



Universidade de São Paulo
Instituto de Química

Bioquímica QBQ0313
Nutrição Noturno

Professores

Ricardo Giordano, Daniela Basseres



2023

APRESENTAÇÃO

PROFESSOR:

Ricardo Giordano

Bloco 12 Sup. Sala 1250; giordano@iq.usp.br

Daniela S. Basseres

Bloco 12 Inf., Sala 1208; basseres@iq.usp.br

INTRODUÇÃO E NORMAS GERAIS

A disciplina de Bioquímica para Nutrição (QBQ-0313 Turmas Diurno e Noturno) compreende o programa de módulos mostrado no calendário abaixo. Cada módulo focaliza um tópico a ser desenvolvido em um dia de aula, envolvendo 3 atividades:

- a) Aula expositiva pelo professor;
- b) Grupos de discussão centrados em questões objetivas (lista de exercícios);
- c) Fechamento do tema pelo professor que analisará as questões discutidas em grupo.

Além destes módulos, haverá apresentação de softwares durante as aulas e material para estudo em casa (online).

AVALIAÇÃO

A avaliação de desempenho será composta dos seguintes itens:

- a) Provas escritas individuais (P1 e P2).

O cálculo da média final será feito através da seguinte fórmula:

$$\text{Média final} = (\Sigma \text{Exercícios \& Relatórios}/n) \times 0,2 + [(P1 + P2)/2] \times 0,8$$

Haverá uma única prova substitutiva para substituir uma das provas individuais de avaliação, se necessária.

A presença em todas as atividades é obrigatória. A lista de presença será passada em todas as aulas. Alunos que não tiverem 75% de frequência nas aulas não farão prova de recuperação.

Alunos que alcançarem a média final $\geq 5,0$ e mostrarem frequência $\geq 75\%$ estarão aprovados. Aqueles cuja média for no mínimo igual a 3,0 e apresentarem frequência $\geq 75\%$ poderão fazer a prova de recuperação.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

A bibliografia recomendada envolve 2 livros textos em português:

TORRES, B. B. & MARZZOCCO, A. **Bioquímica Básica, segunda edição.**

Contudo, outros excelentes textos de Bioquímica, em inglês ou português, poderão ser usados com igual proveito, tais como:

VOET, D. & VOET, J. **Biochemistry.**

LEHNINGER, A. L. **Principles of Biochemistry.**

CALENDÁRIO DE MÓDULOS E ATIVIDADES 2023

DATA		Professor	TÍTULO	Avaliação
Março	16	Ricardo	Aula 1 - Introdução ao curso. Água, pH e sistema tampão. Aminoácidos.	Exercício
	23	Ricardo	Software Eletroforese	Relatório 1
	30	Ricardo	Laboratório LBBM	Relatório 2
Abril	6		Semana Santa (não haverá aula)	
	13	Ricardo	Aula 2 - Proteínas: estrutura e função (Introdução e conceitos básicos): Colágeno	Exercício
	20	Ricardo	Aula 3 - Proteínas: Estrutura e função 2 (Hemoglobina)	Exercício
	27	Ricardo	Aula 4 - Sentido das reações, enzimas e seus inibidores	Exercício
Maio	4	Ricardo	Aula 5 - Lipídios, Membranas e transporte através de membranas	Exercício
	11	Ricardo	Aula 6 - Carboidratos: estrutura e função	Exercício
	18	Ricardo	Prova 1	Prova
	25	Ricardo	Aula 7 – Estrutura dos Ácidos nucleicos e replicação do DNA	Exercício
Junho	1	Daniela	Aula 8 – Estrutura dos genes, Transcrição e processamento de RNA	Exercício
	8		Corpus Christi (não haverá aula)	
	15	Daniela	Aula 9 - O código genético e a síntese de proteínas	Exercício
	22	Ricardo	Aula 10- Nutrigenômica: polimorfismo genético e epigenética	Exercício
	29	Daniela	Aula 11 - Introdução ao DNA recombinante. Transgênicos	Exercício
Julho	6	Ricardo	Prova 2	Prova

T: aula teórica; MM: software na sala multimídia; A: avaliação (P1, P2 e SUB a ser agendada, se necessário).

GUIA DE ESTUDO e EXERCÍCIOS

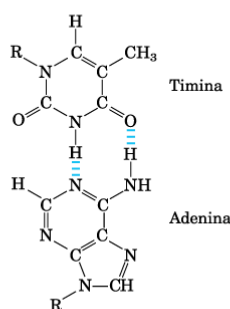
Aula 1 A lógica molecular da vida Biomoléculas e nutrição

Os diversos organismos vivos e outras microestruturas biológicas existentes no planeta podem ser considerados complexos e altamente organizados. Os sistemas vivos retiram energia do ambiente e transformam esta energia em crescimento e reprodução, e estes sistemas tendem à homeostase (equilíbrio de parâmetros que definem o ambiente interno). Entretanto, os organismos nunca estão efetivamente em homeostase, pois estão constantemente respondendo as mudanças ambientais, mas possuem uma gama de processos Bioquímicos capazes de contribuir para, incessantemente, manter o organismo em condições próximas a homeostase.

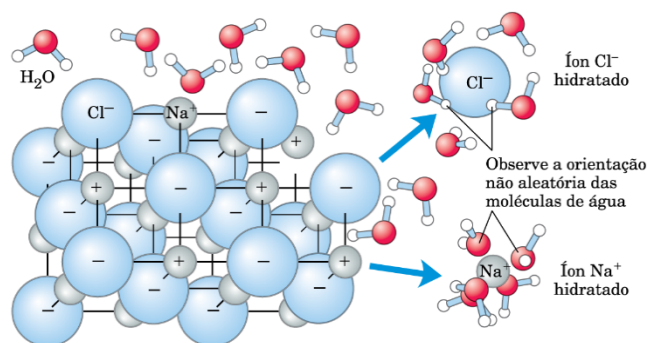
Os sistemas vivos também possuem a capacidade reprodutiva, o que favorece a permanência de sua existência na terra através da evolução. Necessitam ser organismos consumidores, no sentido em que mudam a biomassa, criando novos indivíduos e reduzindo perdas de matéria. Durante a evolução, os organismos desenvolveram uma enorme variedade de moléculas químicas capazes de atuar em sistemas biológicos de alta complexidade e variedade. Nesta disciplina vamos conhecer melhor a composição, interação e principais funções dessas moléculas consumidas do meio externo e que passam a desenvolver um papel funcional nos sistemas vivos.

Questões para estudo

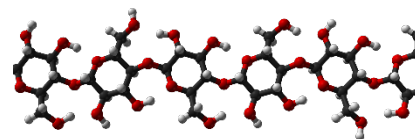
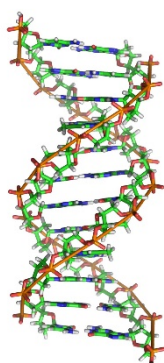
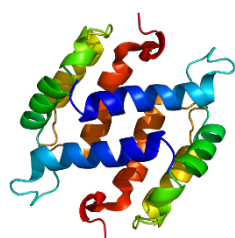
1. Existe uma molécula química que é essencial para a existência dos sistemas vivos. Qual é essa molécula?
2. Qual é o tipo de ligação indicado na figura abaixo?



3. Quando dissolvemos um pouco de sal (NaCl) em água (H₂O) há solubilização completa do sal. Com base na ilustração abaixo, explique quimicamente o que acontece durante este processo.



4. O que acontece com as gorduras (lipídeos) quando estão em contato com a água? Esquematize.
5. Cite as principais classes de biomoléculas encontradas nos alimentos.
6. Você reconhece algumas dessas estruturas indicadas abaixo? Escreva abaixo a qual classe de biomolécula ela está classificada.



a _____

b _____

c _____

d _____

7. Os alimentos são essencialmente de origem animal ou vegetal. Quais são as diferenças básicas de composição das células animais e vegetais?
8. Todas as células possuem proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos. Dê um ou mais exemplos de elemento químico comum a todas estas biomoléculas.

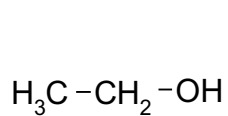
Estrutura de Biomoléculas

Questões para Estudo: Antes de estudarmos as macromoléculas que ingerimos nos alimentos, vamos reconhecer as funções químicas mais comuns nessas macromoléculas.

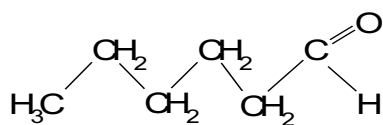
1. Identificar nas fórmulas seguintes a presença dos seguintes grupos funcionais:

- 1.1. aldeído
- 1.2. cetona
- 1.3. álcool
- 1.4. ácido carboxílico
- 1.5. amina
- 1.6. éster

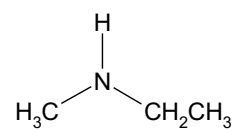
2. Indicar compostos que apresentam mais de um grupo funcional.



