

Aula 4

PEPTÍDEOS E PROTEÍNAS

META

Apresentar ao aluno os peptídeos e as proteínas, suas estruturas e reações.

OBJETIVOS

Ao final desta aula, o aluno deverá:
reconhecer um peptídeo ou proteína. Entender o que é estrutura primária, secundária, terciária e quaternária. Saber determinar a estrutura primária de uma proteína.

PRÉ-REQUISITOS

Aula 03 de aminoácidos, reações de ácidos carboxílicos, aminas e amidas.

André Luís Bacelar Silva Barreiros
Marizeth Libório Barreiros

INTRODUÇÃO

Olá aluno, na aula passada você foi apresentado aos aminoácidos. Você aprendeu sobre a sua nomenclatura, estereoquímica e reações. Você viu que os aminoácidos podem ser classificados por sua estrutura, por sua função química ou polaridade. Hoje nos iremos ver como os aminoácidos se ligam formando os peptídeos e as proteínas. Estudaremos a ligação peptídica, sua configuração, conformações, e como influenciam a estrutura dos peptídeos e proteínas como um todo. Veremos os tipos de interação existentes numa proteína, suas estruturas primárias, secundárias, terciárias e quaternárias.

Vamos começar então? Mãos a obra!

LIGAÇÃO PEPTÍDICA

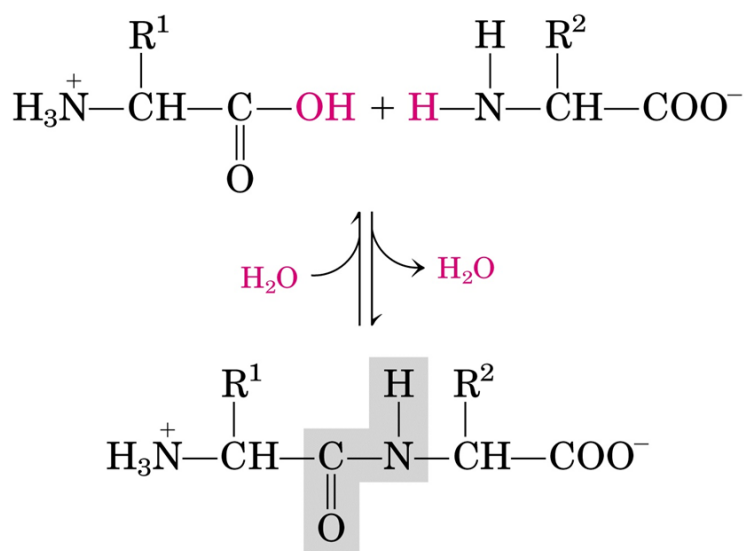


Figura 1 - Formação de uma ligação peptídica.

Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5ª. Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 82.

Quando duas moléculas de aminoácido se unem elas sofrem uma reação de condensação formando uma ligação amida. O produto desta união é denominado peptídeo, e a ligação amida ganha um nome especial de ligação peptídica (Figura 1). Por convenção o grupo amino livre é sempre representado a esquerda, e o grupo carboxila livre a direita (Figura 2).

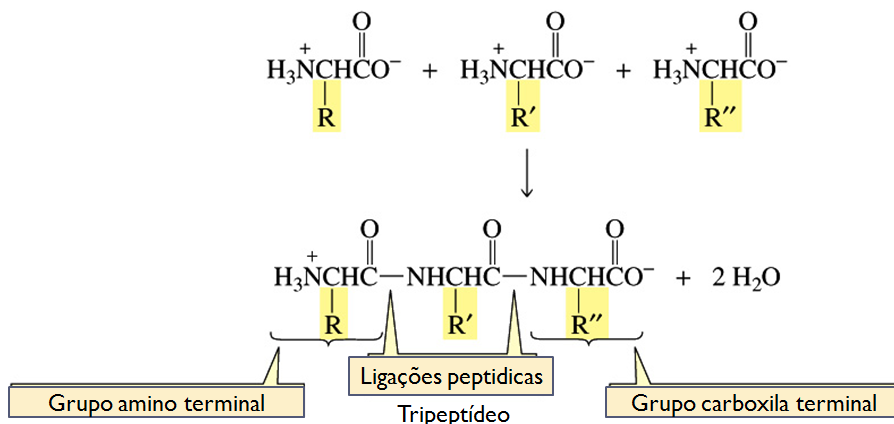


Figura 2 - Convenção na representação de peptídeos e proteínas.
 Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 387.

A ligação peptídica apresenta deslocalização de elétrons entre o nitrogênio da amida e sua carbonila, dando 40% de caráter de dupla a esta ligação (Figura 3). O caráter parcial de dupla da ligação peptídica faz com que a rotação livre em torno desta não seja possível. Já impedimento estérico faz com que a configuração trans seja mais estável que a cis, os seja, os carbonos α carbonílicos dos aminoácidos adjacentes são trans um em relação ao outro. Estes C- α , juntamente com a carbonila e o nitrogênio estão num plano rígido (Figura 4), e esta planaridade afeta a maneira como a cadeia de aminoácidos num peptídeo ou proteína pode se dobrar, influenciando a sua forma tridimensional.

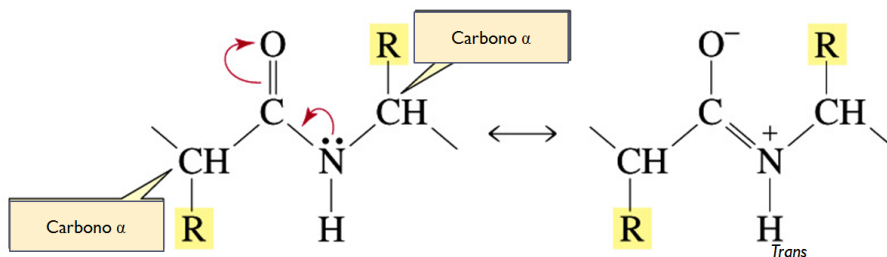


Figura 3 - Deslocalização dos elétrons na ligação peptídica.
 Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 388.

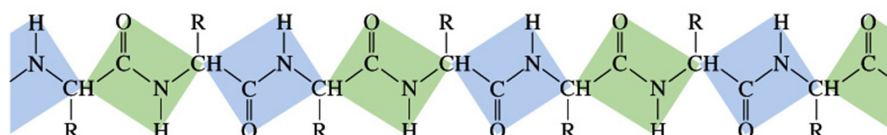


Figura 4 - Planaridade em torno da ligação peptídica.
 Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 388.

LIGAÇÕES DISSULFETO

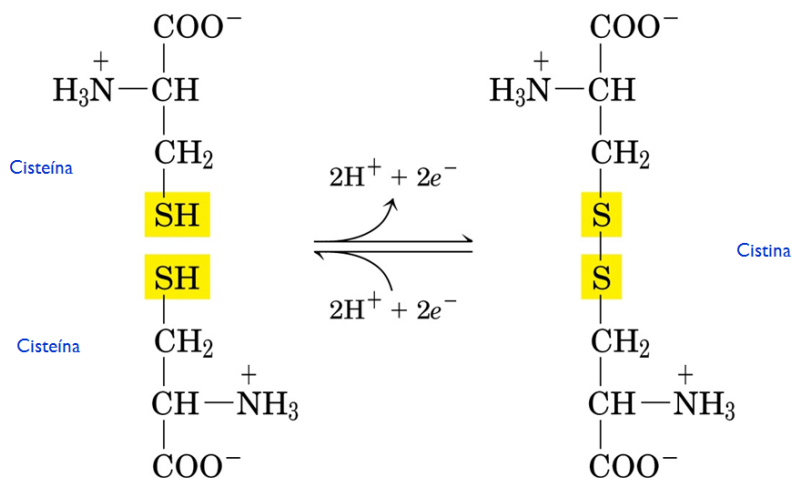


Figura 5 - Ligações dissulfeto.
 Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5ª. Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 77.

Juntamente com as ligações peptídicas, as ligações dissulfeto (Figura 5) são as únicas ligações covalentes que mantêm os aminoácidos ligados em um peptídeo ou proteína. Mas ao contrário das ligações peptídicas, as ligações dissulfeto se formam entre aminoácidos não adjacentes, contribuindo com a forma como a proteína ou peptídeo se dobra (Figura 6).

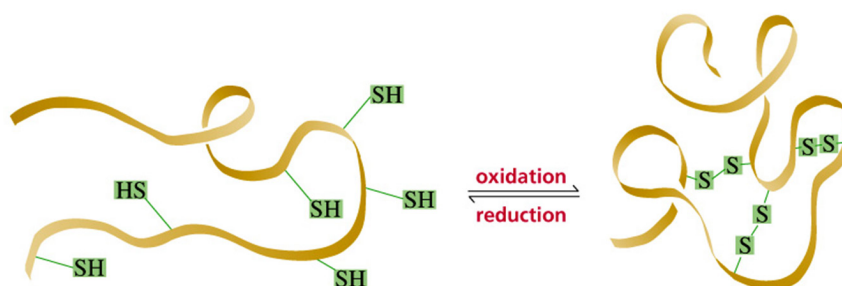


Figura 6 - Efeito das ligações dissulfeto na estrutura da proteína.
 Fonte: BRUCE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 389.

Os tióis ao serem oxidados formam dissulfetos, substâncias com ligação S-S. Se a oxidação forma dissulfetos, a redução retorna aos tióis. Nos peptídeos e proteínas, o aminoácido que apresenta um grupo tiol é a cisteína. Quando dois resíduos de cisteína não adjacentes são oxidados eles formam um dissulfeto denominado cistina (Figura 5). Você sabia que é a quantidade e a posição das ligações dissulfeto na queratina, proteína do cabelo, que determina se o seu cabelo é liso, cacheado ou crespo? Hoje em dia o seu



Figura 8 - Exemplo de produto contendo Aspartame.
 Fonte: <http://detudoblogue.blogspot.com/2009/05/coca-cola-zero-faz-mal-veja-os.html>

Muitos peptídeos pequenos exercem atividade biológica em concentrações muito baixas. É o caso de diversos hormônios dos vertebrados como o fator liberador de tireotropina (TSH), um tripeptídeo produzido pelo hipotálamo e capaz de fazer a tireóide liberar a tireotropina (Figura 9).

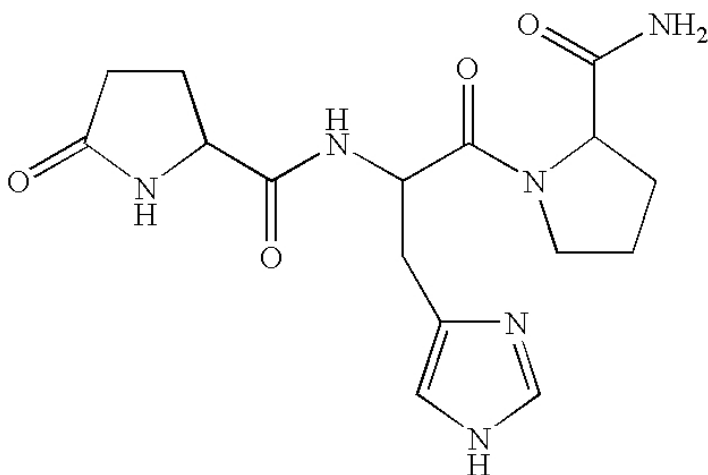


Figura 9 - Fator liberador de Tireotropina.
 Fonte: <http://www.freepatentsonline.com/7067257-0-large.jpg>

As encefalinas Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu (leucina-encefalina) e Tyr-Gly-Gly-Phe-Met (metionina-encefalina) são pentapeptídeos sintetizados pelo corpo para controlar a dor. Elas se ligam aos receptores do cérebro diminuindo a sensibilidade do corpo à dor, num modo de ação semelhante à morfina e ao Demerol.



