

## Exercícios estrutura de proteínas

1) Assinale verdadeiro ou falso:

- a. A estrutura terciária de uma proteína é determinada majoritariamente por ligações covalentes
- b. As ligações de hidrogênio não são essenciais para a estrutura secundária de proteínas
- c. As cadeias laterais dos aminoácidos participam das ligações hidrogênio intramoleculares da alfa-hélice
- d. A estrutura primária é importante na determinação da estrutura espacial (terciária) da proteína.
- e. A ponte dissulfeto é um tipo de ligação fraca.
- f. Na folha-beta as cadeias laterais dos aminoácidos se encontram alternadamente para cima e para baixo do plano da folha.
- g. Na folha-beta as pontes de hidrogênio entre a carbonila e a amina da ligação peptídica ocorrem lateralmente.
- h. Na alfa-hélice as pontes de hidrogênio entre a carbonila e a amina da ligação peptídica ocorrem entre resíduos de aminoácidos consecutivos.

2) Há duas estruturas secundárias principais:  $\alpha$ -hélice e folha  $\beta$  pregueada, que são estruturas organizacionais regulares e repetitivas.

a- Descreva brevemente como são estas estruturas.

b- Qual a posição relativa dos grupos R em cada uma delas

c – Por que poli lisina não poderia formar  $\alpha$ -hélice em pH 7? Em qual pH poderia formar essa estrutura e por qual motivo?

3) Explique brevemente as características de proteínas globulares e fibrosas.

4) Duas proteínas, apesar de terem diferenças quanto a alguns de seus aminoácidos, são capazes de desempenhar a mesma função. Explique como isto é possível.

5) O que é um grupo prostético? Cite dois exemplos de proteínas que o contenham e quais são eles.

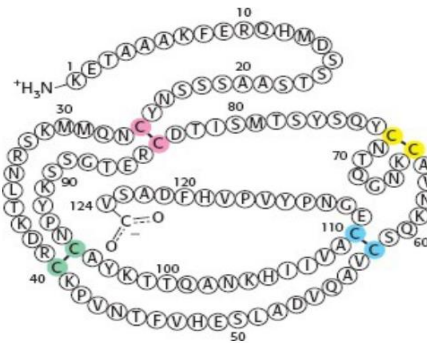
6) Leia o texto ao fim dessa lista para responder essa questão. Descreva brevemente a experiência clássica de Anfinsen com a enzima ribonuclease A, indicando sua conclusão principal. Qual o papel das pontes de dissulfeto na manutenção da estrutura nativa (terciária) da ribonuclease? Conceitue estrutura nativa e desnaturação de proteínas, explicando o que isso tem a ver com a atividade enzimática da ribonuclease.

**Texto para questão 6 na próxima página**

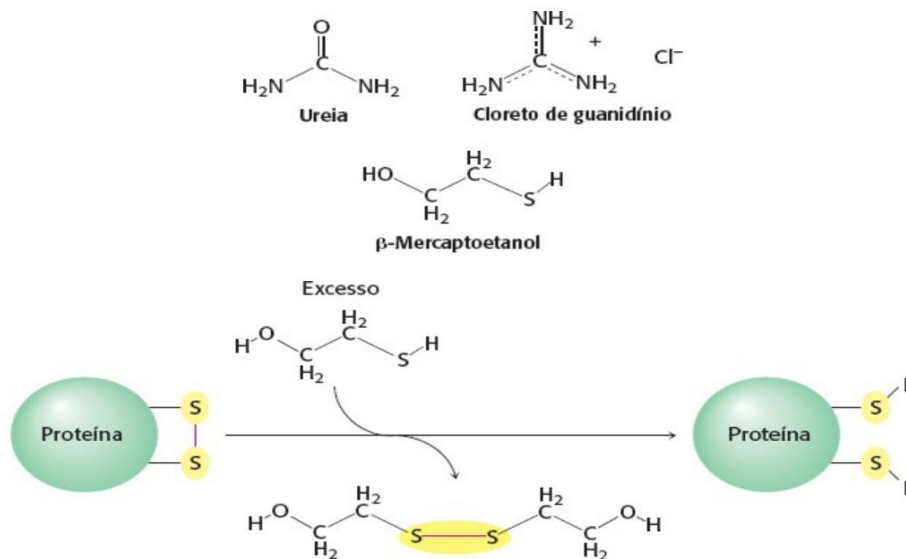
## 2.6 A sequência de aminoácidos de uma proteína determina sua estrutura tridimensional