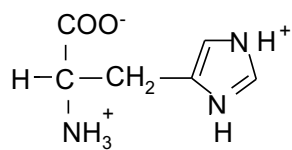
(1)



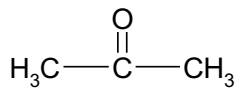
(2)



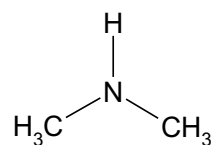
(3)



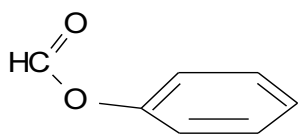
(4)



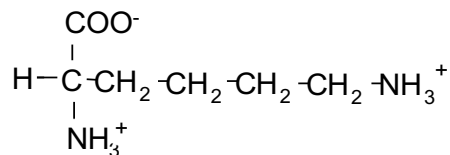
(5)



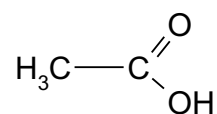
(6)



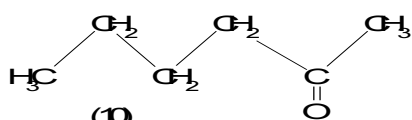
(7)



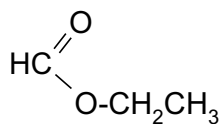
(8)



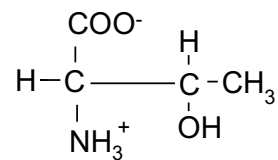
(9)



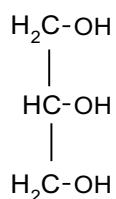
(10)



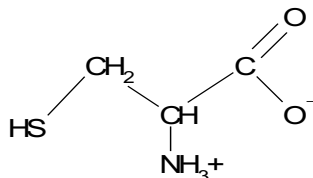
(11)



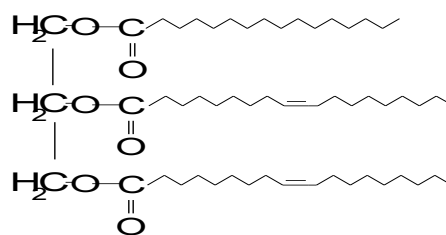
(12)



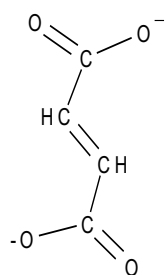
(13)



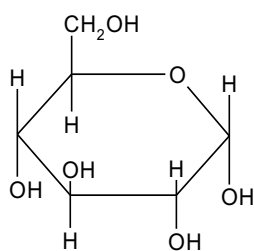
(14)



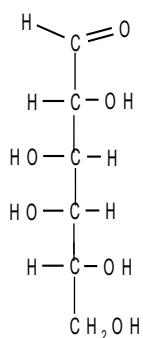
(15)



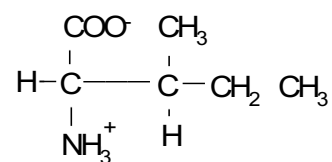
(16)



(17)



(18)



(19)



- 8

Aula 1- pH e Tampão

Questões para Estudo e Discussão:

Ler Capítulo 1-Sistema Tampão: **Pag. 3 a 9; Livro Bioquímica Básica- Anita Marzzoco e Bayardo Baptista Torres, segunda edição.**

1. Definir ácidos e bases conjugadas, segundo Brønsted.
 - Ácido é um doador de prótons
 - Base é um aceptor de prótons
2. Definir pKa.
3. Definir sistema tampão.
4. O ácido acético tem pK_a de 4,7. Mostrar que forma (ácido ou base conjugada) predomina nos seguintes valores de pH: 2,7; 4,7; 9,7.
5. O composto número 12 (p.7) é o aminoácido treonina. O valor de pKa do grupo carboxila é 2,1 e o do grupo amina é 9,1. Escrever a forma predominante deste aminoácido nos seguintes valores de pH: 1,5; 2,1; 7,4; 9,1; 12.

1. ESTRUTURA E PROPRIEDADES DE AMINOÁCIDOS

INTRODUÇÃO

A uma solução de um aminoácido com pH próximo de 2 foi adicionada gradativamente uma solução de álcali. Em um gráfico com os dados do experimento, com valores de pH em ordenadas e volume de álcali adicionado em abscissas, observou-se que a elevação de pH ao longo da adição não foi constante, havendo três etapas com variação lenta de pH. O aminoácido titulado é um aminoácido básico, ácido, apolar ou polar sem carga?

OBJETIVOS PARA ESTUDO

Livro Bioquímica Básica- Anita Marzzoco e Bayardo Baptista Torres

Ler as pag. Indicadas abaixo antes de começar a responder as questões de 1 a 6:

Capítulo 2- Aminoácidos e Proteínas: Capítulo 2- pag. 11 a 16.

1. O que caracteriza estruturalmente um aminoácido que faz parte de proteínas?
 - 1a. Verificar os grupos funcionais presentes nestes aminoácidos.
 - 1b. Verificar se ornitina e citrulina (fórmulas à p. 221) são aminoácidos, se são α -aminoácidos e se fazem parte de proteínas.
2. Verificar quantos representantes tem cada um dos seguintes grupos de aminoácidos: básicos, polares sem carga, apolares e ácidos.
3. Definir pK_a. Calcular a razão das concentrações das espécies protonada e desprotonada de um ácido fraco em pH uma unidade maior e uma unidade menor do que o valor do pK_a.
4. Definir ponto isoelétrico (pI) de um aminoácido.

5. Fazer um esquema da variação de pH em função da adição de álcali a uma solução de glicina, de pH = 1 até pH = 13. Escrever as formas iônicas predominantes da glicina e suas cargas líquidas em pH 1; pH 2,35; pH 7,0; pH 9,78 e pH 12. Calcular o ponto isoelétrico (pI) da glicina.
6. Verificar se as afirmações a seguir são verdadeiras ou falsas.
 - 6a. Somente em valores de pH muito altos ou muito baixos a forma não ionizada de um aminoácido pode predominar.
 - 6b. Em pH maior que o pKa de um grupo ionizável, mais da metade do total destes grupos estará dissociada

7- Software *Eletroforese*:

<http://www.iq.usp.br/bayardo/software/eletroforese/simulador.html>

Parte I. Comportamento de ácidos fracos

A. Selecione na lista de compostos o Ácido p-nitro-fenil-propanoico, fixe o pH em 4,48 e faça a simulação da eletroforese. Para a finalidade deste software, o ácido pode ser representado por R-COOH.

1. Qual foi o resultado obtido na eletroforese? Qual foi a velocidade de migração?
2. Qual é a proporção das espécies presentes no início e no final da simulação?
3. Na representação microscópica, observe apenas um ponto. Este ponto, que representa uma molécula, mantém sempre a mesma carga? Por que as espécies mudam seu estado de ionização mesmo sem a aplicação de voltagem?
4. Todas as moléculas do sistema movimentam-se na eletroforese?
5. A proporção das espécies do sistema será mudada se houver alteração do pH do meio. Verdadeiro ou Falso?
6. A resposta à questão anterior tem confirmação pela Equação de Henderson-Hasselbalch?

B. Reinicie o experimento e interrompa-o quando a mancha estiver aproximadamente na metade do caminho.

7. Uma vez que a corrida foi interrompida, é possível retomá-la? Qual é a velocidade em relação ao início do experimento?
8. Houve mudança no comportamento microscópico e macroscópico da amostra na situação atual em relação ao experimento anterior?
9. Qual a proporção de espécies no pH em que foi realizado o experimento? Escreva as estruturas dessas espécies.
10. Por que aparece apenas uma mancha na eletroforese se há duas espécies diferentes, uma com carga elétrica e outra sem carga?
11. É possível separar as duas espécies?

C. Altere o pH do meio para 5,48 e faça a simulação da eletroforese.

12. Qual foi o resultado obtido na eletroforese? Qual foi a velocidade de migração? Compare essa velocidade com a da eletroforese realizada em pH 4,48.
13. Qual é a proporção das espécies presentes no meio no início e no final da simulação? Qual a relação entre as proporções das espécies no pH 4,48 e no pH 5,48 com as velocidades observadas nos dois casos?
14. Verifique as proporções das espécies do sistema em pH 2,48; 3,48; 4,48; 5,48 e 6,48.
15. Que previsão pode ser feita quanto à velocidade de migração em pH 6,48; 8,48 e 10,48?

16. Qual a relação entre a velocidade de migração da amostra e os valores de pH?
17. Em qual(quais) valores de pH o sistema se encontra em equilíbrio?

Parte II. Comportamento de aminoácidos com cadeia lateral não ionizável

A. Na lista de aminoácidos, escolha a Glicina (Gly), ajuste o pH do meio para 2,35 e faça a simulação da eletroforese.

1. Qual foi o resultado obtido na eletroforese? Em direção a que polo a amostra migrou? Qual foi a velocidade de migração?
2. Qual é a proporção das espécies presentes no meio no início e no final da simulação? Escreva as estruturas dessas espécies.
3. Existe algum valor de pH no qual predomine uma espécie sem nenhuma carga?
4. Na representação microscópica, observe apenas um ponto. Este ponto, que representa uma molécula, mantém sempre a mesma carga?

B. Ajuste o pH para 9,78 e faça a simulação da eletroforese.

5. Qual a diferença entre o resultado deste experimento e o do experimento anterior?

C. Repita o experimento em uma faixa de pH com variação de uma unidade de pH.

6. Há algum valor de pH em que não haja nenhuma carga nas espécies?

D. Faça experimentos com o objetivo de determinar um valor de pH no qual não há nenhuma migração.

7. Qual foi o valor encontrado? É possível encontrar esse valor teoricamente?

E. Prepare agora um sistema com a Alanina (Ala), e repita os passos 1, 3, 5 e 6

8. Houve diferenças no comportamento dos sistemas? Quais?

F. Prepare agora um sistema com Alanina (Ala) e Glicina (Gly) e repita os passos 1, 3, 5 e 6.

9. Qual foi o resultado?

G. Prepare novamente o sistema anterior e adicione Glutamato (Glu) à amostra. Repita os passos 1, 3, 5 e 6.

10. O que foi observado agora? Que hipótese pode explicar os resultados observados?

Parte III. Comportamento de aminoácidos com cadeia lateral ionizável

A. Prepare um experimento com o Glutamato (Glu) em pH=2,1

1. Repita os passos da Parte II de A1 até A4.
2. Por que o pI é tão baixo?

B. Prepare um experimento com a Arginina (Arg) em pH=10,74

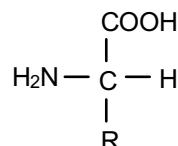
1. Repita os passos da Parte II de A1 até A4.
2. Por que o pI é tão alto?
3. Por que há um pI entre pK_a e pK_R e não na média global dos pK_as, tanto para Glu como para Arg?

C. Prepare um experimento com glicina Gly, glutamato, Glu, e arginina, Arg em pH 2.1; depois em pH 7,0 e em pH 12.

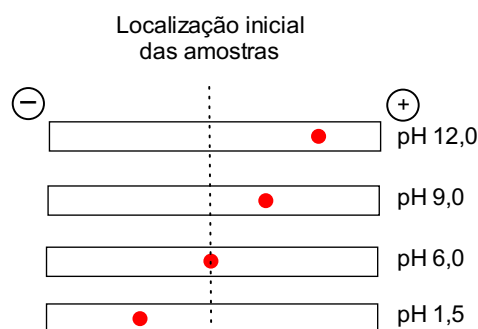
1. Repita os passos da Parte II de A1 até A4. Descreva o resultado.

QUESTÕES PARA DISCUSSÃO

1. A estrutura abaixo aparece em muitos textos como fórmula geral de aminoácidos. Em que valores de pH ela representa a forma predominante?



