

Classificação e Importância das Proteínas na Produção Animal

Prof. Carla Bittar
carlabittar@usp.br

Introdução



- ▶ Funções variadas

 - Catálise

 - Imunidade

 - Transporte

 - Regulação

 - Estrutural

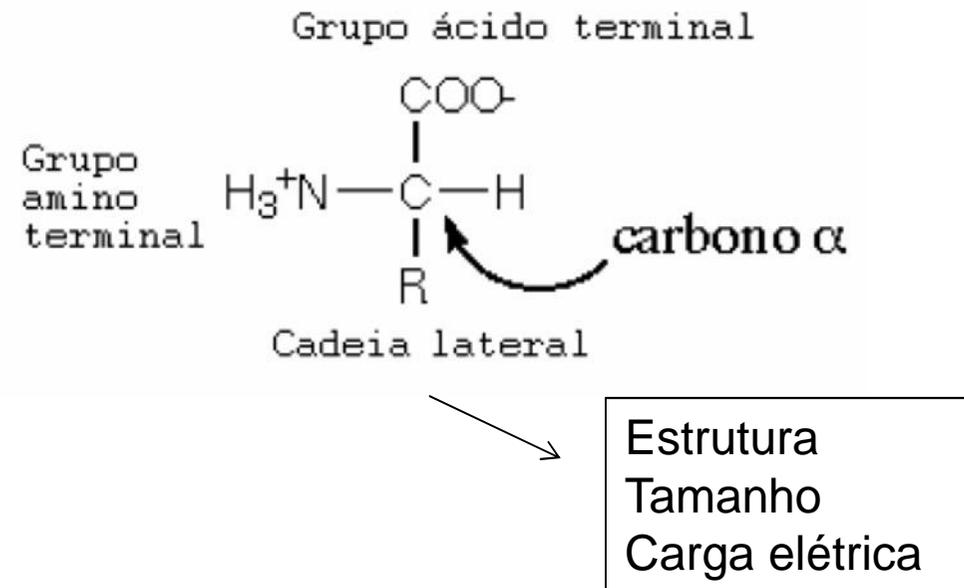
 - Controle de crescimento e diferenciação celular

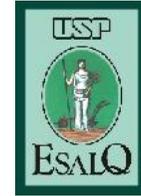
- ▶ Polímeros de aminoácidos

- ▶ Estrutura muito complexa

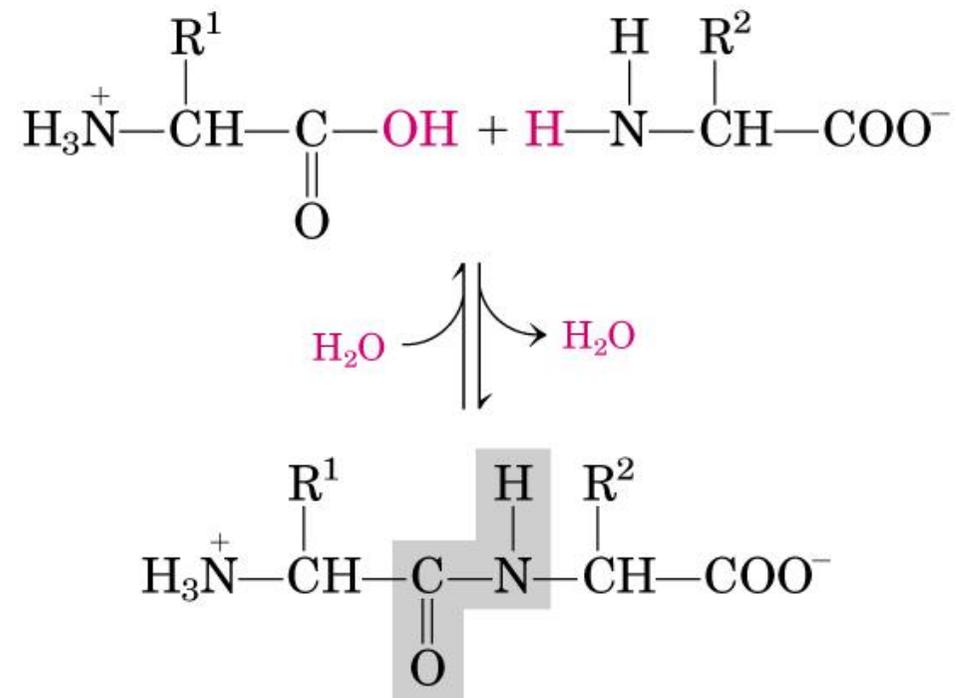
 - Vários níveis de organização

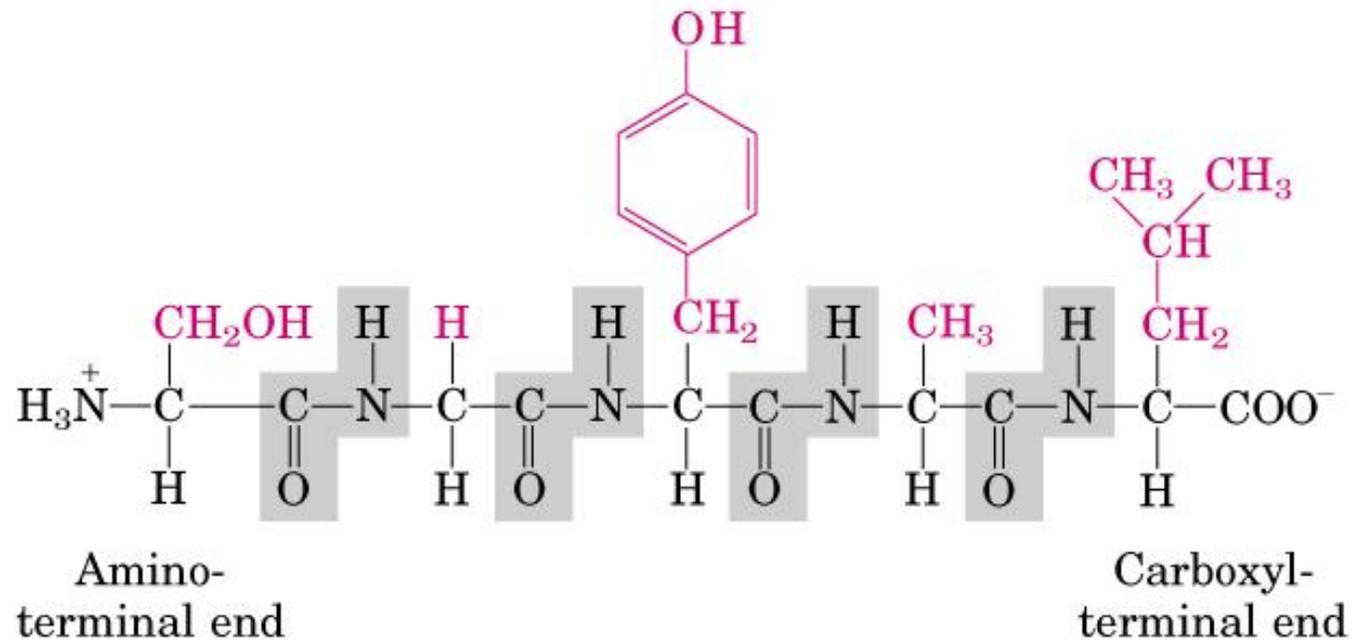
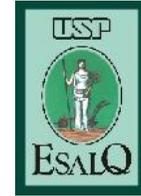
▶ Grupo amino e grupo carboxílico





▶ Aminoácidos unidos por ligações peptídicas



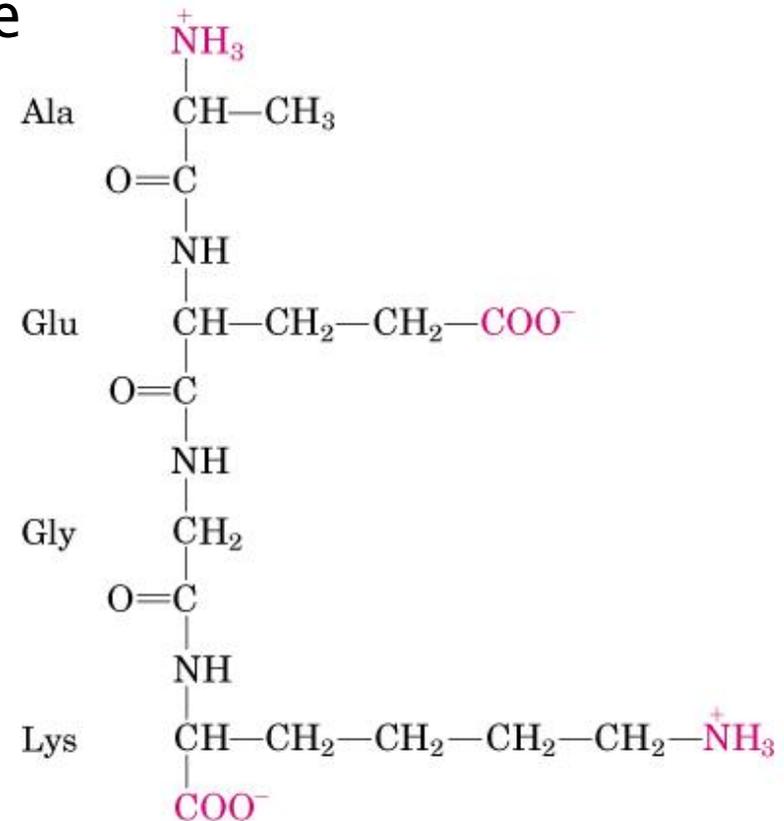


Ser-Gly-Tyr-Ala-Leu

Ionização

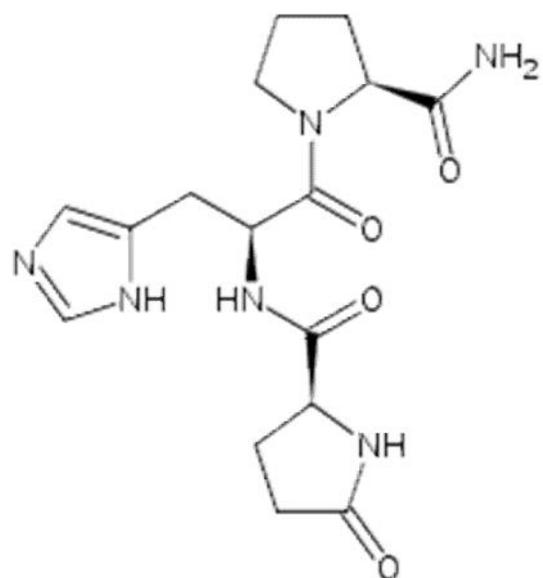


- ▶ Grupos α -amino e α -carboxil livres
Grupos ionizam como nos aa livres
Constante de ionização diferente
- ▶ Grupos R também podem se ionizar
- ▶ Curva de titulação e pI específicos

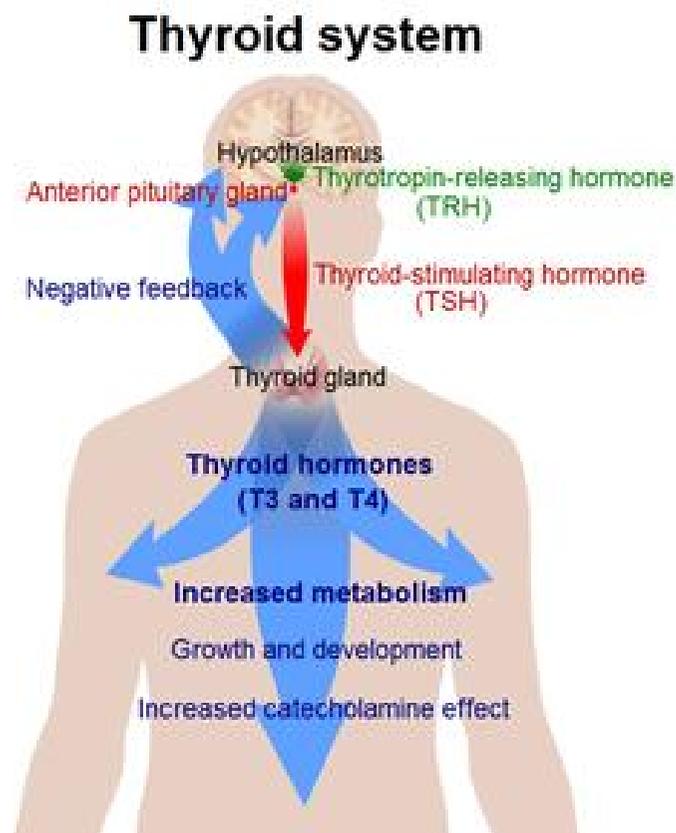


▶ **Peso molecular de peptídeos e proteínas vs. função**

Pequenos peptídeos tem efeitos biológicos importantes mesmo em baixas concentrações



