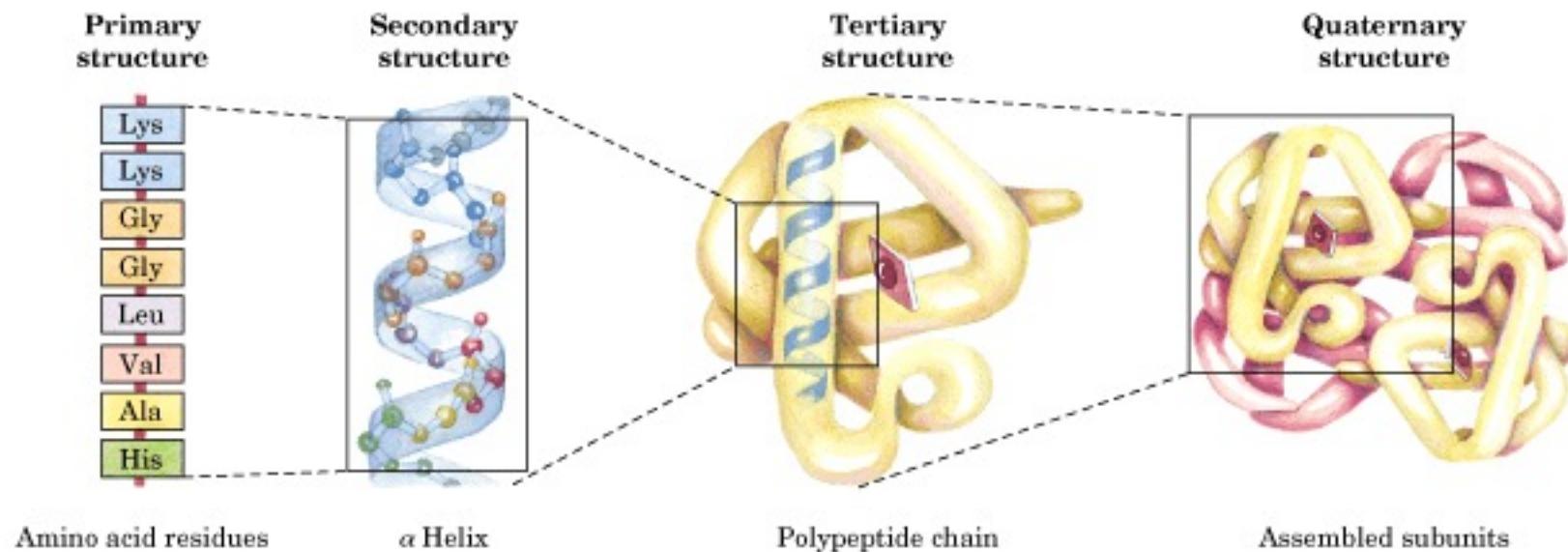
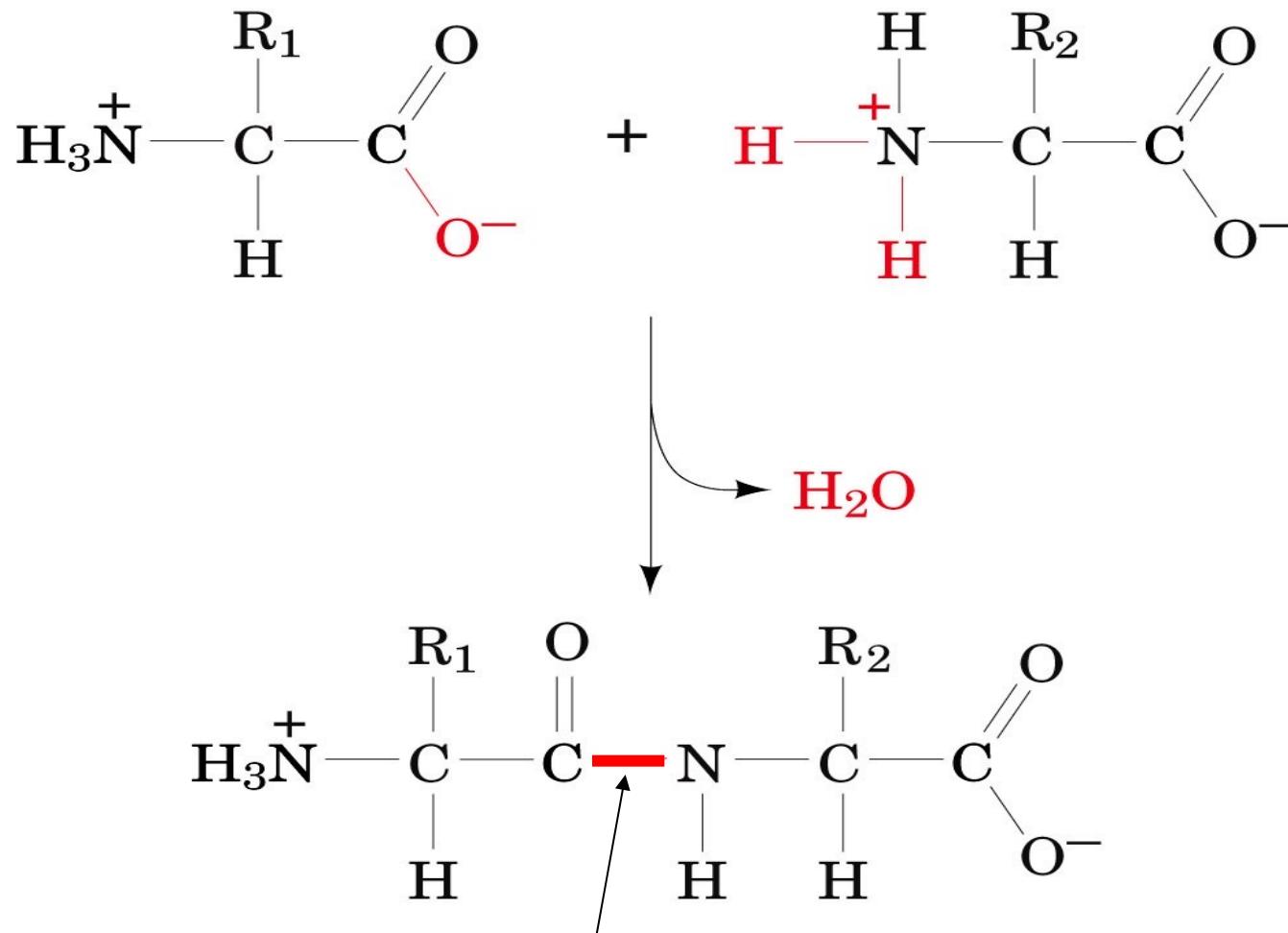


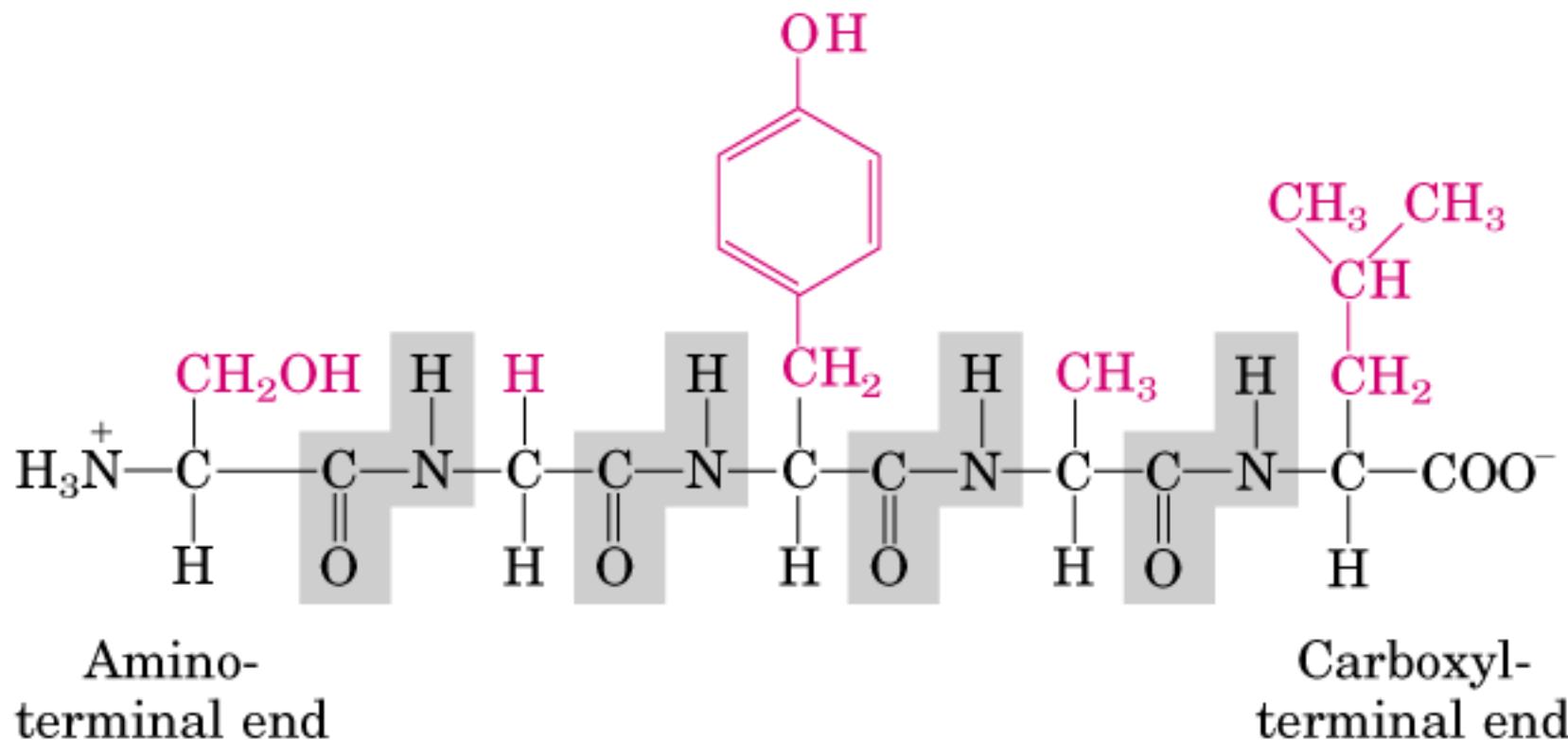
Estrutura das Proteínas pode ser descrita em 4 níveis de organização

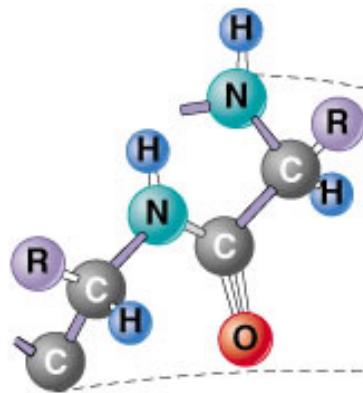


Condensação de 2 α -aminoácidos para formar um dipeptídeo

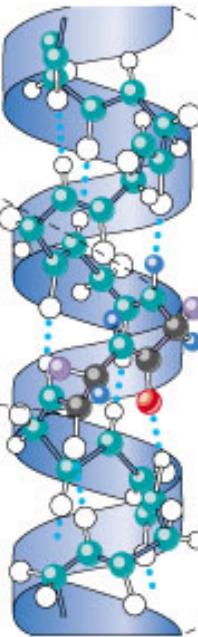


Ligaçāo Peptídica
(Emil Fischer & Franz Hofmeister 1902)

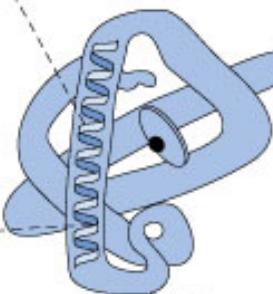




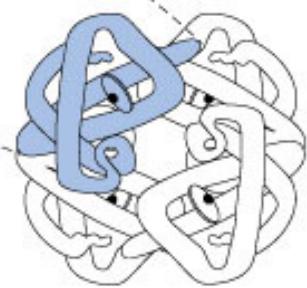
(a) Primary structure



(b) Secondary structure



(c) Tertiary structure



(d) Quaternary structure

Conformação Tridimensional



Interação entre subunidades

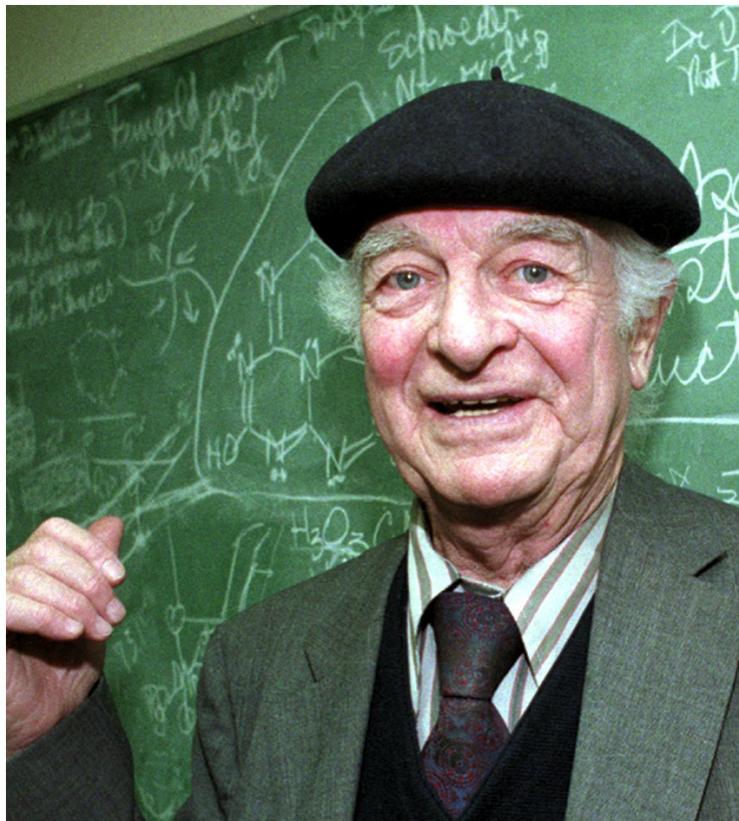
Estrutura Secundária

A estrutura secundária é definida como:
a **conformação local** do esqueleto de
ligações peptídicas.

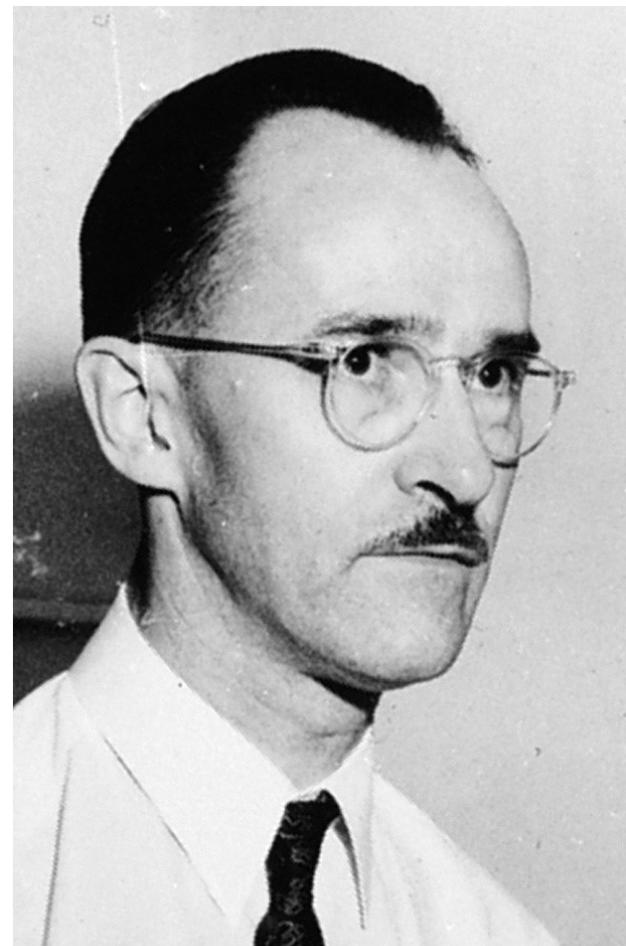


Arranjo espacial dos átomos de uma proteína

Estudos de Raio X de Aminoácidos e Peptídeos (1930-1940)



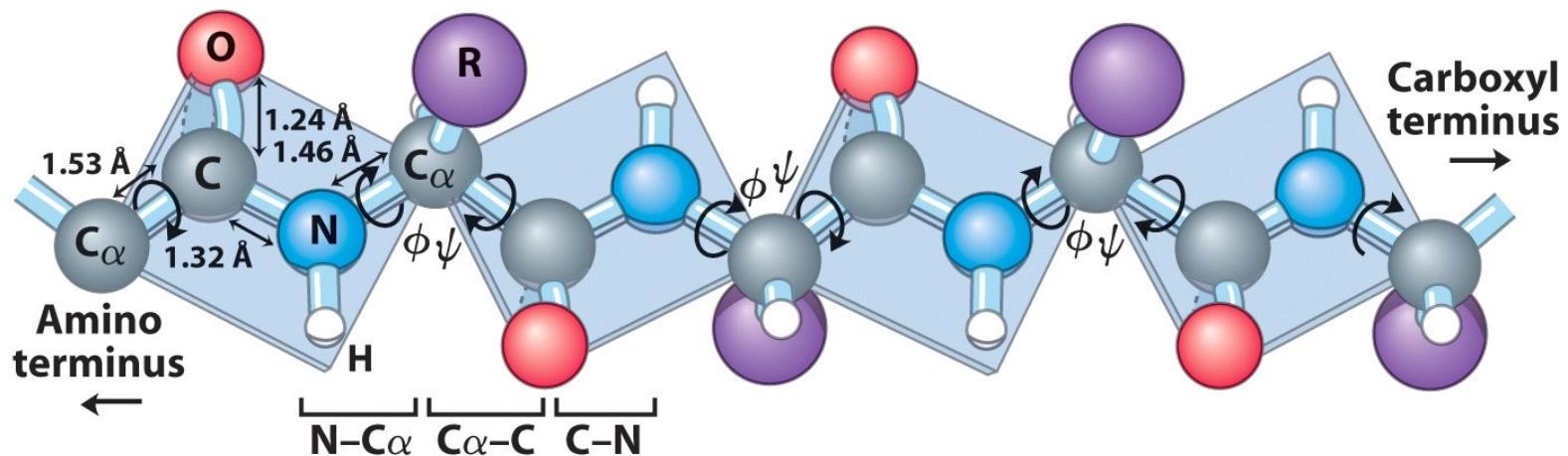
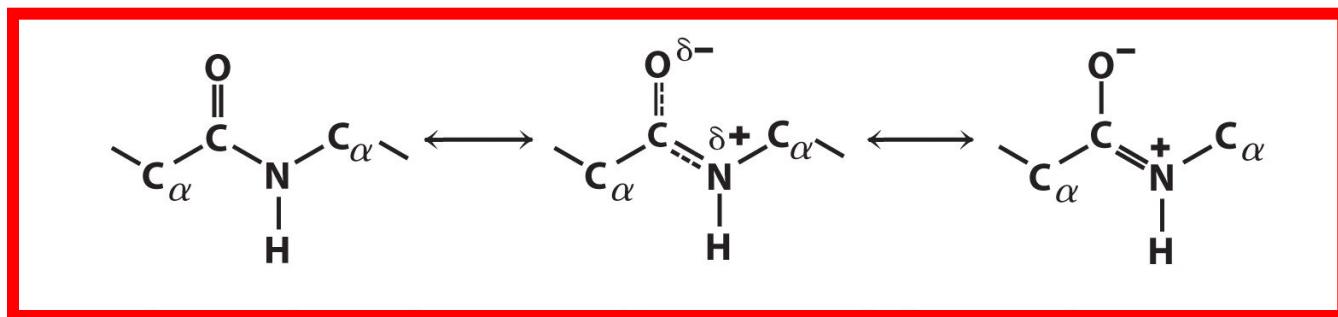
Linus Pauling, 1901–1994



Robert Corey, 1897–1971

Ligaçāo Peptídica

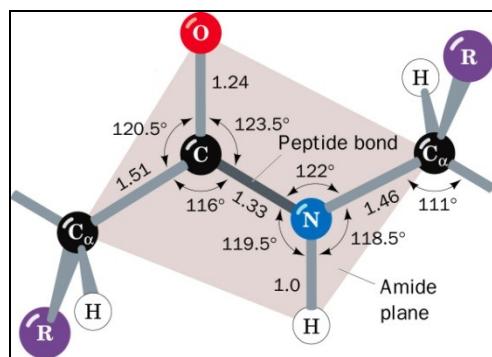
A ligação peptídica possui uma estrutura planar e rígida



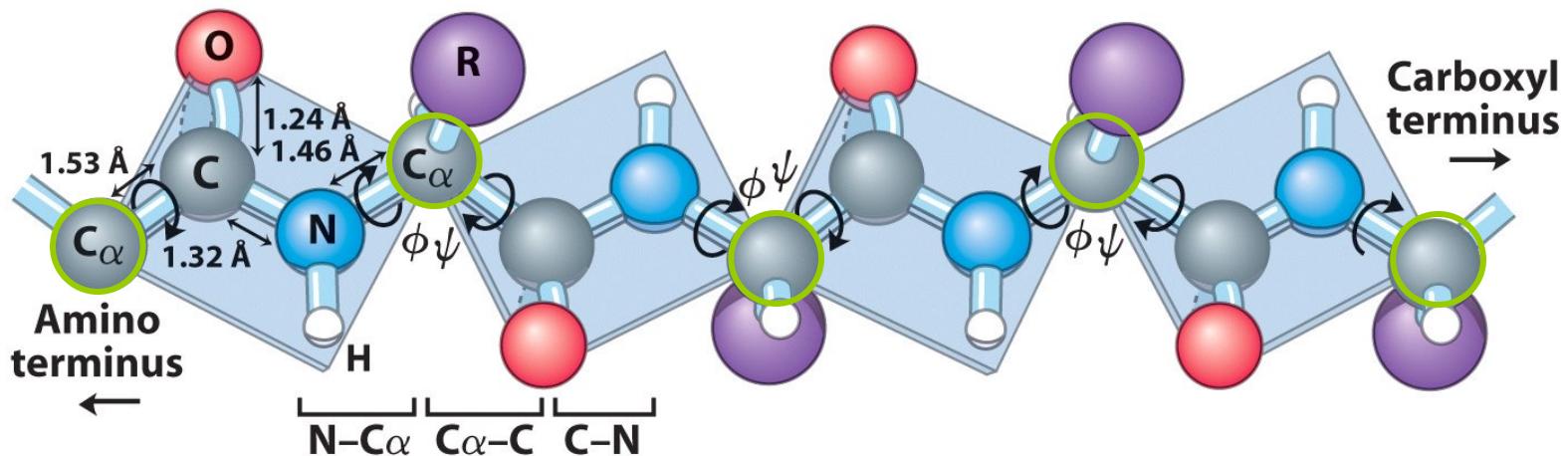
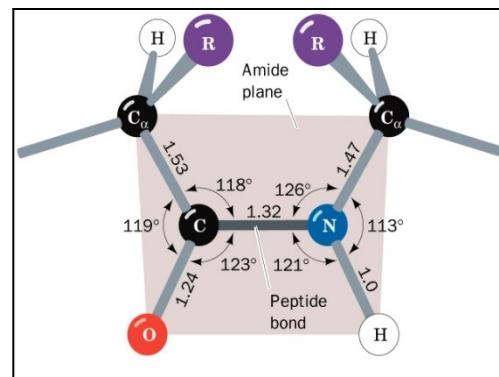
Ligaçāo Peptídica

