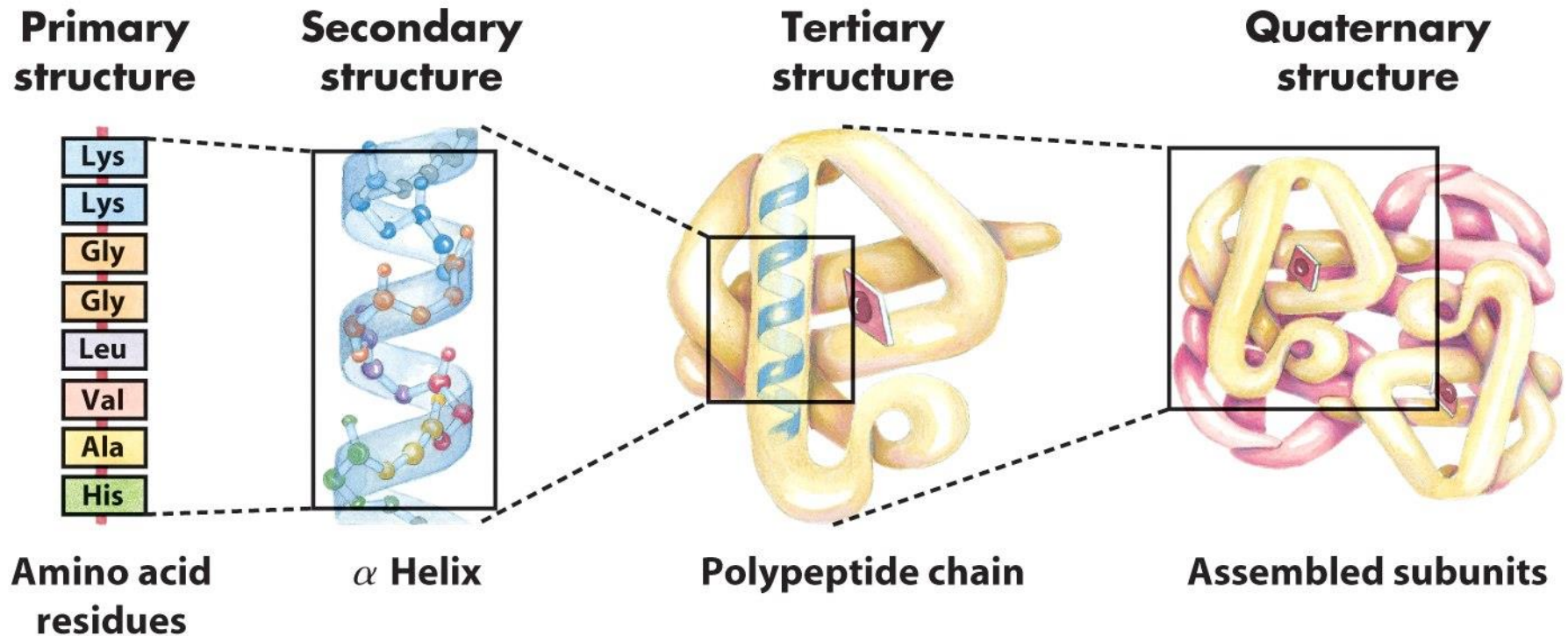


# Níveis de organização das proteínas



## Importância da estrutura primária

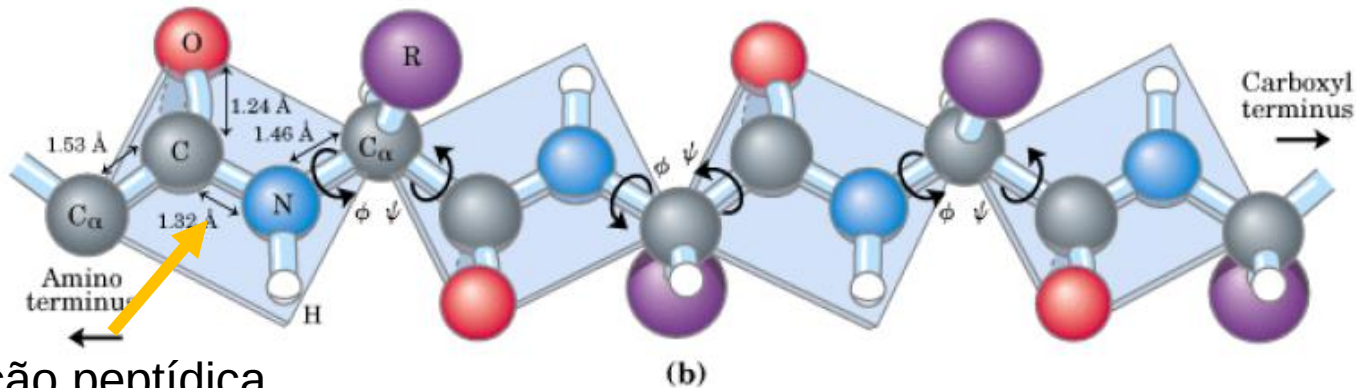
Hb normal    I    – Thr- Pro-Glu-Glu-Lys-Ala

Hb falciforme    – Thr- Pro-**Val**-Glu-Lys-Ala

G**A**C====G**T**C

# Estrutura secundária

Os átomos envolvidos na ligação peptídica se-encontram no mesmo plano:  $\omega=180^\circ$  (trans) ou  $0^\circ$  (cis)



