

Atividade em grupo

1) Por que é importante conhecer a estrutura primária de uma proteína?

Hemoglobina – anemia falciforme

Os glóbulos vermelhos não conseguem se ligar ao oxigênio de forma eficiente e assumem um formato de foice. As células falciformes tendem a se prender em pequenos vasos sanguíneos, cortando a circulação e, assim danificando órgãos. Essas consequências drásticas derivam da troca de um resíduo de aminoácido na sequência da estrutura primária.

Utilizando a mutagenese sítio dirigida é possível substituir qualquer resíduo de aminoácido em uma proteína. A substituição de aminoácidos não tem efeitos irrisórios até perda total de atividade.

Essa estrutura é o arranjo de ligações de hidrogênio no esqueleto proteico. Dentro de cada resíduo de aminoácido há duas ligações com rotação razoavelmente livre. Elas são (1) entre o carbono α e o nitrogênio do grupo amina desse resíduo e (2) entre o carbono α e o carbono da carboxila do mesmo resíduo.

Os ângulos ϕ (fi) e ψ (psi), chamados de ângulos de Ramachandran, são utilizados para designar as rotações em torno das ligações C-N e C-C, respectivamente. (-180° a 180°).

Dois tipos de estruturas que ocorrem frequentemente nas proteínas são as de hélice α e folha β pregueada, mantidas por ligações de hidrogênio.

A hélice α e folha β não são as únicas estruturas secundárias possíveis, mas são de longe as mais importantes. A hélice α envolve apenas uma cadeia polipeptídica e a folha β pode dar uma formação bidimensional e envolver uma ou mais cadeias polipeptídicas.

A hélice α é estabilizada por ligações de hidrogênio paralelas ao seu eixo no interior do esqueleto de uma única cadeia polipeptídica. O grupo C=O de cada aminoácido está ligado por hidrogênio ao grupo N-H do aminoácido colocado a 4 resíduos de distância à frente.

2) Por que a hélice α é tão predominante?

A conformação helicoidal permite um arranjo linear dos átomos envolvidos nas ligações de hidrogênio, o que lhes dá o máximo de força, assim fica bastante estável. Há 3,6 resíduos para cada volta da hélice e seu passo é de 5,4 Å (10^{-8} cm).

Proteínas têm quantidades variáveis de estruturas em hélice α , indo de uma baixa porcentagem a quase 100%.

Muitos fatores podem desestruir a hélice α . O aminoácido prolina cria uma curvatura no esqueleto por causa de sua estrutura cíclica. Resíduos com mesmo sinal, ex, Lisina e arginina carregados positivamente ou Aspartato e Glutamato carregados negativamente. Efeito de densidade (cadeias laterais volumosas)

3) Como as folhas β diferenciam-se da hélice α ?

O esqueleto peptídico é quase completamente estendido, podendo formar ligações na mesma cadeia (intracadeia) ou entre diferentes cadeias (intercadeias).

Uma folha paralela, formada por cadeias peptídicas em uma mesma direção.

Uma folha antiparalela, formada por cadeias opostas.

4) Irregularidades em estruturas regulares

- 3_{10} – três resíduos por volta e dez átomos no anel ao fazer a ligação de H.

- Protuberancia β – ocorre entre 2 ligações de H da estrutura β normal
 - voltas reversas – peptídios mudam de direção, o aa Glicina ou Prolina participam.
- 5) Estruturas Supersecundarias – combinação de fitas α e β
- unidade $\beta \alpha \beta$ (duas fitas paralelas de β estão conectadas por uma helice α)
 - $\alpha \alpha$ (duas helices antiparalelas)
 - chave grega (cadeia dobra-se sobre si mesma)
 - Motivo (estrutura supersecundaria de repetição)

A tripla helice do colageno

Colageno compoe ossos e tecido conjuntivo, proteina mais abundante dos vertebrados.

Sao fibras insolúveis de grande resistencia. Consiste de 3 cadeias peptidicas envoltas umas nas outras em uma torção parecida com a de uma corda. Cada uma das 3 cadeias tem uma sequencia repetitiva de 3 aa, X-Pro-Gly ou X- Hyp-Gly. Hyp (hidroxiprolina).

Qualquer aa pode ocupar a primeira posição (X). Apenas a Gly e pequena suficiente para ocupar o interior da cadeia da tripla helice. As 3 fitas sao unidas por ligações de H e cada fita contem 800 aa. A massa molar do colageno e cerca de 300 kDa.

No colageno tambem ocorrem ligações covalentes, tanto intra como intermoleculares, formadas por lisina e histidina. A quantidade de ligações cruzadas aumenta com a idade. Por isso a carne de animais mais velhos e mais dura.

Escorbuto – colageno fragil. A enzima que hidroxila a prolina requer acido ascorbico (Vit C) para continuar ativa.