2. Fazer um esquema da variação de pH em função da adição de álcali a uma solução de serina, de pH = 1 até pH = 13.
3. Escrever as formas iônicas predominantes do ácido glutâmico em
- 3a. pH = 1 3b. pH = 4,07 3c. pH = 7 3d. pH = 12. Calcular o pI.
4. Quatro amostras da solução de um aminoácido foram submetidas à eletroforese em diferentes valores de pH, com a mesma voltagem e durante o mesmo tempo. O esquema seguinte mostra a localização do aminoácido no início e ao final da eletroforese nos diferentes valores de pH.



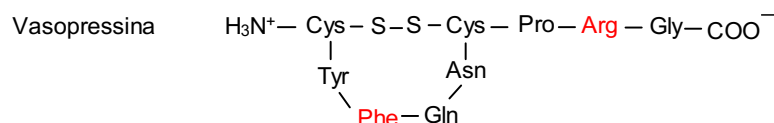
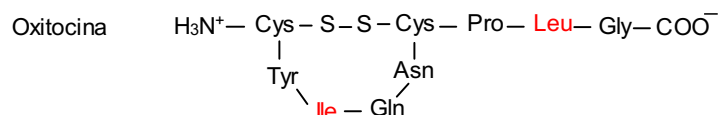
- 4a. O aminoácido utilizado foi alanina, aspartato ou lisina?
- 4b. Fazer um esquema do resultado que seria obtido se o experimento houvesse sido feito com os outros dois aminoácidos.
- 4c. Misturar os aminoácidos Ala, Asp e Lys e fazer a eletroforese da mistura em valores de pH iguais a 1,5; 6,0; 9,0 e 12,0. Mostrar a localização dos aminoácidos na fita.
5. Esquematizar o resultado da eletroforese de uma solução de glicina ($pK_1 = 2,35$ e $pK_2 = 9,78$) feita em pH 9,78 e da eletroforese do mesmo aminoácido feita em pH 11,78.
6. Questão da Introdução.

Aula 3

3. ESTRUTURA DE PROTEÍNAS

INTRODUÇÃO

- A. Oxitocina e vasopressina, dois peptídeos com função hormonal, estão representados a seguir.

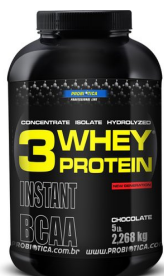


A tabela seguinte mostra as atividades relativas dos dois peptídios quanto à lactação e à antidiurese. Mostra também a atividade relativa de peptídios sintéticos, que diferem da oxitocina por substituição da leucina por outros aminoácidos. O tratamento dos peptídios com agentes redutores acarreta sua inativação.

	Oxitocina	Vasopressina	“Oxitocina” com Leu substituída por			
			Ile	Val	Arg	Lys
Lactação	100	-	80	70	46	40
Antidiurese	-	100	-	-	56	6

Listar os conhecimentos necessários para interpretar os dados da tabela.

B. Muitos praticantes de atividade física utilizam dois “suplementos alimentares”, *whey protein* (proteína do soro do leite) e BCAA (sigla em inglês de aminoácidos de cadeia ramificada), com o intuito de ganhar massa muscular. Qual é sua opinião sobre esta prática?



OBJETIVOS PARA ESTUDO

Capítulo 2: ler páginas 16 a 31 e depois leia o texto desta apostila (páginas 10 a 12).

1. Os aminoácidos componentes de um tripeptídio têm, quando isolados, um total de oito grupos ionizáveis. Quantos grupos ionizáveis tem o tripeptídio?
2. A cadeia polipeptídica de uma proteína é sempre linear ou pode apresentar ramificações? Duas proteínas diferentes podem ter a mesma estrutura primária?
3. As estruturas regulares secundárias das proteínas globulares – alfa hélice e conformação beta – seriam mantidas em temperaturas incompatíveis com a formação de ligações de hidrogênio?
4. Indicar as interações que mantêm a estrutura terciária das proteínas globulares e dar exemplos de aminoácidos que delas participam.
5. Explicar porque são encontrados quatro grupos α -amino na hemoglobina e apenas um grupo α -amino na mioglobina.

6. Definir *domínio*, quando o termo é aplicado à estrutura de proteínas, estudando o **texto seguinte**:

Propriedades gerais de α -hélices, folhas β -pregueadas e alças.

Diferentes cadeias laterais de aminoácidos têm tendências diferentes em formar α -hélice. Ala, Glu, Leu e Met são bons formadores de α -hélices, enquanto Pro, Gly, Tyr e Ser são maus formadores dessas estruturas.

α -hélices localizam-se preferencialmente na superfície da proteína, com um lado da hélice voltado para a solução e outro para o interior da proteína. α -hélices que cruzam membranas estão em ambientes hidrofóbicos e a maioria das cadeias laterais dos aminoácidos são hidrofóbicas. Pode-se prever com alto grau de segurança que longas regiões com resíduos hidrofóbicos em uma proteína de membrana formam uma hélice que atravessa a membrana.

Na Figura 1 vemos diferentes maneiras das proteínas associarem-se a membranas plasmáticas, algumas através de α -hélice hidrofóbica.

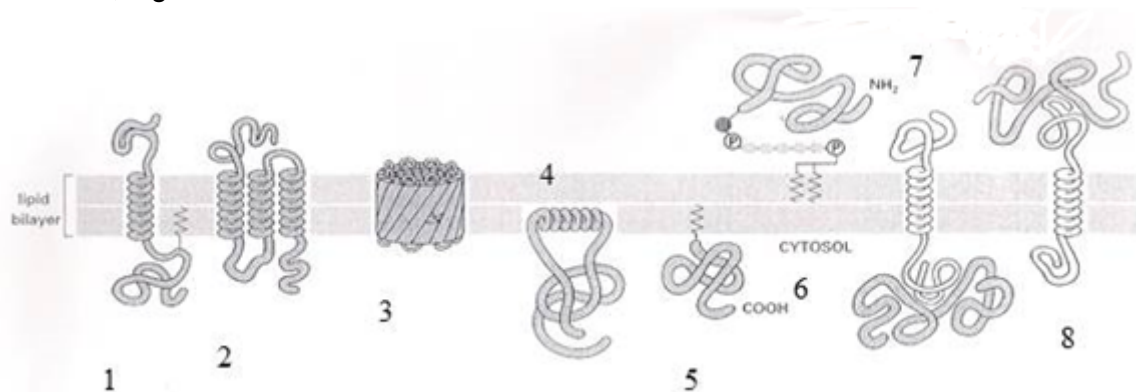


Figura 1 – Vários modos pelos quais as proteínas de membrana associam-se à dupla camada lipídica. Detalhes no texto. As proteínas transmembranares atravessam a dupla camada lipídica como uma única (1) ou múltiplas (2) α -hélices ou ainda como um β -barril (3). As outras proteínas integrantes estão expostas apenas de um lado da membrana, podendo ancorar-se por uma hélice anfipática (4), cadeia de ácido graxo (5) ou via uma cadeia de carboidratos ligada a fosfatidilinositol (âncora glicosil-fosfatidilinositol, ou âncora GPI) (6). Outras proteínas podem se associar a proteínas integrais de membrana (7 e 8). Reproduzido de Alberts et al. (2002).

Cadeias β normalmente têm de 5 a 10 resíduos de aminoácidos no seu comprimento. Elas podem formar folhas β -pregueadas *paralelas*, em que ambas as cadeias vão da região do terminal amino para o terminal carboxila. Alternativamente, as cadeias formam folhas *antiparalelas*, com uma delas orientada do terminal amino para a carboxila e a outra, do carboxila para o amino.

As alças normalmente estão na superfície das proteínas e conectam porções com estrutura secundária (trechos da cadeia em α -hélice ou em folha β) ou domínios (ver adiante). Elas estão expostas ao solvente, sendo ricas em aminoácidos hidrofílicos.

As alças frequentemente participam na formação de sítios de ligação de compostos (por exemplo, o sítio de ligação do antígeno no anticorpo) e de sítios ativos de enzimas. Quando sequências de proteínas homólogas são comparadas, encontram-se inversões (troca de um aminoácido por outro) ou deleções (ausência de um aminoácido na sequência) quase exclusivamente nas alças. O interior da proteína é muito mais estável. Ao contrário do que se poderia supor, conhecendo-se a sequência de aminoácidos, é mais fácil prever regiões de alças

do que regiões em α -hélice ou folha β -pregueada. Quando as alças são longas elas são flexíveis e podem adotar diferentes conformações.

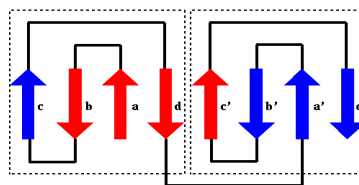
Motivos e domínios

O número de dobramentos possíveis para as proteínas globulares parecia ilimitado. Entretanto, a comparação de várias proteínas com estrutura conhecida mostrou que poucos dobramentos de proteínas são muito peculiares e que várias proteínas não relacionadas podem ter o mesmo dobramento.

Motivos

Motivos são combinações simples de poucos elementos com estrutura secundária (α -hélice e folha β -pregueada), em um arranjo geométrico específico. Eles ocorrem repetidamente como componentes de proteínas globulares, combinam-se de várias maneiras e dão a estrutura terciária de um domínio (porções da cadeia polipeptídica). Alguns motivos têm função específica (tal como ligar DNA), outros não têm função biológica sozinhos, mas são parte de conjuntos maiores e funcionais.

A seguir vemos exemplos de alguns tipos de motivos:



Motivo denominado *chave grega*

Domínios

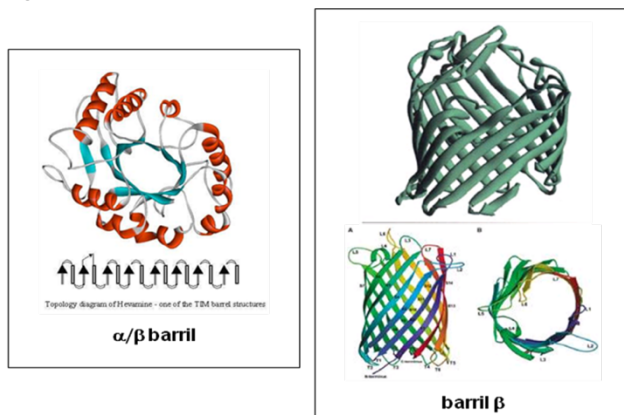
Proteínas com cerca de 200 aminoácidos ou mais frequentemente se dobram formando dois ou mais domínios, que podem ser funcional e estruturalmente diferentes. Cada domínio tem características iguais às de uma proteína globular. Os domínios são ligados entre si por alças sem estrutura definida. Proteólise limitada (hidrólise de poucas ligações peptídicas da proteína) normalmente libera os domínios ativos.

