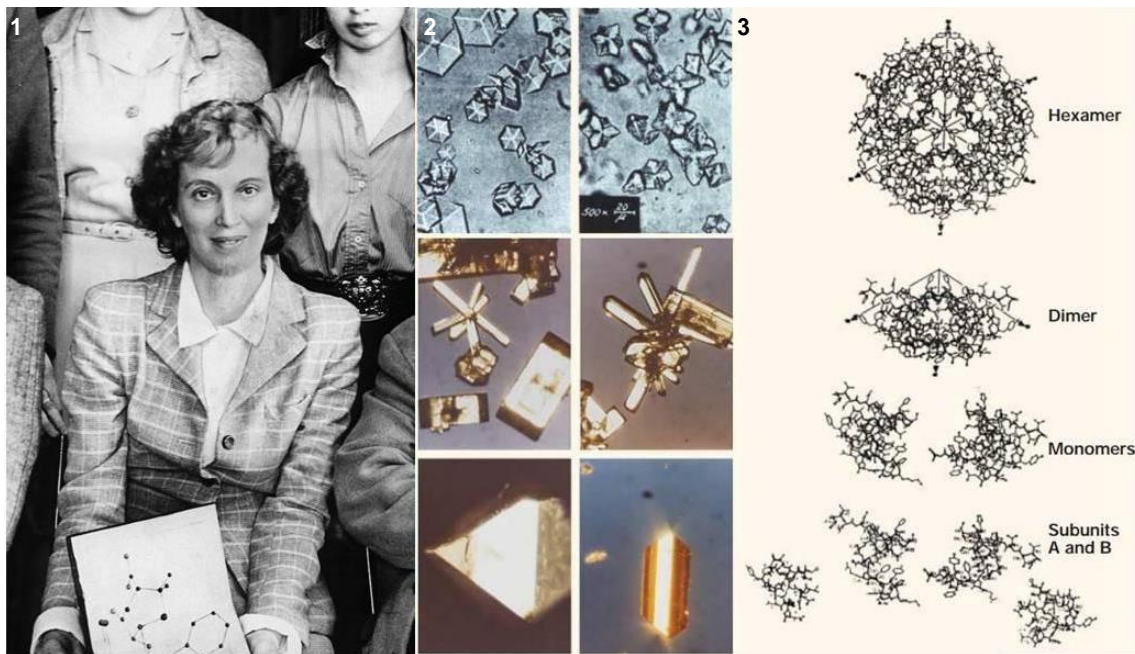


# Proteínas



1, Dorothy Hodgkin. 2, cristais de insulina. 3, estrutura do hexâmero de insulina.

*Dorothy Hodgkin*

“A quatro semanas atrás, o Dr. Glen Millikan nos trouxe alguns cristais de pepsina...”

Com essas palavras Dorothy Hodgkin, em 1934, dá início ao artigo no qual apresenta dados sobre a estrutura da pepsina, marcando o início da cristalografia de proteínas. Suas importantes contribuições para a elucidação da estrutura de biomoléculas (colesterol, vitamina B12, penicilina, insulina, por exemplo) através do uso de técnicas de raios X renderam-lhe o prêmio Nobel em Química em 1964.

Howard, J.A.K. *Dorothy Hodgkin and her contributions to biochemistry*. Nature (4), novembro 2003, 891-896.

## Questão 01

a) Albumina do ovo ( $pI = 4,6$ ) em  $pH 5,0$ : Possuirá carga negativa migrando em direção ao anodo.

b) B-Lactoglobulina ( $pI = 5,2$ ) em  $pH 5,0$  e  $7,0$ : Em  $pH 5,0$  ainda possuirá uma pequena carga parcial positiva, migrando um pouco em direção ao catodo. Em  $pH 7,0$  possuirá carga negativa migrando para o anodo.

c) Quimiotripsinogênio ( $pI = 9,5$ ) em  $pH 5,0$ ;  $9,5$  e  $11,0$ : Em  $pH 5,0$  a proteína estará positiva migrando para o catodo. Em  $pH 9,5$  ( $pI$ ) possui carga zero permanecendo na origem. Em  $pH 11,0$  possuirá carga negativa migrando, portanto, para o anodo.

## Questão 2

O  $pH$  em que uma eletroforese será mais eficiente para a separação de uma mistura de proteínas será aquele intermediário entre os valores de  $pI$  das proteínas a serem analisadas, para que cada uma delas migre para polos opostos.

a)  $pH = (4,9 + 6,8)/2$

**$pH = 5,85$**

b)  $pH = (7,0 + 9,5)/2$

**$pH = 8,25$**

c) Neste caso, deve-se escolher o valor de  $pH$  correspondente ao  $pI$  intermediário ( $pH = 4,9$ ) para que a albumina sérica permaneça no ponto de origem. Enquanto isso, a albumina do ovo ( $pI = 4,6$ ) possuirá carga negativa em  $pH 4,9$  migrando para o anodo ao passo que a urease ( $pI = 5,0$ ) estará positiva e migrará para o catodo.