## Ângulos de rotação da cadeia polipeptídica em torno de um carbono alfa

Os ângulos  $\phi$  (phi) e  $\psi$  (psi) tem “livre” rotação

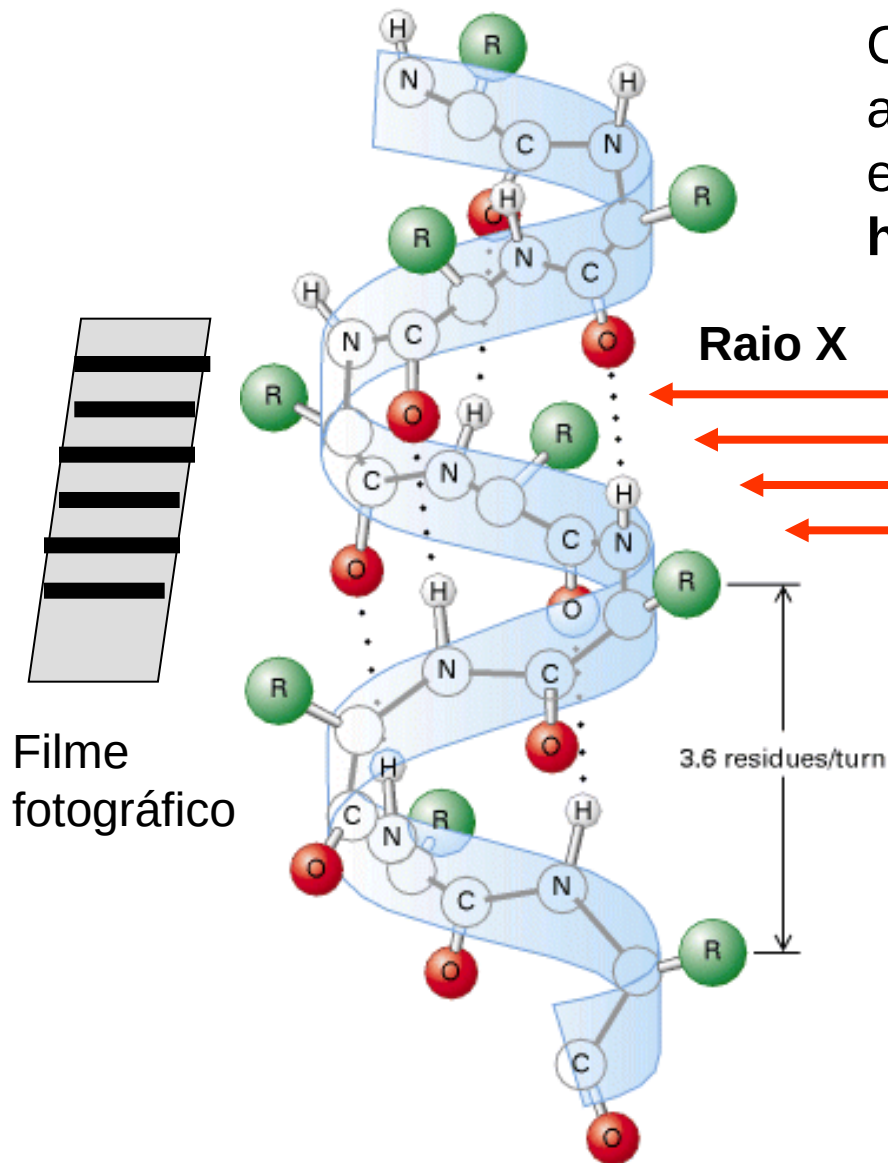
$\psi$ - (psi) – ângulo de rotação entre o  $C\alpha$  e o C

$\phi$  (fi) – ângulo de rotação entre o  $C\alpha$  e N

Configuração em *trans* de seus átomos de H e O – mais estável

A configuração *cis* é desfavorável em virtude do impedimento estérico entre os grupos R

# Estrutura em $\alpha$ -hélice

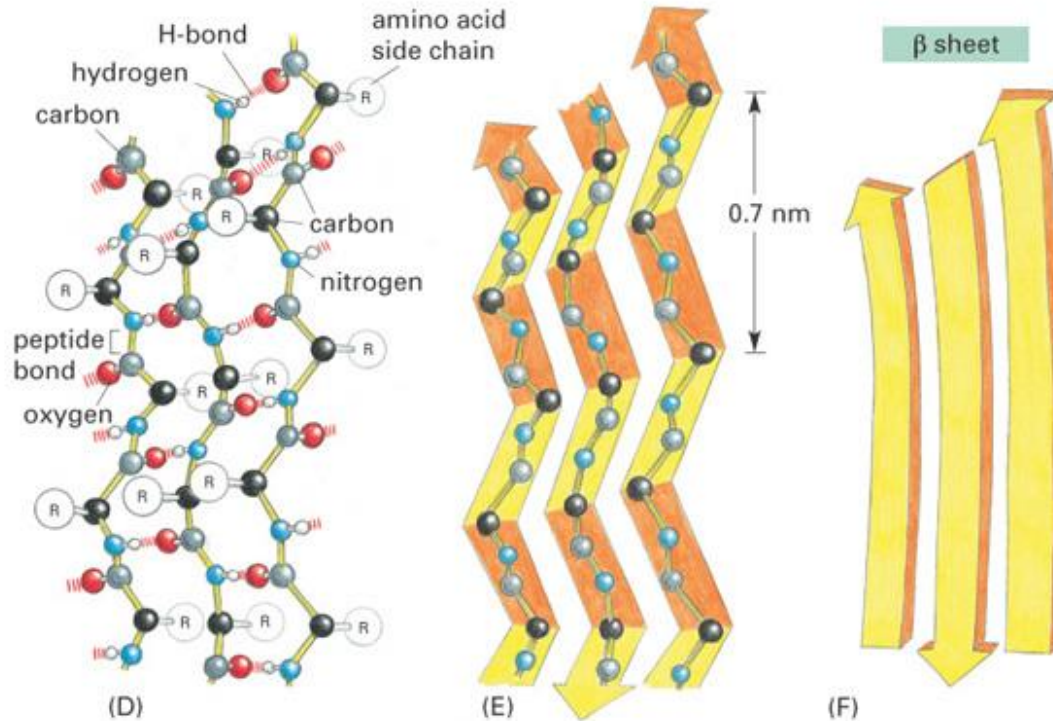


O filamento de aminoácidos enrola-se ao redor de um eixo, formando uma escada helicoidal chamada **alfa-hélice**.

o enovelamento é estabilizado por pontes de hidrogênio entre átomos das ligações peptídicas de qualquer aminoácido, **exceto prolina**;

as **cadeias laterais** dos aminoácidos voltam-se para fora da hélice.

# Estrutura secundária – Folha $\beta$

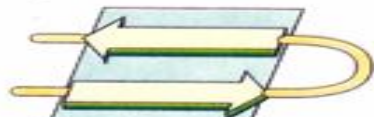


antiparalela

(D)

(E)

(F)



