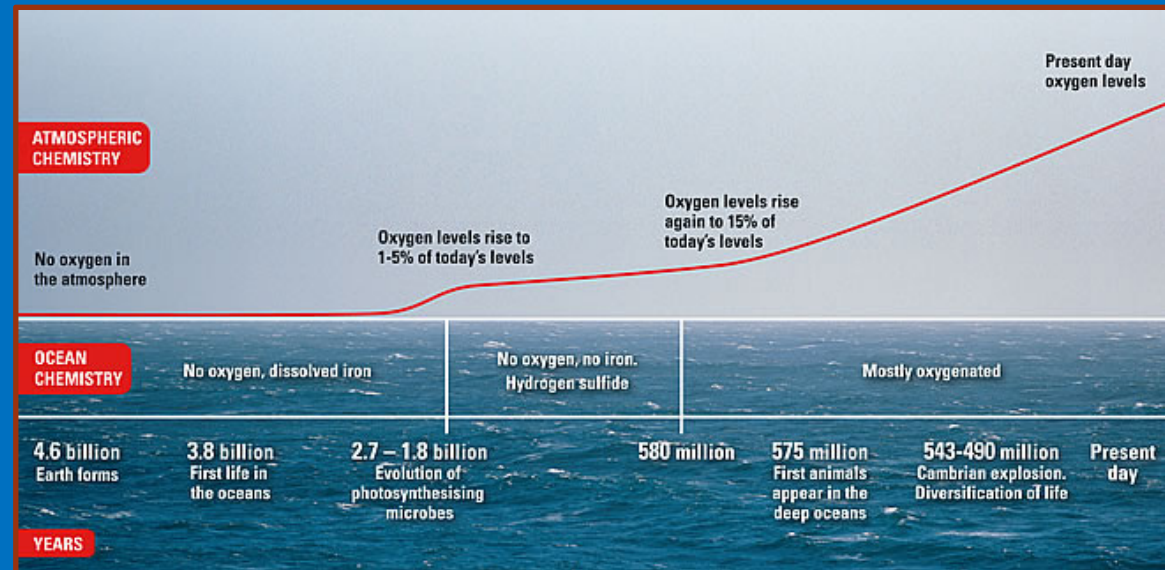


A vida e oxigênio na atmosfera: as cianobactérias

- O aumento nos níveis de oxigênio, permitiu o surgimento da vida como conhecemos, dos organismos metazoa (reino Animal), que se utilizam do poder redutor do O_2 para a geração de energia.
- Como veremos mais adiante no curso, o oxigênio é uma molécula essencial para a geração de energia.

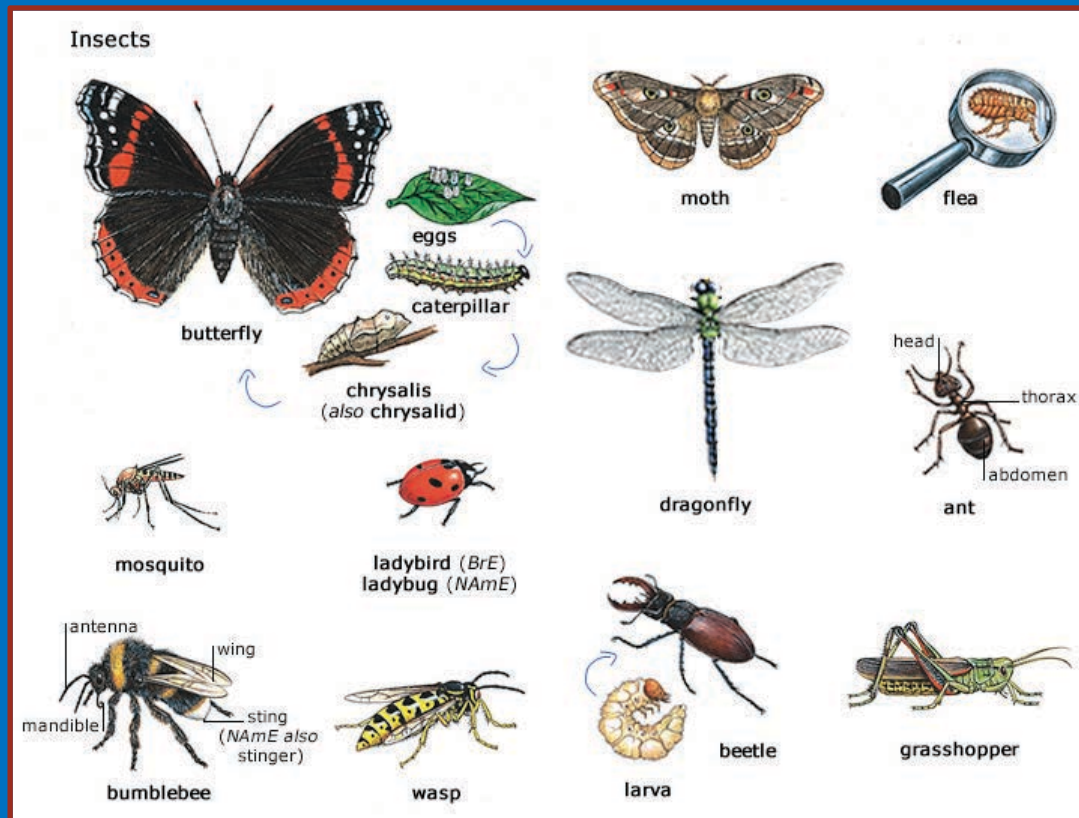


- Porém, para que estes organismos multicelulares pudessem crescer, foi necessário o desenvolvimento de um sistema de transporte de oxigênio da atmosfera para os tecidos.



O oxigênio

- Porém, mesmo com o surgimento do oxigênio (O_2) na atmosfera, o tamanho dos animais é limitado pela capacidade do oxigênio se difundir nos tecidos.
- Por isso, insetos e outros seres invertebrados não crescem além de alguns centímetros.

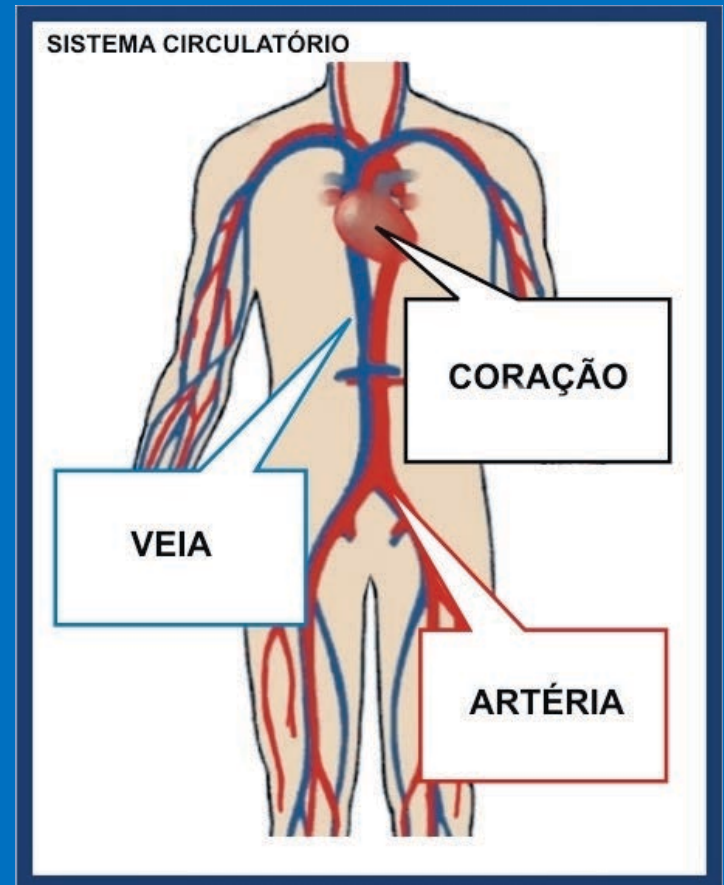


O oxigênio

- Para que o limite de difusão do O_2 fosse superado, animais desenvolveram o sistema circulatório.
- Dentro dos vasos e do sangue, encontram-se células especializadas (hemácias) ricas numa proteína capaz de ligar e transportar o oxigênio.



Células vermelhas
(hemácias) são ricas em
hemoglobina



Mioglobina

- A mioglobina é uma pequena proteína globular produzida no tecido muscular.
- A mioglobina contém Ferro (Fe) e é capaz de ligar oxigênio.
- Ela foi uma das primeiras proteínas a ter sua estrutura tridimensional resolvida por John Kendrew e colaboradores nos anos de 1950 utilizando método de difração de raios-X.
- A mioglobina contém uma única cadeia polipeptídica de 153 aminoácidos e um grupo prostético protoporfirina/Fe, que liga oxigênio.

A mioglobina é responsável pela cor avermelhada do músculo



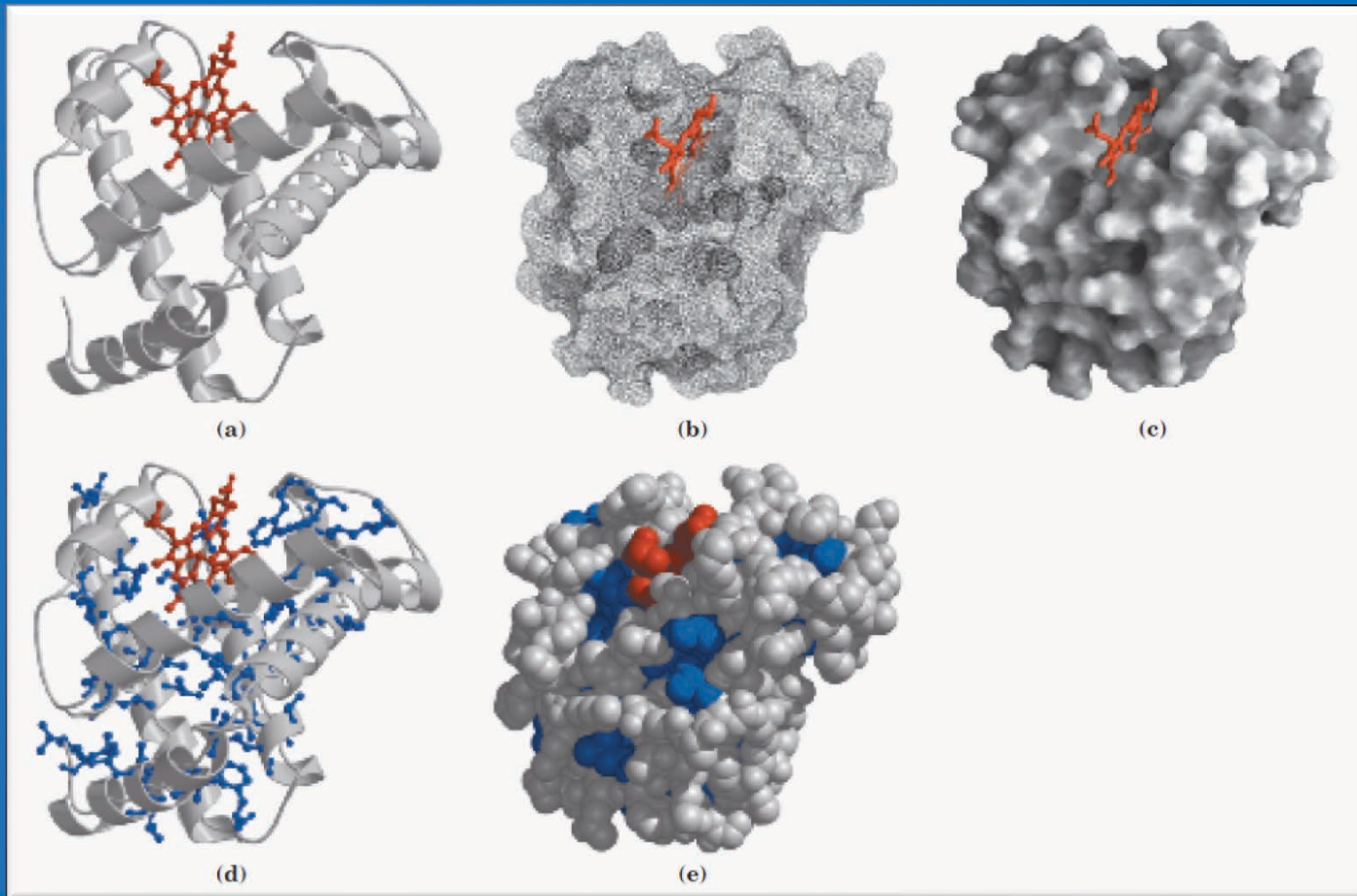
Mioglobina

- Ela é mais abundante na musculatura de animais que mergulham e permanecem submersos por longos períodos de tempo (focas e baleias).
- Por causa da grande quantidade de mioglobina, o músculo destes animais é quase marrom.



