

Íons metálicos em sistemas biológicos

Shriver & Atikins , pag 733-790 (Capítulo 26)

Concentração aproximada de alguns elementos (na forma de íons metálicos) no exterior e interior das células

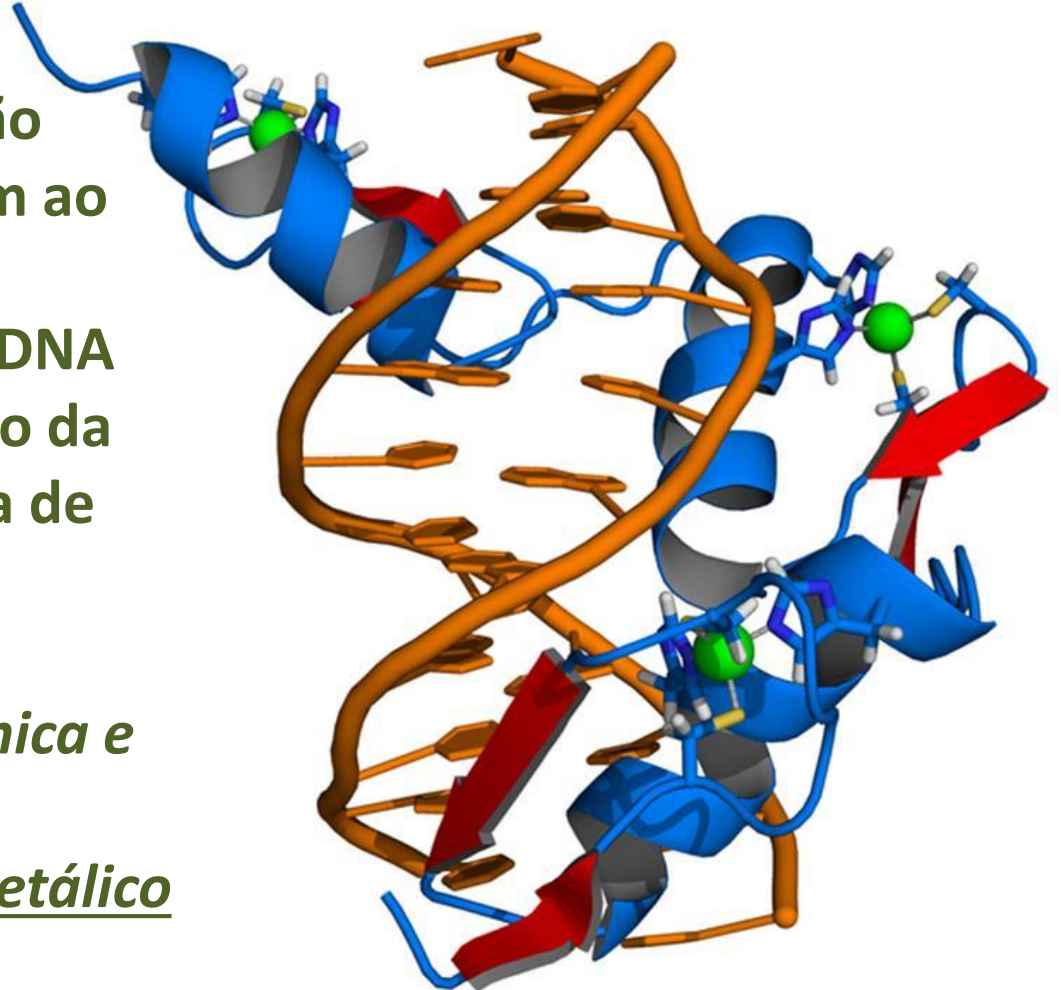
Elemento	água do mar	plasma sanguíneo	citoplasma
Na	$> 10^{-1}$ ↑	10^{-1}	$< 10^{-2}$ ↓
K	10^{-2} ↓	10^{-3}	$< 10^{-1}$ ↑
Mg	$> 10^{-2}$	10^{-3}	10^{-3}
Ca	$> 10^{-3}$ ↑	10^{-3}	10^{-7} ↓
Fe	10^{-17} ↓ (Fe^{3+})	10^{-16} (Fe^{3+})	10^{-2} ↑ (Fe^{2+})
Zn	10^{-8} ↑	10^{-9}	10^{-11} ↓
Cu	10^{-10} (Cu^{2+})	10^{-12}	$< 10^{-15}$ ↓ (Cu^{2+})
Mn	10^{-9} ↓		10^{-6} ↑