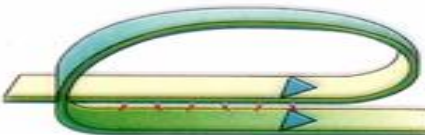
Paralela, torção à direita



Parallel, left-handed

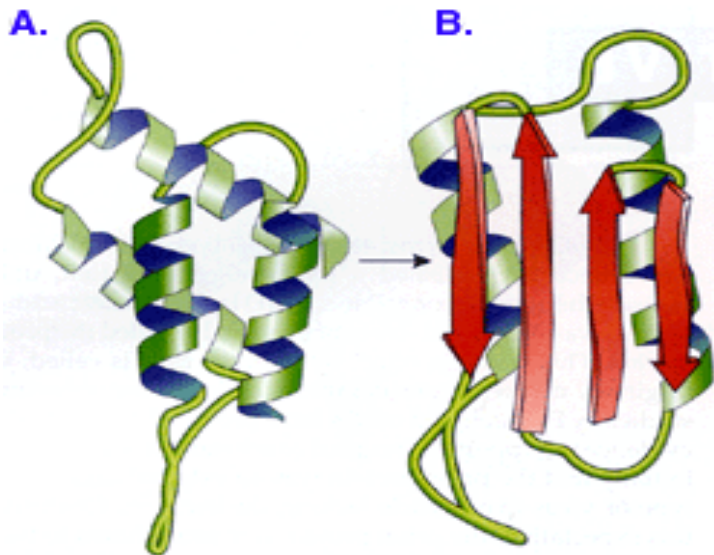


Paralela, torção à esquerda





## Alças e voltas reversas



## Protuberância $\beta$

tipo 1



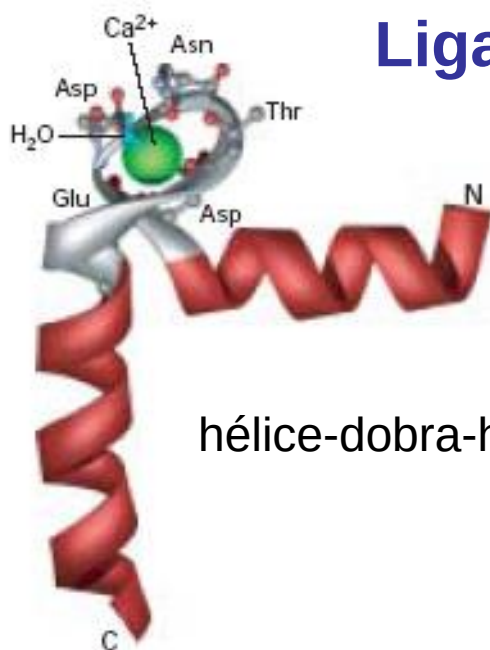
tipo 2



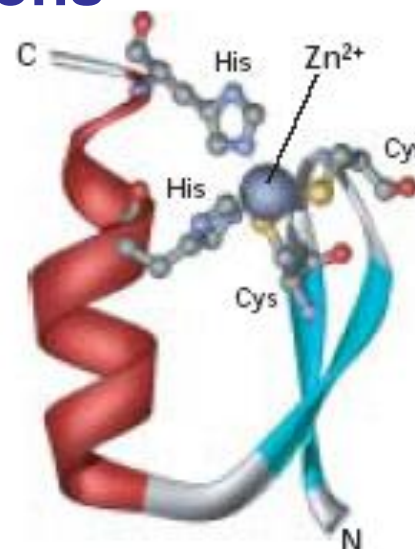
Notar ligação de hidrogênio entre os grupos peptídicos do 1º e 4º resíduo.

É comum encontrar Pro e Gly nestas estruturas

## Ligação com íons



hélice-dobra-hélice



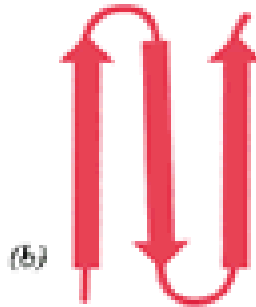
“Zinc-finger”