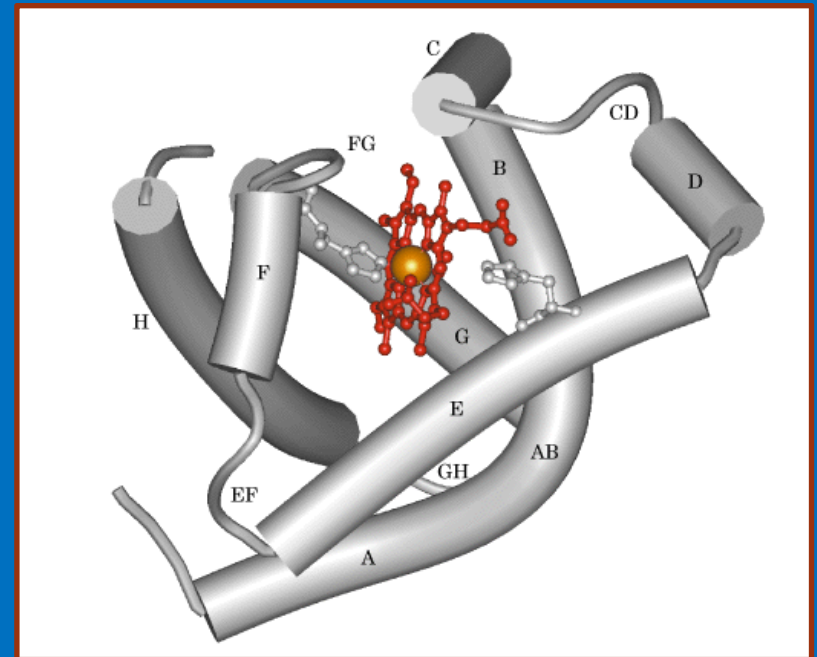
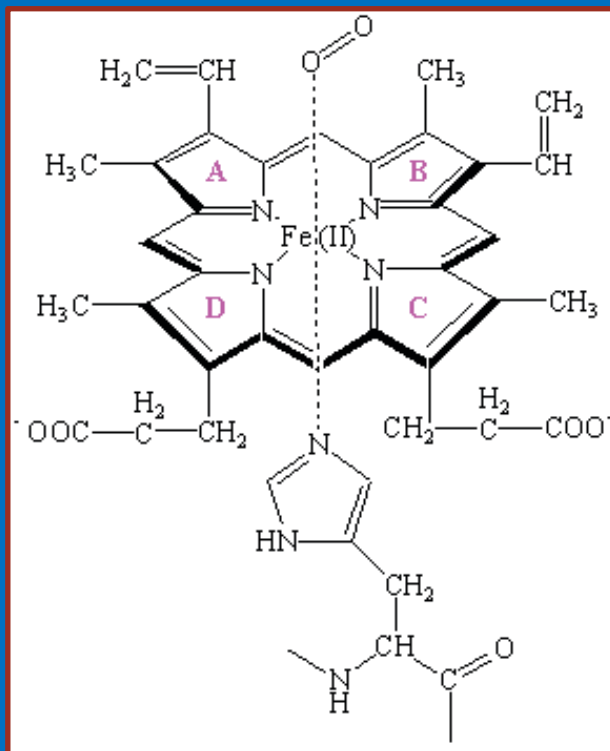
Mioglobina

- Ao se enovelar, os resíduos hidrofóbicos (Leu, Ile, Val, Phe), e indicados em azul (d) e (e), são enterrados dentro da estrutura terciária da proteína.
- Em vermelho, o grupo protoporfirina/Fe (também chamado de grupo heme).



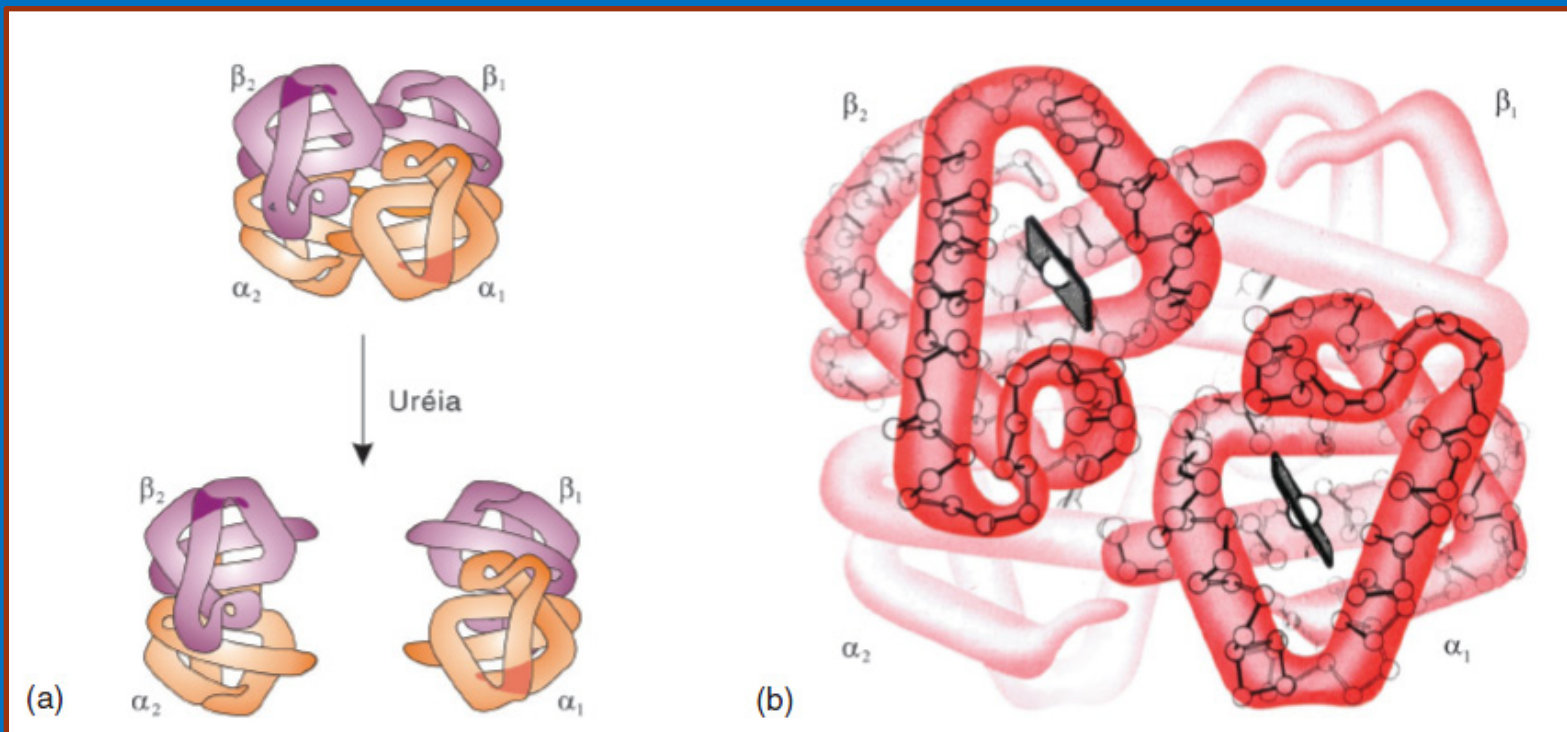
Mioglobina e o grupo heme

- O grupo heme se liga a uma cavidade formada na estrutura terciária da mioglobina.
- O grupo heme se complexa à proteína através de um resíduo de histidina, que participa da ligação da molécula de oxigênio molecular.



A hemoglobina

- A hemoglobina é uma proteína composta de quatro cadeias polipeptídicas (duas α e duas β).
- As cadeias α e β se associam em dímeros, que ligam uns aos outros formando um tetrâmero.



Hemoglobina e mioglobina.

- Comparação das seqüência primárias da mioglobina e das cadeias α e β da hemoglobina.
- Este é um bom exemplo de como proteínas com seqüências "DIFERENTES" mas "PARECIDAS" apresentam a mesma ESTRUTURA e FUNÇÃO.

	Mb	Hb α	Hb β
NA1	V	V	V
			H
	L	L	L
A1	S	S	T
	R	P	P
	G	A	E
	R	D	E
	W	K	K
	Q	T	S
	L	N	A
	V	V	V
	L	K	T
	H	A	A
	V	A	L
	W	W	W
	A	G	G
	K	K	K
	V	V	V
A16	E	G	
	A	A	
B1	D	H	N
	V	A	V
	A	G	D
	G	E	E
	H	Y	V
	G	G	G
	Q	A	G
	D	E	E
	I	A	A
	L	L	L
	I	E	G
	R	R	R
	L	M	L
	F	F	L
	K	L	V
B16	S	S	V
C1	H	F	Y
	P	P	P
	E	T	W
	T	Y	T
	L	K	Q
	E	T	R
C7	K	Y	F
	P	F	F
	D	P	E
	R	H	S
	F	F	F
	K		G
	H	D	D
	L	L	L
	K	S	S
D1	T	H	T

	Mb	Hb α	Hb β
	E		P
	A		D
	E		A
	M		V
	K		M
D7	A	G	G
E1	S	S	N
	E	A	P
60D	Q	K	K
	L	V	V
	K	K	K
	K	G	A
Distal His E7	H	H	H
	G	G	G
	V	K	K
	T	K	K
	V	V	V
	L	A	L
	T	D	G
	A	A	A
	L	L	F
	G	T	S
	A	N	D
	I	A	G
E19	L	V	L
	K	A	A
	K	H	H
	K	V	L
80G	D	D	D
	H	D	N
	H	M	L
	E	P	K
	A	N	G
	E	A	T
F1	L	L	F
	K	S	A
	P	A	T
	L	L	L
	A	S	S
	Q	D	E
	S	L	L
Proximal His F8	H	H	H
F9	A	A	C
	T	H	D
	K	K	K
	H	L	L
	K	R	H
	I	V	V
G1	P	D	D
	I	P	P
	K	V	E
	Y	N	N

	Mb	Hb α	Hb β
	L	F	F
	E	K	R
	F	L	L
	I	L	L
	S	S	G
	E	H	N
	A	C	V
	I	L	L
	I	L	V
	H	V	C
	V	T	V
	L	L	L
	H	A	A
	S	A	H
G19	R	H	H
	H	L	F
120P	P	P	G
	G	A	K
	D	E	E
	F	F	F
H1	G	T	T
	A	P	P
	D	A	P
	A	V	V
	Q	H	Q
	G	A	A
	A	S	A
	M	L	Y
	N	D	Q
	K	K	K
	A	F	V
	L	L	V
	E	A	A
	L	S	G
	F	V	V
	R	S	A
	K	T	N
	D	V	A
	I	L	L
	A	T	A
H21	A	S	H
	K	K	K
	Y	Y	Y
	K	R	H
	E		
H26	L		
	G		
	Y		
	Q		
133G			

Hb α and Hb β only

Hemoglobina e mioglobina.

- Comparação das sequências primárias da mioglobina e das cadeias α e β da hemoglobina.
- A cadeia α e β da hemoglobina compartilham apenas 43% dos aminoácidos.

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps
114 bits (286)	2e-37	Compositional matrix adjust.	63/145 (43%)	88/145 (60%)	8/145 (5%)
Hemo a 3	LSPADKTNVKA AWGKVG AHAGEYGA EALERMFLSFPTTKTYFPHF-DLS-----HGSAQV	56	L+P +K+ V A WGKV + E G EAL R+ + +P T+ +F F DLS G+ +V		
Hemo b 4	LTPEEKSAVTALWGKV--NVDEVGG EALGRLLVVYPWTQRFFESFGDLSTPD AVMG NPKV	61			
Hemo a 57	KGHGKKVADALTNAVAHVDDMPNALSALS DLHAHKL RVD PVNFKLLSHCLLVTLAAHLPA	116	K HGGKKV A ++ +AH+D++ + LS+LH KL VDP NF+LL + L+ LA H		
Hemo b 62	KAHGKKVLGAFSDGLAHL DNLKGT FATLSELHCDKLHVDPENFRLLGNVLCVLAH HFGK	121			
Hemo a 117	EFTPAVHASLDKFLASVSTVLT SKY	141	EFTP V A+ K +A V+ L KY		
Hemo b 122	EFTPPVQAAYQKVVAGVANALAHKY	146			

Hemoglobina e mioglobina.