O **Zn²⁺** em proteínas que controlam o início da transcrição
(DNA>>RNA)

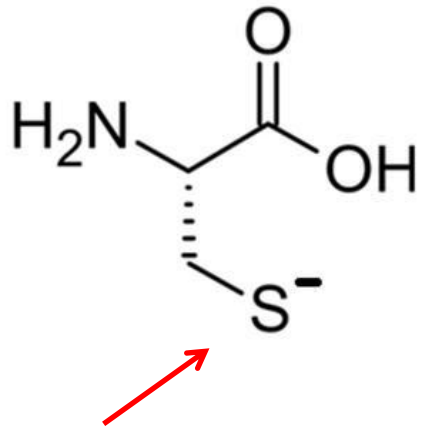
Função biológica: definição estrutural em proteínas
- Fatores de transcrição

Os fatores de transcrição são proteínas que, ao se ligarem ao DNA, controlam o início do processo de "abertura" do DNA para culminar na transcrição da fita em uma nova molécula de RNA

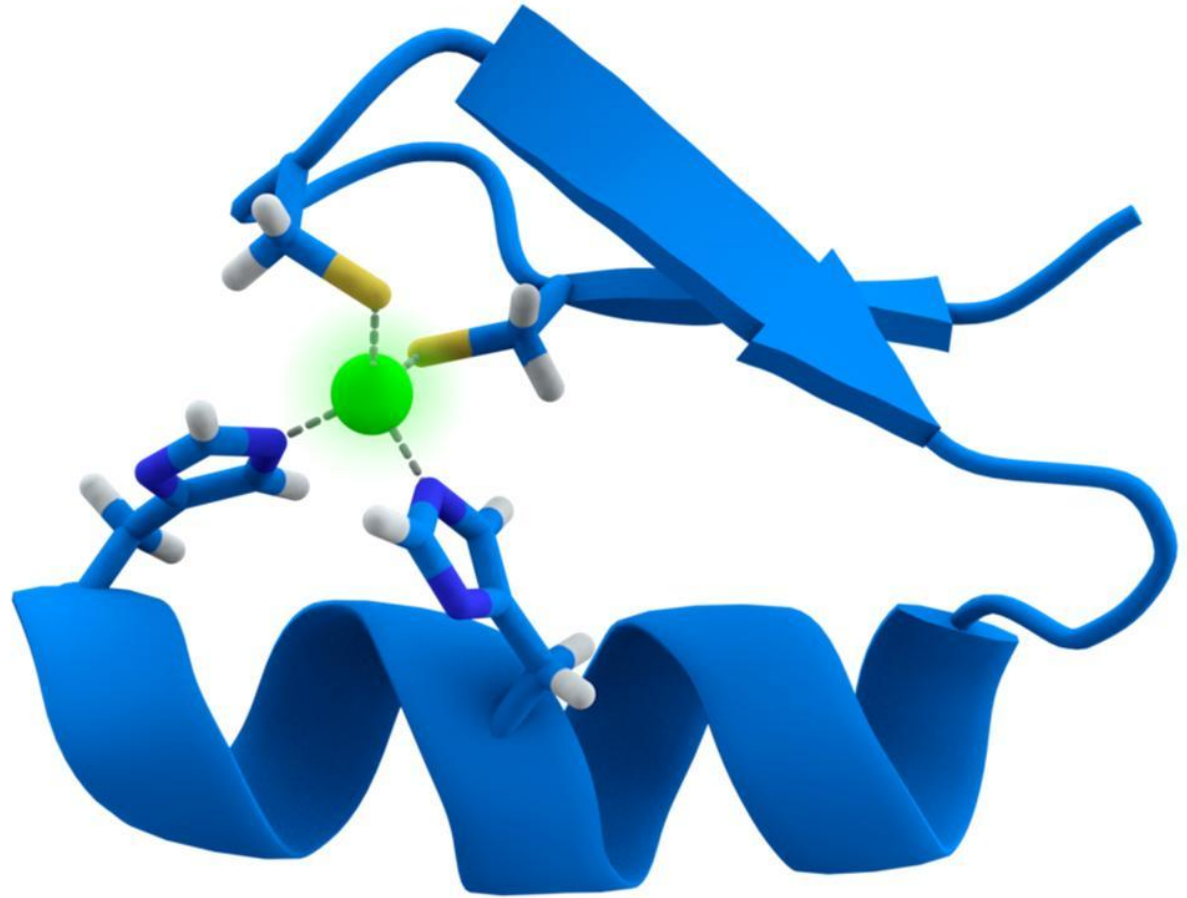
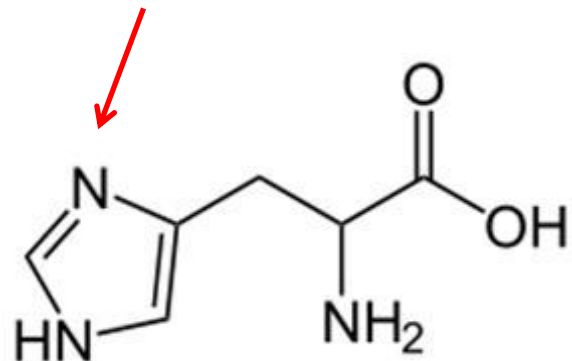
Mais sobre isso em bioquímica e biologia molecular
Nosso foco agora é o íon metálico