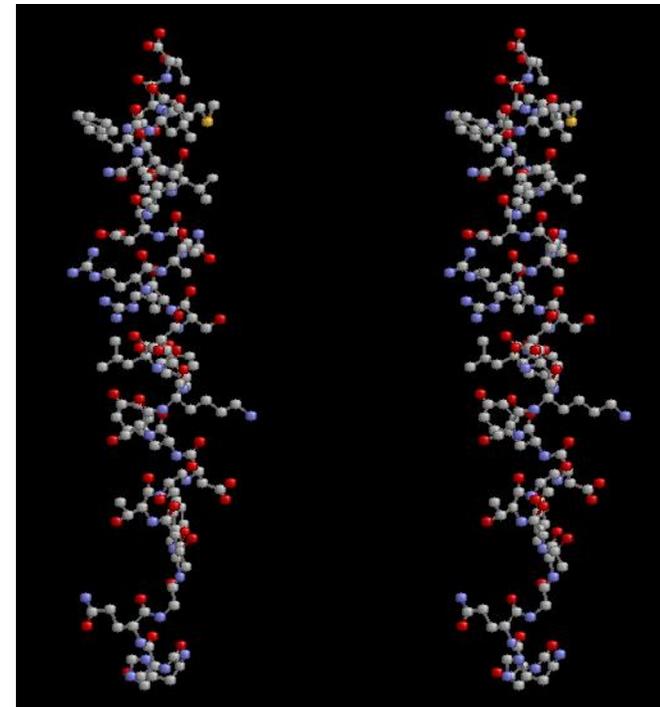
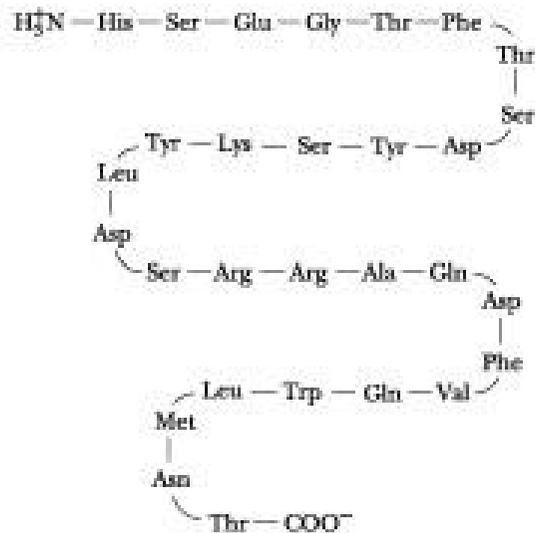
Fator liberador da tireotrofina (TRH)



▶ Polipeptídeos e oligopeptídeos



Glucagon: 29 resíduos

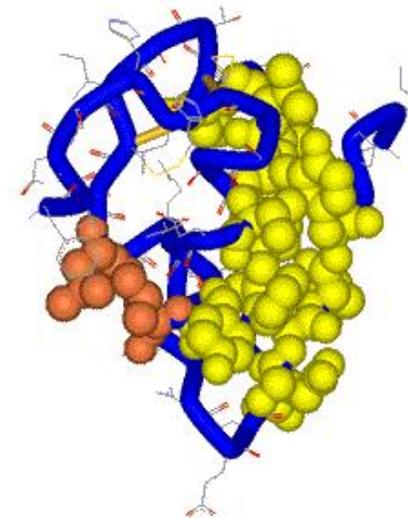
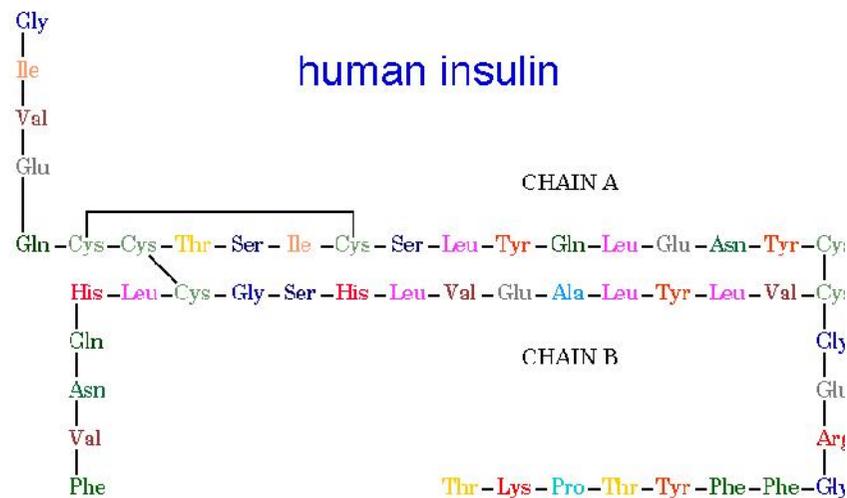


▶ Polipeptídeos e oligopeptídeos



Cadeia A: 21 resíduos

Cadeia B: 30 resíduos





Molecular Data on Some Proteins

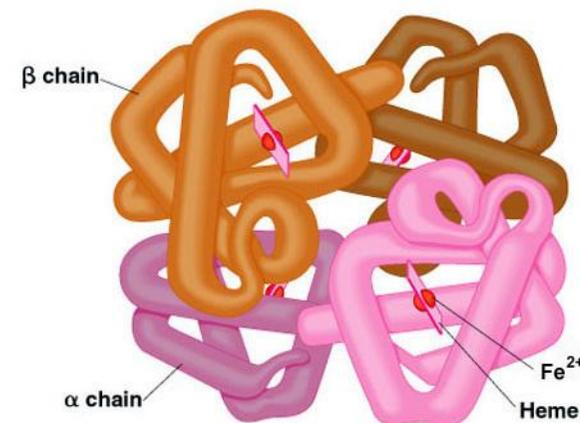
	Molecular weight	Number of residues	Number of polypeptide chains
Cytochrome <i>c</i> (human)	13,000	104	1
Ribonuclease A (bovine pancreas)	13,700	124	1
Lysozyme (egg white)	13,930	129	1
Myoglobin (equine heart)	16,890	153	1
Chymotrypsin (bovine pancreas)	21,600	241	3
Chymotrypsinogen (bovine)	22,000	245	1
Hemoglobin (human)	64,500	574	4
Serum albumin (human)	68,500	609	1
Hexokinase (yeast)	102,000	972	2
RNA polymerase (<i>E. coli</i>)	450,000	4,158	5
Apolipoprotein B (human)	513,000	4,536	1
Glutamine synthetase (<i>E. coli</i>)	619,000	5,628	12
Titin (human)	2,993,000	26,926	1

Proteína



Uma ou mais cadeias polipeptídicas

- ▶ Uma cadeia – proteína monomérica
- ▶ Duas ou mais – proteína multimérica
 - Protómeros – cadeias iguais
 - Oligoméricas – pelo menos duas cadeias iguais
- ▶ Hemoglobina: tetramérica



Composição característica



Amino Acid Composition of Two Proteins*

Amino acid	Number of residues per molecule of protein	
	Bovine cytochrome <i>c</i>	Bovine chymotrypsinogen
Ala	6	22
Arg	2	4
Asn	5	15
Asp	3	8
Cys	2	10
Gln	3	10
Glu	9	5
Gly	14	23
His	3	2
Ile	6	10
Leu	6	19
Lys	18	14
Met	2	2
Phe	4	6
Pro	4	9
Ser	1	28
Thr	8	23
Trp	1	8
Tyr	4	4
Val	3	23
Total	104	245

Proteínas conjugadas

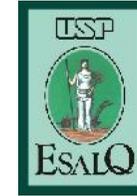


- ▶ Outros grupos químicos ligados
- ▶ Classificação de acordo com o grupo prostético

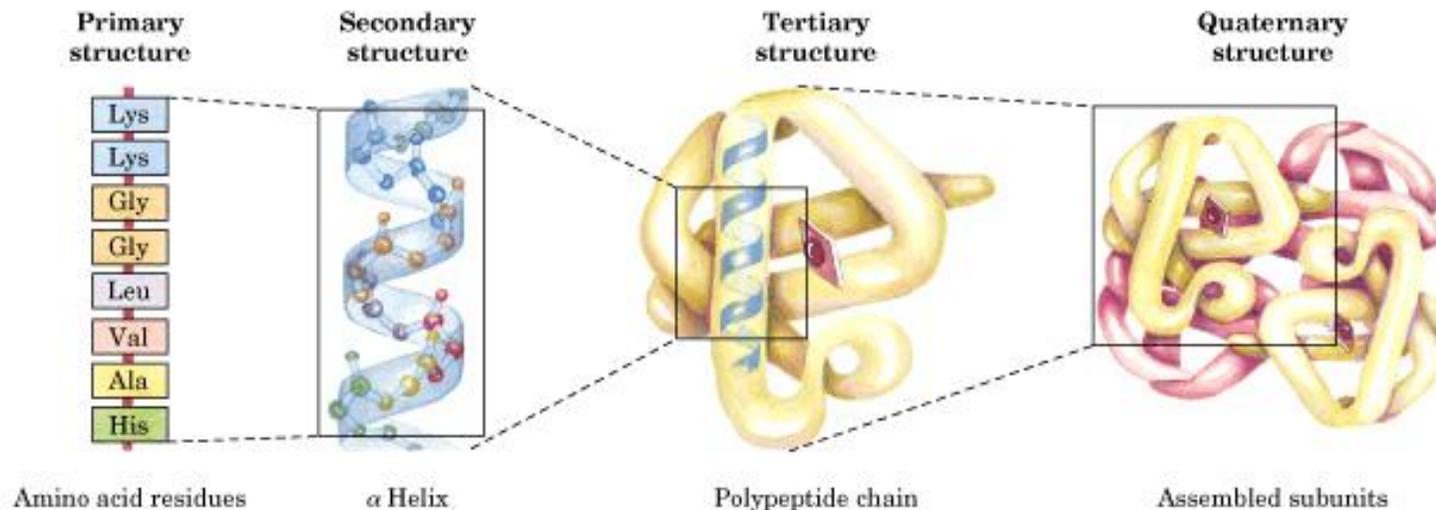
Conjugated Proteins

Class	Prosthetic group(s)	Example
Lipoproteins	Lipids	β_1 -Lipoprotein of blood
Glycoproteins	Carbohydrates	Immunoglobulin G
Phosphoproteins	Phosphate groups	Casein of milk
Hemoproteins	Heme (iron porphyrin)	Hemoglobin
Flavoproteins	Flavin nucleotides	Succinate dehydrogenase
Metalloproteins	Iron	Ferritin
	Zinc	Alcohol dehydrogenase
	Calcium	Calmodulin
	Molybdenum	Dinitrogenase
	Copper	Plastocyanin

Arquitetura das proteínas



- ▶ Formato – globular ou fibrosa
- ▶ Níveis de organização estrutural
 - Primária – sequência
 - Secundária – arranjos estáveis
 - Terciária – formato tridimensional
 - Quaternária – organização das subunidades



Estrutura tridimensional



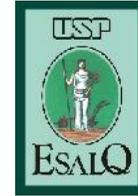
- ▶ Cada proteína tem estrutura e conformação específica

Característica única de estrutura tridimensional

Sequência de aa determina estrutura tridimensional

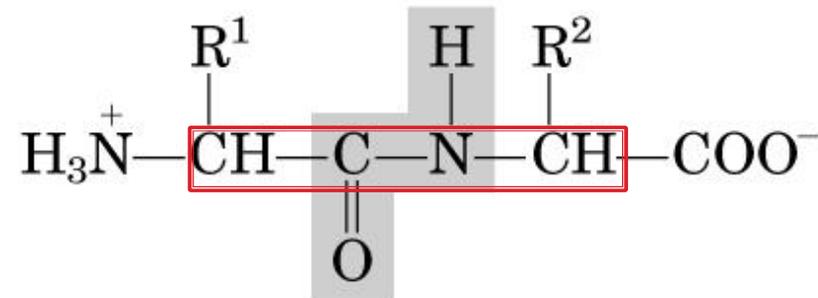
Função da proteína depende de sua estrutura

Forças que mantêm a estrutura são interações não covalentes



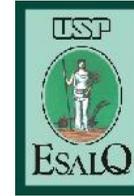
Estrutura primária

- ▶ Ligação peptídica é rígida e plana
C α de resíduos adjacentes são separados por 3 ligações covalentes (C $_{\alpha}$ -C-N-C $_{\alpha}$)