# Estruturas supersecundárias

Beta-alfa-beta



Só beta



Só alfa

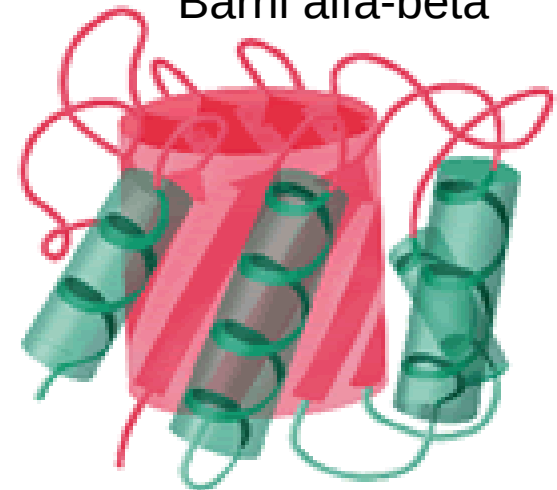


## motivos

Barril beta



Barril alfa-beta

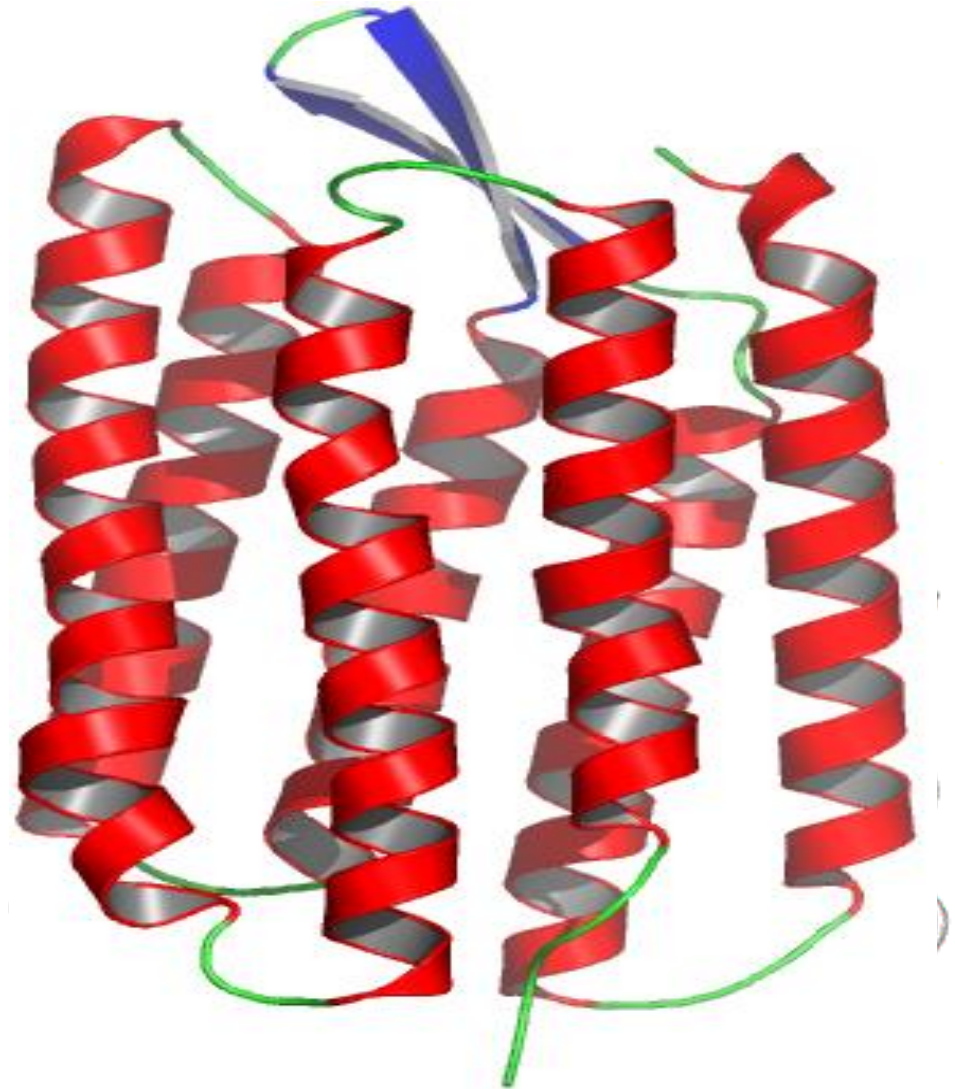
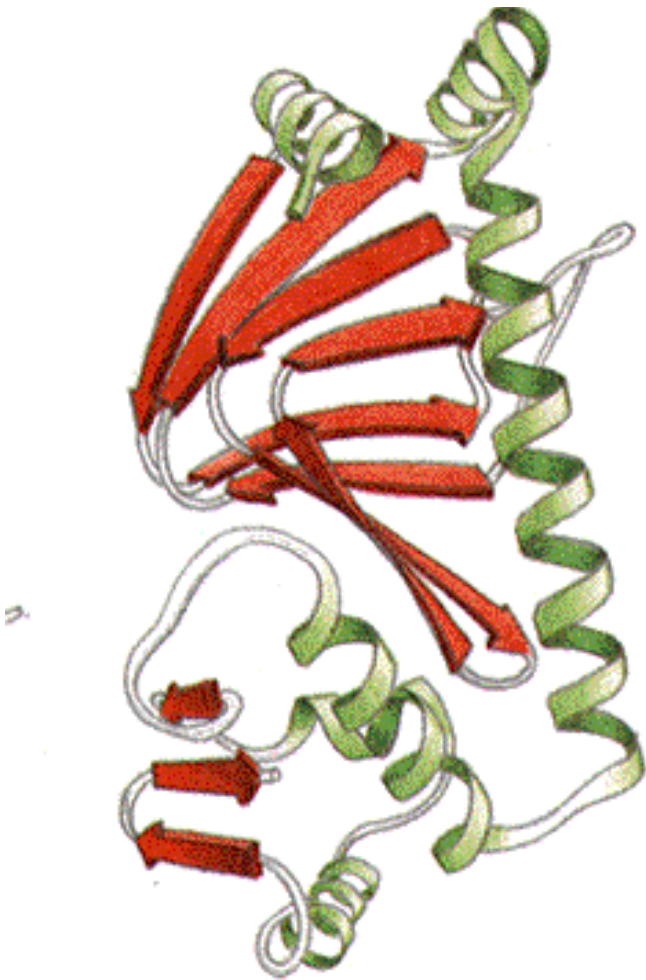


Rubredoxina  
de Clostridium

Albumina  
humana

Triose fosfato isomerase  
de musculo de galinha

## Estrutura Terciária



Hélices e fitas  $\beta$  podem ser combinadas de várias maneiras

# Diagrama de Ramachandran

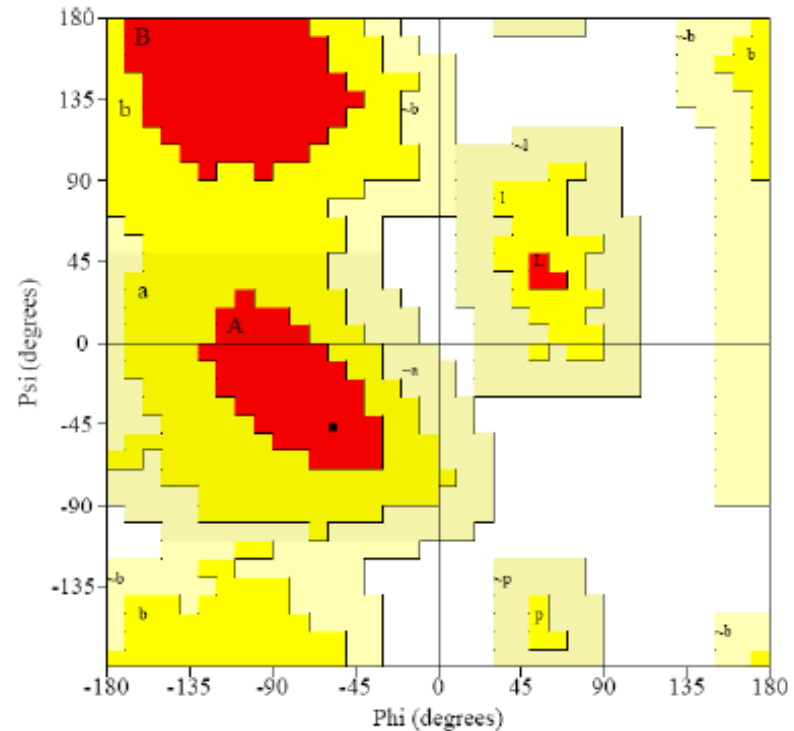
Região permitida – vermelho

Região adicionalmente permitida - amarelo

Região A – alfa helice

Região B – folha –beta

Região L – loops



Referência: Laskowski, R.A.; MacArthur, M.W., Moss, D.S., Thornton, J.M. PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures. *J. of Appl. Cryst.* 26(2), 283-291, (1993).

