

A **função** das proteínas quase sempre depende da interação com outras moléculas

A **função** das proteínas fibrosas como elementos estruturais de células e tecidos depende de interações entre cadeias polipeptídicas idênticas.

A **função** de outras proteínas está relacionada com a interação de uma variedade de moléculas diferentes.

Proteínas com outros componentes

- Proteínas conjugadas: outros componentes químicos além dos aminoácidos.
- Grupo prostético: a porção não aminoácido das proteínas conjugadas

table 5-4

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

A função de muitas proteínas depende da ligação reversível de outras moléculas

Ligante = molécula que se liga reversivelmente na proteína

Sítio de ligação = local de ligação do ligante na proteína. Complementar ao ligante em tamanho, formato, carga, hidrofobicidade, etc.

Proteínas que ligam oxigênio

O **oxigênio** é pouco solúvel em soluções aquosas.

Não é transportado de forma eficiente para os tecidos simplesmente solubilizado no soro sanguíneo.

A evolução de organismos multicelulares dependeu da evolução de proteínas que estocam e transportam o oxigênio.

Metais de transição como ferro têm forte tendência
para ligar oxigênio

Heme

Grupo prostético

Ferro ligado no estado Fe^{+2}

Quando o oxigênio se liga as propriedades eletrônicas do ferro no heme mudam e isso leva à mudança de cor

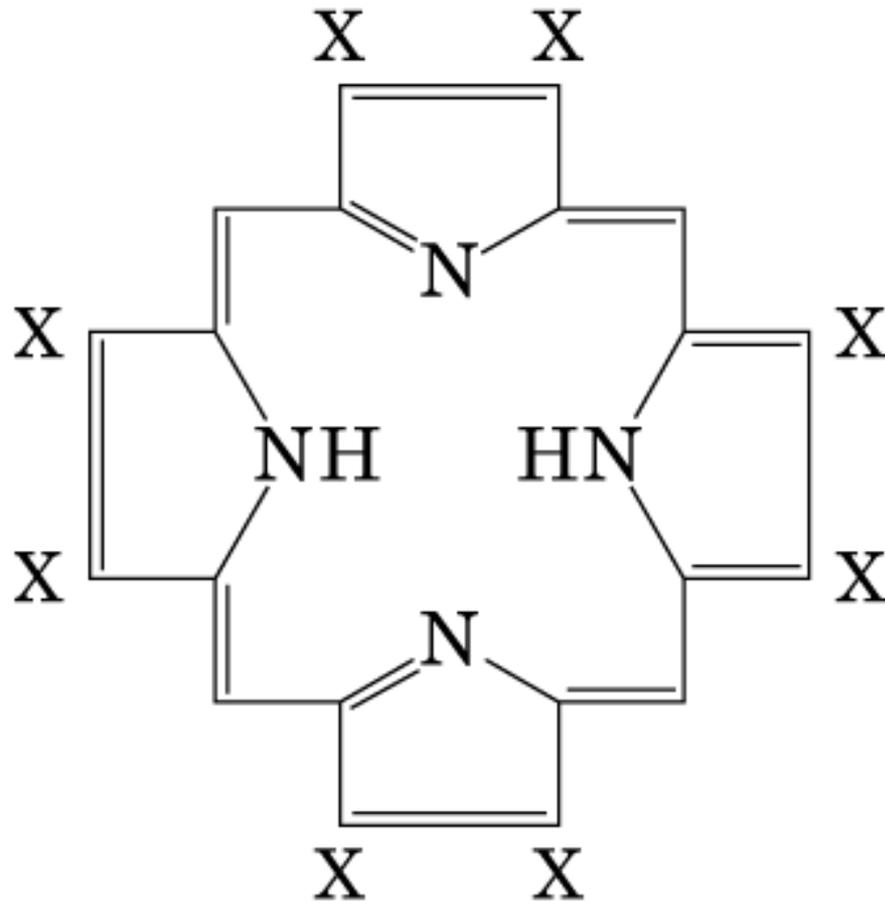
.

Sangue arterial- vermelho forte –rico em oxigênio

Sangue venoso- púrpura-escuro-pobre em oxigênio

Se o Fe^{2+} se oxidar a Fe^{3+} não liga oxigênio. Forma responsável pela cor marrom de carne velha e sangue seco

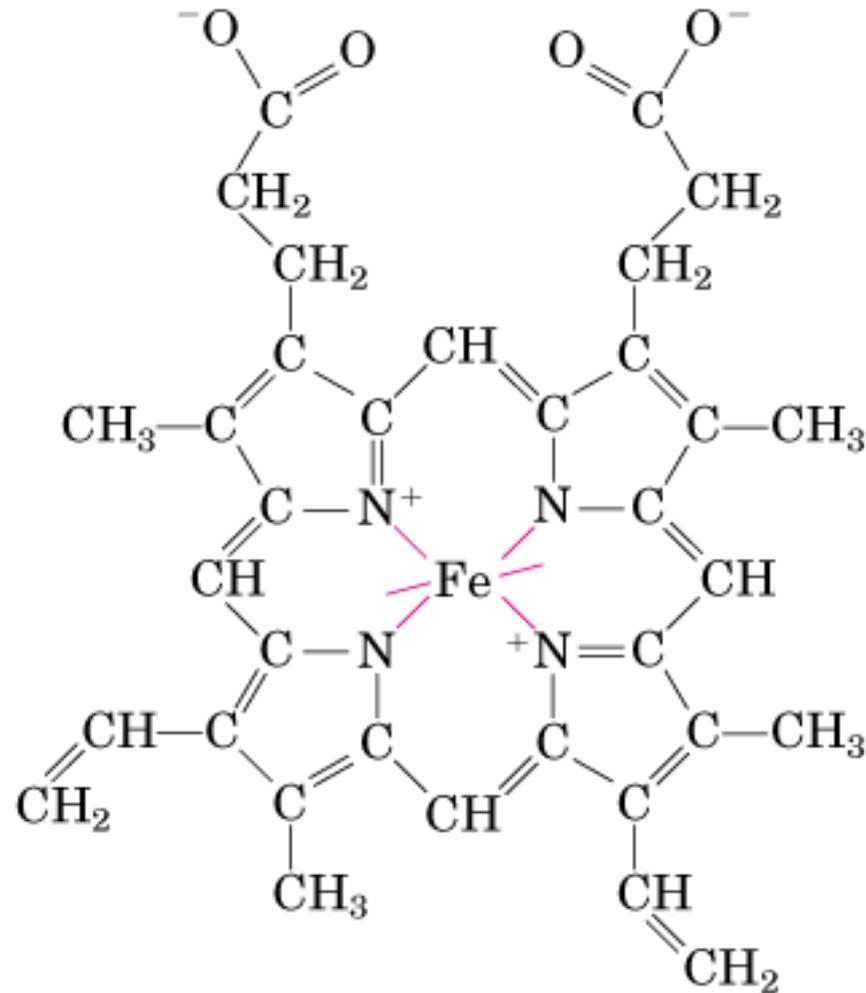
- Além do oxigênio, outras moléculas pequenas como CO, NO e H₂S podem ligar-se aos grupos heme.
- Tais compostos ligam-se com afinidade muito maior que o oxigênio.
- A afinidade do CO pela hemoglobina é 200 vezes maior do que a do Oxigênio



(a)

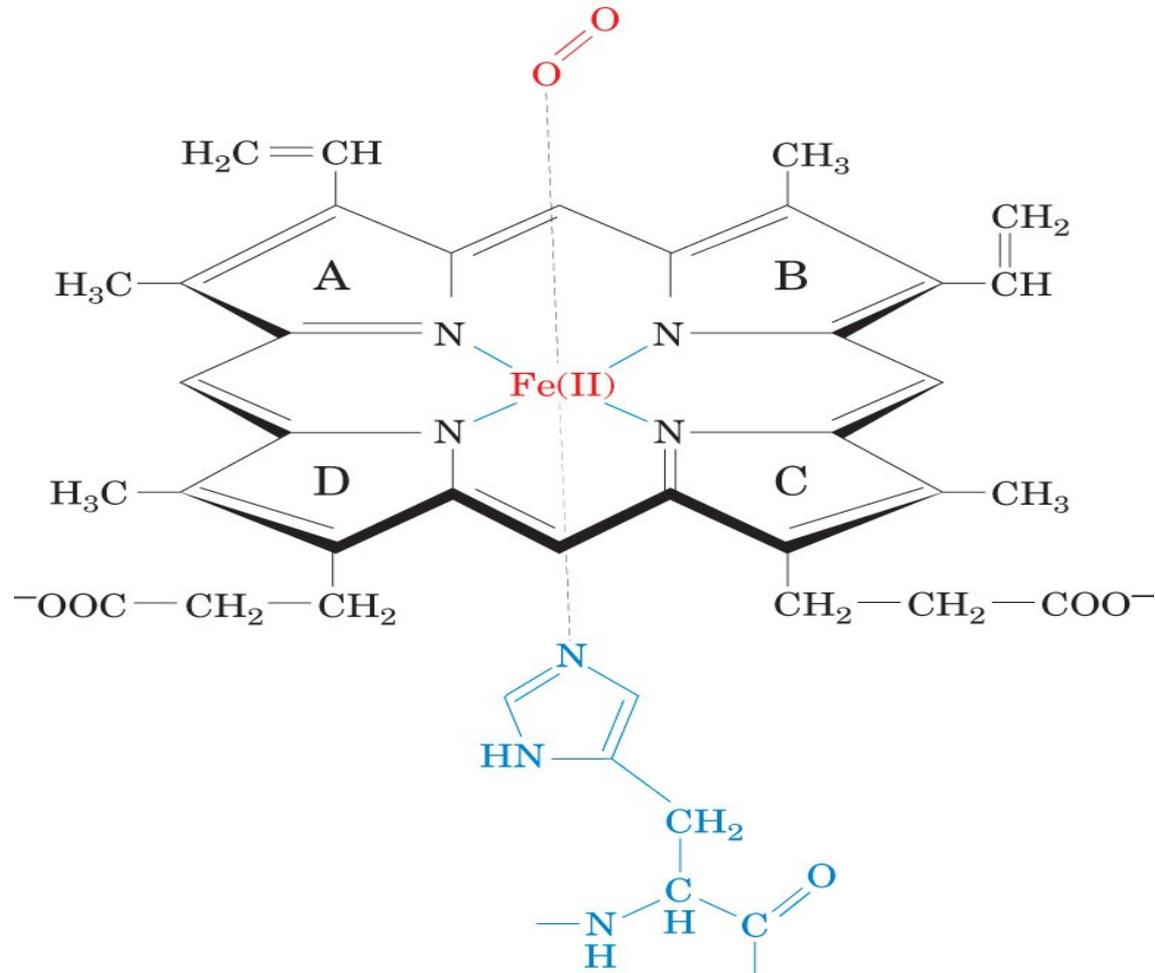
Porfirina: 4 anéis tetrapirrólicos ligados por ponte meteno

Heme

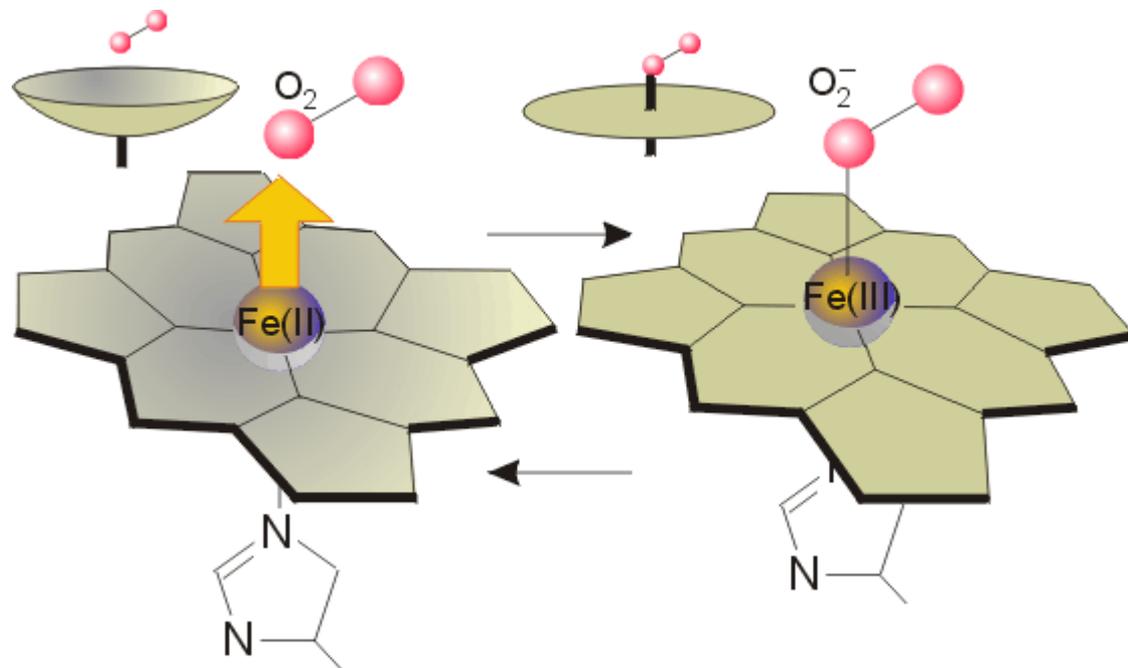


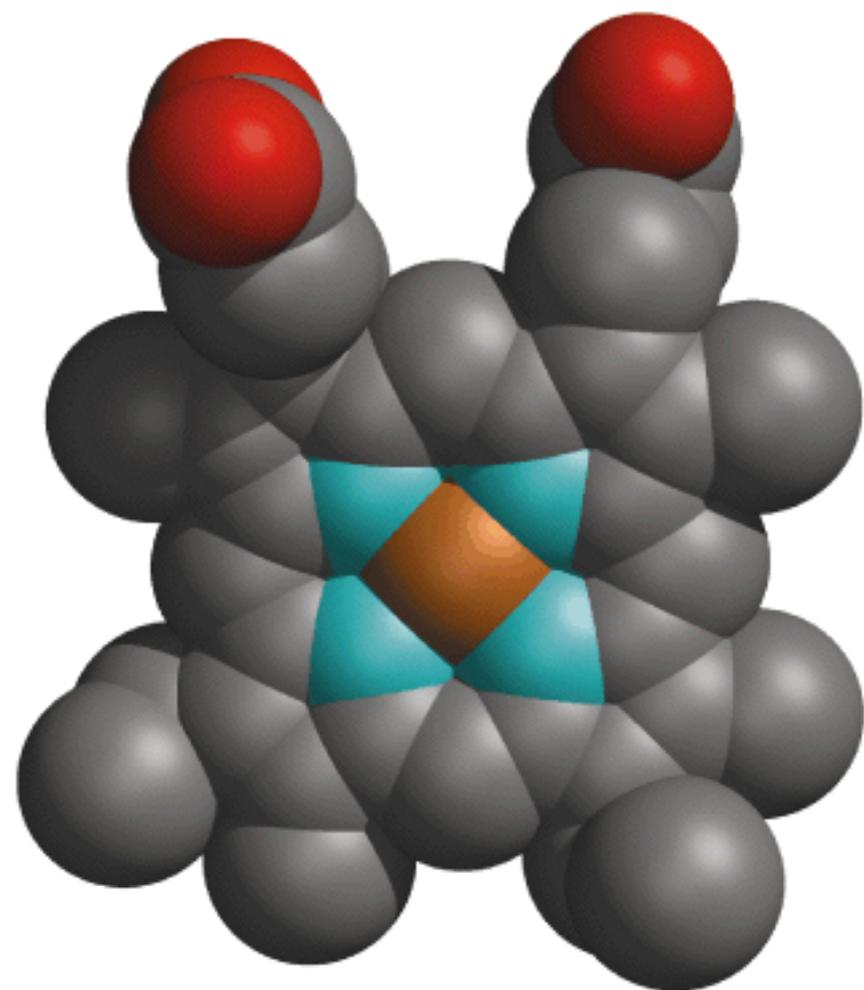
(b)

Protoporfirina IX (outras porfirina variam nos substituintes ligados ao anel) com ferro ligado

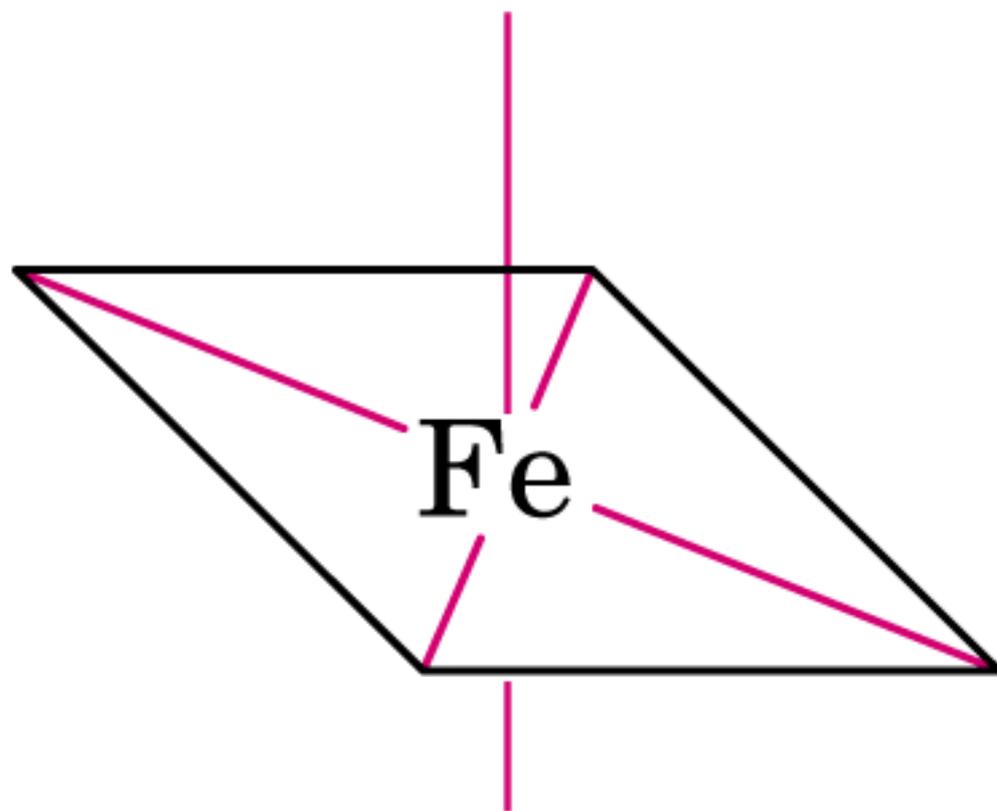


O ferro está ligado a 4 átomos de nitrogênio do anel , a uma cadeia Lateral de histidina e quando presente, ao oxigênio



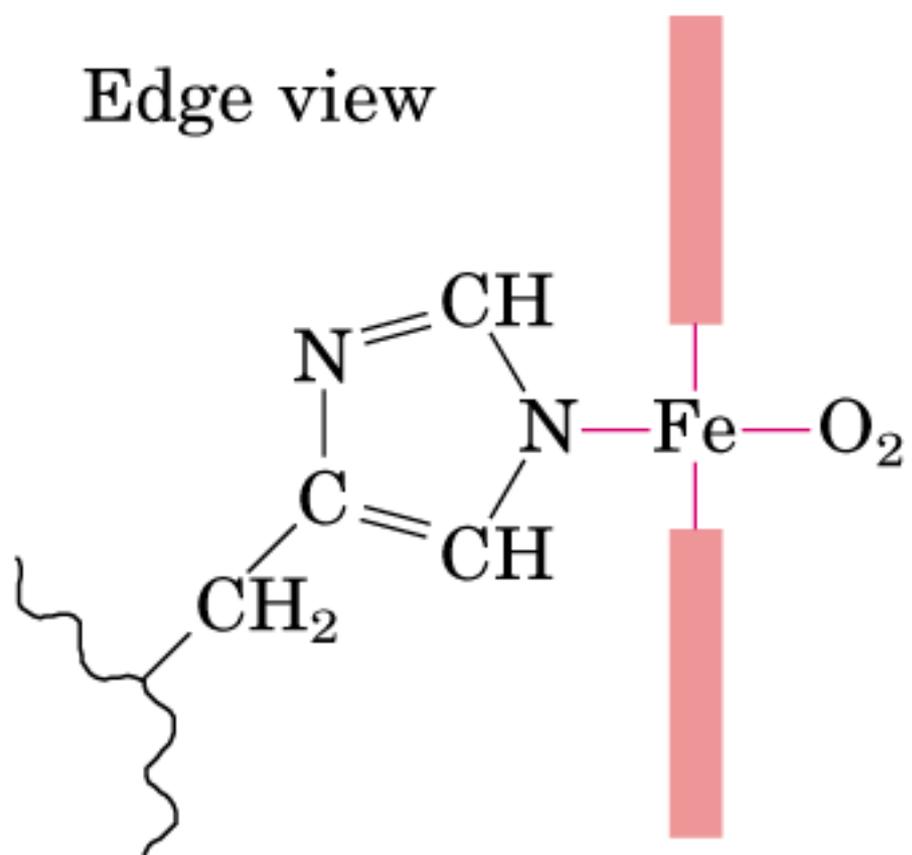


(c)