Os grupos peptídicos, com poucas exceções, assumem a configuração *trans*
($C\alpha$ estão em lados opostos da ligação peptídica)

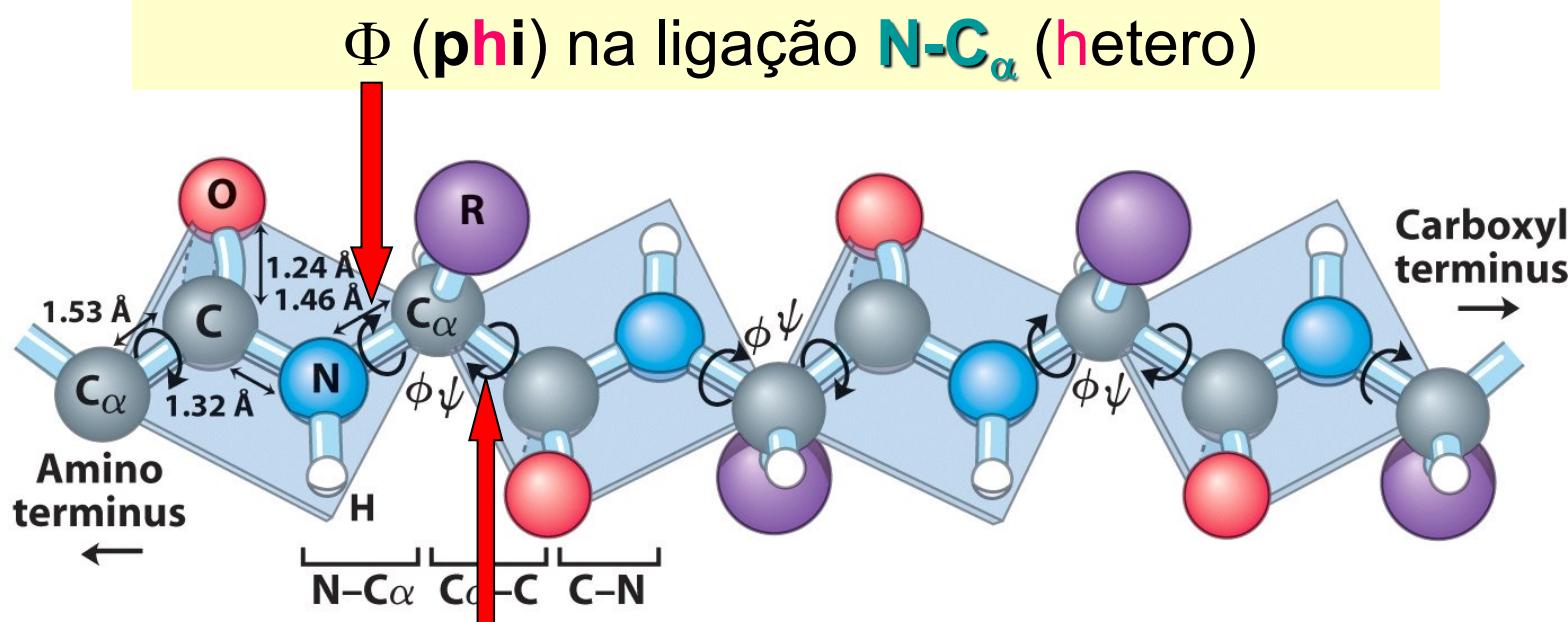
Trans



Cis



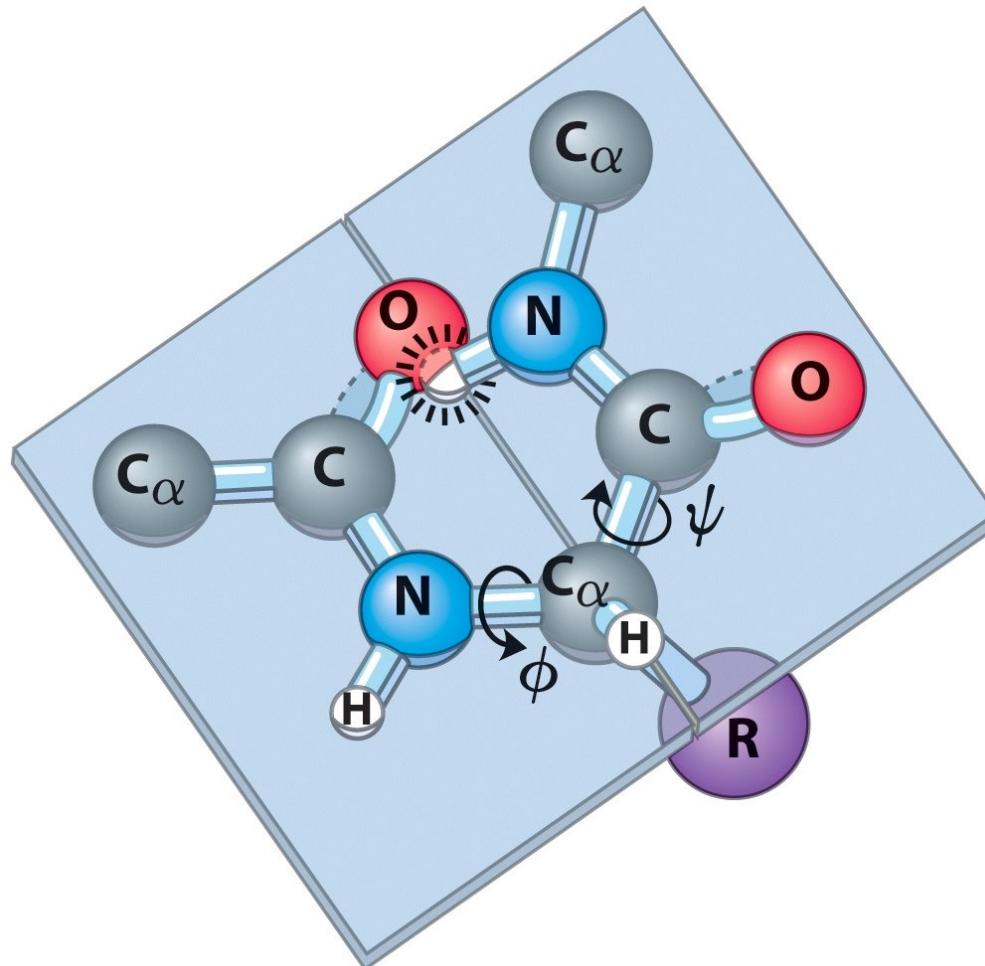
A conformação da cadeia peptídica é determinada pelos Ângulos de Torção: Phi (Φ) e Psi (Ψ)



Phi (Φ) e Psi (Ψ) podem variar entre $+180^\circ$ a -180° PORÉM

Certos valores de Phi (Φ) e Psi (Ψ) não são permitidas devido a **impedimentos estéricos** entre átomos de grupos vizinhos

Conformação não permitida devido à impedimento estérico



$$\begin{aligned}\phi &= 0 \\ \psi &= 0\end{aligned}$$

Valores Estericamente Permitidos de ϕ e ψ : Diagramas de Ramachandran

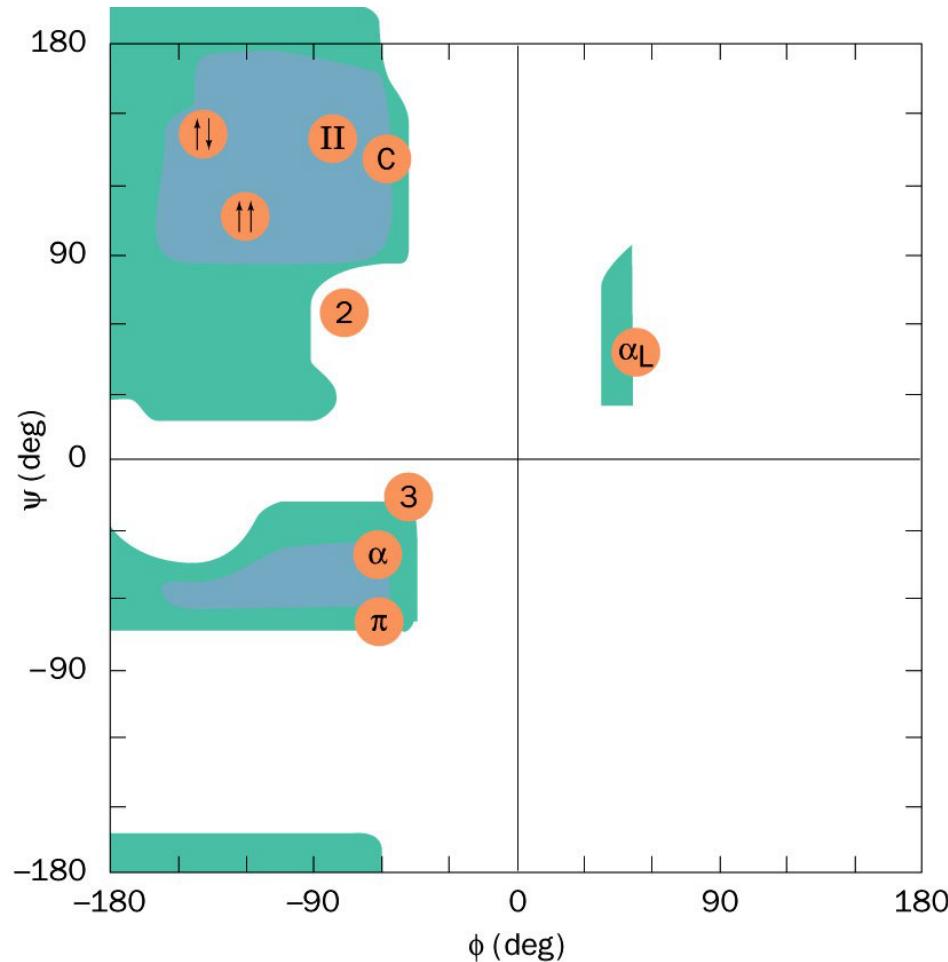


Figura: Diagrama de Ramachandran para Polialanina

Valores Estericamente Permitidos de ϕ e ψ : Diagramas de Ramachandran

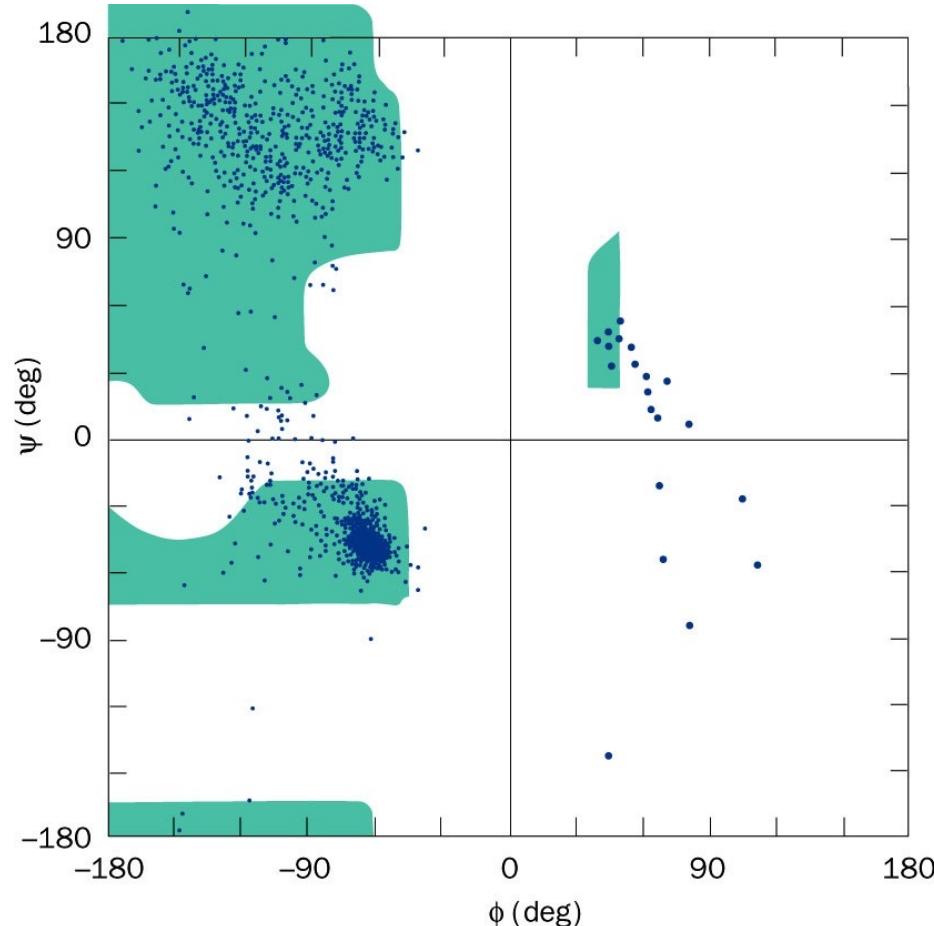
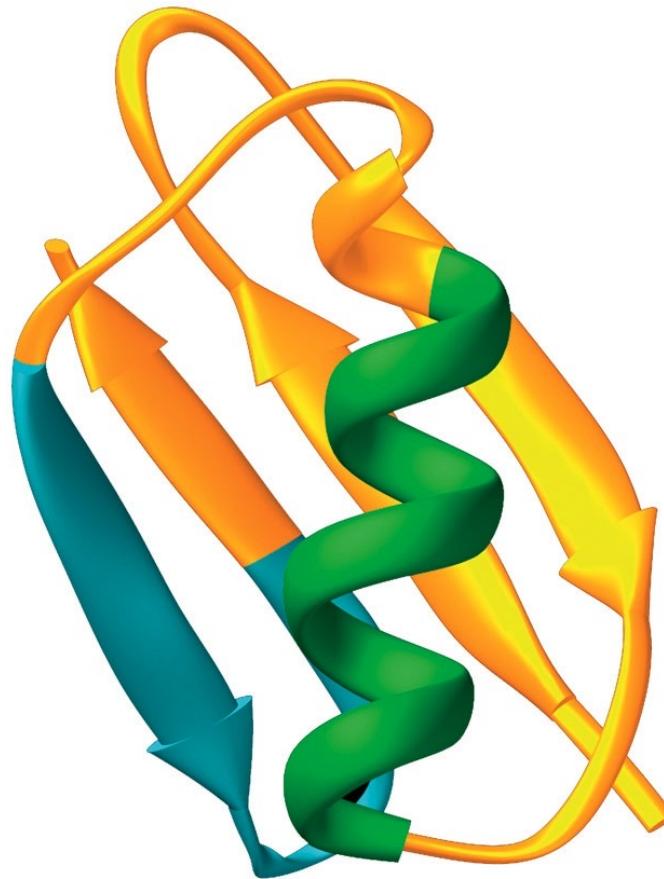


Figura: Diagrama de Ramachandran mostrando ângulos de torsão determinados para 12 proteínas diferentes

Estrutura Secundária

Existem 2 estruturas regulares predominantes: α -hélice e a follha- β



NMR structure by Angela Gronenborn and Marius Clore, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland

α -hélice

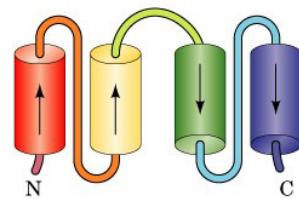
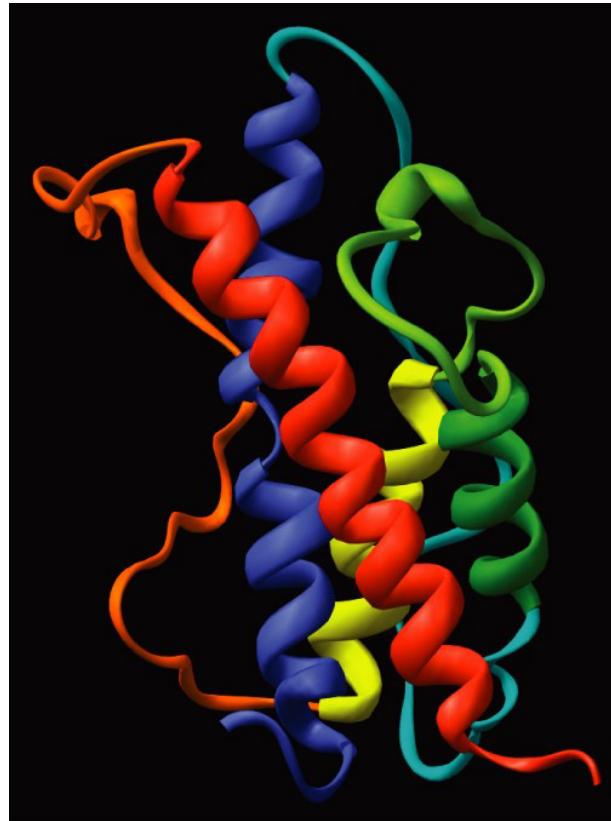


Figure 8-47b (Voet, 3ed.)

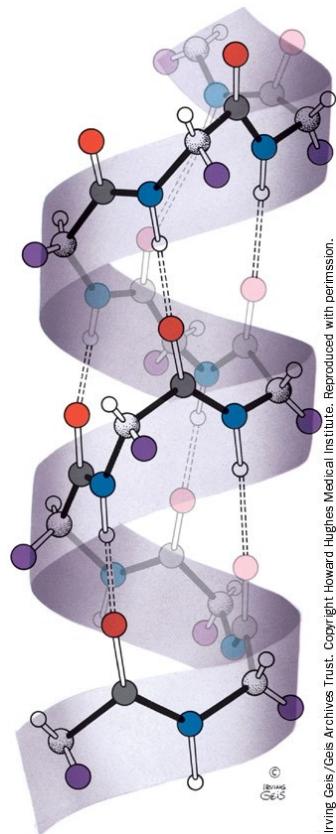
Estrutura por raio-X de proteína de feixe de 4 hélices.
(b) Hormônio do crescimento humano.

α -hélice

- A α -hélice é um tipo de estrutura secundária comum de proteínas.
- É a estrutura predominante das α -queratinas (cabelos, chifre, unhas, etc.)

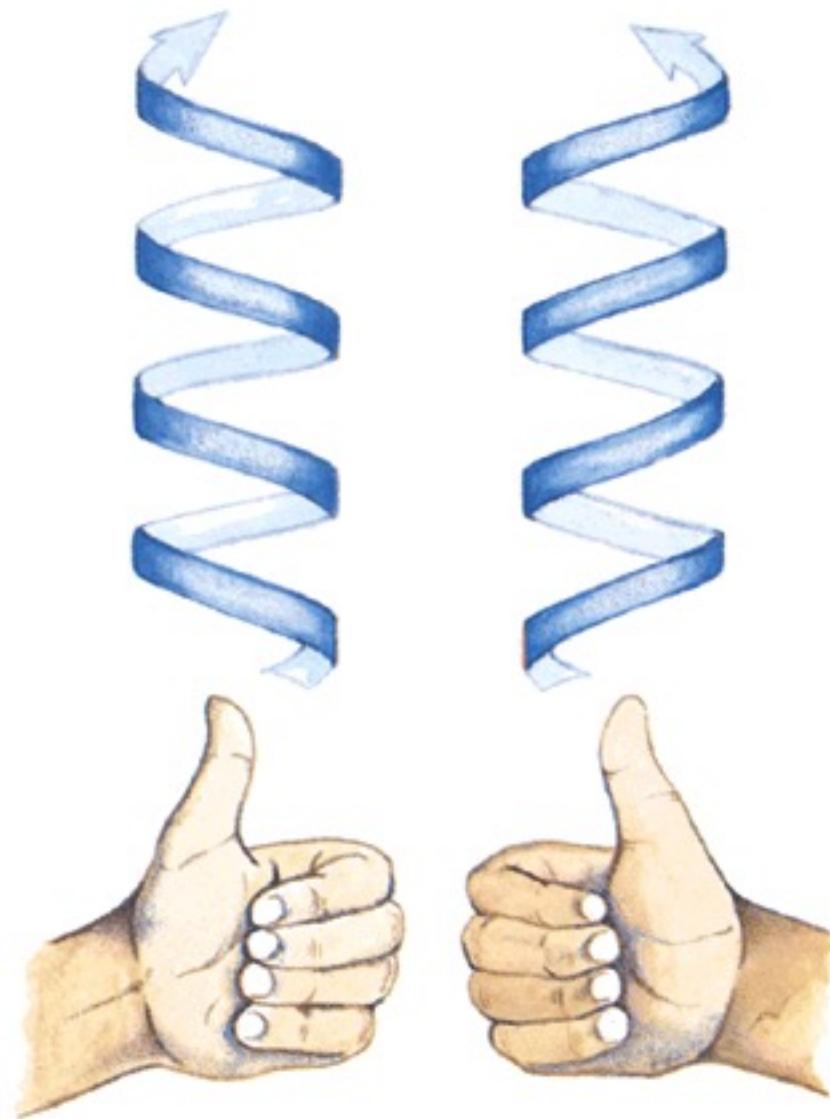
O esqueleto do polipeptídeo está organizado ao redor de um eixo maior da molécula na forma de uma hélice.

Grupos R dos aminoácidos projetam-se para fora.