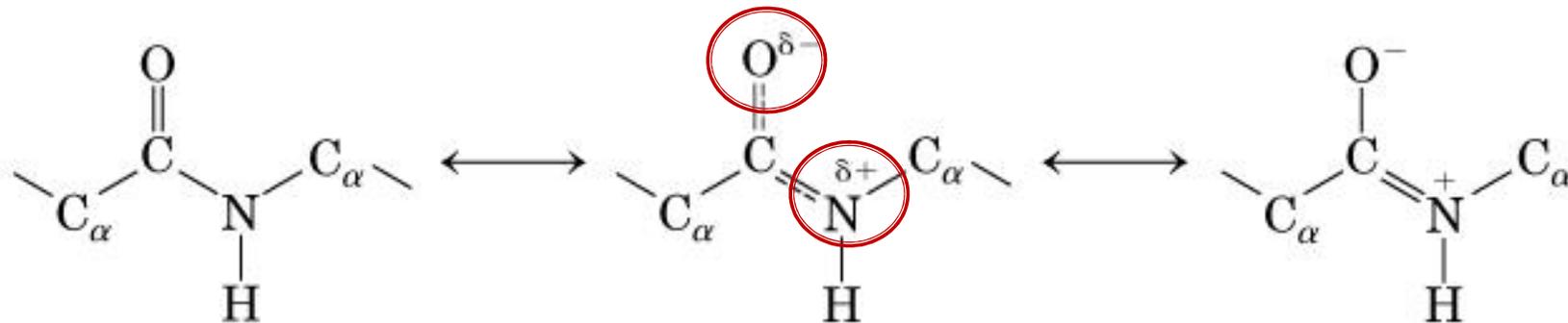


- ▶ Ligação peptídica C-N é mais curta

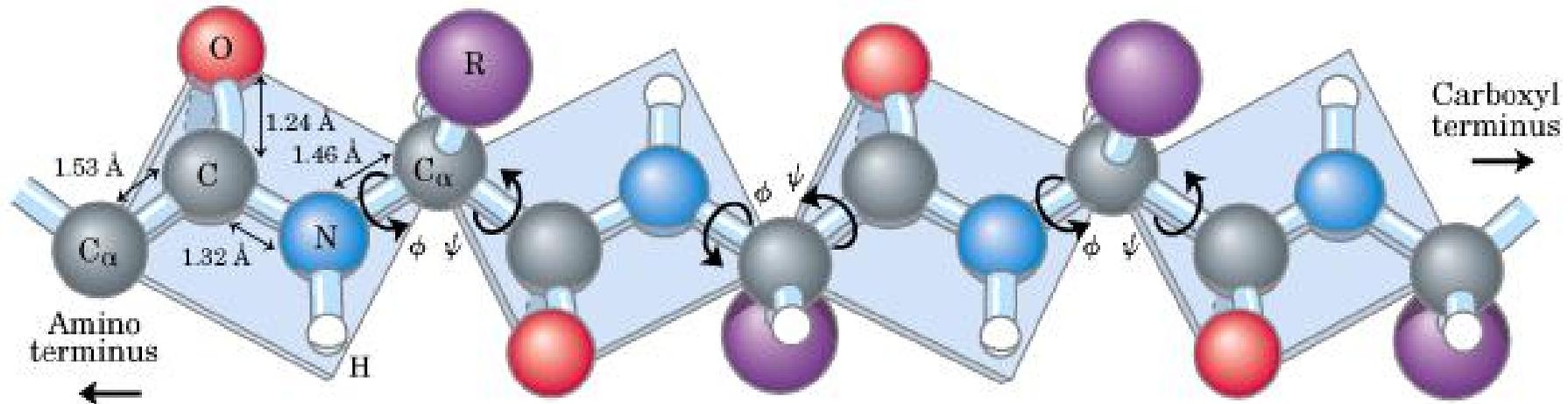
Estrutura primária



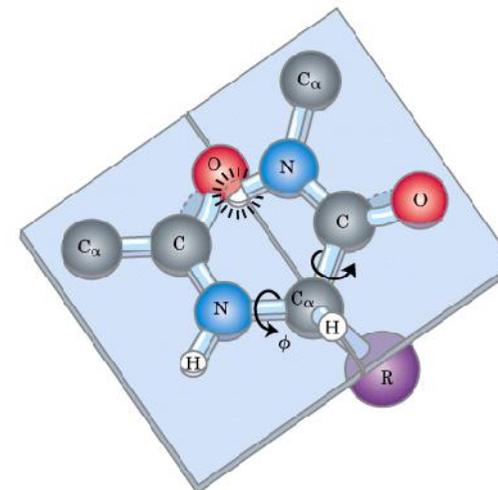
- ▶ Compartilhamento parcial de elétrons

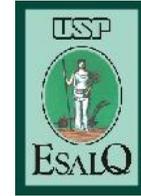


- ▶ átomos do grupo peptídeo: único plano
- ▶ oxigênio do grupo carbonil e H do grupo amida: posição trans



- ▶ ângulos de rotação
 - ▶ Φ : Rotação N-C $_{\alpha}$
 - ▶ ψ : Rotação C $_{\alpha}$ -C





Estrutura secundária

- ▶ Arranjos regulares e recorrentes da cadeia polipeptídica
- ▶ Estrutura estabilizada por ligações de H
 - ▶ Oxigênio do grupo carbonil de uma ligação peptídica e H do grupo amida de outra ligação peptídica

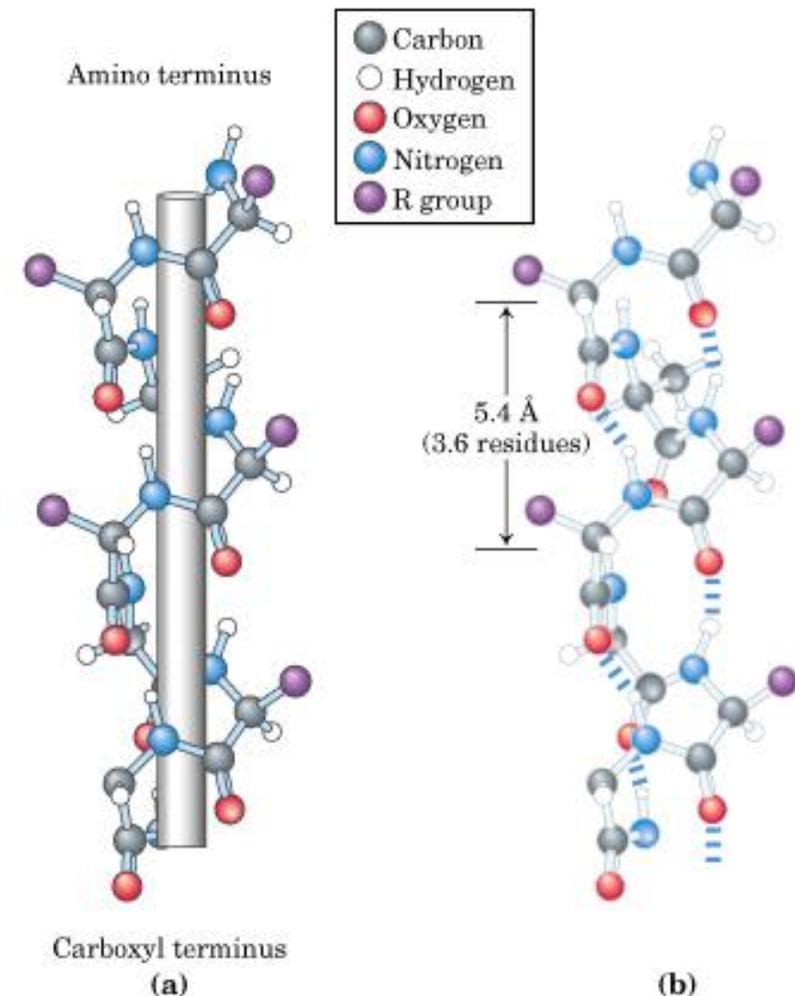
α hélice

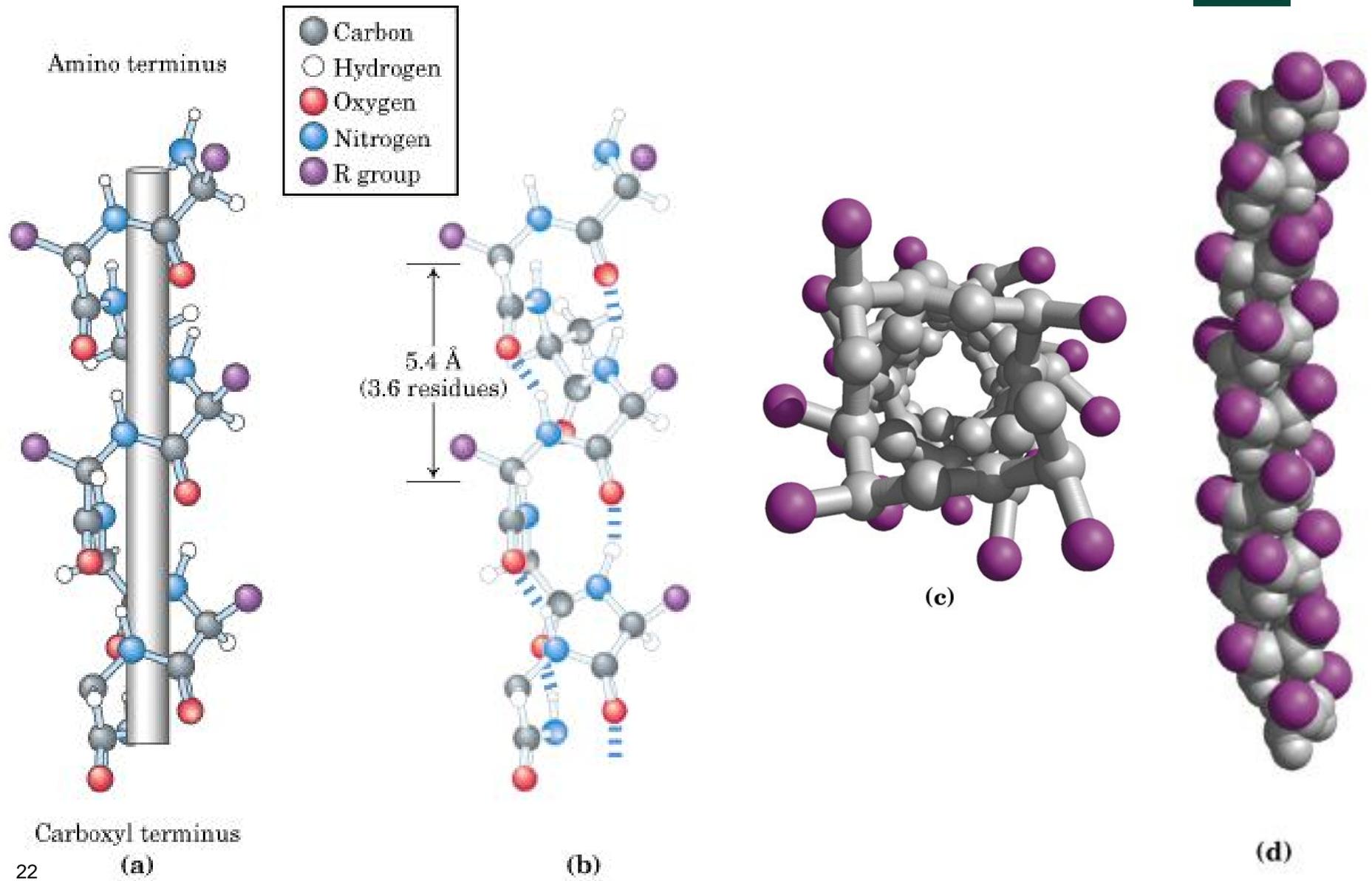
Folha β pregueda

α -Hélice



- ▶ Cadeia polipeptídica como hélice orientada para direita, em torno de um eixo imaginário
- ▶ Mantida por ligações de H
- ▶ Cada volta: 3,6 resíduos de aa
Cada volta: 3 a 4 pontes de H
- ▶ Grupos R projetados para fora