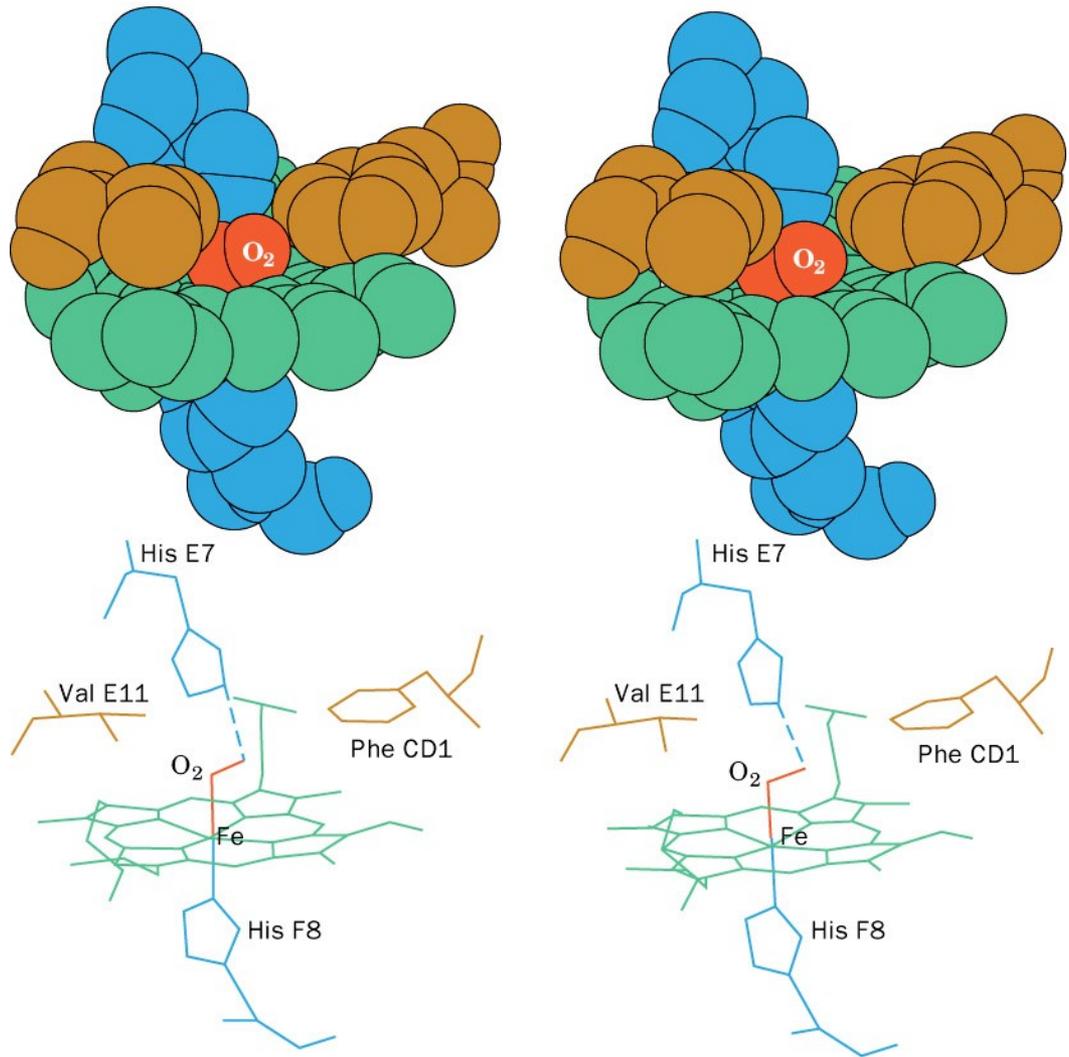
(d)

Edge view

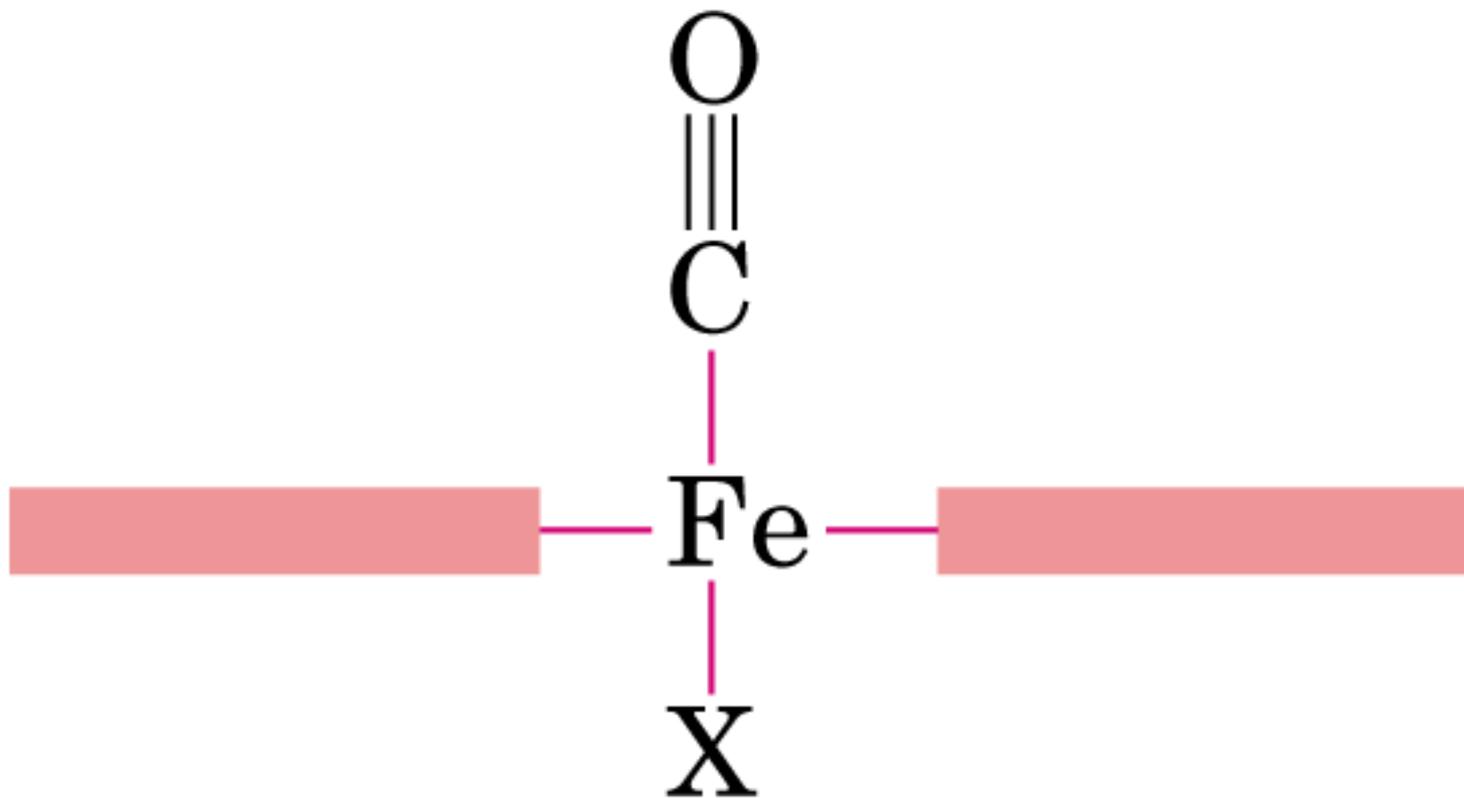


Histidine
residue

Plane of
porphyrin
ring system



Ponte de hidrogênio entre a His E7 e o oxigênio

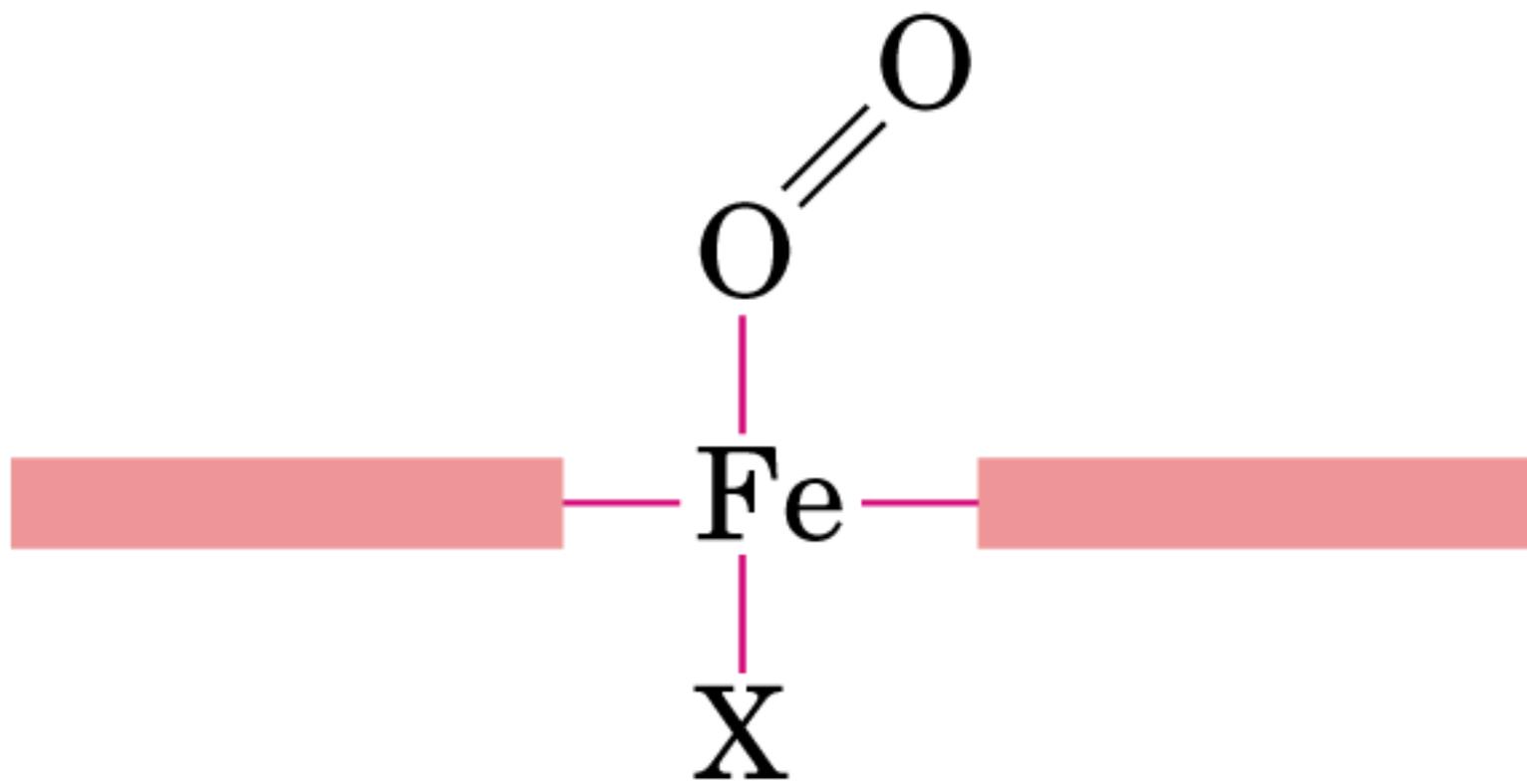


(b)

Quando liga CO, por impedimento estérico fica em um ângulo

perpendicular, isso enfraquece a ligação do CO na

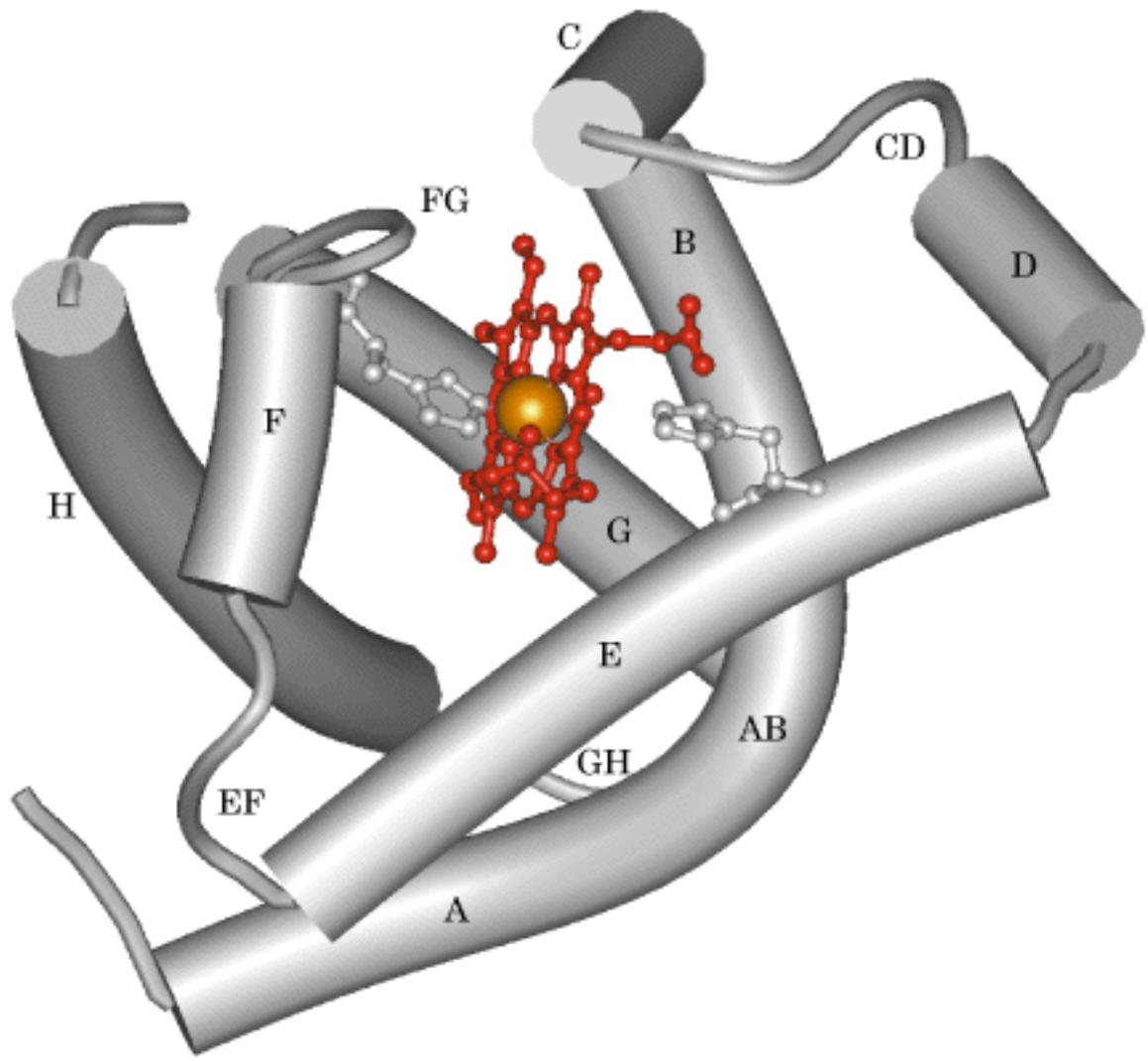
1.1.1



(a)

Mioglobina

- Pequena proteína intracelular do músculo dos vertebrados.
- A presença da mioglobina é a causa da cor vermelha característica do músculo.
- Abundante em animais que mergulham. Concentração 10 vezes maior em focas e baleias do que em mamíferos terrestres.
- Facilita o transporte do oxigênio no músculo tecido que respira mais rápido em exercício intenso
(carregador/descarregador molecular de oxigênio)
- Uma única cadeia de 153 aa, 8 alfa-hélices conectadas por dobras. Dimensões aproximadas 44 x 44 x 25 Å



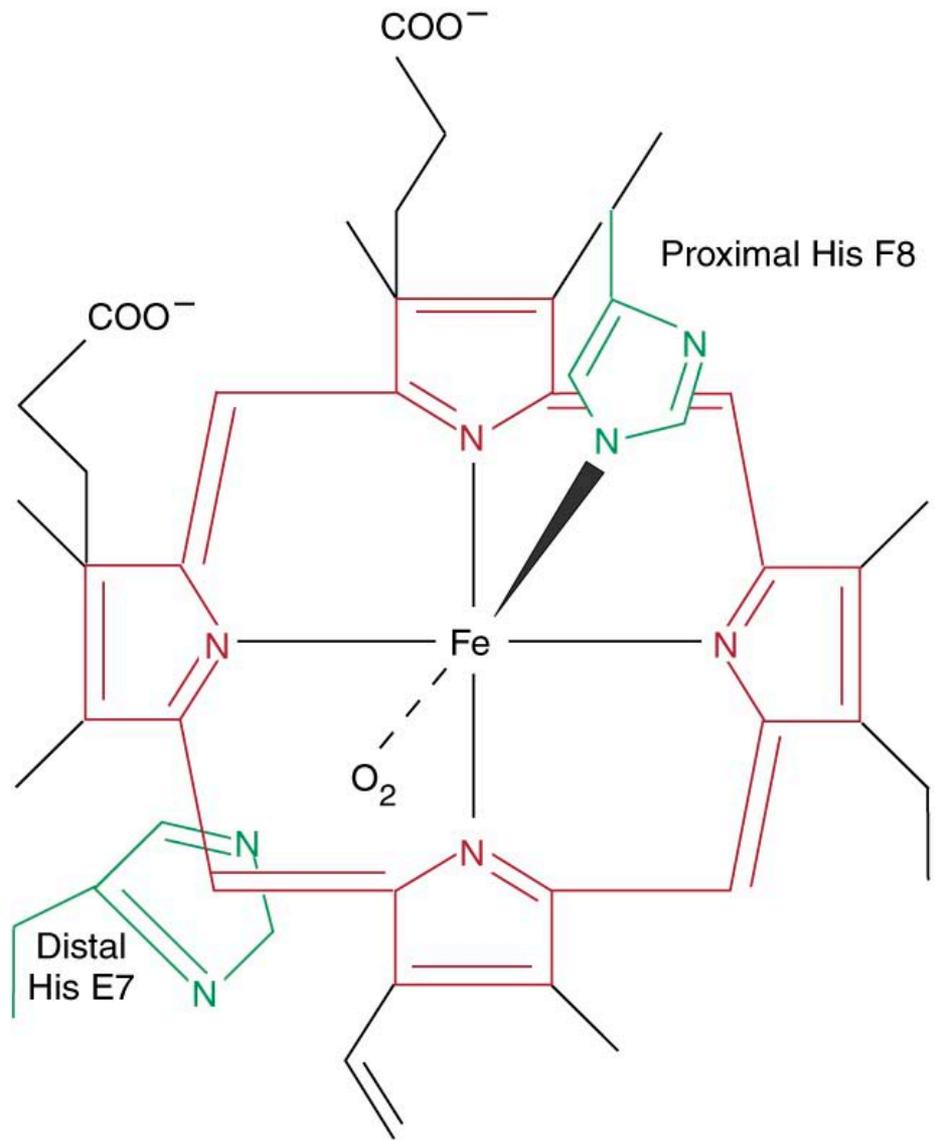
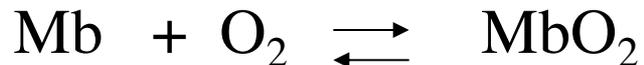


Figure 9.20. Ligand bonds to ferrous atom in oxyhemoglobin.

Ligação Proteína-Ligante

A função da mioglobina depende da habilidade de ligar e liberar O_2 quando necessário



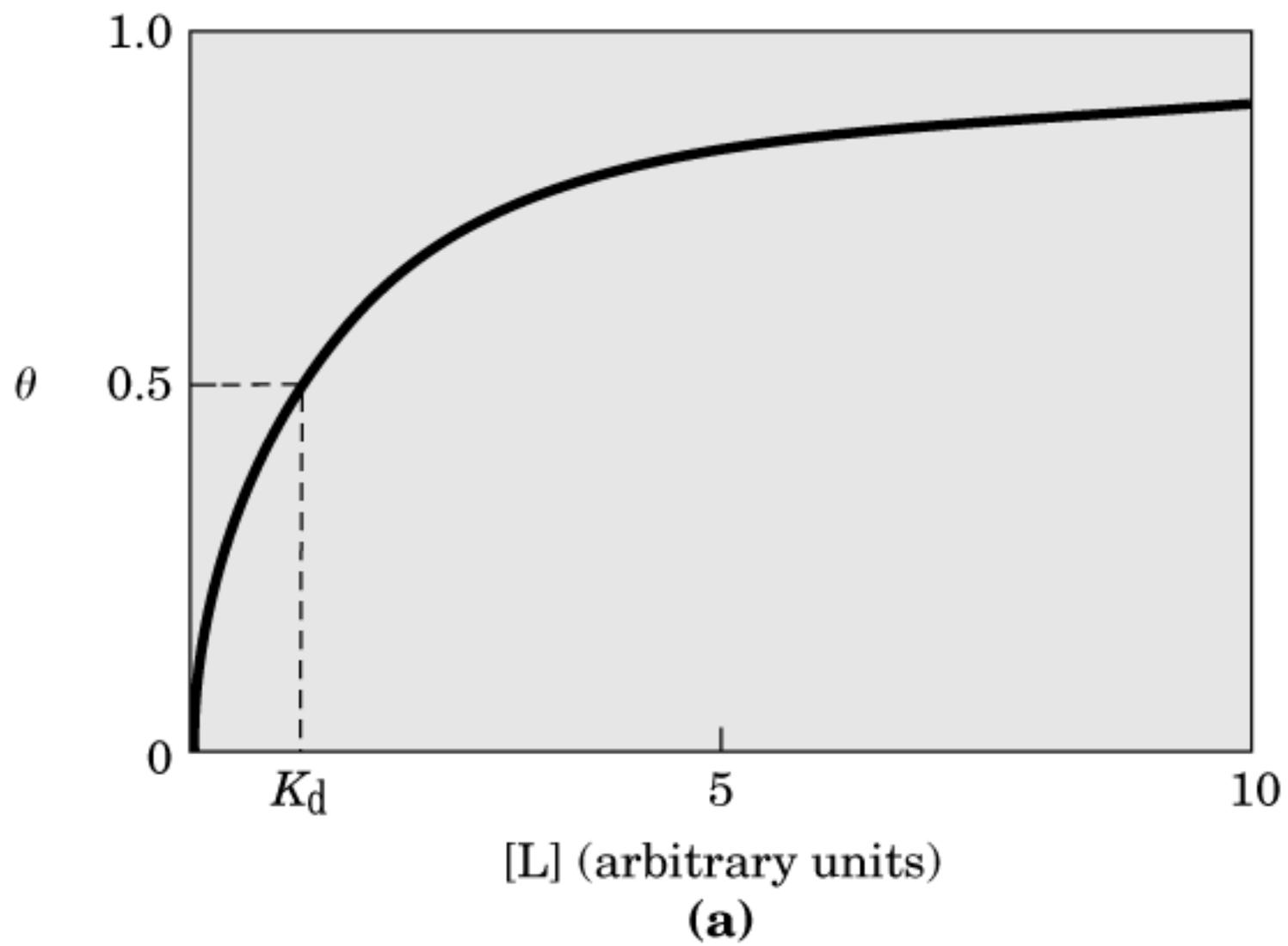
Constante de dissociação $K = [Mb][O_2] / [MbO_2]$