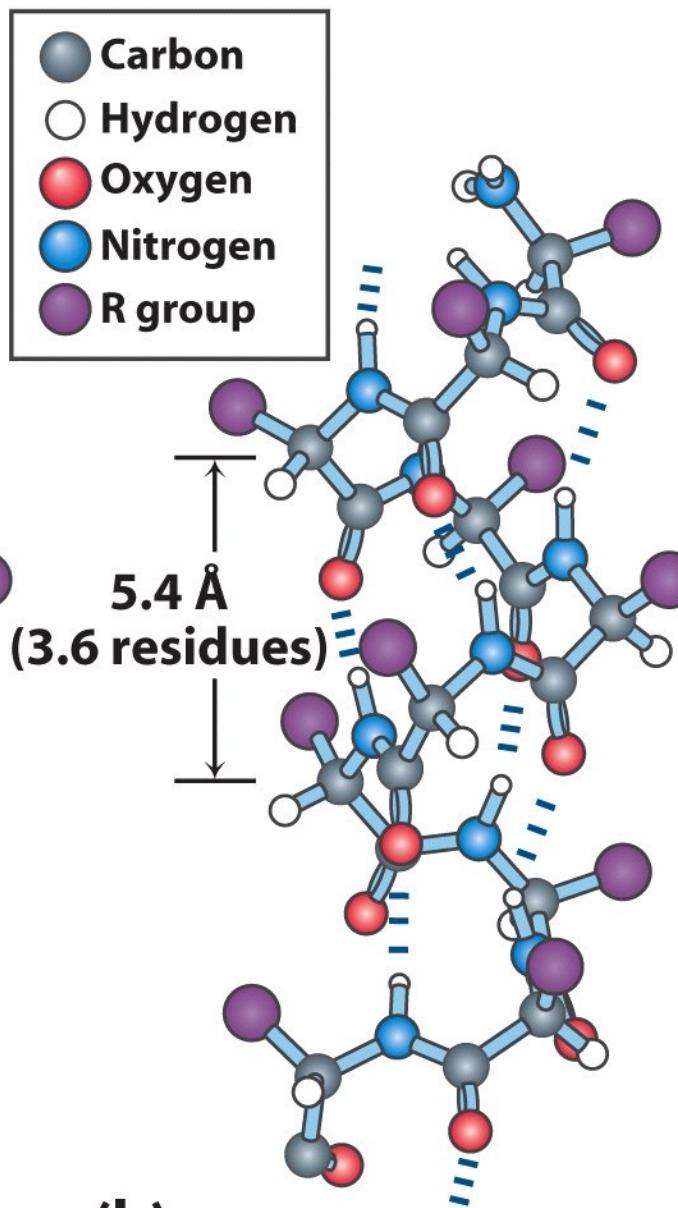
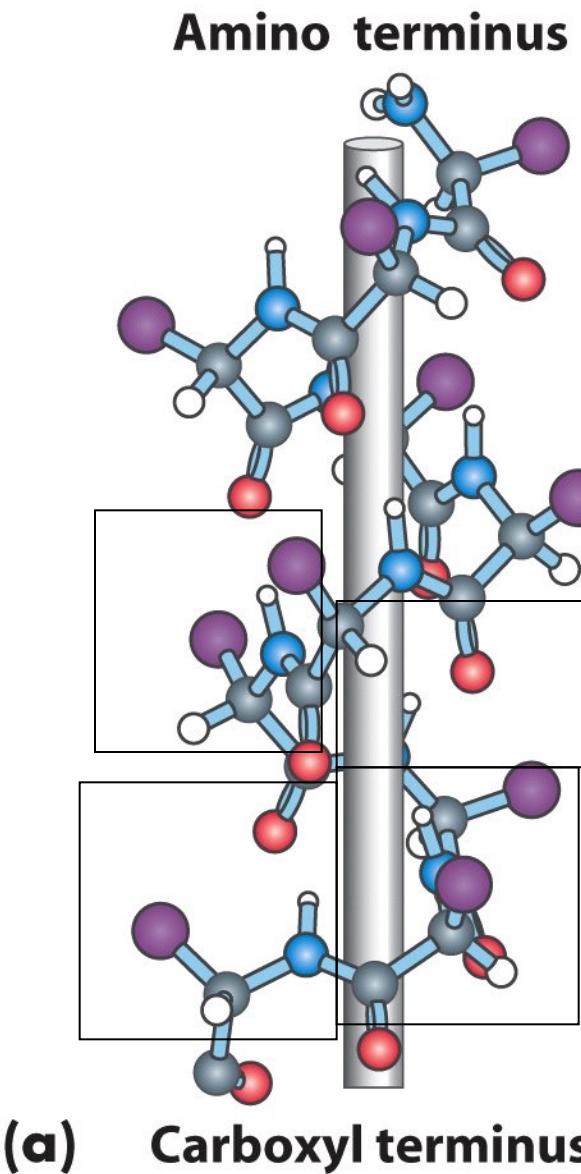


$$\phi = -60^\circ$$

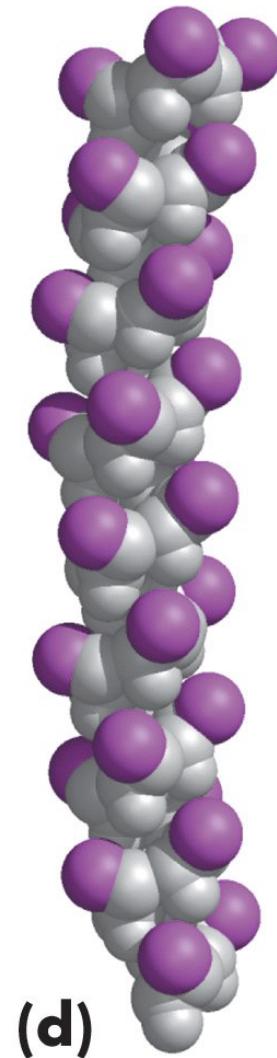
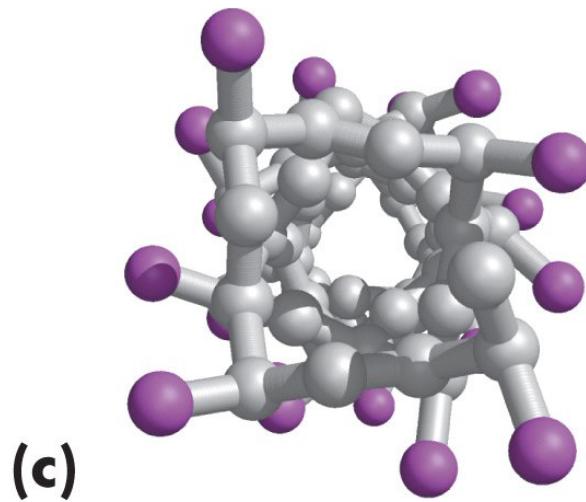
$$\psi = -45 \text{ a } -50^\circ$$



Pontes de Hidrogênio Mantêm a Estrutura Helicoidal



Cadeias Laterais estão projetadas para fora do eixo



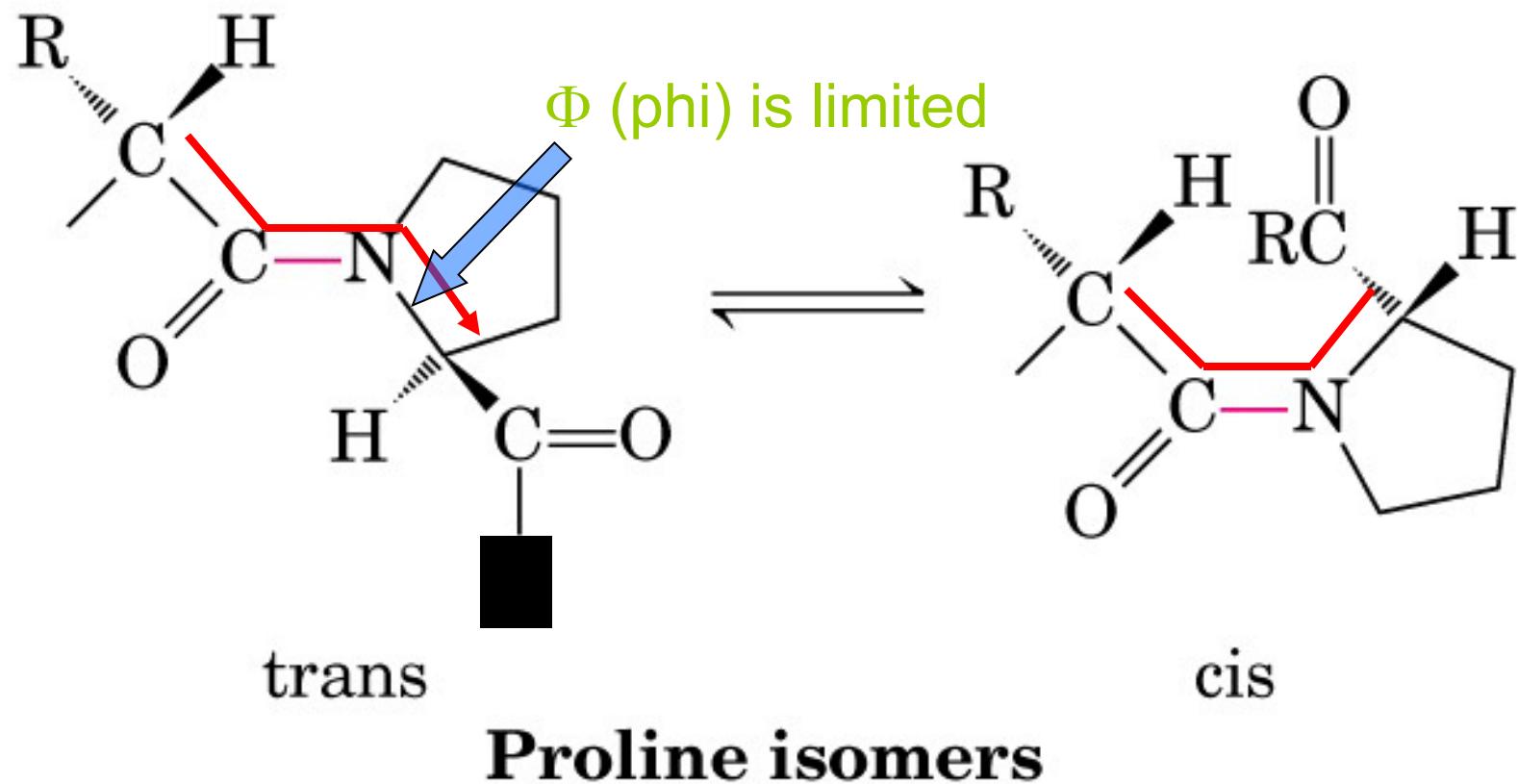
Space-filling Model

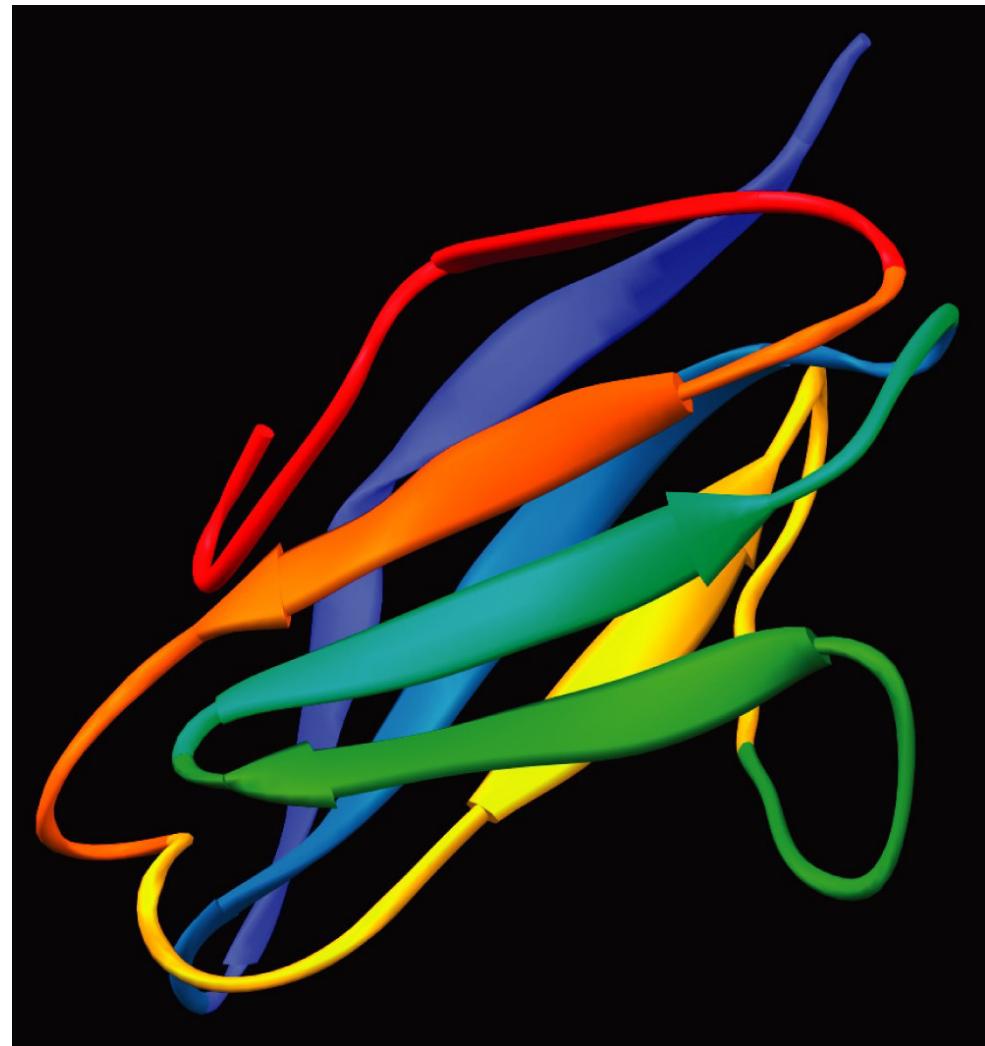
A estabilidade da α -hélice

Fatores que impõe restrições na estabilidade da hélice:

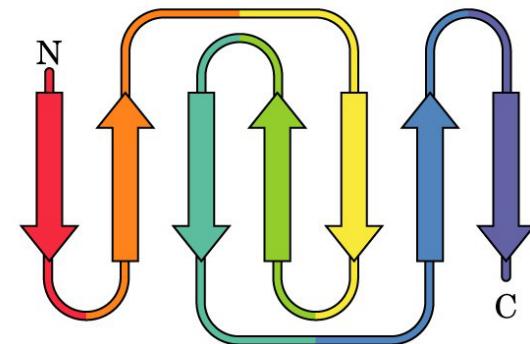
- 1. Repulsão (ou Atração) eletrostática entre cadeias laterais carregadas (grupos R)**
- 2. Grupos R muito volumosos**
- 3. Presença de Prolina e Glicina**

Prolina desestabiliza a hélice: o átomo de nitrogênio faz parte de um anel rígido.





Folhas β



103 resíduos
Folhas β representadas por setas planas apontando para o C-terminal.

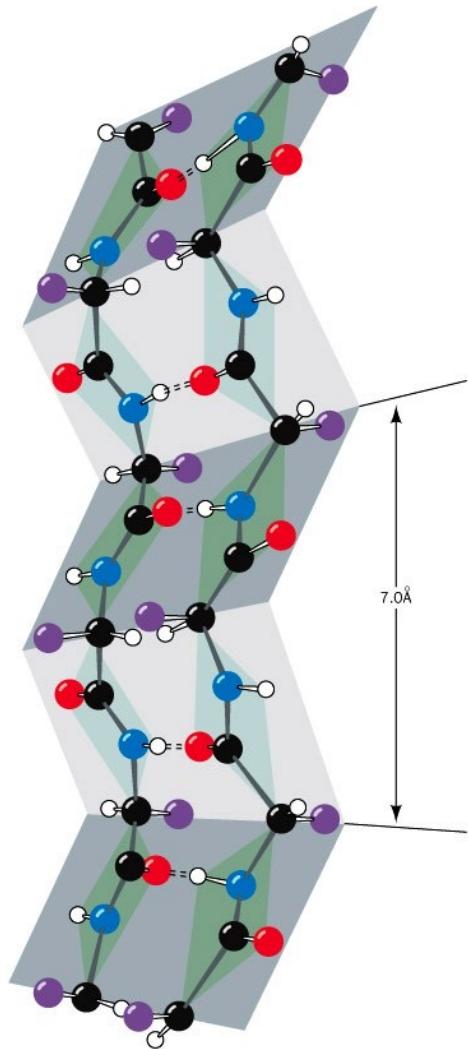
Figure 8-48 (Voet, 3ed.)

O padrão de dobramento das imunoglobulinas.
Estrutura por raio-X do domínio N-terminal do fragmento FabNew da imunoglobulina humana.

Folhas β

A conformação β é um tipo de estrutura secundária que **maximiza as pontes de hidrogênio** entre os esqueletos peptídicos, enquanto mantém os ângulos de torsão permitidos.

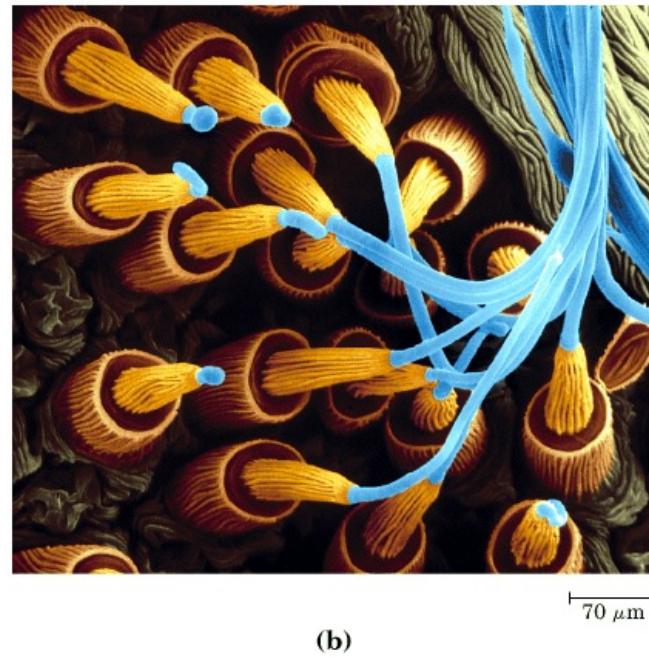
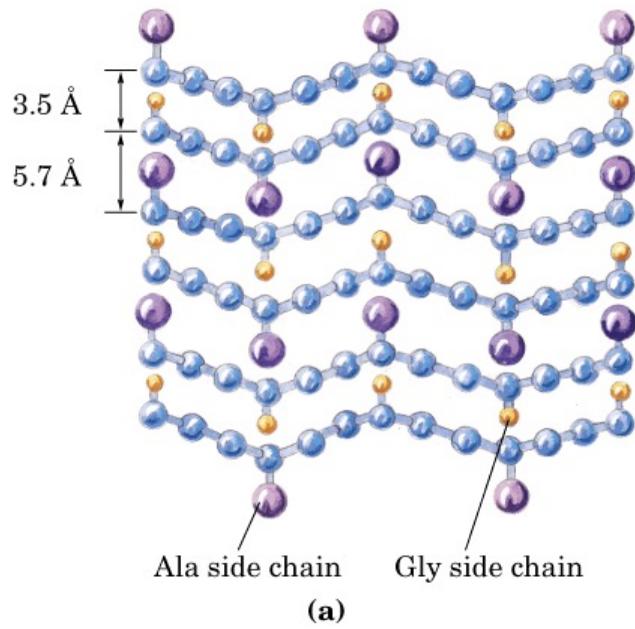
O esqueleto da cadeia polipeptídica é **extendido em zig-zag**.



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

Folhas β

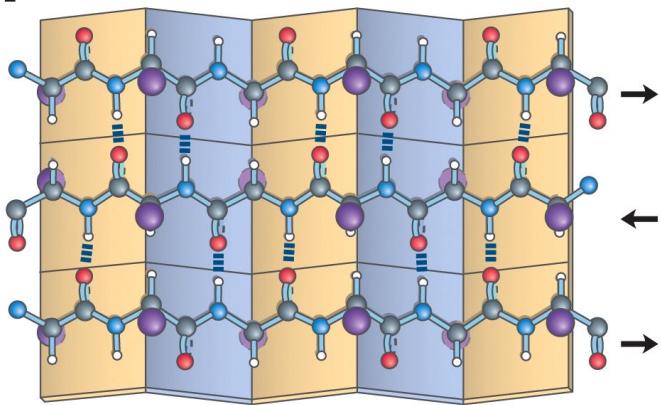
- Ex.: **fibroína** da seda e teias de aranha
- As cadeias polipeptídicas encontram-se dispostas lado a lado formando uma estrutura em **folha pregueada β** .



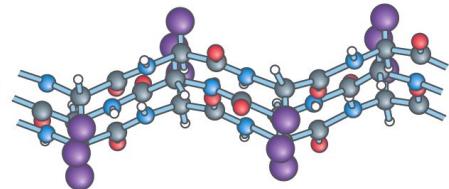
Folhas β

(a) Antiparallel

Top view

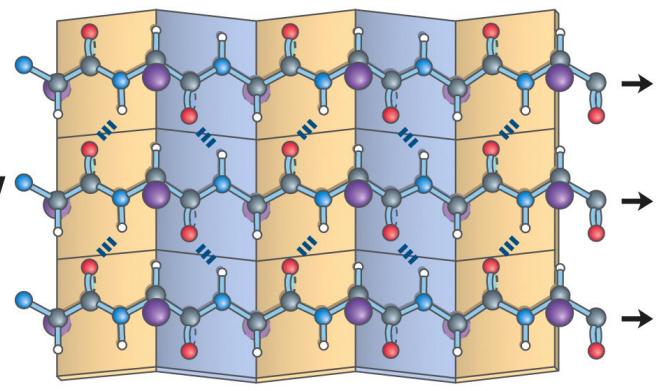


Side view

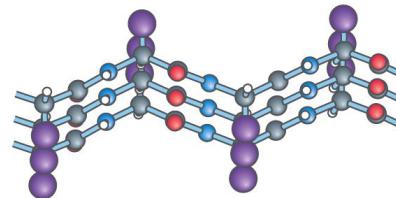


(b) Parallel

Top view



Side view



As cadeias podem ser: **paralelas** ou **anti-paralelas**.