Um "dedo de zinco" típico apresenta o íon Zn^{2+} envolto por 4 aminoácidos ligantes: 2 Histidinas e 2 Cisteínas



Centros ligantes
(elétron doadores)
do Zn^{2+}



Pense: Porque o Zn^{2+} está numa estrutura tetraédrica?

O metal Zn

Zn >> 30 elétrons

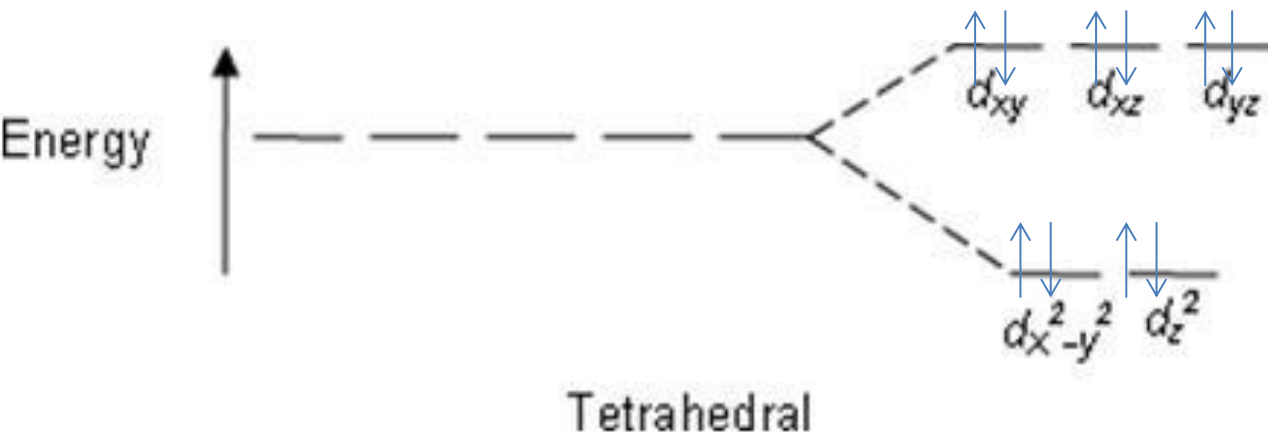
1s²

2s² 2p⁶

3s² 3p⁶ 3d¹⁰

4s² 4p⁰

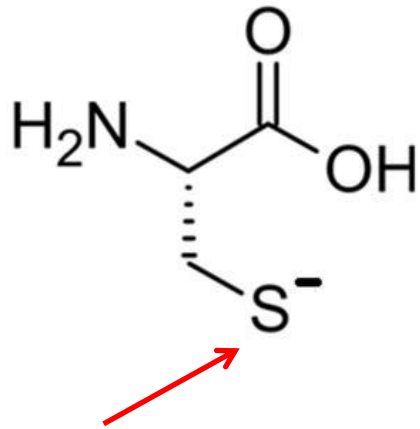
No Zn²⁺ >> 3d¹⁰ 4s⁰



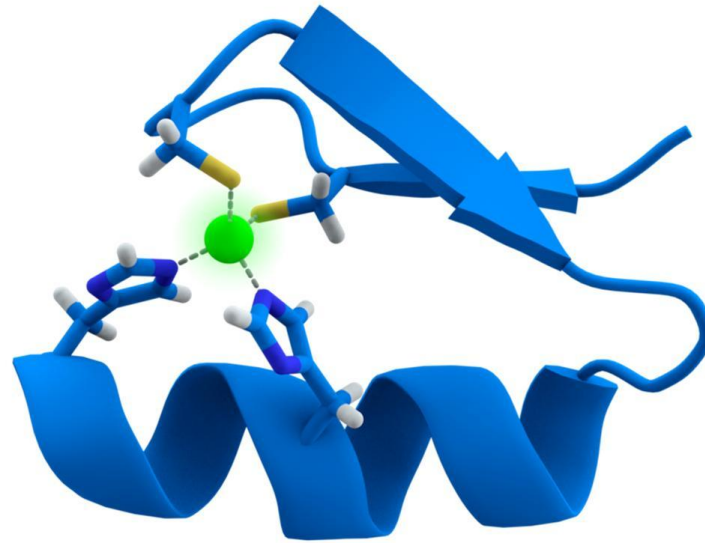
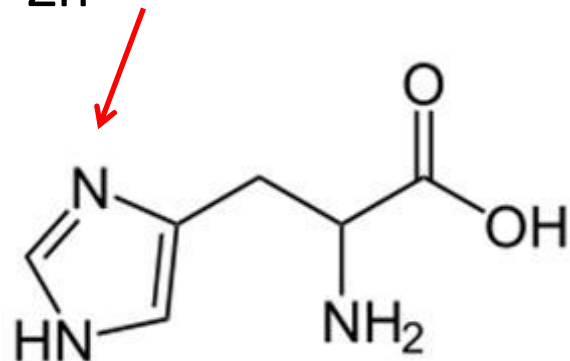
Não há energia de estabilização pelo desdobramento de orbitais "d"

4 ligantes (tetraédrico) são melhor acomodados do que 6 (octaédrico), devido a menor repulsão elétron-elétron entre os ligantes

Um "dedo de zinco" típico apresenta o íon Zn^{2+} envolto por 4 aminoácidos ligantes: 2 Histidinas e 2 Cisteínas



Centros ligantes