Perguntas-

1) combine as seguintes afirmações sobre a estrutura proteica com seus níveis adequados de organização. Estrutura primaria, secundaria, terciaria e quaternaria

- arranjo tridimensional de todos os átomos
- a ordem dos resíduos de aminoácidos na cadeia polipeptídica
- interação entre as subunidades em proteínas que consistem de mais de uma cadeia polipeptídica
- arranjo do esqueleto polipeptídico mantido por ligações de H

R- a- terciaria b- primaria c- quaternaria d- secundaria

2) Um estudante de bioquímica caracteriza o processo de cozinhar carne como um exercício de desnaturação de proteínas. Comente a validade dessa observação.

R- Quando uma proteína é desnaturada, as interações que determinam as estruturas secundaria, terciaria e quaternaria são superadas pela presença do agente desnaturante. Apenas a estrutura primaria permanece intacta.

3) O que são ângulos de Ramachandran?

R- Os ângulos dos planos das amidas à medida que giram em torno do carbono alfa. Ambos os ângulos são definidos como zero quando os dois planos estiverem superpostos de tal forma que o grupo carbonila de um entra em contato com o N-H do outro.

4) O que é uma protuberância β ? É uma volta reversa? Desenhe os dois tipos.

R- uma protuberância Beta é uma irregularidade não repetitiva encontrada em folhas Beta antiparalelas. Ocorre um desalinhamento entre as fitas da folha Beta, fazendo que um lado se dobre para fora.

R- volta reversa é uma região de um polipeptídeo onde a direção muda por aproximadamente 180° . Existem dois tipos, aquelas que contem prolina e a que não contem.

5) Liste algumas diferenças entre as formas de helice α e folha β da estrutura secundária.
- a helice alfa não está completamente estendida e suas ligações de hidrogênio são paralelas as fibras da proteína

- a estrutura de folha beta é quase totalmente estendida e suas ligações de hidrogênio são perpendiculares as fibras da proteína.

6) Liste algumas combinações possíveis entre helice α e folha β de estruturas supersecundárias.

as unidades alfa-alfa e beta-alfa-beta, o barril beta

7) Por que a gly deve ser encontrada em intervalos regulares na tripla helice do colágeno?
a glicina é o único resíduo pequeno o suficiente para se acomodar em pontos essenciais na tripla helice do colágeno.

8) Você ouviu comentário de que a diferença entre la e seda é pela diferença entre helice α e folha β . Você considera esse ponto de vista válido?

Obs – seda – fibroína (folhas β) e a la – queratina (helice α) – proteínas fibrosas

o principal componente da la é a proteína queratina, que é um exemplo clássico de estrutura em alfa-helice. O principal componente da seda é a proteína fibroína, exemplo clássico da estrutura de folha beta. A afirmativa é excessivamente simplificada, mas fundamentalmente válida.

9) Como se pode determinar a estrutura terciária de uma proteína?

R- Precisa determinar a forma como as seções helicoidais e de folha beta se dobram sobre si mesmas, além da posição dos átomos da cadeia lateral e suas interações.

10) Podemos prever a estrutura terciária de uma proteína conhecendo a sequência de aminoácidos?

Sim, através da busca em bancos de dados de estruturas conhecidas pela homologia sequencial

Estrutura terciária

Forças e Interações têm a função de manter unida uma proteína na sua conformação correta.

Ligação de hidrogênio entre as cadeias laterais de aminoácidos, interações hidrofóbicas, eletrostáticas e dissulfeto.

Como se pode determinar a estrutura terciária de uma proteína?

1) cristalografia de raio x – quando um cristal de proteína puro é exposto a um feixe de raios x, um padrão de difração é produzido em uma chapa fotográfica ou em um contador de radiação. O padrão é produzido quando os elétrons em cada átomo da molécula dispersam os raios X. O número de elétrons no átomo determina a intensidade da sua dispersão de raios x; os átomos mais pesados dispersam mais eficientemente que os mais leves. As informações são extraídas dos padrões de difração mediante uma análise matemática conhecida como séries de Fourier.

2) espectroscopia de ressonância magnética (RMN – 2D) – utiliza proteína em solução aquosa. O método depende da distância entre os átomos de hidrogênio.

Estrutura quaternária

Própria das proteínas que contêm mais de uma cadeia polipeptídica, que interagem entre si de forma não covalente via atrações eletrostáticas, hidrogênio, hidrofóbicas.

Efeitos alostéricos – Hemoglobina é uma proteína alostérica, pois mudanças sutis em um sítio podem causar mudanças nas propriedades de sítios distantes.

Obs. Nem todas as proteínas com diversas subunidades têm efeitos alostéricos.

Podemos prever a estrutura terciária de uma proteína conhecendo-se a sua sequência de aminoácidos?

Com as técnicas modernas de computação, somos capazes de prever a estrutura de uma proteína. A previsão da estrutura proteica é uma das principais aplicações da bioinformática. (protein data bank)

EXERCÍCIOS

1) desenhe duas ligações de hidrogênio, uma que faça parte de uma estrutura secundária e outra de uma estrutura terciária.

2) desenhe uma interação eletrostática possíveis entre dois aminoácidos de uma cadeia polipeptídica.

3) Qual o maior nível de estrutura proteica encontrado no colágeno?

4) Qual o maior nível de organização na mioglobina? E na Hemoglobina?

Respostas

3) 4) 5) 6)

7) 8) 9) 10)

;