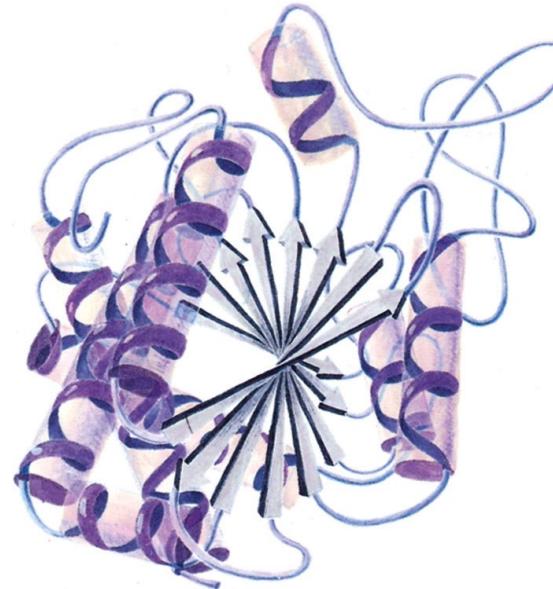
Pontes de H perpendiculares ao eixo da cadeia

Grupos R projetam-se para cima e para baixo da cadeia

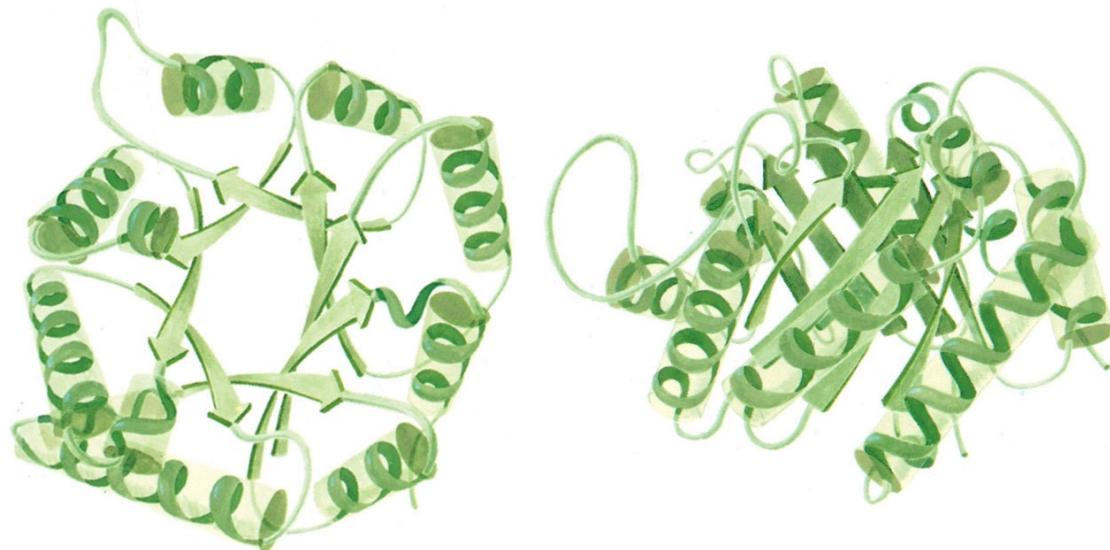
Grupos R pequenos (Gly, Ala) prevalecem

Dobramento das cadeias polipeptídicas ilustrando a torção à direita das folhas β (representado por setas apontando para o C-terminal)

Carboxipeptidase A bovina
(307 resíduos, folha β mista de 8 fitas)



Triose-Fosfato Isomerase
do músculo de galinha
(247 resíduos, folhas β
paralela de 8 fita formando
uma estrutura em barril)



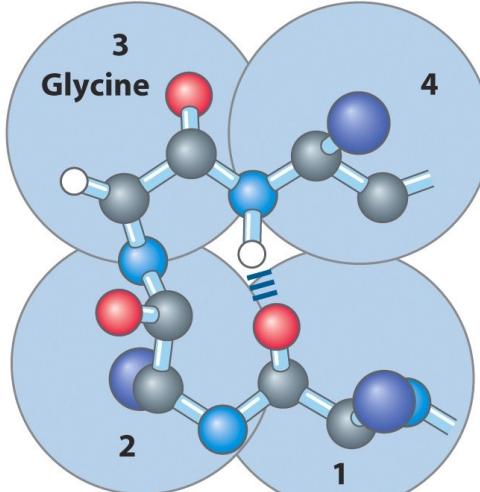
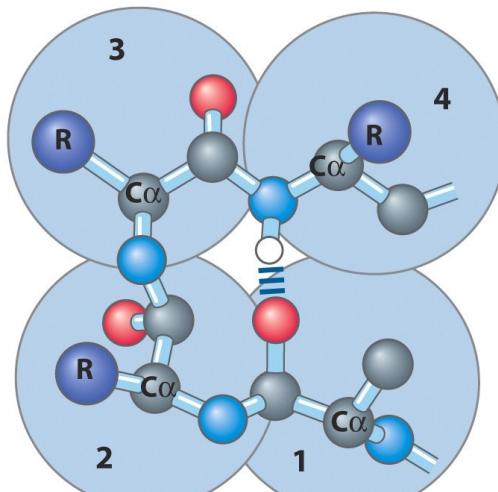
Estruturas Secundárias Não Repetitivas

- EX.: Alças ou Voltas.

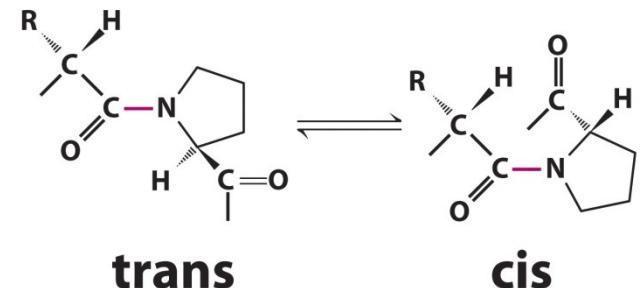
Voltas β

- Ocorre com frequência quando uma cadeia polipeptídica faz uma volta abrupta.
- Envolve 4 resíduos de aa.
- A carbonila da ligação peptídica do primeiro aminoácido forma ponte de H com o N do quarto aa .
- Gly (pqno e flexível) e Pro (ligação imino assume facilmente a configuração cis) ocorrem com frequência em voltas beta.

(a) β Turns



Proline isomers



α -Hélice, Folhas β e Voltas β

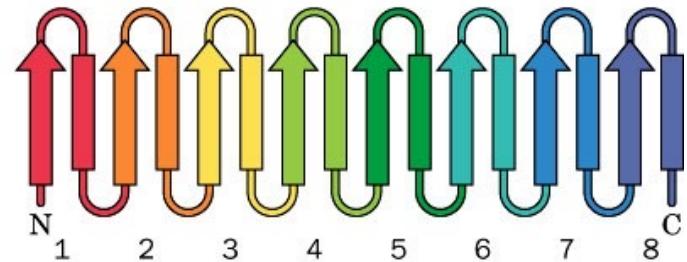
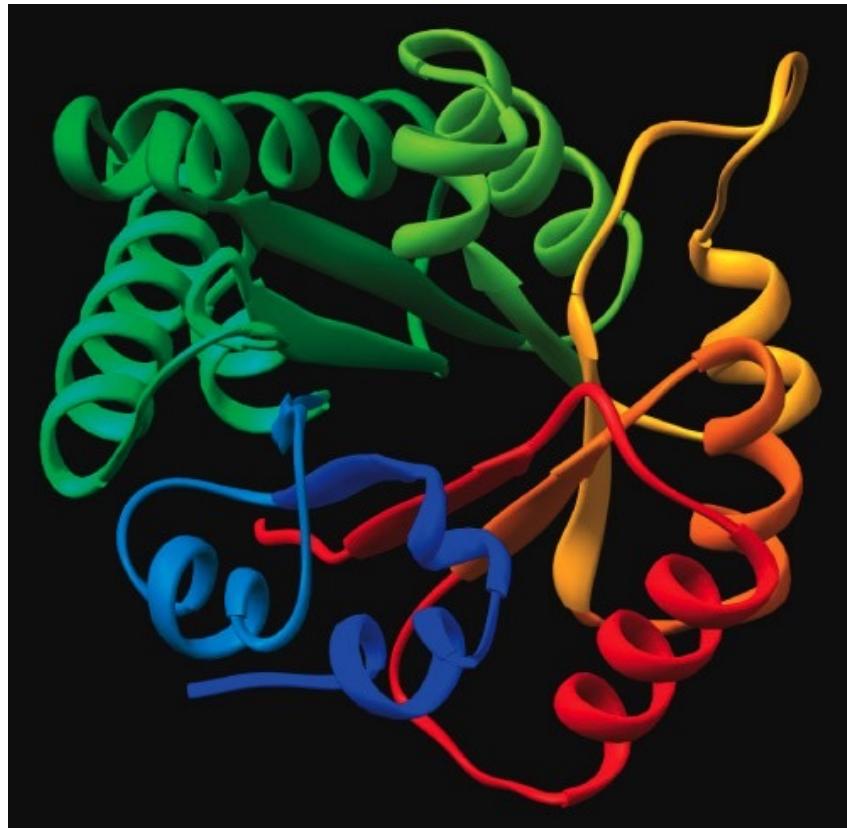
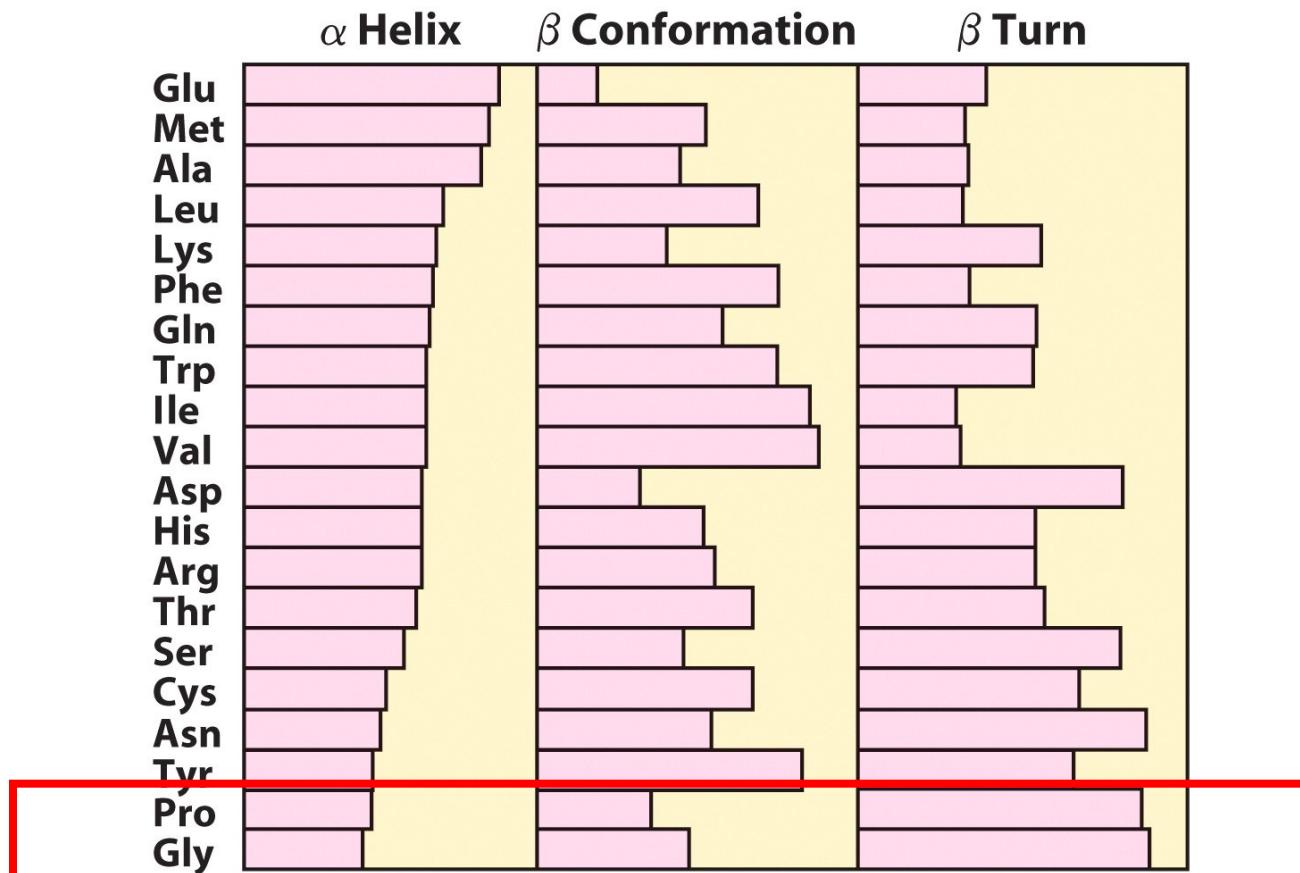
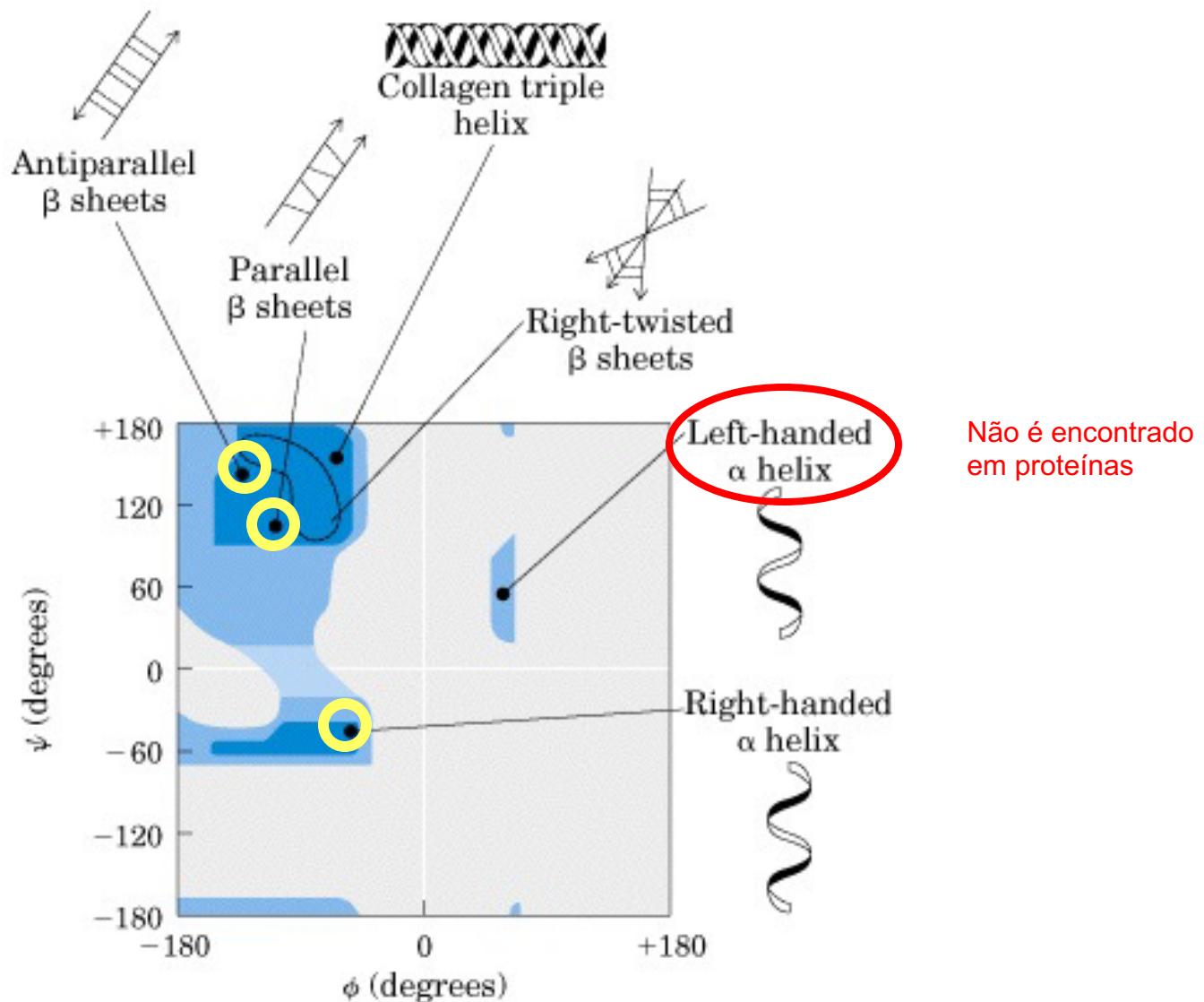


Figure 8-52 (Voet, 3ed.) Estrutura por raio-X da enzima triose-fosfato isomerase, de 247 resíduos, do músculo da galinha.

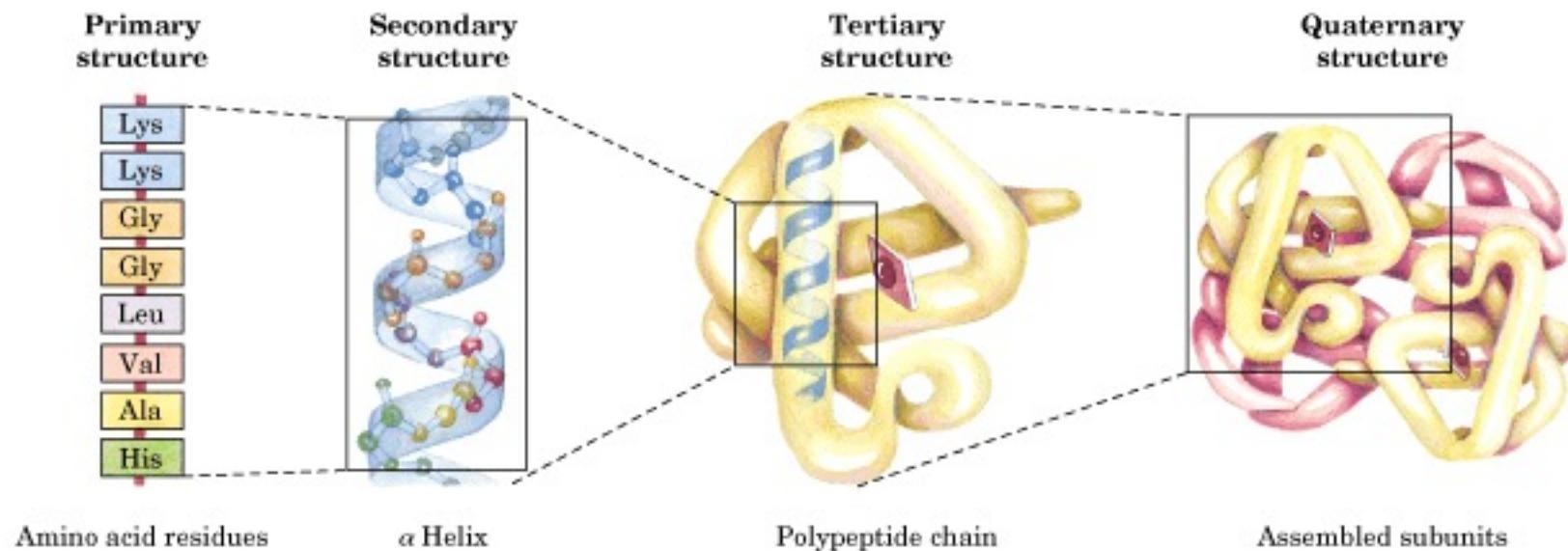
Relative Probabilities of Amino Acids



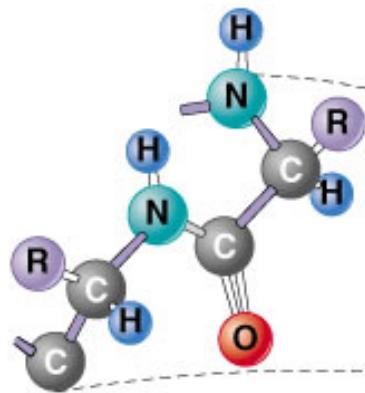
Localização das Estruturas Secundárias no Diagrama de Ramachandran



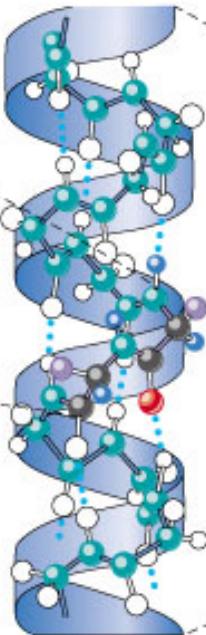
Estrutura das Proteínas pode ser descrita em 4 níveis de organização



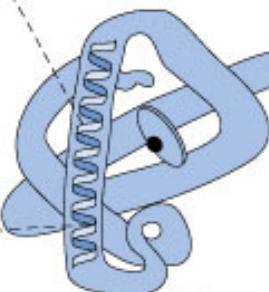
Estrutura Terciária



(a) Primary structure



(b) Secondary structure



(c) Tertiary structure



(d) Quaternary structure

Conformação Tridimensional



Interação entre subunidades



Sequência de Aminoácidos

Conformação Local Regular do Esqueleto

Copyright © 2003 Pearson Education, Inc., p

Estrutura Terciária

- Descreve o **dobramento final da proteína** por interação entre regiões com estruturas regulares (alfa-helices e folhas beta) ou não regulares (regiões conectoras: alças, voltas).
- Neste nível de organização segmentos distantes podem se aproximar e interagir.
- A estrutura é mantida por **ligações fracas (não-covalentes)** entre as cadeias laterais dos resíduos de aminoácidos.
- Ligações covalentes (ligações de –S-S-) também estão envolvidos.

Os quatro tipos de interações fracas

TABLE 2-5 Four Types of Noncovalent (“Weak”) Interactions among Biomolecules in Aqueous Solvent

1.

Hydrogen bonds

Between neutral groups



Approx. energy

~ 20 kJ/mole

2.

Ionic interactions

Attraction



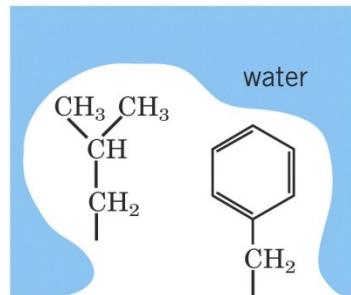
20-40 kJ/mole

Repulsion



3.