## Questão 3

Substituições feitas na hemoglobina (Hb) normal e suas consequências:

HbS - Val em lugar de Glu ( $pK_R = 4,07$ ): aminoácido (Aa) não polar substitui um polar negativo, elevando um pouco o  $pI$  da proteína.

HbJ - Asp ( $pK_R = 3,90$ ) em lugar de Gly: Aa polar negativo substitui um não polar, reduzindo um pouco o  $pI$  da proteína.

HbN - Glu ( $pK_R = 4,07$ ) em lugar de Lys ( $pK_R = 10,54$ ): Aa polar negativo substitui um polar positivo, reduzindo muito o  $pI$  da proteína.

HbC - Lys ( $pK_R = 10,54$ ) em lugar de ácido Glu ( $pK_R = 4,07$ ): Aa polar positivo substitui um polar negativo, aumentando muito o  $pI$  da proteína.

Logo, percebemos que substituições de aminoácidos contendo grupos laterais com cargas opostas causam variação mais brusca do  $pI$  da proteína. Enquanto substituições entre aminoácidos com grupo lateral ionizável e neutro, ou vice-versa, causam um efeito menor na variação do  $pI$  da proteína, resultando numa menor variação no deslocamento da proteína durante uma corrida eletroforética quando comparada à proteína normal. Dessa forma, o perfil eletroforético das hemoglobinas anormais fica como mostrado abaixo:

(-)

A = HbC

B = HbS

C = HbJ

D = HbN

(+)

## Questão 04

- a) Falso: pontes de hidrogênio ocorrem na superfície da proteína entre átomos eletronegativos e moléculas de água.
- b) Verdadeiro.
- c) Falso: a principal força que direciona o enovelamento proteico é a interação hidrofóbica.
- d) Falso: solventes orgânicos enfraquecem as interações hidrofóbicas no interior da proteína uma vez que diminuem a energia livre dos resíduos hidrofóbicos expostos ao solvente, portanto, estabilizam o estado desenovelado da proteína.
- e) Falso: o dobramento de uma proteína é acompanhado pela redução da entropia.
- f) Falso: estrutura quaternária refere-se àquelas proteínas formadas por mais de uma cadeia polipeptídica e como essas cadeias interagem entre si.
- g) Verdadeiro.
- h) Verdadeiro.
- i) Falso: através do uso de programas de bioinformática é possível prever, com uma margem de erro, como regiões de uma proteína se dobrariam, quais motivos e domínios estariam presentes ou até mesmo sequências de interação com grupos prostéticos. Entretanto, a estrutura tridimensional de uma proteína só pode ser completamente elucidada através de estudos de raios X da proteína cristalizada ou por ressonância magnética nuclear.