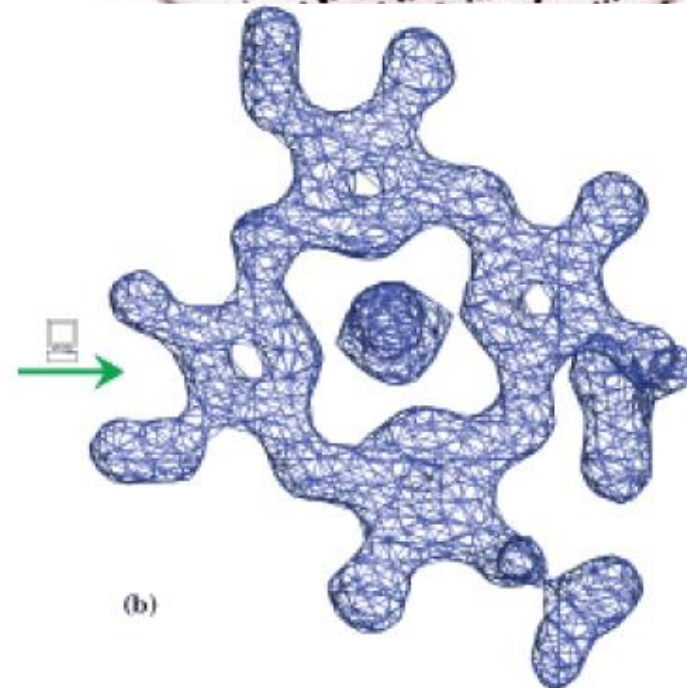
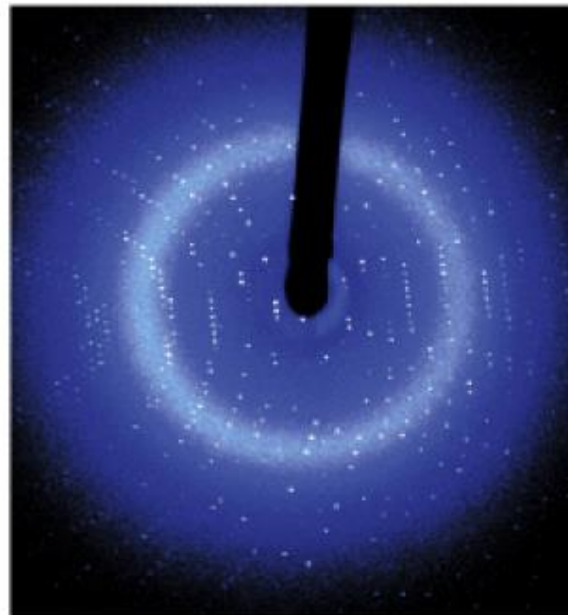
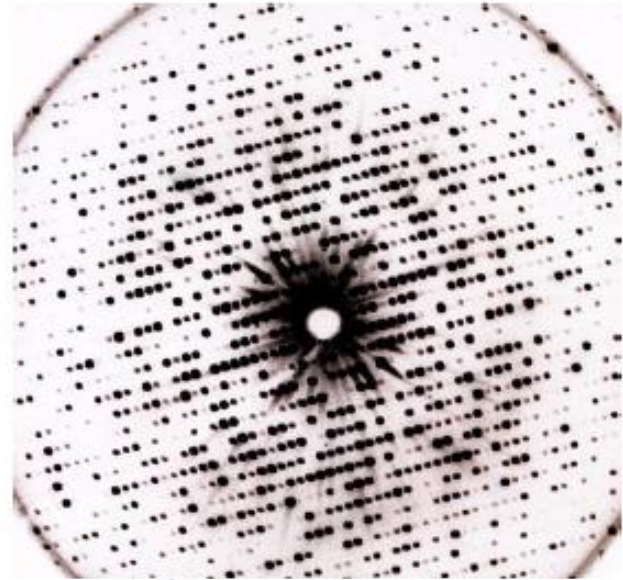
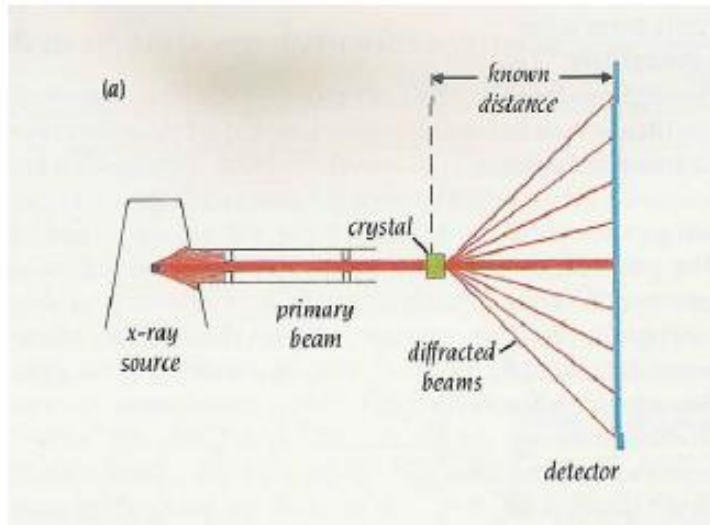


# Como determinar a estrutura terciária de proteínas?

## Cristalização de Proteínas

- Obter o cristal
  - Incidir o feixe de raio X
  - Uma parte dos raios X é refratado
  - Obtem-se um mapa de densidade eletrônica
- 
- ✓ O padrão é produzido quando os elétrons em cada átomo da molécula dispersam raio X
  - ✓ O número de elétrons no átomo determina a intensidade da sua dispersão de raio X.; átomos mais pesados dispersam mais eficientemente que os mais leves
  - ✓ As informações são extraídas dos padrões de difração mediante uma análise matemática, série de Fourier.

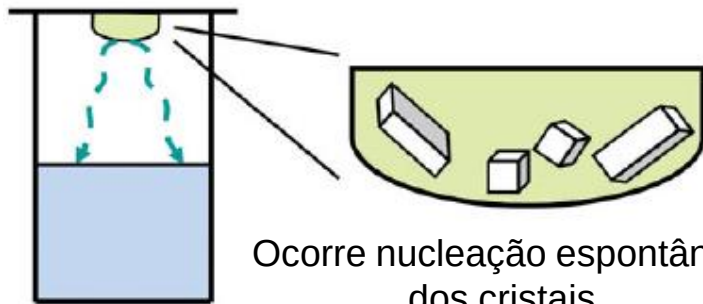
# Determinação das Estruturas de Proteínas