(elétrons
doadores) para o
 Zn^{2+}

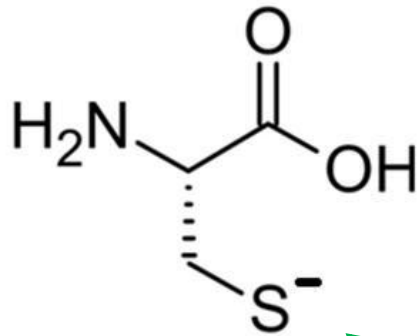


Pense: Recupere os conceitos sobre ácido e base e preveja o que aconteceria com um fator de transcrição do tipo $\text{Cys}_2\text{His}_2\text{Zn}$ se o pH for: 7, 6 e 3?

O que precisamos saber??

O que acontece com um fator de transcrição do tipo Cys₂His₂Zn se o pH for: 7, 6 e 3?

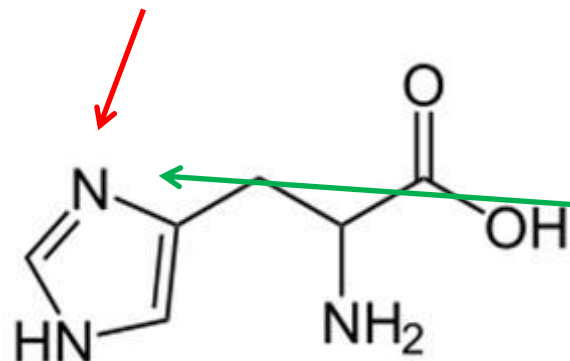
pH	Cisteína	Histidina
7,0	Cis-S ⁻	His-N:



Centros ligantes
(elétron
doadores) do Zn²⁺

pKa aprox. 5.5

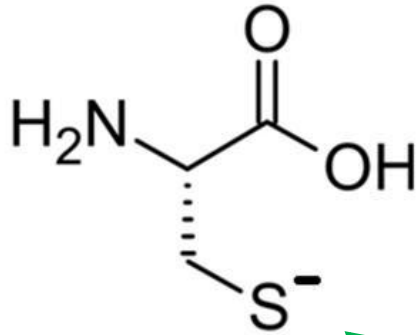
Pense: Recupere os conceitos sobre ácido e base e preveja o que aconteceria com um fator de transcrição do tipo Cys₂His₂Zn se o pH for: 7, 6 e 3?



pKa aprox. 6.1

O que acontece com um fator de transcrição do tipo Cys₂His₂Zn se o pH for: 7, 6 e 3?