Hydrophobic interactions



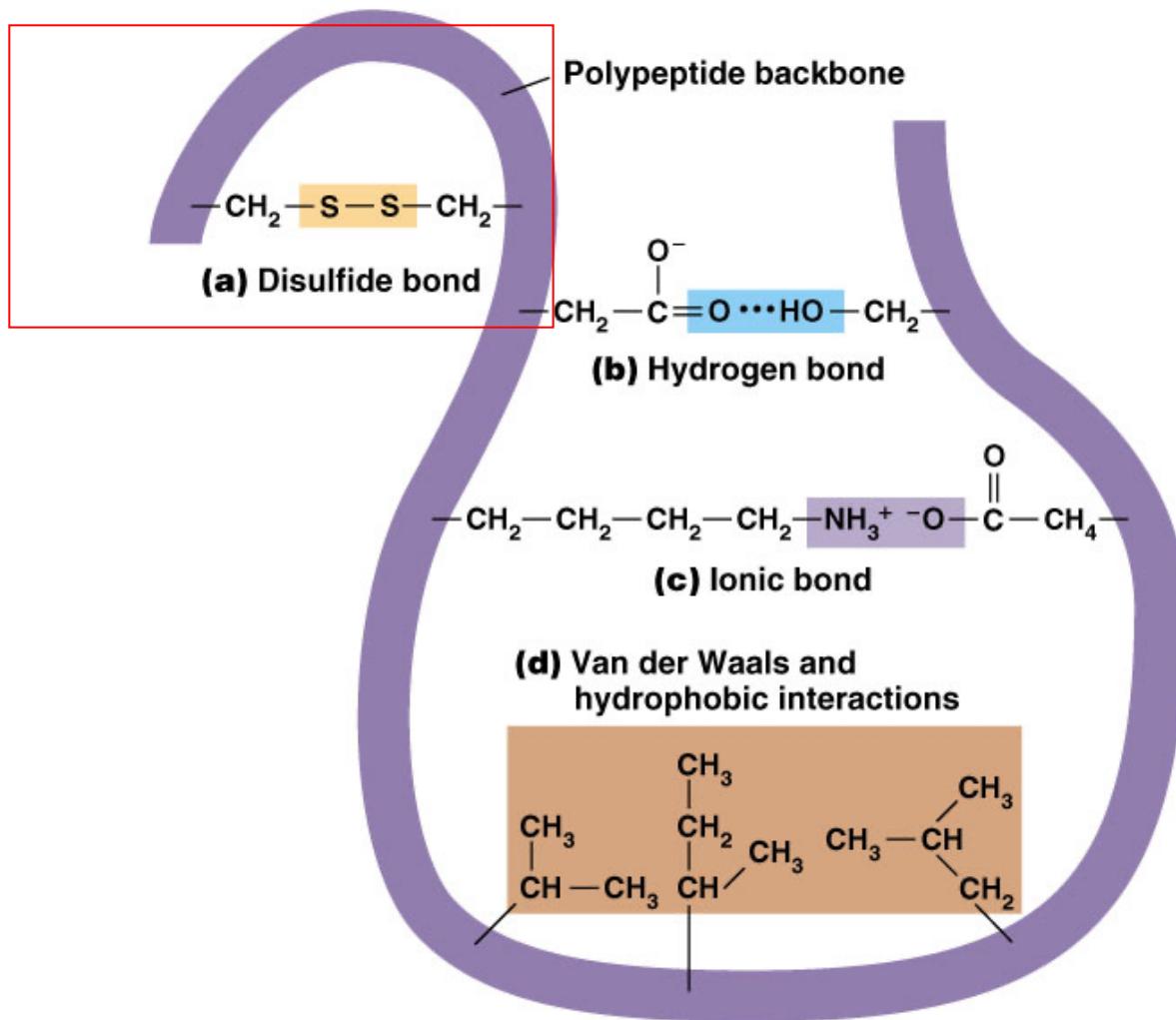
~ 8 kJ/mole

4.

van der Waals interactions

Any two atoms in close proximity

~ 4 kJ/mole



Estrutura Terciária

Proteínas Fibrosas

Proteínas Globulares

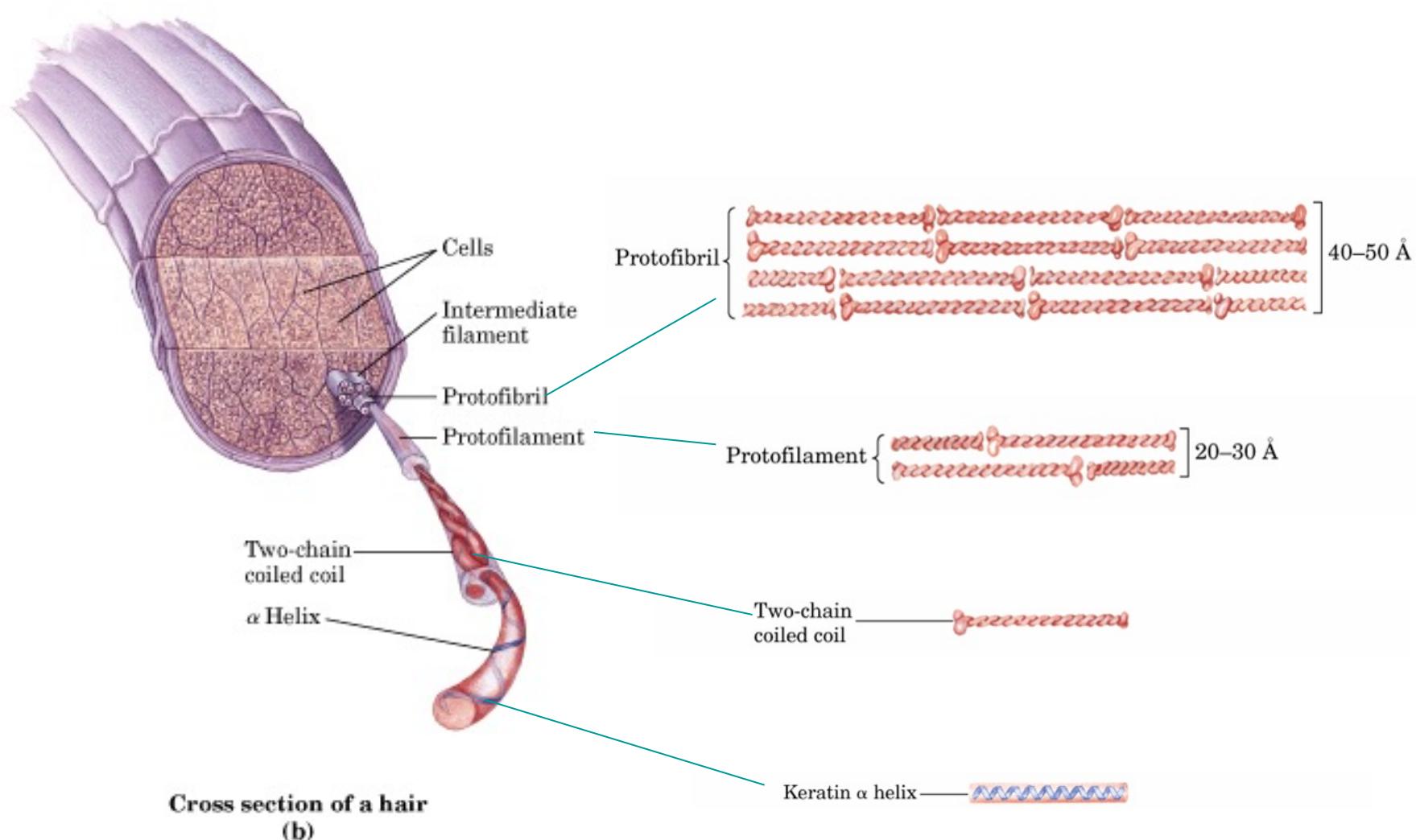
Proteínas Fibrosas

Características:

- Moléculas alongadas;
- Estão envolvidos em papel estrutural na célula;

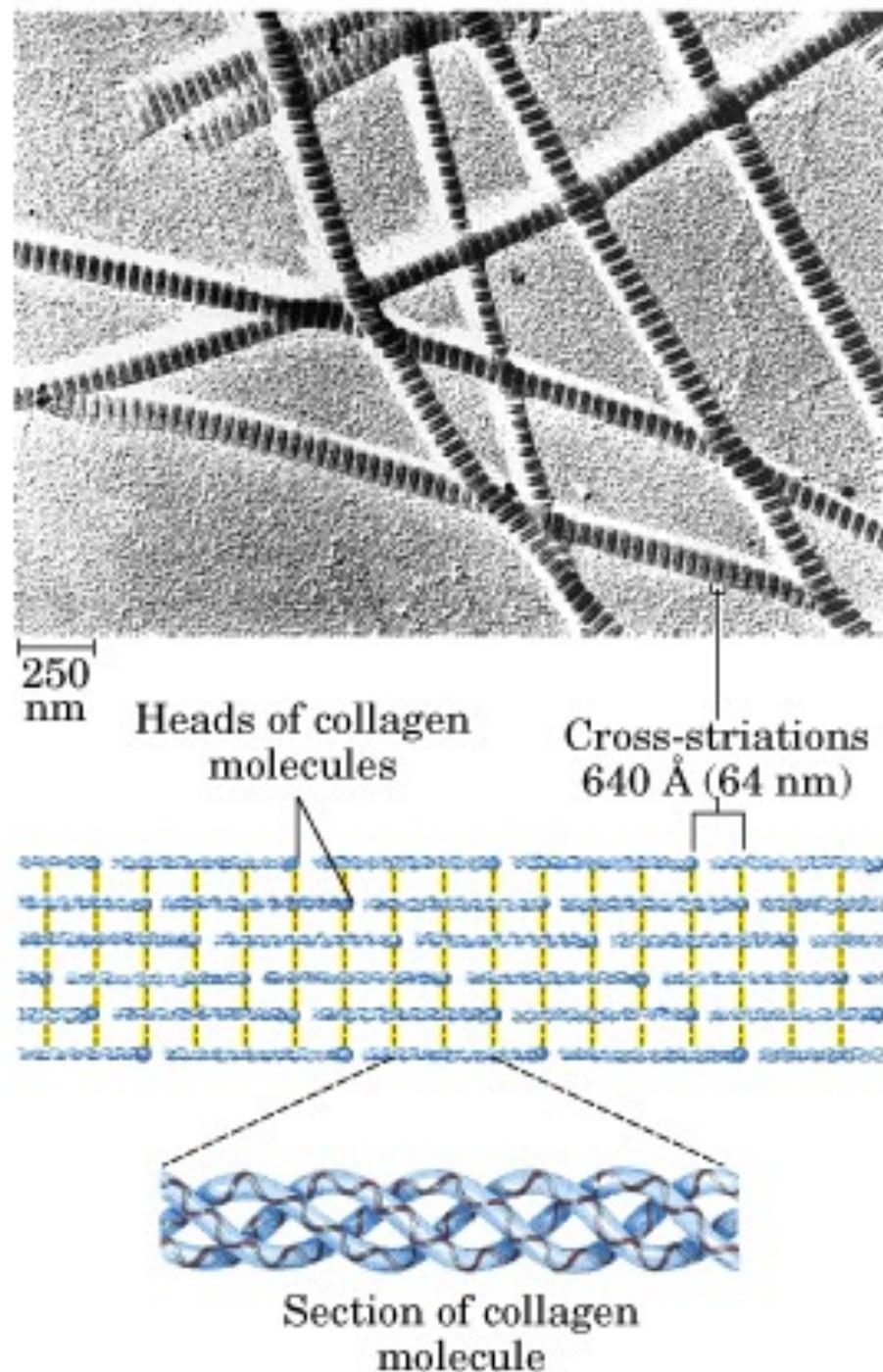
Exemplos: alfa-queratina do cabelo, penas, unhas e colágeno.

Cabelo é composto de vários filamentos de alfa-queratina

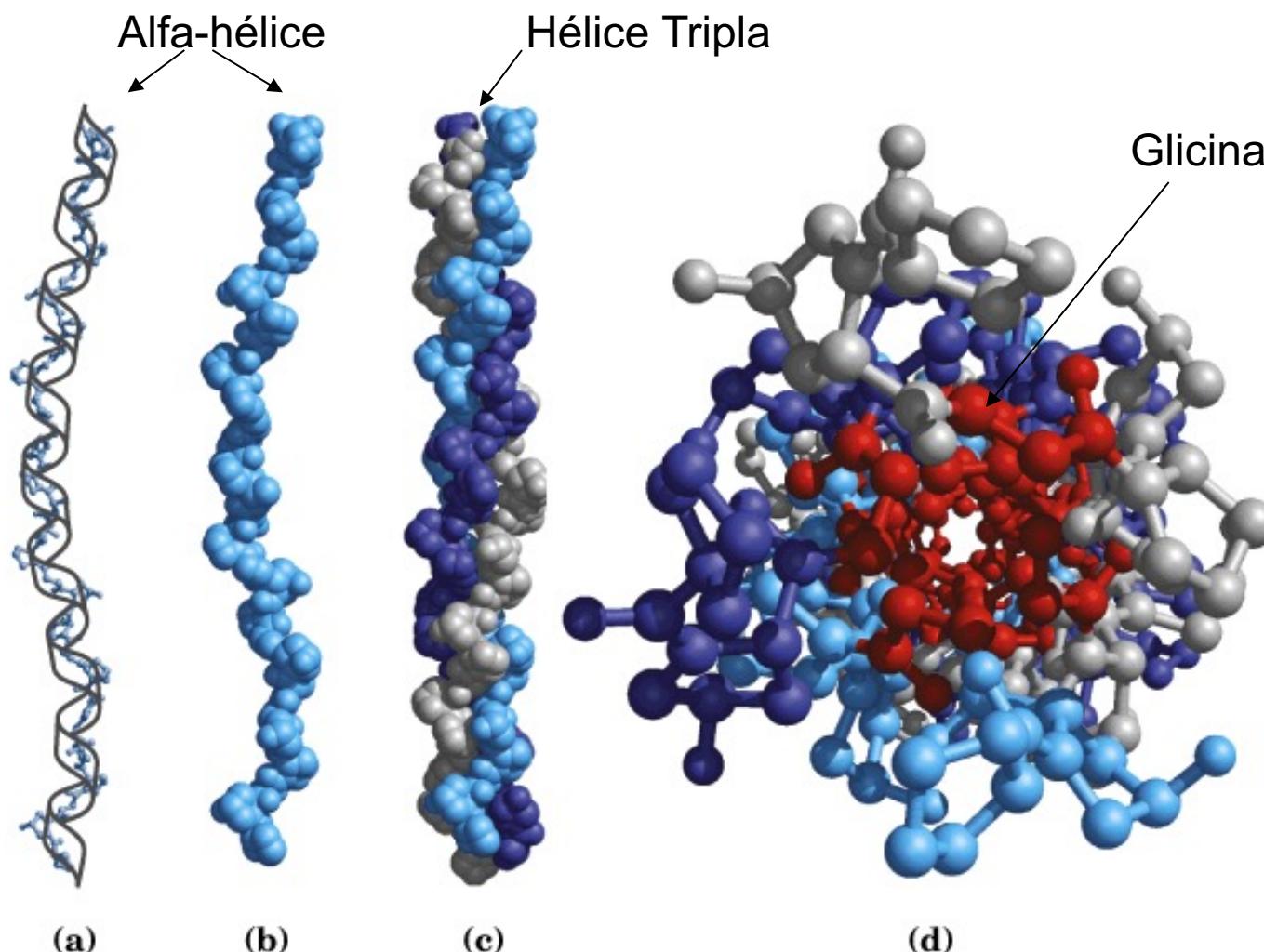


Fibras de Colágeno

- O colágeno é constituído de uma hélice tripla chamada tropocolágeno.
- Monômero possui ~ 1000 aa
- As cadeias podem ter sequência de aa diferentes
- Tripla hélice possui ligações cruzadas que conferem maior resistência a fibra
- A sequência de aminoácidos no colágeno é geralmente uma unidade tripeptídica repetitiva Gly-X-Pro ou Gly-X-Hyp (Hyp= 4-hidroxiprolina).



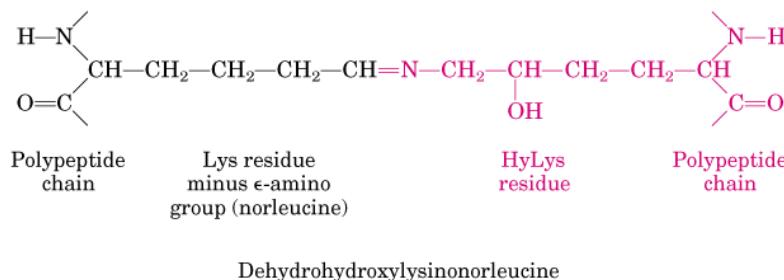
Estrutura do Colágeno



- É uma hélice como as alfa-queratinas mas é peculiar por ser uma hélice de mão esquerda e tem 3 aminoácidos por volta (3,6 na alfa-queratina).

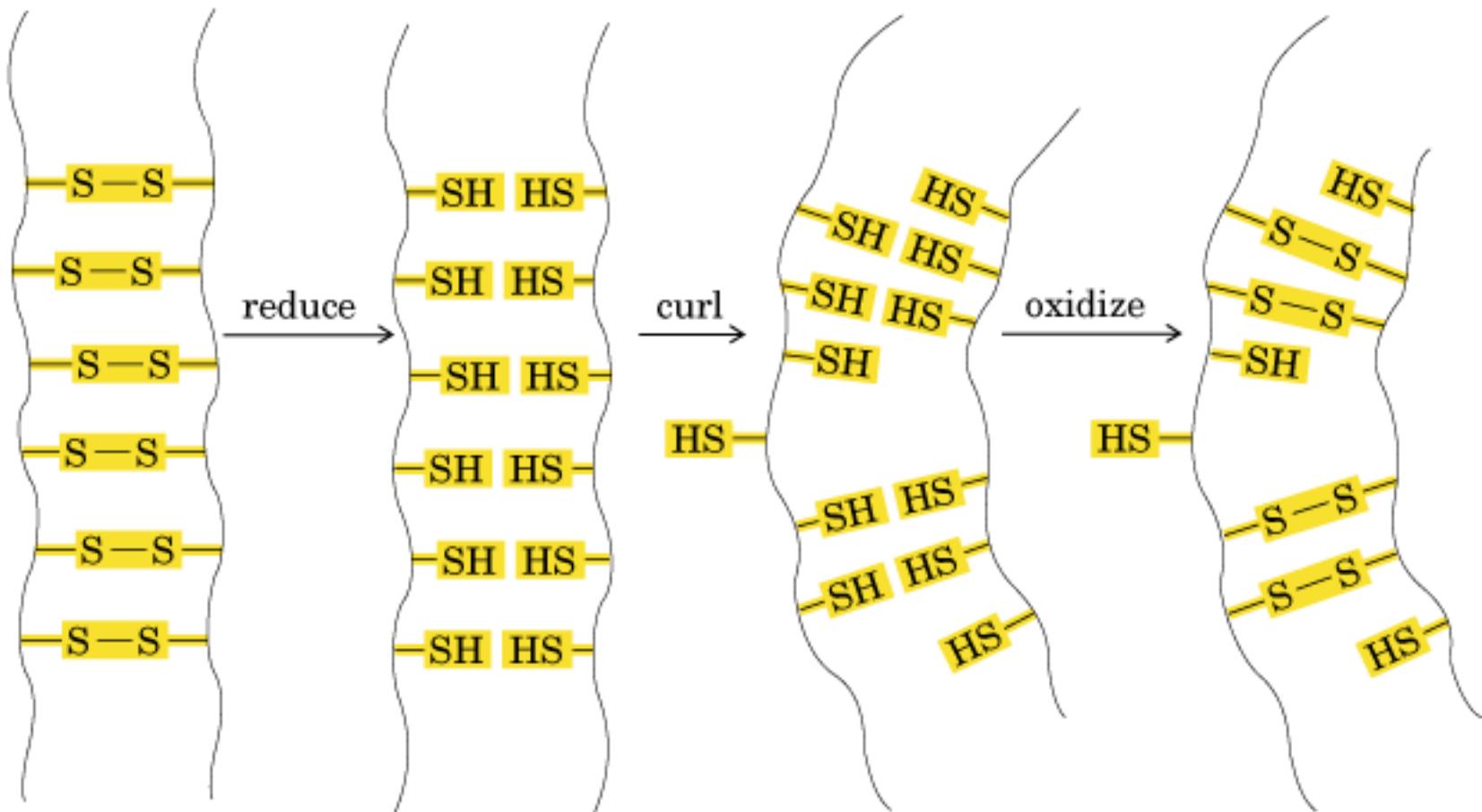
Ligações covalentes entre cadeias aumenta a força dessas estruturas

- Na alfa-queratina, as ligações cruzadas têm a contribuição de pontes de dissulfeto.
- No colágeno ocorre uma ligação não usual entre resíduos de lisina.



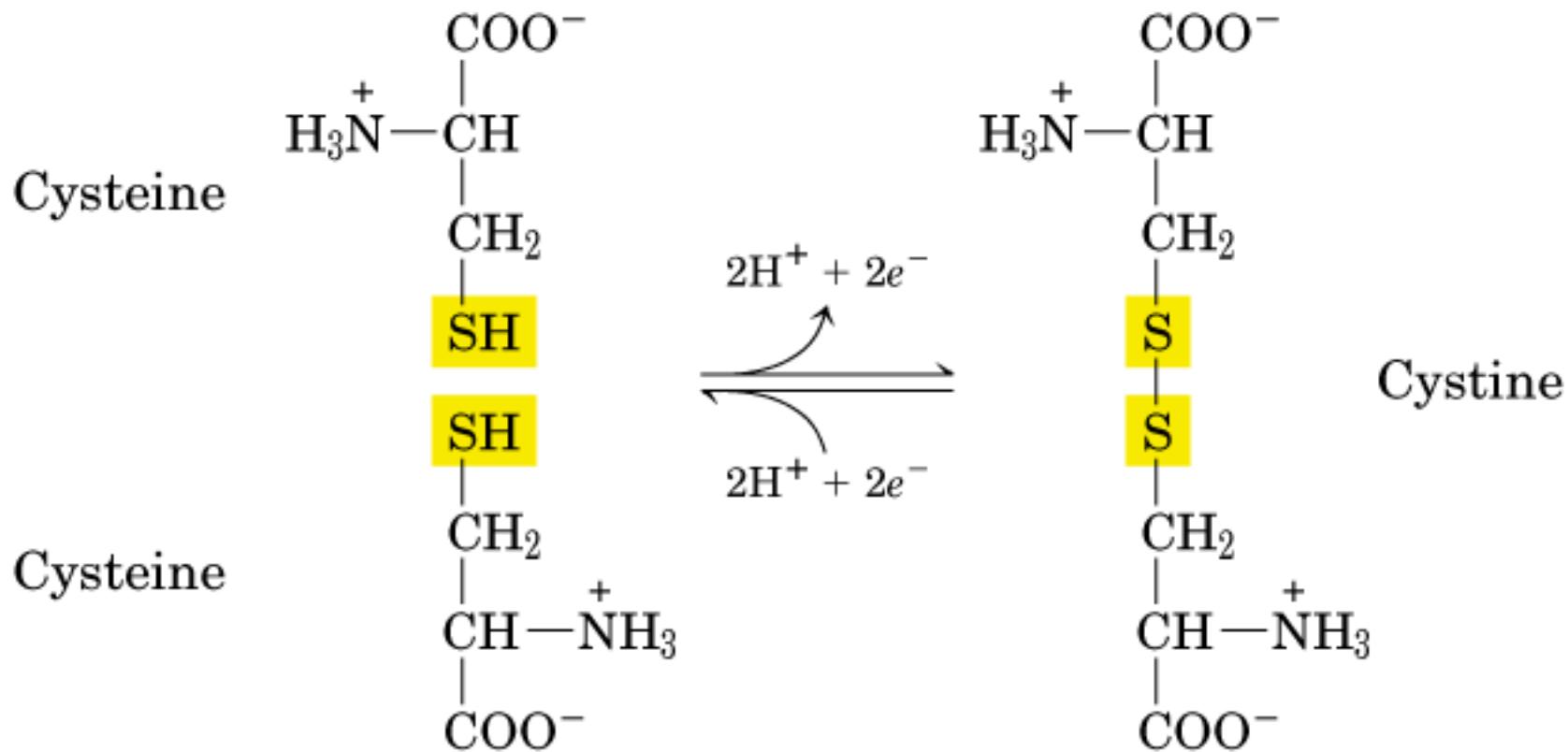
O enrijecimento do tecido conectivo em pessoas idosas é o resultado de **acúmulo de ligações cruzadas no colágeno**.