- C
- A

Score
114 b

Hemo

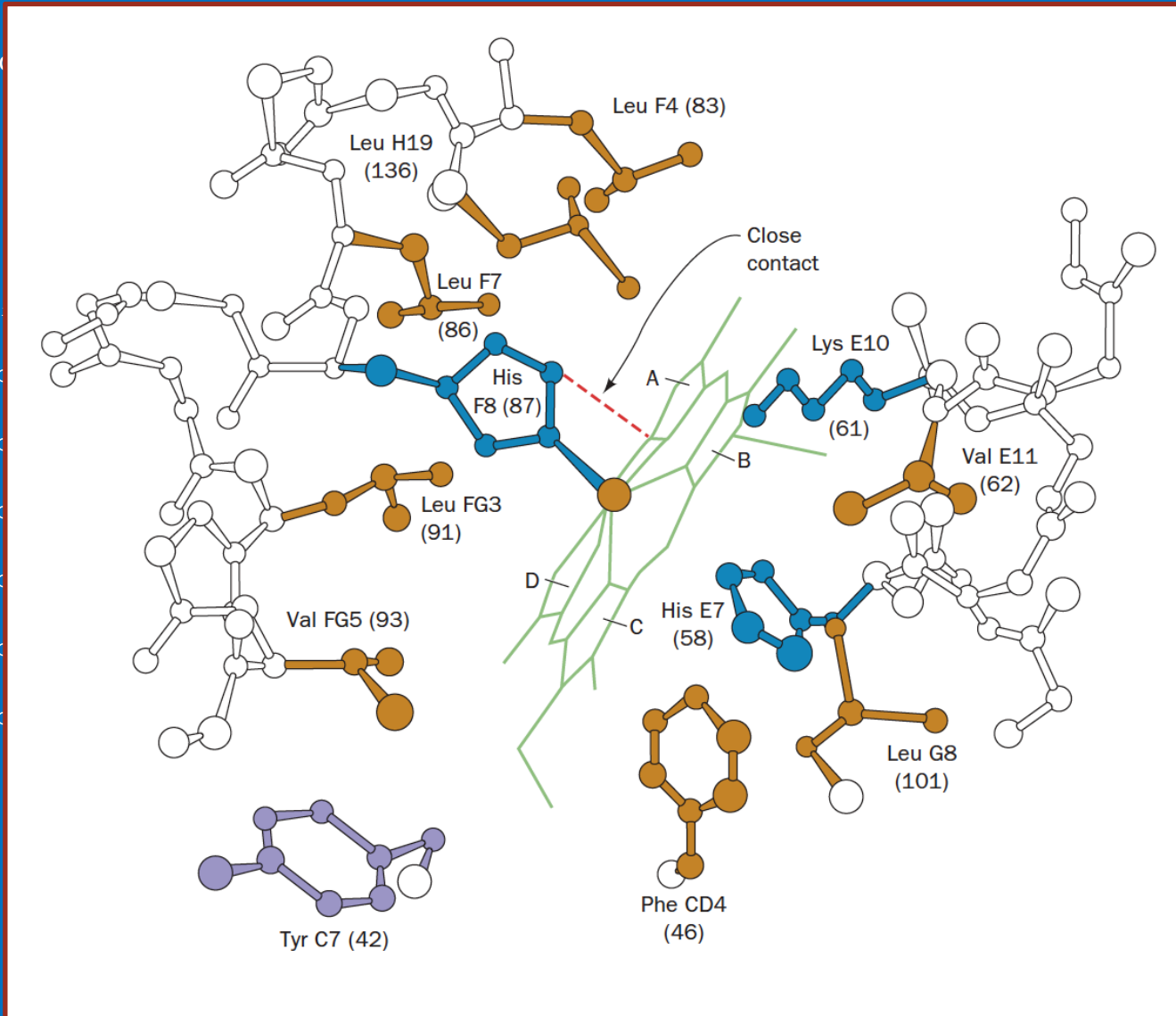
Hemo

Hemo

Hemo

Hemo

Hemo



56

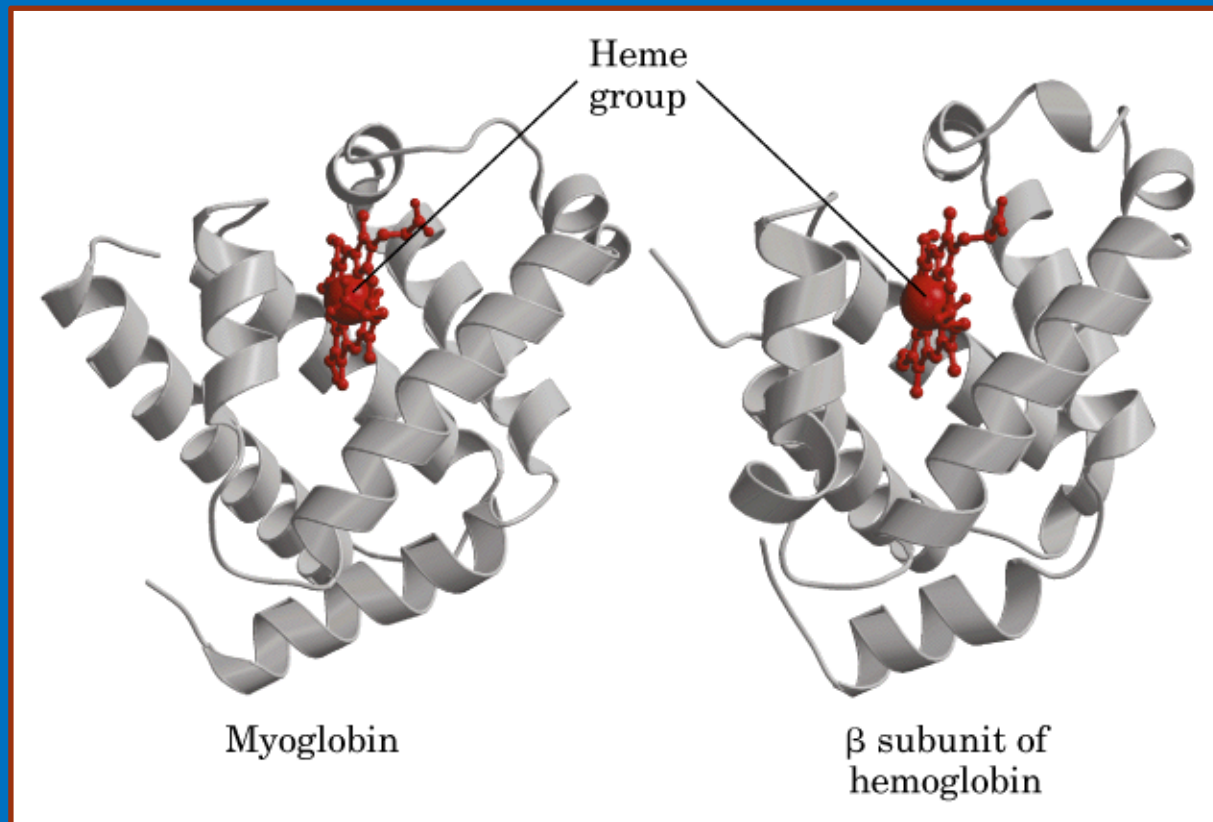
61

116

121

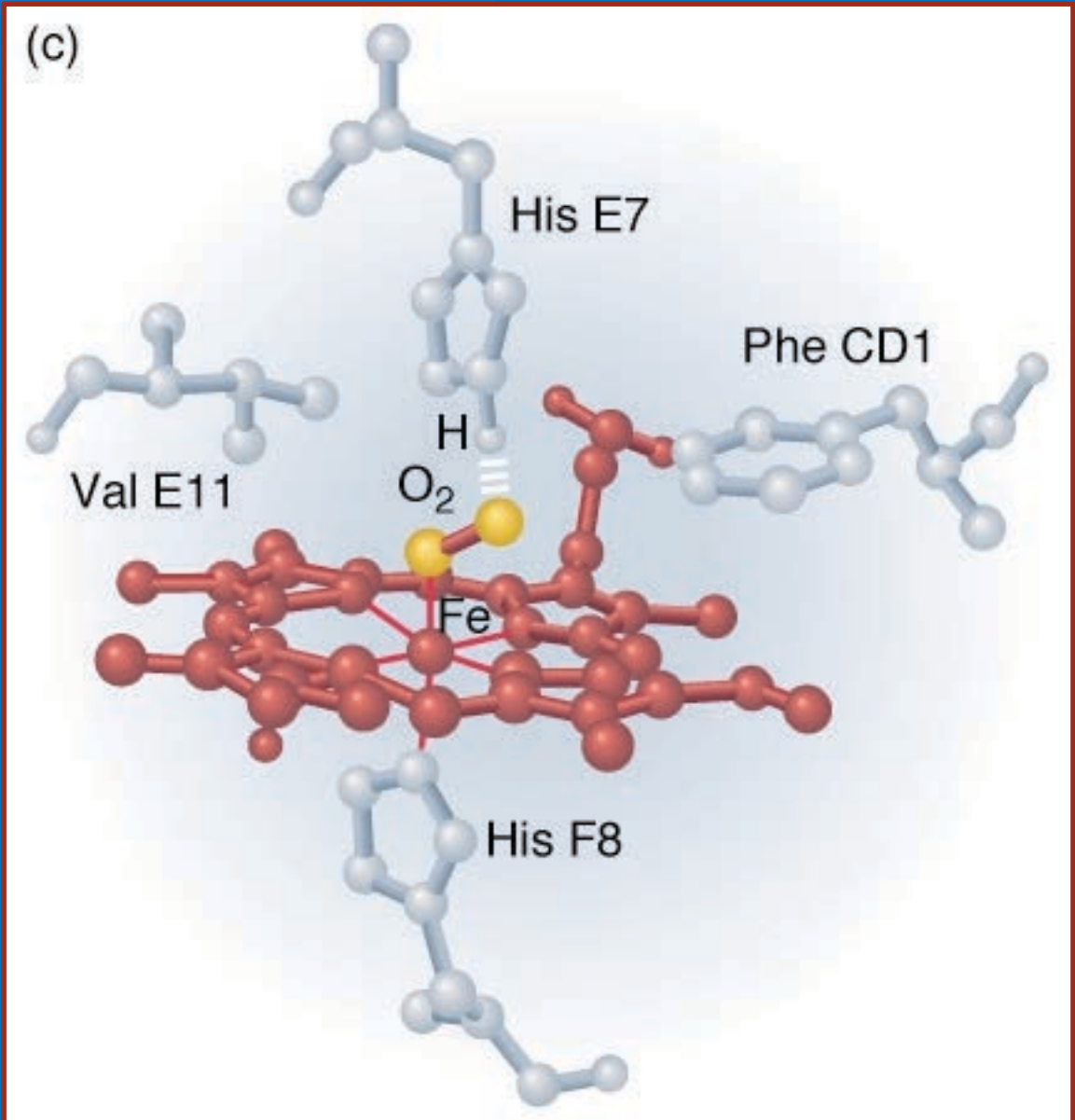
A hemoglobina e a mioglobina tem estruturas terciárias semelhantes

- A hemoglobina é uma proteína composta de quatro cadeias polipeptídicas (duas α e duas β).
- As cadeias α e β se associam em dímeros, que ligam uns aos outros formando um tetrâmero.



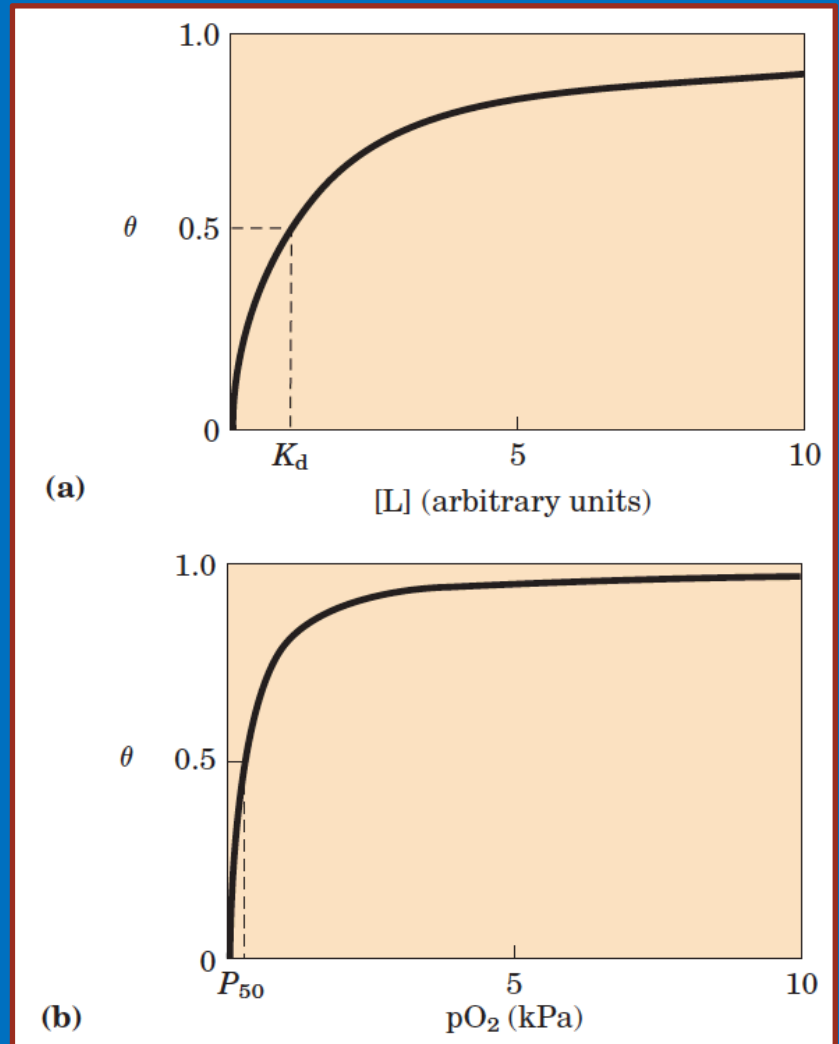
A ligação do oxigênio ao grupo heme

- Note que os aminoácidos importantes para ligação do grupo heme e do oxigênio são conservados.