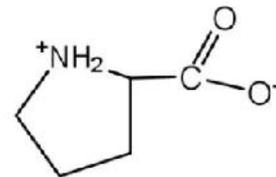


Restrições



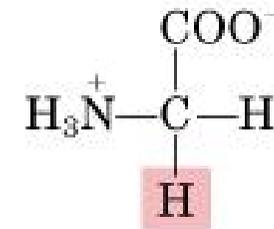
AA com mesma carga muito próximos

Prolina: N é parte de anel rígido impedindo rotação

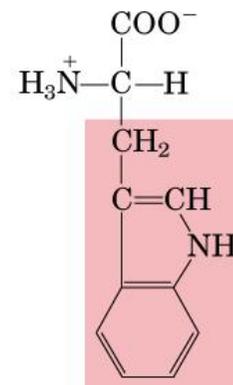


Proline

Glicina: maior flexibilidade conformacional



Grupos R volumosos



Triptofano

α -Hélice



- ▶ Estabilidade depende da sequência de aa

Grupos R de mesma carga podem se repelir

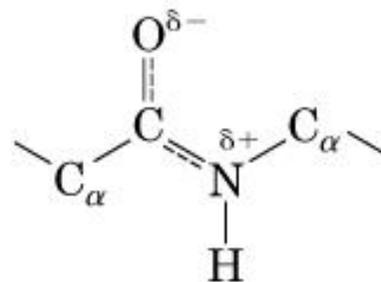
α -hélice garante que interações entre grupos R aconteçam a cada 3-4 aminoácidos

AA positivos estão normalmente a 3 resíduos de distância de AA negativos: par iônico

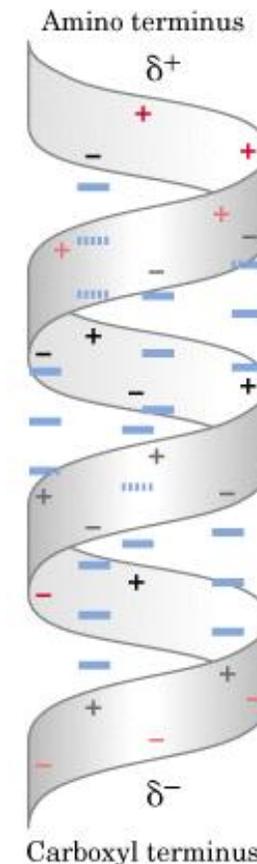
α -Hélice



- ▶ Em cada ligação peptídica existe um pequeno campo elétrico dipolar



- ▶ Dipolos estão conectados por ligações de H na α -hélice, resultando numa carga dipolar aumentada ao longo da cadeia
- ▶ 4 AA finais não participam de pontes de H
 - ▶ AA negativos no terminal amino
 - ▶ AA positivos no terminal carboxil



Estabilidade da α -Hélice



- ▶ Repulsão eletrostática entre resíduos de aa sucessivos com grupos R carregados
- ▶ Volume dos grupos R adjacentes
- ▶ Interação entre cadeias laterais de aa separados por 3-4 resíduos
- ▶ Ocorrência de glicina ou prolina
- ▶ Interação entre aa no final do segmento da α -hélice e a carga dipolar da mesma

Cadeia β pregueada



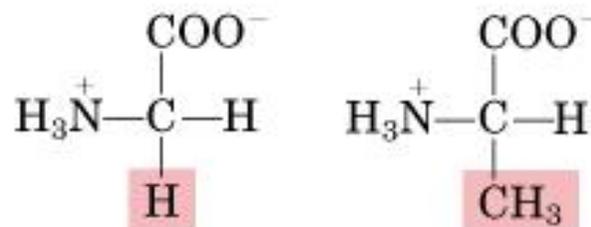
▶ Cadeia em zig-zag

Arranjo lado a lado: estrutura parecida com pregas

Ligações de H entre segmentos adjacentes da cadeia

Grupo R projetado em direções opostas: alternância

- AA com grupo R relativamente pequenos

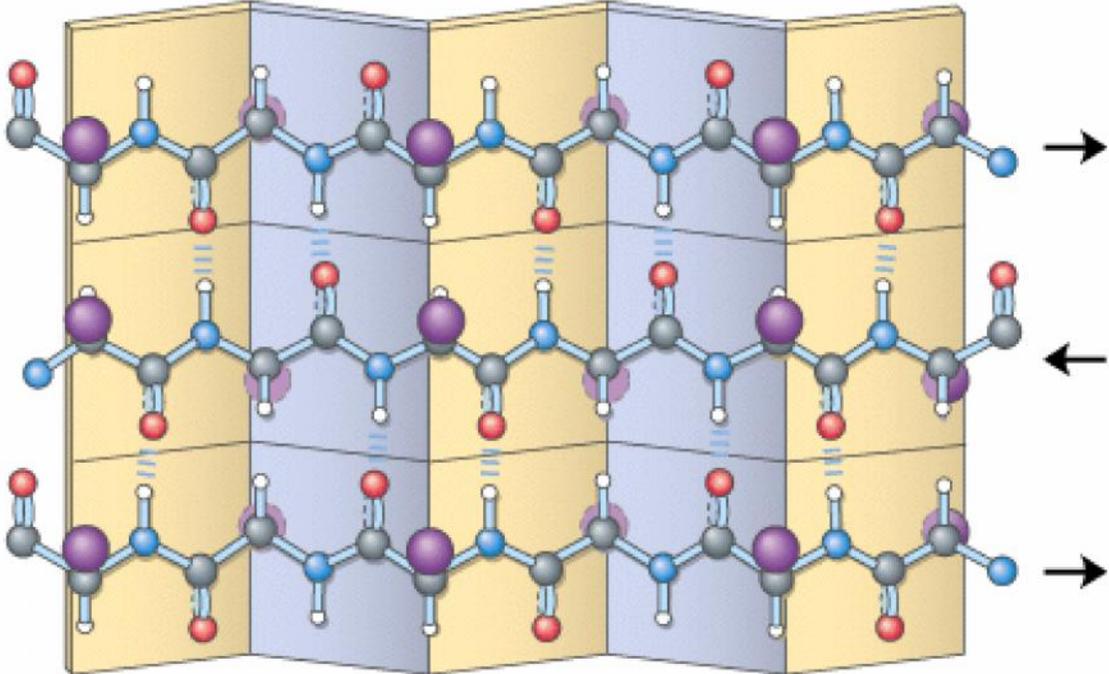


Glycine

Alanine

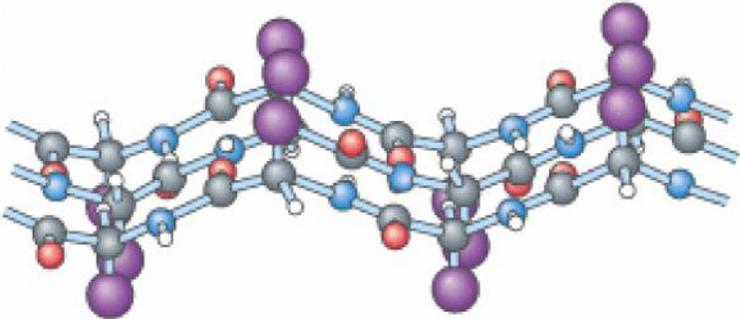
(a) Antiparallel

Top view

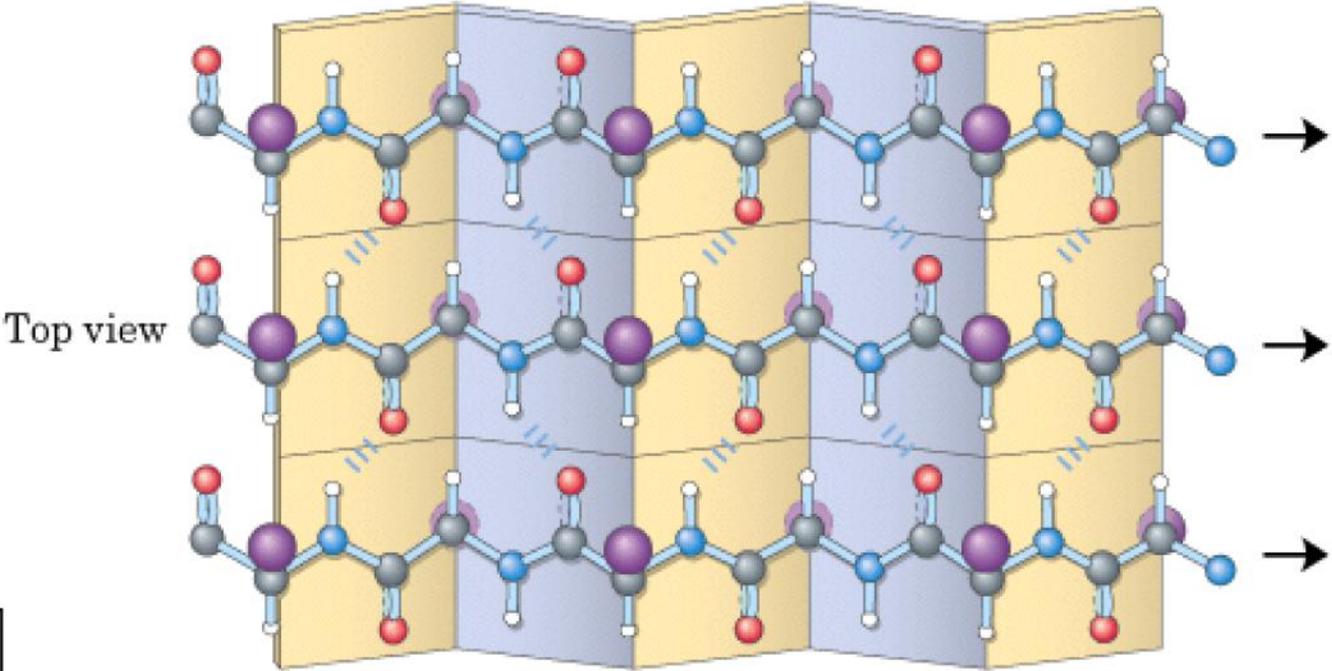


- Carbon
- Hydrogen
- Oxygen
- Nitrogen
- R group

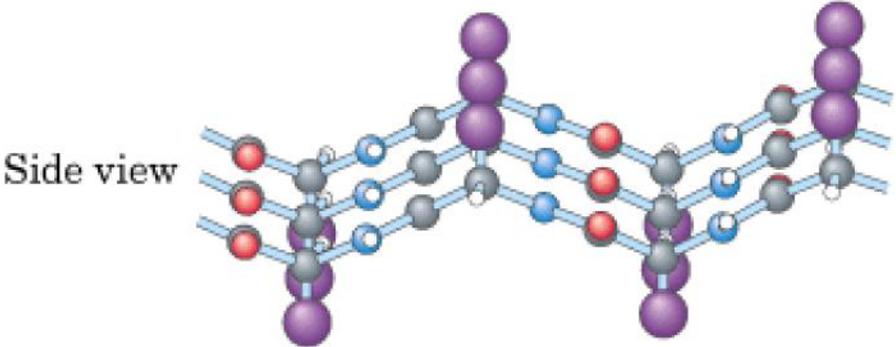
Side view



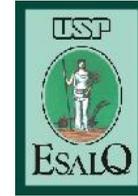
(b) Parallel



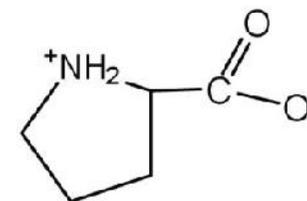
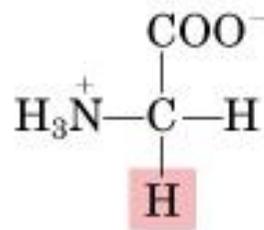
- Carbon
- Hydrogen
- Oxygen
- Nitrogen
- R group



Voltas β

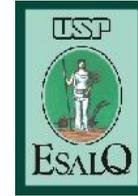


- ▶ Proteínas globulares: 1 / 3 dos resíduos de AA estão em voltas que mudam de direção
- ▶ Conexão entre cadeias α -hélice ou β -pregueadas
- ▶ Volta de 180° formada por 4 aa: ligação de H entre O do primeiro resíduo com o H do último
- ▶ Glicina e prolina são comuns



Proline

Estruturas terciárias e quaternárias



- ▶ Terciária: pregueamento não periódico da cadeia, formando estrutura tridimensional estável
 - AA distantes que residem em diferentes estruturas secundária podem interagir
 - Interações fracas ou pontes dissulfeto
- ▶ Quaternária: arranjo espacial de duas ou mais cadeias (ou subunidades polipeptídicas), formando complexos tridimensionais

Interações mantêm conformação



- ▶ **Interações hidrofóbicas:** forças não-covalentes resultantes da tendência de cadeias laterais hidrofóbicas se agruparem
- ▶ **Ligações iônicas:** interação de grupos + e -
- ▶ **Ligações de H:** no interior e na superfície da molécula
- ▶ **Ligações covalentes:** ponte dissulfeto
- ▶ **Van der Waals:** força de atração inespecífica entre átomos