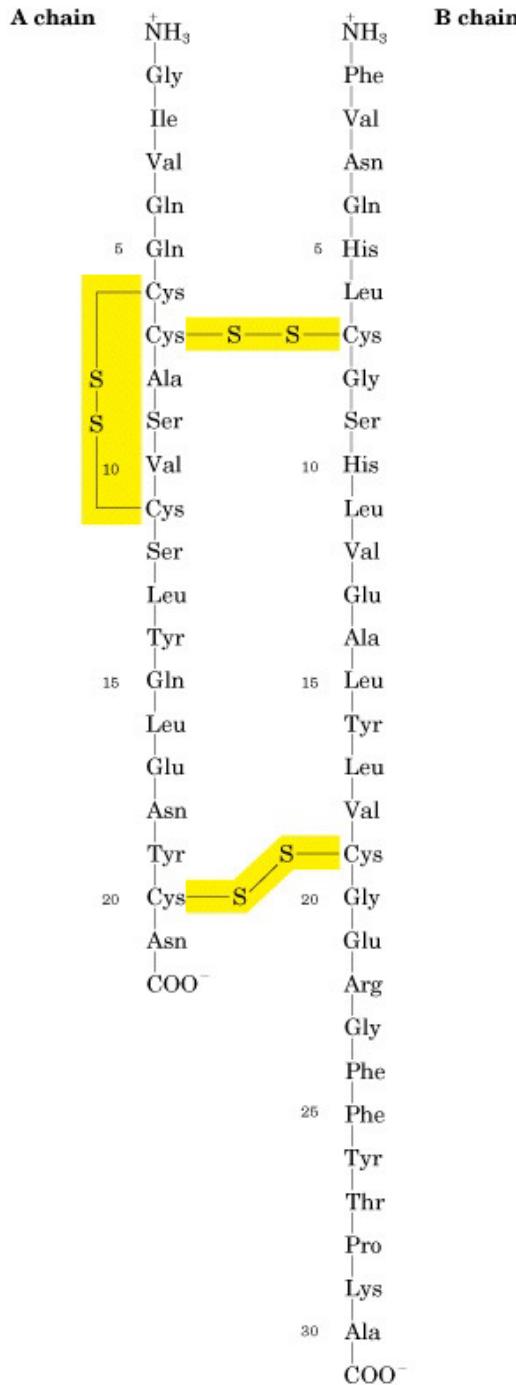
A associação entre as cadeias é frequentemente reforçada pela presença de pontes de dissulfeto



- Aumento da resistência da fibra
- Padrão de distribuição dessas pontes estão relacionadas ao grau de ondulação do cabelo

Outro tipo de ligação covalente que ocorre é a ligação (ponte) dissulfeto





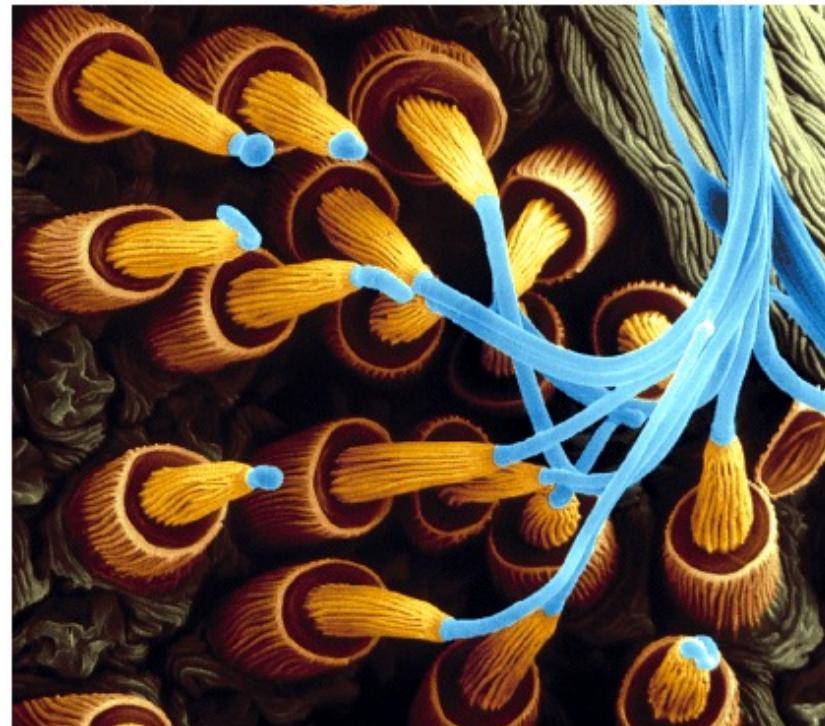
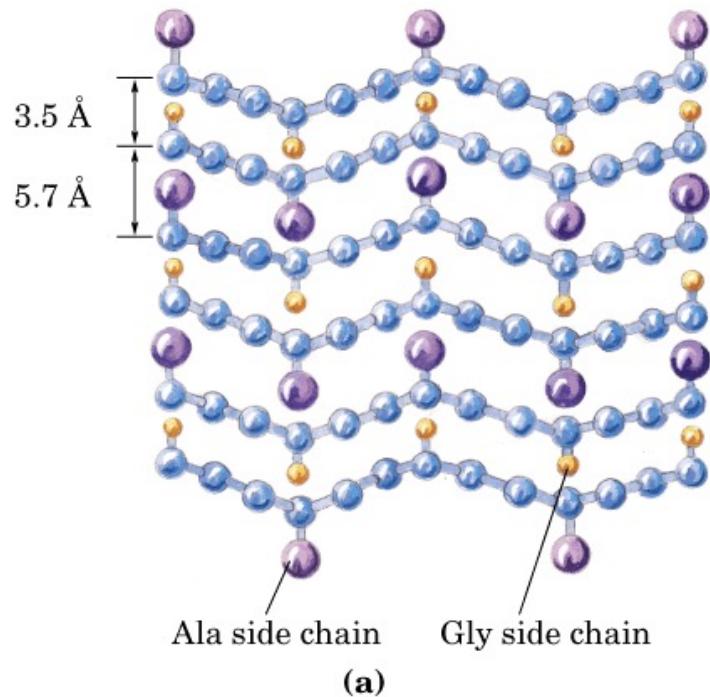
Insulina

-Frederick Sanger 1953

-Sequenciamento envolveu o trabalho de muitos cientistas

-App. 100 g de insulina foram utilizados

Estrutura da Fibroína



- Fibras formadas por folhas β antiparalelas estabilizada por pontes de H
- Alto conteúdo de Ala e Gly que permite maior empacotamento das cadeias

Estrutura Terciária

Proteínas Fibrosas

Proteínas Globulares

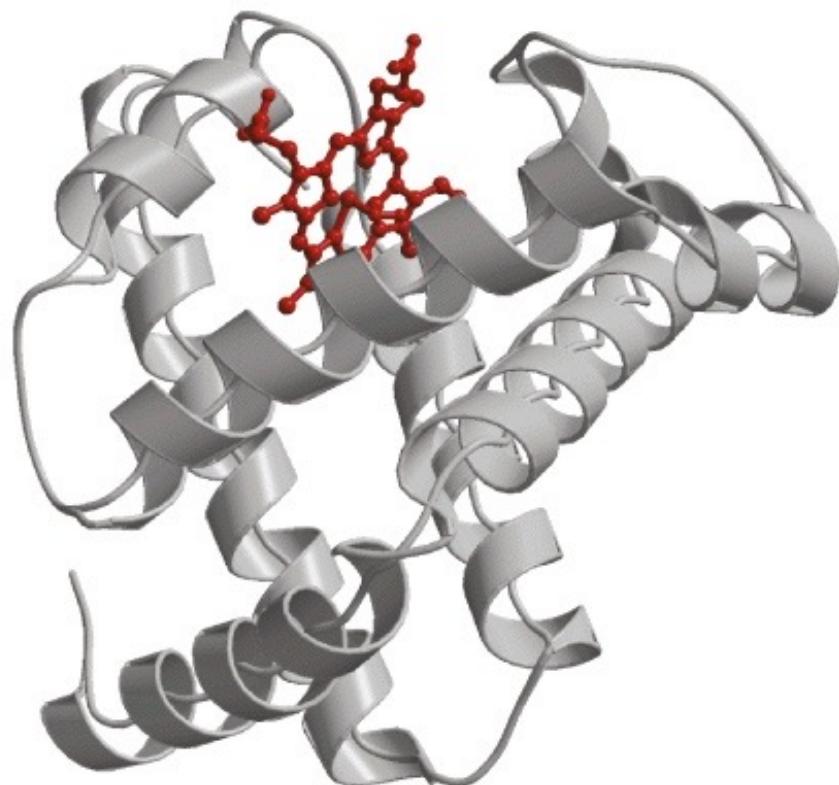
Proteínas Globulares

Características:

- Forma “esférica”;
- Composto basicamente da associação de estruturas secundárias;
- As proteínas globulares incluem: enzimas, proteínas de transporte, alguns hormônios peptídicos e imunoglobulinas.

Mioglobina (John Kendrew, 1950)

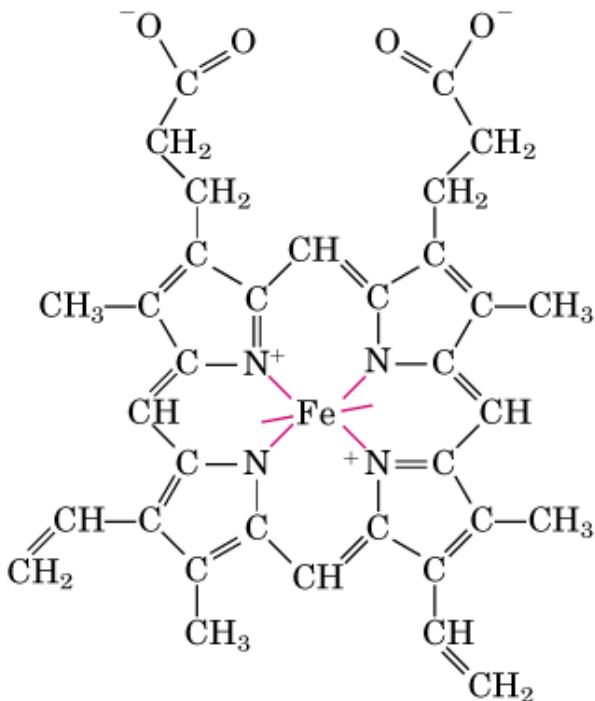
- É uma proteína armazenadora de oxigênio
- Relativamente pequena ($\text{PM}=16.700$).
- Contém uma **única cadeia polipeptídica com 153 resíduos de aa e um grupo ferro-porfirínico**



The Heme Group

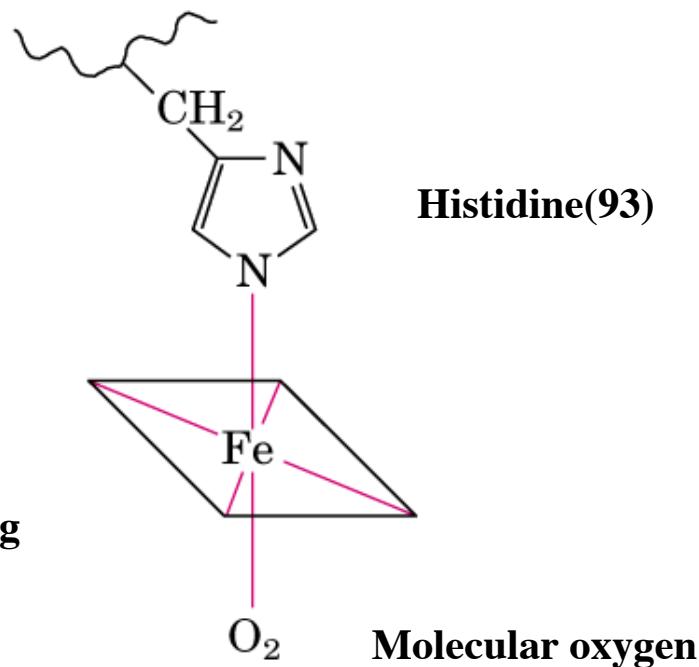
“Heme is present in myoglobin, hemoglobin , cytochrome and other heme proteins”

Heme consists of protoporphyrin and iron atom.

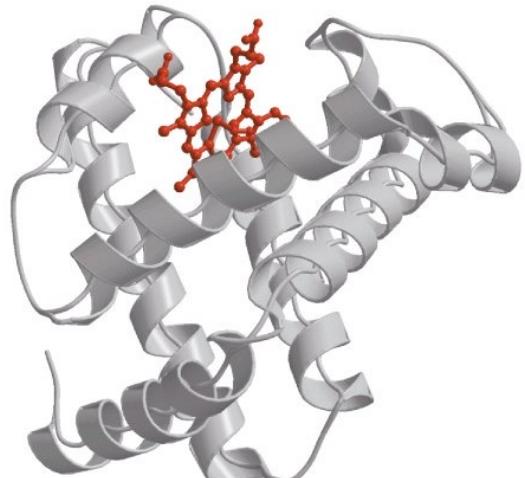


“ The iron atom in the center of the heme group has two bonding position perpendicular to the plane”.

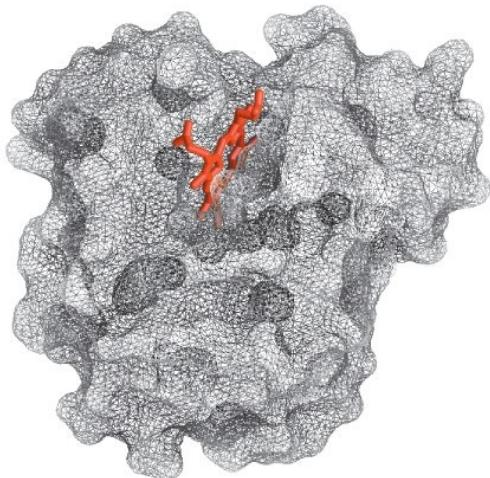
Coordination compound



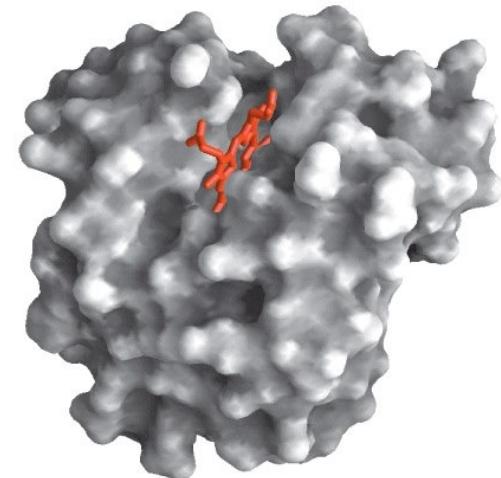
(b)



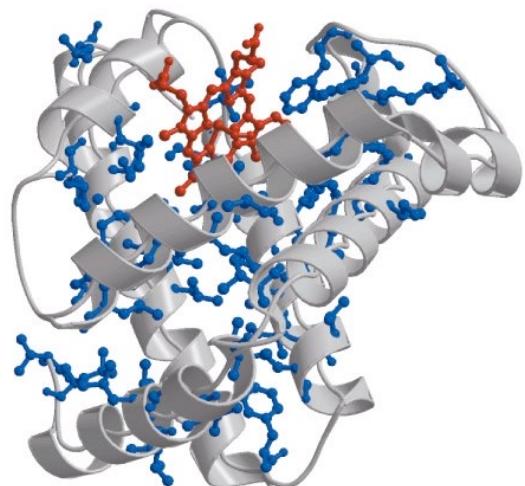
(a)



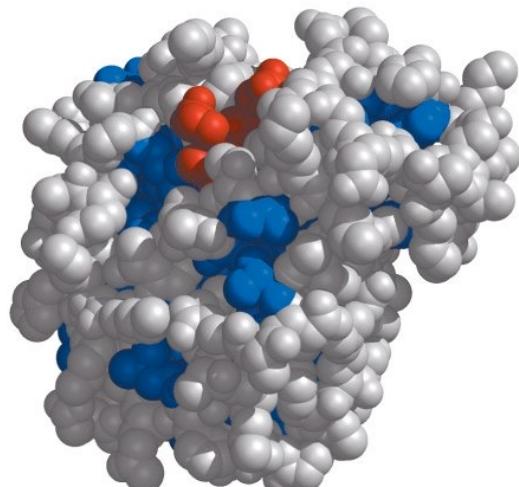
(b)



(c)



(d)

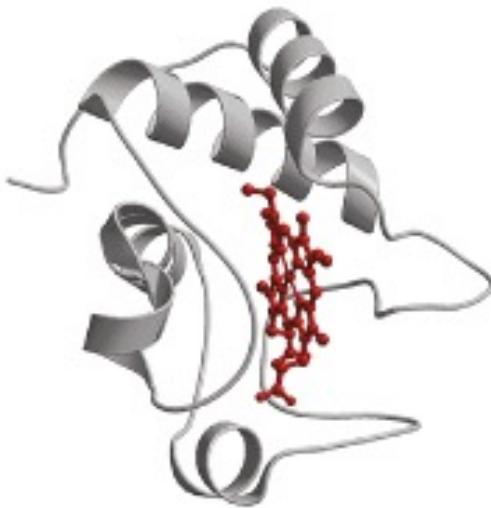
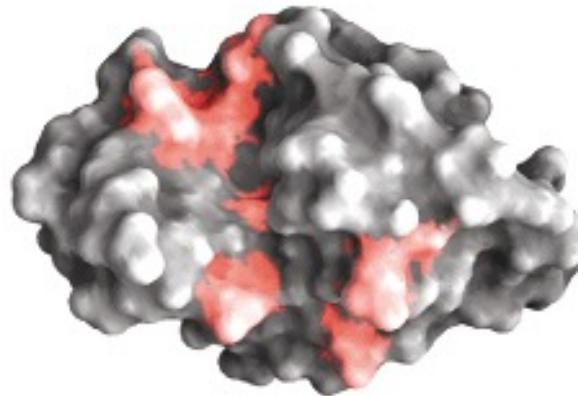
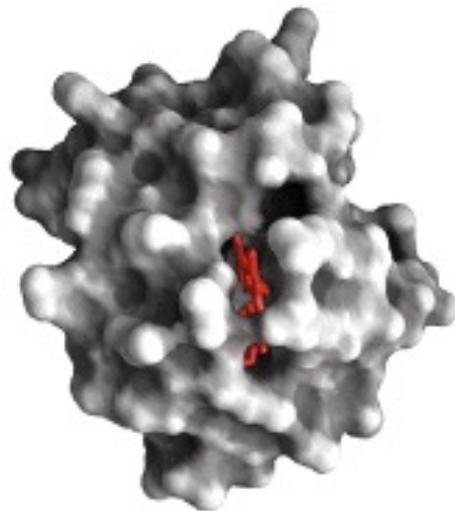


(e)

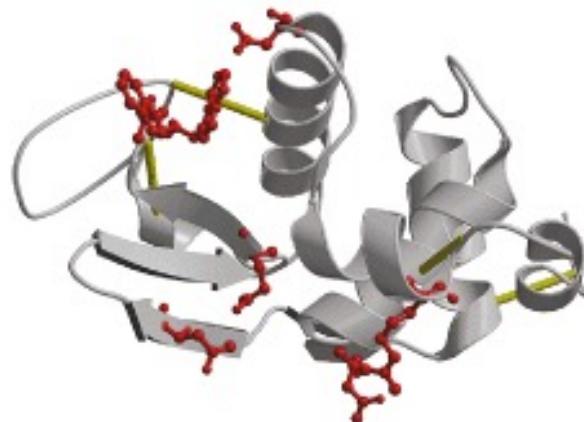
Cadeias laterais hidrofóbicas: Leu, Ile, Val, Phe (em azul)
Grupo Heme (em vermelho)

Sperm whale myoglobin

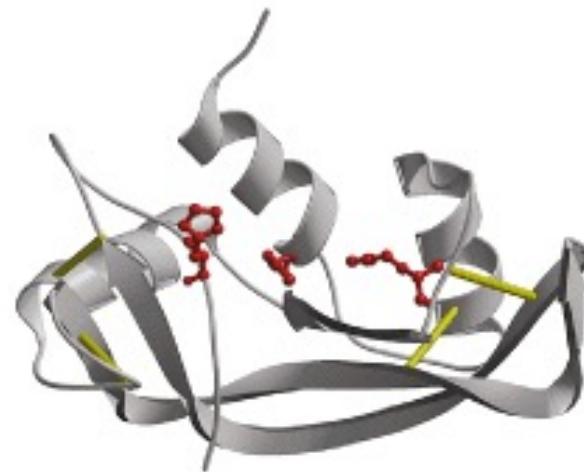
Proteínas globulares tem uma variedade de estruturas terciárias



Cytochrome c



Lysozyme



Ribonuclease

TABLE 4-2 Approximate Amounts of α Helix and β Conformation in Some Single-Chain Proteins

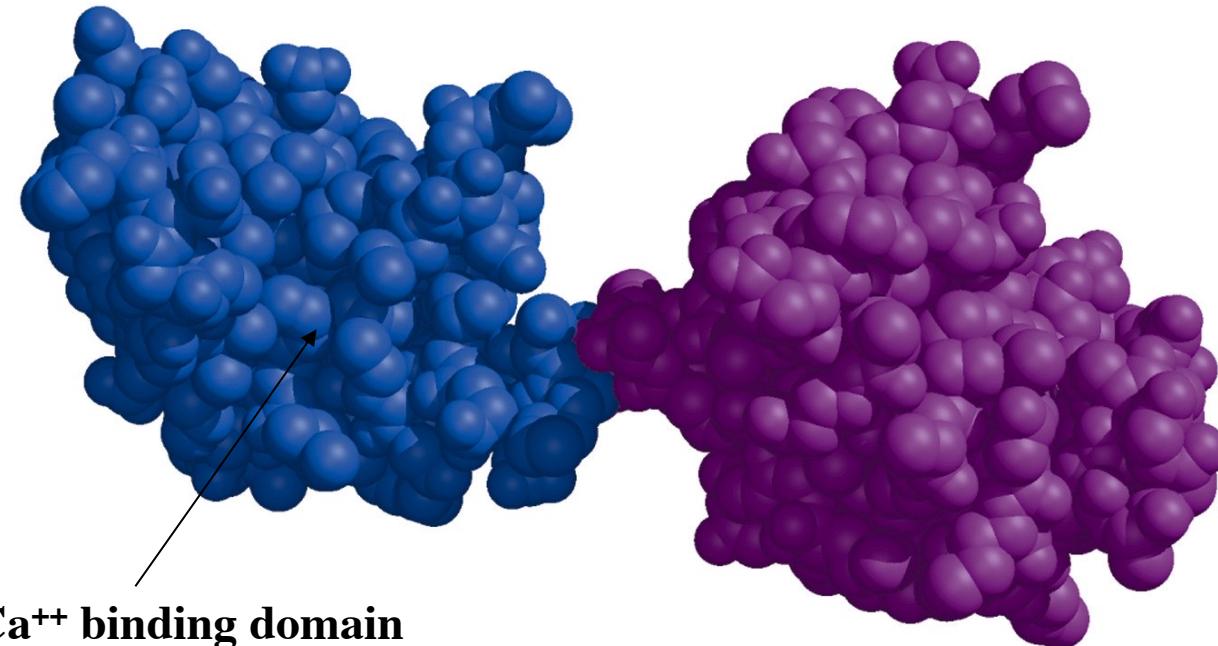
<i>Protein (total residues)</i>	<i>Residues (%)</i> *	
	α Helix	β Conformation
Chymotrypsin (247)	14	45
Ribonuclease (124)	26	35
Carboxypeptidase (307)	38	17
Cytochrome c (104)	39	0
Lysozyme (129)	40	12
Myoglobin (153)	78	0

Source: Data from Cantor, C.R. & Schimmel, P.R. (1980) *Biophysical Chemistry*, Part I: *The Conformation of Biological Macromolecules*, p. 100, W. H. Freeman and Company, New York.