Os domínios são classificados por sua função e por sua estrutura, sendo catalogados mais de 600 domínios diferentes.

Existem domínios α (só contêm α -hélice, como cada subunidade da hemoglobina), domínios que só contêm folhas β -pregueadas (domínios β) e domínios α/β . Os últimos podem ser α/β barris. Cerca de 10% das proteínas com estrutura conhecida têm um α/β barril, sendo esse o domínio mais comum em enzimas. O sítio ativo das enzimas que têm um α/β barril está quase sempre nos bolsos formados pelas alças que ligam o C-terminal das cadeias β às α -hélices sucessivas, circundando a boca do barril. As folhas β -abertas são a estrutura de domínio mais comum em proteínas globulares. Quase todas são enzimas, muitas ligam mono ou dinucleotídeos.

Com a descoberta da existência de motivos e domínios, a ideia que se tinha sobre a composição de proteínas foi alterada. Na verdade, não há um número imenso de formas proteicas que evoluíram para formar proteínas funcionais. Há “blocos de construção” que podem ser intercambiáveis entre diferentes proteínas.

A seguir, exemplos de alguns tipos de barril.



7. Software: Estrutura de Proteínas.

8. Verificar a posição dos grupos polares e apolares dos aminoácidos de uma proteína em solução aquosa.
9. Três proteínas, A, B e C, têm número e composição de aminoácidos semelhantes, com a exceção seguinte: A é particularmente rica em glutamato, B em arginina e C tem conteúdo igual de glutamato e arginina. Que previsão pode ser feita sobre o valor relativo de seus pontos isoelétricos?
10. A clara do ovo, com alto conteúdo da proteína ovoalbumina, muda de aspecto quando fervida. O leite, que contém a proteína caseína, precipita quando tratado com limão ou vinagre. Que interações são afetadas pelos tratamentos? Suas propriedades nutricionais são afetadas pelos tratamentos?
11. Explicar o princípio da purificação de proteínas por *salting out*.
12. As estruturas das proteínas não enzimáticas, queratinas, sedas e colágeno, estão descritas no **Anexo 1 a seguir. A leitura desse Anexo é recomendada.**

ANEXO 1

PROTEÍNAS FIBROSAS

Tendem a formar fibras alongadas. As classes mais conhecidas são as queratinas (que podem ser α ou β queratinas, as sedas e os colágenos).

Queratina

A α -queratina está presente em pele, cabelo, pelos, chifres e cascos de mamíferos, enquanto a β -queratina faz parte de bicos e penas de aves. α -queratinas possuem um heptapeptídio (*a-b-c-d-e-f-g*) que faz uma pseudorrepetição ao longo da cadeia, de modo que os aminoácidos *a* e *d* são sempre hidrofóbicos. Como eles ficam do mesmo lado da hélice, duas cadeias tendem a se associar, formando o que se denomina uma *coiled-coil*. A α -queratina é rica em resíduos de cisteína, que formam pontes de dissulfeto entre hélices adjacentes. Essas hélices ficam embebidas em uma matriz amorfa de proteínas. Elas são classificadas como queratinas moles ou duras de acordo com o conteúdo de pontes de dissulfeto que possuem, o que está relacionado com o número de resíduos

de cisteína. As α -queratinas podem ser estendidas em maior ou menor extensão, também dependendo do conteúdo de cisteína. Quando submetidas a uma tração, as ligações de hidrogênio que mantêm as hélices podem se quebrar e a molécula assume uma conformação mais estendida, em folha β -pregueada. Quando a tensão termina, ela tende a voltar a sua forma original, devido à presença das pontes de dissulfeto.

Sedas

A seda apresenta resistência e grande flexibilidade, mas pouco poder de distensão. As cadeias da seda são compostas principalmente de resíduos de Gly, Ala e Ser, na proporção de 3:2:1, que se repetem na sequência Gly-Ser-Gly-Ala-Gly-Ala. Estas cadeias formam folhas β que correm em sentido antiparalelo, com todas as Gly de um lado da cadeia β e todas as Ser e Ala do outro, sendo bastante ordenadas. As cadeias polipeptídicas da seda são unidas por ligação de hidrogênio em uma dimensão (entre folhas β) e por forças de van der Waals na outra, o que confere grande flexibilidade. Como a conformação β já é estendida, as fibras de seda não se distendem. Em algumas regiões, entretanto, a presença de aminoácidos de cadeia lateral maior (Tyr, Val, Asp e Arg) desordena as fibras e permite uma certa elasticidade. A proporção entre regiões ordenadas e amorfas permite que sedas de diferentes espécies (aranhas, bicho da seda e outros insetos) apresentem propriedades mecânicas diferentes.

Colágeno

Ocorre em todos os organismos multicelulares e é a proteína mais abundante em vertebrados. É uma proteína extracelular que se organiza em fibras insolúveis com alta resistência a tensões, por isso é o principal componente antiestresse dos tecidos conectivos tais como osso, dente, cartilagem, tendão, ligamentos e matrizes fibrosas da pele e vasos. Os mamíferos têm cerca de 33 tipos diferentes de colágeno. O colágeno é uma tripla hélice e tem quase um terço de resíduos de Gly, 15% a 30% de Pro e Hidroxiprolina (Hyp). Hyp, que é sintetizada a partir da prolina por ação da prolil hidroxilase, confere estabilidade ao colágeno, provavelmente através de ligações de hidrogênio intramoleculares, que envolvem ancoragem de moléculas de água.

Cada cadeia do colágeno bovino, que é semelhante a muitos outros colágenos, tem uma sequência que se repete, formada por Gly-X-Y (X e Y representam qualquer aminoácido). Na tripla hélice, cada terceiro resíduo da cadeia passa pelo centro da tripla hélice, sendo que somente a cadeia lateral da Gly cabe nesse local.

A insolubilidade do colágeno em solventes que rompem ligações de hidrogênio e interações iônicas é explicada por ligações covalentes tanto intra quanto intermoleculares. Estas ligações vêm de reações entre as cadeias laterais Lys e His. O grau dessas ligações aumenta com a idade do organismo. Essa é a causa de carnes de animais mais velhos serem mais duras que as de animais mais novos, mas já foi demonstrado que essa não é a causa do envelhecimento.

As fibrilas de colágeno se associam de maneira a refletir a função dos diferentes tecidos. Na pele elas estão dispostas em vários ângulos, podendo essa suportar tensões em duas dimensões. Nos tendões elas estão arranjadas em feixes paralelos, que funcionam como cabos que conectam os músculos e ossos, suportando tração em uma só dimensão. Já na cartilagem, não há um arranjo distinto e ela pode sofrer tensões nas três dimensões.

Há várias doenças genéticas relacionadas a mutações na molécula de colágeno ou no modo como as fibrilas são formadas. Mutações no colágeno tipo I (principal proteína estrutural nos tecidos humanos) levam a osteogênese imperfeita. Mesmo a substituição de um só aminoácido pode ser letal. A substituição de uma Gly central por Ala pode diminuir a temperatura de desnaturação do colágeno de 62 °C para 29 °C. Mesmo que só um dos alelos tenha sofrido a

mutação, ela tende a afetar todas as fibras de colágeno, pois elas serão compostas por várias moléculas de proteína. Colágeno desnaturado pelo calor é conhecido como gelatina.

QUESTÕES PARA DISCUSSÃO

- Problemas 5 e 6 (p. 333) e 9 a 13 (p. 334).

5- Para o tripeptídeo Ala-Lys-Ser

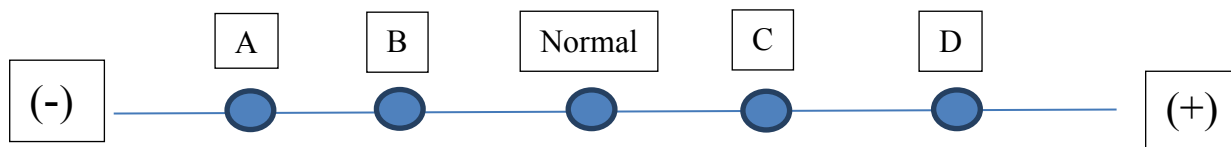
- Classificar os aminoácidos segundo o grupo R.
- Esquematizar as ligações que estes aminoácidos poderiam formar na estrutura terciária de uma proteína.
- Calcular o pI, sabendo que os pK_a da alanina são 2,45 e 9,87; os da Lisina, 2,16; 9,06 e 10,54; e os da serina, 2,19 e 9,21
- Comparar a capacidade tamponante de uma solução 0,1 m deste tripeptídeo com a de uma solução 0,2 M de glicina.

6- Seja o seguinte peptídeo: Glu-His-Leu-Lys

- Em relação aos grupos ionizáveis presentes no peptídeo, preencher o quadro a seguir com o valor de pK_a e a carga (+); (-); (0); (0/-) ou (+/0) que a forma predominante do grupo apresenta nos valores de pH indicados.
- Determinar o pI do peptídeo.

		Carga em pH igual a				
Grupo Ionizável	pK_a	1,0	4,2	6,0	9,7	12

- Em que diferem as pontes de hidrogênio d estrutura secundária e terciária de proteínas globulares?
- Discutir a seguinte afirmação: a estrutura primária de uma proteína determina a sua estrutura terciária.
- Uma mistura contendo citocromo c ($pI=10,6$) e mioglobina ($pI=7,0$) foi submetida a eletroforese, utilizando-se soluções-tampão com os seguintes valores de pH: 3,0; 7,0; 10,6 e 12. Mostrar a migração das proteínas em cada caso.
- A mobilidade eletroforética em pH 8,6 da hemoglobina normal e de hemoglobinas anormais (que diferem da hemoglobina normal por substituição de um aminoácido), está representada a seguir: Identificar a posição (A, B, C ou D) correspondente a cada uma das hemoglobinas anormais:



HbS – Valina no lugar de glutamato
HbJ – Aspartato no lugar de glicina
HbN- Glutamato no lugar de lisina
HbC- Lisina no lugar de glutamato

- Verificar a veracidade das seguintes afirmações:
 - Em valores extremos de pH, uma proteína apresenta menor número de grupos com carga elétrica do que em pH 7.