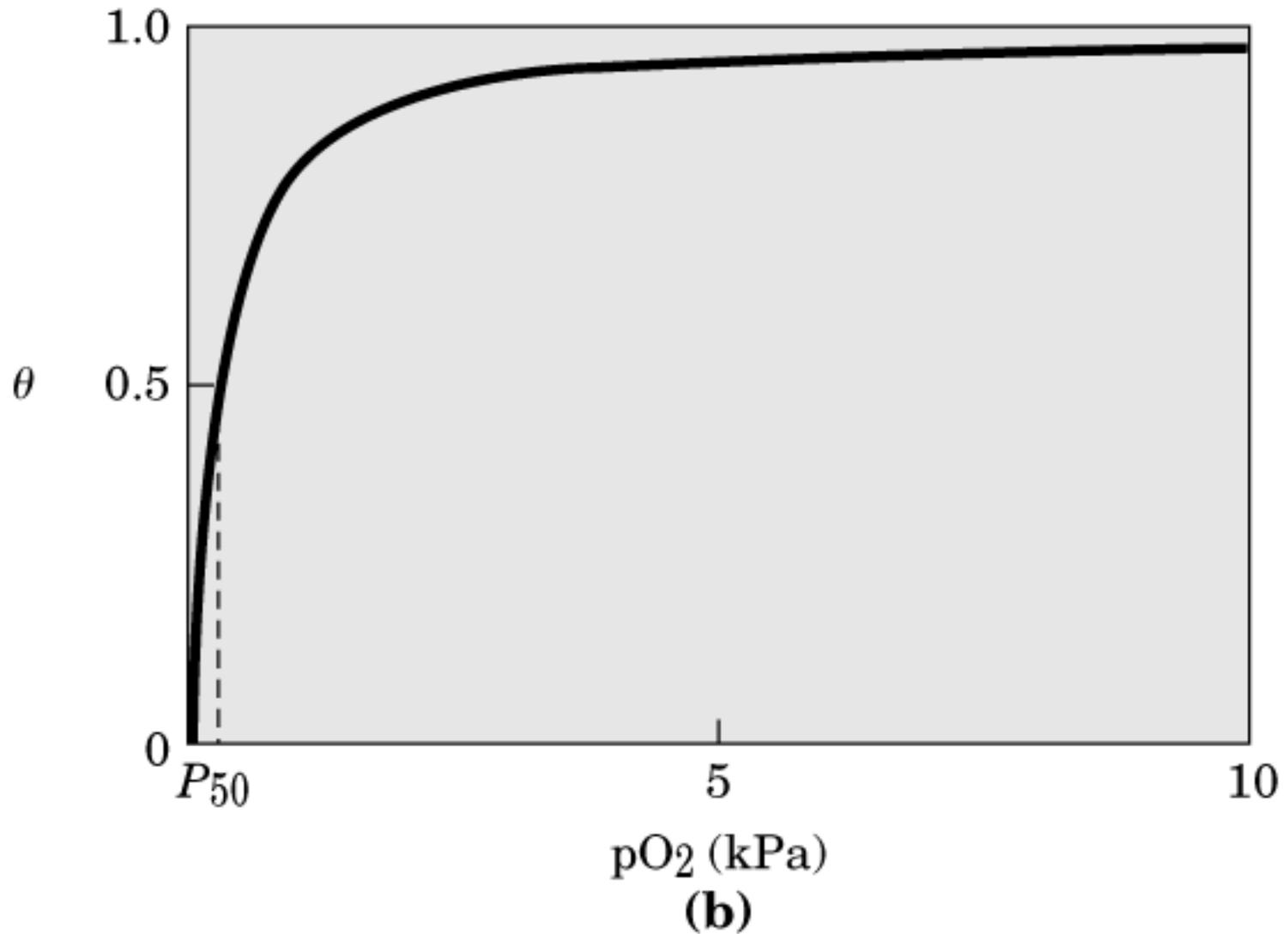
A dissociação do O_2 na mioglobina é caracterizada pela sua saturação fracional. Fração dos sítios ocupados por O_2

$$Y_{O_2} = [MbO_2] / [Mb] + [MbO_2] = [O_2] / k + [O_2]$$

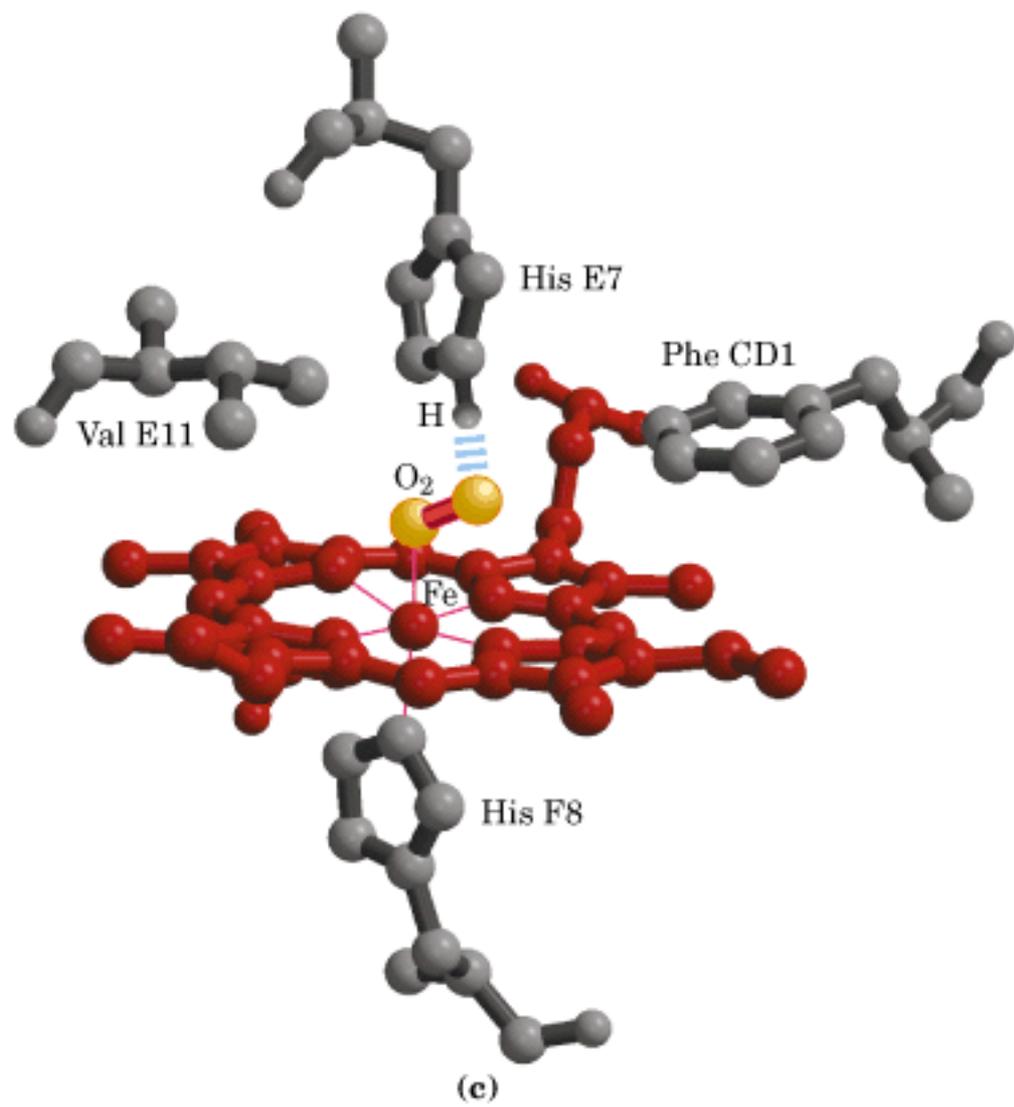
$[O_2]$ é melhor expressa por pO_2

$$Y_{O_2} = pO_2 / K + pO_2 \text{ (hipérbole)}$$





Fração de sítios ligantes ocupados. 0,26 P (2,6 torr) metade da mioglobina está saturada de oxigênio



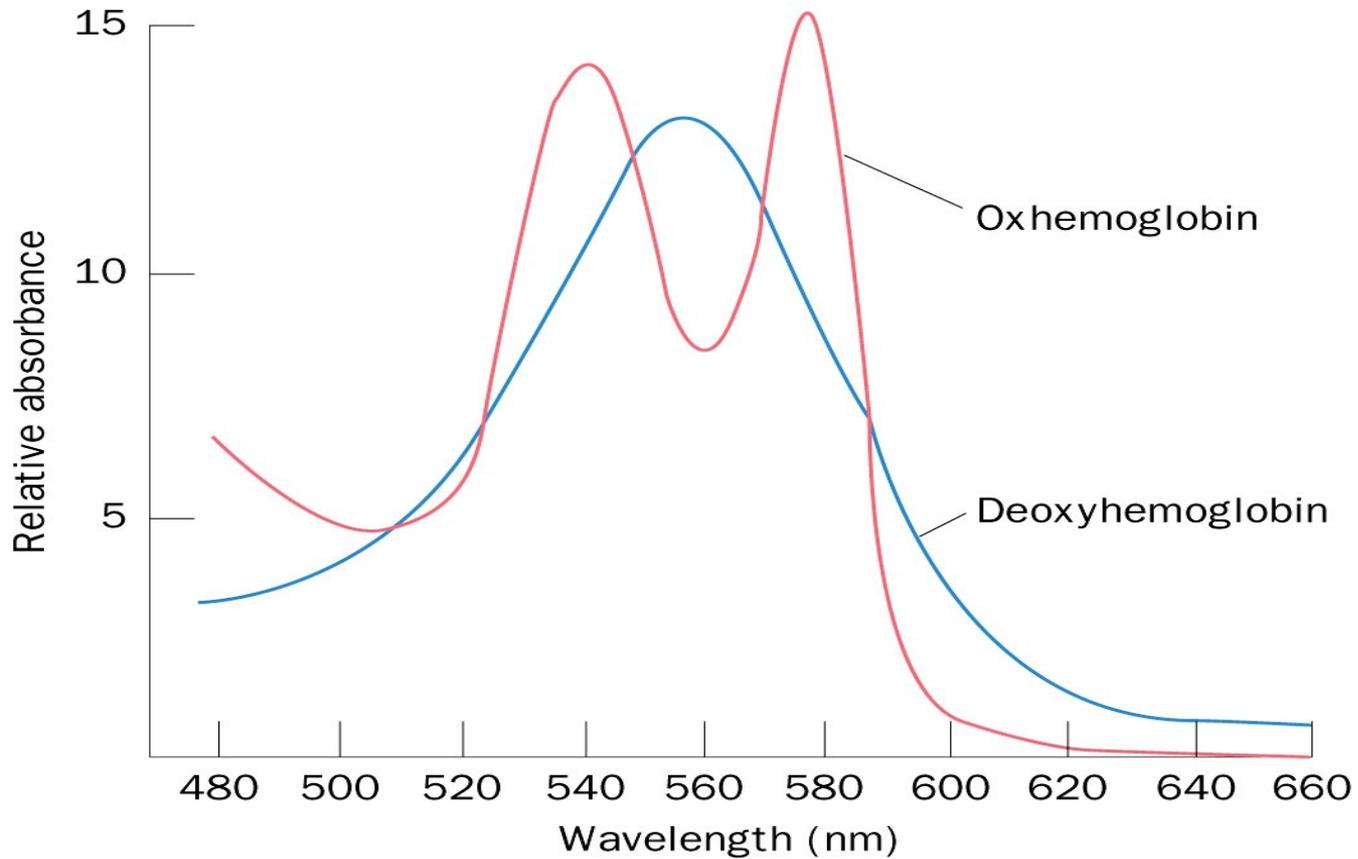
A quantidade de mioglobina e conseqüentemente a cor da carne varia com os seguintes fatores

- **◆ Espécie:** a diferença é ressaltada quando se compara a cor pálida de suíno com a cor vermelha brilhante da de bovinos.
- Em geral, os bovinos e ovinos contêm mais mioglobina do que os suínos, peixes e aves. As cores mais típicas da carne procedente de diferentes espécies, são as seguintes:
 - **Bovino adulto** Vermelho cereja brilhante
 - **Bovino jovem** Rosa marrom
 - **Cavalo** Vermelho escuro
 - **Ovelha e carneiro** Vermelho pálido
 - **Suíno** Rosa grisáceo **Aves** Branco gris à vermelho pálido
 - **Pescado** Branco grisáceo à vermelho escuro
- **◆ Idade:** a concentração de mioglobina aumenta com a idade do animal. Ex.: um bovino jovem contém em seus tecidos de 4 – 10 mg de mioglobina/g de tecido, enquanto que um bovino velho contém cerca de 20 mg de mioglobina/g de tecido.

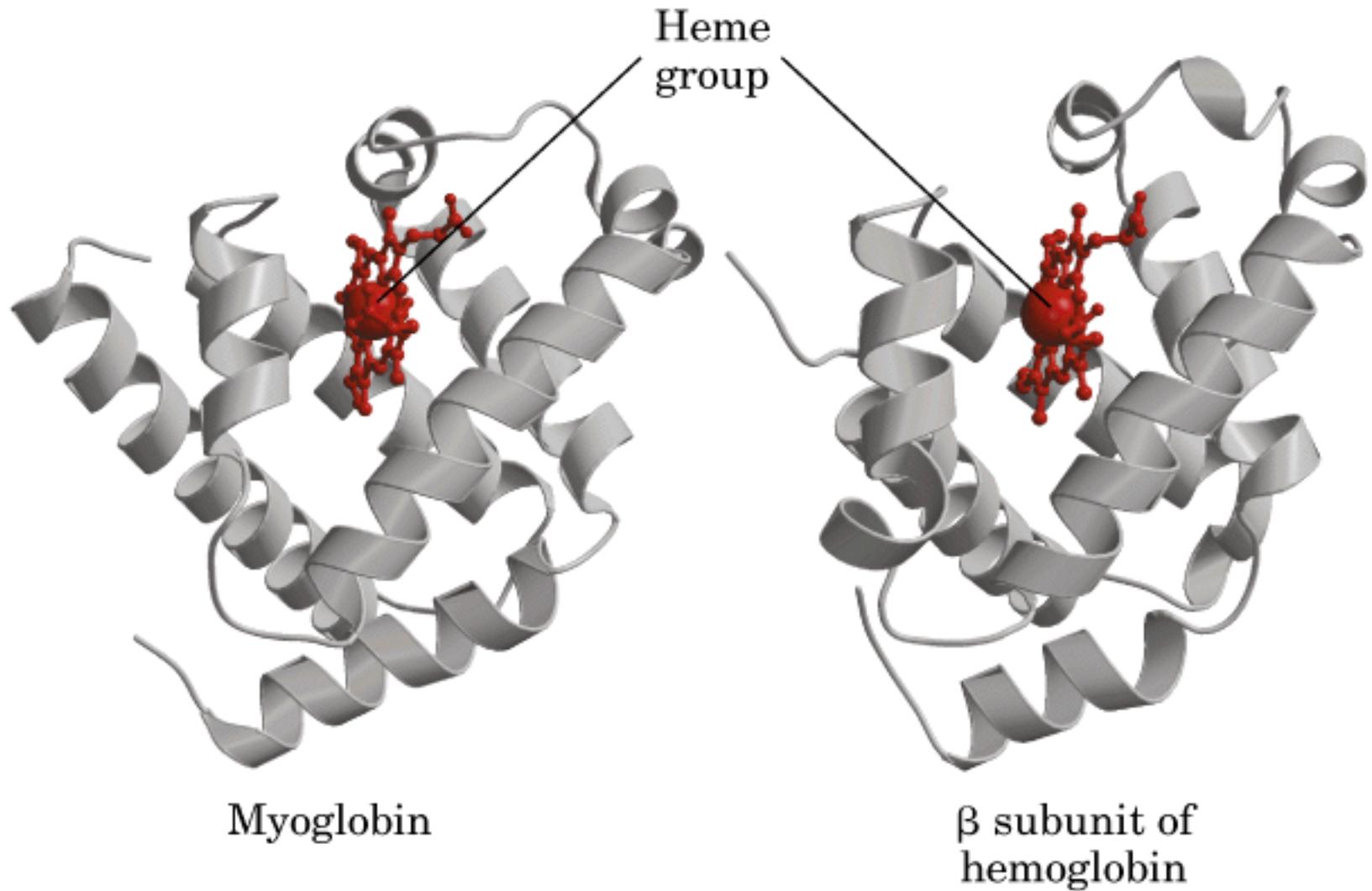
- **◆ Localização anatômica do músculo:** A quantidade de mioglobina varia nos diferentes músculos de uma mesma carcaça.
- Os músculos que apresentam proporções altas de fibras vermelhas (30-40%) são mais escuros.
- A função da mioglobina no animal vivo é armazenar e transportar oxigênio e portanto os níveis da mesma são mais altos em músculos com maior carga de trabalho; afim de suprir as próprias necessidades fisiológicas. Ex.: nos frangos os músculo pálido do peito contrasta com os músculos escuros das coxas.
- Logo, animais criados em sistemas extensivos, o nível de mioglobina muscular é maior do que nos criados em sistemas fechados. Ex.: O frango “caipira” apresenta a coloração dos músculos bem mais escura do que os frangos criados em aviários.
- **◆ Sexo:** Os machos inteiros possuem músculos que contém mais mioglobina do que as fêmeas ou de machos castrados de mesma idade.
- **◆ Nível nutritivo:** uma dieta abundante, porém pobre em ferro diminui a concentração de mioglobina nos músculos.

O oxigênio é transportado no sangue pela hemoglobina nos eritrócitos

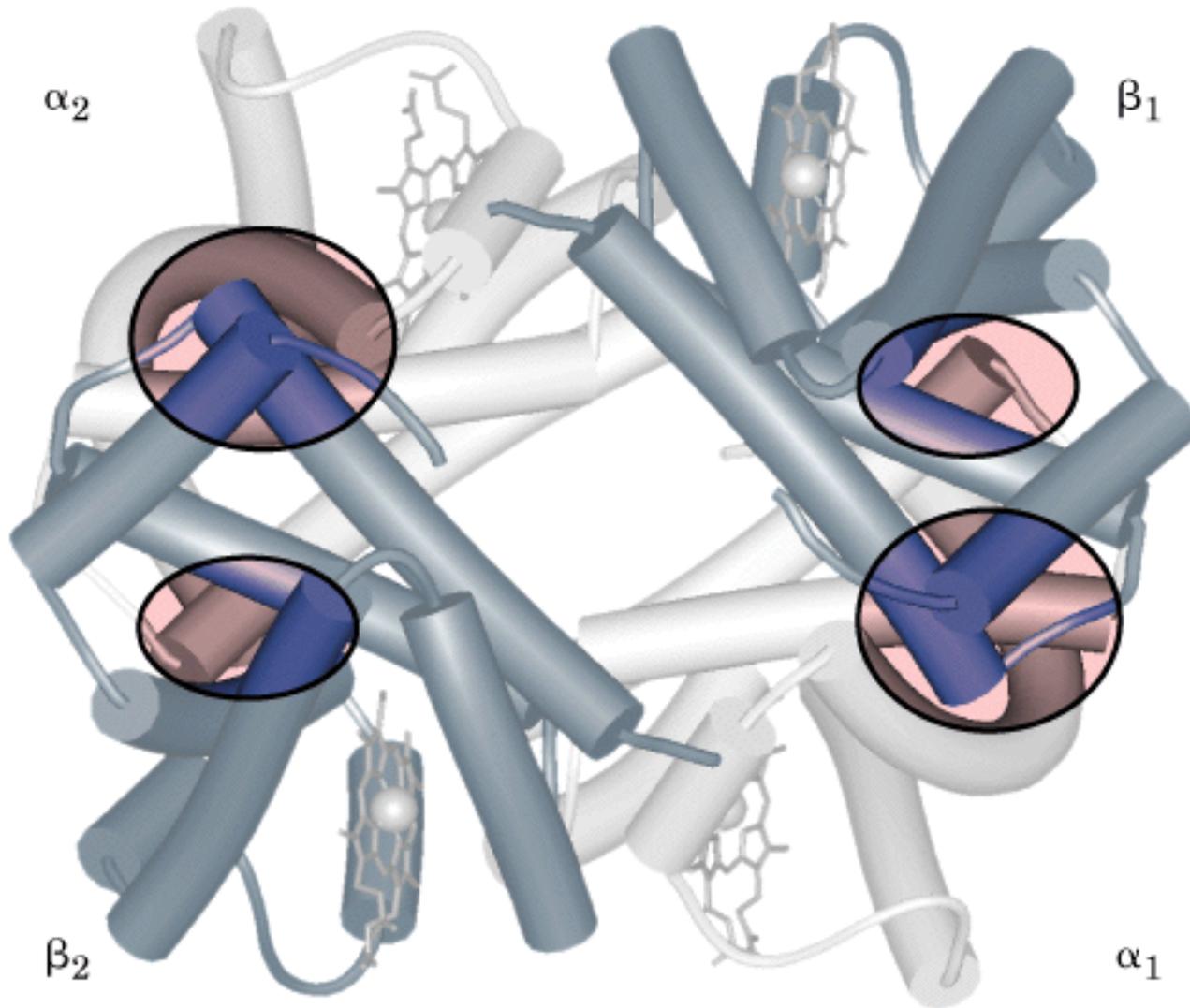
- **Sangue arterial**- do pulmão através do coração para os tecidos periféricos-Hb é 96% saturada com O₂.
- **Sangue venoso**-retornando para o coração é somente 64% saturada com O₂.
- Hb tem 2 tipos de globina cadeia alfa (141aa) e cadeia beta com 146 aa.