*Portions of the polypeptide chains that are not accounted for by α helix or β conformation consist of bends and irregularly coiled or extended stretches. Segments of α helix and β conformation sometimes deviate slightly from their normal dimensions and geometry.

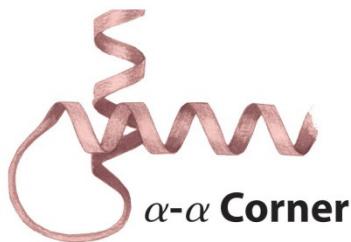
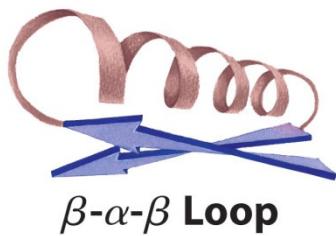
DOMÍNIOS

Troponin C : muscle protein



Regiões compactas de estrutura terciária ligadas por um segmento peptídico

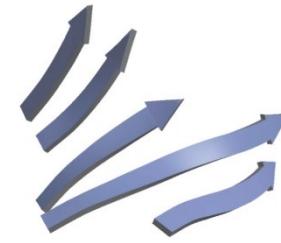
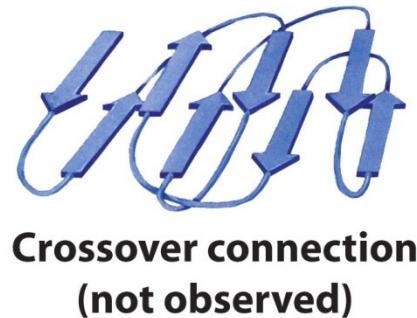
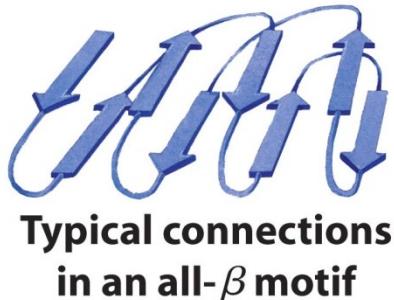
Combinações de estruturas secundárias...



Right-handed connection
between β strands



Left-handed connection
between β strands
(very rare)



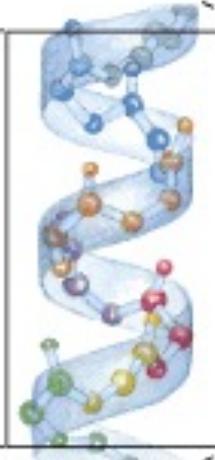
Twisted β sheet

Estrutura Quaternária

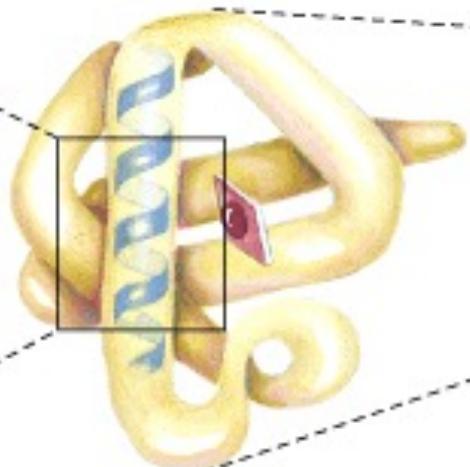
**Primary
structure**

Lys
Lys
Gly
Gly
Leu
Val
Ala
His

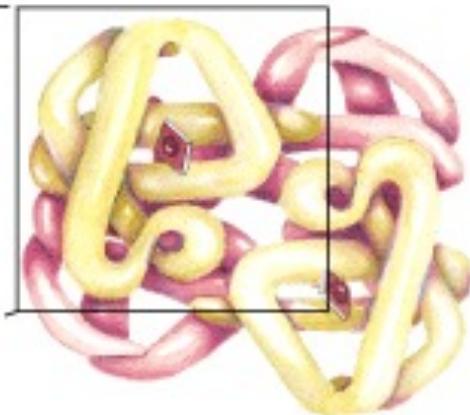
**Secondary
structure**



**Tertiary
structure**



**Quaternary
structure**



Amino acid residues

α Helix

Polypeptide chain

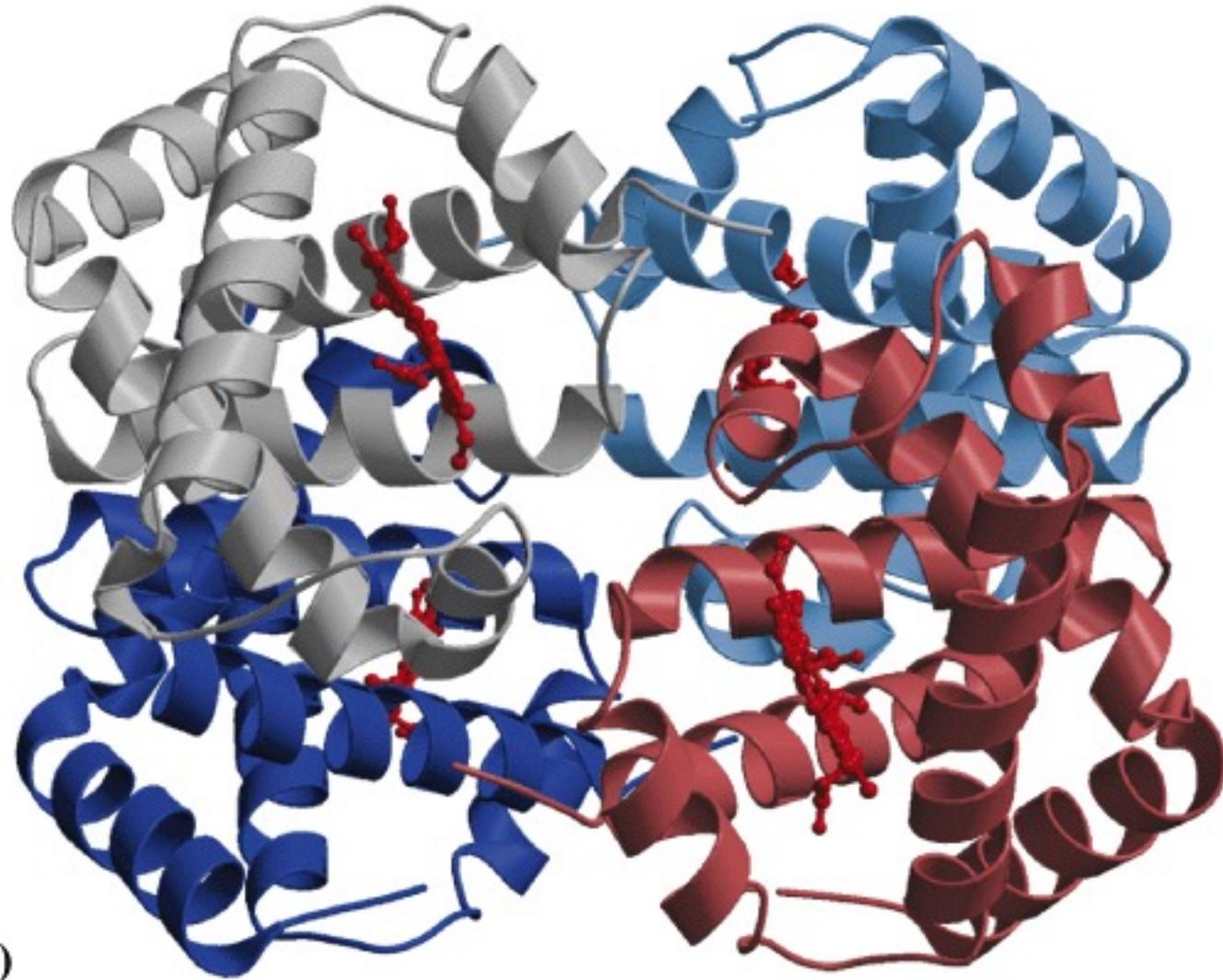
Assembled subunits

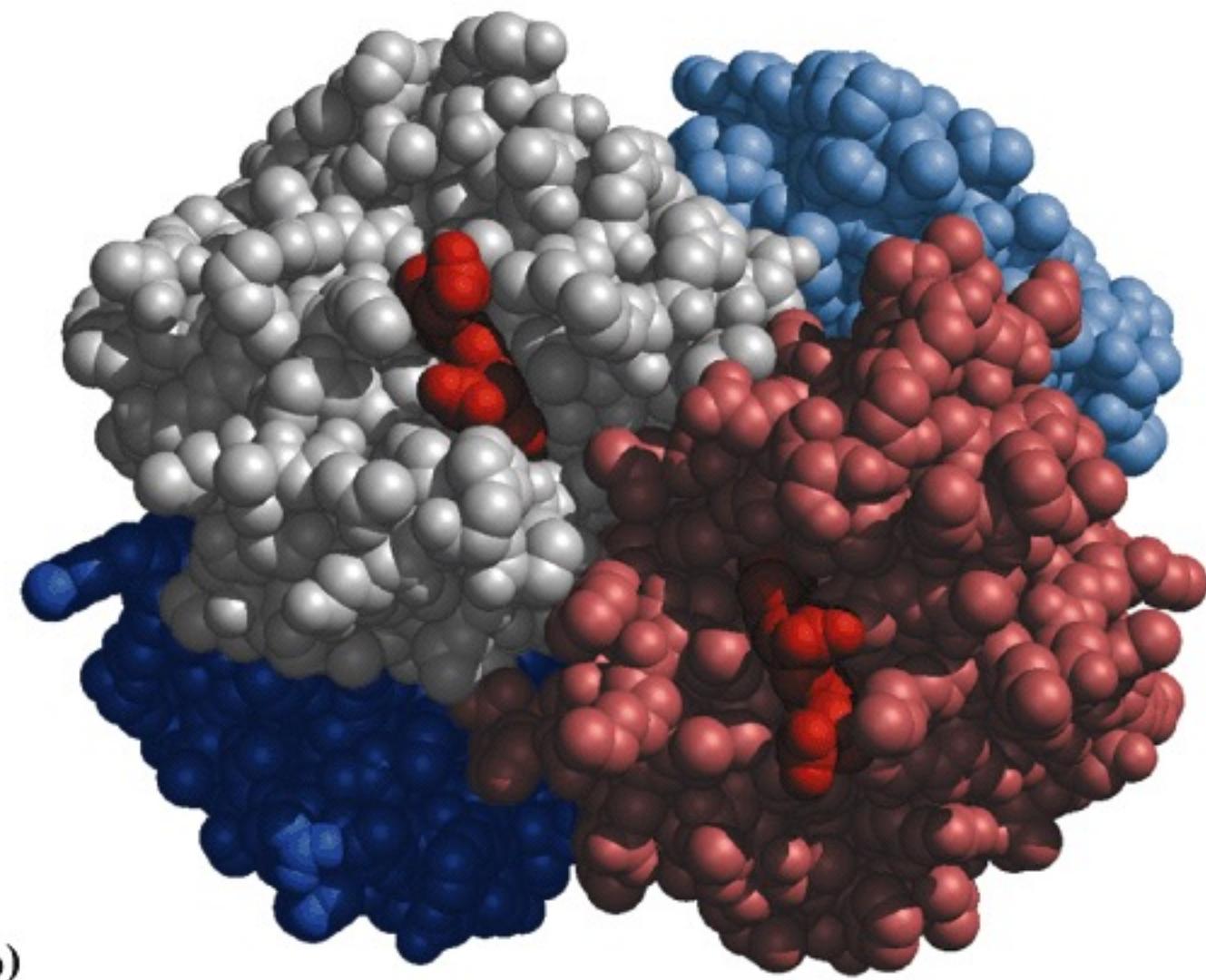
Estrutura Quaternária

- A primeira proteína oligomérica submetida à análise por raios-X foi a hemoglobina ($\text{PM}=64500$).
- A hemoglobina contém 4 cadeias polipeptídicas, e 4 grupos prostéticos heme.
- A parte protéica, chamada globina, consiste de duas cadeias alfa (141 resíduos) e duas cadeias beta (146 resíduos). Alfa e beta não querem dizer conformação.

Interações fracas mantêm a estrutura quaternária

- Apesar de existirem poucos contatos entre as 2 cadeias alfa e as duas beta, existem vários pontos de contato entre alfa e beta.
- Esses contatos, consistem em grande parte, por interações entre resíduos hidrofóbicos, mas também incluem interações iônicas envolvendo grupos carboxila terminal nas 4 subunidades.

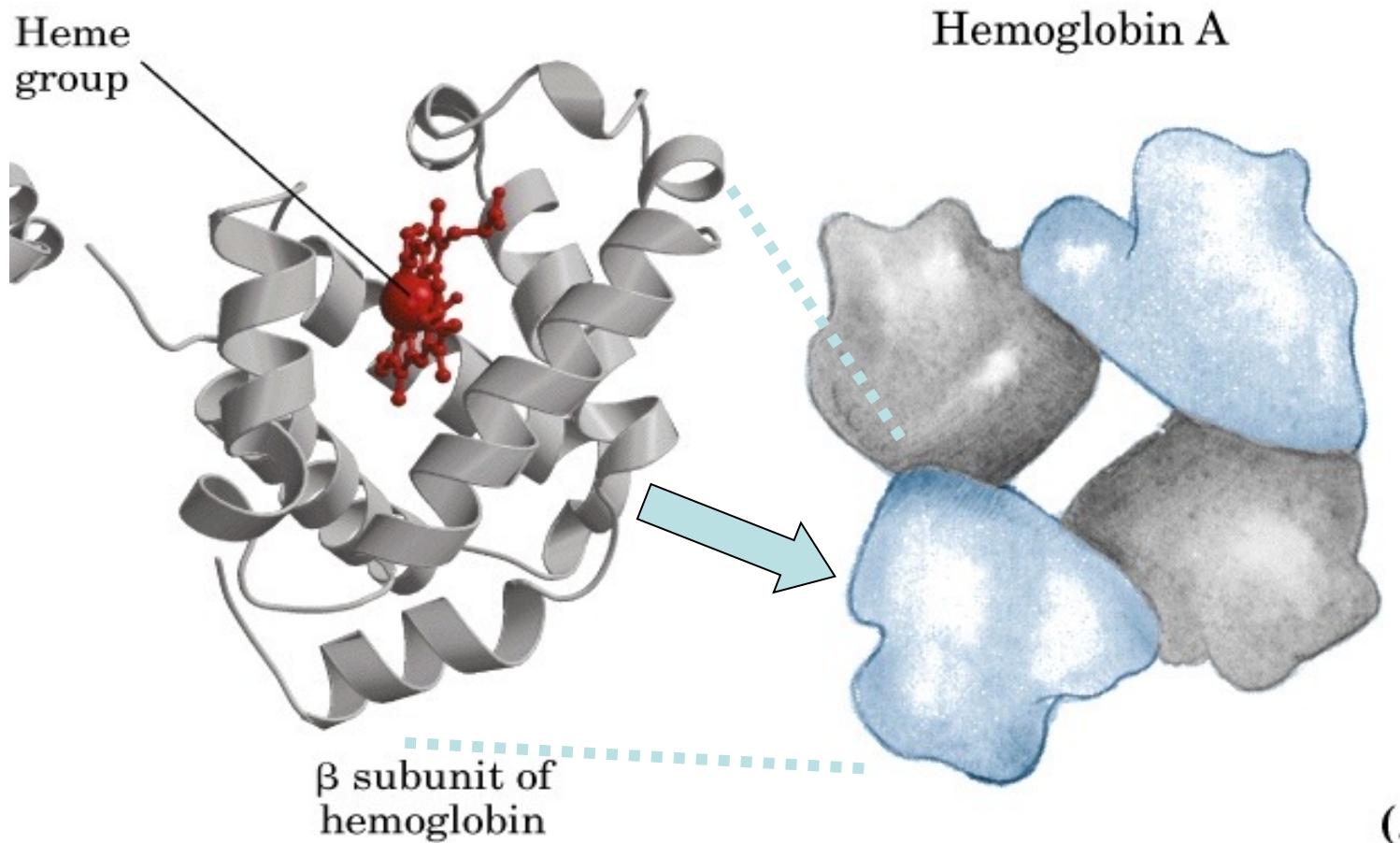




(b)

Estrutura Quaternária

Descreve a estrutura 3 D de proteínas multiméricas
(com mais de uma cadeia polipeptídica)

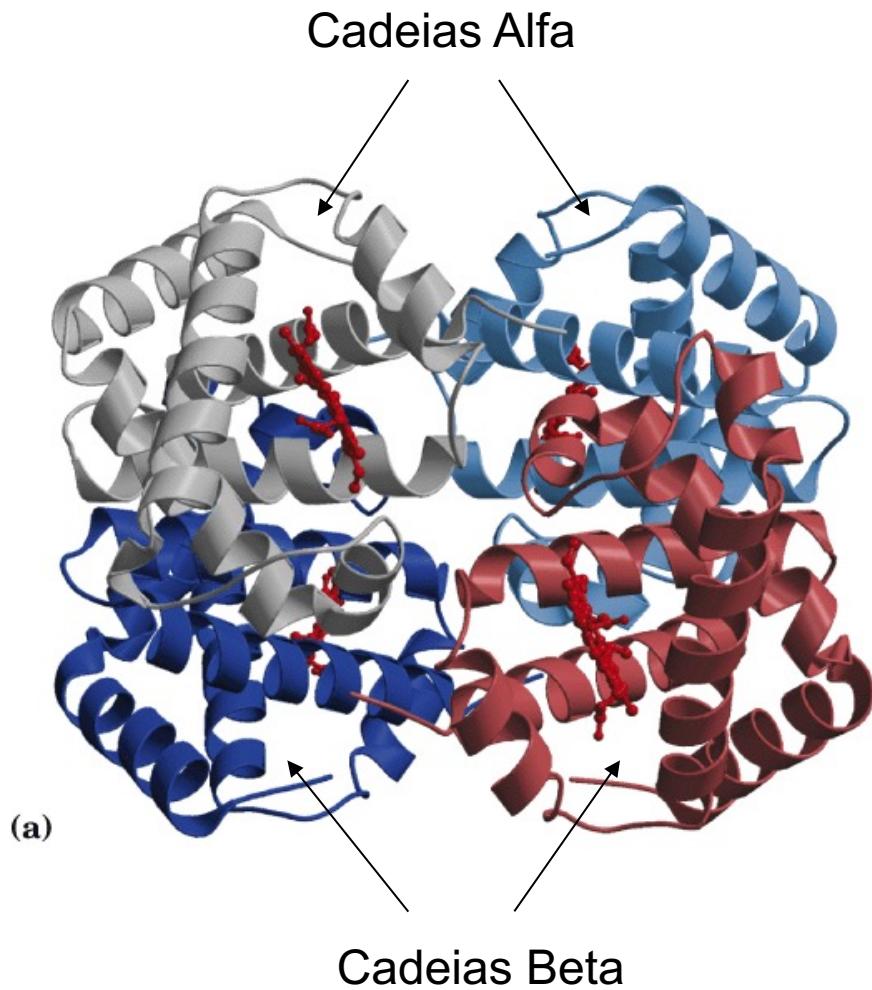




Max Perutz (1914-2002) and John Kendrew (1917-1997)

Estrutura Quaternária

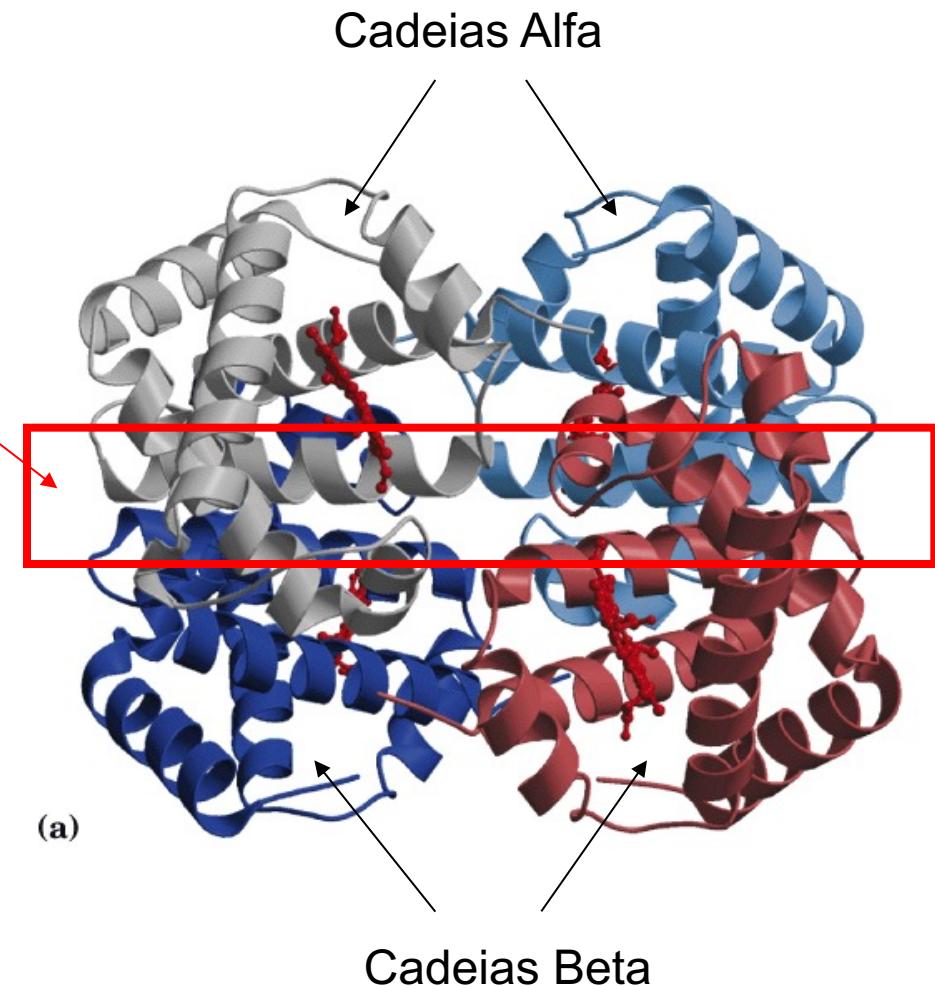
- A hemoglobina contém 4 cadeias polipeptídicas, e 4 grupos prostéticos heme.
- A parte protéica, chamada globina, consiste de duas cadeias alfa (141 resíduos) e duas cadeias beta (146 resíduos). Alfa e beta não querem dizer conformação.