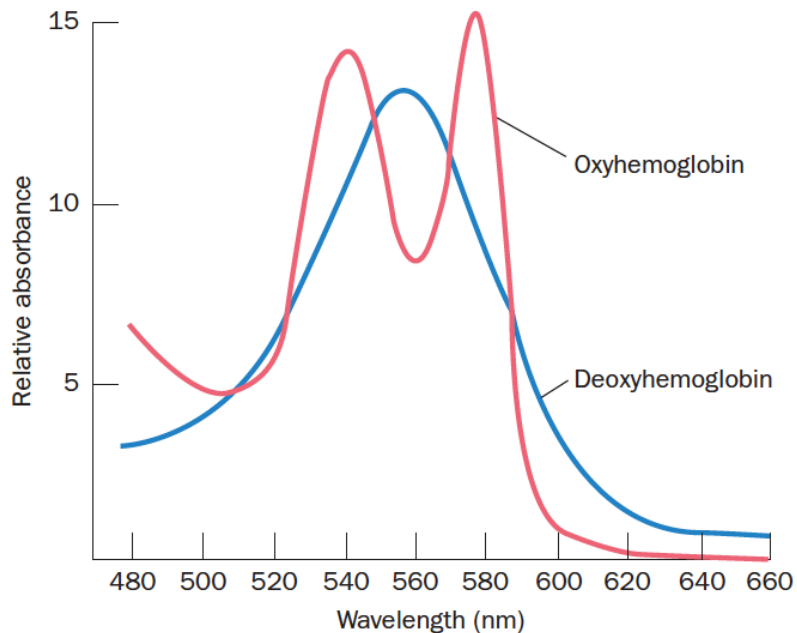
A ligação do oxigênio ao grupo heme

- A ligação do oxigênio depende da pressão ou concentração (pO_2).
- A letra grega teta (θ) representa a fração ligada.



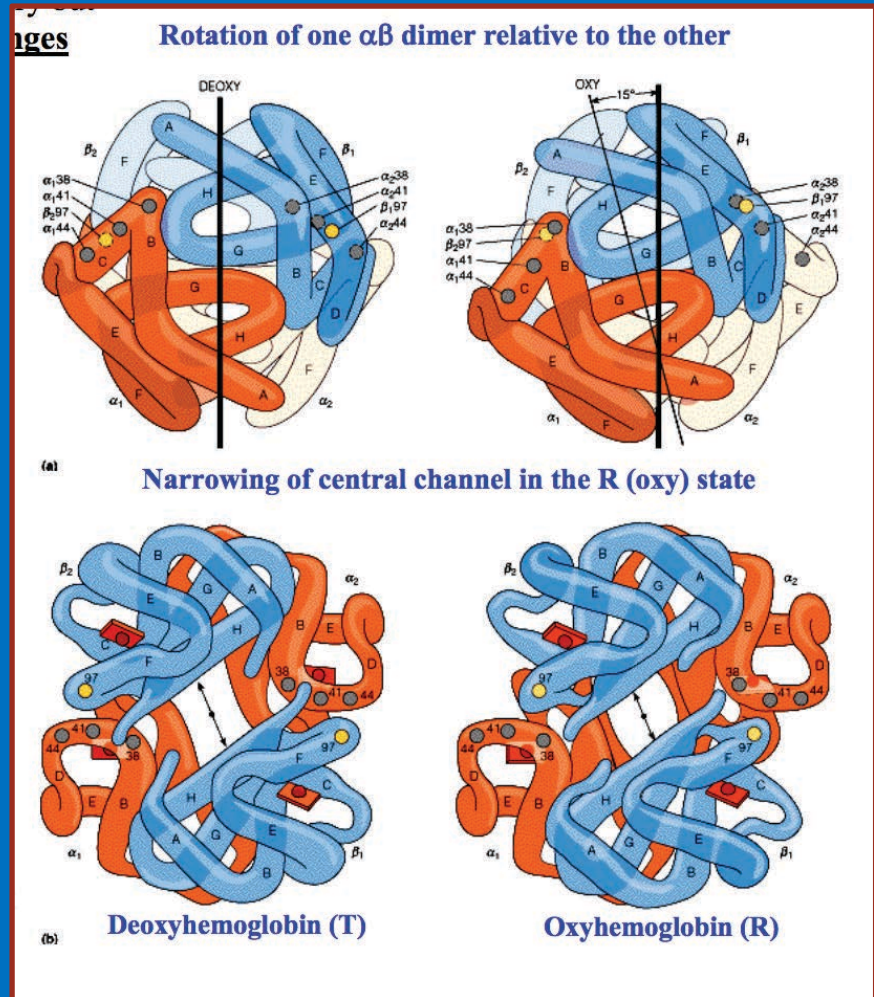
A ligação do oxigênio altera a hemoglobina

- Hemoglobina pode ser encontrada em dois estados: deoxihemoglobina e oxihemoglobina
- $\text{Hb} + \text{O}_2 \rightleftharpoons \text{HbO}_2$
- A deoxihemoglobina e oxihemoglobina absorvem em diferentes comprimentos de onda, por isso, o sangue oxigenado é vermelho e o sangue venoso (pobre em oxigênio) é "azulado".



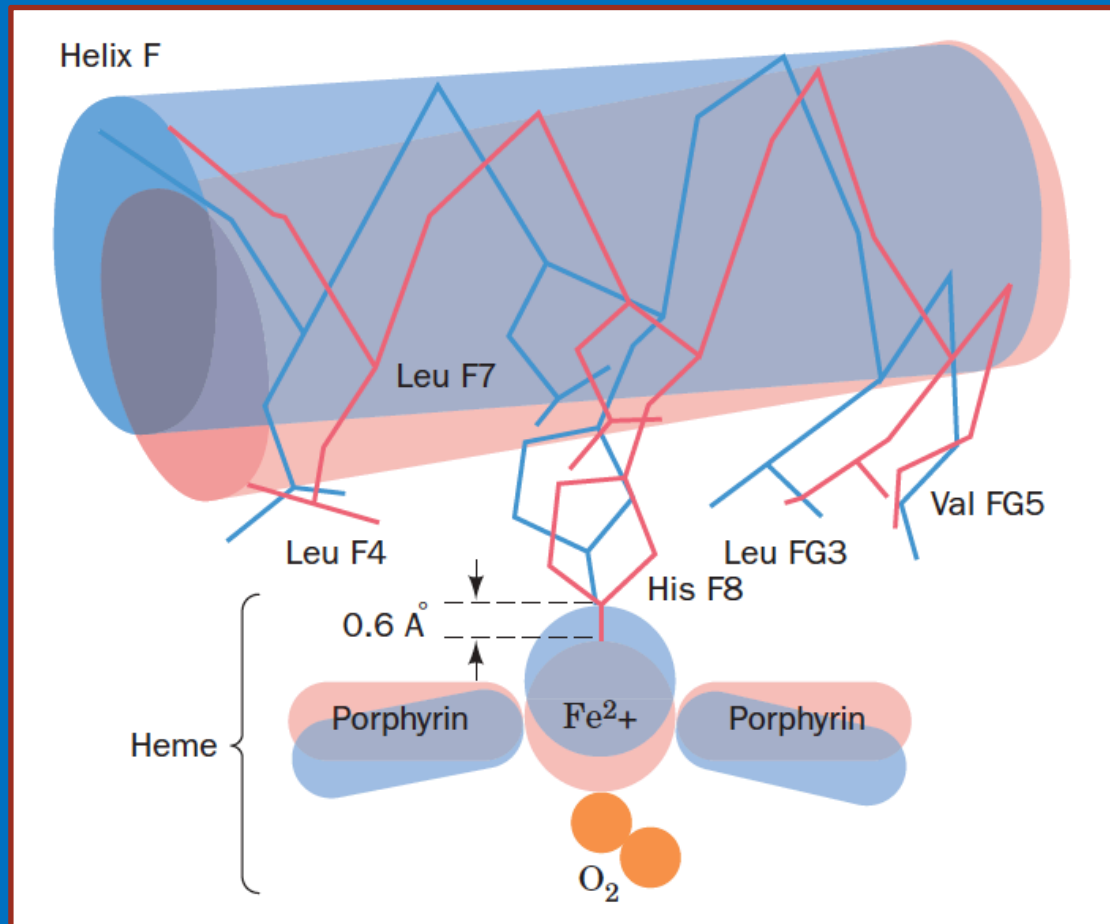
O oxigênio altera a conformação da hemoglobina

- A ligação do oxigênio à hemoglobina, altera a conformação da proteína, aumentando a afinidade pelo oxigênio.
- A deoxihemoglobina encontra-se no estado T; já a oxihemoglobina, encontra-se no estado R.



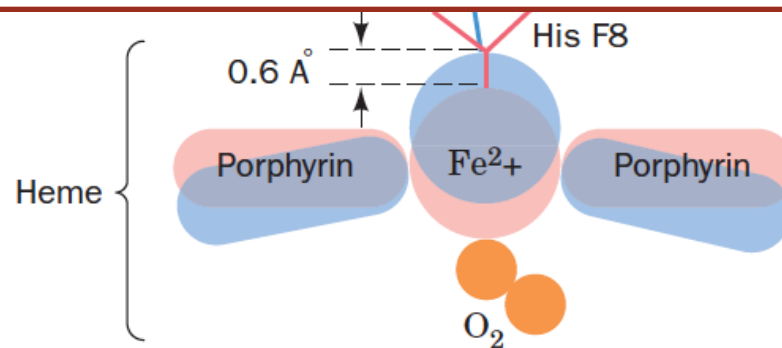
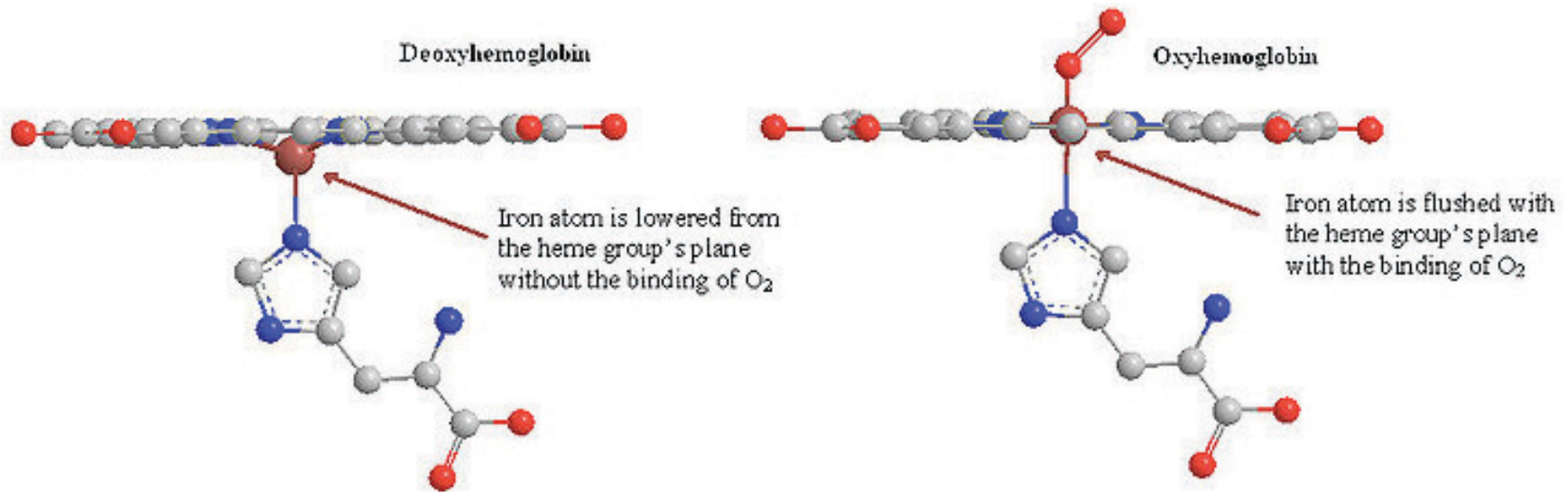
O oxigênio altera a conformação da hemoglobina

- A ligação de uma molécula de oxigênio altera a conformação da proteína, alterando a posição do grupo heme.
- Com isto, há um aumento da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio.