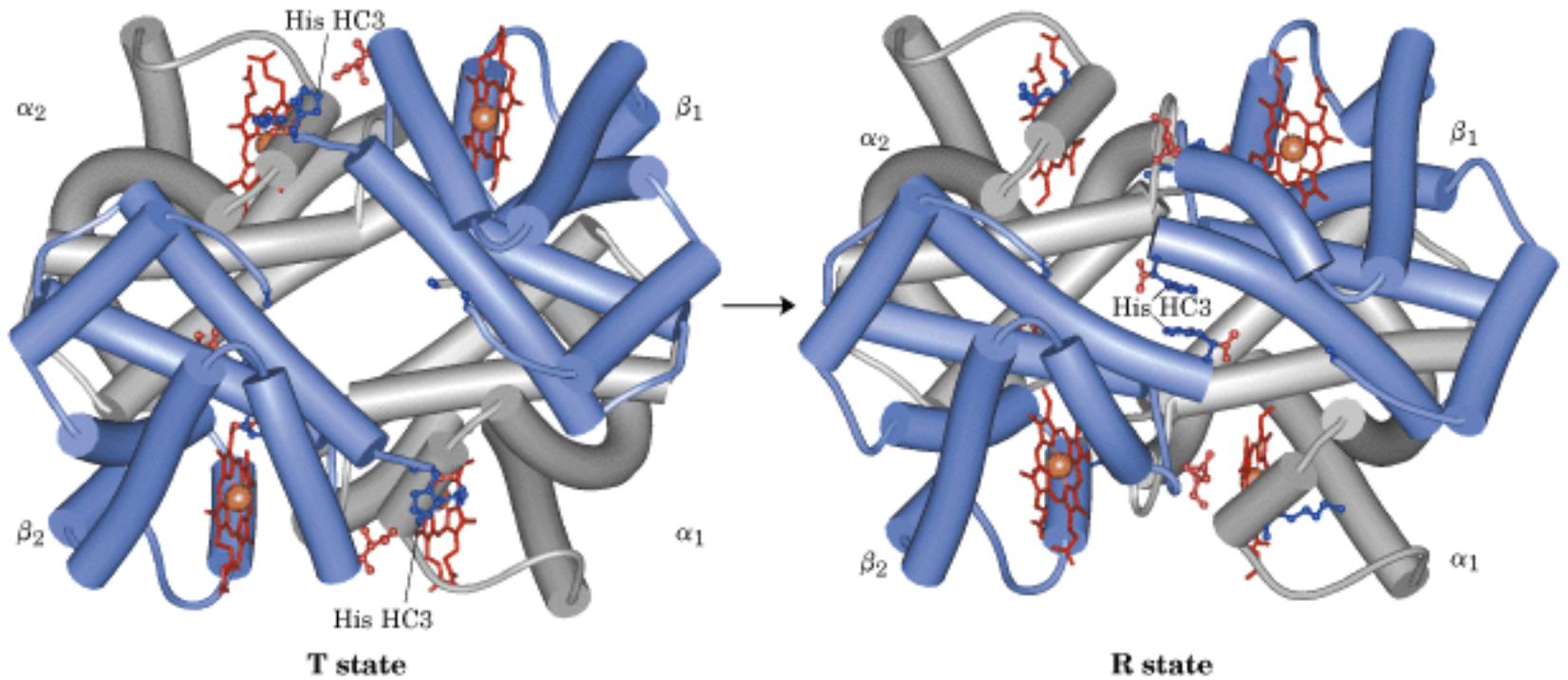
Espectro de absorção da hemoglobina: A ligação do oxigênio
Muda o estado eletrônico do grupo Fe(II)-heme



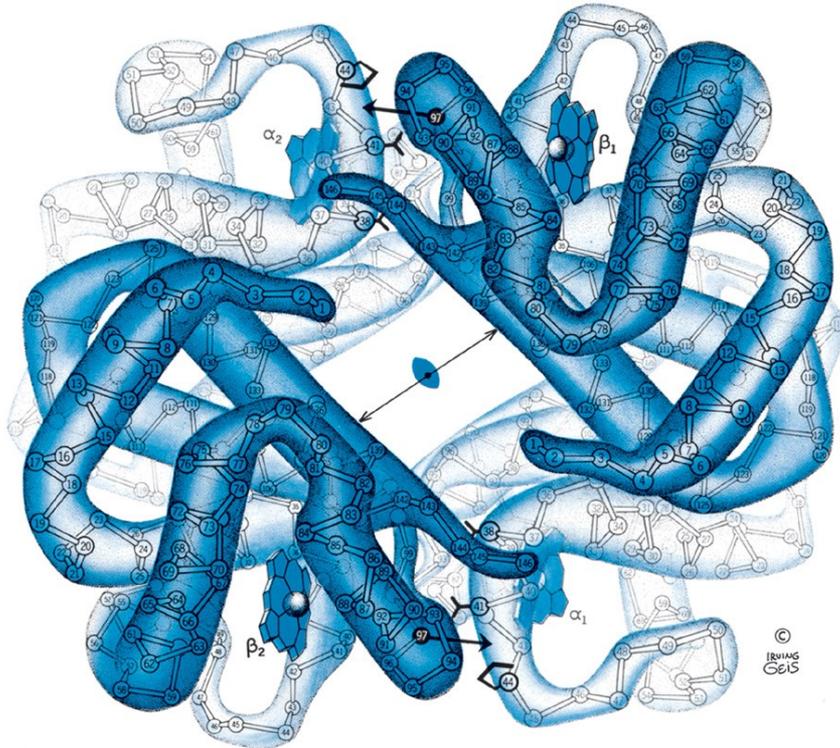
A estrutura é similar a da mioglobina



Estrutura quaternária: interações hidrofóbicas predominam na interface, mas também existem várias pontes de hidrogênio e alguns pares iônicos

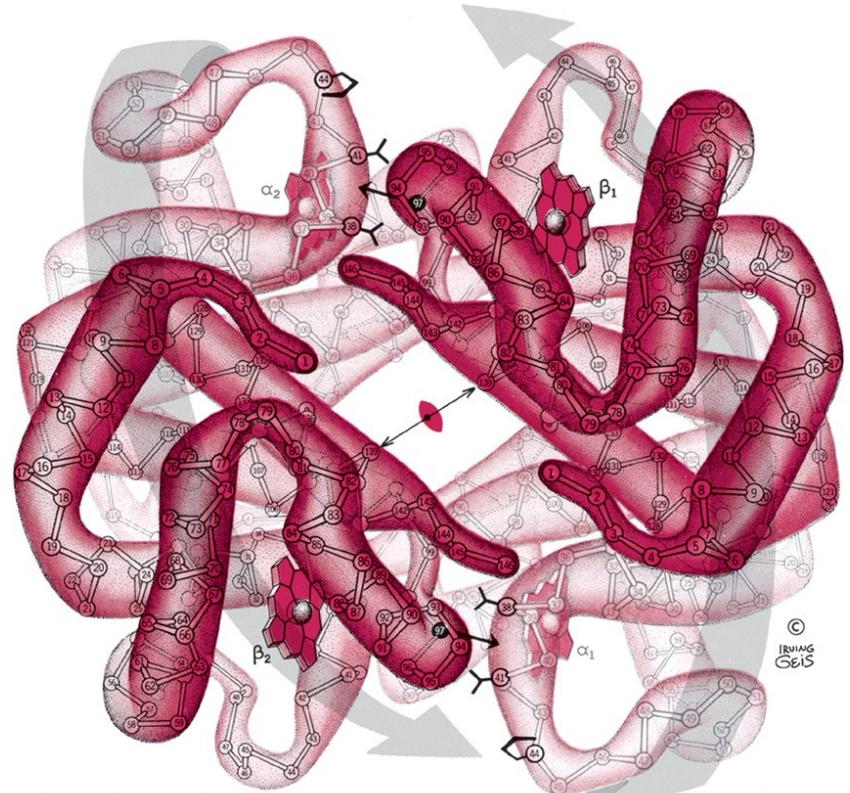


Maiores afinidade pelo O_2
A ligação do O_2 estabiliza o estado R



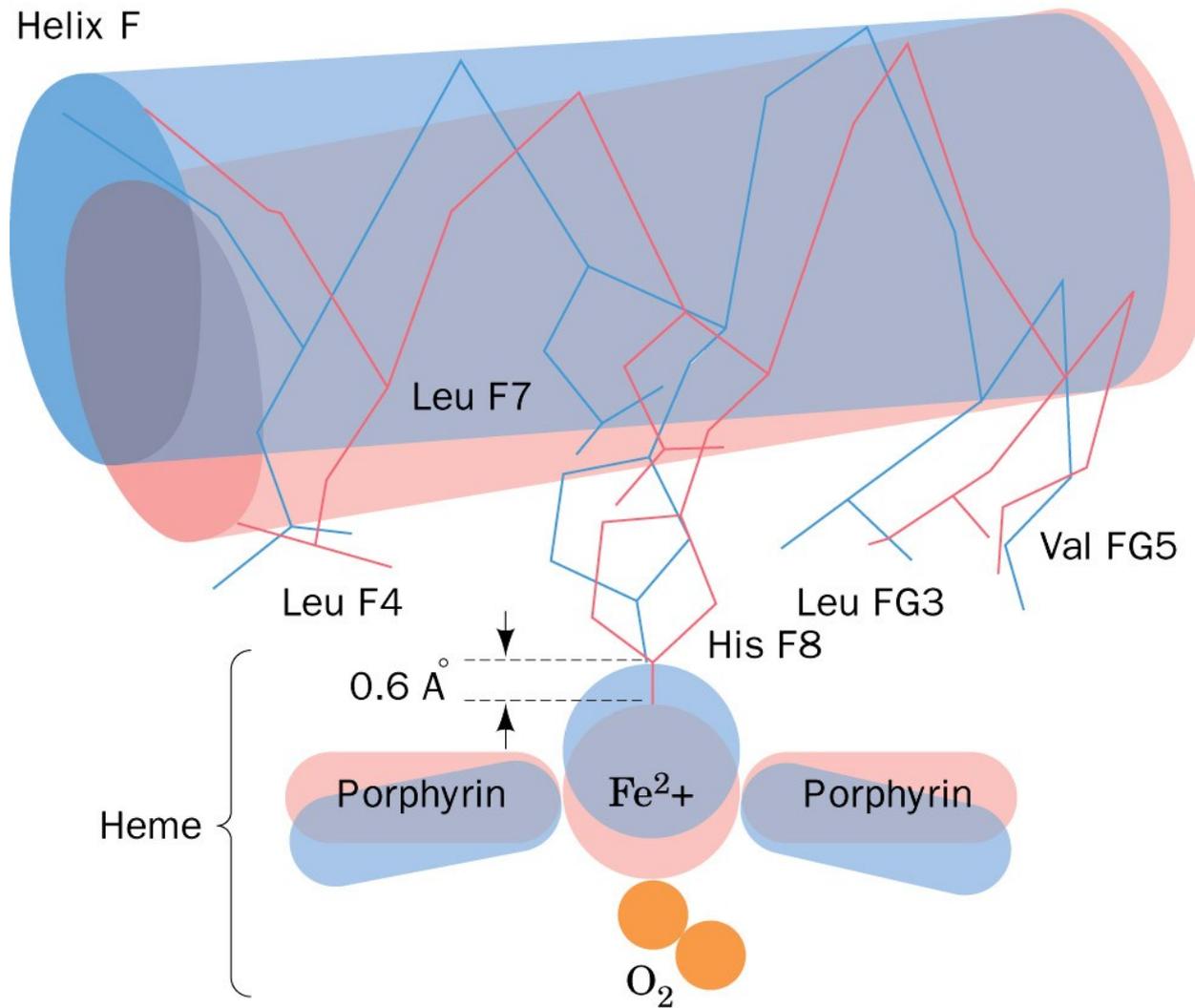
Irving Geis/Geis Archives Trust. Copyright Howard Hughes Medical Institute. Reproduced with permission

Desoxyhemoglobina

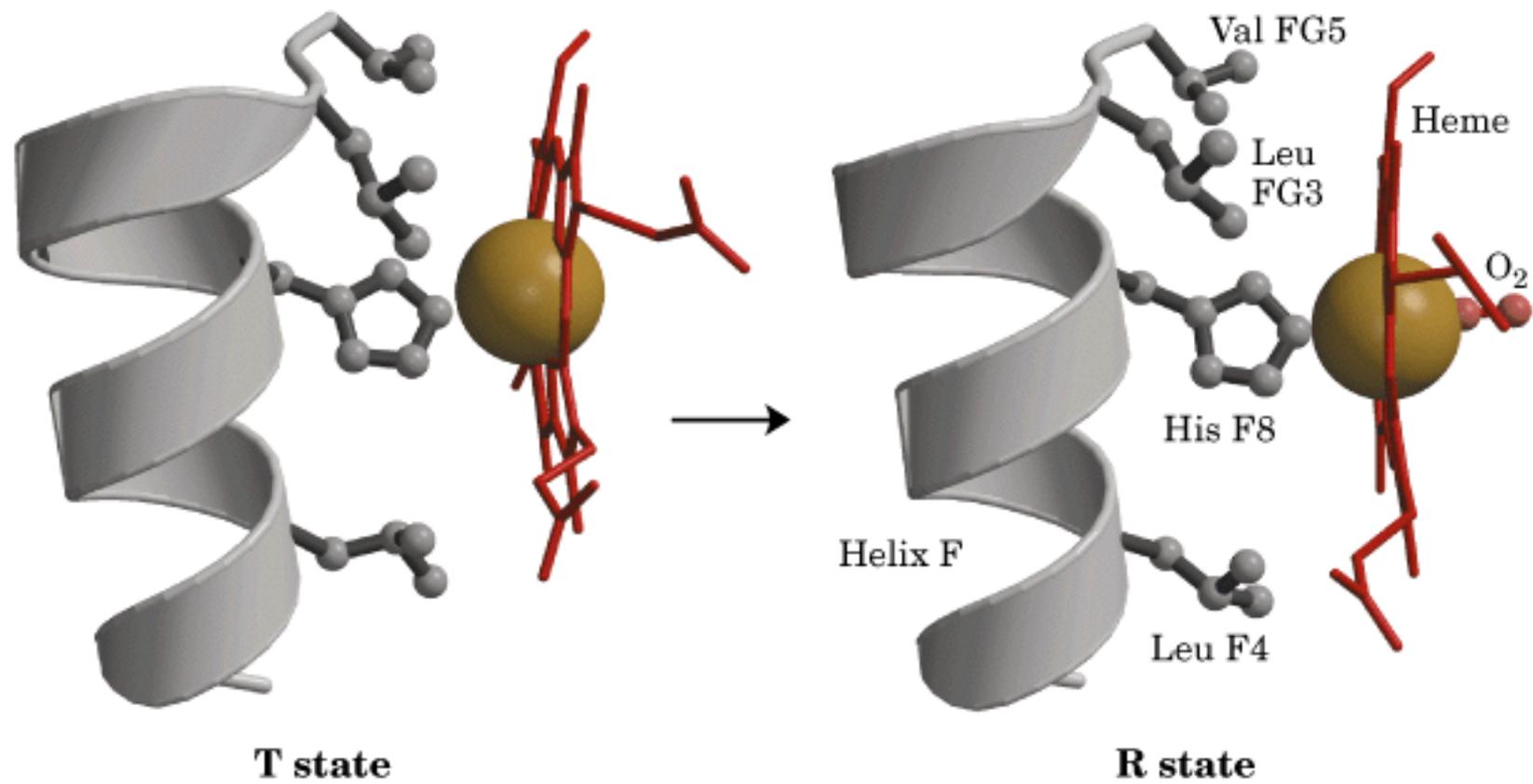


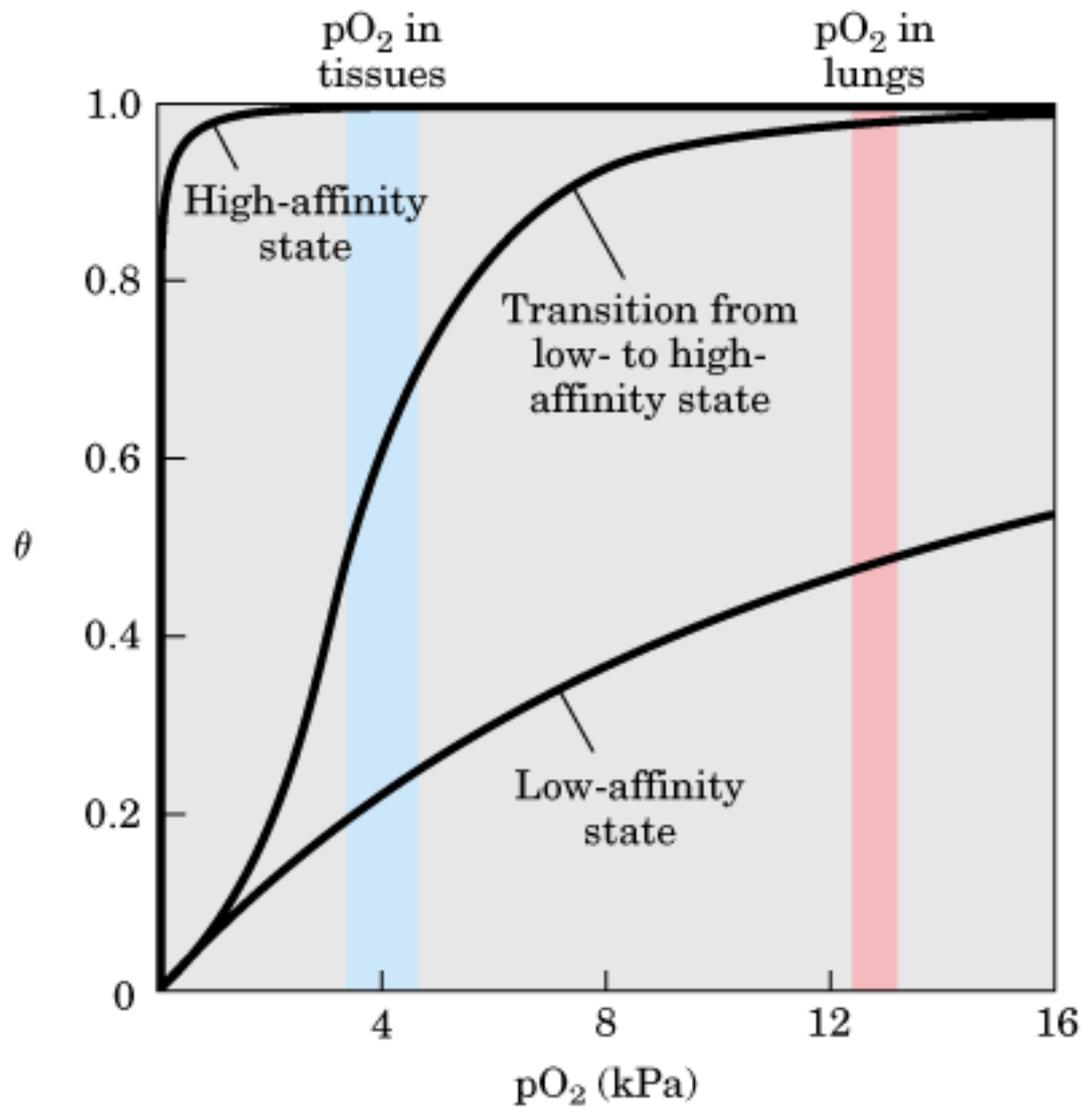
Irving Geis/Geis Archives Trust. Copyright Howard Hughes Medical Institute. Reproduced with permission

Oxihemoglobina

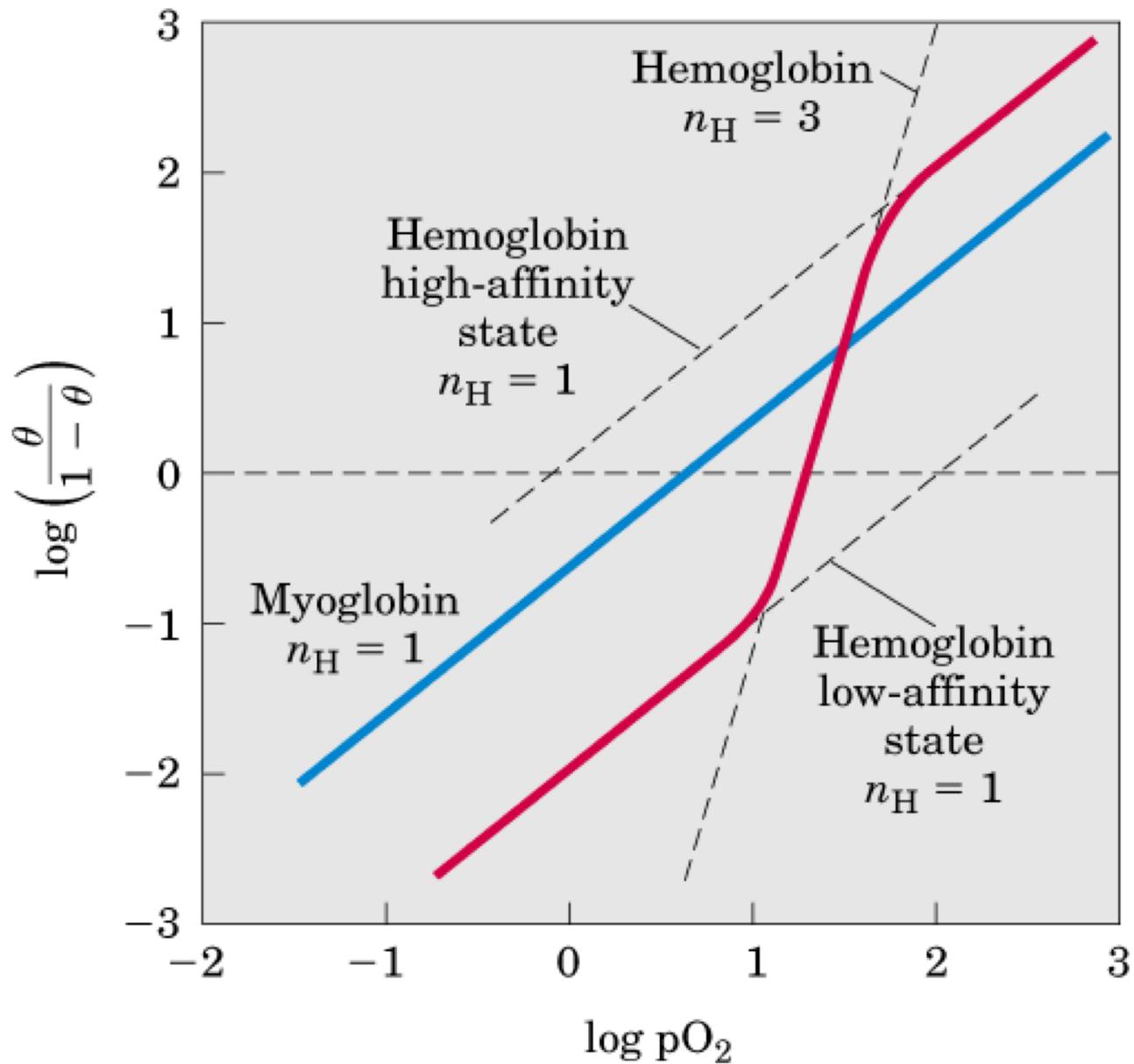


Movimentação do Heme e da hélice F durante a transição T –R
T azul e R vermelho





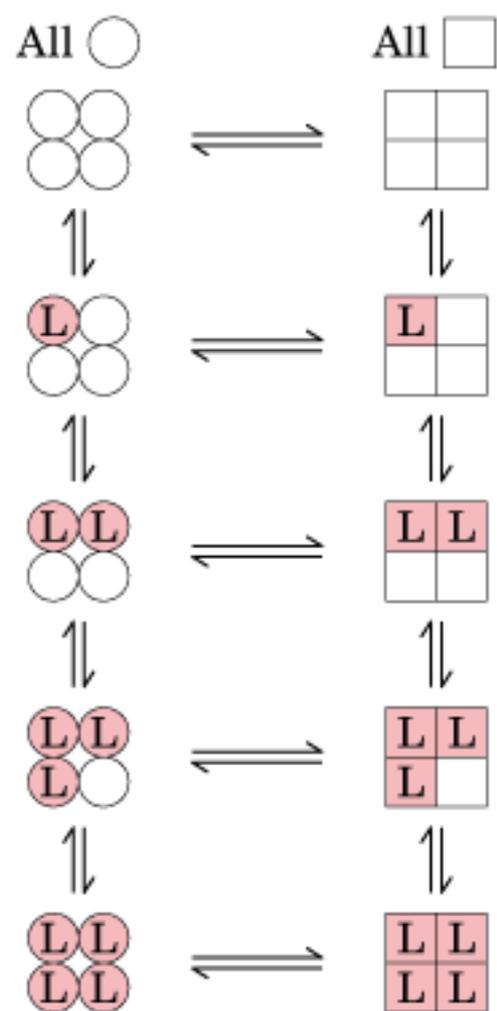
Hemoglobina –curva sigmoidal---alta afinidade no pulmão, baixa no tecido