Como é obtida a elaborada estrutura tridimensional das proteínas? O trabalho clássico de Christian Anfinsen nos anos de 1950 sobre a enzima ribonuclease revelou a relação entre a sequência de aminoácidos de uma proteína e sua conformação. A ribonuclease é uma cadeia polipeptídica única constituída por 124 resíduos de aminoácidos entrecruzados por quatro pontes dissulfeto (Figura 2.51). A ideia de Anfinsen era destruir a estrutura tridimensional da enzima e então determinar quais as condições necessárias para restaurar a estrutura.

Compostos como a ureia ou cloreto de guanidínio são eficazes em quebrar as ligações não covalentes das proteínas. Embora o mecanismo de ação destes compostos não seja completamente compreendido, simulações em computador sugerem que eles substituem água como na solvatação da proteína e então são capazes de romper as interações van der Waals que estabilizam a estrutura proteica. As pontes dissulfeto podem ser quebradas de maneira reversível por meio de sua redução com um composto como  $\beta$ -mercaptoetanol (Figura 2.52). Na presença de grandes quantidades de  $\beta$ -mercaptoetanol, os dissulfetos (cistinas) são completamente convertidos a sulfidrilas (cisteínas).

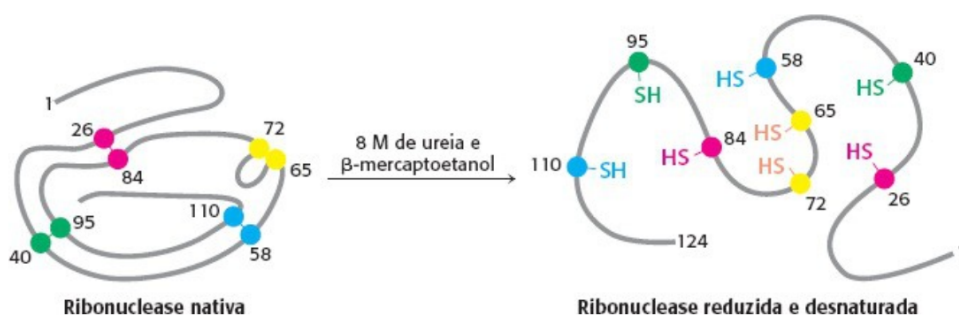


**Figura 2.51 Sequência de aminoácidos da ribonuclease bovina.** As quatro pontes dissulfeto estão destacas em cores. [Segundo C. H. W. Hirs, S. Moore e W. H. Stein, *J. Biol. Chem.* 235:633-647, 1960.]



**Figura 2.52 Papel do  $\beta$ -mercaptoetanol na redução das pontes dissulfeto.** Observe que, à medida que os dissulfetos são reduzidos, o  $\beta$ -mercaptoetanol é oxidado e forma dímeros.

A maioria das cadeias polipeptídicas isentas de interligações adquire uma *conformação aleatória* em ureia a 8 M ou cloreto de guanidínio a 6 M. Quando a ribonuclease foi tratada com  $\beta$ -mercaptoetanol em 8 M de ureia, o produto foi uma cadeia polipeptídica completamente reduzida que adquiriu uma conformação aleatória e *sem atividade enzimática*. Quando uma proteína é convertida em um peptídio de conformação aleatória sem sua atividade normal, ela é considerada *desnaturada* (Figura 2.53).