Grupos principais



- ▶ **Proteínas fibrosas**

 - cadeias organizadas como filamentos

 - único tipo de estrutura secundária

 - função: manutenção, forma e proteção em vertebrados

- ▶ **Proteínas globulares**

 - cadeias dobradas em forma esférica ou globular

 - vários tipos de estrutura secundária

 - função: enzimas e proteínas regulatórias

Proteínas fibrosas



- ▶ Propriedades que garantem elasticidade e/ou resistência
- ▶ Unidade fundamental: repetição da estrutura secundária
- ▶ Insolúveis: alta concentração de AA hidrofóbicos

Estrutura	Característica	Exemplo de ocorrência
α -hélice, ligação cruzada por ligações dissulfeto	Dura, estrutura protetora insolúvel de variada dureza e flexibilidade	α -queratina de cabelos, penas e unhas
Conformação β	Macia, filamentos flexíveis	Fibroína da seda
Hélice tripla de colágeno	Alta força de tensão, sem se romper	Colágeno de tendões, matriz óssea

Colágeno



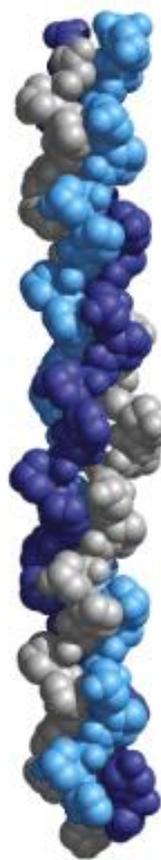
- ▶ Proteína mais abundante em vertebrados:
Componente do tecido conjuntivo
- ▶ Pouco solúvel em água
- ▶ Composição repetida: Gli-X-Pro ou Gli-X-Hydro
Glicina: 35%
Alanina 11%
Prolina e Hidroxiprolina: 21%



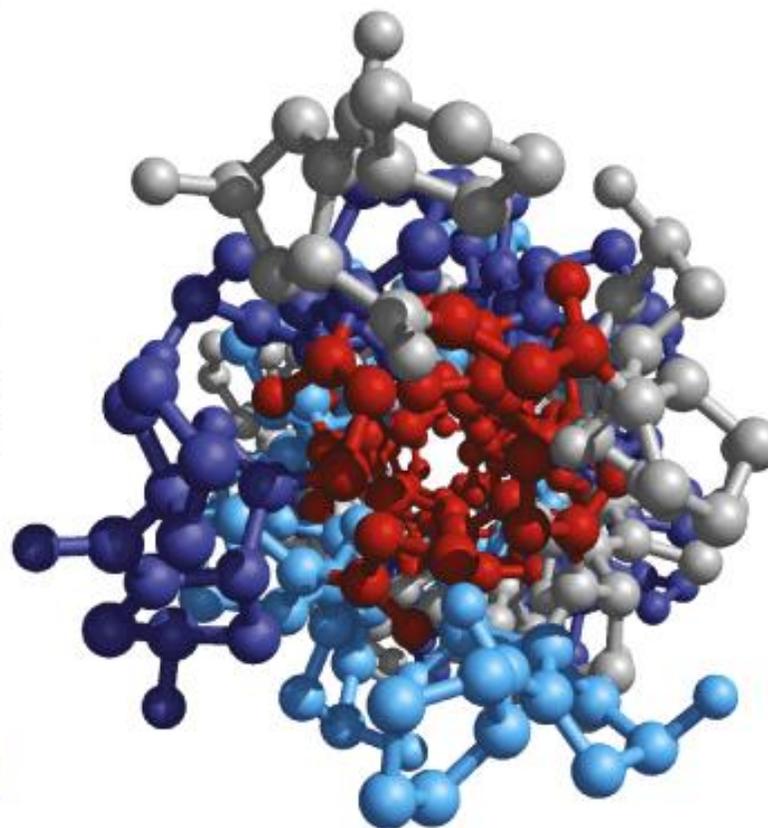
(a)



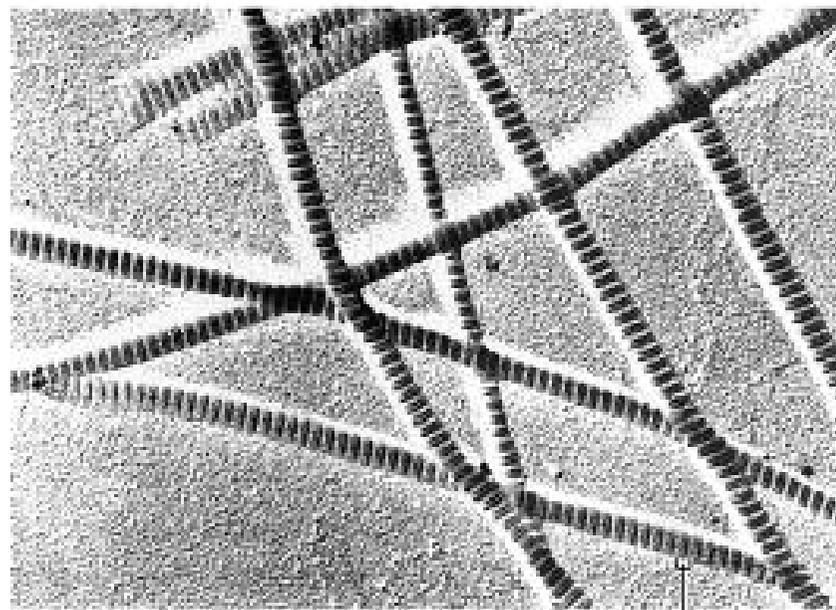
(b)



(c)



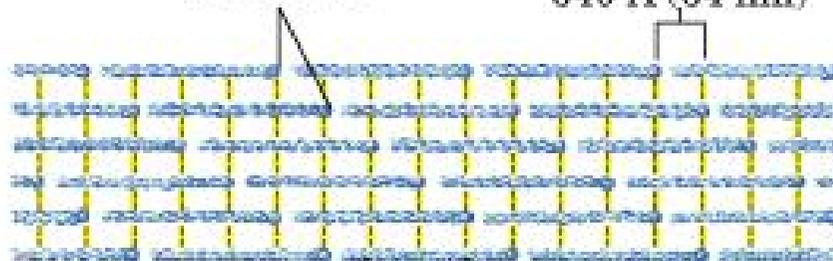
(d)



250
nm

Heads of collagen
molecules

Cross-striations
640 Å (64 nm)



Section of collagen
molecule

→ Ligações covalentes
dentro e entre cadeias
de tropocolágeno

→ Tropocolágeno
Cadeias em hélice
orientada pra esquerda

Colágeno

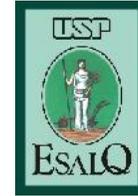


- ▶ Alta correlação de colágeno total ($r=0,723$; $P<0,01$) e insolúvel ($r=0,661$; $P<0,01$) com força de cisalhamento

Músculo	Força de cisalhamento (Warner-Bratzler)	Colágeno total (mg hidroxiprolina/g tecido)	Colágeno insolúvel (mg hidroxiprolina/g tecido)
<i>l. thoracis</i>	$2,29^a \pm 0,91$	$0,51^b \pm 0,04$	$0,38^b \pm 0,03$
<i>gluteus medius</i>	$3,68^b \pm 0,51$	$0,59^d \pm 0,05$	$0,45^d \pm 0,04$
<i>semimembranosus</i>	$4,10^c \pm 0,79$	$0,60^{de} \pm 0,06$	$0,49^c \pm 0,02$
<i>semitendinosus</i>	$4,79^d \pm 0,58$	$0,77^h \pm 0,09$	$0,64^i \pm 0,03$

Adaptado de Torrescano et al. (2003)

Proteínas globulares



- ▶ Cadeias enoveladas com forma esférica ou elipsóide
 - aspecto compacto
 - alta solubilidade
 - diversidade estrutural: função biológica diversa
 - enzimas, proteínas de transporte, regulatórias, Ig

β Conformation
 $2,000 \times 5 \text{ \AA}$

α Helix
 $900 \times 11 \text{ \AA}$

Native globular form
 $130 \times 30 \text{ \AA}$

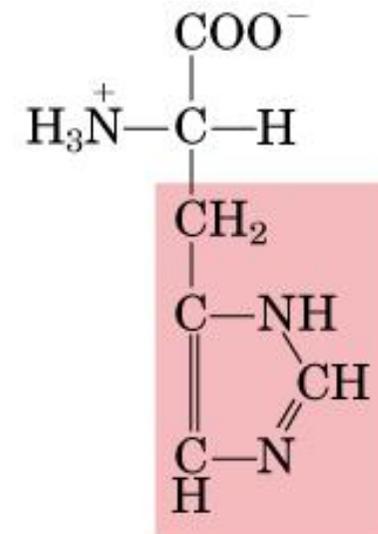
Mioglobina



- ▶ Transporte e armazenamento de oxigênio no músculo
- ▶ Cadeia única: 153 aa
- ▶ Grupo prostético heme
- ▶ 8 regiões de α -hélice conectadas por dobras de aa

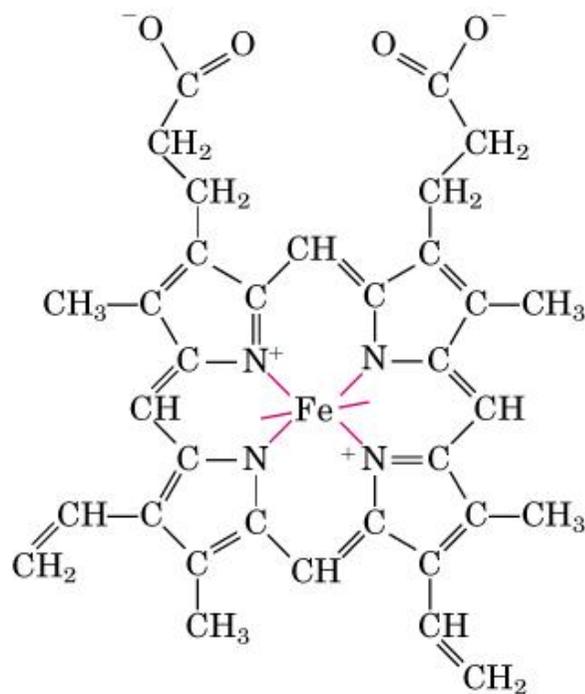
- ▶ Superfície da molécula é polar
- ▶ Interior apolar

Mas tem resíduos de histidina (carregado +)

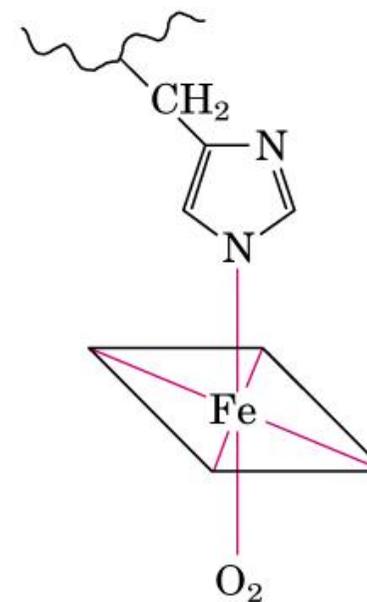


Mioglobina

- ▶ Grupo heme: grupo prostético
- ▶ Átomo de Fe no centro

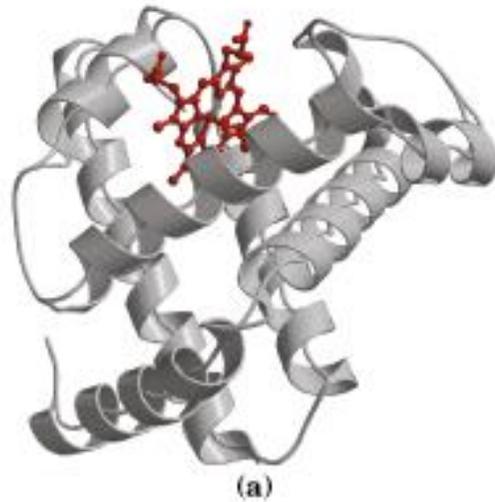


(a)