Leucina-encefalina



Metionina-encefalina

Figura 10 - Encefalinas.
Fonte: Autoria Própria

A bradicinina é um nonapeptídeo que inibe a inflamação nos tecidos (Figura 11), a a vasopressina um nonapeptídeo que controla a pressão sangüínea regulando a contração da musculatura lisa e a reabsorção de água nos rins (Figura 12) e a ocitocina um nonapeptídeo que induz a dor do parto e estimula a produção de leite em lactantes (Figura 13).



Bradicinina

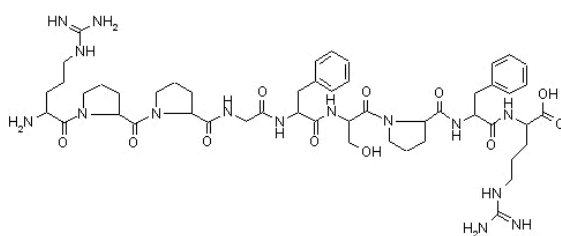


Figura 11 - Bradicinina.
Fonte: Foto-montagem de Autoria Própria com figura de:
http://nursingpharmacology.info/Pulmonary/respiratory_anesthesiology/respiratory2.htm

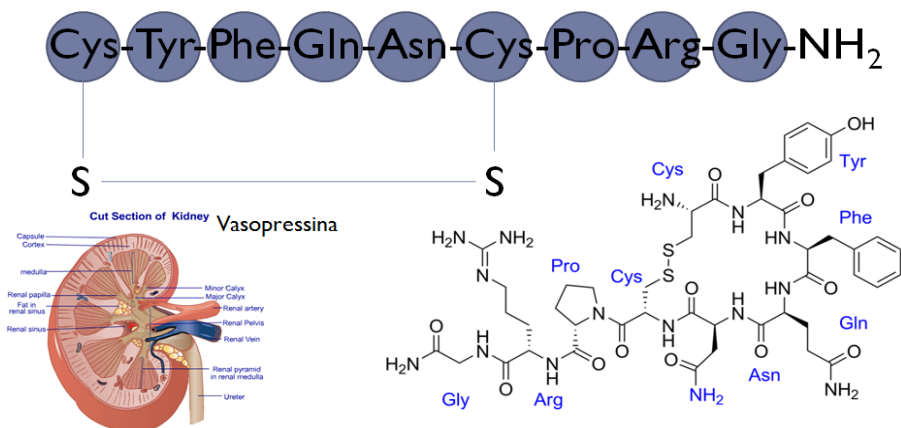


Figura 12 - Vasopressina.

Fonte: Foto-montagem de Autoria Própria com figuras de:

http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Vasopressin_structure.png

<http://www.newhopechurch.ca/jvsblog/2011/10/04/so-how-exactly-do-you-preach-a-kidney/>

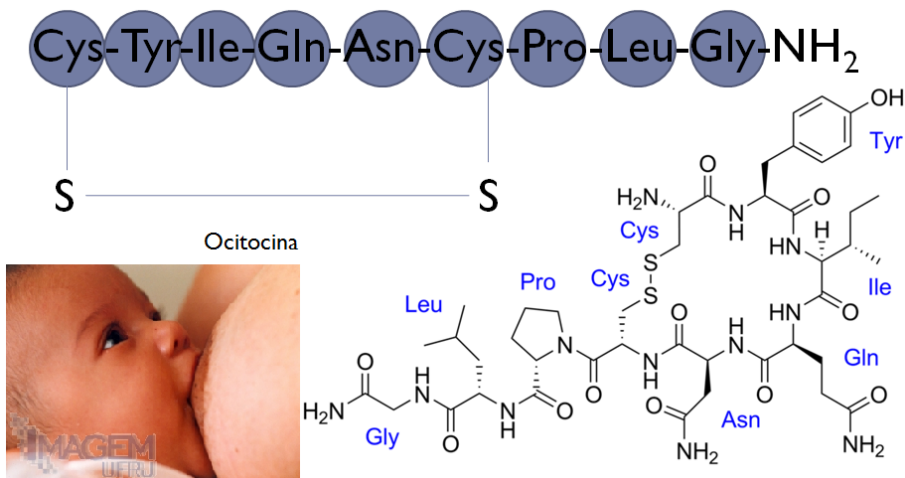


Figura 13 - Ocitocina.

Fonte: Foto-montagem de Autoria Própria com figuras de: http://en.wikipedia.org/wiki/File:Oxytocin_with_labels.png

<http://cartilhacienterrenal.cursoseconcursonosite.com.br/?paged=40>

Síntese de peptídeos

Dentre os peptídeos de ação hormonal, talvez o mais conhecido e um dos mais importantes seja a insulina (Figura 14). A insulina é secretada pelo pâncreas e regula o metabolismo da glicose, sendo que a sua deficiência causa o diabetes. Trata-se de um peptídeo constituído por duas cadeias peptídicas A e B, unidas entre si por duas ligações dissulfeto. A cadeia A é mais curta com 21 resíduos de aminoácidos, enquanto a cadeia B contém 30 resíduos. A insulina também possui uma ligação dissulfeto intracadeia na cadeia A.

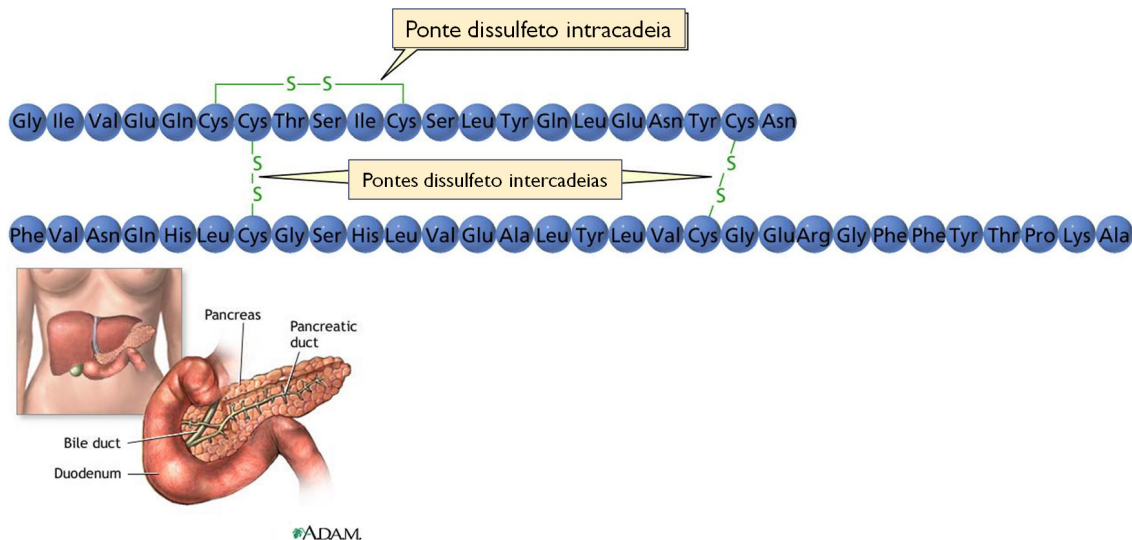


Figura 14 - Insulina.

Fonte: Foto-montagem de Autoria Própria com figuras de: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 389.

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/imagepages/17194.htm>

Como podemos constatar pelos exemplos, os peptídeos possuem enorme importância para o nosso organismo. É interessante portanto efetuar a sua síntese em laboratório. Entretanto, surgem alguns problemas ao tentarmos esta síntese. Tomemos por exemplo a síntese do dipeptídeo Gly-Ala. Os aminoácidos possuem dois grupos funcionais, o grupo ácido carboxílico e o grupo amino. Ao tentarmos formar a ligação amida entre esses dois grupos da glicina e alanina obtemos na verdade uma mistura de Gly-Ala, Ala-Ala, Gly-Gly e Ala-Gly (Figura 15).

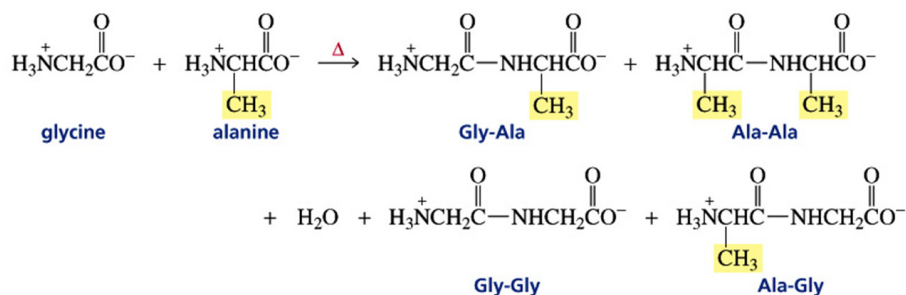


Figura 15 - Reação entre glicina e alanina.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 392. (Adaptado)

Uma estratégia para contornar este problema é a proteção do grupo amino da Gly (aminoácido N-terminal) e a ativação da carboxila deste mesmo aminoácido (Figura 16). Desta maneira a Ala reagirá preferencialmente com a Gly formando o dipeptídeo Gly-Ala.

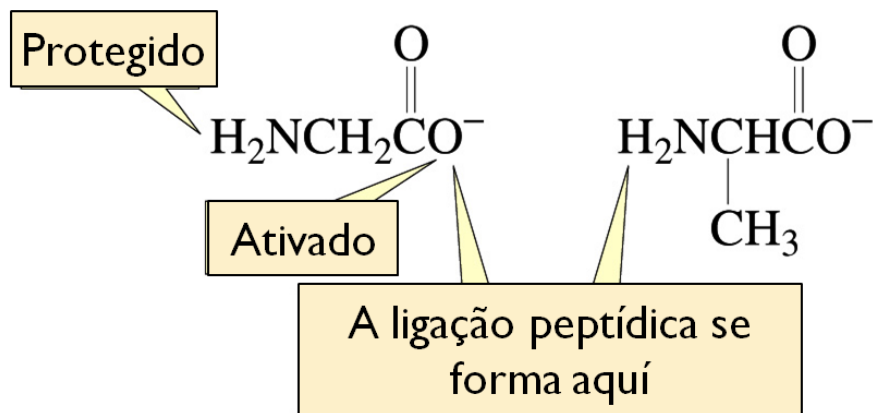


Figura 16 - Proteção e ativação.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 392.

A proteção do grupo amino do aminoácido é efetuada com o dicarbonato de di-*tert*-butila ou t-BOC (Figura 17). A ativação é feita reagindo o aminoácido com a dicitloexil-carbodiimida (DCC) (Figura 18).

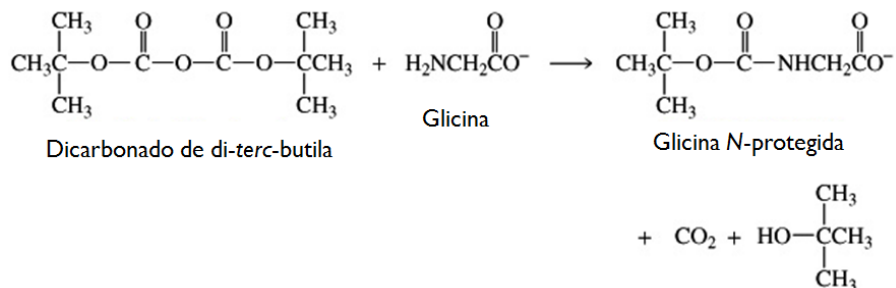


Figura 17 - Proteção com o t-BOC.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 392.

