Disciplina: Proteínas

Sigla: HEB5715 - 2

Área: Biotecnologia

Parte 1: Revisão sobre Estrutura de Proteínas 09/11 a 23/11

Fundamentação:

Melhorias rápidas nos métodos de determinação estrutural e o grande número de sequencias de DNA e proteínas atualmente disponíveis on-line permitem que bioquímicos e biotecnólogos investiguem a estrutura de qualquer proteína que escolherem. Os principais objetivos de um bioquímico estrutural são:

• **purificar** grandes quantidades de uma proteína de interesse;

• usar métodos de determinação estrutural para gerar um **modelo estrutural** da proteína purificada, com ou sem cofatores ou outro ligante;

• determinar quais características da **estrutura** de uma proteína contribuem para a **função**; e

• apresentar seus achados em forma escrita (artigo) e oral (apresentação).

A atividade a ser realizada dará a vocês a oportunidade de aprender sobre os diferentes níveis de estrutura de proteínas e observar através de modelos estruturais como os diferentes tipo de ligações contribuem para a estrutura de uma proteína. Você ganhará experiência prática investigando a estrutura das proteínas, usando o programa de computador RasMol ou PyMol, por ex. Vocês terão a oportunidade de pesquisar como uma proteína pode ser purificada em grandes quantidades e como sua estrutura é determinada. Você vai ganhar experiência em ilustrar graficamente as estruturas de proteínas e ser capaz de demonstrar como a estrutura de sua proteína é adequado à função particular in vivo (na célula / organismo).

**Tarefa:**

Imagine que você é um bioquímico de proteínas graduado que trabalha para uma instalação de pesquisa médica. Nos seus primeiros dias de trabalho, você recebeu uma determinada proteína que é de interesse para o seu grupo de pesquisa. Seu grupo de pesquisa não pesquisou essa proteína antes e pede que você faça alguma pesquisa de *background* sobre o que é conhecido sobre a estrutura desta proteína.

Você é obrigado a:

• preparar um Artigo de Revisão da Estrutura da Proteína. Este exercício é semelhante a publicar suas descobertas em um Jornal científico; e

• fazer uma apresentação oral curta (5 minutos), resumindo o que você descobriu sobre o estrutura e função de sua proteína para a classe durante a escola residencial. Este exercício é semelhante a apresentar sua pesquisa em uma conferência científica.

Há 4 características necessárias para o artigo de revisão:

1. Uma discussão do(s) método(s) usado para purificar a proteína de interesse. Existem muitos métodos diferentes usado para purificar proteínas. O método escolhido frequentemente depende se a proteína nativa está sendo purificado de uma fonte de tecido ou se a proteína é expressa artificialmente e está sendo purificada de uma fonte bacteriana, (por exemplo). O método escolhido também pode depender da quantidade de proteína necessária um experimento posterior.

2. Uma discussão sobre qual método foi escolhido para investigar a estrutura de sua proteína de interesse e porque pode ter sido escolhido. Os dois métodos comuns usados são o Espectroscopia de ressonância nuclear magnética (RMN) e cristalografia de raios-X.

3. Uma discussão sobre a estrutura primária, secundária e terciária de sua proteína, apoiada por imagens estruturais da sua proteína. Você pode obter a sequência primária de sua proteína a partir do banco de dados online PubMed. Depois de ter obtido o arquivo .pdb para sua proteína num Banco de dados de proteínas (Protein Data Bank), você poderá usar o programa RasMol ou Pymol para visualizar a estrutura secundária e terciária da sua proteína em 3D. Você irá preparar 4 imagens diferentes de sua proteína que irá destacar diferentes tipos de interações não-covalentes encontradas dentro da proteína.

4. Uma discussão sobre como a estrutura da proteína está relacionada com a função da proteína. Você irá usar o banco de dados PubMed (ou outro) para obter artigos de revista que discutem a função da sua proteína. Você pode descobrir que diferentes domínios das proteínas têm diferentes funções, e você precisa discutir como a estrutura de cada domínio está relacionada à sua função individual. Você vai precisar para explicar onde outras moléculas (por exemplo, DNA, RNA, cofatores, coenzimas - todos são coletivamente conhecidos como ligantes) interagem com a proteína.

**Apresentação oral:**  Na sua apresentação oral, você precisa resumir, em não mais que 15 minutos, as principais características relacionando o que se sabe sobre a estrutura e função da proteína. Você precisará incluir:

• detalhes sobre a estrutura da proteína, usando recursos visuais apropriados (.ppt por ex);

• detalhes sobre a função da proteína;

• detalhes sobre como a função da proteína está relacionada à estrutura da proteína.

Avaliação: Texto de 5 – 10 páginas A4 (podem incluir figuras, legendas de figuras e referências bibliográficas) e apresentação oral resumida de 15 minutos.