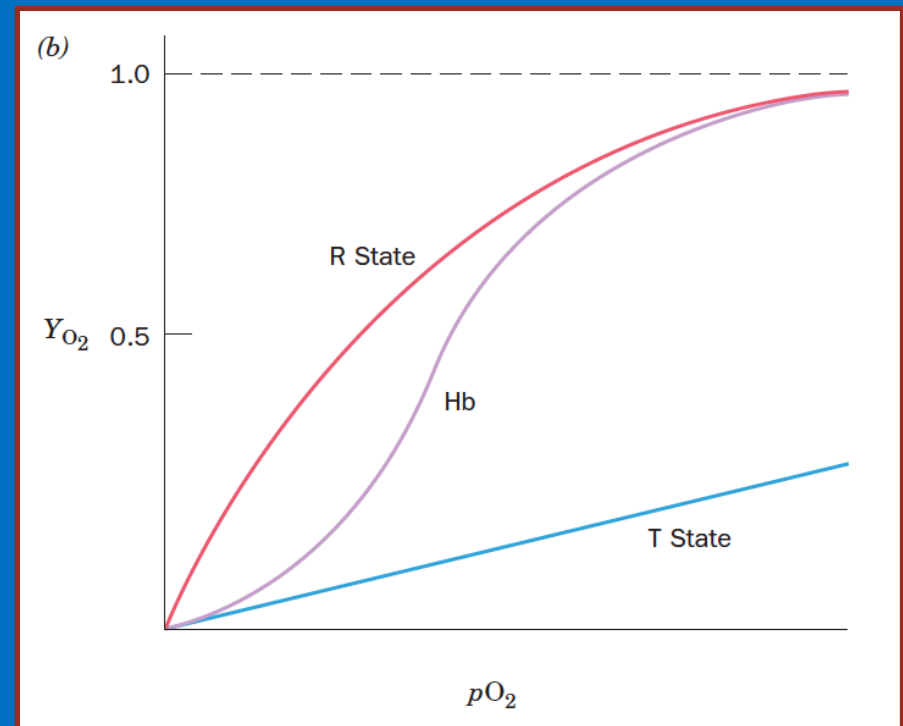
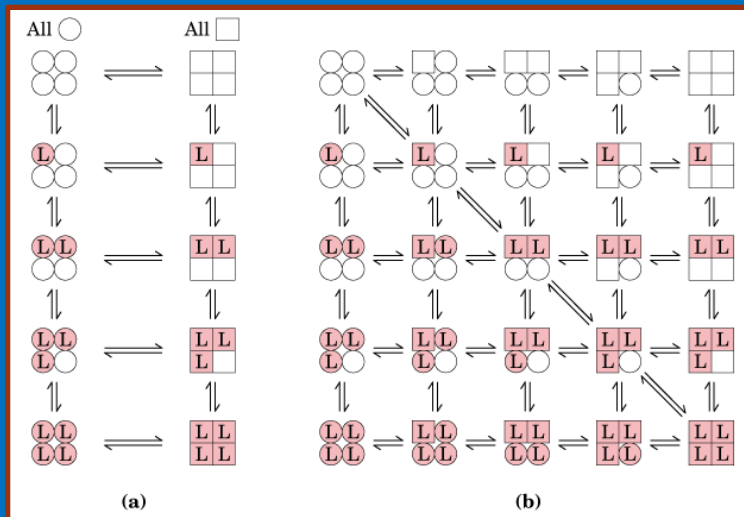
O oxigênio altera a conformação da hemoglobina

- A ligação de uma molécula de oxigênio altera a conformação da proteína, alterando a posição do grupo heme.
- Com isto, há um aumento da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio.



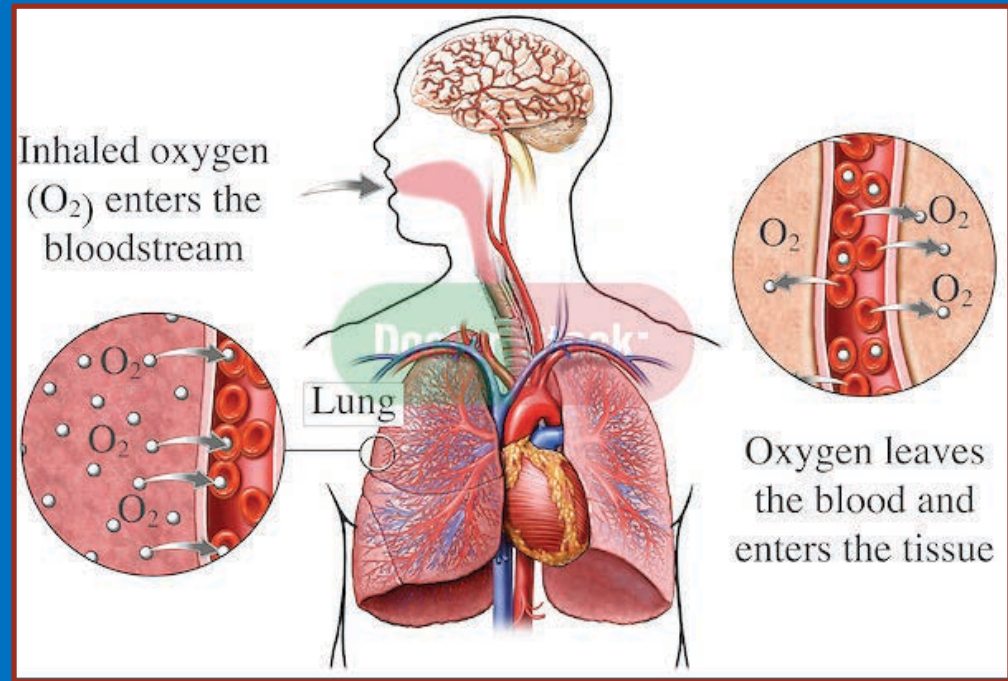
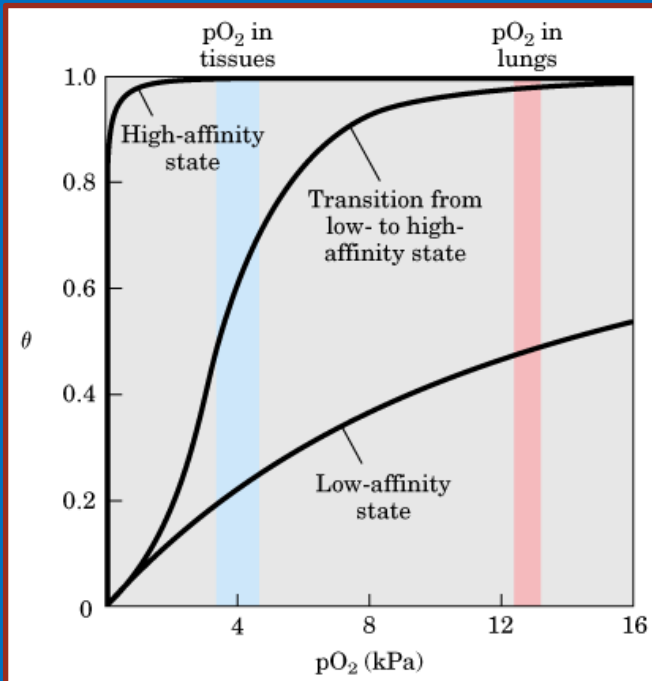
A hemoglobina liga O₂ de forma cooperativa

- A ligação da primeira molécula, induz uma mudança de conformação da outra cadeia de hemoglobina, estabilizando seu estado de maior afinidade pelo O₂.



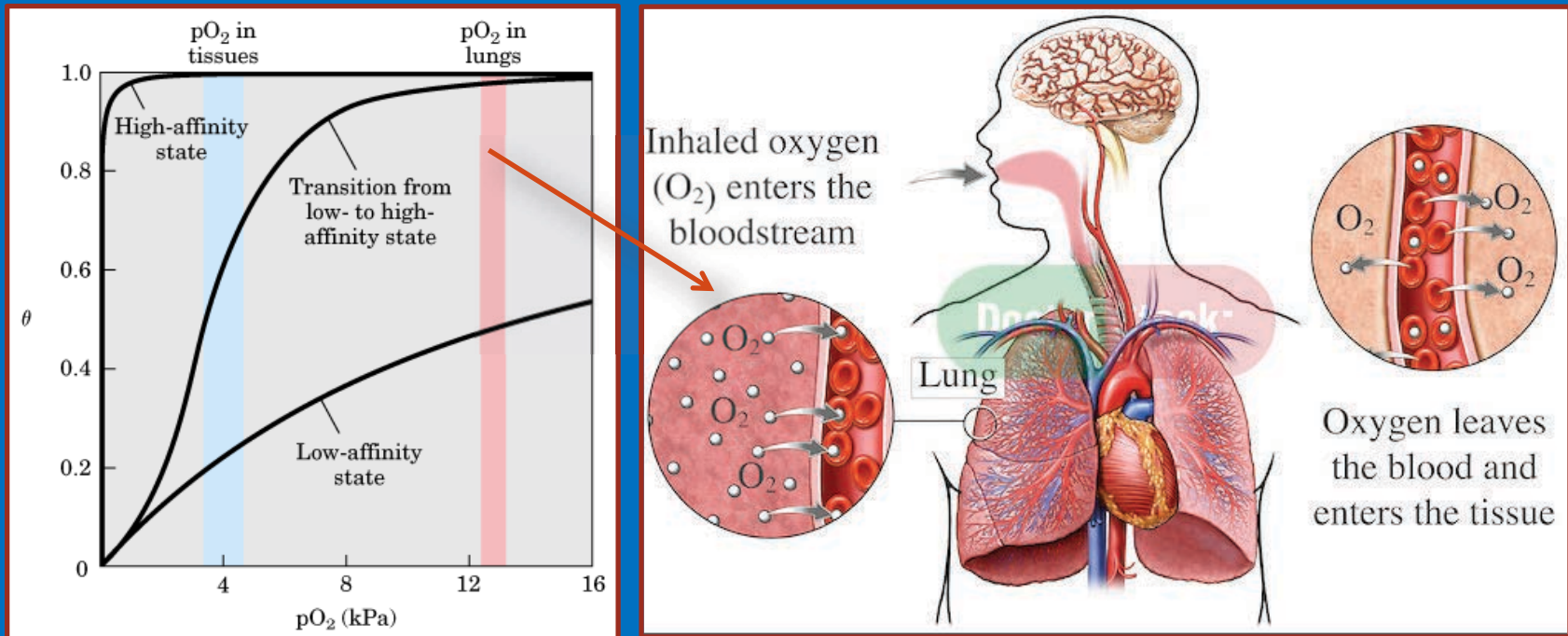
O mudança de afinidade pelo oxigênio é essencial para a função da hemoglobina

- Esta mudança de conformação e afinidade pelo O_2 é essencial para que o oxigênio se ligue à hemoglobina nos pulmões ($\uparrow pO_2$), mas se desligue nos tecidos ($\downarrow pO_2$).



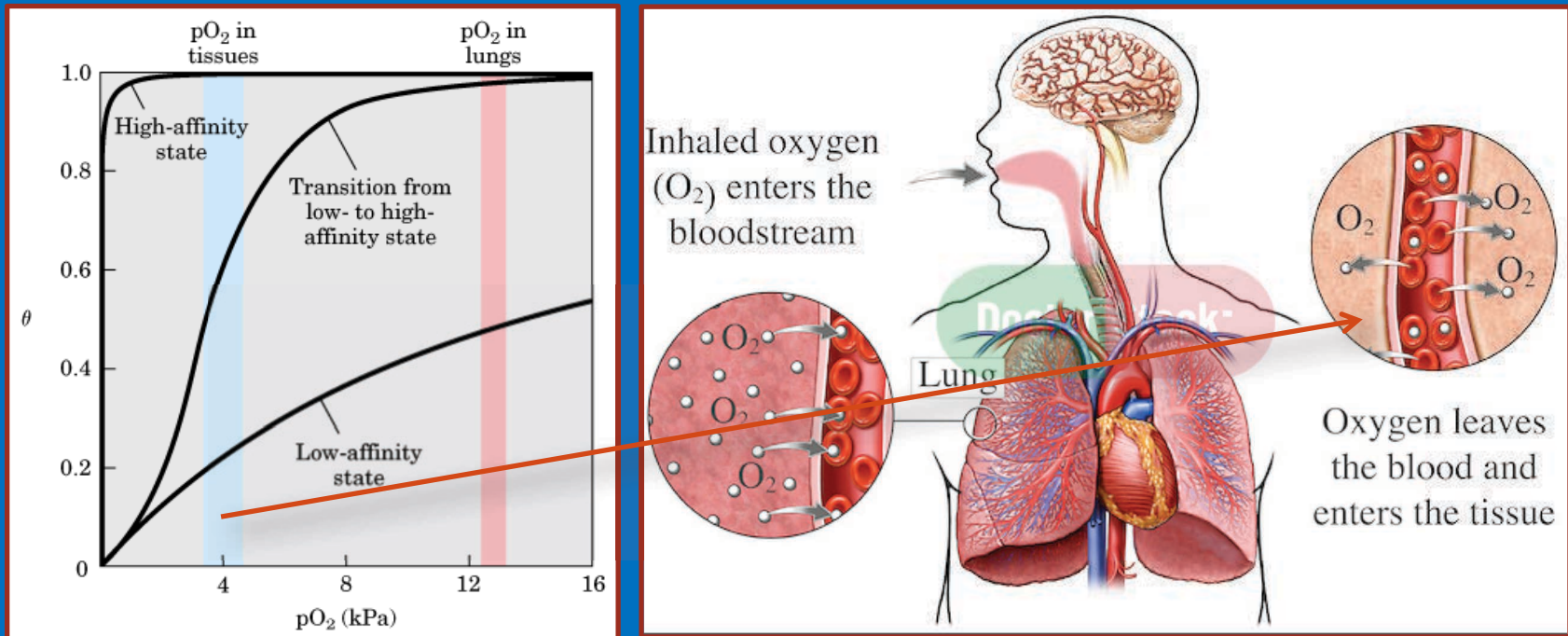
O mudança de afinidade pelo oxigênio é essencial para a função da hemoglobina

- Esta mudança de conformação e afinidade pelo O_2 é essencial para que o oxigênio se ligue à hemoglobina nos pulmões ($\uparrow pO_2$), mas se desligue nos tecidos ($\downarrow pO_2$).