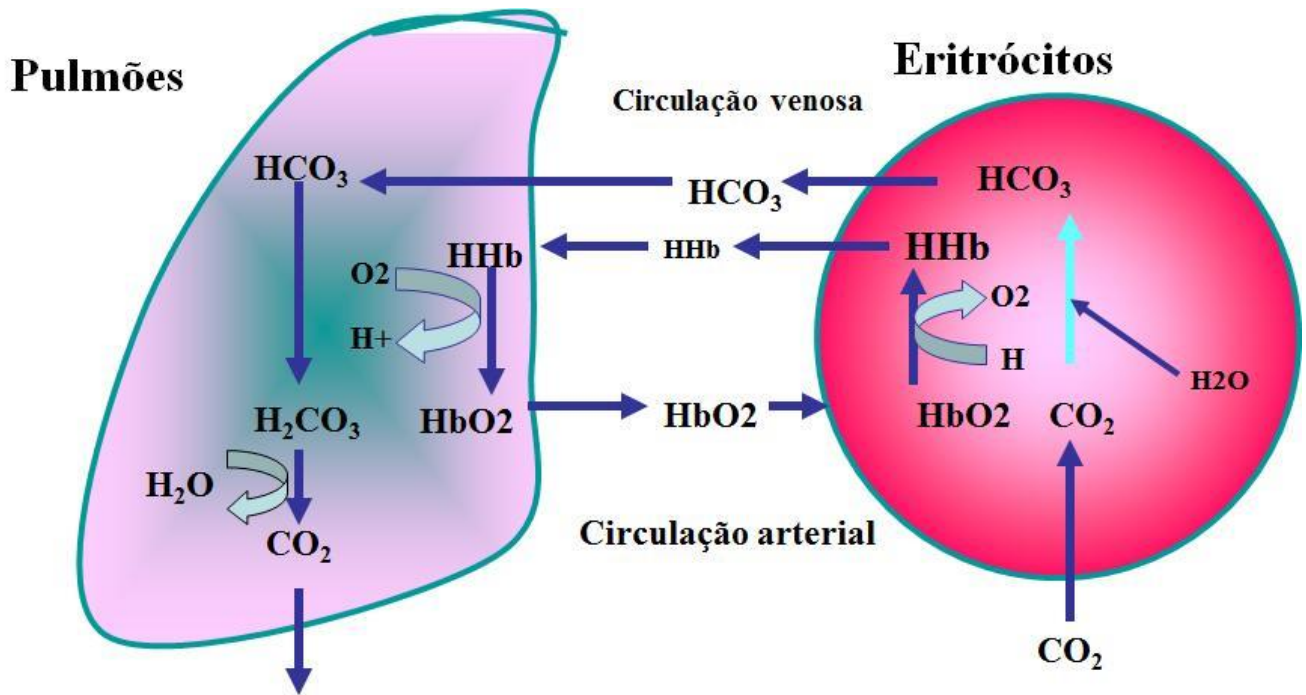
## Questão 05

- a) cisteína.
- b) diminuição.
- c) aumenta.
- d) apolares.
- e) Coplanares (arranjados linearmente).

## Questão 6

O efeito Bohr relaciona o transporte de oxigênio realizado pela hemoglobina com uma segunda função desta proteína, o de controle do pH nos tecidos (efeito de tamponamento). A hemoglobina sofre um efeito conhecido como efeito alostérico, caracterizado pelo aumento ou diminuição da afinidade da proteína por determinada molécula dependendo da ligação de outro composto. Nesse caso, a afinidade da hemoglobina por  $O_2$  é alterada pela ligação de um próton ( $H^+$ ) à proteína da seguinte maneira: quando um  $H^+$  se liga à hemoglobina, a afinidade dela por  $O_2$  diminui, quando o  $H^+$  se desliga da hemoglobina, sua afinidade por  $O_2$  aumenta. Isso permite que a proteína exerça duas funções: controle de pH (tamponamento) e transporte de  $O_2$ . Além disso, a afinidade também muda pela ligação dos grupos heme com  $O_2$ : a hemoglobina possui 4 grupos heme, logo, 4 sítios de ligação de  $O_2$ . Para cada  $O_2$  que se liga à hemoglobina, mudanças conformacionais induzidas por essa ligação aumentam a afinidade dela por  $O_2$ , ou seja, quando um  $O_2$  se liga, favorece a ligação dos demais. Para melhor entendimento do efeito Bohr, sugiro acompanhar o esquema presente na página seguinte durante a explicação. Nos pulmões, a pressão parcial de  $O_2$  ( $pO_2$ ) é alta, devido à respiração; isso favorece a ligação das moléculas de  $O_2$  à hemoglobina. A proteína “carregada” de  $O_2$  é então transportada pelos eritrócitos (hemácias, glóbulos vermelhos) aos tecidos, que necessitam de  $O_2$  para a síntese de ATP (geração de energia). Além disso, nos tecidos, há uma tendência de diminuição do pH (liberação de prótons), devido principalmente ao acúmulo de  $CO_2$  ( $CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$ ) e a produção de ácido láctico nos músculos. Lembrando da propriedade alostérica,

os  $H^+$  se ligam à hemoglobina e diminuem sua afinidade por  $O_2$ , facilitando sua liberação de  $O_2$  nos tecidos. A hemoglobina, carregando  $H^+$  e sem  $O_2$ , é transportada de volta aos pulmões. Lá, volta a se ligar com  $O_2$  (devido à alta  $pO_2$ ), liberando assim  $H^+$ , que, lembrando novamente dos equilíbrios ( $CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$ ), gera  $CO_2$ , que então será expelido pela respiração. Com isso, além do transporte de  $O_2$  para os tecidos, a hemoglobina acaba por auxiliar no controle do pH, realizando uma espécie de “transporte indireto de  $CO_2$ ” dos tecidos para os pulmões, onde pode ser expelido.



### Questão 7

- A observação de que a hemoglobina A (HbA; materna) está cerca de 60% saturada quando a  $pO_2$  for 4 kPa, enquanto a hemoglobina F (HbF; fetal) está mais de 90% saturada sob as mesmas condições fisiológicas, indica que a HbF tem maior afinidade pelo  $O_2$  do que a HbA.
- A maior afinidade da HbF pelo  $O_2$  garante que o oxigênio fluirá na placenta, do sangue materno para o fetal. O sangue fetal se aproxima da saturação total onde a afinidade da HbA pelo  $O_2$  é baixa.
- A observação de que a curva de saturação da HbA pelo  $O_2$  sofre maior inclinação após a ligação de BPG do que a HbF sugere que BPG se liga mais firmemente à HbA do que à HbF. A ligação diferencial do BPG às duas hemoglobinas pode determinar a diferença de afinidade pelo  $O_2$ .