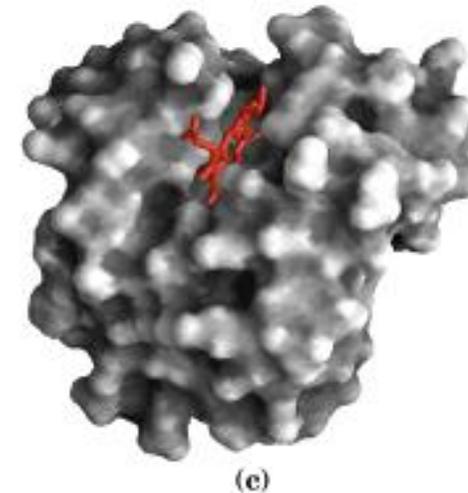
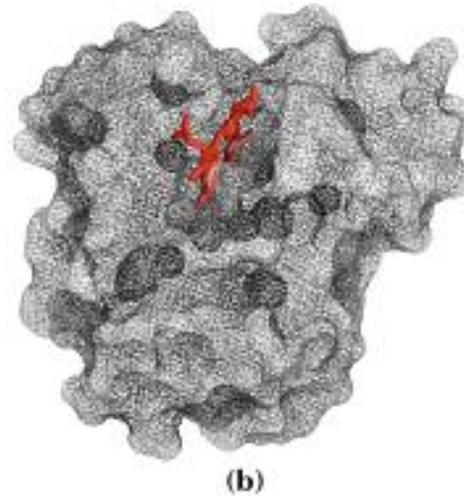


(b)

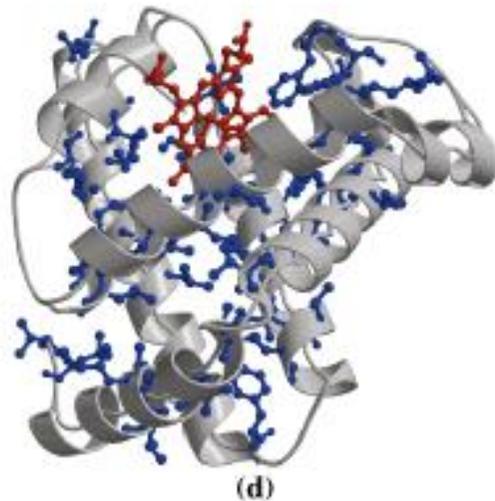
Representação em fita –
ênfatisa estrutura secundária



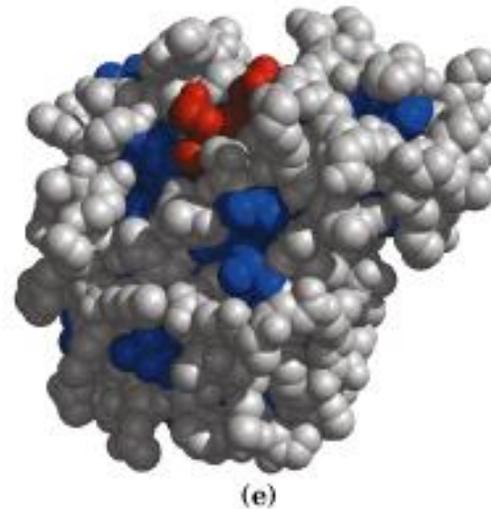
ênfatisa superfície



ênfatisa superfície mostrando
possíveis sítios de ligação



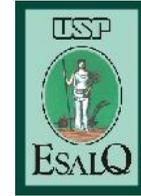
Fita com cadeias laterais



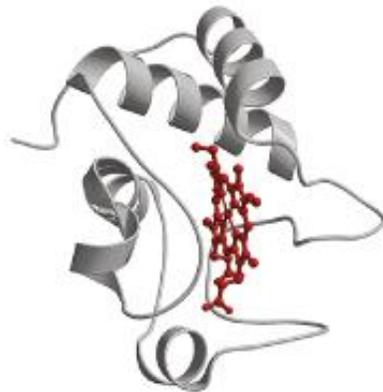
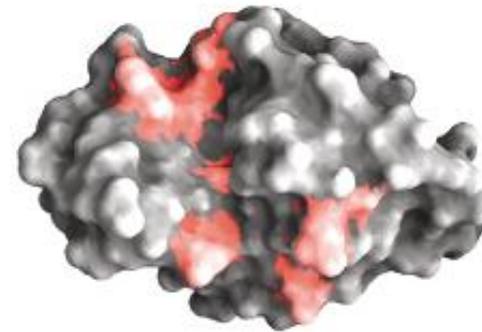
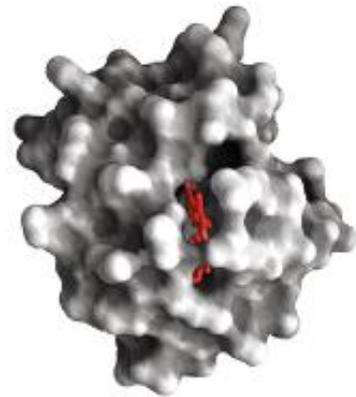
Modelo de espaço preenchido

Molécula compacta:
Espaço para somente 4
moléculas de água

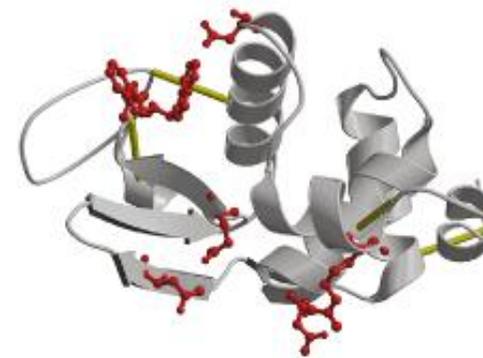
Proteínas globulares



- ▶ Diferentes estruturas terciárias que refletem em diferenças na função



Cytochrome c



Lysozyme



Proteínas globulares

Quantidades aproximadas de α -hélice e Conformação β em proteínas

Proteína (resíduos totais)	% de resíduos	
	α -hélice	Conformação β
Quimotripsina (247)	14	45
Ribonuclease (124)	26	35
Carboxipeptidase (307)	38	17
Citocromo c (104)	39	0
Lisozima (129)	40	12
Mioglobina (153)	78	0

Proteínas globulares

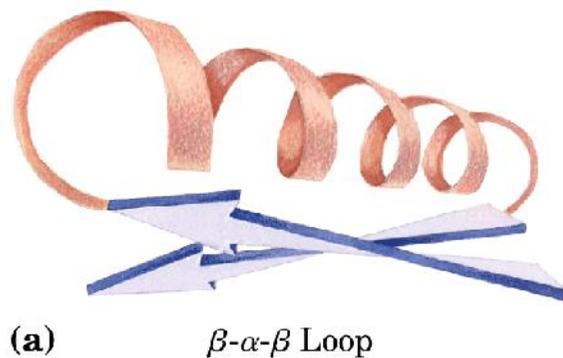


- ▶ Estruturas recorrentes em proteínas não relacionadas
 α -hélice e β -pregueada ligados por segmentados
conectores
- ▶ Estruturas super-secundárias ou secundárias
irregulares (motivos ou dobras):
arranjos estáveis de diversos elementos de estrutura
secundária e as conexões entre os mesmo

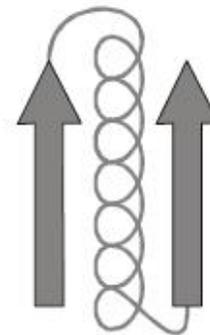
Estruturas secundárias irregulares



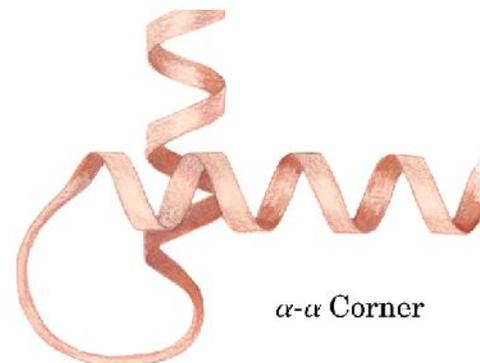
- ▶ Motivo $\beta\alpha\beta$: duas folhas β -pregueadas paralelas estão conectadas a uma α -hélice



(a) Unidade $\beta\alpha\beta$



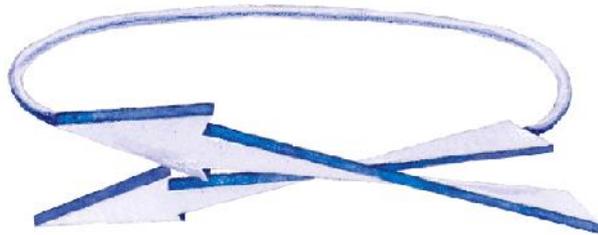
- ▶ Motivo $\alpha\alpha$: duas α -hélice antiparalelas consecutivas separadas por alça ou segmento não-helicoidal



Estruturas secundárias irregulares



- ▶ Motivo $\beta\beta$: duas cadeias β pregueadas ligadas por conectores



(c) Right-handed connection
between β strands

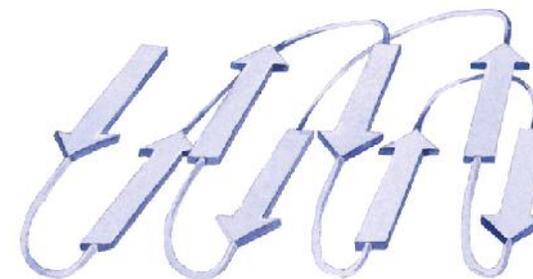
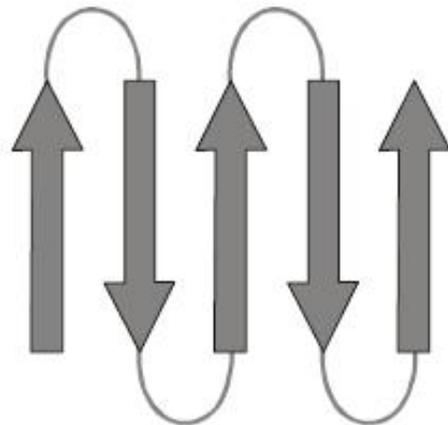


Left-handed connection
between β strands
(very rare)

Estruturas secundárias irregulares



- ▶ Motivo β meandro: duas folhas β -pregueadas antiparalelas conectadas por aminoácidos polares e glicina que efetuam mudança brusca na direção da cadeia

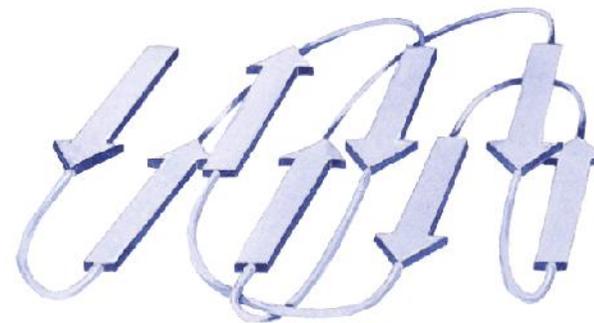
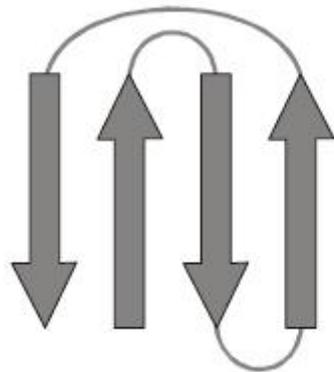


(b) Typical connections in an all- β motif

Estruturas secundárias irregulares



- ▶ Chave grega: cadeias β preguedas conectadas não na sequência



Crossover connection
(not observed)

Estruturas secundárias irregulares

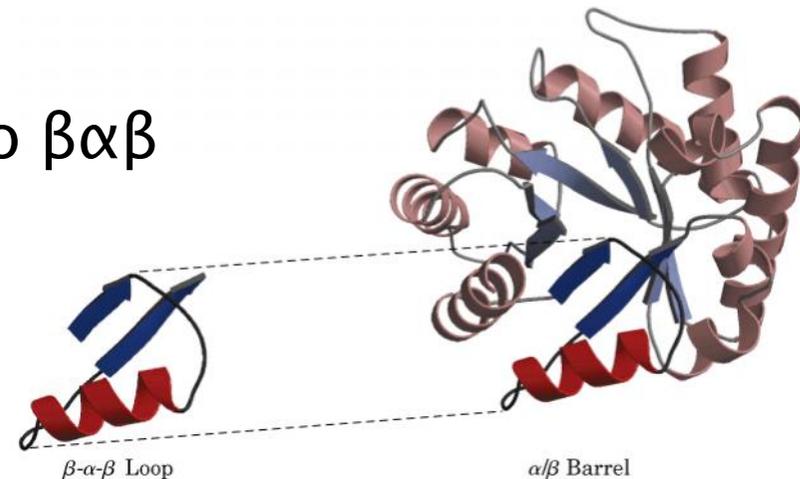


- ▶ Barris β : várias folhas β pregueadas enroladas sobre si mesmas



(d) β Barrel

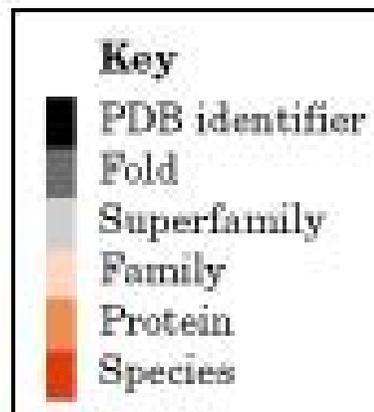
- ▶ Barris $\alpha\beta$: repetições do motivo $\beta\alpha\beta$