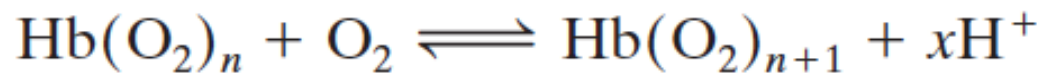
O mudança de afinidade pelo oxigênio é essencial para a função da hemoglobina

- Esta mudança de conformação e afinidade pelo O_2 é essencial para que o oxigênio se ligue à hemoglobina nos pulmões ($\uparrow pO_2$), mas se desligue nos tecidos ($\downarrow pO_2$).



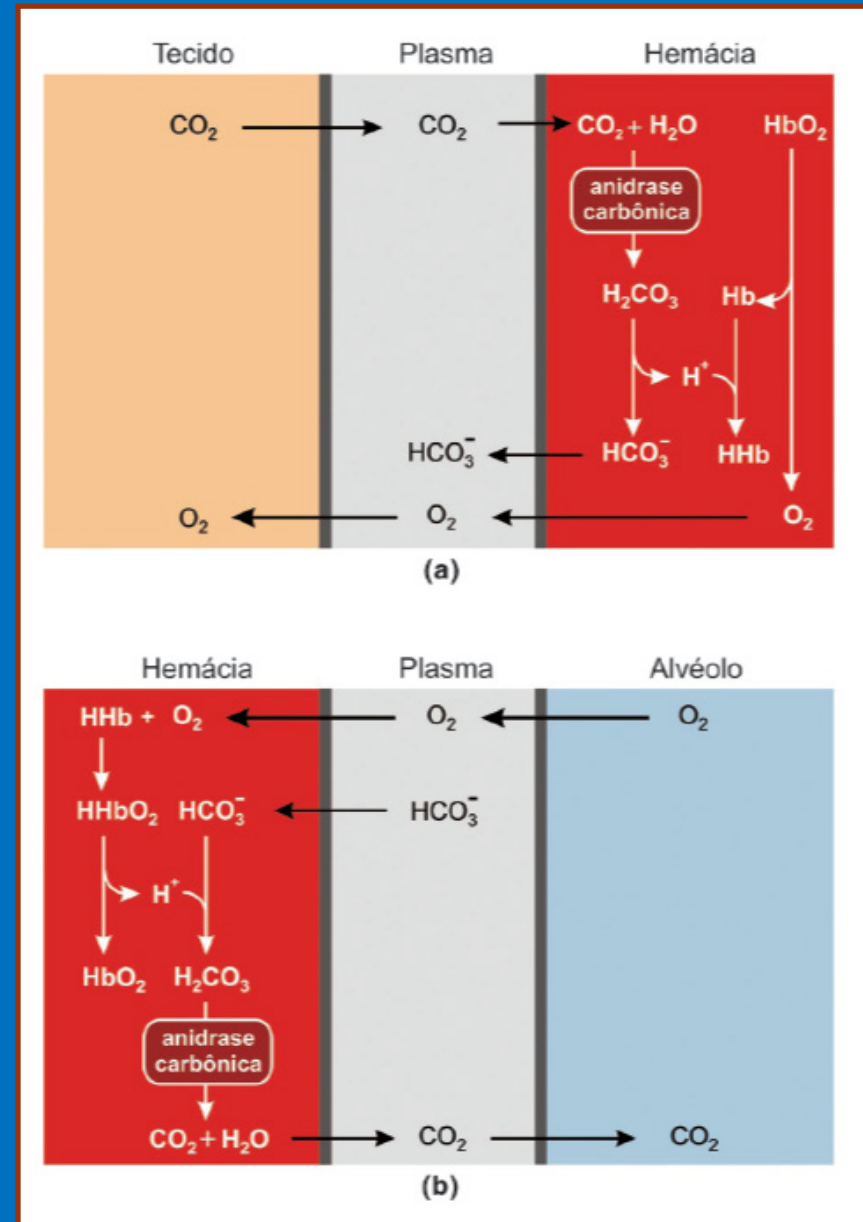
A hemoglobina não transporta apenas O₂....

- Enquanto o grupo Heme transporta o O₂, as cadeias laterais da hemoglobina transportam H⁺.
- Esta propriedade da hemoglobina é conhecida como efeito Bohr, em homenagem a Christian Bohr, pais do físico Niels Bohr.
- Com a mudança da conformação da hemoglobina do estado T para o R, há alterações no pKa de cadeias laterais de alguns aminoácidos.
- Em particular, de resíduos de Histidina, com pKa ~6, próximo ao pH do sangue.



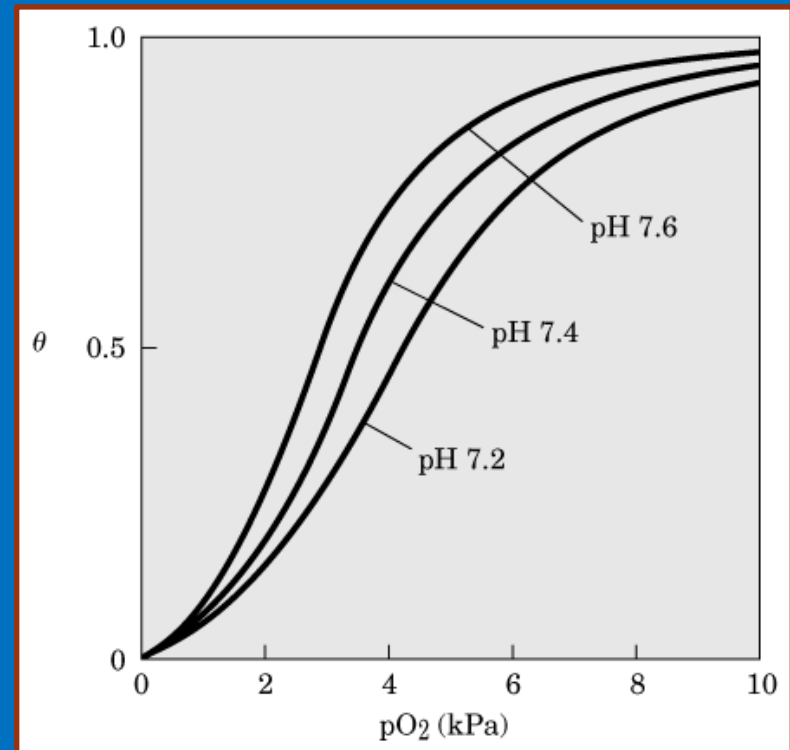
O transporte de O_2 regula o transporte de H^+ e CO_2

- A enzima anidrase carbônica é abundante em hemácias e tem um papel importante neste processo.
- Esta enzima catalisa a reação de formação de ácidos carbônico a partir de CO_2 e H_2O .



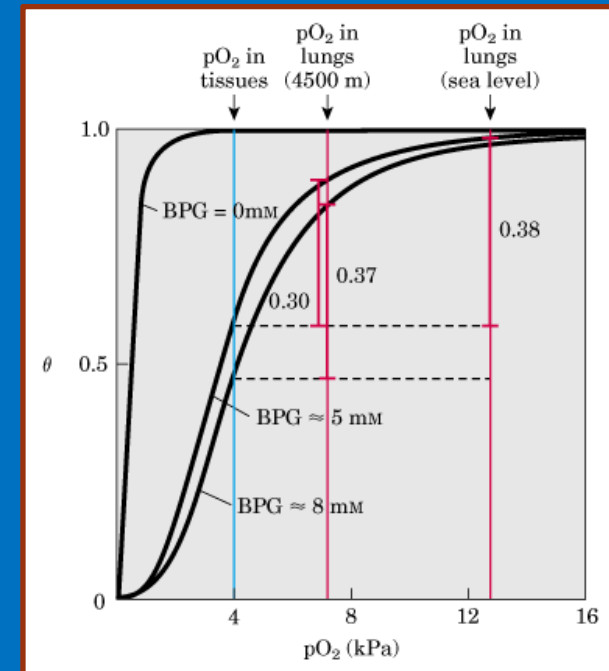
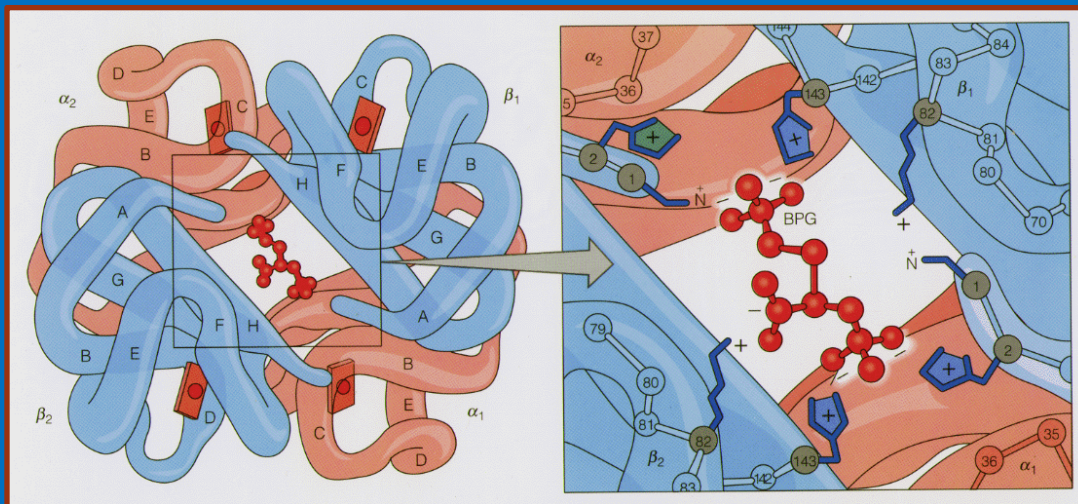
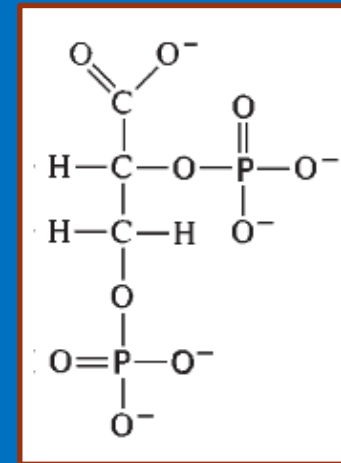
O pH do sangue é importante para o transporte de O₂

- O transporte de H⁺ e CO₂ pela hemoglobina e hemácias tem como resultado uma mudança no pH do sangue.
- O pH do sangue, por outro lado, altera a afinidade da hemoglobina pelo O₂.
- Todas estas mudanças, tornam a hemoglobina uma molécula ideal para sua função: recolher oxigênio nos pulmões e libera-lo nos tecidos.
- E ao mesmo tempo, recolher o CO₂ acumulado nos tecidos, trazendo-o de volta para ser eliminado nos pulmões.