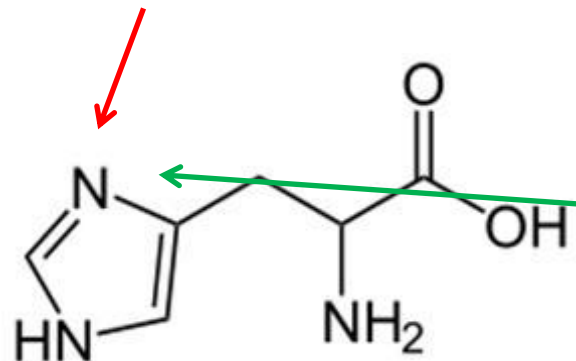
pH	Cisteína	Histidina
7,0	Cis-S ⁻	His-N:
6,0	Cis-S ⁻	His-N:



Centros ligantes
(elétron
doadores) do Zn²⁺

pKa aprox. 5.5

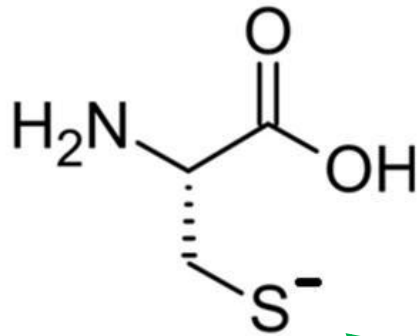
Pense: Recupere os conceitos sobre ácido e base e preveja o que aconteceria com um fator de transcrição do tipo Cys₂His₂Zn se o pH for: 7, 6 e 3?



pKa aprox. 6.1

O que acontece com um fator de transcrição do tipo Cys₂His₂Zn se o pH for: 7, 6 e 3?

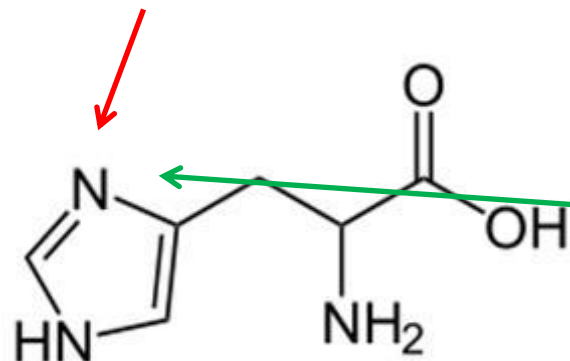
pH	Cisteína	Histidina
7,0	Cis-S ⁻	His-N:
6,0	Cis-S ⁻	His-N:
3,0	Cis-SH	His-NH ⁺



Centros ligantes
(elétron
doadores) do Zn²⁺

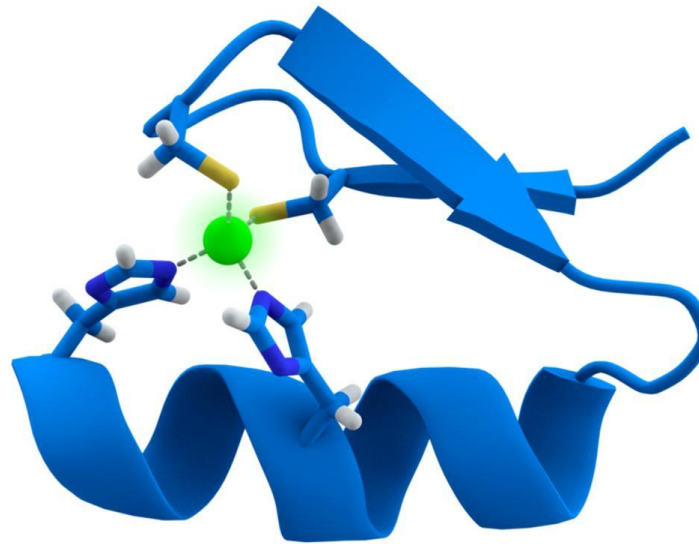
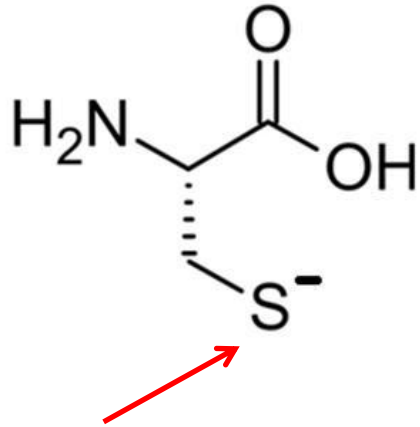
pKa aprox. 5.5