Classificação da estrutura de acordo com os motivos



- ▶ SCOP: structural classification of proteins
- ▶ Proteínas divididas em 4 classes
 - Toda α
 - Toda β
 - α / β : segmentos estão alternados
 - $\alpha + \beta$: segmentos estão segregados

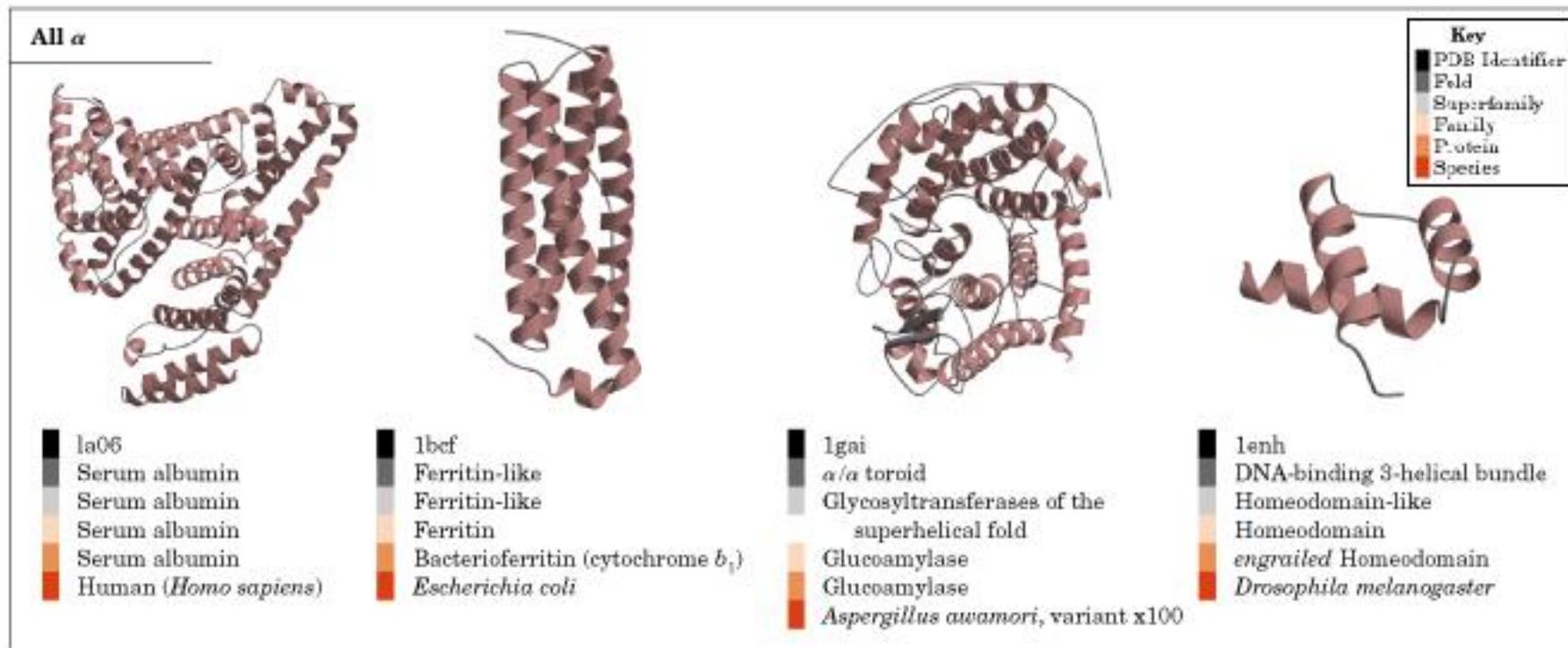


Identificação no Protein data bank

Estrutura

Sequências similares: motivos e funcionalidade semelhantes

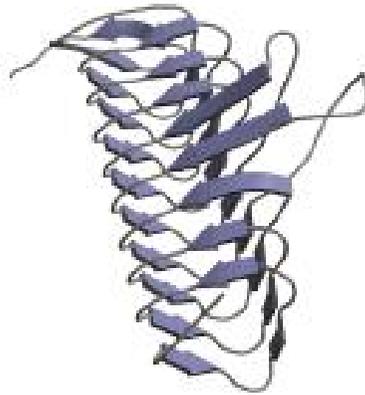
Sequência primária similar



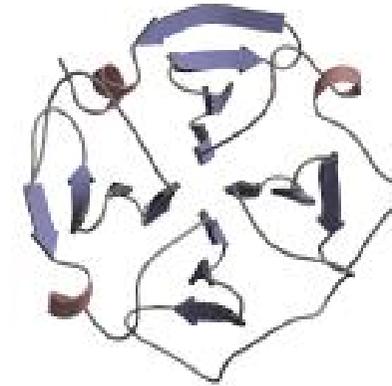
All β



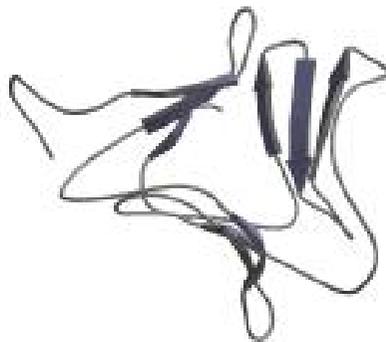
1hoe
 α -Amylase inhibitor
 α -Amylase inhibitor
 α -Amylase inhibitor
 HOE-467A
Streptomyces tendae 4158



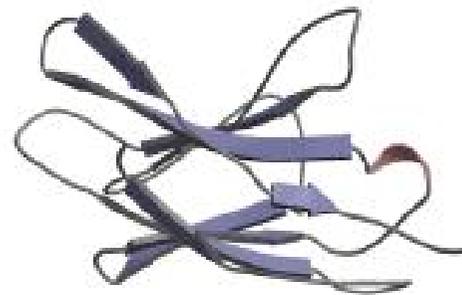
1lxe
 Single-stranded left-handed β helix
 Trimeric LpxA-like enzymes
 UDP *N*-acetylglucosamine acyltransferase
 UDP *N*-acetylglucosamine acyltransferase
Escherichia coli



1pex
 Four-bladed β propeller
 Hemopexin-like domain
 Hemopexin-like domain
 Collagenase-3 (MMP-13),
 carboxyl-terminal domain
 Human (*Homo sapiens*)