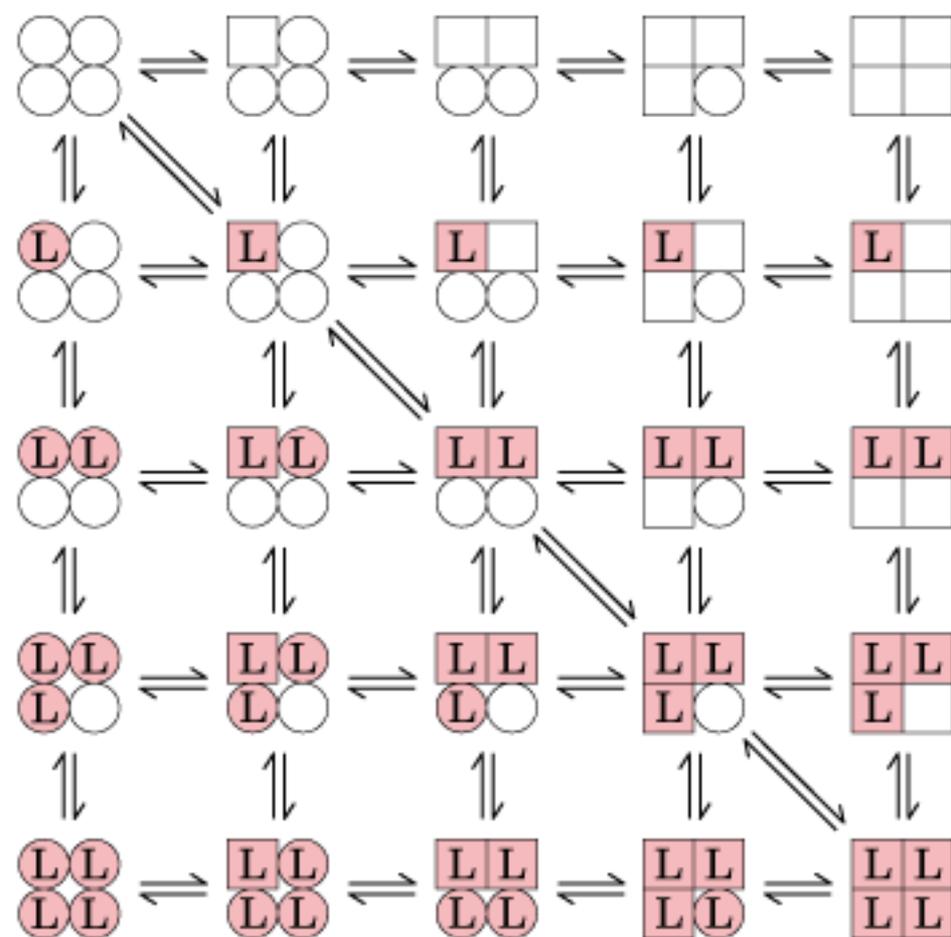
Curvas de Hill para hemoglobina e mioglobina

Proteína Alostérica

- A ligação de um ligante afeta as propriedades dos sítios de ligação na mesma proteína.



(a)



(b)

A ligação do oxigênio à Hemoglobina depende do pH

Efeito Bohr- descrito por Christian Bohr (pai do físico Niels Bohr)

As mudanças conformacionais com a ligação do O₂ reduz o pK de vários grupos, entre eles os amino terminas das cadeias alfa e a His C-terminal das beta.

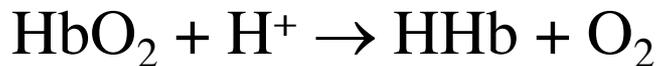
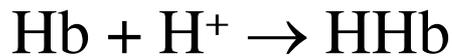
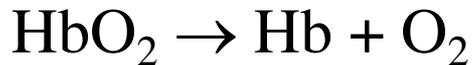
No estado T esses grupos participam de interações iônicas o que eleva os seus pks.

No estado R (maior afinidade pelo oxigênio) essas interações não existem.

A Hb libera 0,6 protons para cada O₂ ligado

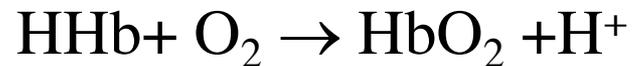
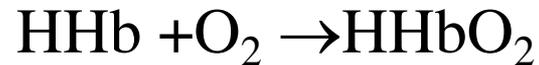
pO₂ e pH **mais baixos**

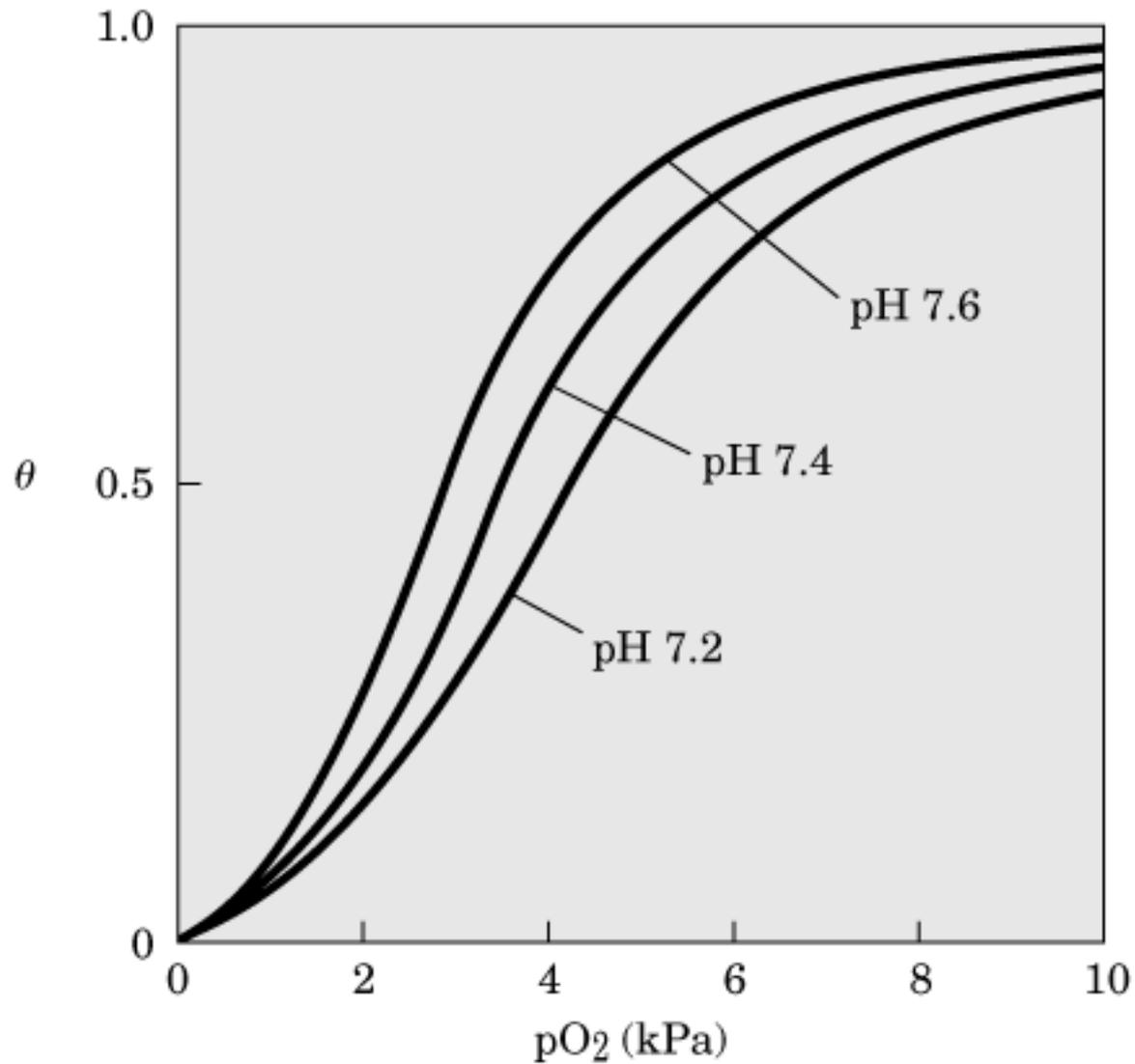
Tecidos



pO₂ e pH **mais altos**

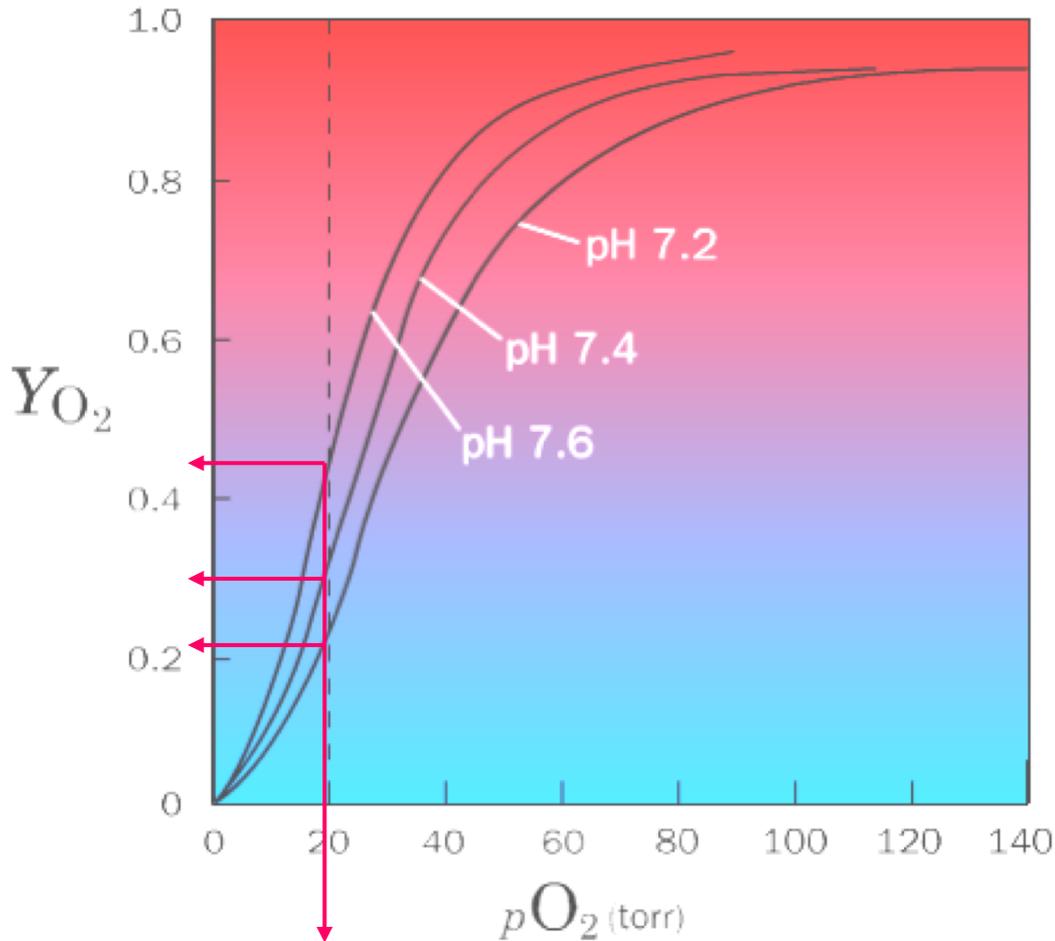
pulmões





pH do sangue = 7,6 pulmão e 7,2 nos tecidos

Vários mecanismos regulam a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio. O **efeito Bohr** é um dos mais importantes em termos fisiológicos.



Para a mesma pO₂, a saturação da Hb diminui de 45% em pH 7,6 para 22% em pH 7,2.

O efeito Bohr é a modulação da afinidade da Hb por O₂ pelo pH do meio, facilitando a desoxigenação da Hb a nível tecidual.

O sangue venoso é mais ácido do que o arterial, pela presença de CO₂ vindo dos tecidos. Esse forma ácido carbônico H₂CO₃, que se dissocia liberando H⁺ para o meio.

A curva ao lado mostra como a % de saturação da Hb, em uma pO₂ próxima aos valores nos tecidos (20 torr), diminui em função do pH do meio.

Hb também transporta H^+ e CO_2 (produtos finais da respiração) dos tecidos para pulmão e rim para excreção.



Diminuição no pH

Anidrase carbônica dos eritrócitos

O H^+ e o HCO_3^- são captado pela Hb induzindo a liberação do O_2 .

H^+ liga-se em diversos resíduos de aa

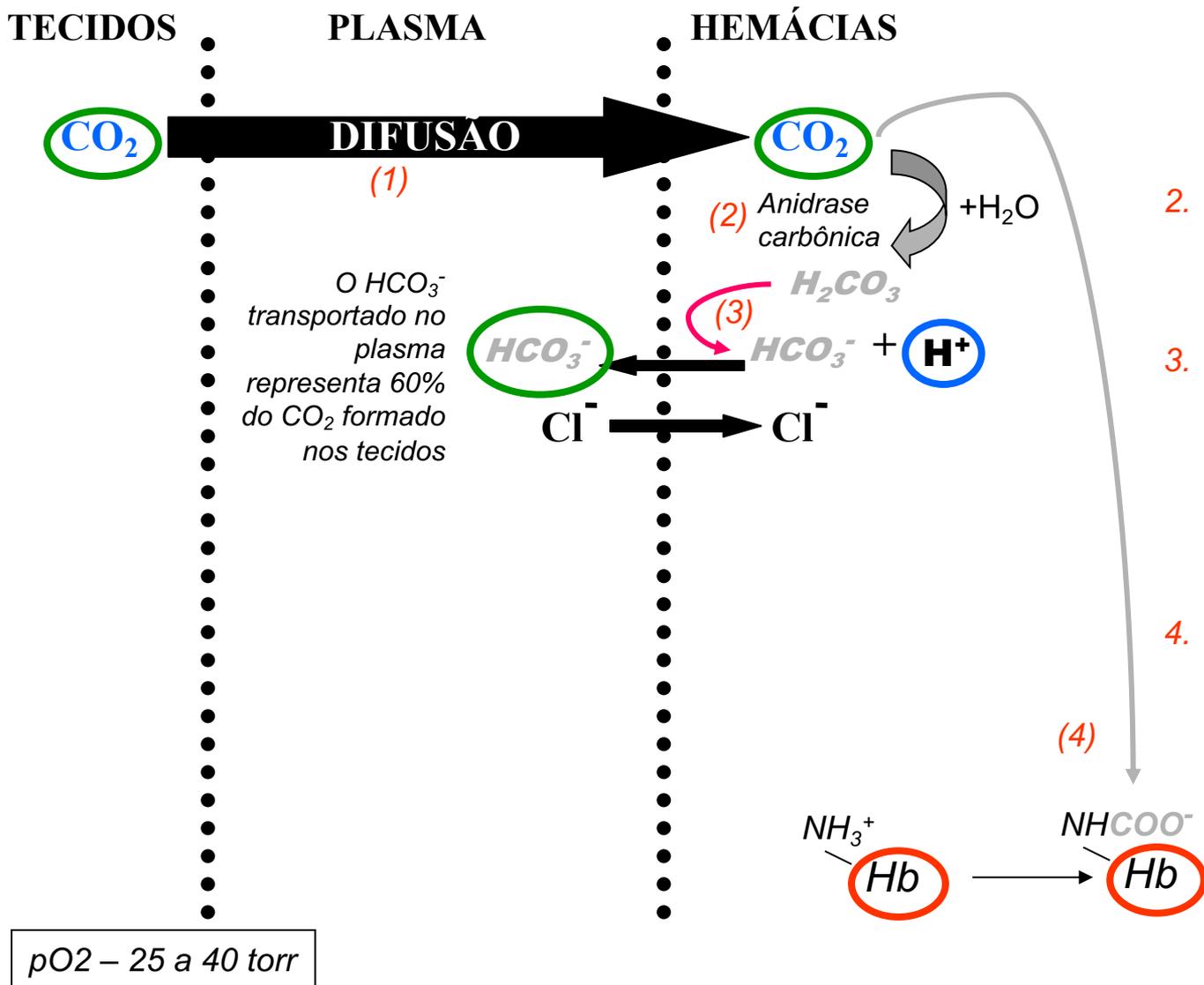
HCO_3^- liga-se nos aminos terminais

A Hb transporta cerca de 20% do total de H^+ e CO_2 formado nos tecidos



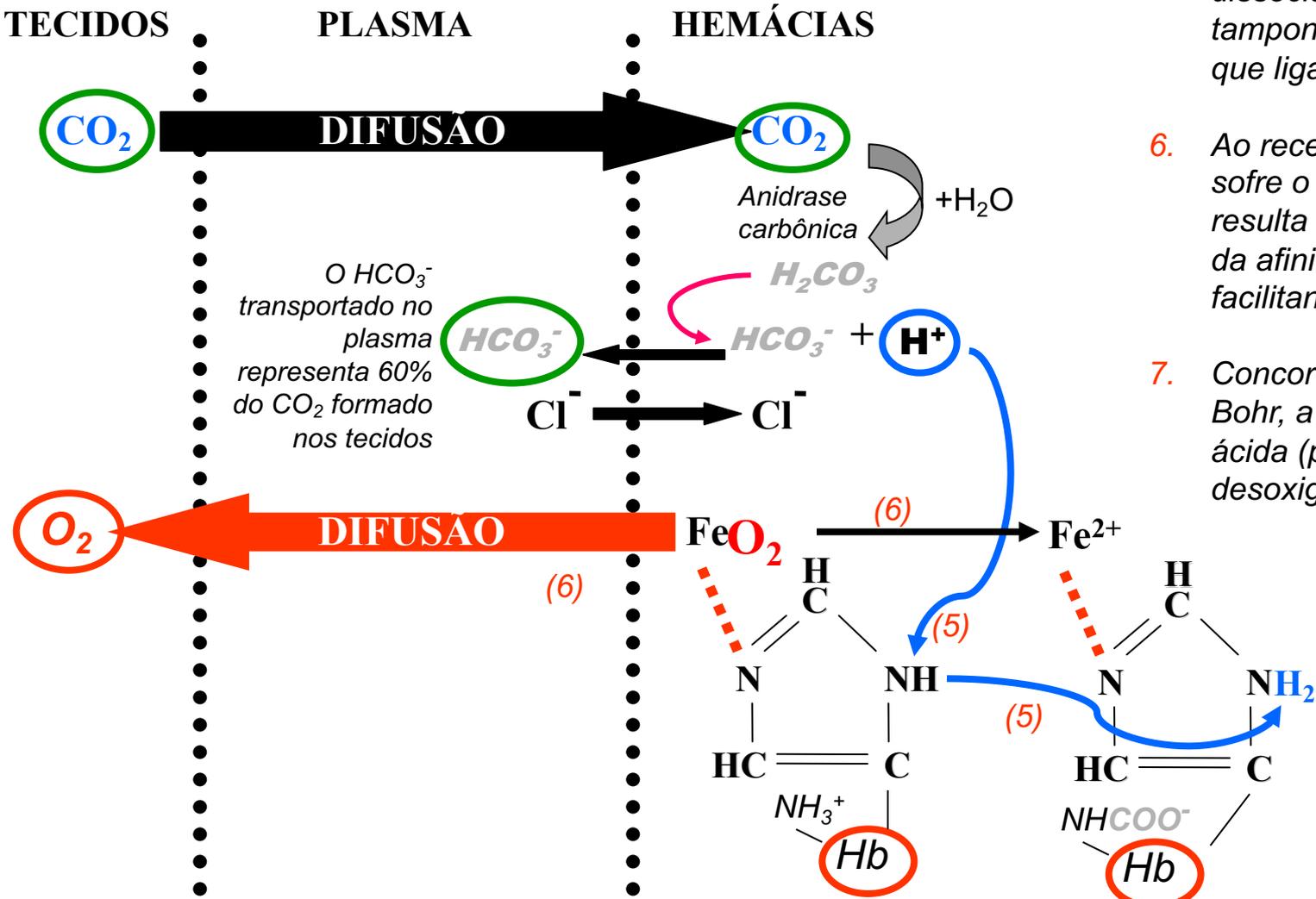
- Quando a Hb fica novamente oxigenada no pulmão, o H^+ e o bicarbonato liberados formam o H_2CO_3 o qual libera o CO_2 que é exalado

Para entender o **efeito Bohr**, vamos ver como se dão as trocas de gases na Hb, e suas propriedades de tampão.