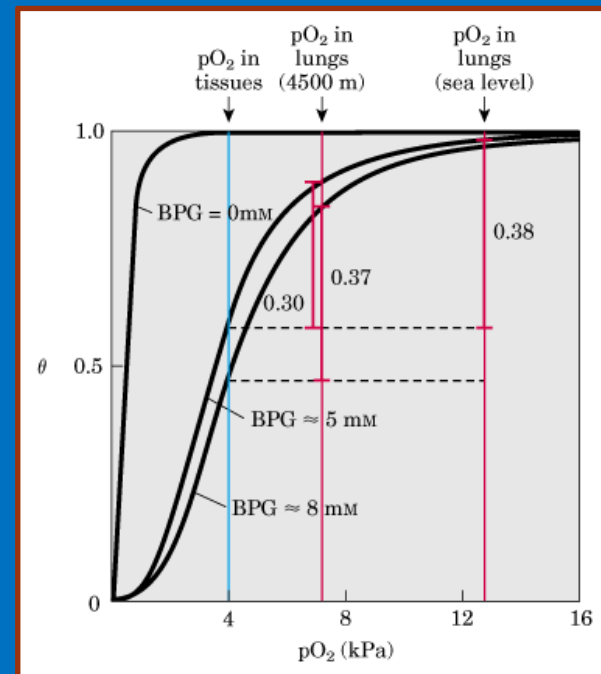
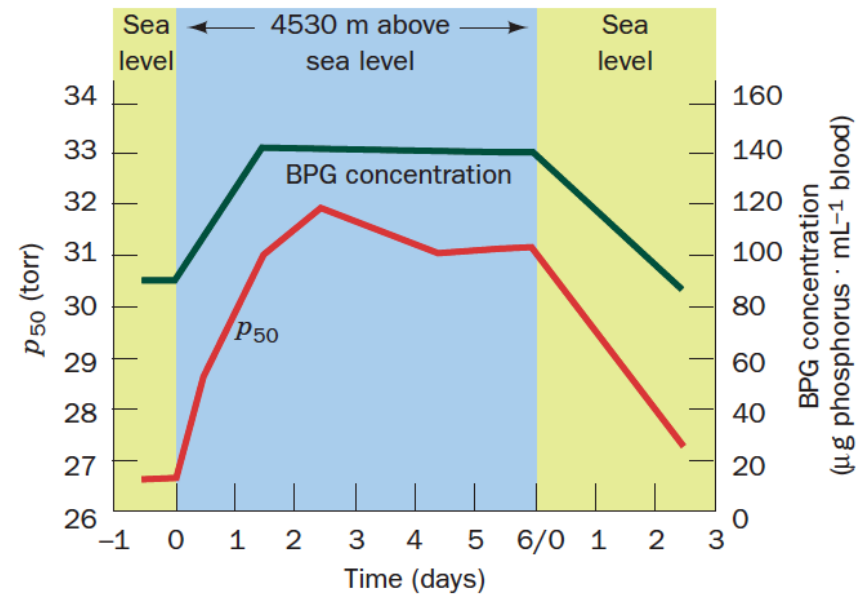
O 2-3-bisfosfoglicerato (BPG)

- O BPG é produzido nas hemácias a partir do 3-fosfoglicerol (via glicolítica).
- O BPG liga-se ao centro da hemoglobina, inibindo a transição do estado de baixa para o de alta afinidade pelo oxigênio.
- O BPG é essencial para "ajustar" a afinidade e a cooperatividade da hemoglobina pelo oxigênio.
- Sem o BPG, a hemoglobina não liberaria o oxigênio nos tecidos.



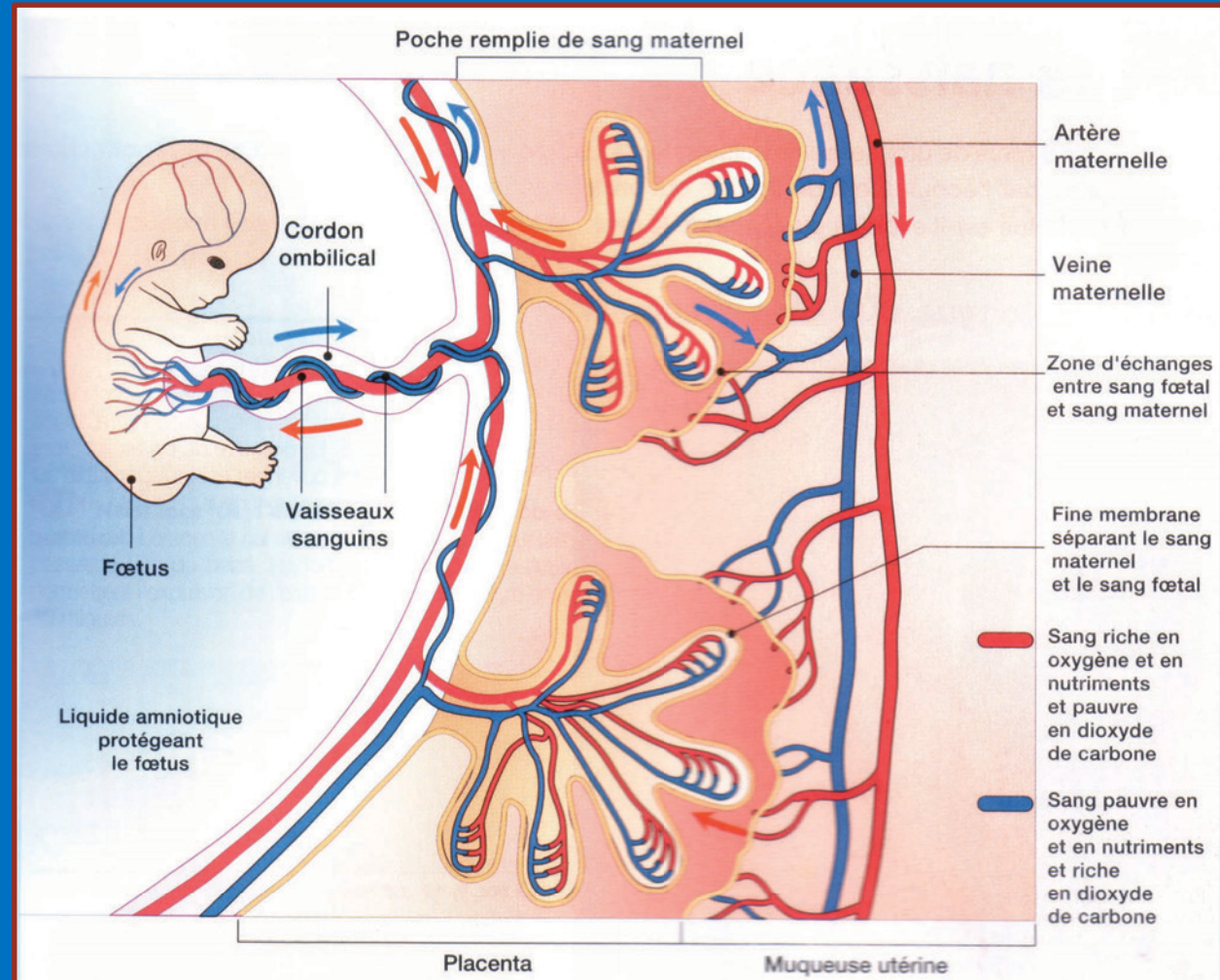
A concentração de BPG pode ser alterada na hemácia

- A concentração de BPG pode ser alterada na hemácia.
- Por exemplo, em altitudes onde o pO_2 é baixo, a concentração de BPG aumenta.
- Isto faz com que a afinidade da hemoglobina pelo O_2 aumente no pulmão e diminua nos tecidos.
- Isto permite que o O_2 se ligue a hemoglobina no pulmão e se desligue nos tecidos.



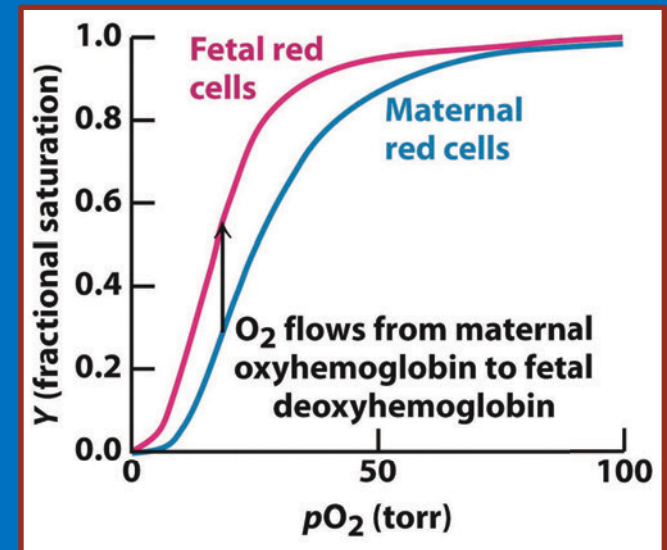
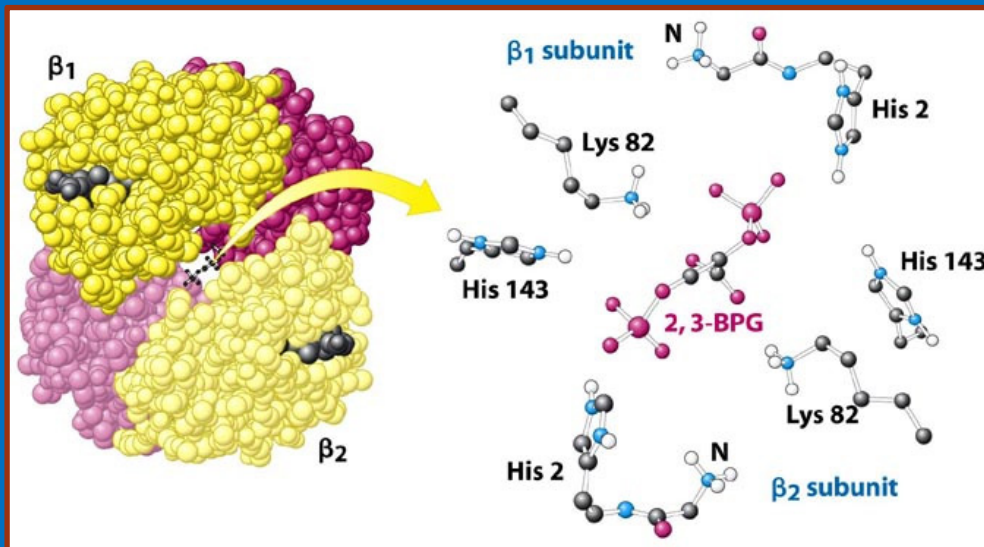
Hemoglobina fetal

- O feto humano, e de outros mamíferos, produz uma hemoglobina diferente da HbA. Ao invés da cadeia β , o feto produz a cadeia γ , que se associa com a cadeia α formando a hemoglobina fetal (HbF) ($\alpha_2\gamma_2$).
- Isto porque o oxigênio precisa ser transferido do sangue materno, para o sangue do bebê.
- A transferência é feita na placenta.



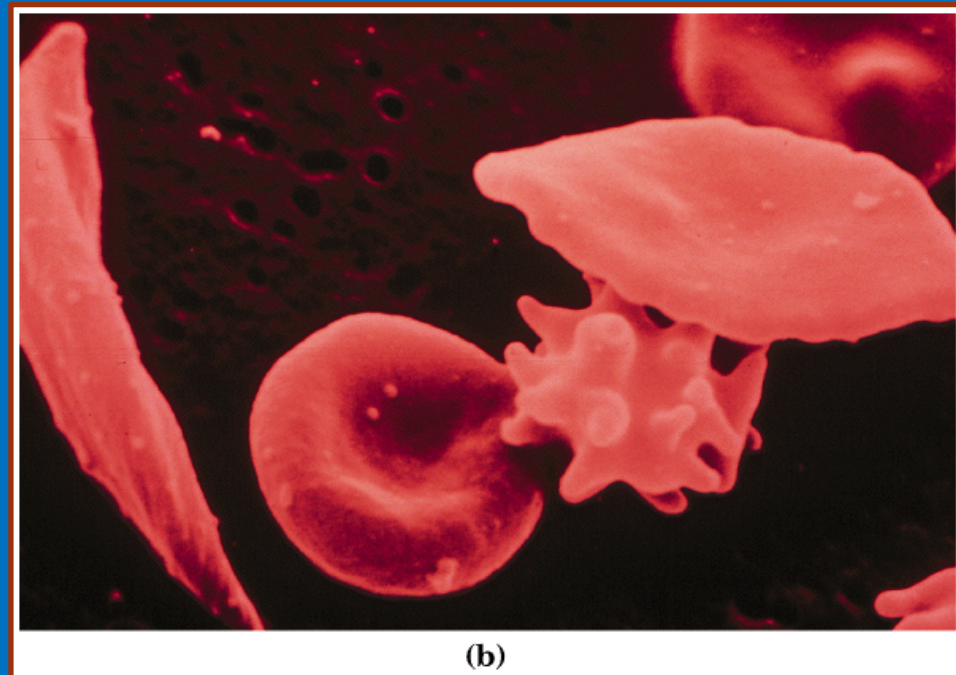
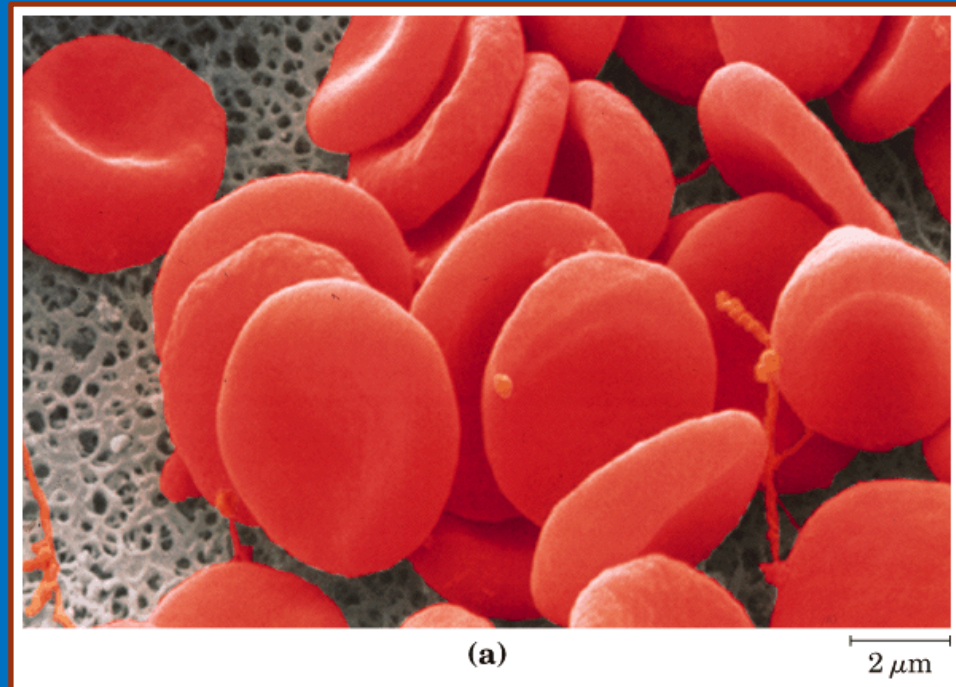
Hemoglobina fetal