Pense: Recupere os conceitos sobre ácido e base e preveja o que aconteceria com um fator de transcrição do tipo Cys₂His₂Zn se o pH for: 7, 6 e 3?

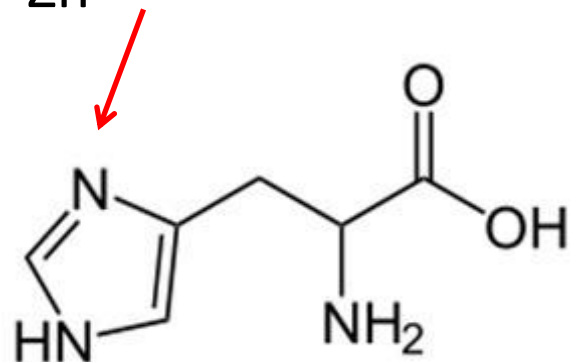


pKa aprox. 6.1

Um "dedo de zinco" típico apresenta o íon Zn^{2+} envolto por 4 aminoácidos ligantes: 2 Histidinas e 2 Cisteínas



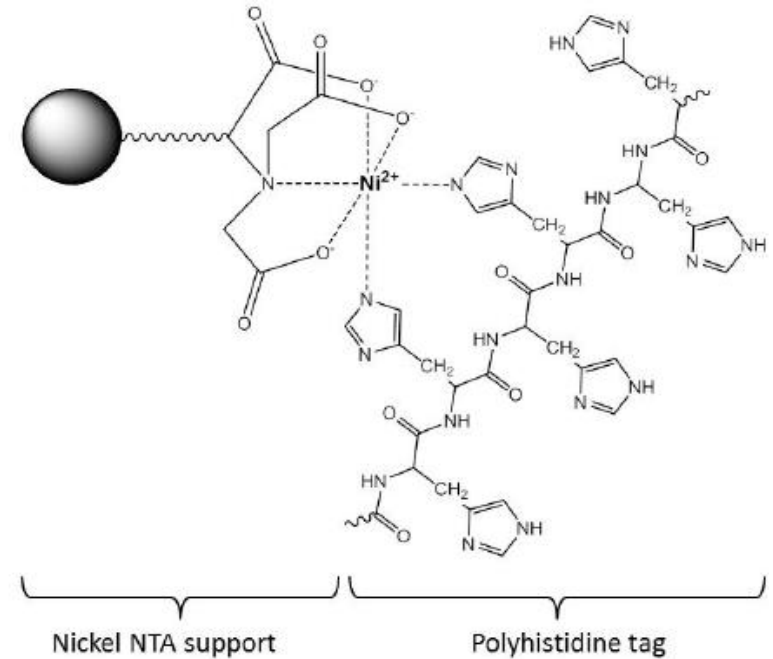
Centros ligantes
(elétron
doadores) para o
 Zn^{2+}



pH	Cisteína	Histidina	Quelante ???
7,0	Cis-S ⁻	His-N:	sim, sim
6,0	Cis-S ⁻	His-N:	sim, sim
3,0	Cis-SH	His-NH ⁺	não, não

O íon níquel e uma aplicação particular em Bioquímica

- > Proteínas com um polipeptídeo terminal com 6 histidinas são adsorvidas em uma coluna cromatográfica que contém íon Ni^{2+}
- > A proteína contendo polihistidina é retida na coluna, deixando outras passar.
- > Posteriormente, é possível dessorver a proteína complexada, liberando-a na forma pura.