1. Nos tecidos, a $p\text{O}_2$ é de 25 a 40 torr e o pH ligeiramente mais ácido (7,2-7,3). O CO_2 produzido difunde-se para o plasma e para as hemácias.
2. Nas hemácias, o CO_2 é convertido a H_2CO_3 pela enzima anidrase carbônica.
3. O H_2CO_3 se dissocia no íon bicarbonato HCO_3^- e um próton H^+ . Parte do HCO_3^- (~60%) difunde para o plasma, onde constitui o principal sistema tampão.
4. Uma parte pequena (~8%) do CO_2 liga-se diretamente ao resíduo N-terminal de cada globina, formando a carbamino-Hb.

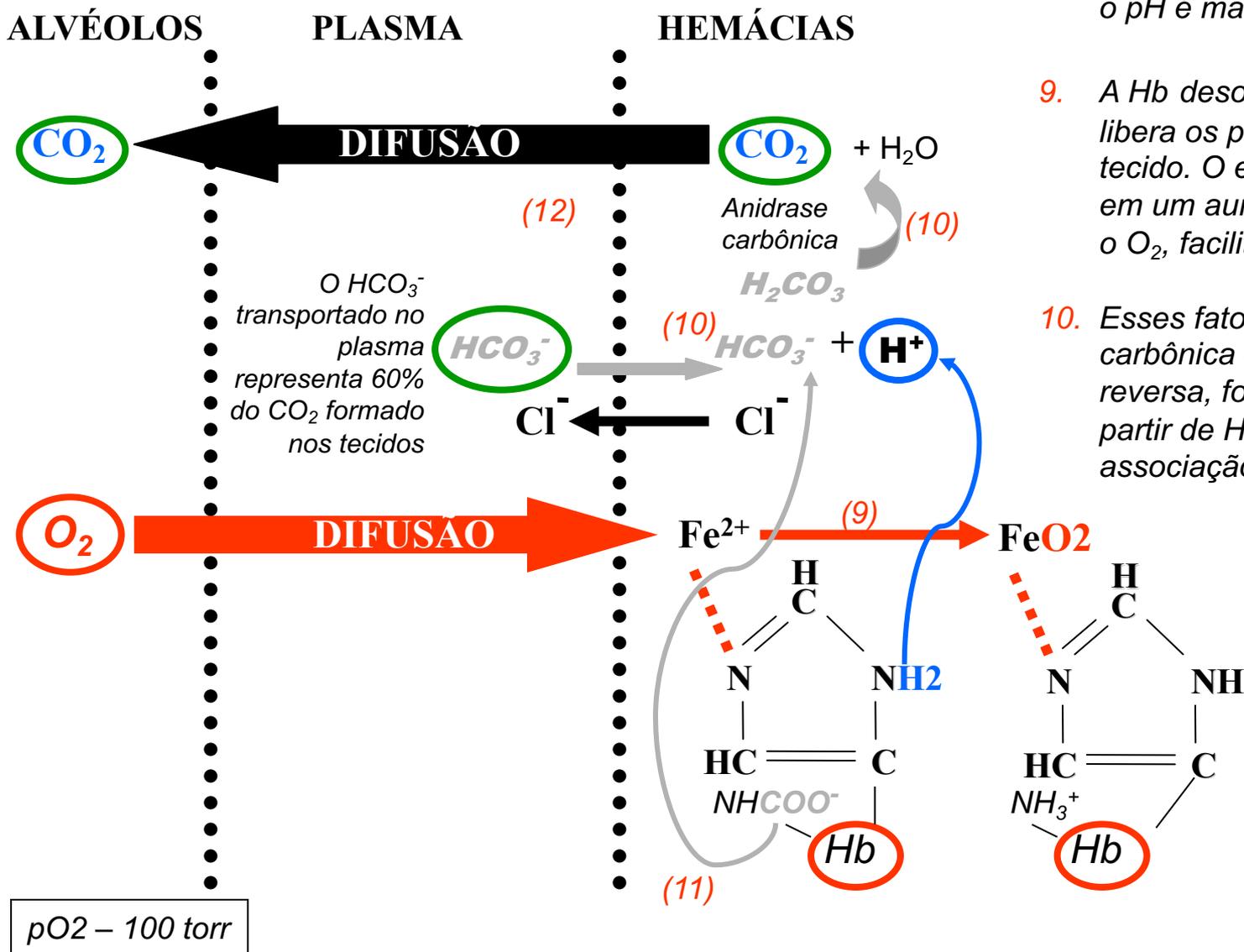
Para entender o **efeito Bohr**, vamos ver como se dão as trocas de gases na Hb, e suas propriedades de tampão.



5. O próton H⁺ gerado da dissociação do H₂CO₃ é tamponado por histidinas que ligam o heme.
6. Ao receber o próton, a HbO₂ sofre o efeito Bohr, que resulta em uma diminuição da afinidade pelo O₂, facilitando a desoxigenação.
7. Concordando com o efeito Bohr, a Hb oxigenada é mais ácida (pK ~7.4) do que a Hb desoxigenada (pK ~7.6).

pO₂ – 25 a 40 torr

Para entender o **efeito Bohr**, vamos ver como se dão as trocas de gases na Hb, e suas propriedades de tampão.

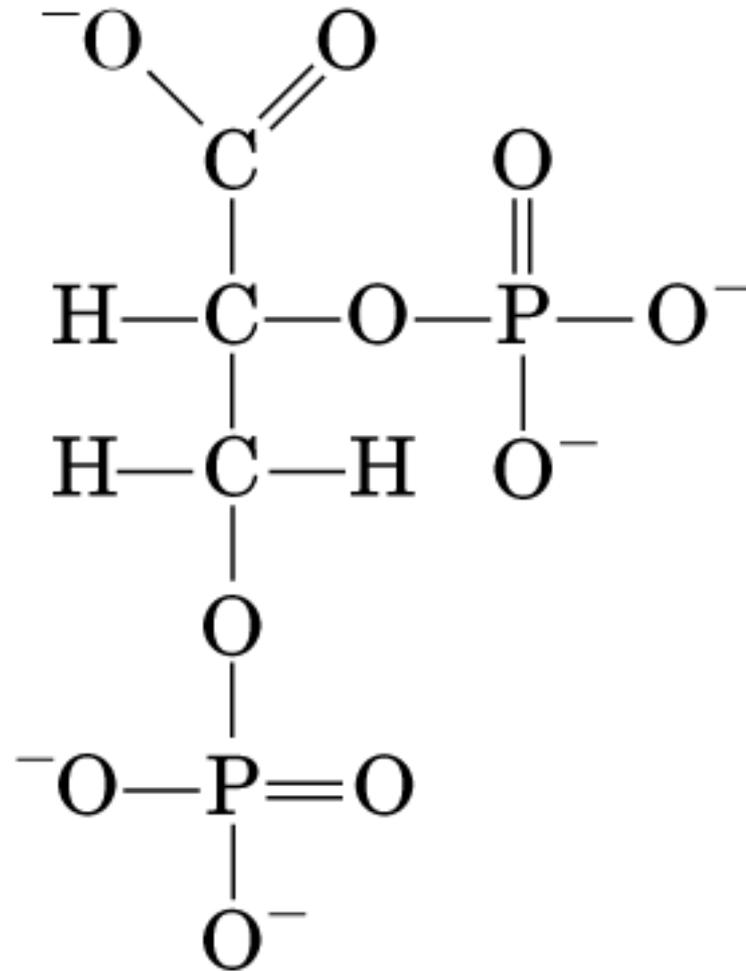


8. No **pulmão**, a $p\text{O}_2$ é de 100 torr e o pH é mais alcalino (pH ~ 7.6).
9. A Hb desoxigenada recebe O_2 e libera os prótons H^+ recebidos no tecido. O efeito Bohr agora resulta em um aumento da afinidade pelo O_2 , facilitando a oxigenação.
10. Esses fatores fazem a anidrase carbônica catalizar a reação reversa, formando CO_2 e H_2O a partir de H_2CO_3 , resultante da associação bicarbonato e H^+ .
11. O CO_2 ligado à Hb é liberado.
12. O CO_2 difunde para o plasma e daí para os alvéolos.

Comportamento alostérico da HB

- H^+ , CO_2 , 2,3-bifosfoglicerato afetam a ligação do O_2 na hemoglobina

As hemácias contêm um composto que diminui a afinidade da hemoglobina por oxigênio

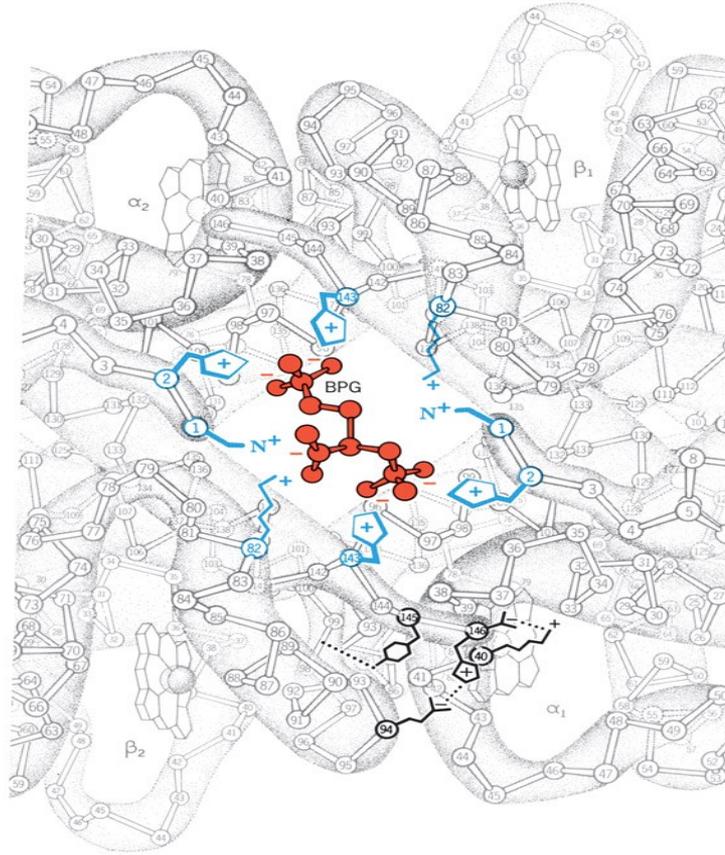


2,3-Bisphosphoglycerate

Eritrócitos normais contêm cerca de 4.5 mM de BPG, concentração equivalente a da Hb

- A BPG liga-se preferencialmente a desoxi-Hb, que apresenta entre as subunidades beta uma cavidade suficiente para alojá-lo.
- BPG forma um ligação cruzada entre as 2 subunidades beta (ligação eletrostática) em uma fenda com aa carregados positivamente.
- Na oxihemoglobina essa cavidade é muito pequena para ajustar o BPG
- BPG e O₂ são efetores alostéricos mutualmente exclusivos de Hb.
- BPG reduz a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio.

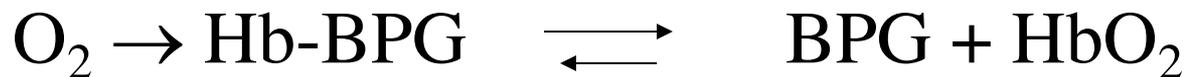
Binding of BPG to deoxyHb.



Irving Geis/Geis Archives Trust. Copyright Howard Hughes Medical Institute. Reproduced with permission

O resultado da ação do BPG é a predominância da forma desoxigenada da Hemoglobina

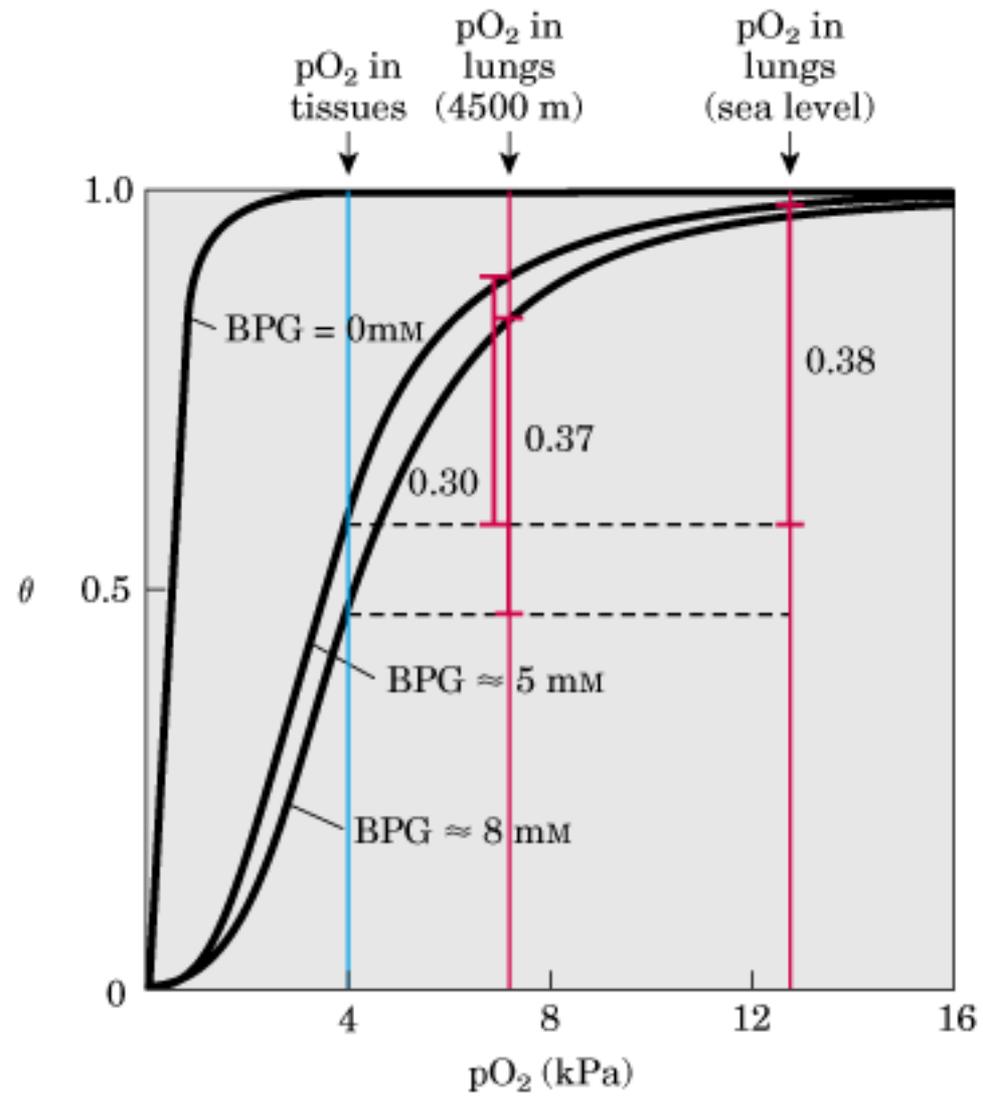
Em situações com elevadas pressões de oxigênio ,
essa situação pode ser revertida



O nível de BPG nas hemácias aumenta em condições associadas com hipóxia tissular prolongada como anemias, Insuficiências cardiorrespiratórias e altas altitudes

Adaptação para altitudes

- Processo fisiologicamente complexo que envolve:
- 1-aumento de Hb por eritrócito
- 2-aumento no número de eritrócitos (estimulada por eritropoietina, um hormônio)
- Esses 2 processos requerem algumas semanas .
- Entretanto, em apenas 1 dia alguma adaptação já ocorre. Isso é devido ao aumento rápido da concentração do BPG no eritrócito.
- Essa adaptação ocorre também em indivíduos sofendo de hipóxia (anemias ou insuficiência cardiopulmonar)

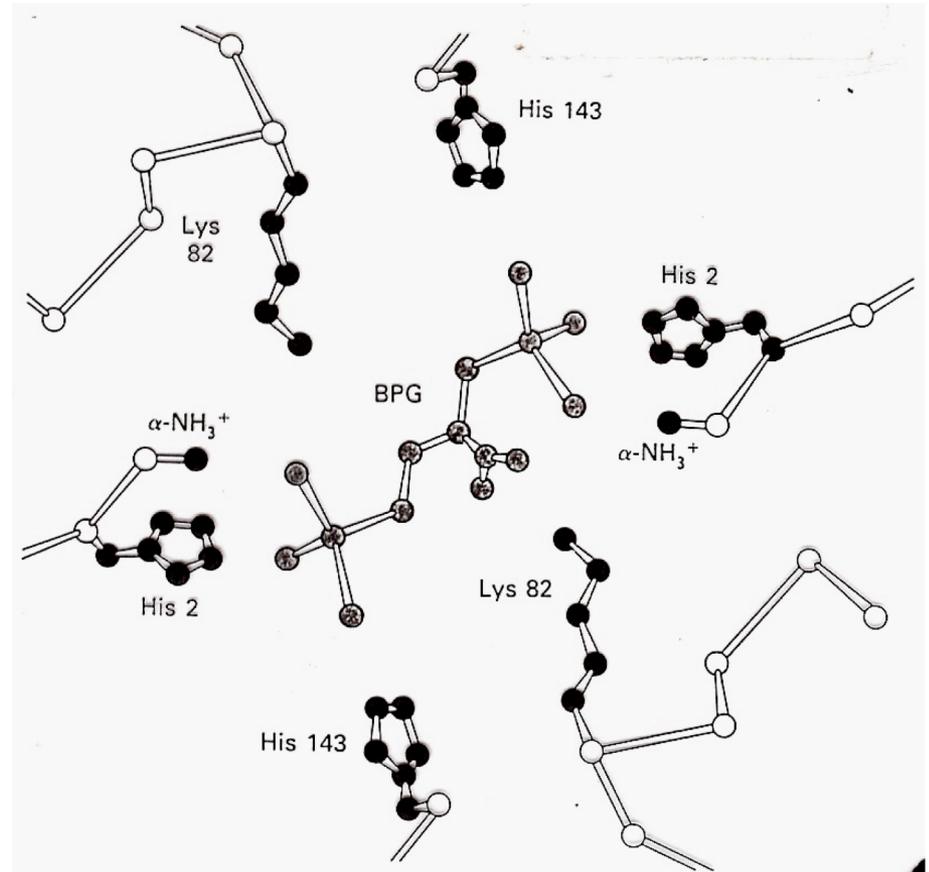


A curva de saturação com oxigênio também é deslocada para a direita quando as medidas são feitas em temperaturas mais elevadas.

Maior disponibilidade de oxigênio quando a demanda energética
É alta, como em **febres** e em grupos musculares sob **contração intensa**

A Hemoglobina Fetal (HbF)

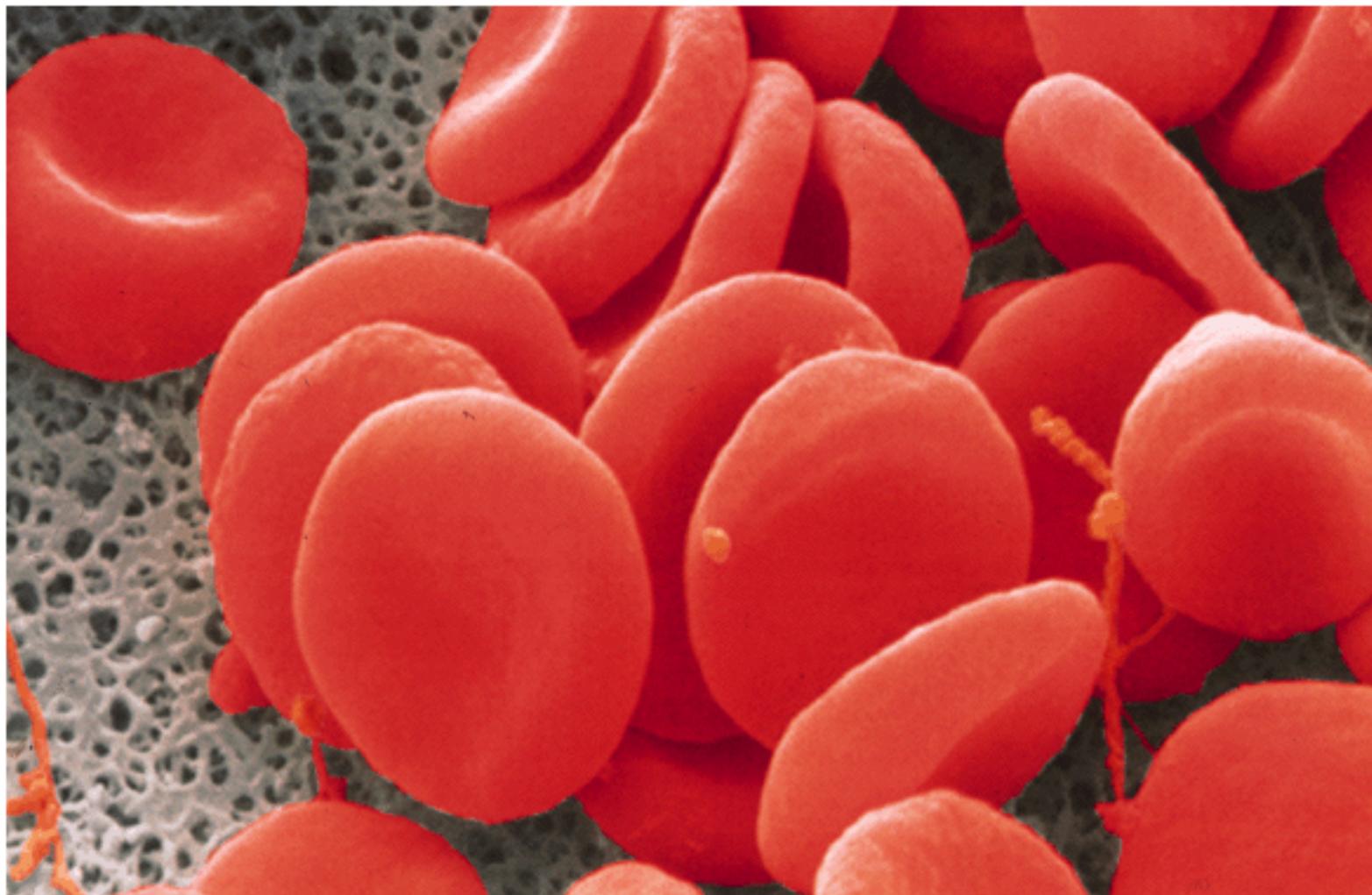
- A **HbF** possui cadeias γ (gama) equivalentes à cadeia β da HbA, com 10 aminoácidos diferentes nas sequências primárias dessas globinas.
- Uma das substituições importantes na **HbF** é a posição 82 da cadeia γ , que possui um resíduo de serina (polar sem carga), diferentemente da cadeia β , que tem lisina (Lys82; com carga positiva) nessa posição.
- Essa substituição resulta numa ligação mais fraca do 2,3-DPG, que interage com as globinas por interações eletrostáticas, à **HbF**.
- Como resultado, a **HbF** apresenta maior afinidade por O_2 do que a HbA materna, possibilitando a captação de O_2 a nível da barreira placentária.