- A HbF tem afinidade mais alta por oxigênio, em condições fisiológicas, do que a HbA da mãe, permitindo assim que o O₂ seja transferido da mãe para o feto.
- As cadeias β e γ da hemoglobina têm o mesmo número de aminoácidos, porém, a cadeia γ tem uma serina ao invés de uma histidina na posição 143. Esta histidina é importante para a ligação do BPG.
- Assim, a HbF não liga BPG com a mesma afinidade, aumentando a ligação de O₂.



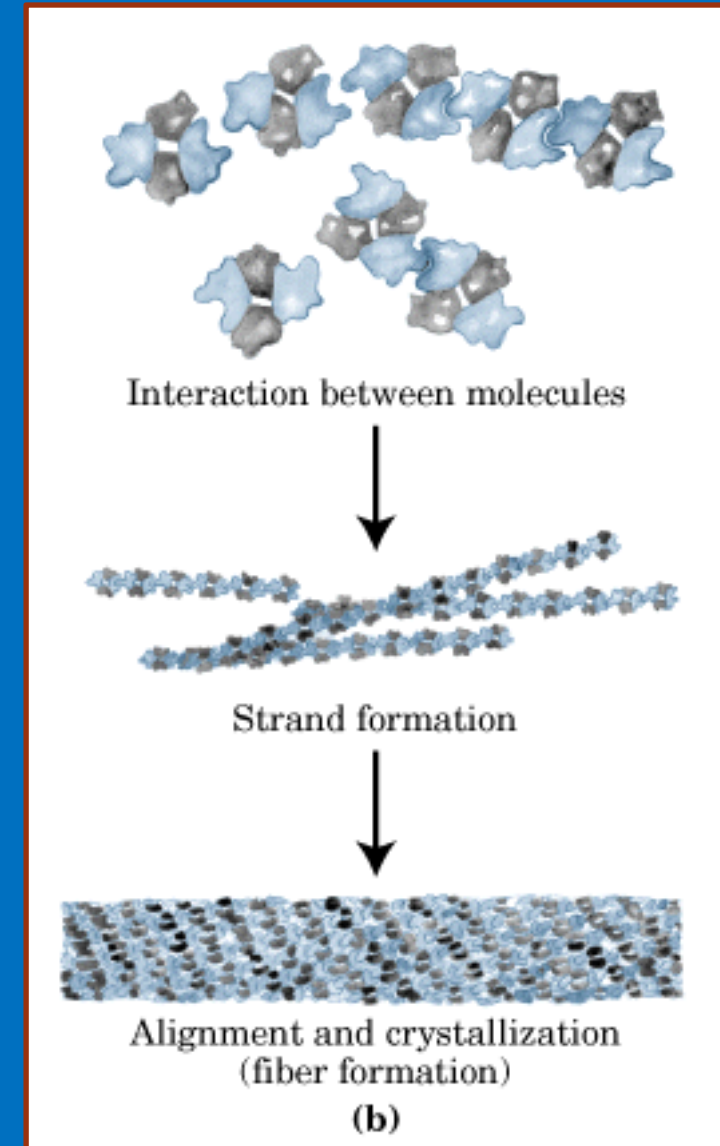
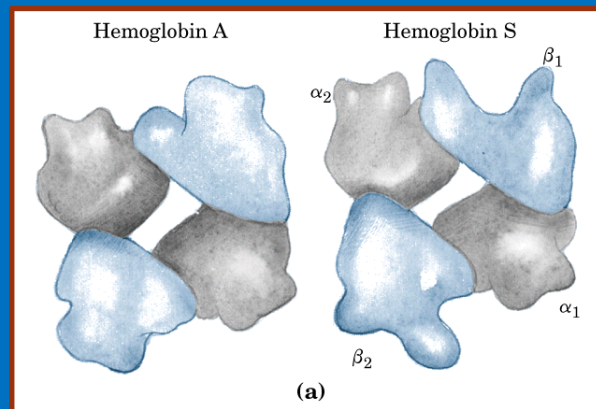
Anemias

- Quase 500 mutações (variações na sequência primária das hemoglobinas) são conhecidas, quase todas, muito raras.
- A diferença na estrutura causada pela mudança de um único aminoácido podem ser pequenas, mas os efeitos são, geralmente, importantes.



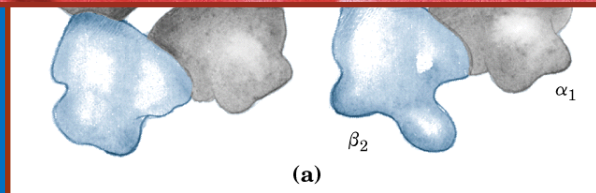
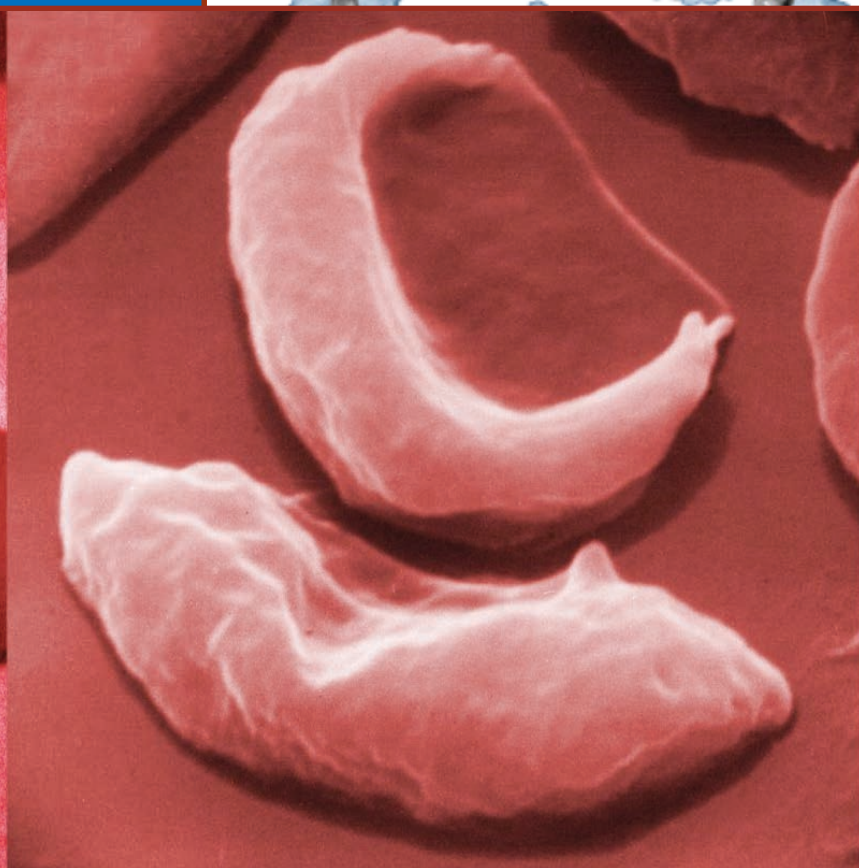
Anemias

- A anemia falciforme demonstra a importância da estrutura primária, secundária, terciária e quaternária da hemoglobina.
- Pessoas que carregam o gene da hemoglobina S, produzem uma hemoglobina que contém uma Valina na posição 6, ao invés de um ácido glutâmico.
- Esta mudança faz com que a hemoglobina S tenha uma carga negativa a menos que a hemoglobina normal, em pH 7.4.
- A substituição de um aminoácido hidrofílico por um alifático faz ainda com que se crie uma região que não interage com a água.
- A hemoglobina S começa, então, a agregar, formando as longas fibras de agregados característicos da anemia falciforme.



Anemias

- A anemia falciforme demonstra a importância da estrutura primária, secundária, terciária e quaternária da hemoglobina.

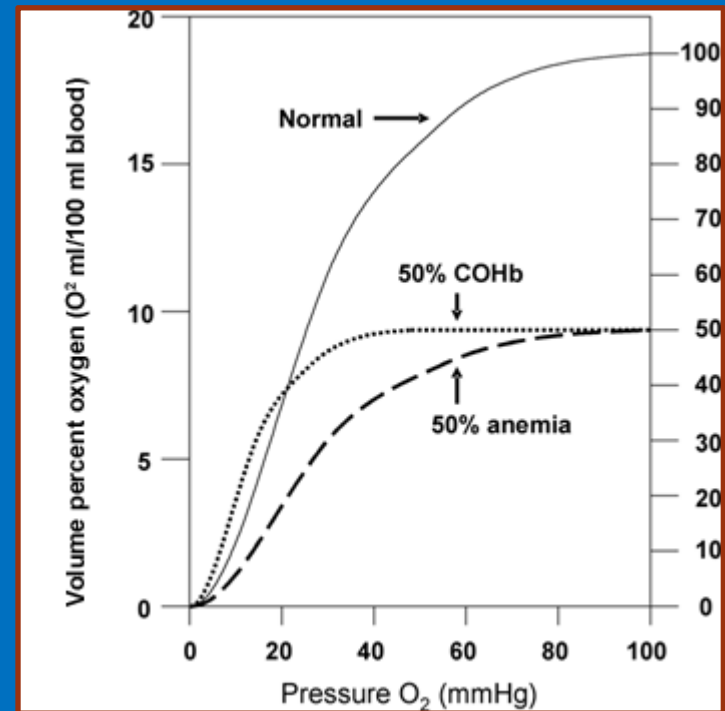


Alignment and Crystallization
(fiber formation)

(b)

O monóxido de carbono (CO)

- O monóxido de carbono (CO) é um gás inodoro que se liga-se com alta afinidade à hemoglobina.
- É interessante observar, porém, que indivíduos expostos a CO e que tenham metade da hemoglobina comprometida venham a falecer.
- É sabido que pessoas com anemia conseguem viver razoavelmente bem com metade da hemoglobina de um indivíduo normal.
- O problema é que o CO aumenta a afinidade da HbA pelo O₂ e uma hemoglobina com duas moléculas de CO e duas moléculas de O₂ ligadas, não libera o oxigênio para o tecido em condições fisiológicas.
- Para socorrer pessoas expostas a CO, é preciso remove-las rapidamente do local para que o oxigênio atmosférico possa substituir o CO ligado à hemoglobina.
- Administrar oxigênio 100% aumenta em até 4-vezes a troca do CO pelo O₂.



Bibliografia

- Leiam o capítulo 5 (Função das proteínas) do Lehninger – Princípios de Bioquímica

Ou

- Capítulos 10 (Hemoglobina, estrutura e função) do Voet & Voet.

&

- Capítulo 3 (Hemoglobina e transporte de oxigênio) do livro Bioquímica Básica (Marzzoco e Torres).

Bibliografia

- Leiam o capítulo 4 (A estrutura tridimensional de proteínas) do Lehninger – Princípios de Bioquímica

OU

- Capítulo 2 (Aminoácidos e proteínas) do livro Bioquímica Básica (Marzzoco e Torres).
- YOUTUBE: <https://www.youtube.com/watch?v=UFlfiLjSE5w>