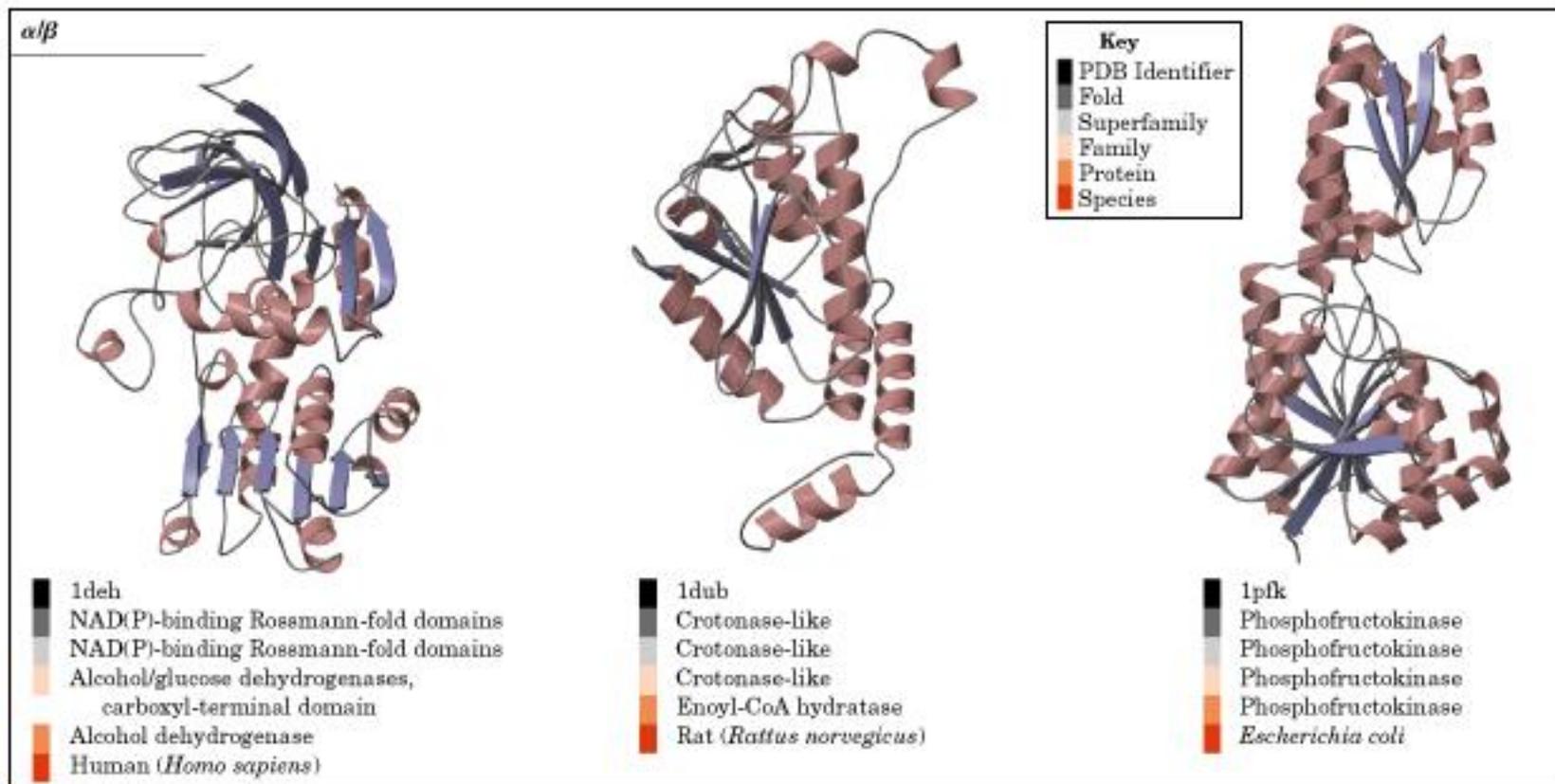


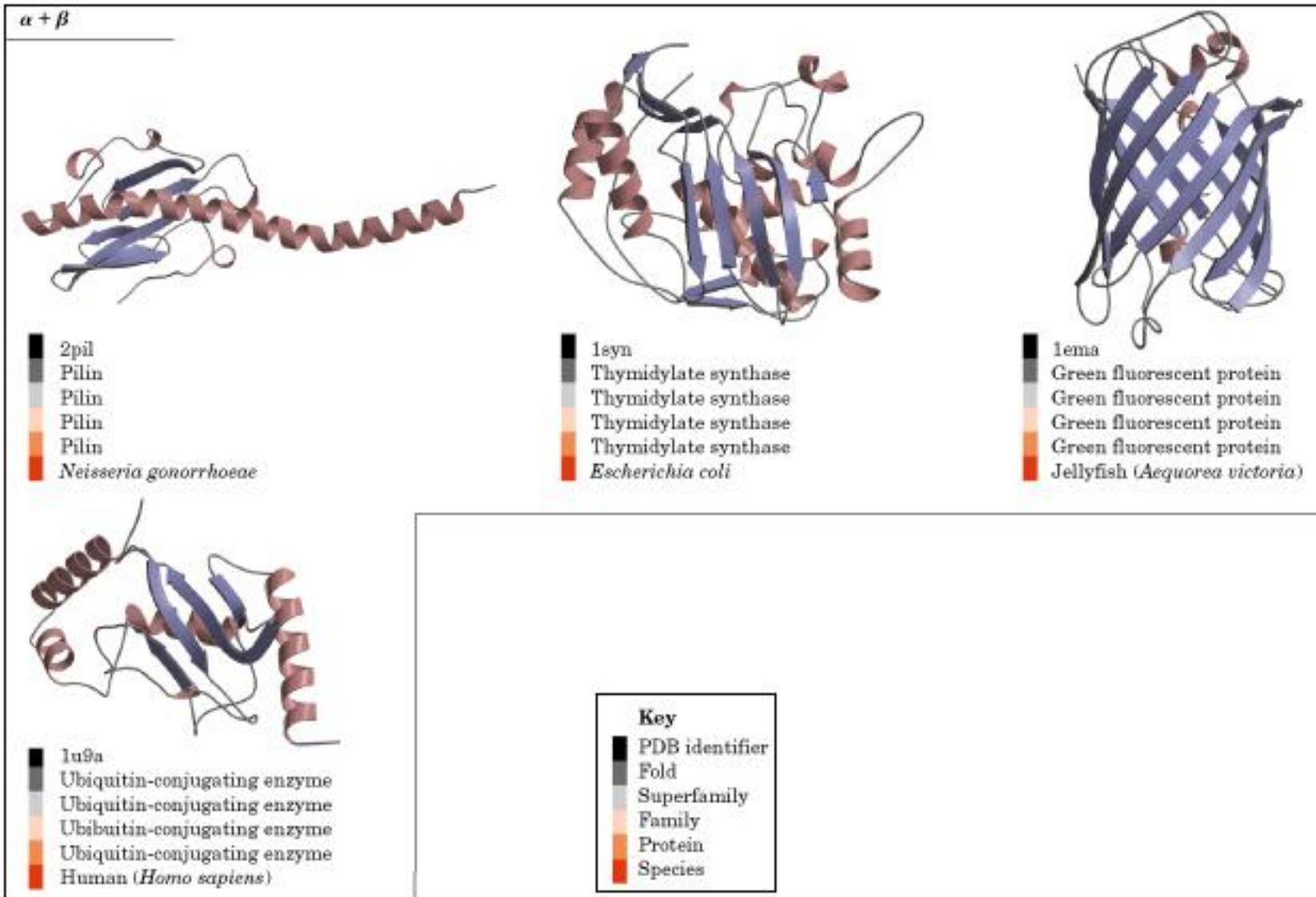
1lpc
 β -Prism II
 α -D-Mannose-specific plant lectins
 α -D-Mannose-specific plant lectins
 Lectin (agglutinin)
 Snowdrop (*Galanthus nivalis*)



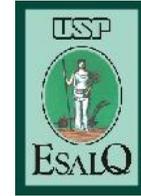
1cd8
 Immunoglobulin-like β sandwich
 Immunoglobulin
 Antibody variable domain-like
 CD8
 Human (*Homo sapiens*)

Key	
█	PDB Identifier
█	Fold
█	Superfamily
█	Family
█	Protein
█	Species





Estrutura quaternária



- ▶ Dímeros simples a complexos maiores

Multímeros: 2 a >100 subunidades

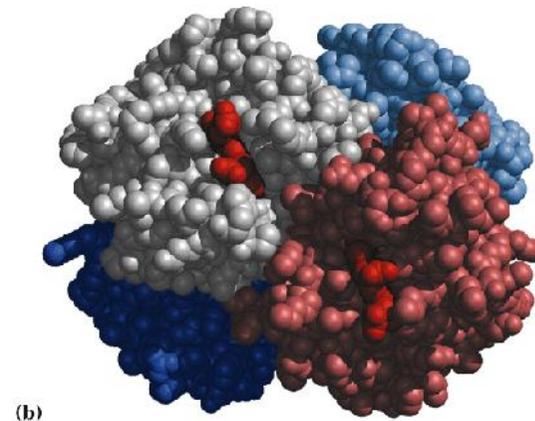
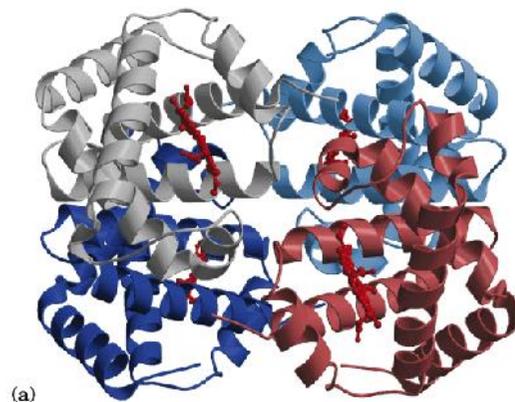
Maior parte tem subunidades idênticas ou grupos não idênticos sempre repetidos

Estrutura/subunidade repetida: protômero

Subunidades podem se arranjar num número limitado de padrões de simetria

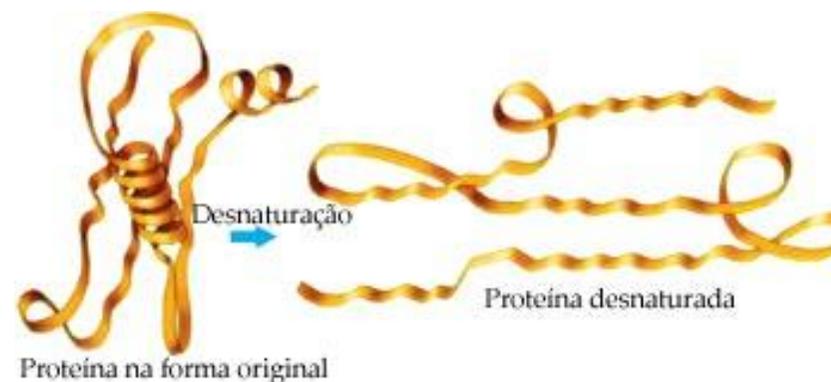
Hemoglobina

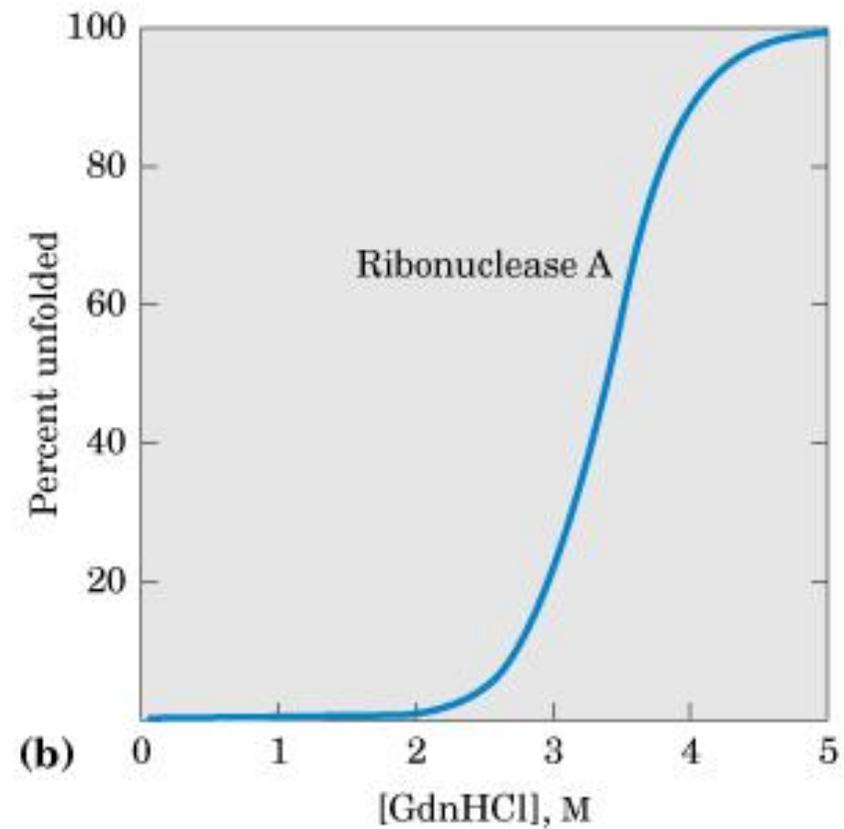
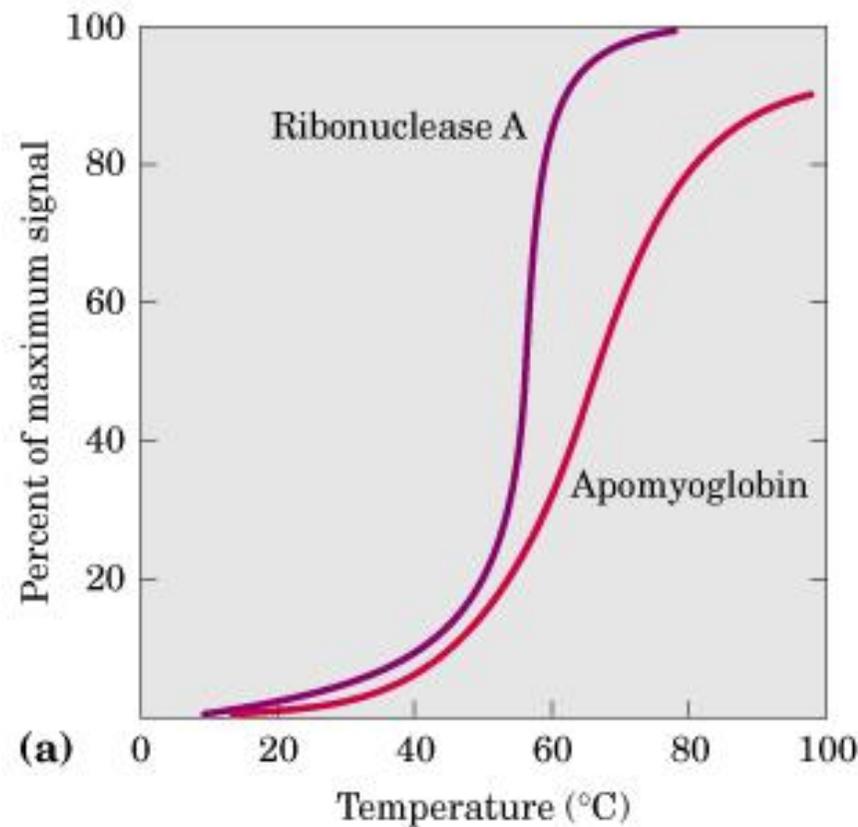
- ▶ Transporte de oxigênio/ CO_2 : pulmões – tec. Periféricos
- ▶ Hemoglobina:
 - 4 cadeias polipeptídicas
 - 4 grupos heme: grupo prostético
 - Pares de cadeias simétricos



Desestabilização da estrutura

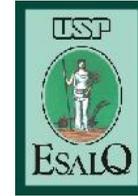
- ▶ Desnaturação
 - Alteração da conformação tridimensional da proteína sem romper ligações peptídicas
 - Perda parcial ou completa da função biológica
- ▶ Renaturação
 - Restauração da conformação e função biológica





- ▶ Transição da estrutura enovelada para desnaturada é abrupta: cooperatividade no processo de desnaturação

Agentes de desnaturação



- ▶ Temperatura: aumento de energia cinética das moléculas, rompendo pontes de H e dissulfeto
- ▶ pH: Ácidos ou bases fortes – alterações no estado iônico de cadeias laterais, pontes de H e interações iônicas. Precipitação de proteína.
- ▶ Solventes orgânicos e detergentes: interagem com grupos R não-polares e interferem em ligações hidrofóbicas

Agentes de desnaturação



- ▶ Agentes redutores (uréia): conversão de pontes dissulfeto em grupos sulfidrílicos
- ▶ Concentração de sais: ligação de íons salinos a grupos ionizáveis enfraquece interações entre grupos de cargas opostos

Considerações Finais



- ▶ Proteínas são formadas por sequência de AA que define estrutura/conformação
- ▶ Níveis de organização estrutural, mantidos por ligações covalentes ou interações fracas – estabilização
- ▶ Conformação determina função biológica
- ▶ Conformação pode ser desestabilizada

Literatura sugerida

- ▶ Nelson & Cox. Lehninger Princípios de Bioquímica. São Paulo: Sarvier, 2002. 975 p.



Teoria aplicada



Meat Science 64 (2003) 85–91



Shear values of raw samples of 14 bovine muscles and their relation to muscle collagen characteristics

Gastón Torrecano¹, Armida Sánchez-Escalante¹, Begoña Giménez, Pedro Roncalés, José Antonio Beltrán*

Thermal Stability of Bovine Milk Immunoglobulin G (IgG) and the Effect of Added Thermal Protectants on the Stability

C.-C. CHEN, Y.-Y. TU, AND H.-M. CHANG

JOURNAL OF FOOD SCIENCE—Vol. 65, No. 2, 2000