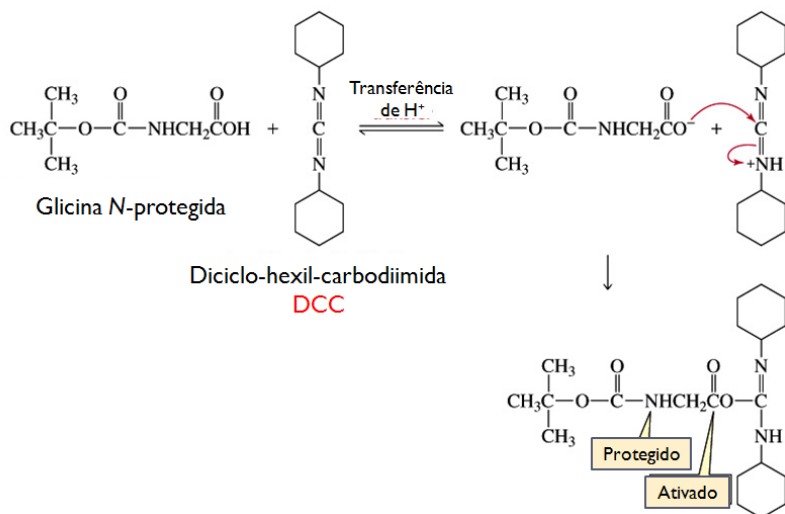


Figura 18 - Ativação com a DCC.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 392.

Após efetuada a ativação, o segundo aminoácido é adicionado. Seu grupo amino desprotegido age como nucleófilo atacando o grupo carboxila ativado numa reação de substituição acílica nucleofílica, onde o grupo abandonador é a dícicloexil-uréia (Figura 19).

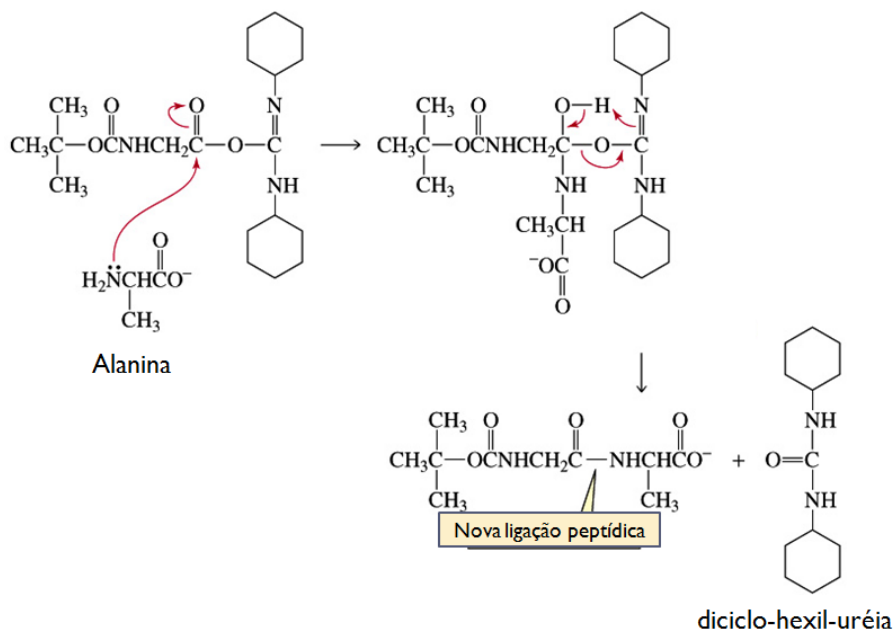


Figura 19 - Adição do segundo aminoácido.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 393.

A repetição da proteção pela DCC seguida da adição de novo aminoácido aumenta a cadeia do peptídeo (Figura 20). Após sintetizar o peptídeo desejado, o grupo protetor N-terminal é removido com ácido trifluoracético (Figura 21).

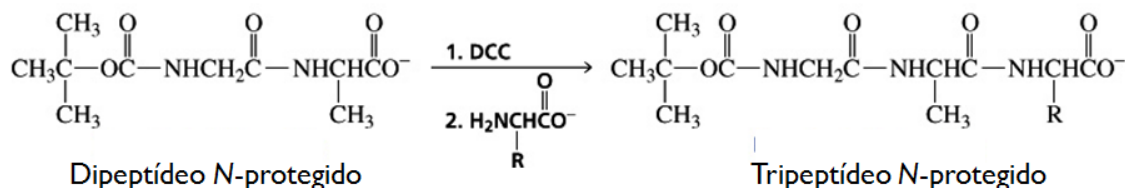


Figura 20 - Adição de novo aminoácido.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 393.

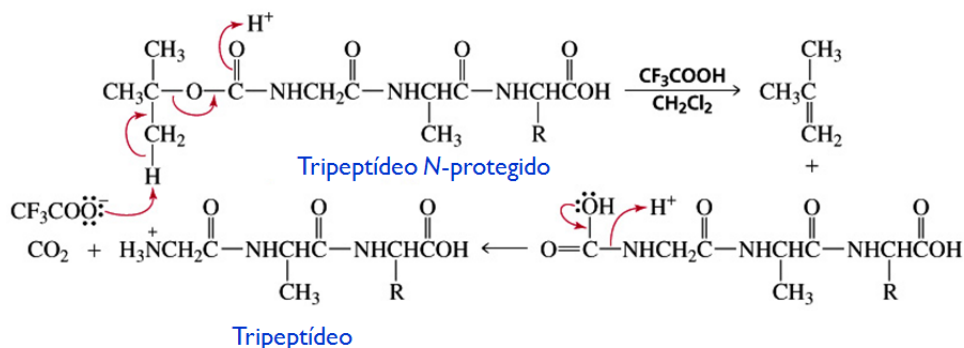


Figura 21 - Legenda: Desproteção do grupo amino.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 393.

Em tese esta metodologia poderia ser utilizada na síntese de peptídeos de qualquer tamanho. Entretanto, trata-se de uma metodologia demorada e cansativa, pois o produto deve ser purificado a cada etapa para evitar reações indesejadas com aminoácidos restantes das etapas anteriores. A maior dificuldade desta metodologia é o rendimento, que é de 80% para cada adição, mas como as adições são em sequência o rendimento da segunda já cai para 64%, da terceira para 51%, chegando a 17% na oitava adição, ou seja, num nonapeptídeo. Neste ritmo fica inviável a síntese de peptídeos maiores.

Aminoácidos	2	3	4	5	6	7	8	9
Rendimento	80%	64%	51%	41%	33%	26%	21%	17%

O químico e prêmio Nobel norte americano Robert Bruce Merrifield (Figura 22) solucionou este problema propondo uma síntese automatizada de peptídeos. Nesta síntese o aminoácido C-terminal protegido no grupo amino é ligado covalentemente ao suporte sólido contido em uma coluna

(Figura 23) semelhante à uma coluna de cromatografia. Em seguida a proteção é removida passando-se pela coluna o ácido trifluor-acético (Figura 24). O aminoácido que se deseja adicionar é ativado com DCC (Figura 25) e eluído na coluna, sendo atacado pelo grupo amino do aminoácido imobilizado (Figura 26). Em seguida passa-se novamente ácido trifluoro-acético na coluna para remover a proteção do grupo N (Figura 27) e o processo se repete até atingir o tamanho do peptídeo desejado (Figuras 28 e 29). Para remover o produto da coluna basta passar por ela ácido fluorídrico sob condições brandas (Figura 30).



Figura 22 - Legenda: Robert Bruce Merrifield.

Fonte: http://www2.chemistry.msu.edu/portraits/PortraitsHH_Detail.asp?HH_Lname=Merrifield

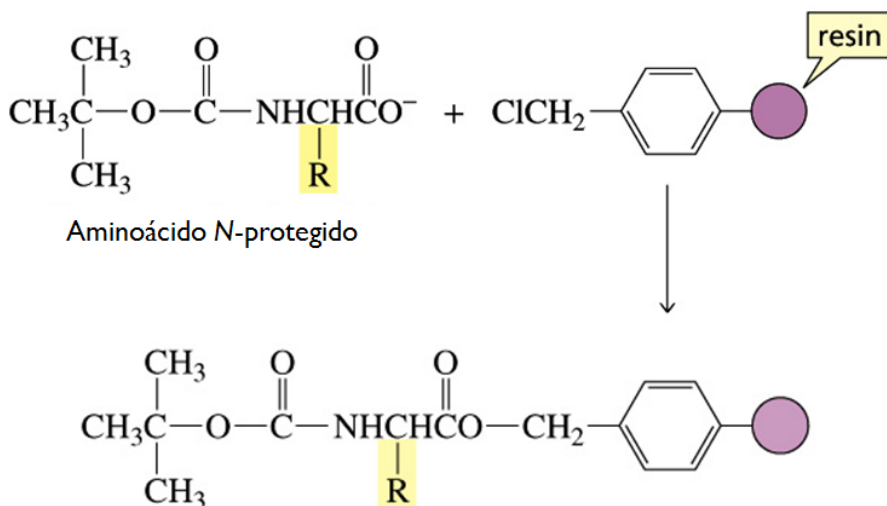


Figura 23 - Legenda: Imobilização do aminoácido na coluna.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 395.

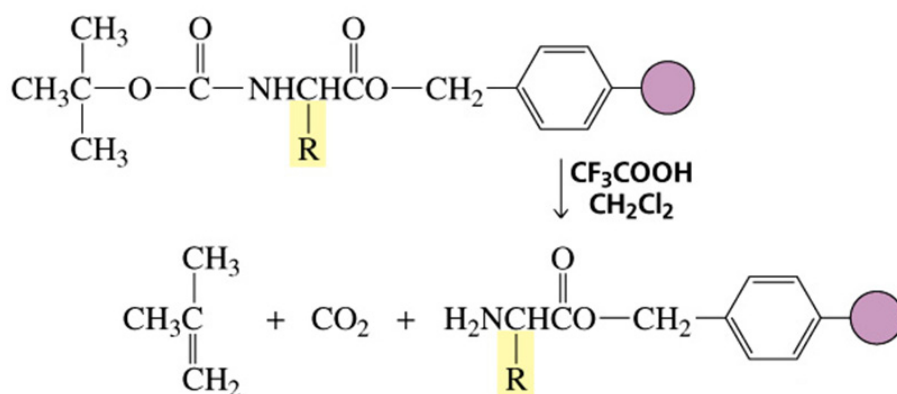


Figura 24 - Remoção do grupo N-protetor.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 395.

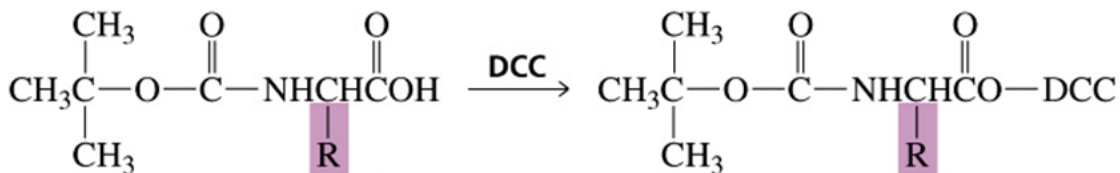


Figura 25 - Ativação do segundo aminoácido.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 395.

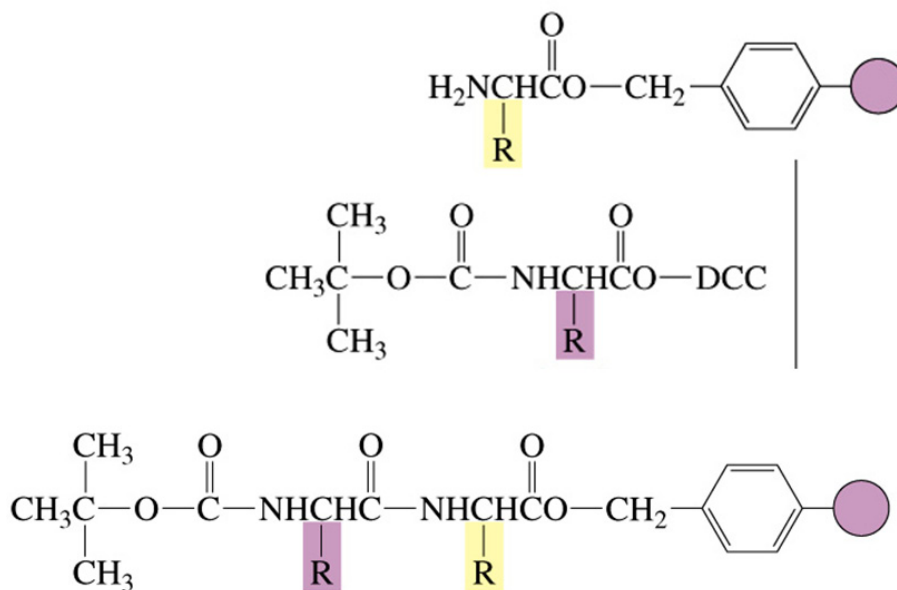


Figura 26 - Adição do novo aminoácido.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 395.