**Parte 2: Discussão experimental 30/11 a 07/12**

Fundamentação/Racional

Além de entender qual é a estrutura de uma determinada proteína, é crucial ser capaz de examinar sua função. Diferentes experimentos funcionais, ou ensaios, são usados para examinar a função da proteína. Estes podem ser tão variados como ensaios enzimáticos (para enzimas), de ligação ao DNA e de transcrição (para fatores de transcrição), ou mesmo experimentos de localização celular, que indicam onde uma proteína é encontrada dentro da célula (proteínas intracelulares).

A engenharia de proteínas é normalmente usada para alterar a sequência primária de uma proteína. Ensaios funcionais podem então ser realizados para ver como a função da proteína pode ser alterada por pequenas mudanças na sequência primária. Comumente, a engenharia de proteínas é usada para gerar uma proteína mutante para fins de estudo em um laboratório de pesquisa, que pode ser produzido naturalmente como resultado de uma doença genética.

Esta tarefa fornecerá experiência adicional na leitura e interpretação de artigos científicos, uma habilidade de grande importância para os biotecnologistas! Você desenvolverá as habilidades práticas estudando experimentos usados para estudar a função de uma proteína de interesse. Ao estudar a mesma proteína que você investigou na Parte 1, você obterá uma maior apreciação de como a função está relacionada à estrutura e por que diferentes métodos podem ser usados para estudar diferentes proteínas. Você também terá a oportunidade de criar um experimento. Em um laboratório de pesquisa, a capacidade de projetar experimentos é altamente considerada e, muitas vezes, um dever esperado de emprego.

**Tarefa**:

Seu laboratório de pesquisa ficou satisfeito com sua crescente especialização na proteína de interesse, conforme apresentado em seu artigo de revisão (parte 1). Sua segunda tarefa agora é examinar de perto os experimentos (buscados em literatura) que foram usados para investigar a função da proteína e projetar um experimento simples que poderia ser usado para examinar melhor a função de sua proteína. Você apresentará sua pesquisa e projeto experimental na forma de um ensaio. Para ajudar no processo de pesquisa e projeto, você receberá conselhos de colegas pesquisadores, trabalhando em um projeto semelhante, da mesma forma que os ajudará em seu projeto (grupos podem discutir estratégias – aprendizado colaborativo). Ao pesquisar para este ensaio, você precisará buscar de r 2-4 artigos de periódicos que investigaram a função da proteína. A maioria dos artigos de periódicos que discutem experimentos científicos conterá uma introdução, material e métodos, resultados e seções de discussão. Seu ensaio começará por:

• explicar quais métodos experimentais foram usados para estudar a função da proteína;

• discutir por que cada método experimental foi usado;

• comentando sobre o planejamento de experimentos, e observe se os controles apropriados foram usados; e

• relacionar os resultados dos experimentos com a estrutura da proteína que você estudou na parte 1

Para obter mais informações sobre um método específico, talvez seja necessário fazer mais pesquisas. Um bom ponto de partida é frequentemente a referência dada na seção de métodos de um artigo. O segundo componente da sua redação exigirá uma pesquisa básica sobre engenharia de proteínas. Uma vez que você entenda o propósito da engenharia de proteínas, você irá projetar um experimento que usaria uma proteína modificada / mutada em um dos ensaios funcionais que você estudou. Você precisará

• identificar o objetivo da sua experiência;

• identificar qual(is) o(s) aminoácido(s) da proteína que você projetaria / modificaria;

• explique qual ensaio funcional você escolheria;

• delinear os passos envolvidos no ensaio funcional;

• delinear o(s) controle(s) que você incluiria; e

• postular os tipos de resultados possíveis que você pode esperar. Durante o processo de design, você deverá se comunicar regularmente com os colegas de grupo.

Você pode enviar além do trabalho escrito sobre a sua proteína

• suas respostas aos comentários feitos por seu parceiro sobre seu design experimental, incluindo quaisquer alterações feitas no seu design experimental com base nos comentários do seu parceiro. Se você acha que os comentários do seu parceiro são inadequados ou acha que já respondeu aos comentários, precisa comunicar isso ao seu parceiro.

* Não é esperado que você forneça detalhes dos experimentos, mas concentre-se nos princípios científicos da metodologia escolhida.

**Avaliação**: Entrega de texto com 5 páginas A4 (incluir figuras, legendas de figuras, referências e até mesmo evidências de comunicação com seu parceiro de pesquisa)

Observações finais: Itens importantes de serem abordados nas partes 1 e 2 do seu trabalho: determinação de estrutura de proteínas, relação estrutura e função, Métodos de separação e purificação de proteínas, modelagem molecular e estrutura tridimensional, ferramentas computacionais e bancos de dados de estudo de proteínas.

Programas sobre proteínas: ProteinAtlas; PeptideAtlas, Uniprot, Swissprot

<https://www.researchgate.net/publication/241713774_A_project-based_learning_approach_to_protein_biochemistry_suitable_for_both_face-to-face_and_distance_education_student> s [acesso em 08 de novembro de 2018].