## Método de cristalização:

**Difusão de vapor: “processo de equilíbrio entre duas soluções através da fase de vapor num meio fechado”**

Proteína em solução menos concentrada



Ocorre nucleação espontânea dos cristais

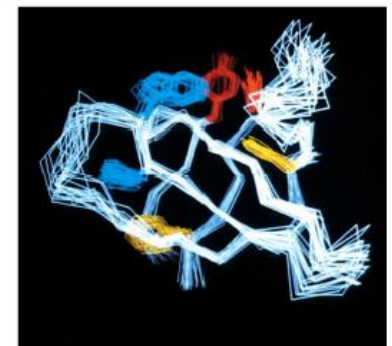
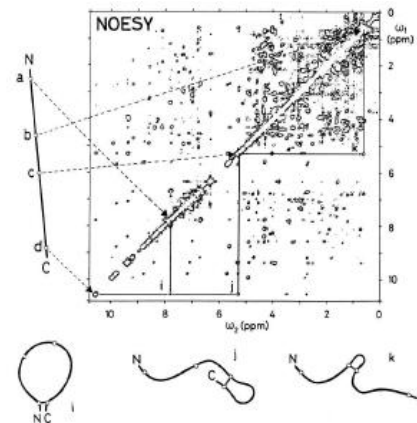
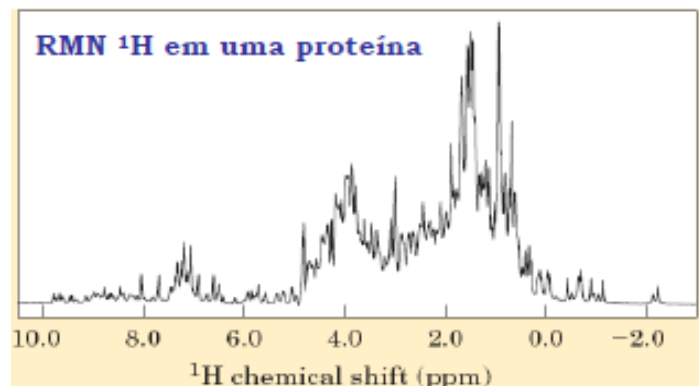
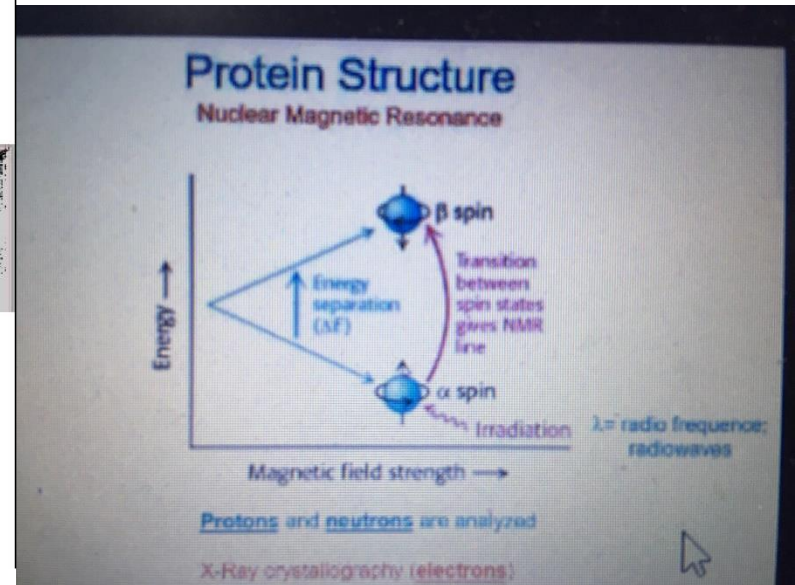
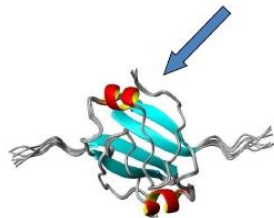
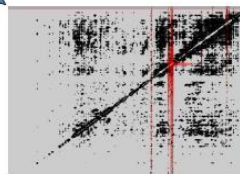
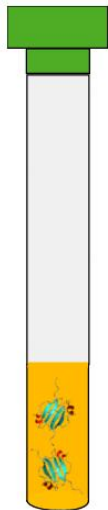
Solução mais concentrada



- ocorre se o processo for favorável do ponto de vista da termodinâmica
- os precipitantes removem água do meio forçando as moléculas a se associarem

# Ressonância Magnética Nuclear - RMN

## RMN de proteínas





# Ressonância Magnética Nuclear - RMN

## Resumo da técnica:

- ✓ analisa os **núcleos** (prótons e nêutrons), enquanto a cristalização analisa os elétrons.
- ✓ A radiação que é emitida é do comprimento de ondas de radio.
- ✓ Amostra é colocada em um recipiente com ima muito potente e quando sob um campo magnético as partículas se excitam e mudam de estado energético. Quando elas voltam ao estado de energia elas emitem radiação.
- ✓ A técnica identifica átomos que estão espacialmente próximos que podem sentir o campo magnético de um átomo vizinho



# Ressonância Magnética Nuclear - RMN

- ✓ **O átomo precisa ter numero impar de prótons e elétrons..** Por exemplo na proteína temos H, C, O e N. Todos eles tem numero par de prótons e eletros.

Ex. carbono. Ex. 6 P e 6 eletrons. Os spins se anulam.

Como fazer?

Existem os isótopos. Ex. C13 ( 6 protons e 7 neutrons), H2, N15, O 17. São raros e por isso RMN é uma técnica cara.

Então, é preciso expressar as proteínas em um meio contendo esses isótopos para que possam ser incorporados as proteínas e permitir a analise por RMN.

Ex. cultivar em glicose marcada

Os espectros bidimensionais são mais adequados para analisar moléculas maiores, como as proteínas. Também é necessária uma equação matemática para interpretar o espectro.



# Comparação do métodos

## 1) Cristalografia de Proteínas

## 2) Ressonância Magnética Nuclear de Proteínas

Métodos complementares, cada um com suas vantagens e desvantagens

### 1) Cristalografia de Proteínas

*Vantagens:*

- Maior resolução
- Não há limite teórico sobre o tamanho (5000 g/mol até 107 g/mol)

*Desvantagens:*

- Dinâmica conformacional pode não ser evidente
- Não aplicável à proteínas com grande flexibilidade conformacional
- Difícil estudar a cinética de processos
- Passo limitante: obter cristais que difratam