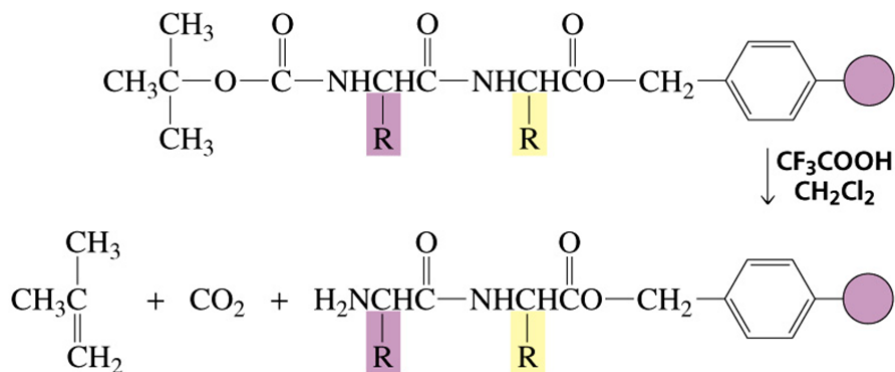


Figura 27 - Remoção do grupo N-protetor.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 395.

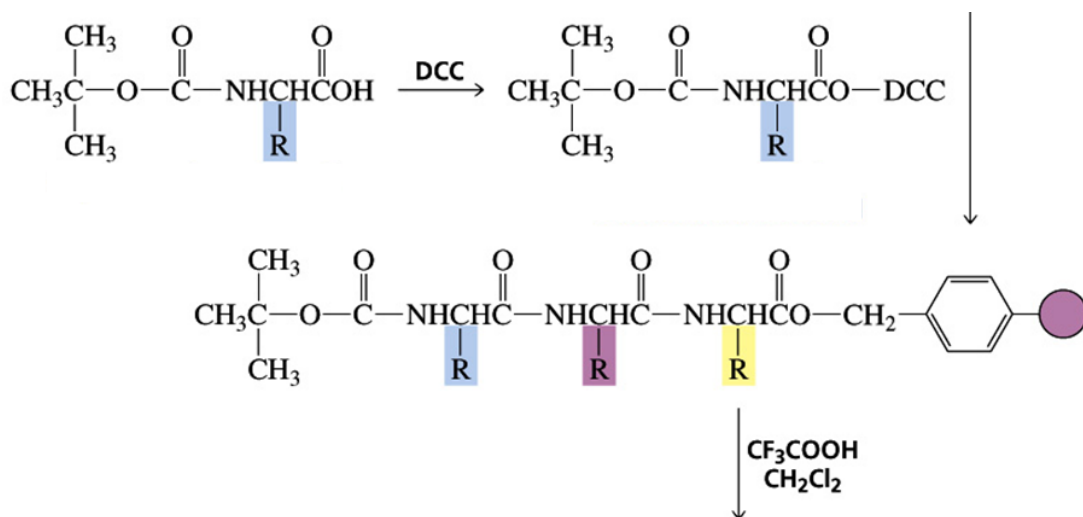


Figura 28 - Legenda: Ativação e adição de novo aminoácido.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 395.

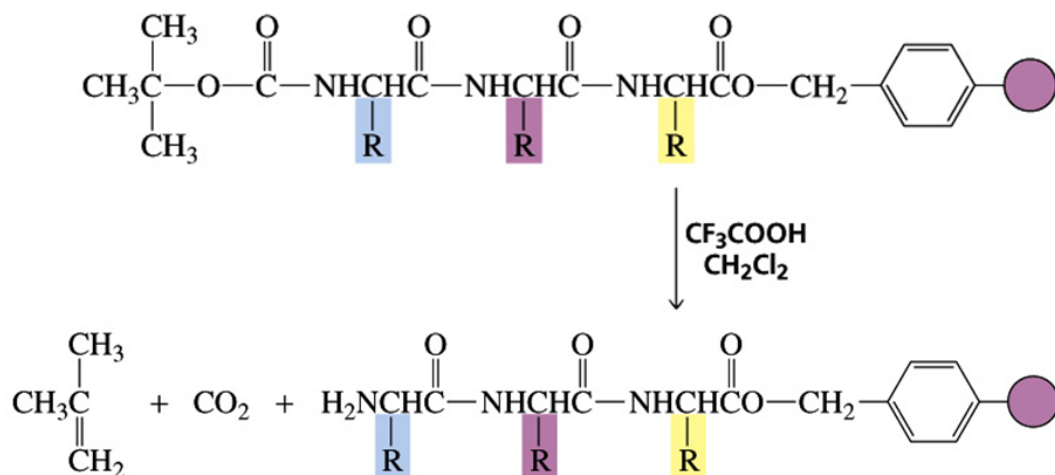


Figura 29 - Legenda: Remoção do grupo N-protetor.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 395.

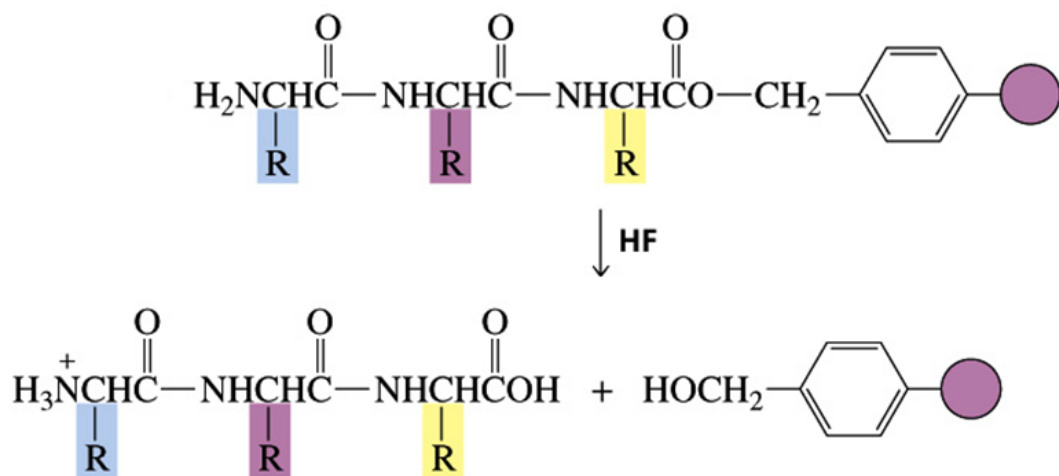


Figura 30 - Legenda: Remoção do produto da coluna.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 395.

A grande vantagem do método de Merrifield é a facilidade em remoção dos reagentes por simples lavagem da coluna, o que diminui a formação de subprodutos, aumenta o rendimento de cada etapa já que o produto encontra-se imobilizado, e reduz o tempo de reação. Outra vantagem é que o método pode ser automatizado, requerendo menor atenção do operador.

Proteínas

Proteínas são polímeros de aminoácidos, unidos por ligação covalente do tipo amida denominada ligação peptídica. Uma proteína contém mais

de 100 resíduos de aminoácido o que equivale a uma massa molar superior a 10.000g/mol. As proteínas exercem as mais diferentes funções num organismo, como por exemplo a luciferina do vagalume que emite luz através de uma reação química, a hemoglobina que é a proteína transportadora de oxigênio ou a queratina que forma os cabelos, unhas e chifres dos animais (Figura 31).

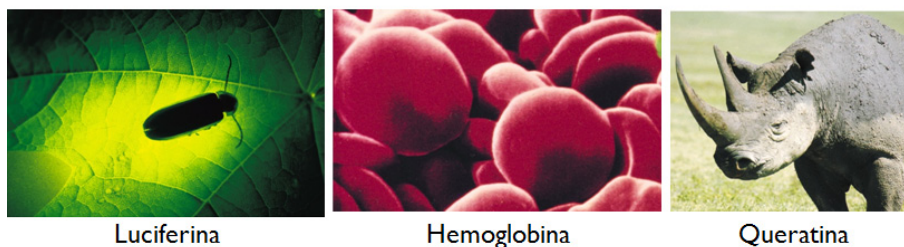


Figura 31 - Alguns exemplos de proteínas.

Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5ª. Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 71.

Existem proteínas de diferentes tamanhos, com cadeias peptídicas variando de 104 aminoácidos e massa molar de 12.400g/mol no citocromo C até 26.926 aminoácidos e massa molar de 2.993.000g/mol na titina. Essas proteínas podem conter uma única cadeia peptídica como o citocromo C e a titina, duas cadeias como a hexocinase, três como a quimotripsina ou até mais como a glutamina sintetase que contém doze cadeias peptídicas. Algumas proteínas contêm outros grupos químicos ligados em suas estruturas além dos aminoácidos. Essas são denominadas proteínas conjugadas, e o grupo diferente denominado de grupo prostético. Dependendo da natureza química dos grupos prostéticos podemos classificar as proteínas como: lipoproteínas (grupo prostético é um lipídeo), glicoproteínas (grupo prostético é um carboidrato), fosfoproteína (grupo fosfato), hemeproteína (grupo heme), metaloproteínas (metais como ferro, zinco, cálcio, molibdênio, cobre, etc).

As moléculas de proteínas apresentam vários níveis de estrutura (Figura 32). A estrutura primária é a descrição de todas as ligações covalentes presentes na proteína, em particular a seqüência de aminoácidos e a posição de todas as ligações dissulfeto. A estrutura secundária descreve arranjos de aminoácidos particularmente estáveis, o que determina a conformação regular assumida pelos segmentos protéicos. A estrutura terciária descreve toda a estrutura tridimensional da cadeia peptídica. A estrutura quaternária descreve como cadeias peptídicas individuais estão arranjadas umas em relação às outras numa proteína. Apenas proteínas com mais de uma cadeia peptídica possuem estrutura quaternária.

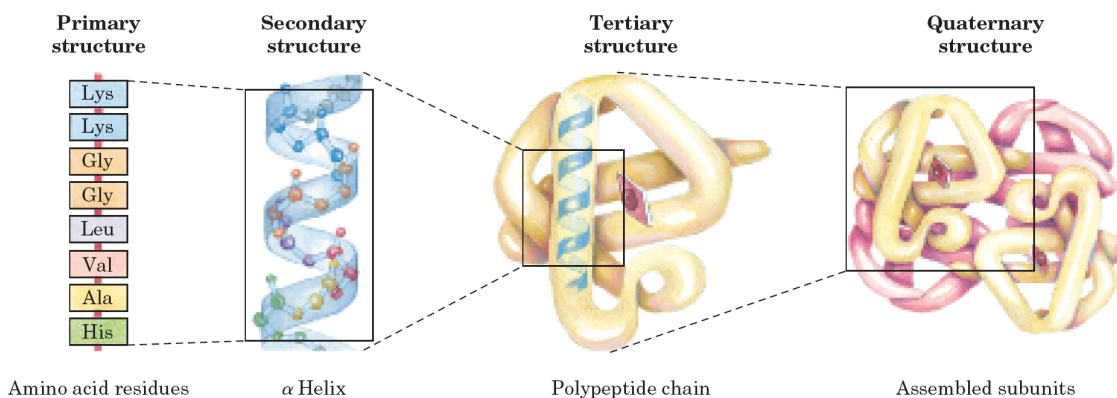


Figura 32 - Níveis estruturais nas proteínas.

Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Lehninger's Principles of Biochemistry. 4th Ed. Pg. 89.

Estrutura primária

Como foi dito, a estrutura primária é o conjunto de todas as ligações covalentes presentes no peptídeo ou na proteína. Isso inclui as ligações peptídicas e as ligações dissulfeto. Para determinar a ordem ou sequência dos aminoácidos é necessário antes romper as ligações dissulfeto, o que pode ser conseguido através de uma oxidação ou de uma redução (Figura 33). Note que é importante que após o rompimento a ligação dissulfeto não volte a se formar. No caso da oxidação, geralmente efetuada com ácido perbórico, o produto são dois resíduos de ácido cisteico, cujos grupos sulfonila não voltam a se unir. Entretanto, no caso da redução, seja ela efetuada com ditionitroto (Figura 33) ou 2-mercaptoetanol (Figura 34) o produto são dois resíduos de cisteína, que precisam ser modificados quimicamente para evitar nova formação de ligação dissulfeto (cistina). Para tanto é feita uma carboximetilação utilizando o ácido iodo-acético ou iodoacetato.

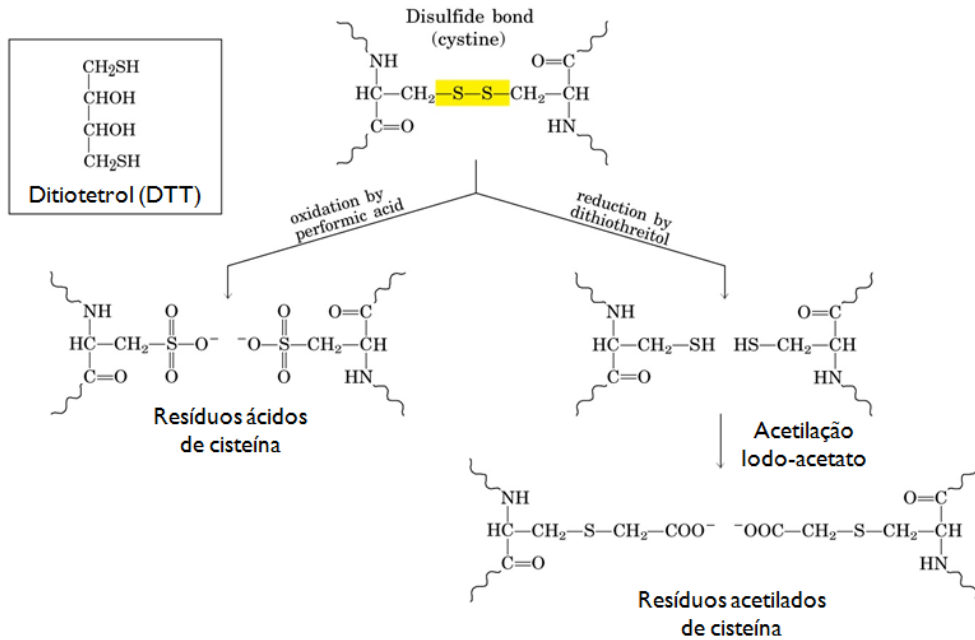


Figura 33 - Quebra das ligações dissulfeto em peptídeos ou proteínas.
 Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5ª. Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 96.

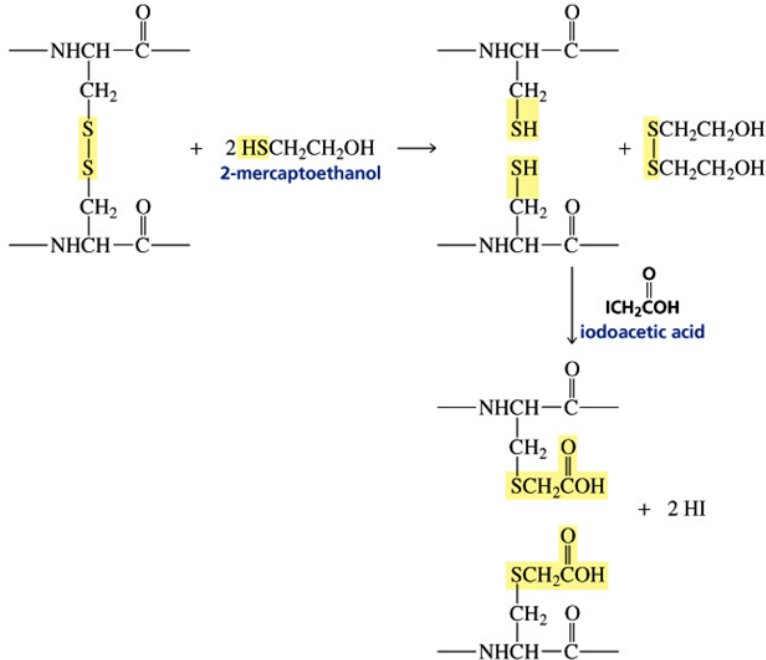


Figura 34 - Quebra das ligações dissulfeto por redução com 2-mercaptoetanol.
 Fonte: BRUCE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 397.

Em seguida deve-se determinar o número e os tipos de aminoácidos presentes no peptídeo ou proteína. Para isso precisamos primeiro hidrolisar todas as ligações peptídicas, o que pode ser conseguido aquecendo-se com ácido clorídrico HCl 6N a 100°C por 24h. A hidrólise ácida quebra todas as ligações amida presentes, incluindo as da asparagina e glutamina, o que ocasiona um problema, pois elas se convertem em aspartato e glutamato. A mistura de aminoácidos obtida é então analisada por cromatografia ou outro método analisador de aminoácidos, de onde obtemos o tipo de aminoácidos presentes e em qual quantidade. Os valores de aspartato e glutamato, entretanto, estarão majorados, pois seu resultado equivalerá à soma de aspartato/asparagina e glutamato/glutamina. Outras técnicas devem ser empregadas para distingui-los. O triptofano é outro problema, pois não resiste às condições fortemente ácidas, sendo destruído. Para determinar o teor de triptofano é necessário efetuar uma hidrólise básica e analisar o produto, o que destrói vários outros aminoácidos. O resultado das duas hidrólises é analisado em conjunto, nos dando o panorama completo de todos os aminoácidos presentes.

Existem vários métodos para a determinação do aminoácido N-terminal em um peptídeo ou proteína, como o uso do cloreto de dabsila ou do cloreto de dansila (Figura 35). Ambos se ligam na extremidade N e após hidrólise são identificados no analisador. Estes métodos, entretanto possuem pouca aplicação, já que não nos informam sobre o resto da seqüência na cadeia peptídica.

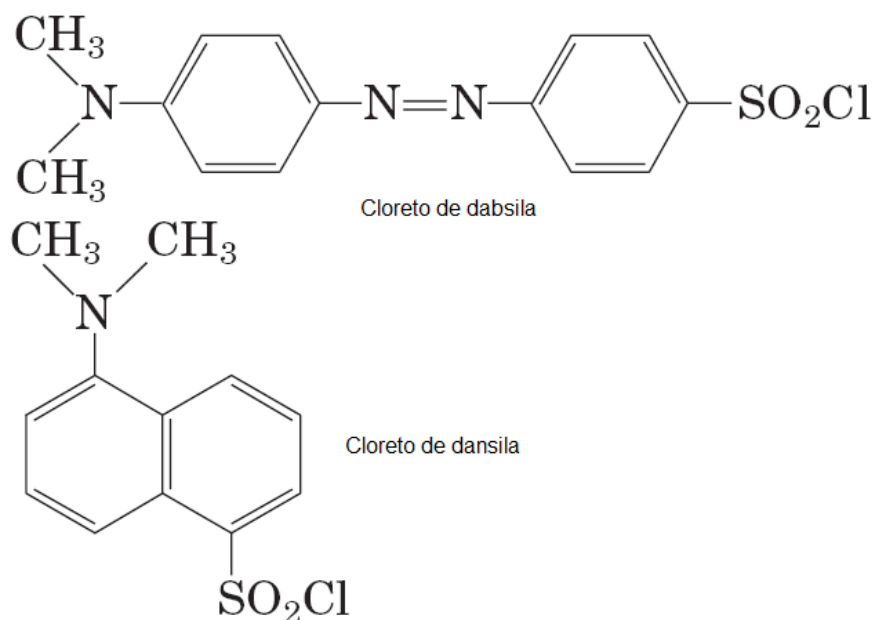


Figura 35 - Cloreto de dabsila e cloreto de dansila.

Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5ª. Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 95.

Para o seqüenciamento completo utiliza-se o método desenvolvido por Pehr Edman, que marca e remove o aminoácido N-terminal, deixando as outras ligações peptídicas intactas. O reagente de Edman utiliza isotiocianato de fenila (PTC) para reagir com o grupo amino terminal (Figura 36), formando um derivado tiazolínico. Este derivado é hidrolisado da proteína em condições fracamente ácidas com ácido trifluoracético (Figura 37), extraído com solvente orgânico, e devido à presença de ácido sofre um rearranjo formando uma fenil-tio-hidantoína (PTH), que é identificado por cromatografia (Figura 38). Como o resto da cadeia peptídica é deixada intacta, o procedimento pode ser repetido identificando o segundo, terceiro, quarto aminoácidos e assim por diante.

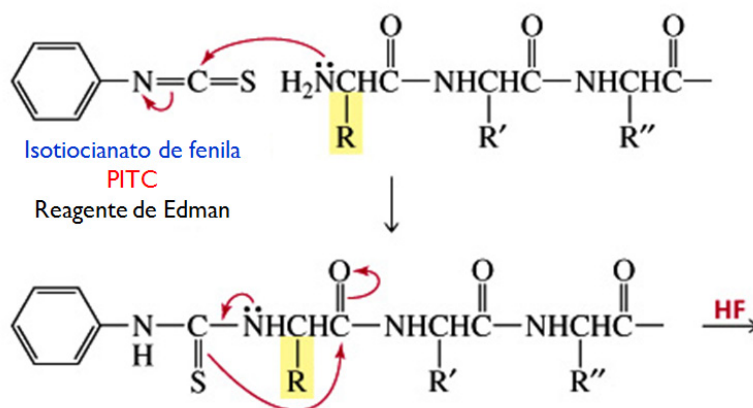


Figura 36 - Reação de Edman – ataque nucleofílico e rearranjo.
 Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 398.

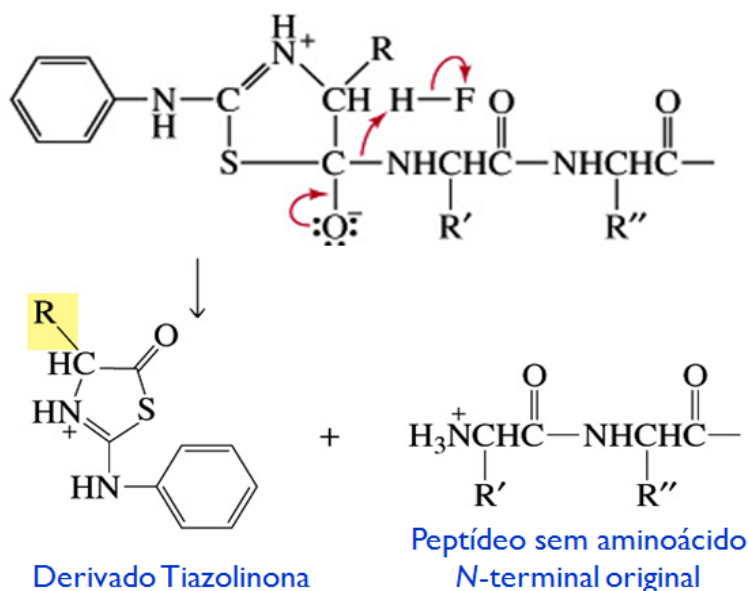


Figura 37 - Reação de Edman – hidrólise ácida.
 Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 398.