- b. Uma proteína que apresenta menor solubilidade em pH 9 é rica em aminoácidos básicos.
 - c. Quanto maior a porcentagem de aminoácidos hidrofóbicos presentes em uma proteína, tanto maior será a concentração de sal necessária para precipitá-la
 - d. Uma proteína cujo pI é 4,1 tem mais aminoácidos ácidos do que aminoácidos apolares.
 - e. Aminoácidos que apresentam três pKa participam de interações hidrofóbicas presentes na estrutura terciária das proteínas.
 - f. As pontes de hidrogênio da estrutura β -pregueada de uma proteína são estabelecidas entre os grupos R dos aminoácidos.
 - g. Excluindo os grupos R dos aminoácidos, as regiões em α -helice de proteínas diferentes são idênticas.
 - h. A desnaturação de uma proteína acarreta a perda de sua função.
 - i. Proteínas diferentes podem ser separadas por eletroforese, ainda que esta seja feita em pH diferente dos valores de pI das proteínas da mistura.
 - j. A hemoglobina que tem um glutamato da cadeia β substituído por lisina apresenta um pI maior que o da hemoglobina normal.
 - k. Uma proteína contendo três grupos α -carboxila tem estrutura quaternária.
 - l. O ponto isoelétrico de um dipeptídeo formado apenas por leucina é igual ao da própria leucina.
2. O colágeno possui grande quantidade de hidroxiprolina (Hyp) e hidroxilisina (Hyl). Células alimentadas com Hyp e Hyl marcadas com carbono radioativo (C^{14}) não apresentaram marcação radioativa em proteínas. Entretanto, se alimentadas com Pro e Lys radioativas (C^{14}), o colágeno apresentava a Hyp e Hyl marcadas com C^{14} . Como se explicam estes resultados? Observou-se também que essa incorporação só ocorria na presença de vitamina C. Quais seriam as consequências da deficiência de vitamina C para o homem?
 3. A maioria das proteínas globulares são desnaturadas por uma breve exposição a 65°C, mas algumas delas, com muitas ligações dissulfeto, devem ser aquecidas por mais tempo e a temperaturas mais altas para desnaturarem. Uma dessas proteínas, denominada BPTI, tem apenas 58 aminoácidos numa única cadeia e três pontes dissulfeto. Após a desnaturação térmica e resfriamento da solução, a atividade da BPTI é restaurada. Qual a base molecular dessa propriedade?
 4. Seda, colágeno e queratina são proteínas com características comuns. Descreva as semelhanças e diferenças entre elas.
 5. Questões da Introdução.

Aula 4

HEMOGLOBINA E TAMPONAMENTO DO PLASMA

INTRODUÇÃO

Perto de Nápoles existe uma gruta chamada Gruta do Cão. Nesta gruta os cães não sobrevivem mais do que alguns minutos; os homens, entretanto, não são afetados. A gruta recebe do subsolo um fluxo contínuo de gás de origem vulcânica. Fazer uma hipótese sobre a composição do gás que explique a diferença de efeito da permanência de homens e cães na Gruta do Cão. O que se pode prever sobre o valor do pH plasmático dos cães que permanecem alguns instantes na gruta?

	Densidade (kg.m ⁻³)
Ar	1,27
H ₂	0,08
CO	1,14
N ₂	1,16
O ₂	1,33
CO ₂	1,98

5. OBJETIVOS PARA ESTUDO

6. Ler Capítulo 1- Pag. 9 a 10 (Tampões Biológicos) e Capítulo 3- Pag. 37 a 48.

1. Permanecer em um ambiente com uma concentração anormalmente alta de CO_2 afeta o pH plasmático? Que característica torna o tampão bicarbonato ($\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$) mais eficiente do que outros com mesma concentração e mesmo valor de pK_a ? A retirada de prótons do plasma para manter o pH do estômago em torno de 2 afeta o pH plasmático imediatamente após uma refeição?

2. A hemoglobina liga-se reversivelmente ao oxigênio e nesta propriedade baseia-se uma de suas duas funções fundamentais. O percentual de proteína ligada ao oxigênio depende de algumas variáveis, entre as quais a pressão parcial deste gás (pO_2), como mostra o gráfico da p. 335. O gráfico mostra ainda o percentual de saturação da mioglobina, uma proteína presente na fibra muscular, também capaz de ligar-se ao oxigênio, em função da pO_2 .

2a. Uma solução de hemoglobina, mantida sob pO_2 de 30 Torr, apresentava $\text{pH}=7,4$. Em experimentos separados, foram adicionados HCl e NaOH à solução, até que os valores de pH fossem, respectivamente, 7,2 e 7,6. Em qual dos experimentos houve liberação de O_2 pela hemoglobina?

2b. Uma solução de hemoglobina com $\text{pH } 7,4$ estava submetida à pressão de 100 Torr. Que fenômeno deve ocorrer com a hemoglobina se a pO_2 baixar para 40 Torr?

2c. O pH plasmático nos alvéolos pulmonares ($\text{pO}_2 = 100$ Torr) é 7,45 e no interior dos tecidos, ($\text{pO}_2 = 40$ Torr) é 7,35. Que fenômeno deve ocorrer com a hemoglobina proveniente dos tecidos ao chegar aos pulmões? E com a hemoglobina proveniente dos pulmões ao chegar aos tecidos?

2d. A mioglobina doa ou recebe oxigênio da hemoglobina?

3. Que tipos de interações são responsáveis pela associação das cadeias polipeptídicas da hemoglobina? Há duas incorreções na frase seguinte: o íon Fe^{3+} constitui o grupo prostético da hemoglobina. Quais são? Qual é o número máximo de moléculas de oxigênio transportadas pela hemoglobina?

4. O valor do pH tem algum efeito sobre a afinidade da hemoglobina por oxigênio? E o valor da pressão parcial de oxigênio?

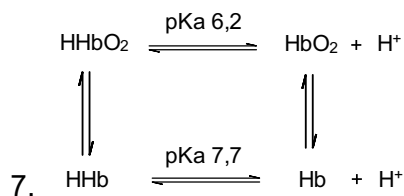
5. O que é cooperatividade? Que tipo de organização estrutural é necessário para que uma proteína apresente cooperatividade?

6. Fazer um esquema da curva de saturação de hemoglobina por oxigênio em função da pO_2 na presença e na ausência de 2,3 bisfosfoglicerato (BPG).

7. A hemoglobina fetal (HbF) é diferente da hemoglobina encontrada nos adultos (HbA). Que previsão pode ser feita sobre a curva de saturação por oxigênio da HbF comparada com a da HbA?

8. Como a maioria das células produz CO_2 continuamente, a tendência do valor de pH no nível dos tecidos é diminuir ou aumentar? E no nível dos alvéolos, onde há eliminação de CO_2 ?

9. A hemoglobina oxigenada pode ser considerada um ácido fraco, com " pK_a " = 6,2 e a hemoglobina desoxigenada, um ácido fraco com " pK_a " = 7,7. A interconversão das formas HHbO_2 e HHb , bem como das formas HbO_2 e Hb , depende da pressão parcial de O_2 .



Indicar, entre as quatro formas possíveis da hemoglobina (HHb, Hb, HHbO₂ e HbO₂),

- 9a. a forma que predomina no sangue que deixa os pulmões;
- 9b. a transformação que se processa nesta forma ao atingir os capilares, onde a concentração de CO₂ é maior e o pH e a pO₂ são menores;
- 9c. a forma predominante que chega aos pulmões;
- 9d. a transformação que se processa nesta forma nos pulmões, onde a concentração de CO₂ é maior do que a atmosférica e a pO₂ atmosférica maior do que a plasmática.
- 9e. A hemoglobina capta ou libera prótons nos tecidos? E nos pulmões?

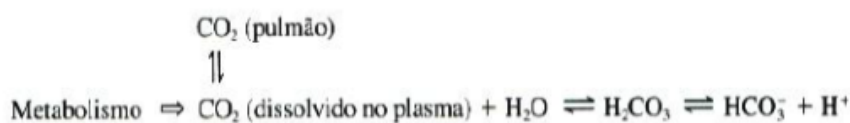
QUESTÕES PARA DISCUSSÃO

1. Problemas 1 (p. 335) e 3 (p. 336).

Pag 335- P1

1-Considerando o esquema seguinte, analisar o pH do plasma nas situações:

- a. Pneumonia (redução da eficiência de trocas gasosas)
- b. Hiperventilação
- c. Diabetes (produção aumentada de ácidos orgânicos)



P3 (p336)- O composto 2,3-bisfosfoglicerato (BPG), presente nas hemácias, diminui acentuadamente a saturação da hemoglobina por oxigênio em torno de pO₂ – 40 torrs, mas tem pouco efeito quando a pO₂ é da ordem de 100 torres. Comparar a concentração de BPG das hemácias de um indivíduo de vida sedentária que vive ao nível do mar, com aquela de um indivíduo

- a. Sedentário, vivendo em La Paz
- b. Esportista, vivendo ao nível do mar.

2. O monóxido de carbono (CO) é um gás muito tóxico por ligar-se à hemoglobina no mesmo sítio em que se liga o oxigênio. A ocupação de 50% desses sítios da hemoglobina com CO constitui uma intoxicação fatal. Entretanto, indivíduos anêmicos que têm apenas 50% da hemoglobina de um indivíduo normal vivem bem. Para explicar este aparente paradoxo, foram sugeridas algumas hipóteses:

- A. A ligação do CO à hemoglobina eliminaria o efeito de cooperatividade observado na ligação da hemoglobina ao oxigênio.
- B. A hemoglobina ligada ao CO teria maior afinidade por oxigênio em altas pO₂.
- C. Além de poder ocupar o sítio de ligação do oxigênio, o CO teria um efeito semelhante ao do 2,3 bisfosfoglicerato (BPG).

Justifique sua concordância ou discordância com relação às hipóteses A, B e C. Se nenhuma delas for satisfatória, proponha uma nova explicação.