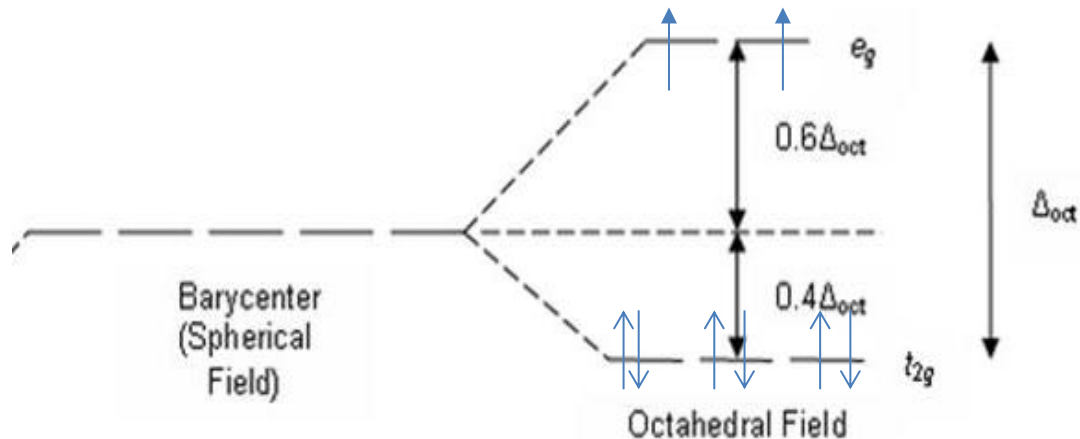


Pense:

- Porque o íon Ni^{2+} forma um complexo octaédrico e não tetraédrico?
- Considerando que o pK_a das histidinas envolvidas é 5,5, como seria possível “soltar” a proteína adsorvida no suporte? Mostre equilíbrios para justificar sua resposta.
- Se os pK_a s dos três ácidos carboxílicos pertencentes ao suporte (“Nickel NTA support”) é igual a 4,0, o que poderia ser previsto se o procedimento de purificação fosse seguido de uma lavagem do suporte com solução em pH 2,5?

Porque o íon Ni^{2+} forma um complexo octaédrico e não tetraédrico?

Íons Ni^{2+} têm configuração de elétrons $3d^8 4s^0$ que, em estruturas octaédricas, teremos:



8 elétrons "d" em estrutura octaédrica:

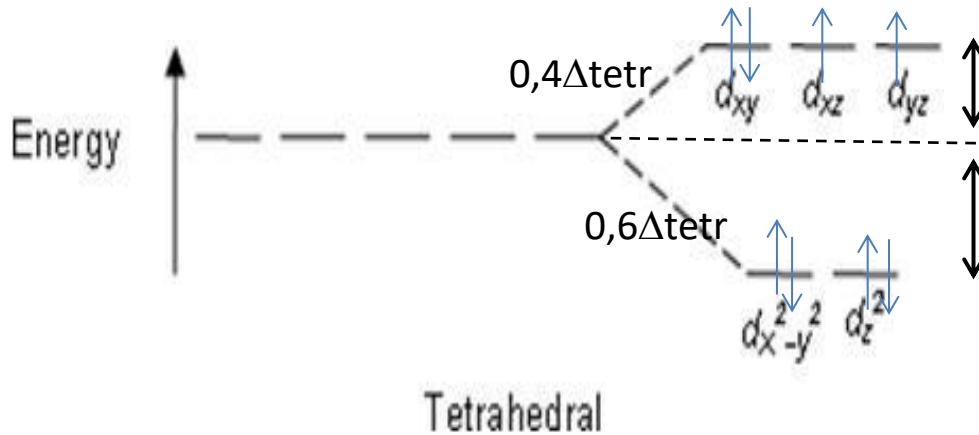
$6 \times 0,4 \Delta_{\text{octaédrico}}$ (estabilizante) = $2,4 \Delta_{\text{octaédrico}}$

$2 \times 0,6 \Delta_{\text{octaédrico}}$ (destabilizante) = $1,2 \Delta_{\text{octaédrico}}$

Estabilização = $1,2 \Delta_{\text{octaédrico}}$ - **3x energias para emparelhamento de elétrons** (note que estamos assumindo ligantes de campo forte e, por isso, degeneração intensa de energia entre os orbitais d. Ou seja, os valores de ΔE são grandes e a energia demandada pelo emparelhamento de elétrons seria desprezível)

>> e se fosse hipoteticamente tetraédrico.....