### 2) Ressonância Magnética Nuclear

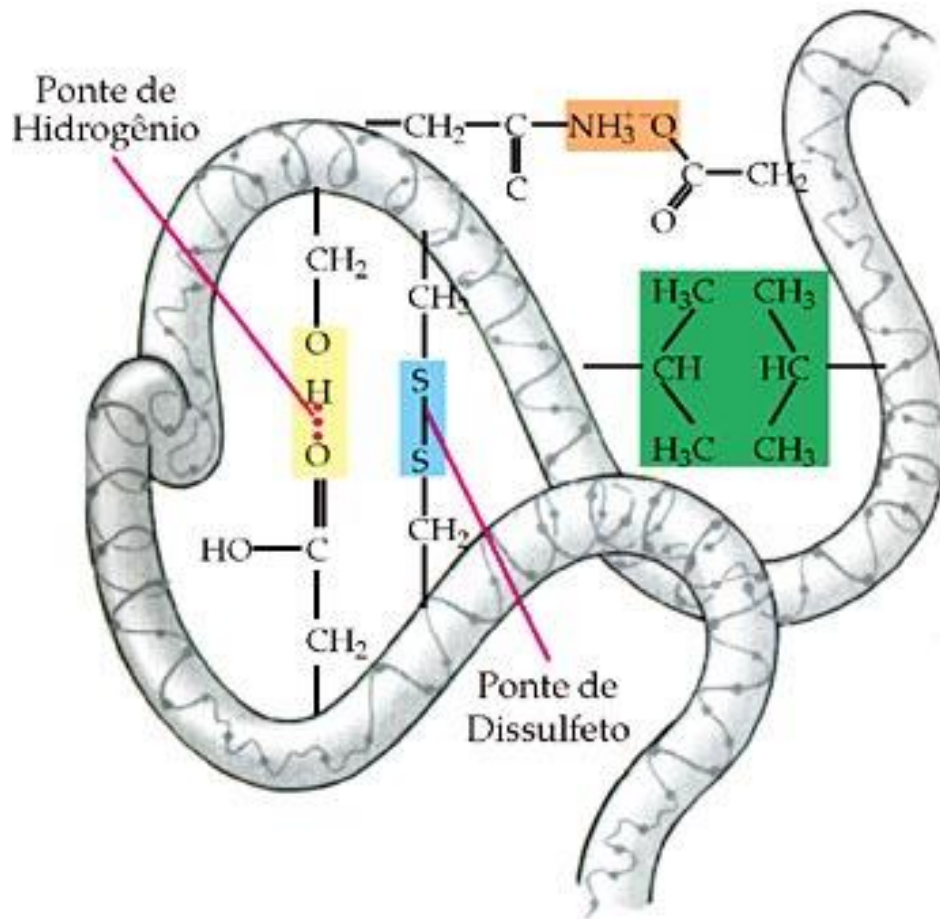
*Vantagens:*

- Aplicável a proteínas pequenas (até 70 kDa, incluindo oligopeptídeos)
- Pode ser utilizado para estudar vários tipos de dinâmica conformacional com frequências de  $10^{-9}$  s até 1 s
- Pode ser utilizado para estudar a cinética de processos e interações e enovelamento de proteínas

*Desvantagens:*

- Limite de tamanho: < 70 kDa

# Dobramento e estabilidade de Proteínas



## FORÇAS NÃO COVALENTES

### Pontes de H

-Aminoácidos polares

### Ligações iônicas

- Aminoácidos carregados

### Interações hidrofóbicas

-Aminoácidos apolares

### Forças de Van der Waals

-Qualquer aminoácido

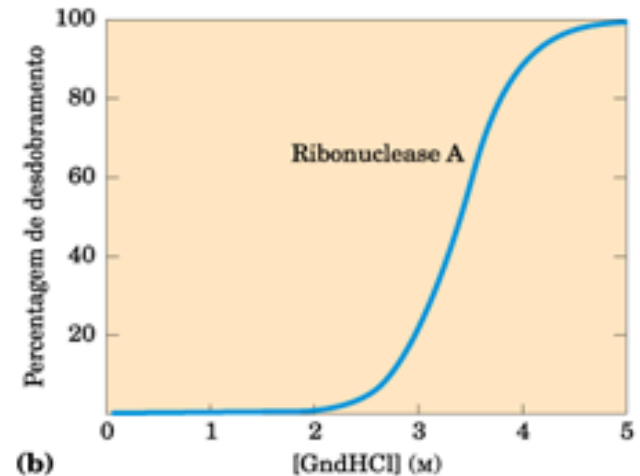
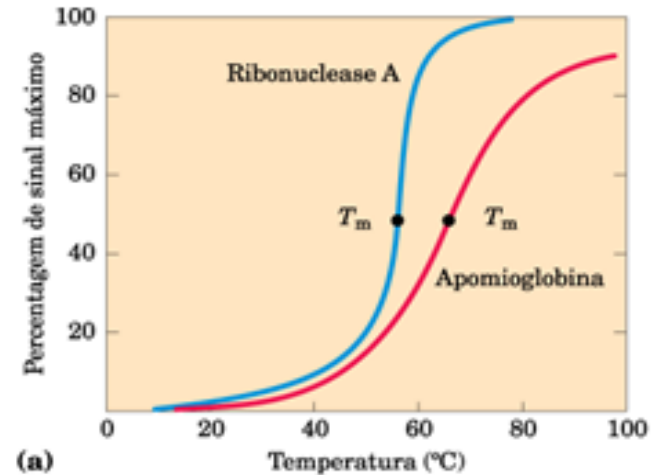
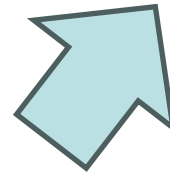
# Desnaturação - Renaturação

- **Condições diferentes das celulares** levam as proteínas à desnaturação
- Perda da **estrutura** pode levar também à perda da **função**
- Calor, pHs extremos, temperatura (?), solventes orgânicos, detergentes

## Renaturação

A sequência dos aminoácidos (não alterada na desnaturação) é o que determina a estrutura 3D das proteínas – Experimentos de Christian Anfinsen com Ribonuclease A.

Ureia e mercaptoetanol





# Fontes de proteínas

Ovo – 6,3 g proteína (alta digestibilidade – 97%)

Clara - ovoalbumina (fosfoglicoproteína); ovotransferina, lisozima, ovomucina e avidina

Interface clara-gema - ovomucina

Gema - fosfovitina, lipovitulina, lipovitelenina, livetina .