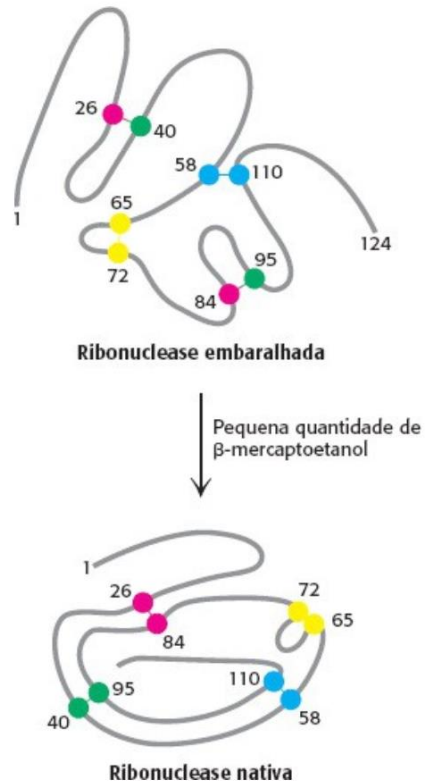
**Figura 2.53** Redução e desnaturação da ribonuclease.

Anfinsen observou então que, livrando-se da ureia e do  $\beta$ -mercaptoetanol, por diálise, a ribonuclease desnaturada lentamente readquiria sua atividade enzimática. Ele imediatamente percebeu o significado desta descoberta ao acaso: os grupos sulfidrílica da enzima desnaturada se oxidaram com o ar e a enzima espontaneamente se reestruturou em uma forma catalítica ativa. Pesquisas detalhadas mostraram então que quase toda a atividade enzimática original da enzima era restaurada se os grupos sulfidrílica fossem oxidados em condições adequadas. Todas as propriedades físico-químicas mensuradas da enzima reestruturada eram praticamente idênticas às da enzima nativa. Estes experimentos mostraram que *a informação necessária para especificar a estrutura cataliticamente ativa da ribonuclease está contida em sua sequência de aminoácidos*. Estudos subsequentes estabeleceram a generalidade deste princípio central da bioquímica: *a sequência específica a conformação*. A dependência da conformação na sequência é especialmente significativa por conta da íntima relação entre conformação e função.

Um resultado bem diferente foi obtido quando a ribonuclease reduzida foi reoxidada enquanto ainda se encontrava em 8 M de ureia e a solução foi então dialisada para a remoção da ureia. A ribonuclease reoxidada desta forma tinha apenas 1% da atividade enzimática da proteína nativa. Por que resultados tão diferentes foram obtidos quando a ribonuclease reduzida foi reoxidada na presença ou na ausência de ureia? A razão desta diferença é que os dissulfetos estabeleceram pares errados em meio à ureia. Há 105 maneiras diferentes de as oito moléculas de cisteína parearem para formar os quatro dissulfetos; apenas uma destas combinações é enzimaticamente ativa. As enzimas com os 104 pareamentos errados foram pitorescamente chamadas de ribonucleases “embaralhadas”. Anfinsen descobriu que a ribonuclease embaralhada se convertia espontaneamente em ribonuclease nativa, completamente ativa, quando pequenas quantidades de  $\beta$ -mercaptoetanol eram adicionadas a uma solução aquosa da proteína (Figura 2.54). O  $\beta$ -mercaptoetanol adicionado catalisava a reorganização do pareamento de dissulfetos até que a estrutura nativa era obtida em cerca de 10 h. *Este processo era dirigido pela queda de energia livre, à medida que as conformações*

*embaralhadas eram convertidas nas conformações estáveis, nativas, da enzima.* Os pareamentos nativos de dissulfetos da ribonuclease contribuem então para a estabilização da estrutura termodinamicamente preferida.

Experimentos semelhantes de renaturação foram realizados com muitas outras proteínas. Em muitos casos, a estrutura nativa pode ser gerada dadas as condições apropriadas. Para outras proteínas, no entanto, a renaturação não ocorre de maneira eficiente. Nestes casos, as moléculas da proteína desnaturada ficam emaranhadas umas às outras e formam agregados. Dentro das células, proteínas chamadas *chaperonas* bloqueiam tais interações indevidas. Além disso, está agora evidente que algumas proteínas não adquirem uma estrutura definida até que interajam com parceiros moleculares, como veremos em breve.



**Figura 2.54 Restabelecendo o pareamento dissulfeto correto.** A ribonuclease nativa pode ser reformada a partir da ribonuclease embaralhada na presença de pequenas quantidades de  $\beta$ -mercaptoetanol.