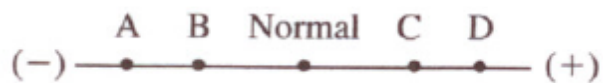


Lista de exercícios: Aula 4, hemoglobina e estratégias de análise de proteínas

1. Uma mistura contendo citocromo c ($pI = 10,6$) e mioglobina ($pI = 7,0$) foi submetida a eletroforese, utilizando-se soluções-tampão com os seguintes valores de pH: 3; 7; 10,6 e 12. Esquematizar os eletrodos positivo e negativo e mostrar a migração das proteínas em cada caso.
2. A mobilidade eletroforética em $pH = 8,6$ da hemoglobina normal e de hemoglobinas anormais (que diferem da hemoglobina normal por substituição de um aminoácido) está representada a seguir:



Identificar a posição (A, B, C ou D) correspondente a cada uma das seguintes hemoglobinas anormais:

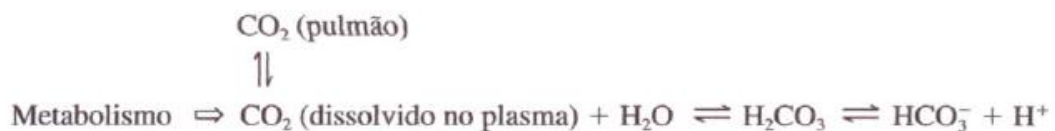
HbS -valina em lugar de glutamato

HbJ -aspartato em lugar de glicina

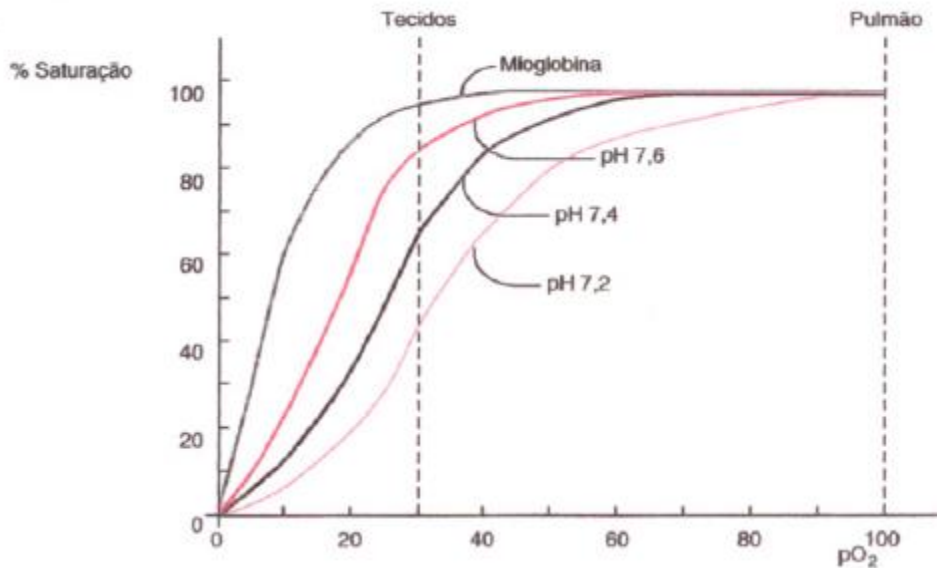
HbN -glutamato em lugar de lisina

HbC -lisina em lugar de glutamato

3. Considerando o esquema seguinte, analisar o pH do plasma nas situações:
 - a. pneumonia (redução da eficiência de trocas gasosas)
 - b. hiperventilação
 - c. diabetes (produção aumentada de ácidos orgânicos)



4. O gráfico mostra a curva de saturação por oxigênio da mioglobina e as curvas da saturação da hemoglobina (HbA) em diferentes valores de pH.



- Uma solução de hemoglobina, mantida sob pO_2 de 30 torrs, apresentava $pH = 7,4$. Em experimentos separados, foi adicionado HCl ou NaOH à solução, até que os valores de pH fossem, respectivamente, 7,2 e 7,6. Em qual dos experimentos houve liberação de O_2 pela hemoglobina?
 - Uma solução de hemoglobina a $pH 7,4$ estava submetida a pO_2 de 100 torrs. Que fenômeno deve ocorrer com a hemoglobina se a pO_2 baixar para 40 torrs? E com a mioglobina?
 - O pH plasmático nos alvéolos pulmonares ($pO_2 = 100$ torrs) é 7,4 e nos tecidos ($pO_2 = 40$ torrs) é 7,2. Que fenômeno deve ocorrer com a hemoglobina nos pulmões e nos tecidos? O que aconteceria se, em vez de hemoglobina, houvesse mioglobina no sangue?
 - A mioglobina, sob uma mesma pO_2 , deve doar ou receber oxigênio da hemoglobina?
 - Comparar a curva de saturação por oxigênio para a hemoglobina fetal com a curva de HbA.
5. Descrever o processo de manutenção do pH do sangue através da interação dos sistemas HHb/HbO_2 e CO_2/HCO_3^- nos tecidos e pulmões. Considerar o efeito Bohr e as alterações de pK_a de radicais da hemoglobina provocadas pela ligação, com oxigênio.
6. São dadas as seguintes informações sobre as proteínas A-F.

	P.I	Massa molecular (kDa)	Carga elétrica em $pH 7$	Concentração de sal a partir da qual precipita (%)
A	3	20	+5	20

B	5	47	-4	35
C	5	33	+8	40
D	7	47	+7	35
E	9	60	-4	60
F	5	47	0	35

Propor uma marcha de purificação (sequência de técnicas a serem utilizadas) para a proteína B. Utilizando as seguintes técnicas (as quais julgar necessárias):

Cromatografia de filtração em gel.

Cromatografia de troca catiônica (indicar o valor de pH)

Cromatografia de troca aniônica (indicar o valor de pH)

Focalização isoeletrica

Precipitação por salting-out (indicar a escolha da fração, precipitado ou sobrenadante).

Indicar como a purificação poderia ser visualizada utilizando-se uma técnica não mencionada acima.

7. Explique de maneira simplificada os princípios da técnica de SDS-PAGE ressaltando qual a sua principal diferença em relação a uma eletroforese comum.