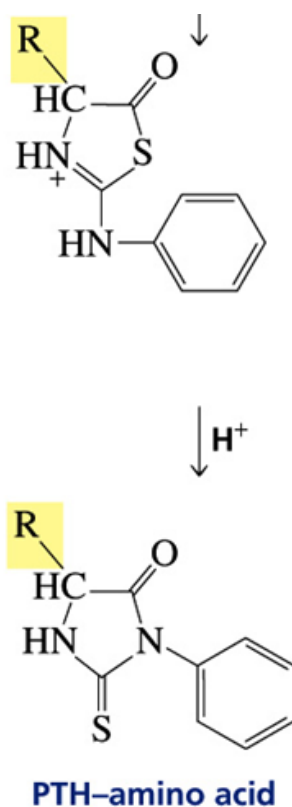


Figura 38 - Reação de Edman – formação do PTH.
 Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 398.

Esse método foi automatizado e está presente na maioria dos seqüenciadores de aminoácidos. Entretanto surge um problema, a eficiência da reação varia entre 97% a 99% nos seqüenciadores mais modernos. Isso leva a um acúmulo de peptídeos onde o aminoácido N-terminal não foi hidrolisado, aparecendo como ruído ao ser hidrolisado na etapa subsequente. Esse ruído se acumula a cada etapa ao ponto de inviabilizar o seqüenciamento de peptídeos com mais de 50 aminoácidos.

A solução então é quebrar a proteína em pedaços menores, seqüenciar cada pedaço e depois juntar a informação obtida de cada fragmento para determinar a seqüência completa. Uma maneira de fazer isto é utilizar ácido diluído para promover a hidrólise parcial do peptídeo ou proteína. Ocorre uma quebra parcial e aleatória de algumas ligações peptídicas. A análise em separado dos fragmentos permite identificar a sequência original.



ATIVIDADES

1. A hidrólise parcial de um decapeptídeo em meio ácido diluído gera os fragmentos abaixo. A reação do peptídeo intacto com reagente de Edman gera PTH-Gly. Qual a sequência de aminoácidos no peptídeo?
2. Fragmentos: a) Ala, Trp; b) Val, Pro, Asp; c) Pro, Val; d) Ala, Glu; e) Trp, Ala, Arg; f) Arg, Gly; g) Glu, Ala, Leu; h) Met, Pro, Leu, Glu.

COMENTÁRIO SOBRE AS ATIVIDADES

O reagente de Edman nós dá o aminoácido $\text{N}^{\text{terminal}}$ como sendo a Gly, logo devemos buscar fragmentos que contenham Gly, no caso o fragmento f. Esse fragmento contém Arg e Gly, como já sabemos que a Gly está a esquerda, então logo após ela vem a Arg. Vamos agora olhar os fragmentos com Arg. Temos o fragmento e que contém Trp, Ala e Arg. Sabemos então que ao lado da Arg temos Trp-Ala ou Ala-Trp. O fragmento a Ala e Trp não nos ajuda em nada, apenas confirma que Ala e Trp estão vizinhos. Não existe outro fragmento com Trp, mas o fragmento d possui Ala e Glu. Se Ala estivesse entre Arg e Trp na ordem Arg-Ala-Trp, então não seria possível ela gerar um fragmento sozinha com Glu. Logo temos Arg-Trp-Ala-Glu. O fragmento g Glu, Ala e Leu nós diz que o próximo aminoácido na sequência é Leu. O fragmento h Met, Pro, Leu e Glu indica que após Leu temos Met-Pro ou Pro-Met. O fragmento c Pro e Val, mostra que Pro não pode estar entre Leu e Met, logo temos Leu-Met-Pro seguido de Val. Por fim o fragmento b Val, Pro e Asp mostra que o último aminoácido é Asp. A sequência completa é:

Gly-Arg-Trp-Ala-Glu-Leu-Met-Pro-Val-Asp

Alternativamente à hidrólise parcial utilizando ácido diluído, podemos fazer hidrólises mais seletivas utilizando reagentes específicos ou enzimas. As exopeptidases: Carboxi-peptidase A e Carboxi-peptidase B são enzimas complementares, já que a Carboxi-peptidase A remove o aminoácido C-terminal exceto Arg ou Lys, enquanto a Carboxi-peptidase B remove o aminoácido C-terminal apenas se ele for Arg ou Lys. Juntas elas nos dizem quem é o último aminoácido a direita, da mesma forma que o reagente de Edman nós diz quem é o aminoácido a esquerda (Figura 39).



Figura 39 - Sítio de ataque das exopeptidases.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 399.

As endopeptidases quebram no meio da cadeia peptídica, em locais específicos. Por exemplo, a Tripsina hidrolisa as ligações peptídicas apenas do lado-C dos aminoácidos positivamente carregados Arg e Lys (Figura 40).

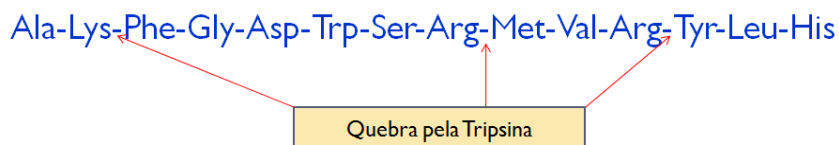


Figura 40 - Sítio de ataque da Tripsina.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 400.

A Quimotripsina hidrolisa as ligações peptídicas apenas do lado-C dos aminoácidos aromáticos com anel de 6 membros Phe, Tyr e Trp (Figura 41).

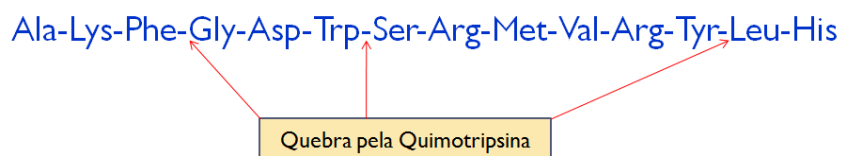


Figura 41 - Sítio de ataque da Quimotripsina.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 400.

A Elastase hidrolisa as ligações peptídicas apenas do lado-C dos aminoácidos pequenos Gly e Ala (Figura 42).

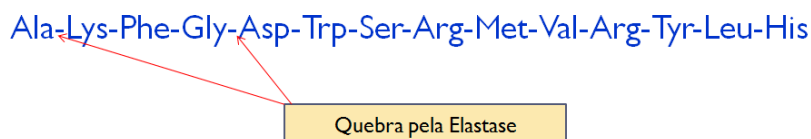


Figura 42 - Sítio de ataque da Elastase.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 400.

A Submaxillarius protease hidrolisa as ligações peptídicas apenas do lado-C da Arg (Figura 43).

Ala-Lys-Phe-Gly-Asp-Trp-Ser-Arg-Met-Val-Arg-Tyr-Leu-His

Quebra pela Submaxillarius protease

Figura 43 - Sítio de ataque da Submaxillarius protease.
Fonte: Desenhado pelo autor.

A Staphylococcus aureus V8 protease hidrolisa as ligações peptídicas apenas do lado-C dos aminoácidos negativamente carregados Asp e Glu (Figura 44).

Ala-Lys-Phe-Gly-Asp-Trp-Ser-Arg-Met-Val-Arg-Tyr-Leu-His

Quebra pela V8 protease

Figura 44 - Sítio de ataque da Staphylococcus aureus V8 protease.
Fonte: Desenhado pelo autor.

A Pepsina hidrolisa as ligações peptídicas apenas do lado-N dos aminoácidos aromáticos com anel de 6 membros Phe, Tyr e Trp (Figura 45).

Ala-Lys-Phe-Gly-Asp-Trp-Ser-Arg-Met-Val-Arg-Tyr-Leu-His

Quebra pela Pepsina

Figura 45 - Sítio de ataque da Pepsina.
Fonte: Desenhado pelo autor.

É interessante notar que nenhuma das endopeptidases consegue hidrolizar a ligação peptídica caso o aminoácido ao lado seja Pro (Figura 46). Isso ocorre devido ao nitrogênio de amina secundária, que altera a geometria na vizinhança, impedindo o encaixe no sítio ativo da enzima.

Ala-Lys-Pro

Leu-Phe-Pro

Pro-Phe-Val

Tripsina não quebra

Quimotripsina não quebra

Quimotripsina quebra

Figura 46 - Legenda: Vizinhança da prolina.
Fonte: BRUCE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 400.

Além das enzimas, reagentes químicos também podem ser utilizados para quebrar seletivamente a cadeia peptídica. Um exemplo é o brometo de cianogênio, que hidrolisa a ligação peptídica do lado-C de Met (Figura 47). Por não ser uma enzima o BrCN é mais específico, hidrolisando mesmo ao lado de Pro, já que não depende do encaixe em um sítio ativo. Seu mecanismo envolve o ataque nucleofílico do enxofre da metionina ao carbono do brometo de cianogênio, com a saída do bromo como grupo abandonador. Em seguida o oxigênio da ligação amida, em sua forma de ressonância ataca o grupo metilênico ligado ao enxofre, numa reação SN2, saindo o tiocianato de metila e formando um anel de cinco membros (Figura 48).

Ala-Lys-Phe-Gly-Asp-Trp-Ser-Arg-Met-Val-Arg-Tyr-Leu-His

Quebra pelo BrC≡N

Figura 47 - Sítio de ataque do BrCN.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 401.

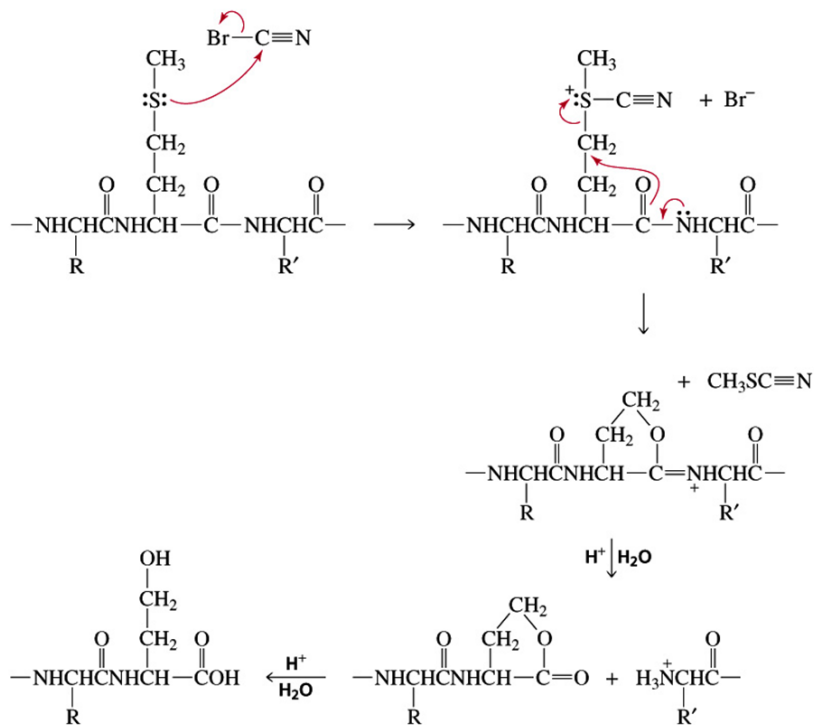


Figura 48 - Mecanismo do BrCN.

Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 401.