**por que a gema cozinha depois da clara?**

Carne - 74% água, 22% proteína, 2% gordura, 1% minerais e menos de 1% de carboidratos

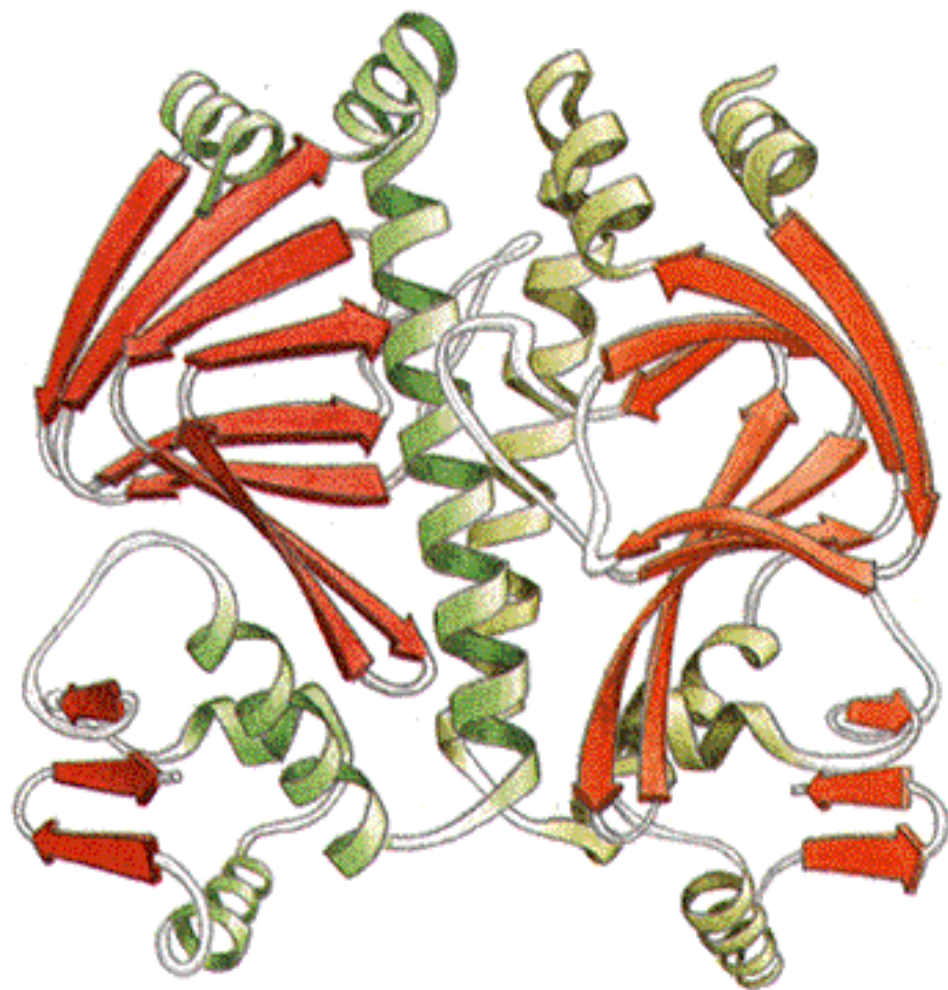
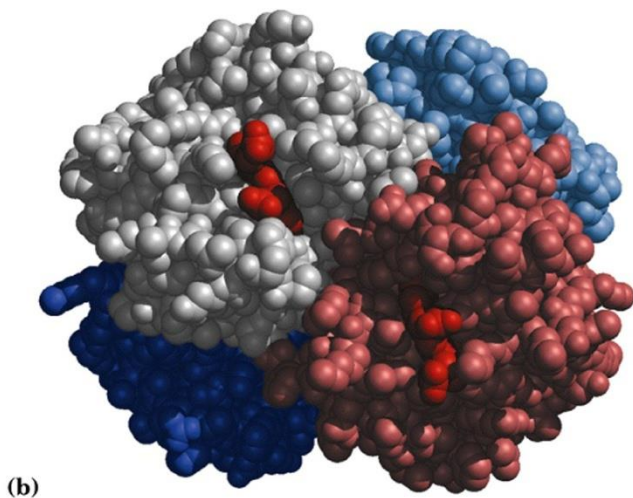
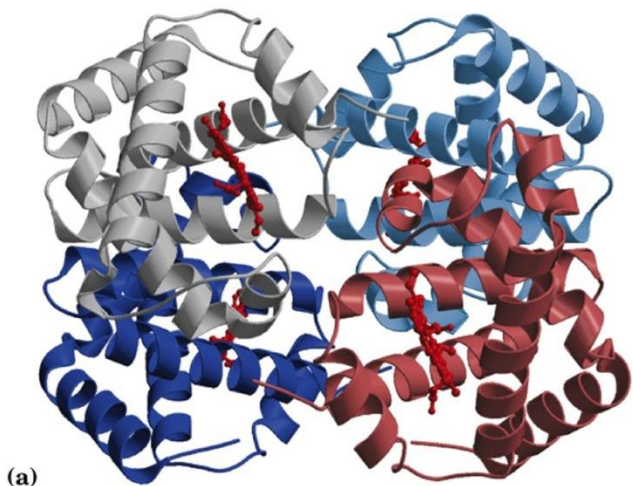
Digestibilidade – 94%

**consumir carne crua seria a melhor opção para aqueles que desejam garantir um maior aproveitamento das proteínas ?**

Carne ao vinho – ácido málico e tartárico

# Estrutura quaternária

## Simple Quaternary Structure

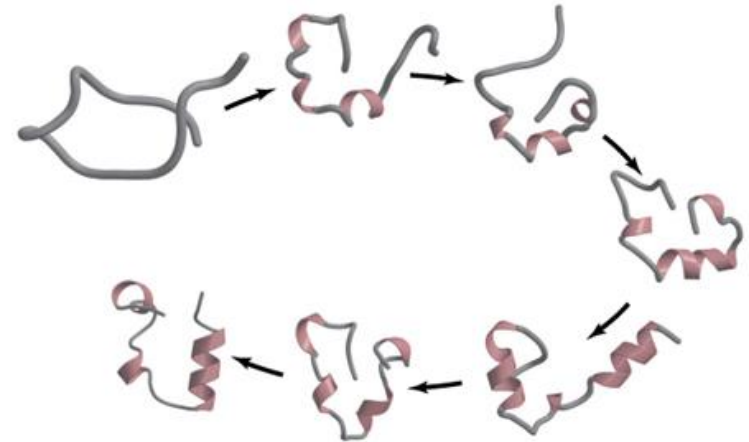


) Proteína  
(biológicamente ativa; dímero não covalente )

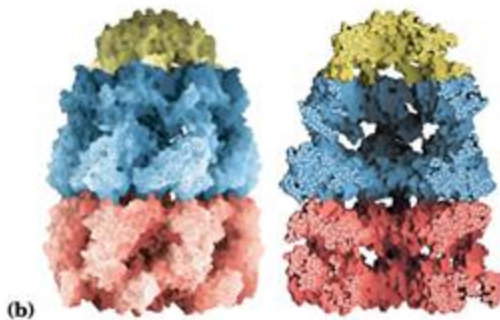
# Dobramento das proteínas

## Rota

- Lento e gradual
- Diminuição da entropia até alcançar um estado estável
- Algumas proteínas se dobram de **forma assistida** pelas proteínas **chaperonas**



Começo da formação da hélice e colapso



Talassemia – foma inútil da HB