Ligação do 2,3-BPG com a hemoglobina A

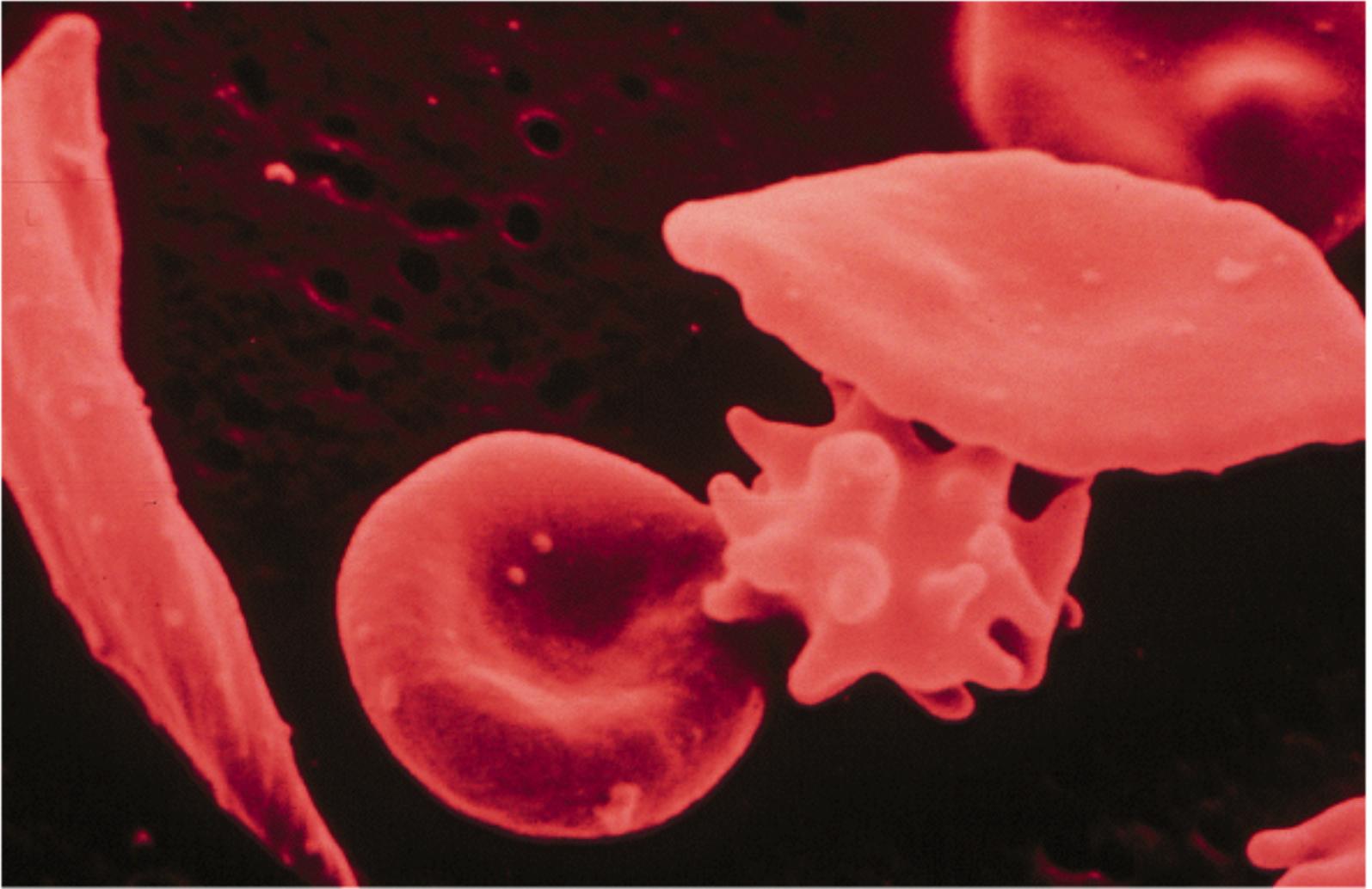
Anemia Falciforme

- Uma única substituição de um aa
- Val no lugar de Glu



(a)

2 μm



(b)

Anemia falciforme e hemoglobina S (HbS)



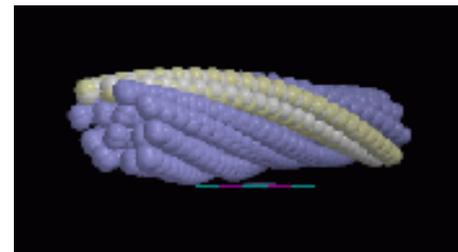
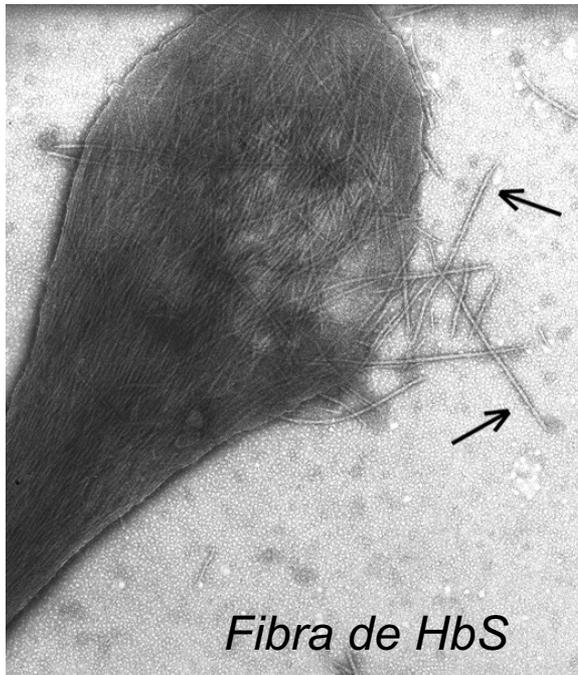
Hemácia falcêmica

A HbS apresenta um resíduo de valina na posição 6 da cadeia b, no lugar do ácido glutâmico presente na HbA.

Essa troca resulta em alteração da solubilidade da HbS, que apresenta tendência de polimerizar quando desoxigenada, formando fibras que se depositam dentro da hemácia, deformando-a.

Deformadas, essas hemácias são retiradas de circulação, causando o quadro anêmico.

A figura ao lado é uma micrografia de uma fibras de HbS, que se organizam por polimerização de muitas moléculas, conforme o esquema abaixo.



Motores Moleculares

- Os organismos, células, organelas e macromoléculas se movem.
- A maioria desses movimentos vem de uma classe de sistemas -motores moleculares baseados em proteínas-
- Utilizando como combustível o ATP, grandes agregados desses motores moleculares sofrem mudanças conformacionais que canalizam em uma força que leva ao movimento. Exemplo: proteínas do músculo esquelético de vertebrados.

Miosina e Actina

- A contração muscular é gerada pela interação dessas 2 proteínas.
- Homem adulto: 40 % da massa corpórea são constituídos por músculo **esquelético** (contração voluntária) e **músculos cardíacos e lisos** (contração involuntária)
- Músculos esqueléticos são compostos por 2 tipos de fibra: vermelhas e brancas.

Fibras vermelhas

- Maior conteúdo de mioglobina e outras heme-proteínas.
- Ricas em mitocôndrias
- Oxidação aeróbica de carboidratos e ácidos graxos
- Contração mais lenta e vigorosa (músculo de vôo de pássaros migradores)
- Humanos- mistura de vermelhas e brancas.

Fibras Brancas

- Energia basicamente da glicólise anaeróbica.
- São de movimento mais brusco (músculo de vôo de galinhas)

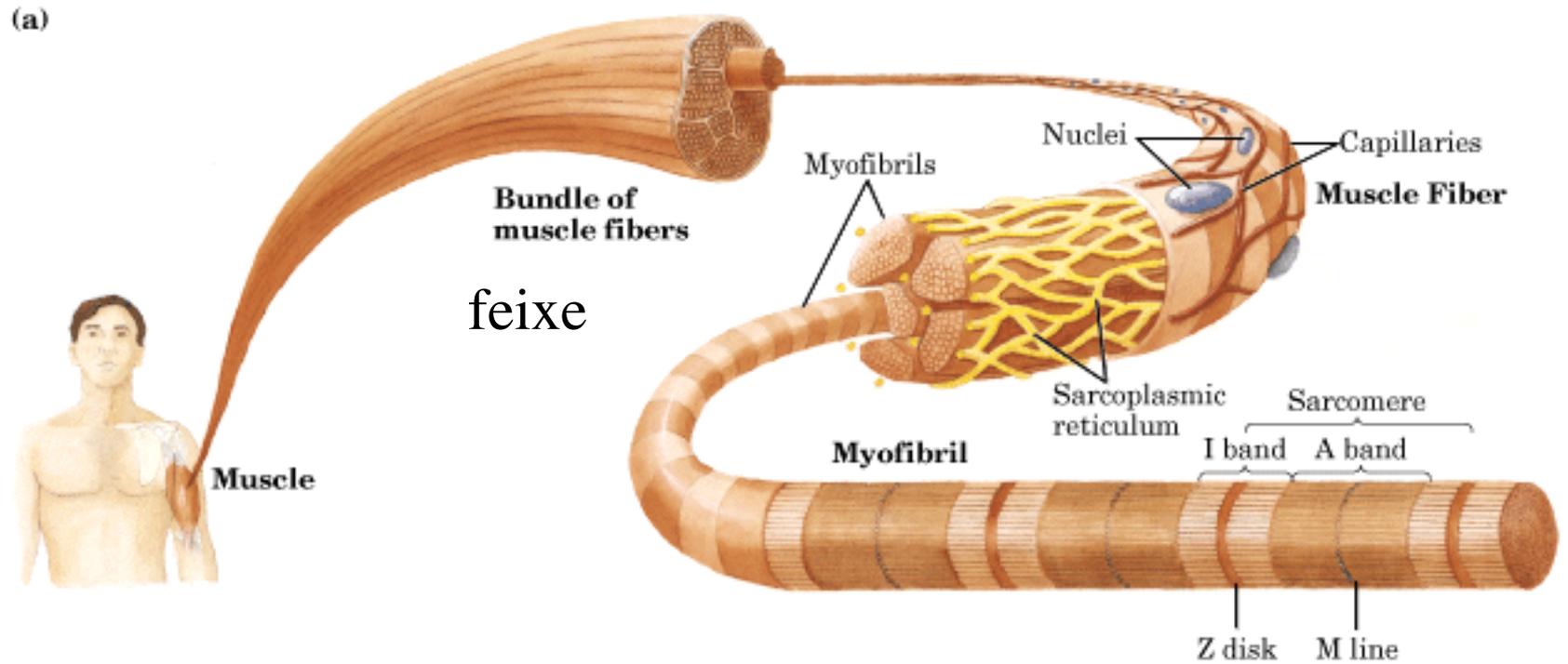
O músculo esquelético tem aspecto estriado ao microscópio óptico

- Músculo esquelético é formado por numerosas fibras, as células musculares.
- O citoplasma dessas células contém conjuntos organizados de filamentos contráteis -feixes de fibras- **miofibrilas**
- **Miofibrilas**- constituídas por filamentos grossos e finos, e sua disposição resulta no padrão de bandas que confere a aparência estriada.
- Cada miofibrila é uma série contínua de células musculares ou unidades chamadas **Sarcômeros**

As miofibrilas são cercadas uma uma estrutura membranosa chamada **retículo sarcoplasmático**.

No microscópio eletrônico observa-se zonas claras e escuras alternadas.

- A unidade funcional é o **sarcômero**
- Em intervalos determinados estão os túbulos transversos, conectados à membrana plasmática externa.
- Os núcleos e as mitocôndrias estão dentro da membrana plasmática



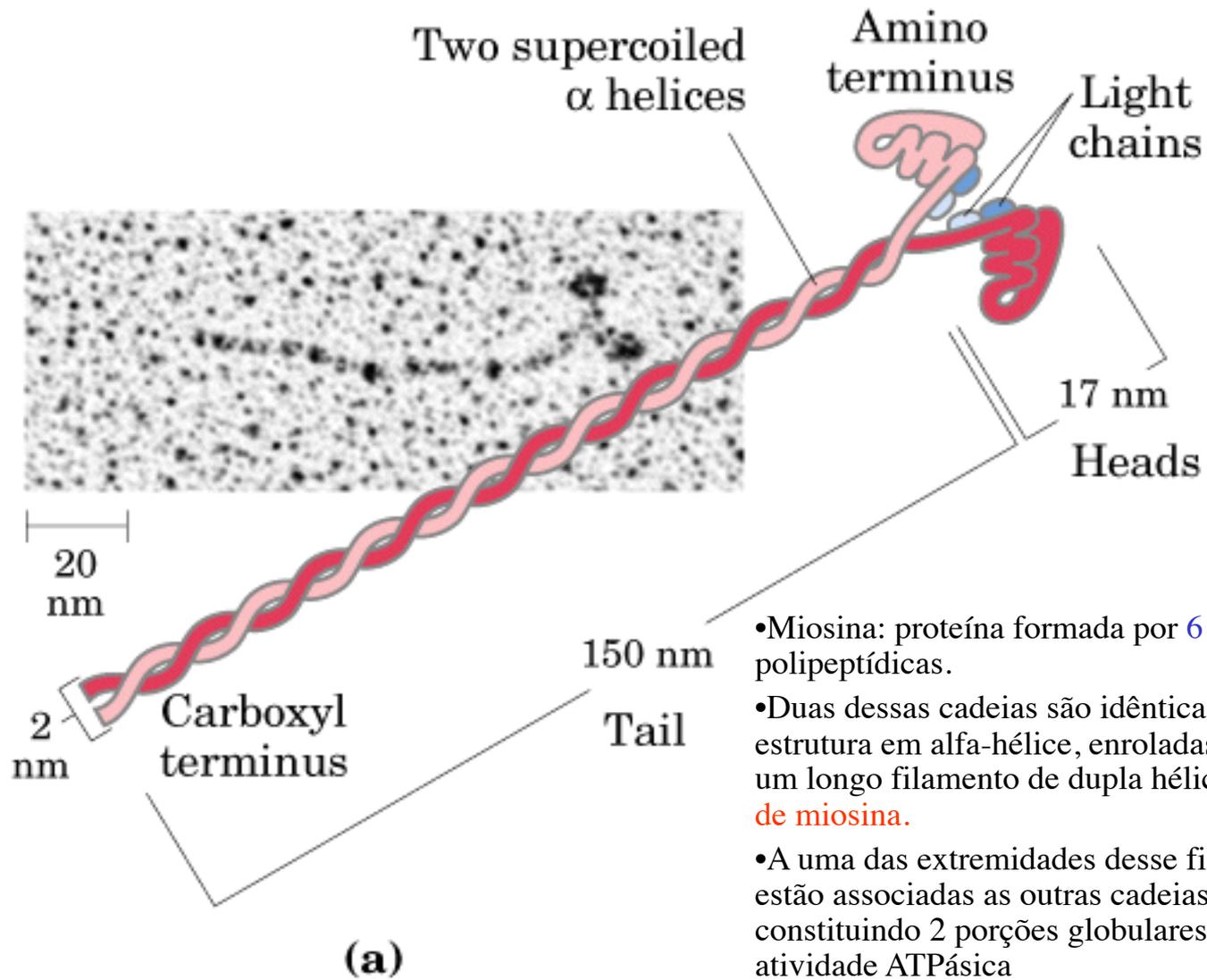
Sarcômero: unidade contrátil se estende de linha Z a Z

Modelo do filamento deslizante

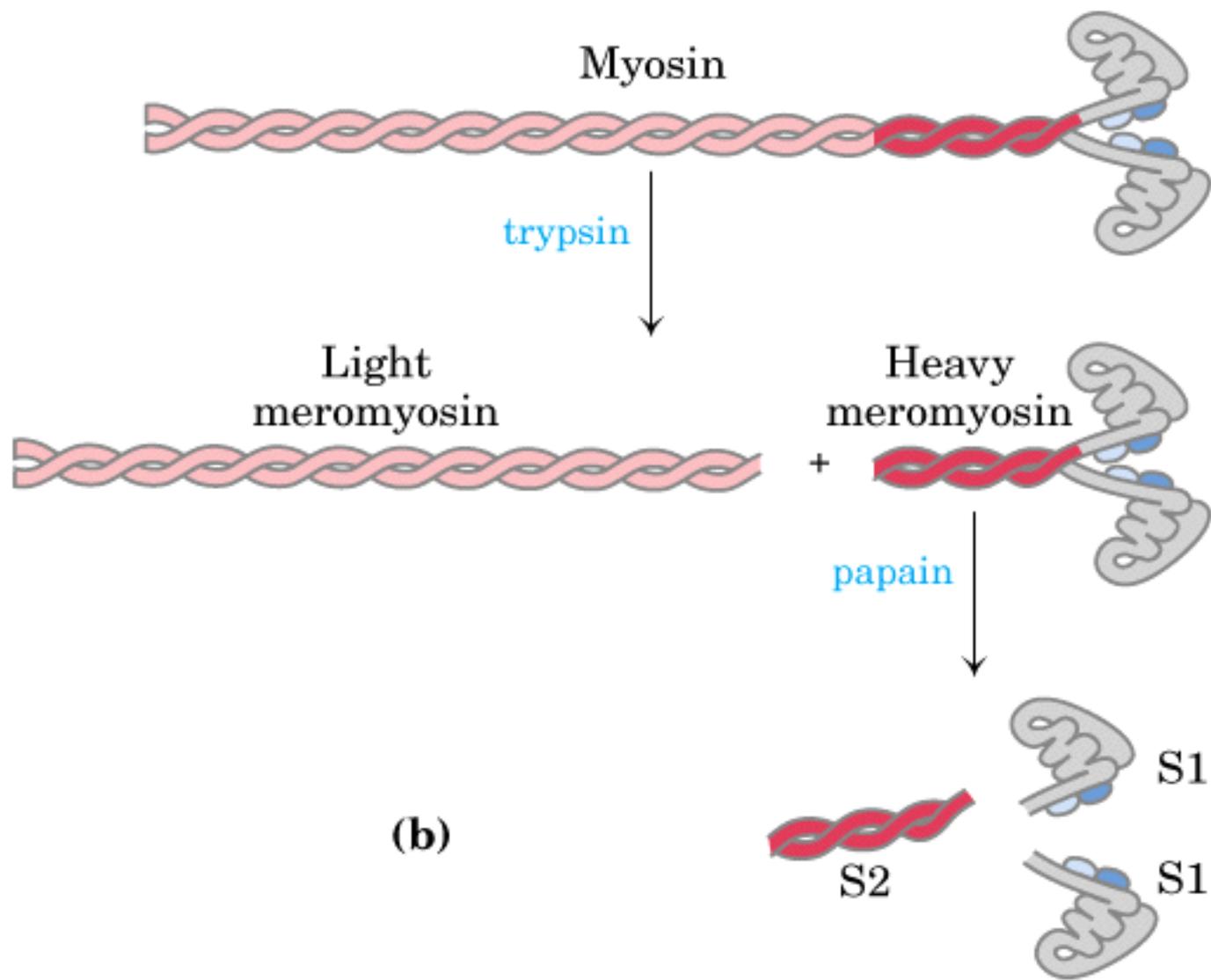
- Sinal para a contração muscular:
 - 1- Impulso elétrico, a partir de um nervo.
 - 2- Mudança química na célula do músculo
 - 3- Contração
- Transdução de sinal:
 - Elétrico → químico → mecânico