ATIVIDADES

1. Determine a estrutura primária de um octapeptídeo sabendo que: A sua hidrólise ácida total fornece duas Arg, Leu, Lys, Met, Phe, Ser e Pro. O uso do reagente de Edman no peptídeo íntegro libera PTH-Leu. O uso da Carboxipeptidase A libera Ser. O uso de BrCN (brometo de cianogênio) produz dois fragmentos com a seguinte composição: 1) Arg, Phe, Ser; 2) Arg, Leu, Lys, Met, Tyr. O uso da Tripsina no peptídeo íntegro produz quatro fragmentos: 1) Arg; 2) Ser; 3) Arg, Met, Phe; 4) Leu, Lys, Tyr.

COMENTÁRIO SOBRE AS ATIVIDADES

Embora a questão já informe tratar-se de um octapeptídeo, essa informação também poderia ser obtida contando o número de aminoácidos liberados na hidrólise total que são oito. O reagente de Edman quebra o peptídeo no lado-N, ou seja como ele liberou PTH-Leu o primeiro aminoácido a esquerda é a Leu. Já a Carboxipeptidase quebra o peptídeo no lado-C, ou seja, o último aminoácido no lado direito é a Ser. O brometo de cianogênio quebra o peptídeo no lado-C (direito) da Met, isso significa que o fragmento mais a direita não terá Met, sendo o fragmento 1) Arg, Phe, Ser. Como já sabemos que Ser é o oitavo aminoácido, o final do peptídeo pode ser Arg-Phe-Ser ou Phe-Arg-Ser. Do fragmento 2) Arg, Leu, Lys, Met, Tyr sabemos que o primeiro aminoácido é Leu, e o quinto tem que ser Met, pois foi onde ocorreu a quebra. Analisemos agora a quebra pela Tripsina. A Tripsina quebra do lado-C de Lys e Arg, ou seja, o último fragmento não pode conter esses dois aminoácidos. Este é o fragmento 2) Ser. Isso confirma que o último aminoácido é a Ser, e nós informa que antes da Ser deve haver uma Arg ou Lys. Como já sabemos pelo BrCN que o último fragmento tem Arg, Phe e Ser, então a ordem correta é Phe-Arg-Ser. O fragmento 3) Arg, Met, Phe confirma essa informação e complementa com a Met que já sabíamos estar na posição cinco. Além disso, nos diz que na posição quatro encontra-se Lys ou Arg. O fragmento 4) Leu, Lys, Tyr é o único que contém Leu, sendo portanto o primeiro fragmento. Como Leu é o primeiro aminoácido e Lys deve estar no final do fragmento, já que a quebra ocorre nela, então temos Leu-Tyr-Lys, e portanto o fragmento 1) Arg encontra-se na quarta posição. A seqüência completa é:

Leu-Tyr-Lys-Arg-Met-Phe-Arg-Ser

Estrutura secundária

A estrutura secundária de um peptídeo ou proteína nos diz a conformação adquirida por um segmento protéico de forma a minimizar a sua energia. A conformação envolve os átomos da cadeia principal C-1 (carbonila), C- α e o N. Como vimos anteriormente, o giro entorno da ligação C-1/N (ligação peptídica) é proibido, devido ao seu caráter parcial de dupla (Figura 49), o que fixa a configuração desta ligação na posição trans por possuir menor energia. Entretanto o giro é livre entre as ligações N/C- α (ângulo ϕ) e C- α /C-1 (ângulo ψ) (Figura 50) o que permite à molécula assumir diferentes conformações. Quando o peptídeo encontra-se completamente estendido ϕ e ψ são iguais a $\pm 180^\circ$. O ângulo $\phi = \psi = 0^\circ$ é proibido, pois ocorreriam sobreposições de átomos na molécula. Não fossem as cadeias laterais, a conformação mais estável seria a completamente estendida, onde todos os átomos da cadeia principal encontram-se em conformação antiperiplanar, minimizando assim a repulsão e a energia. Entretanto, a repulsão ou atração entre as cadeias laterais exercem grande influência na conformação assumida pela molécula. Vamos agora conhecer as principais estruturas secundárias. Uma estrutura secundária comum ocorre quando os ângulos ϕ e ψ permanecem iguais ou quase iguais ao longo de um segmento protéico. As mais comuns são as hélices α , as folhas β e as curvas β . Quando a estrutura secundária é muito complexa para se descrever, ou não apresenta um padrão regular de repetição, denominamos a estrutura secundária de espiralada ou em laço.

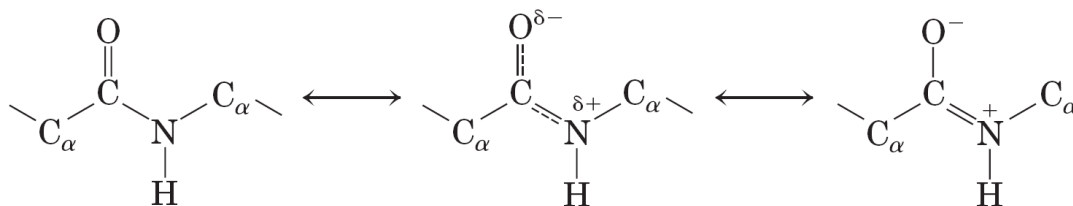


Figura 49 - Estruturas de ressonância de ligação peptídica.

Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5ª. Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 116.

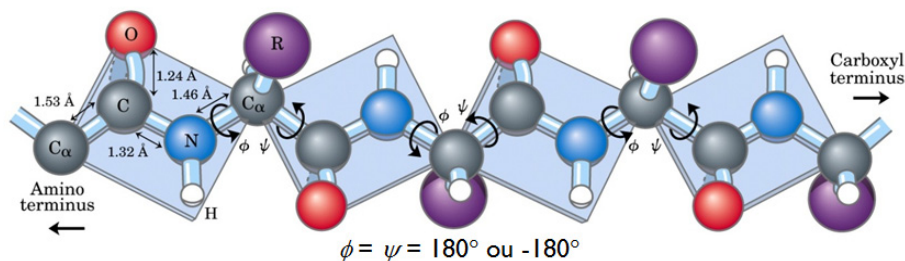


Figura 50 - Ângulos no entorno da cadeia principal do peptídeo.

Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5ª. Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 116.

Hélice α

As ligações de hidrogênio exercem grande influência na orientação dos grupos polares nas ligações peptídicas. Para maximizar a força das ligações de hidrogênio, o arranjo mais simples que a cadeia peptídica pode assumir é o da hélice α . A hélice α é uma hélice destra, ou seja, gira em sentido horário a medida que se desce na espiral (Figura 51). Nesta conformação cada volta da hélice contém 3,6 aminoácidos, e ocorre uma ligação de hidrogênio entre a carbonila da amida e o hidrogênio ligado ao nitrogênio (Figura 52). As cadeias laterais são posicionadas para fora da hélice, o que reduz a repulsão, e o ângulo $\phi = -57^\circ$ e o ângulo $\Psi = -47^\circ$ (podendo oscilar entre $-45^\circ \leq \Psi \leq -50^\circ$).

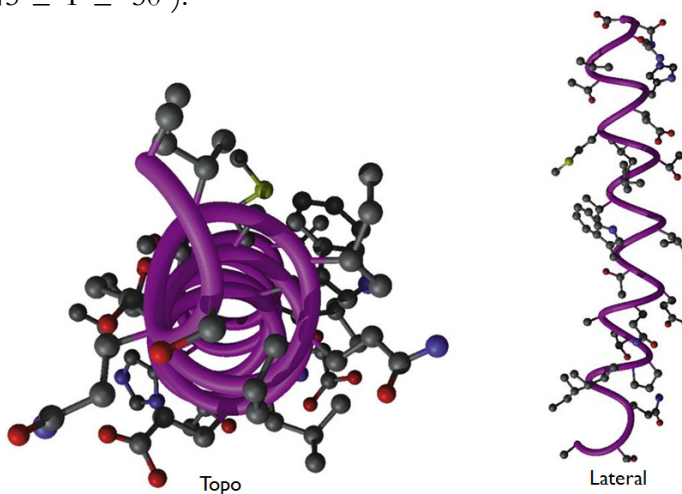


Figura 51 - Hélice α .
 Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 403.

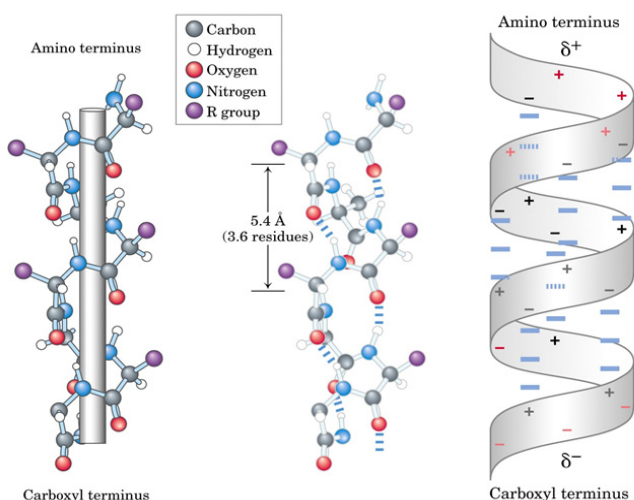


Figura 52 - Ligações de hidrogênio na hélice α .
 Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Lehninger's Principles of Biochemistry. 4th Ed. Pg. 121.

Alguns fatores estabilizam ou desestabilizam a hélice α . Aminoácidos a três ou quatro posições de distância que apresentem cargas opostas na cadeia lateral formam um par-iônico, estabilizando a hélice. Da mesma forma, grupos apolares a três ou quatro ligações de distância, como por exemplo aminoácidos aromáticos formam ligações de Van der Waals, estabilizando a estrutura. Entretanto, grupos vizinhos com mesma carga desestabilizam a estrutura, por exemplo, numa hélice α não deve haver Glu vizinho de Asp, pois ambos possuem carga negativa na cadeia lateral, ou Lys vizinha de Arg, pois ambas possuem carga positiva. Também não é desejável a presença de grupos vizinhos muito volumosos, portanto não devemos ter Val, Leu ou Ile vizinhos devido ao impedimento estérico. Por fim, alguns aminoácidos são incompatíveis com a estrutura de hélice α . São eles Pro e Gly. A prolina devido a sua rigidez que distorce o ângulo da hélice, além de dificultar a formação das ligações de hidrogênio. E a Gly devido a sua flexibilidade que dificulta a manutenção da forma de hélice.

Folha pregueada β

O segundo tipo de estruturasecundária mais comum são as folhas pregueadas β . Esta é uma estrutura totalmente estendida em zig-zag, com os ângulos ϕ e Ψ são iguais a $\pm 180^\circ$. Como vimos, a estrutura totalmente estendida só não é a mais estável devido às cadeias laterais dos aminoácidos. Entretanto, as folhas pregueadas β resolvem este problema com uma predominância dos aminoácidos Gly e Ala. A Gly não possui cadeia lateral e a Ala tem um grupo metila na cadeia lateral, que é muito pequeno para afetar a estabilidade. Esses aminoácidos não causam impedimento estérico, permitindo que as ligações de hidrogênio (Figura 53) ocorram entre as cadeias peptídicas vizinhas, estabilizando a estrutura.

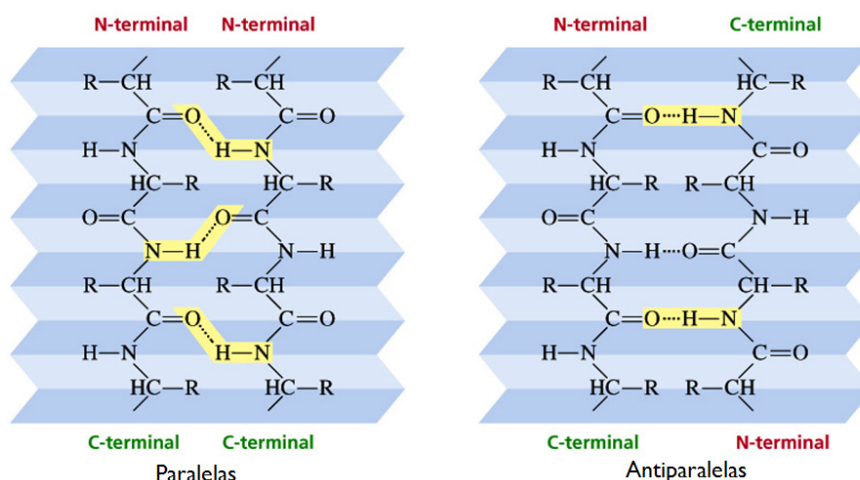


Figura 53 - Ligações de hidrogênio nas folhas pregueadas β .