3. A eritropoietina (EPO) é um hormônio produzido no rim, para o qual existem receptores na medula óssea. Sua secreção é estimulada pela baixa da pressão parcial de oxigênio e pela diminuição do número de hemácias (causada por hemorragia, por exemplo). A ligação da EPO ao receptor estimula a produção de glóbulos vermelhos. Por que atletas fundistas treinam em cidades situadas em grandes altitudes? Esta estratégia é eficaz para velocistas também?

4. Questão da Introdução.

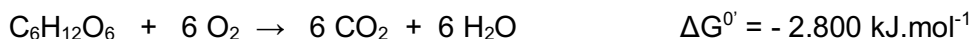
Aula 5

1. ENZIMAS

Ler Capítulo 4- pag. 59 a 88.

INTRODUÇÃO

A reação de oxidação de glicose, mostrada abaixo, é fortemente exergônica:

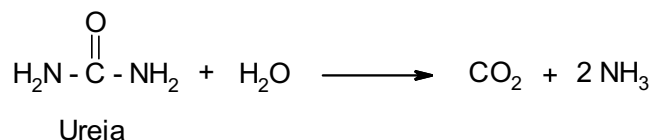


Reação análoga ocorre com a sacarose, o açúcar comum, com valor de ΔG^0 semelhante. Por que o açúcar do açucareiro, que tem contato com o oxigênio do ar, não é convertido em CO_2 e H_2O ?

Enzimas

INTRODUÇÃO

1. A hidrólise da ureia é catalisada pela urease, segundo a seguinte reação:



Para estudar a urease, um estudante preparou uma bateria de tubos, incubou-os a 30 °C por 10 minutos e dosou amônia nos tubos. A composição dos tubos (com volume final de 1 mL) e os resultados das dosagens estão na tabela seguinte.

Tubo	Ureia (mM)	Urease (µg)	NH ₃ (µmols)
1	2,5	0,1	0,21
2	5,0	0,1	0,42
3	10	0,1	0,59
4	15	0,1	0,67
5	25	0,1	0,73
6	50	0,1	0,78
7	100	0,1	0,79
8	200	0,1	0,78
9	200	-	0,00

- Por que não houve formação de NH_3 no tubo 9?
- Por que foi preparado um tubo sem enzima?

- c. Qual foi a velocidade da reação nos tubos 1 e 2? Qual é a relação entre as velocidades de reação nos tubos 1 e 2 e a concentração de ureia?
- d. Qual foi a velocidade de reação nos tubos 5 a 8? Qual é a relação entre as velocidades de reação nesses tubos e a concentração de ureia?
- e. De que dependeu a velocidade de reação neste experimento?
- f. Quais seriam os resultados se as dosagens de amônia fossem feitas após 48 h de incubação?
- g. Que modificações poderiam ser feitas na composição dos tubos para conseguir velocidades maiores do que as que foram medidas?

OBJETIVOS PARA ESTUDO

Ler Capítulo 5.

CINÉTICA ENZIMÁTICA

Para o estudo dirigido contido no item de 1 a 4 estudar o Capítulo 5 do livro Marzocco & Torres

1. Para recordar os conceitos básicos em cinética de reações químicas e catálise, considere a reação de conversão de $A \rightarrow B$, não enzimática.

- 1.1. Fazer o gráfico da concentração de produto $[B]$ x Tempo para a reação.
- 1.2. Definir velocidade de reação. Escrever a equação de velocidade desta reação em função da concentração de A.
- 1.3. Como proceder para medir esta velocidade? Que tempos (iniciais ou finais) devem ser escolhidos para que as medidas de velocidade sejam de fato relacionadas à concentração inicial de A?

2. Cinética de reações químicas catalisadas por enzimas e inibição enzimática:

- 2.1. Descrever as etapas de uma reação catalisada por enzima, considerando E (enzima), S (substrato) e P (produto)
- 2.2. Escrever a equação de velocidade da formação do complexo ES e a equação da velocidade da formação de P a partir de ES.
- 2.3. Qual é a etapa limitante da velocidade de transformação de S em P?
- 2.4. Fazer o gráfico da velocidade da reação $S \rightarrow P$, catalisada enzimaticamente, em função da concentração de S.
- 2.5. Analisando o gráfico do item acima, verificar em cada trecho da curva as concentrações de enzima livre, substrato e complexo ES.
- 2.6. A constante de Michaelis-Menten (K_M) representa a relação entre as constantes de velocidade de formação e degradação do complexo ES: $(k_{-1} + k_2)/k_1$. Baseado nisto, explique porque, na prática, a constante K_M é dada como uma unidade de concentração e não de velocidade.
- 2.7. Analise os dados da tabela abaixo onde uma enzima e três substratos foram incubados juntos.

Solução tampão	Enzima: Hexoquinase	Substratos	Formação de produtos em 10 minutos de reação
50 mM pH 7,4	1 U/ml	1 mM Glicose 1 mM Frutose 10 mM ATP	1 mM Glicose-6-fosfato 0,1 mM Frutose-6-fosfato 1,1 mM ADP

- a) Utilizando os seus conhecimentos sobre K_M , explique a diferença encontrada na quantidade total de Glicose-6-fosfato e Frutose-6-fosfato.
- b) Qual a função do ATP nesta reação?

3. Multimídia: A Cinética da Reação Enzimática

http://www.bdc.ib.unicamp.br/bdc_uploads/materiais/versaoOnline/versaoOnline527_pt/Cinetica_bin/Cinetica.swf

3.1. Ler a introdução e os objetivos

3.1. Realizar o experimento 1, escolher as alternativas de valor e unidade.

3.2. Realizar o experimento 2:

- a) Compare a formação de produto na reação em 10, 20 e 30 min.
- b) Compare a velocidade da reação obtida para estes três tempos de incubação.

3.3. Realizar o experimento 3:

- a) Analise a velocidade de reação na presença das três concentrações oferecidas de inibidor.
- b) Discuta como é possível identificar, através deste gráfico, que a inibição é do tipo não-competitiva.

3.4. Realizar o experimento 4:

- a) Analise a velocidade de reação na presença das três concentrações oferecidas de inibidor.
- b) Discuta como é possível identificar, através deste gráfico, que a inibição é do tipo não-competitiva.

3.5. Classifique as afirmações abaixo como verdadeiras ou falsas:

- () Sempre que o número de moléculas de substrato for maior que o número de moléculas de enzimas, todas as moléculas de enzimas estarão ligadas a uma molécula de substrato
- () A velocidade da reação é proporcional ao tempo da reação.
- () A velocidade da reação é proporcional à concentração de substrato.
- () A velocidade da reação é proporcional à concentração de enzima, desde que a concentração de substrato não seja limitante.
- () A velocidade da reação é proporcional à concentração do complexo enzima-substrato.
- () A quantidade de produto formado depende do tempo da reação.

4. Inibição Enzimática

4. Defina inibidores enzimáticos irreversíveis e reversíveis. Quais aplicações tecnológicas possíveis para inibidores enzimáticos?

4.1. Fazer o gráfico $V_0 \times [S]$ na ausência de inibidor, na presença de duas concentrações de inibidor competitivo e na presença de duas concentrações de inibidor não-competitivo.

4.2. O que o K_i de um inibidor mede?

4.3. Compare quais seriam os valores de K_M e V_{Max} se fosse adicionado inibidor competitivo na concentração de $1 K_i$ na reação? E se fosse adicionado de inibidor não competitivo, também na concentração equivalente a $1 K_i$? Considere duas reações separadas para cada inibidor.

4.4. Como se faz para determinar com precisão o K_M de uma enzima? Faça esse gráfico na ausência de inibidor, na presença de duas concentrações de inibidor competitivo e na presença de duas concentrações de inibidor não-competitivo. -OK

5. Regulação da atividade das enzimas

Para este estudo dirigido estudar o Capítulo 19 do livro Marzocco & Torres (pag. 259-264 na segunda edição)

5.1. Qual a importância da regulação enzimática no metabolismo?

5.2. Caracterizar enzima alostérica. Definir centro alostérico (sítio alostérico) e efetador alostérico positivo e negativo.

- 5.3. Por que a cinética de algumas enzimas alostéricas tem aspecto sigmoidal enquanto as enzimas michaelianas têm cinéticas hiperbólicas?
- 5.4. Definir regulação enzimática por modificação covalente.

6. Exercícios complementares:

1. Em um experimento com concentração constante de enzima e substrato obteve-se 0,001 mmols de produto para um tempo de reação de 20 minutos. Que massa de produto será formada em 10 minutos de incubação?
(A) 0,0005 mmols
(B) 0,0010 mmols
(C) 0,0020 mmols
2. Em um experimento com concentração constante de enzima e substrato obteve-se 0,001 mmols de produto, formados a cada minuto para um tempo de reação de 20 minutos. Qual a velocidade da reação se o tempo de incubação fosse 10 minutos?
(A) 0,0005 mmols/minuto
(B) 0,0010 mmols/minuto
(C) 0,0020 mmols/minuto

7. Questão da Introdução

Atividade de Multimídia: Enzyme

http://www.bdc.ib.unicamp.br/bdc_uploads/materiais/versaoOnline/versaoOnline528_pt/index.html

(selecionar cinética enzimática, animações – ver todas simulações)

http://www.bdc.ib.unicamp.br/bdc_uploads/materiais/versaoOnline/versaoOnline527_pt/Cinetica_bin/Cinetica.swf

Aula 6

OBJETIVOS PARA ESTUDO – ESTRUTURA DE CARBOIDRATOS

Questões para Discussão

1. Um composto apresenta a fórmula geral $C_3(H_2O)_3$. É possível afirmar que se trata de um carboidrato?
2. Quais são os carboidratos que apresentam o menor número de átomos de carbono?
3. A glicose apresenta um grupo funcional aldeído e a frutose, um grupo cetona. A afirmação está correta? Estes compostos são cíclicos ou acíclicos?
4. Um composto é apolar, constituído apenas de carbono e hidrogênio. Trata-se de um lipídio?
5. As hidrólises de amido de amido, glicogênio e celulose produzem o mesmo monômero. Certo ou errado?
6. Quanto maior o número de átomos de carbono de um ácido graxo, mais hidrofóbico é o composto. Certo ou errado?
7. Escrever a fórmula de um composto que apresente as funções amina, ácido e álcool.