8 elétrons "d" em uma estrutura tetraédrica:



$4 \times 0,6 \Delta_{\text{tetraédrico}}$ (estabilizante) = $2,4 \Delta_{\text{tetraédrico}}$

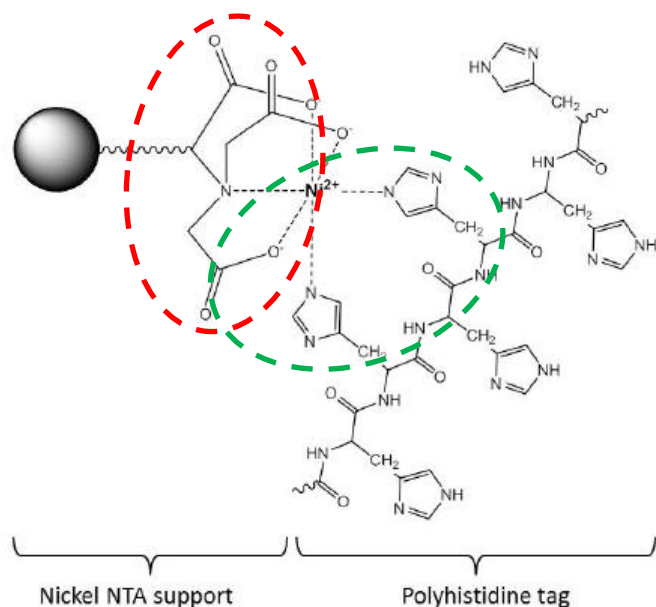
$4 \times 0,4 \Delta_{\text{tetraédrico}}$ (destabilizante) = $1,6 \Delta_{\text{tetraédrico}}$

Estabilização resultante = $0,8 \Delta_{\text{tetraédrico}}$ - 2x energia para emparelhamento de elétrons

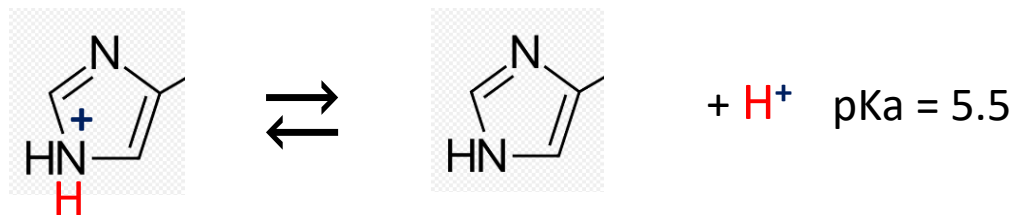
Note ainda que o $\Delta_{\text{tetraédrico}}$ é MENOR do que o $\Delta_{\text{octaédrico}}$, sendo aproximadamente metade do valor do $\Delta_{\text{octaédrico}}$

Portanto, o íon Ni^{2+} é significativamente mais estabilizado em estruturas octaédricas com 6 ligantes do que em estruturas tetraédricas com 4 ligantes

Se o pK_a das histidinas envolvidas é 5,5, proponha uma forma de “soltar” a proteína adsorvida no suporte.



Para atuar como quelantes do Ni^{2+} , as histidinas das proteínas adsorvidas no suporte necessitam estar na forma desprotonada. Portanto, considerando o equilíbrio ácido-base:



Bastaria acidificar o meio até pHs menores do que 5,5, situação onde predominariam as histidinas protonadas, o que geraria repulsão entre as cargas positivas do Ni^{2+} e das histidinas com carga positiva, liberando, portanto, a proteína adsorvida.

Se o pK_a dos três ácidos carboxílicos pertencentes ao suporte (“Nickel NTA support”) é igual a 4,0, o que poderia ser previsto se o procedimento de purificação fosse seguido de uma lavagem do suporte com solução em pH 2,5?

Neste caso, o equilíbrio envolvido seria: $-COOH \rightleftharpoons COO^- + H^+$ $pK_a = 4,0$

Em pH 2,5, predominaria a forma protonada dos ácidos carboxílicos, sendo que estes deixariam de ser bons quelantes do íon Ni^{2+} , o que ocasionaria a perda de Ni^{2+} no suporte.

Integrando as informações dos itens b e c, notamos que a dessorção da proteína deve ocorrer em pHs menores do que 5,5, mas maiores do que 4,0.