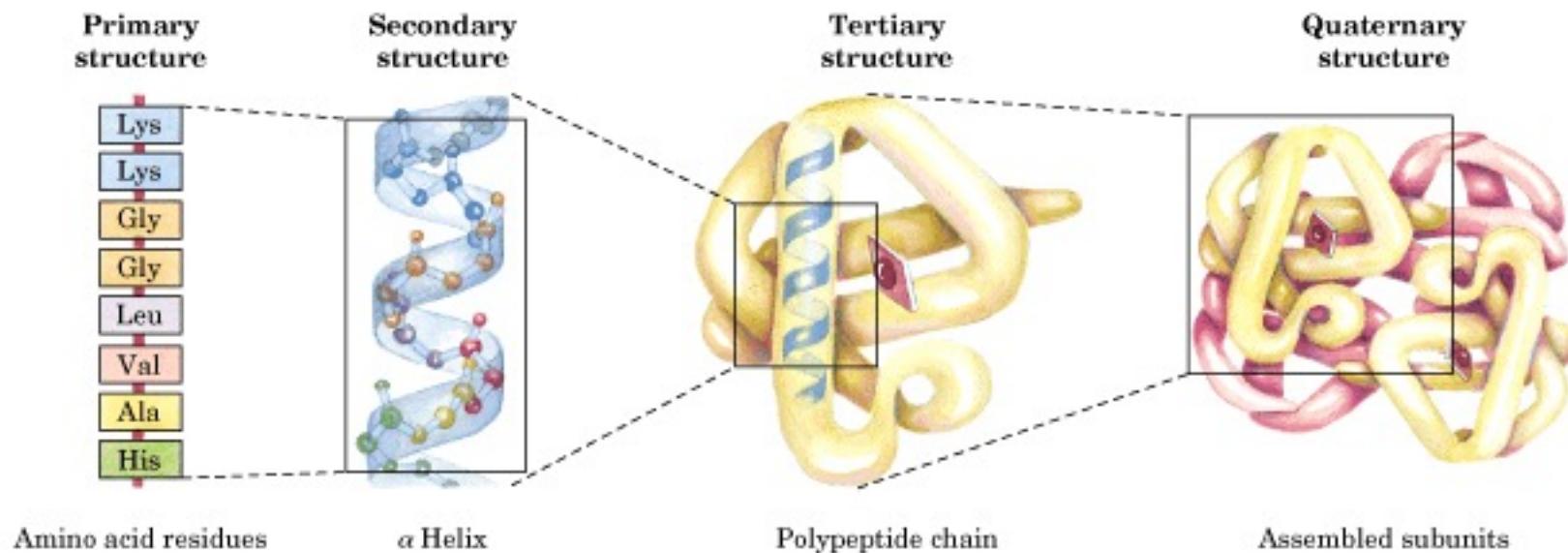
Hemoglobina

Interações fracas mantêm a estrutura quaternária

- Contato entre cadeias alfa e beta, consistem em grande parte, por **interações entre resíduos hidrofóbicos**, mas também incluem **interações iônicas** envolvendo grupos carboxila terminal nas 4 subunidades.



Estrutura das Proteínas pode ser descrita em 4 níveis de organização



A sequênciade aminoácidos
determina a estrutura terciária

Desnaturação

- As proteínas perdem a sua estrutura e função quando são denaturadas.
- Isso ocorre quando um ovo é cozido. A clara do ovo que contém albumina, coagula formando um sólido branco. Não adianta tentar redissolver abaixando a temperatura.

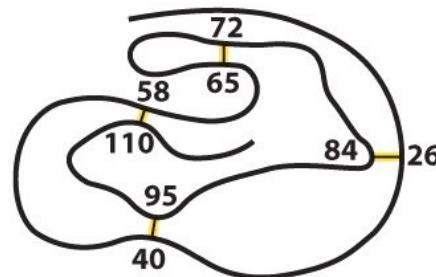
Ribonuclease A

Anfisem 1950:

1^a evidência de que sequência determina a estrutura 3D

-Uréia: desestabiliza as interações hidrofóbicas

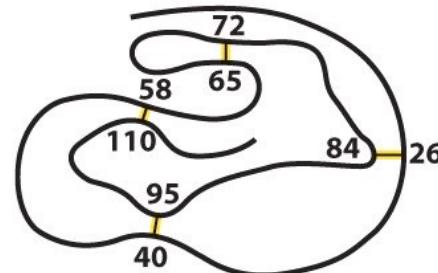
-Mercaptoetanol: Agente redutor (quebra a ponte de dissulfeto)



Native state;
catalytically active.

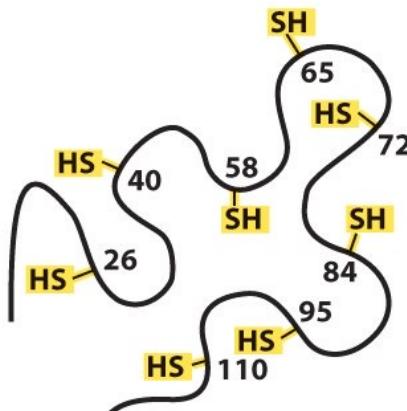
addition of urea and
mercapto-ethanol

Ribonuclease A



Native state;
catalytically active.

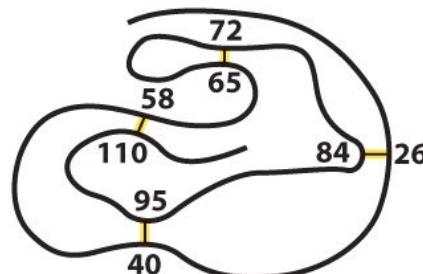
addition of urea and
mercapto-ethanol



Unfolded state;
inactive. Disulfide
cross-links reduced to
yield Cys residues.

Desnaturação

removal of urea and
mercapto-ethanol



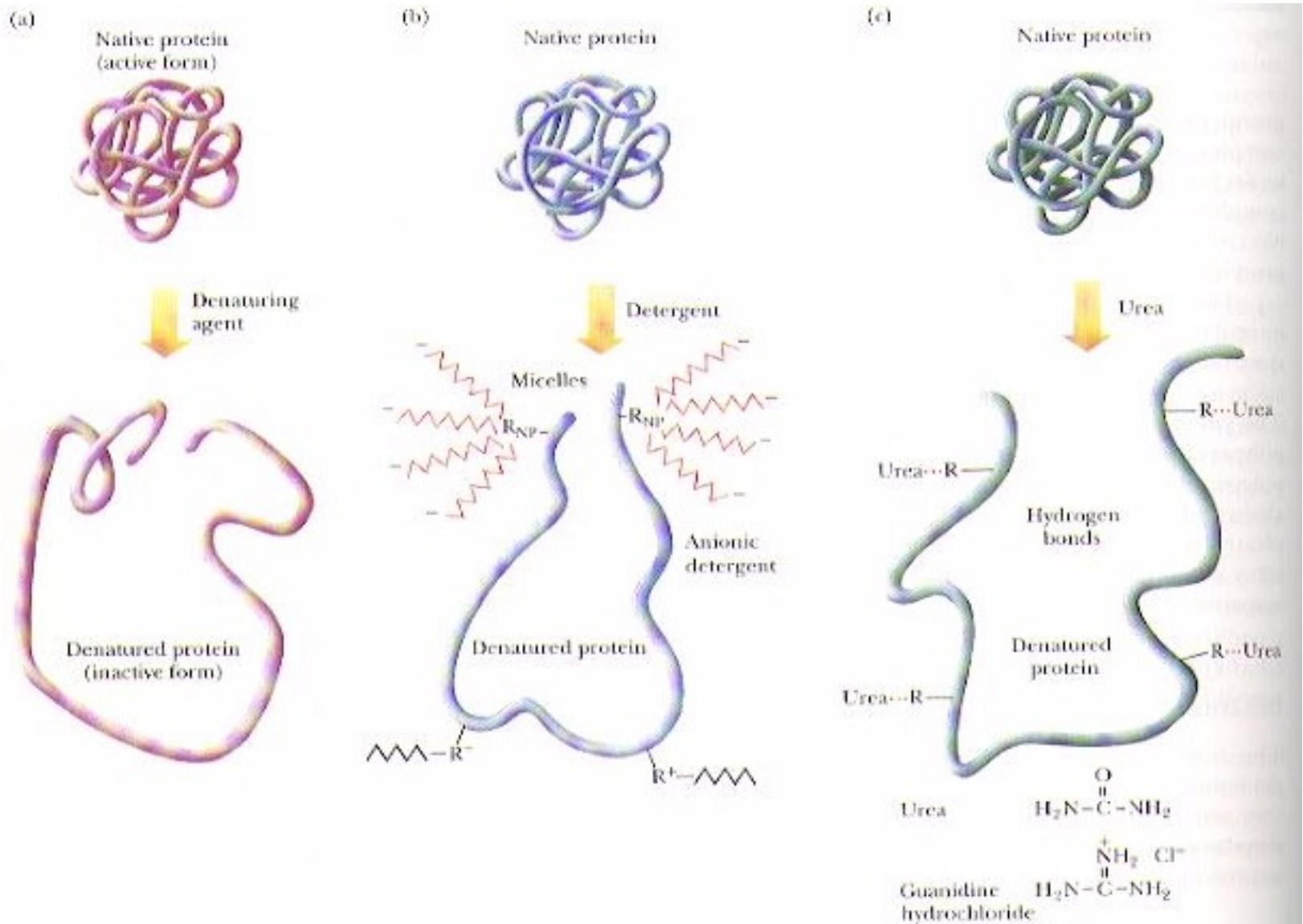
Renaturação

Native,
catalytically
active state.
Disulfide cross-links
correctly re-formed.

- A estrutura é dependente do ambiente em que ela está.
- As proteínas perdem a sua estrutura e função quando sofrem alterações na conformação (**denaturadas**).

Agentes Desnaturantes

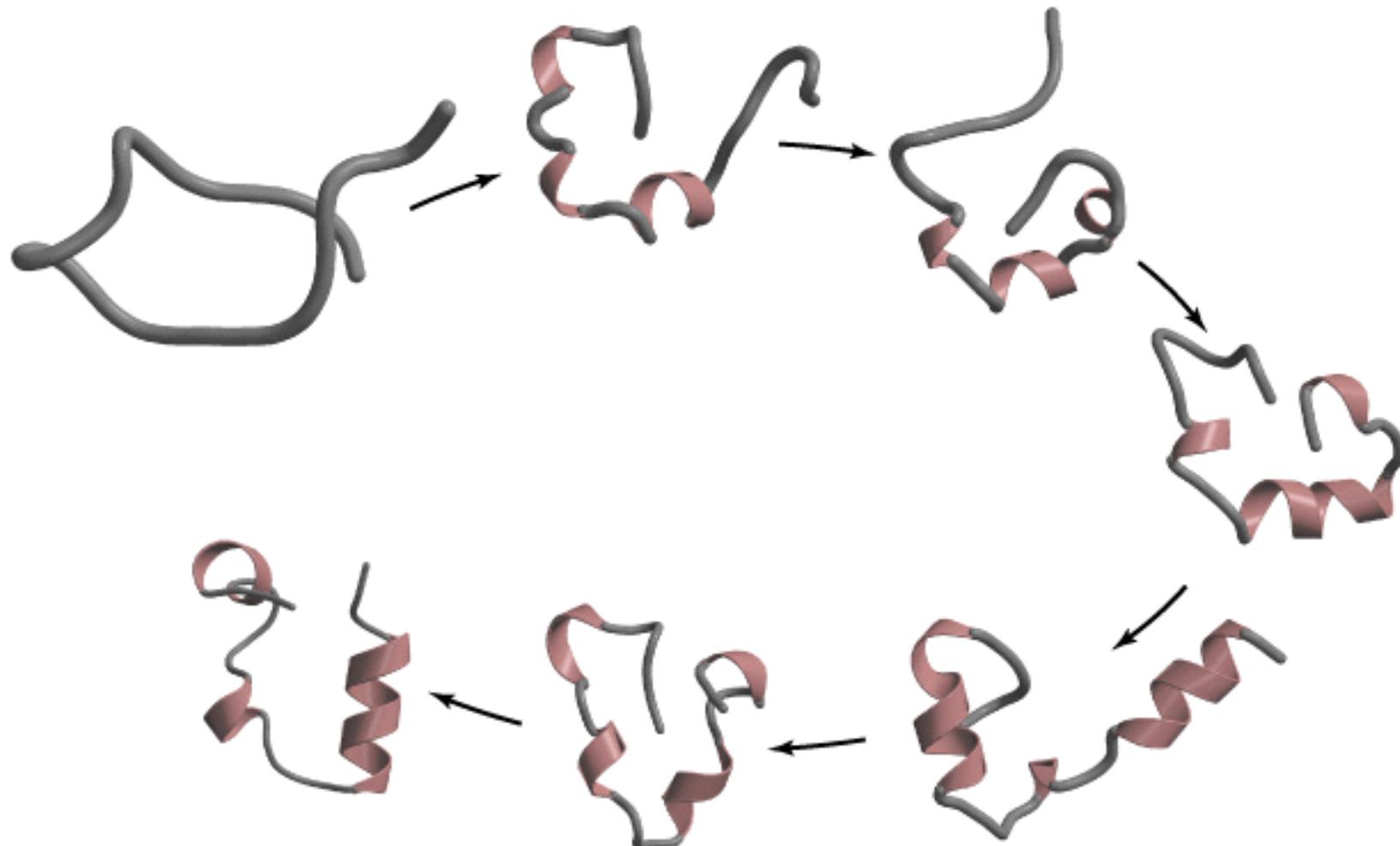
- Calor, pH, alguns solventes orgânicos miscíveis com água, como álcool e acetona. Solutos como uréia e cloreto de guanidina.
- Mercaptoetanol ($\text{HS}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$) rompe pontes de dissulfeto.
- Detergentes.
- Em geral esses são tratamentos brandos, onde as ligações peptídicas não são rompidas.



O enovelamento dos polipeptídios é um processo passo-a -passo

- O processo de enovelamento é complicado. Existem vários modelos para explicar.
- Nem todas as proteínas se enovelam espontâneamente quando são sintetizadas nas células.
- Existem proteínas que facilitam o enovelamento- são chamadas molecular “chaperones” ou proteínas de ligação de cadeias polipeptídicas.

O enovelamento dos polipeptídios é um processo passo-a -passo



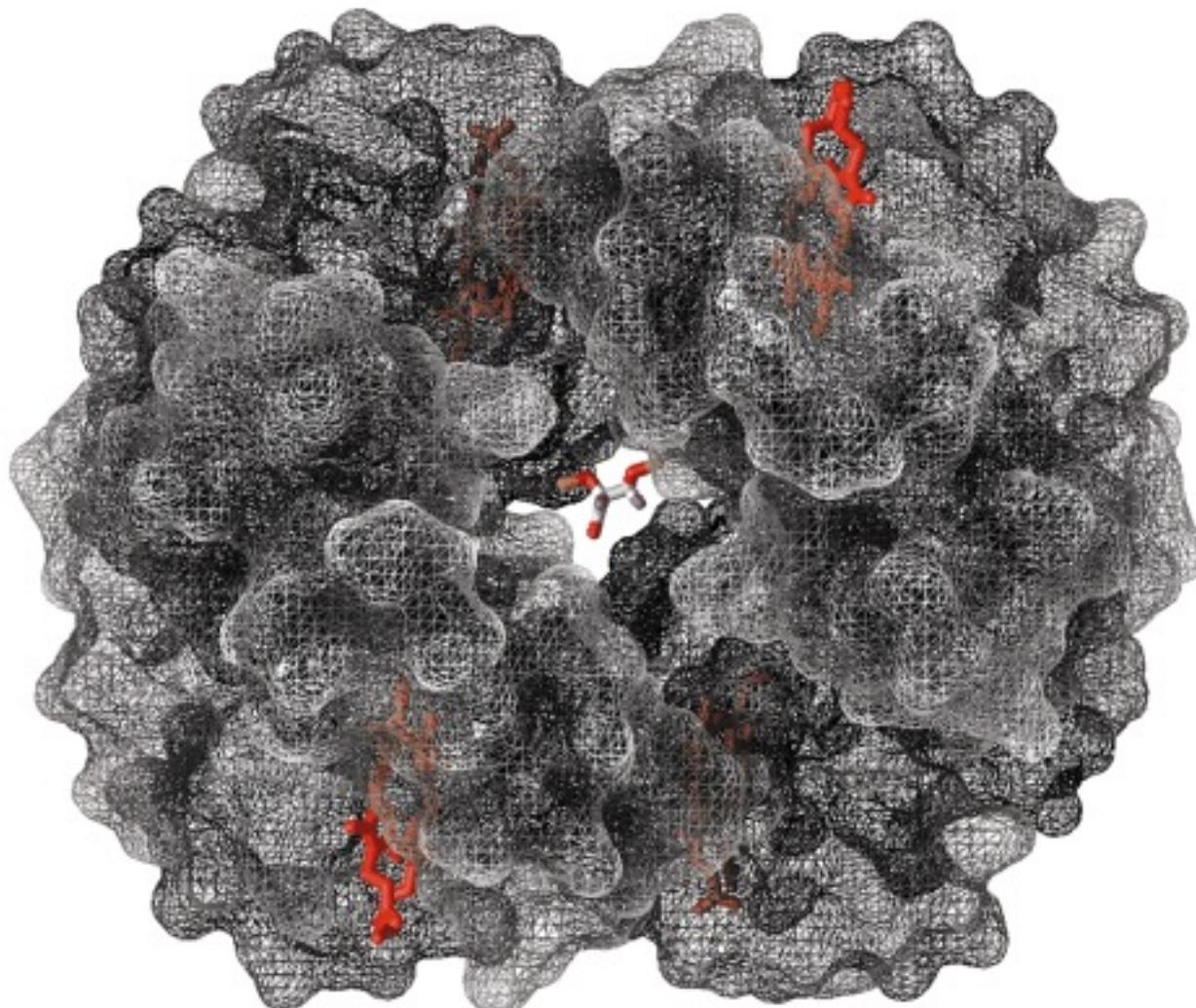
A sequência de aminoácidos determina a estrutura terciária.

- A ribonuclease pode ser denaturada com uréia e agente denaturante.
- Quando são removidos, a enzima volta a ter atividade.
- Por meio da técnica de mutagenese-sítio dirigida pode-se deletar, inserir ou rearranjar aa e verificar efeito na estrutura.

A estrutura terciária não é rígida

- Algumas proteínas como a hemoglobina, têm uma conformação quando o oxigênio liga e outra quando desliga.
- Muitas enzimas também sofrem mudanças conformacionais quando ligam-se os substratos.

Anemia Falciforme ?



(a)

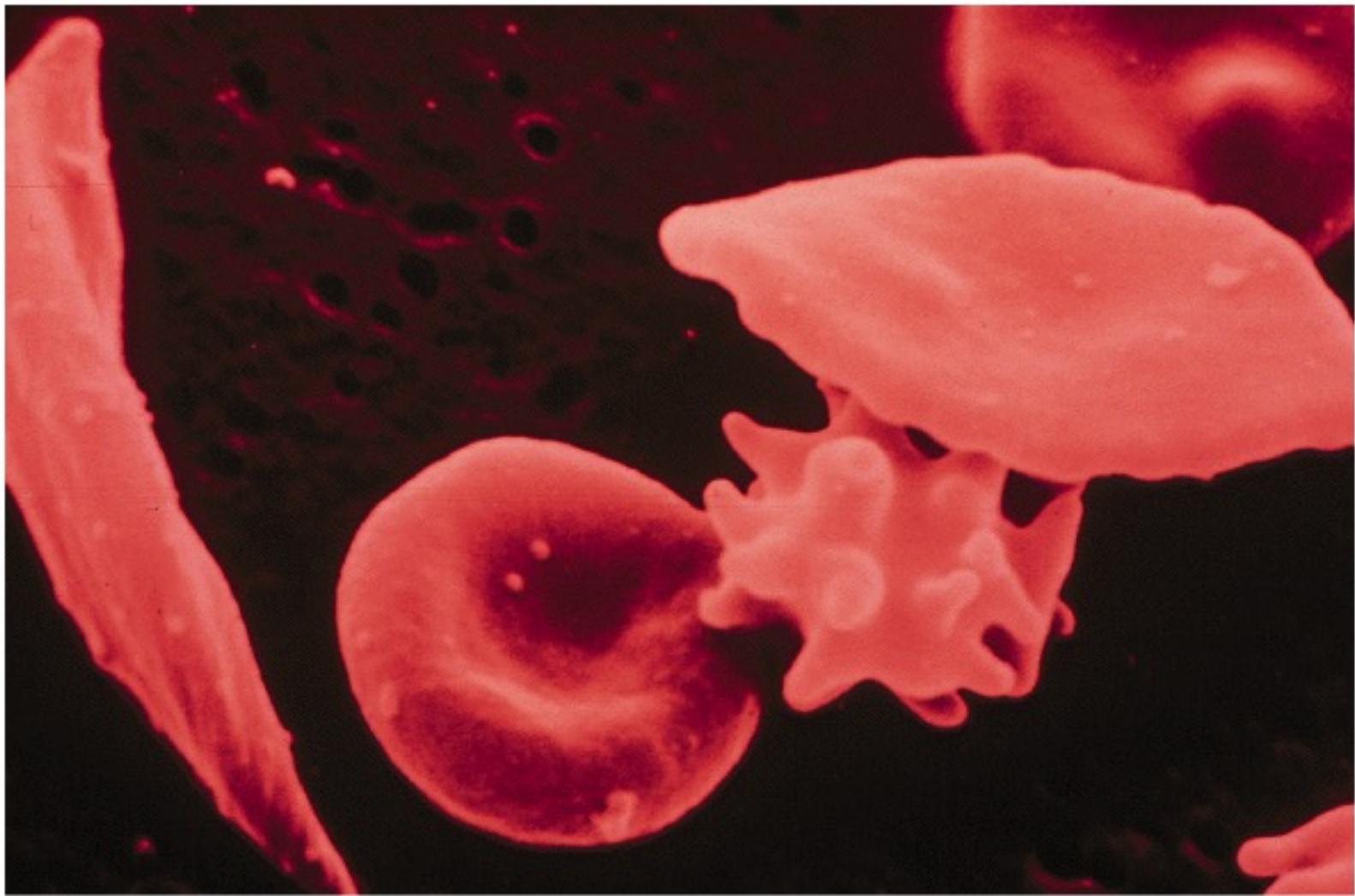


(a)

2 μ m

Anemia Falciforme

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



(b)