Ler Capítulo 6- Pag. 91-93

1. Definir carboidratos.
2. Definir aldoses e cetoses.

3. Uma solução de glicose apresenta poder redutor menor do que uma solução de hexanal de igual concentração. Por quê?
4. Mostrar a diferença estrutural entre as formas α e β de um monossacarídeo.

Aula 7- Lipídios

OBJETIVOS PARA ESTUDO

Ler Cap. 6, Pag. 94 a 102 e Cap. 7, pag. 103 a 108.

1. Definir *ácidos graxos*. Definir ácidos graxos ω -3 e ω -6.
2. Qual o efeito do número de carbonos e do número de insaturações na interação de diferentes cadeias de ácidos graxos?
3. Definir triacilgliceróis (TAG) e glicerofosfolipídios.
4. Quais são as funções dos TAG e dos glicerofosfolipídios?
5. Verificar a estrutura do colesterol e citar compostos dele derivados.
6. Quais as forças que mantêm a estrutura de uma membrana? O que são micelas e lipossomos?
7. Identificar os componentes da estrutura de uma membrana biológica. Descrever o modelo de mosaico fluido.
8. Caracterizar ***transporte ativo e transporte passivo***.
9. **Software de Membranas** – (CD do livro Biochemistry - D. Voet & J.G. Voet).

ALIMENTOS TRANSGÊNICOS

Questões para Estudo

Leia os textos que se seguem a respeito de alimentos transgênicos, destacando os termos que você não compreenda ou de que nunca tenha ouvido falar. Esses termos deverão ser esclarecidos com o auxílio dos professores, monitores e colegas de grupo.

Faça uma lista contendo, na sua opinião, os pontos favoráveis e desfavoráveis ao emprego da tecnologia para produção de alimentos transgênicos.

Para complementar seus estudos, acesse os *sites* recomendados ao final dos textos.

Definição de transgênicos:

Os Transgênicos são organismos que adquiriram características de outro organismo, pelo uso de técnicas modernas de Engenharia Genética. O termo *geneticamente modificado* tem sido utilizado para descrever a aplicação da tecnologia do DNA recombinante para a alteração genética de animais, plantas e microorganismos.

Histórico:

A Genética é uma ciência característica do século XX, pois, a partir de 1900 as Leis de Mendel foram redescobertas e começaram a ser aplicadas. Nos primeiros $\frac{3}{4}$ deste século, a genética mendeliana contribuiu significativamente para a sustentação do crescimento populacional de nosso planeta, produzindo maiores safras de alimentos de origem vegetal, aumentando a produtividade de animais e contribuindo para uma maior longevidade humana. O crescimento acelerado do campo da biotecnologia, entretanto, ocorreu a partir da década de 70 com o desenvolvimento da Engenharia Genética (ou Tecnologia do DNA Recombinante).

A decifração do código genético e a manipulação do DNA neste último quarto de século, aceleraram as descobertas científicas e suas aplicações biotecnológicas, abrindo novas perspectivas econômicas nos campos da saúde humana, sanidade animal e produção de alimentos. Surgiram técnicas biotecnológicas como a produção e pesquisa de plantas e animais transgênicos, clonagem de mamíferos, produção de proteínas humanas em microorganismos, plantas e animais, mapeamento do genoma humano, técnicas de detecções e diagnósticos por PCR e Terapia Gênica.

Tecnologia do DNA recombinante:

A tecnologia do DNA Recombinante permite a transferência do material genético de um organismo para outro. Ao invés de promover o cruzamento entre organismos relacionados para obter uma característica desejada, cientistas podem identificar e inserir no genoma de um determinado organismo um único gene responsável pela característica em particular. O gene artificial ou intencionalmente inserido no genoma de um organismo é denominado *transgene*.

Antes do desenvolvimento desta técnica, a mais utilizada era a do Melhoramento Clássico, na qual a transferência de genes se dava por meio de cruzamentos (reprodução sexuada), misturando todo o conjunto de genes dos dois organismos em combinações aleatórias. A técnica exigia uma enorme demanda de tempo e não era precisa.

A clonagem molecular consiste no isolamento do gene de interesse, amplificação do número de cópias desse gene e introdução do gene em um sistema que possa expressá-lo. O

sistema ou organismo que expressará o gene deve ter a característica principal de ser de fácil cultivo e permitir a purificação e recuperação do produto do gene.

Para a introdução do gene em outro organismo são utilizados *vetores de clonagem* (plasmídeos ou vírus) nos quais a sequência de DNA de interesse é inserida, resultando em um organismo geneticamente modificado (OGM), cuja característica adquirida passa a ser transmitida para as futuras gerações.

Procedimentos para a obtenção de vegetais transgênicos:

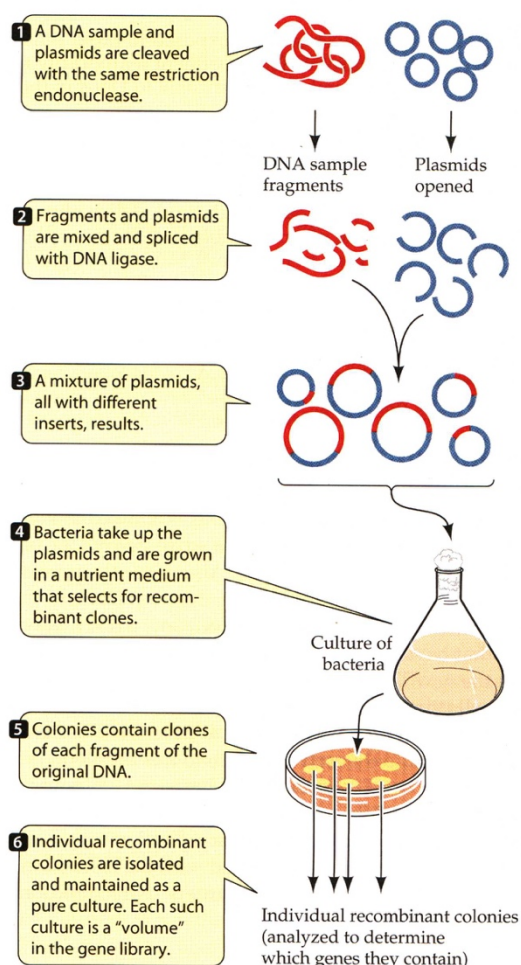
Para obter plantas transgênicas são necessários:

- o gene de interesse;
- uma técnica para transformar células vegetais através da introdução do gene de interesse.
- uma técnica para gerar uma planta inteira a partir de uma só célula transformada.

Após esta última etapa, tem-se uma *planta transgênica*, porque ela contém, além dos genes naturais, um gene adicional proveniente de outro organismo, que pode ser uma planta, uma bactéria ou até um animal.

Genes de Interesse:

O genoma de uma bactéria contém em média 5.000 genes, o de plantas, entre 40.000 e 60.000, enquanto o genoma humano consiste de aproximadamente 30.000 genes. Os genes são segmentos de um mesmo tipo de molécula: o ácido desoxirribonucléico (DNA) e é esta característica que permite que genes de um organismo sejam potencialmente funcionais em outro.



Uma das possibilidades para isolamento de um gene é a construção de uma "biblioteca genômica" e, para isso, o DNA do organismo contendo o gene de interesse é extraído. Em seguida o DNA é cortado em fragmentos menores utilizando as enzimas de restrição. Estes fragmentos são, então, ligados a outros fragmentos de DNA, mas que podem se replicar em bactérias, onde este material é inserido e replicado por várias vezes. Depois, seleciona-se a colônia de bactérias que contém o fragmento de DNA correspondente ao gene de interesse. Diversos genes de interesse agrônômico já foram isolados, entre eles temos:

- ✓ Gene que codifica proteína capaz de modificar herbicidas, inativando-os. Os herbicidas são muito usados no controle de ervas daninhas, entretanto, algumas culturas não sobrevivem à aplicação deste produto. Deste modo, culturas contendo este gene poderiam tornar-se resistentes ao herbicida, facilitando assim o controle das ervas.
- ✓ Gene que codifica uma proteína de alto valor nutricional, presente na castanha-do-pará. Este gene poderia ser usado para aumentar o valor nutricional de culturas importantes como feijão e soja.

- ✓ Genes bacterianos que codificam proteínas com propriedades tóxicas para insetos. Os insetos que se alimentassem de plantas expressando este gene morreriam ou se desenvolveriam com menor eficiência, levando ao seu controle na cultura.

Transferência dos genes de interesse em plantas:

A transferência dos genes se dá diretamente na célula vegetal (processo mais utilizado - especialmente para o caso de monocotiledôneas) ou através de agrobactérias. A transferência é alcançada por um dos métodos seguintes:

A) Eletroporação de protoplastos e células vegetais: Protoplastos são células vegetais, desprovidas de parede celular. Para a transformação, são incubados em soluções que contêm os genes a serem transferidos e, em seguida, um choque elétrico de alta voltagem é aplicado por curtíssimo tempo. O choque causa uma alteração da membrana celular, o que permite a penetração e eventual integração dos genes no genoma.

B) Biobalística: Baseia-se na utilização de microprojéteis de ouro ou tungstênio cobertos com os genes de interesse. Os microprojéteis são acelerados com pólvora ou gás em direção aos alvos (as células vegetais). Os genes entram nas células junto com o projétil de maneira não-letal, inserindo-se aleatoriamente nas organelas celulares. Em seguida, o DNA é dissociado das micropartículas pela ação do líquido celular, ocorrendo o processo de integração do gene exógeno no genoma do organismo a ser modificado.

C) Infecção por *Agrobacterium tumefaciens*: O plasmídeo é uma molécula de DNA extracromossomal que pode se replicar independentemente do cromossomo. O plasmídeo encontrado na bactéria *Agrobacterium tumefaciens* é um dos vetores mais importantes para a transformação de plantas. Parte do plasmídeo é um transposon (T DNA) que produz cópias de si mesmo nos cromossomos da planta infectada. Os transposons são assim denominados (ou também chamados elementos de transposição) justamente porque são elementos genéticos móveis capazes de integrar-se ao genoma do hospedeiro e duplicar-se.

Regeneração das plantas a partir das células transformadas:

Uma vez inserido o gene na célula vegetal, esta célula ou grupos delas são estimuladas a gerar uma planta transformada.