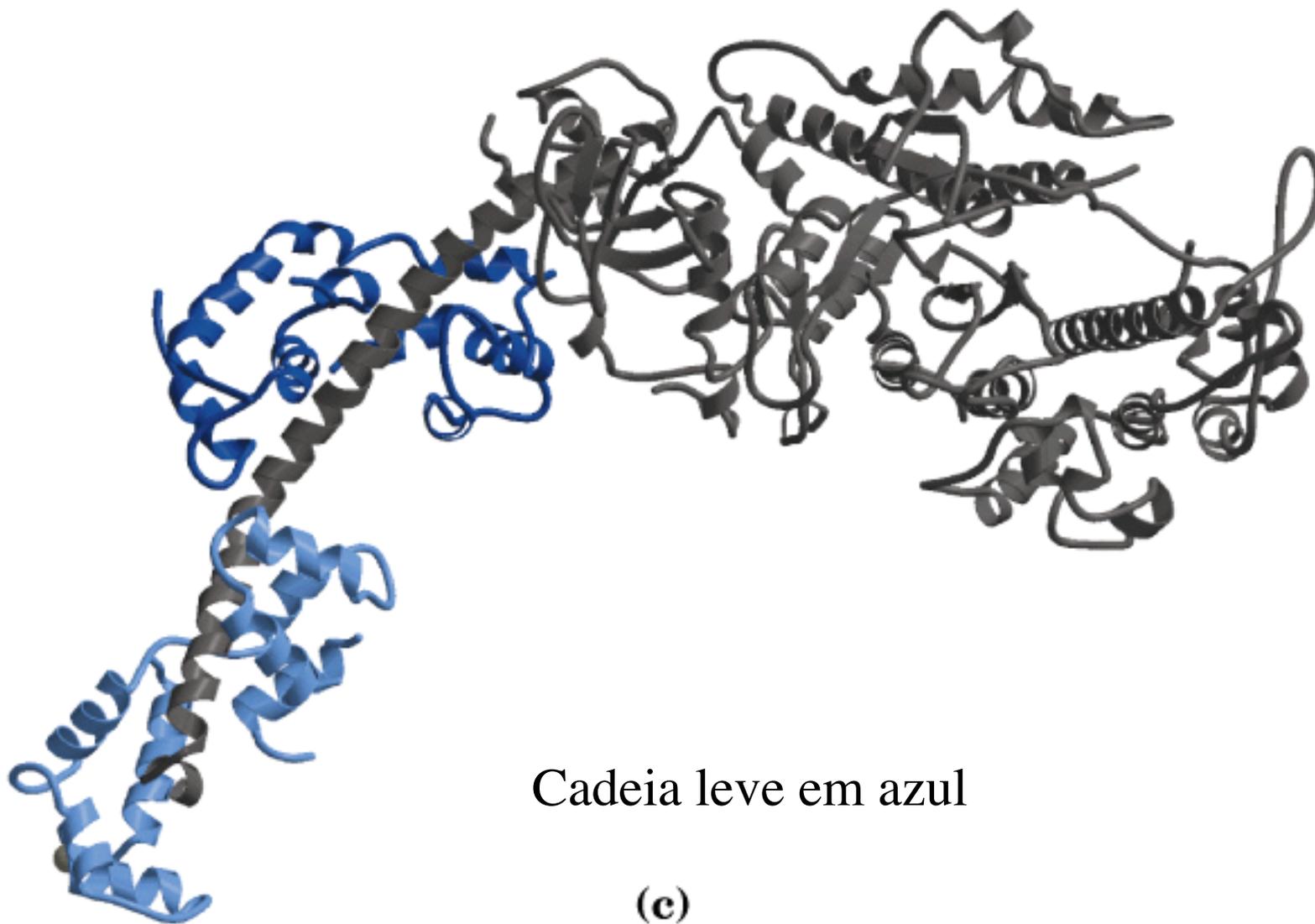
Filamentos grossos: Miosina

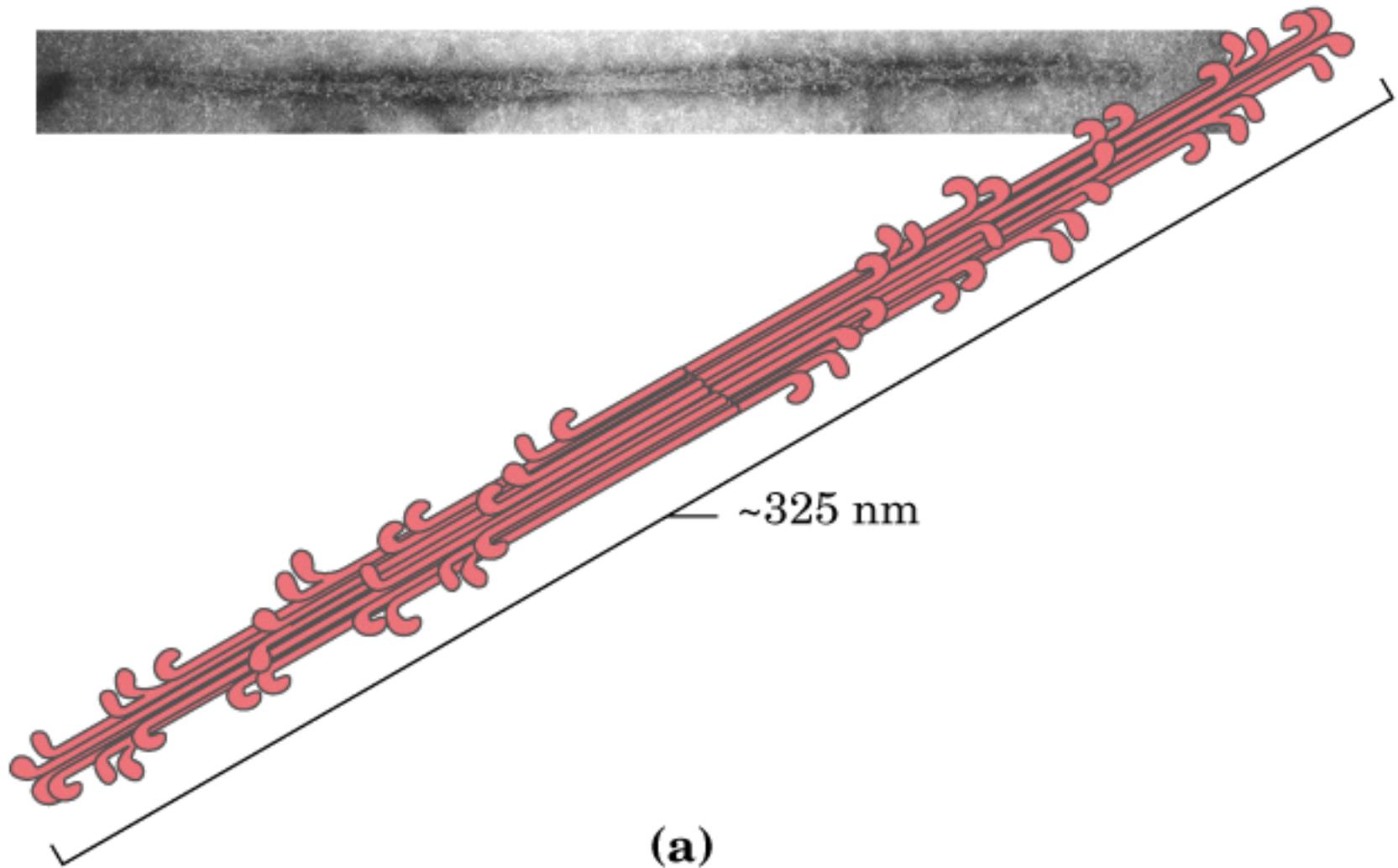
- Os filamentos grossos são constituídos por miosina.
- Miosina: proteína formada por 6 cadeias polipeptídicas.
- Duas dessas cadeias são idênticas e tem estrutura em alfa-hélice, enroladas formando um longo filamento de dupla hélice: **a cauda de miosina.**
- A uma das extremidades desse filamento estão associadas as outras cadeias, constituindo 2 porções globulares com atividade ATPásica



- Miosina: proteína formada por 6 cadeias polipeptídicas.
- Duas dessas cadeias são idênticas e tem estrutura em alfa-hélice, enroladas formando um longo filamento de dupla hélice: **a cauda de miosina**.
- A uma das extremidades desse filamento estão associadas as outras cadeias, constituindo 2 porções globulares com atividade ATPásica



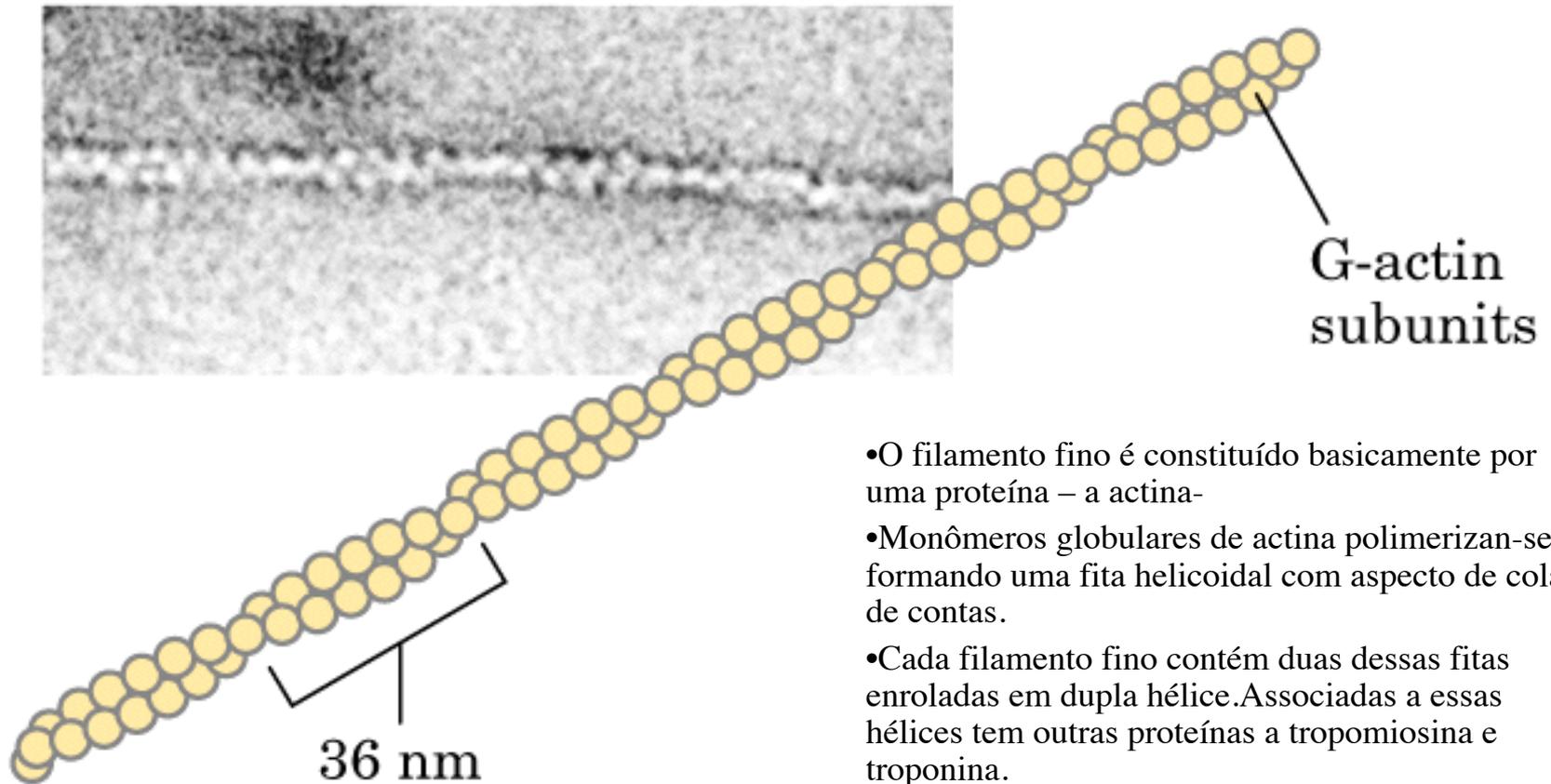




Filamentos de miosina: centenas de moléculas de miosina associadas cauda a cauda. Cabeças em direções opostas.

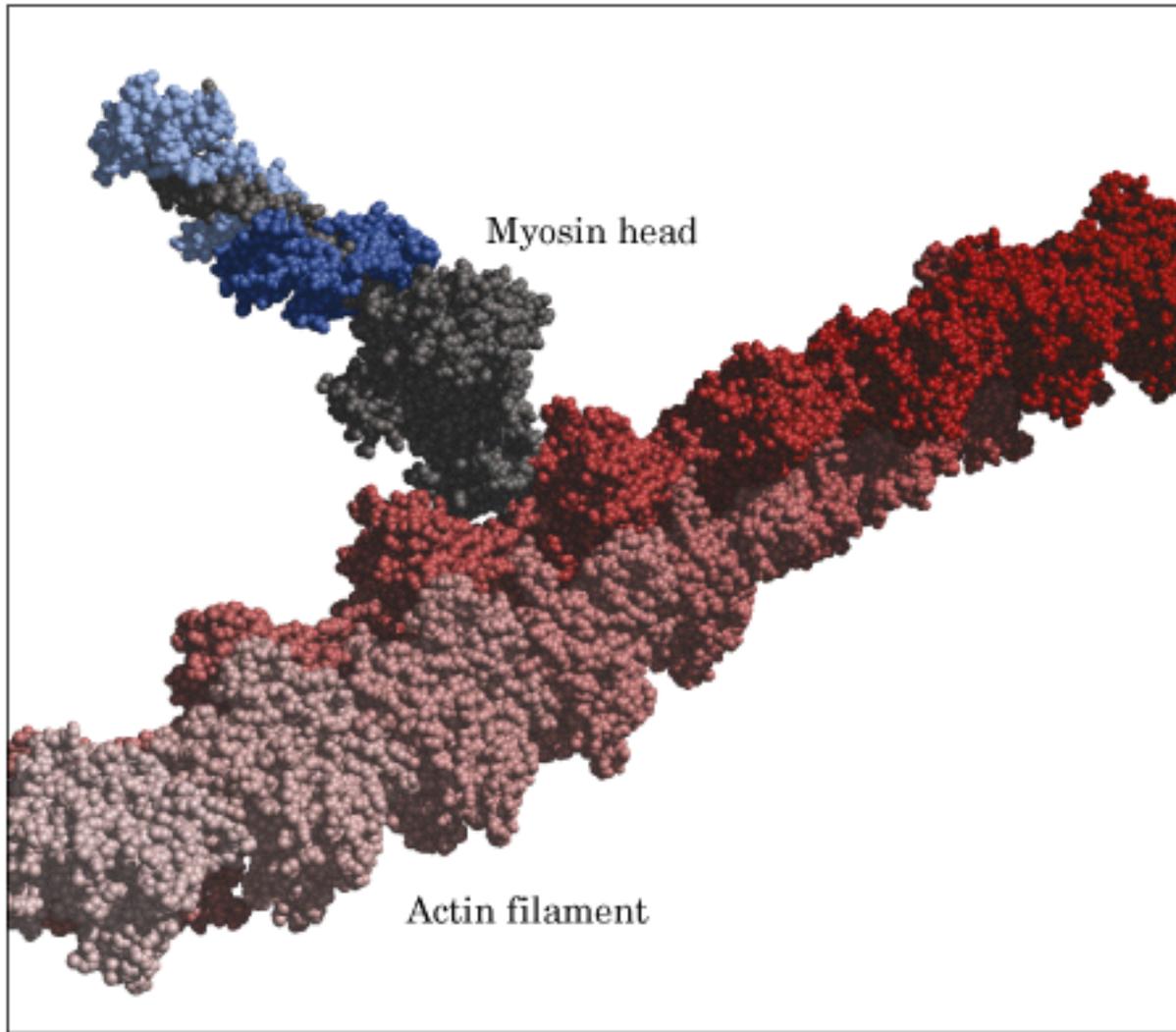
Filamentos finos: actina, tropomiosina e troponina

- O filamento fino é constituído basicamente por uma proteína – a actina-
- Monômeros globulares de actina polimerizam-se formando uma fita helicoidal com aspecto de colar de contas.
- Cada filamento fino contém duas dessas fitas enroladas em dupla hélice. Associadas a essas hélices tem outras proteínas a tropomiosina e troponina.
- Cada monômero liga e hidrolisa ATP.
- Cada filamento de actina se liga fortemente a um grupo na cabeça da miosina.



(b)

- O filamento fino é constituído basicamente por uma proteína – a actina-
- Monômeros globulares de actina polimerizam-se formando uma fita helicoidal com aspecto de colar de contas.
- Cada filamento fino contém duas dessas fitas enroladas em dupla hélice. Associadas a essas hélices tem outras proteínas a tropomiosina e troponina.
- Cada monômero liga e hidrolisa ATP.
- Cada filamento de actina se liga fortemente a um grupo na cabeça da miosina

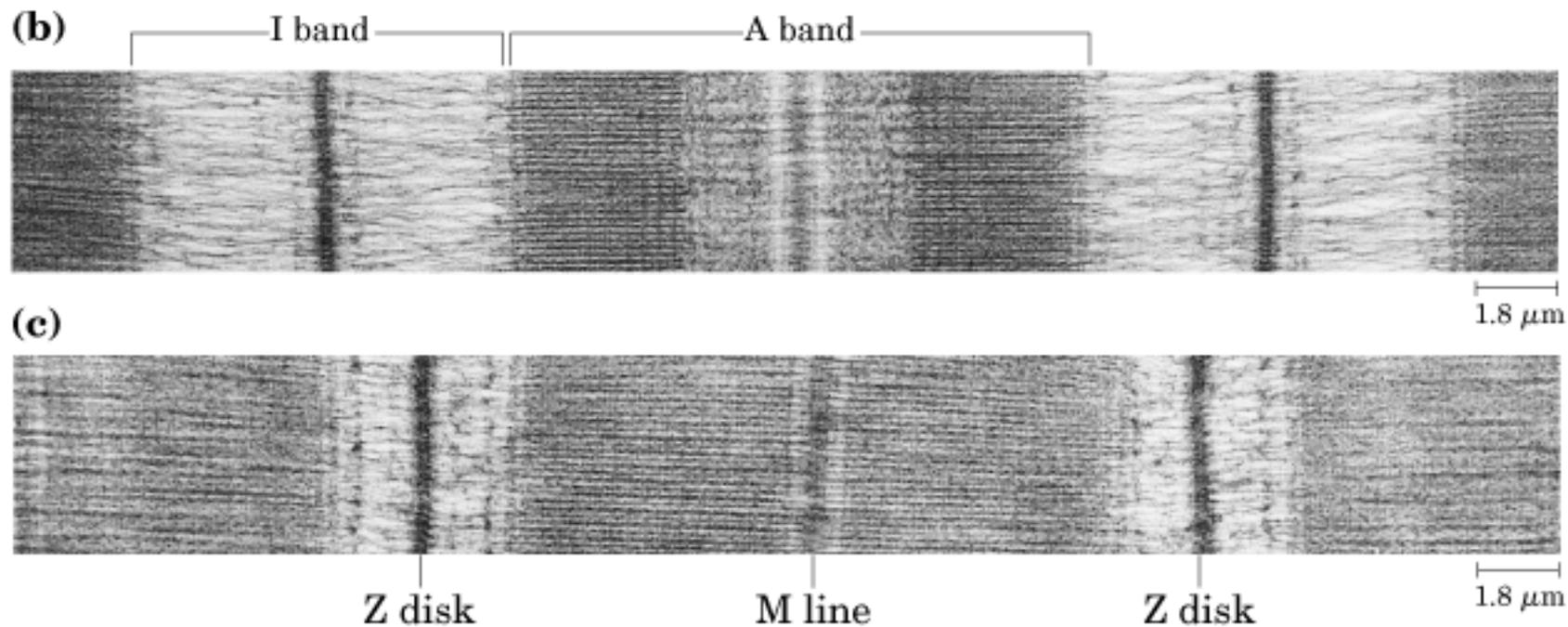


(c)

O filamento fino de miosina desliza em relação ao grosso na contração muscular

- Quando o ATP não está ligado na miosina, uma face da miosina está ligada na actina.
- Quando o ATP se liga na miosina e é hidrolisado, várias mudanças conformacionais ocorrem e faz com que ela se ligue em outra subunidade .

relaxado

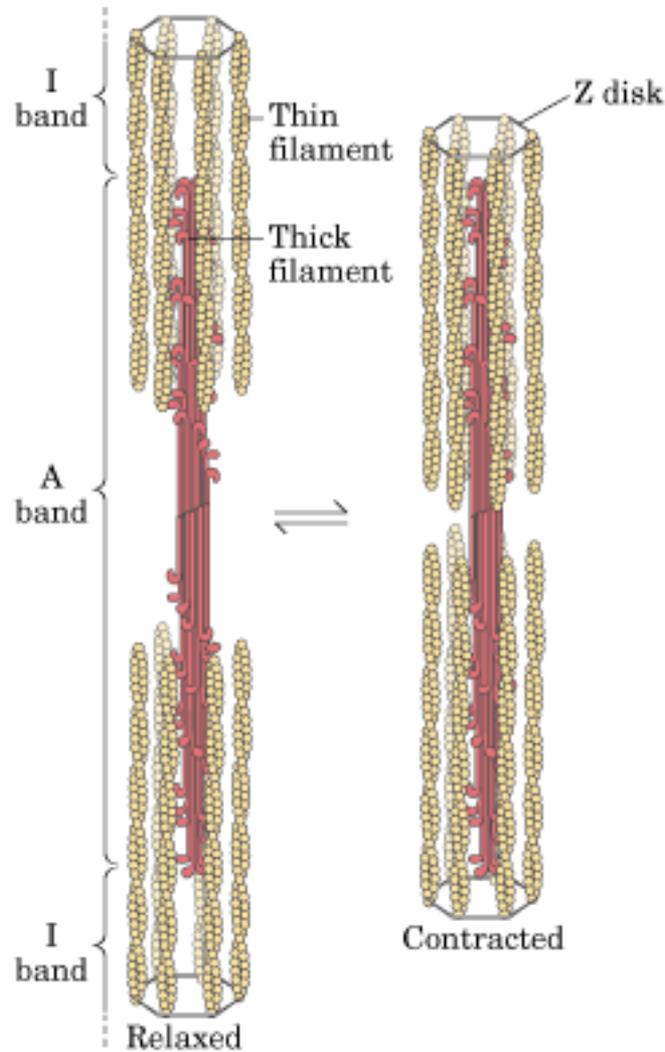


contraído

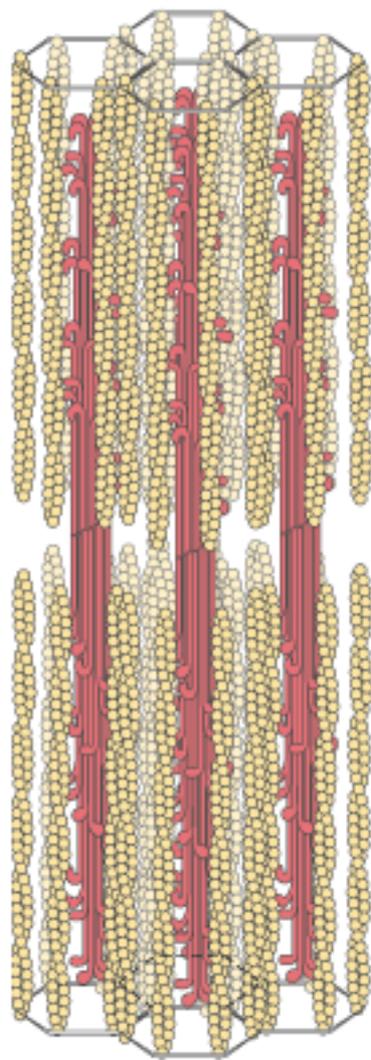
O filamento fino de miosina desliza em relação ao grosso na contração muscular

- Quando o ATP não está ligado na miosina, uma face da miosina está ligada na actina.

- Quando o ATP se liga na miosina e é hidrolisado, várias mudanças conformacionais ocorrem e faz com que ela se ligue em outra subunidade



(a)



(b)

O movimento das cabeças de miosina é semelhante a um remo empurrando o filamento fino de actina