A transformação de uma célula vegetal é um tipo de manipulação genética que atende ao mesmo princípio da transformação de microrganismos, estabelecido pela primeira vez em 1973, quando Stanley e Cohen, em São Francisco, introduziram o gene proveniente de uma rã em uma bactéria. No entanto, há diferenças conceituais entre a situação com microrganismos e com plantas: nos primeiros, os objetivos finais são mudanças operadas no nível celular, enquanto que em eucariotos superiores, como plantas e animais, as mudanças obtidas no nível celular não são significativas, a não ser que possam ser transferidas para todas as células do organismo. Ou seja, o domínio das técnicas de regeneração de plantas inteiras a partir de uma única célula é condição *sine qua non* na biotecnologia aplicada para a agricultura. E, como cada espécie de planta tem diferentes exigências hormonais, nutricionais e ambientais para a regeneração, esta etapa ainda representa o maior gargalo na criação de plantas transgênicas, embora esta técnica já esteja estabelecida para inúmeras plantas de interesse econômico.

Papel dos transgênicos na economia mundial:

O século passado teve um grande desenvolvimento na biotecnologia microbiana. Neste século, é esperado um rápido desenvolvimento na biotecnologia animal e vegetal. A produção direta de trigo rico em lisina é uma das pesquisas em desenvolvimento e deverá resultar em um produto mais economicamente viável que o enriquecimento do trigo com a lisina obtida de microrganismos.

A modificação genética de microrganismos continua sendo uma importante complementação para as modificações genéticas de plantas e animais, especialmente para a produção de metabólitos secundários, biofertilizantes e biopesticidas, bioprocessamento, biorremediação e tratamento de águas. De acordo com uma pesquisa sobre a expectativa de comercialização de produtos obtidos de organismos geneticamente modificados nos E.U.A., a agricultura tem um grande potencial de crescimento e uma forte posição nas vendas em volume.

Já existem sementes manipuladas sendo cultivadas no mundo em uma área de 30 milhões de hectares e seu mercado deverá movimentar cerca de US\$ 3 bilhões. No Brasil, muitos alimentos transgênicos importados já são comercializados e estima-se a importação de 3 milhões de toneladas de milho da Argentina e dos E.U.A, onde as lavouras transgênicas são permitidas oficialmente.

Na década de 90, os E.U.A aprovaram dezenas de produtos geneticamente modificados e outra grande quantidade apareceu no mercado europeu. O ritmo atual de liberação de OGMs indica que na primeira década deste século já teremos uma centena de produtos geneticamente modificados nas prateleiras dos supermercados, podendo-se chegar na casa dos milhares em algumas décadas.

Vegetais geneticamente modificados:

A maioria dos produtos já liberados para a comercialização contém transgenes que codificam características que visam minimizar estresses ambientais, incluindo tolerância a herbicidas, resistência a insetos e vírus. No entanto, as características que visam aumentar a qualidade nutricional dos alimentos vêm se tornando progressivamente mais importantes e deverão prevalecer nas próximas gerações de produtos transgênicos.

É essencial melhorar a produção e a distribuição de gêneros alimentícios para livrar da fome uma população mundial crescente, enquanto reduzimos os impactos ambientais. Para isso, é necessário utilizar de forma adequada e responsável as novas tecnologias e descobertas científicas.

Alimentos produzidos através de tecnologias de modificação genética podem ser mais nutritivos, estáveis quando armazenados e, em princípio, podem promover saúde trazendo benefícios para consumidores, seja em nações industrializadas ou em desenvolvimento.

Esforços em conjunto, organizados, devem ser feitos para investigar os efeitos potenciais no meio ambiente (positivos ou negativos) dos vegetais transgênicos em suas aplicações específicas. Esses esforços devem ser avaliados tomando-se como referência os efeitos de tecnologias convencionais da agricultura, que estejam atualmente em uso.

Benefícios promovidos pelos transgênicos na agricultura:

A tecnologia dos transgênicos tem sido utilizada para produzir uma variedade de plantas para alimentação, principalmente com características preferidas pelo mercado, algumas tendo se tornado sucessos comerciais. Os desenvolvimentos resultantes em variedades comercialmente produzidas em países como EUA e Canadá têm se centralizado no aumento de vida em prateleiras de frutas e vegetais, dando resistência contra pragas de insetos ou viroses, e produzindo tolerância a determinados herbicidas. Enquanto essas características têm trazido benefícios aos agricultores, os consumidores dificilmente notaram qualquer benefício além de, em casos limitados, um decréscimo no preço devido a custos reduzidos e aumento da facilidade de produção (University of Illinois, 1999; Falck-Zepeda *et al* 1999).

A seguir são apresentados alguns exemplos do uso da tecnologia da modificação genética de vegetais aplicada a alguns problemas específicos da agricultura:

Resistência a pragas: a papaia resistente ao vírus *Ringspot* tem sido comercializada e plantada no Havaí desde 1996 (Gonsalves, 1998). É resultado do uso de modificação genética em vegetais visando obter maior resistência a uma praga específica, com conseqüente diminuição ou eliminação da necessidade do uso de pesticidas. Porém, deve-se considerar o fato de que populações de pragas ou organismos causadores de doenças podem vir a se adaptar à planta transgênica, como acontece com o uso de inseticidas.

Colheitas mais abundantes: Algumas pesquisas envolvem a produção de alimentos de alto rendimento como, por exemplo, o trigo semi-anão que possui genes insensíveis à giberelina. A introdução desses genes faz com que se obtenha uma planta mais baixa, mais forte e que aumenta o rendimento da safra diretamente, uma vez que o alongamento das células na parte vegetativa é reduzido, e o desenvolvimento da sua parte reprodutiva (comestível) é aumentado. Estes genes (NORIN 10) agem da mesma forma quando utilizados para transformar outras espécies de plantas importantes como alimento.

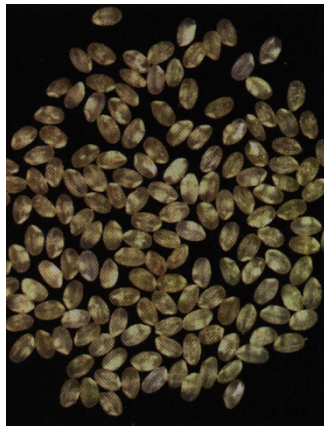
Tolerância a pressões bióticas e abióticas: O desenvolvimento de plantações que tenham uma resistência inata ao *stress* biótico ou abiótico ajudaria a estabilizar a produção anual. Como exemplo, temos o vírus Mottle Amarelo do arroz (RYMV), que devasta os arrozais africanos. Após o fracasso dos métodos convencionais de cruzamentos entre o arroz selvagem e cultivado, os pesquisadores utilizaram uma técnica de imunização genética, através da criação de plantas de arroz transgênico resistentes ao RYMV. Um exemplo de combate ao *stress* abiótico é a produção de ácido cítrico nas raízes e a melhor tolerância ao alumínio em solos ácidos (de La Fuente *et al* 1997).

Uso de terras marginalizadas: Solos com elevados índices de salinidade e alcalinidade podem ser utilizados caso se consiga obter um transgênico que tenha resistência a essas condições. Como exemplo, temos um gene de tolerância em manguezais (*Avicennia marina*) que foi clonado e transferido para outras plantas que se mostraram mais tolerantes a altas concentrações de sal. Segundo a revista *Nature Biotechnology*, graças à injeção de um único gene capaz de absorver um excedente de sal em plantações de tomate, cientistas conseguiram fazer crescer e desenvolver em água contendo forte teor de sódio, tomates perfeitamente comestíveis. O gene introduzido atua sobre uma proteína como um filtro capaz de captar e isolar o sódio excedente.

Benefícios nutricionais: Já foi desenvolvido o arroz transgênico com elevados níveis de ferro, de forma a combater a anemia. Ele foi produzido usando-se genes envolvidos na produção de proteínas capazes de ligar o ferro e de uma enzima que facilita a disponibilidade de ferro na dieta humana (Goto *et al*, 1999). As plantas transgênicas contêm entre 2 e 4 vezes mais ferro do que normalmente encontrado no arroz convencional.



arroz normal



arroz transgênico

Pesquisadores desenvolveram arroz com alto teor de beta-caroteno, precursor da vitamina A, que ajuda a combater diversas doenças, como a cegueira noturna, ressecamento da córnea, diarreias e sarampo. Foram inseridos genes de bactérias que fazem a conversão do precursor presente no arroz em beta-caroteno. O resultado desse experimento foi a produção de grãos amarelados de arroz, devido à presença de beta-caroteno. Cerca de 300 g desse arroz cozido por dia suprem as necessidades de beta-caroteno de um indivíduo.

Referências

- Lewin, B. (1994) *Genes*. 1ed. New Yourk, Oxford University Press.
- Okamuro, J.K. & Goldberg, R.B. (1989) *The Biology of Plants*. Academic Press Inc.
- Purves, W.K.; Sadava, D.; Orians, G.H. & Heller, H.C. (2001) *Life – the science of Biology*. 6th. Ed. Sinauer Associates, Inc & W.H. Freeman and Company.
- Zaha, A. (Coord.) (1996) *Biologia Molecular Básica*, Porto Alegre, Mercado Aberto.

Polêmica sobre os Alimentos Transgênicos

Posicionamento do Conselho Nacional de Nutricionistas:

www.cfn.org.br/variavel/destaque/pgdestaque2.htm

Conselho Nacional de Biossegurança: www.ctnbio.gov.br/ctnbio/bio/artigos/004.htm

Artigo da revista Ciência Hoje com link para arquivo pdf.:

www.uol.com.br/cienciahoje/ch/ch146.htm

Posicionamento da SBBq: <http://www.sbbq.org.br/start.php?id=port>

Questões para Discussão

Cada sala deve ser organizada em dois grandes grupos – pró e contra. Será iniciado um debate em que o grupo pró deverá utilizar argumentos que justifiquem a produção e o consumo de alimentos transgênicos; o grupo contra deverá utilizar argumentos que condenem os transgênicos. Em ambos os casos os argumentos devem ser os mais variados possíveis, envolvendo tópicos como impacto ambiental, aumento da produtividade, agroeconomia, redução do custo ou aumento do preço dos alimentos, benefício para a saúde etc. O debate não deve, portanto, ser limitado a aspectos nutricionais.

Utilize sua lista, redigida nas “questões para estudo” para auxiliar o debate.

Em cada sala haverá um professor para mediar o debate e esclarecer as regras da atividade.