Fonte: BRUCE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 404.

As folhas pregueadas β podem ser de dois tipos: paralelas, quando as cadeias peptídicas vizinhas possuem mesma direção e sentido (Figura 54) e antiparalelas com mesma direção e sentidos opostos (Figura 55).

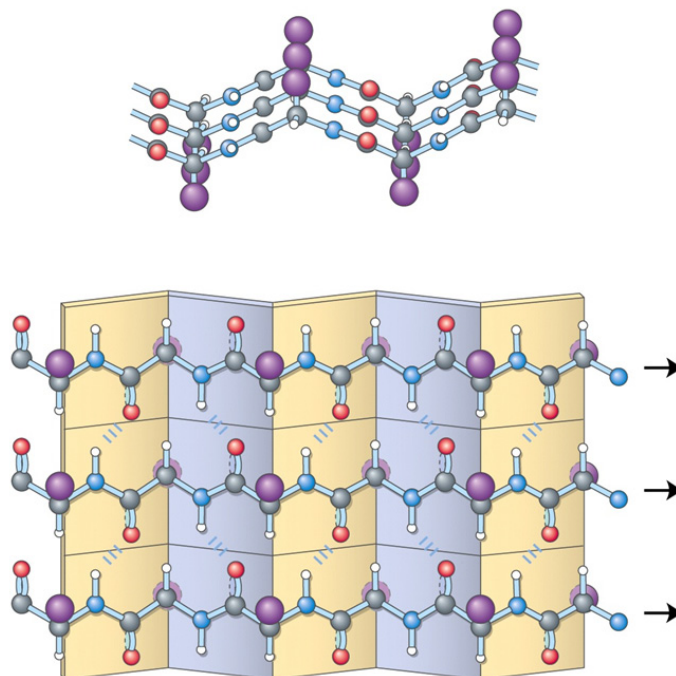


Figura 54 - Folhas pregueadas β paralelas.

Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Lehninger's Principles of Biochemistry. 4th Ed. Pg. 123.

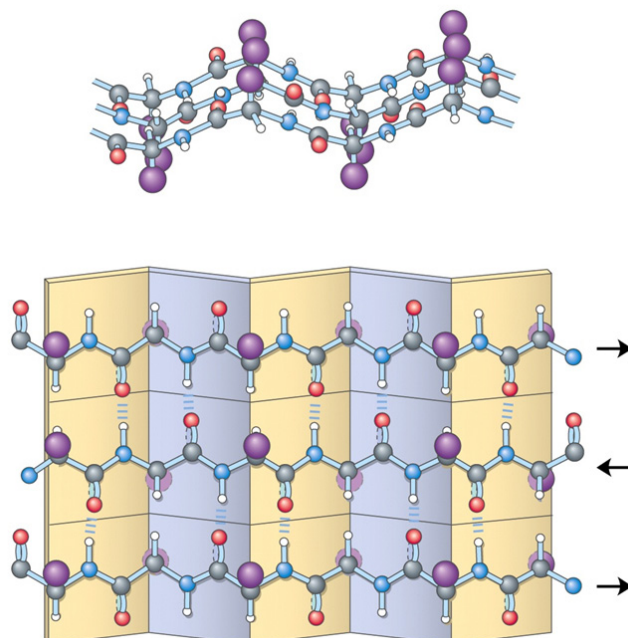


Figura 55 - Folhas pregueadas β antiparalelas.

Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Lehninger's Principles of Biochemistry. 4th Ed. Pg. 123.

Curvas β

As curvas são estruturas muito comuns em proteínas, servindo para unir diferentes segmentos protéicos. Numa proteína globular as cruvas podem representar até 1/3 dos aminoácidos presentes na proteína, sendo portanto o terceiro tipo de estrutura secundária mais comum. Dentre as curvas, destaca-se a curva β , que une as folhas pregueadas β antiparalelas. As curvas β envolvem quatro aminoácidos e promovem um giro de 180° . Sua estabilidade é garantida por uma ligação de hidrogênio entre os aminoácidos 1 e 4, e o aminoácido 3 é obrigatoriamente um resíduo de Pro com configuração cis (Figura 56) ou uma Gly. A prolina em cis, devido à sua rigidez força o giro, e a glicina devido à sua flexibilidade permite o giro (Figura 57).

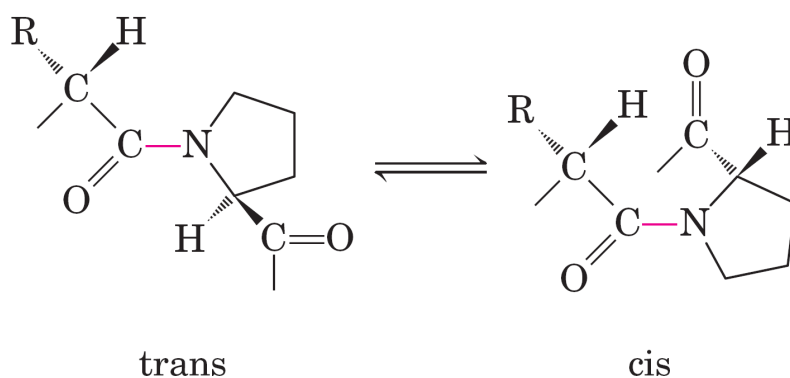


Figura 56 - Configurações da Pro.

Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Lehninger's Principles of Biochemistry. 4th Ed. Pg. 124.

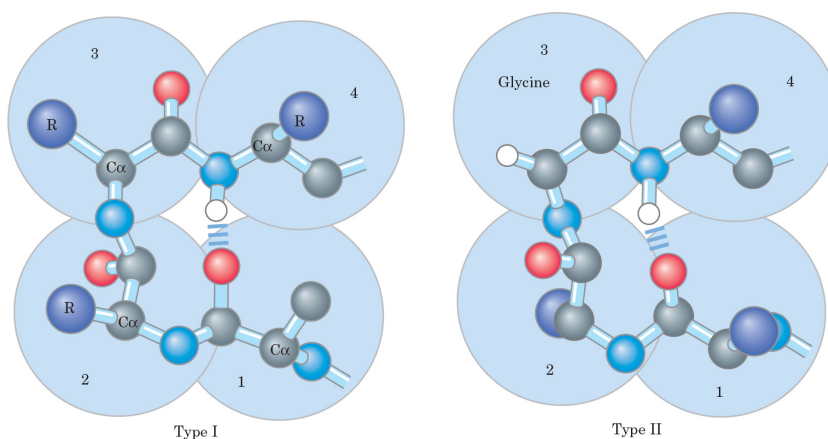


Figura 57 - Curvas β Tipo I com Pro e Tipo II com Gly.

Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Lehninger's Principles of Biochemistry. 4th Ed. Pg. 124.

Conformação espiralada ou em laço

Além das estruturas secundárias citadas, existem outras menos abundantes. O que define uma estrutura secundária são os tipos de aminoácidos presentes e os ângulos ϕ e Ψ . Entretanto, algumas vezes os ângulos variam tanto ao longo de um segmento curto, e os tipos de aminoácidos também variam. Neste caso a estrutura secundária é mais difícil de ser descrita, sendo denominada estrutura espiralada ou em laço. De qualquer forma, foi criada uma representação gráfica para as proteínas, já que desenhar todos os aminoácidos na maioria das vezes é inviável. Nesta representação (Figura 58) as hélices α são representadas por espirais, as folhas β são representadas por setas, sendo paralelas quando as setas tiverem mesma direção e sentido e antiparalelas quando tiverem mesma direção e sentidos opostos. As curvas β são representadas por curvas com 180° , e as estruturas espiraladas ou em laço são representadas por cordões.



Figura 58 - Representação gráfica da proteína Carboxi-peptidase A.
Fonte: BRUICE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 405.

Estrutura terciária

A estrutura terciária de uma proteína ou peptídeo é o arranjo tridimensional de toda a cadeia peptídica. As proteínas se dobram espontaneamente quando em solução para minimizar a sua energia, maximizando a sua estabilidade. O que mantém a estrutura dobrada são as interações estabilizantes. Estas podem ser ligações covalentes, onde predominam as ligações dissulfeto, mas outros tipos de ligações covalentes entre as cadeias laterais dos aminoácidos ocasionalmente também ocorrem, como por exemplo na desmosina, presente na proteína elastina. Além das ligações covalentes ocorrem pares iônicos entre os aminoácidos com cadeia lateral positiva Arg e Lys e os aminoácidos com cadeia lateral negativa Glu e Asp, ligações de hidrogênio entre aminoácidos como Tyr, Thr, Ser, e interações hidrofóbicas do tipo força de Van der Waals entre aminoácidos apolares como Phe, Leu, Ile, Val (Figura 59).

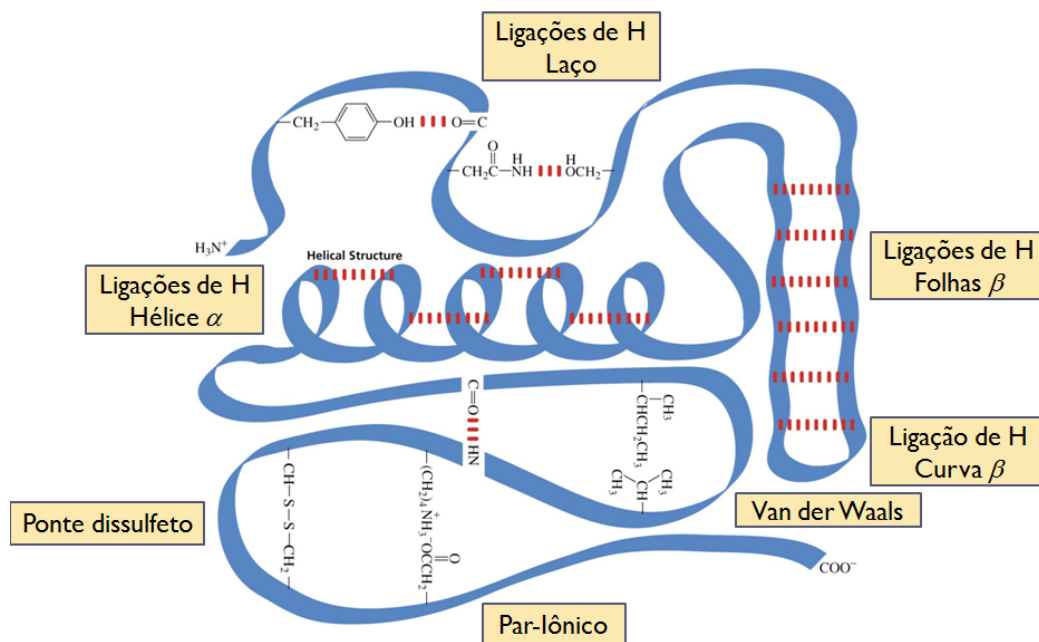


Figura 59 - Interações estabilizantes da estrutura terciária.
 Fonte: BRUCE, P. Y. Química Orgânica. Vol. II, 4ª. Ed. Pearson Prentice Hall, São Paulo – SP, 2006. Pg. 406.

As estruturas terciárias podem ser divididas em dois tipos: Fibras e Globulares. As estruturas fibrosas têm a predominância de um único tipo de estrutura secundária, possuem estrutura em longos filamentos ou folhas, são sempre insolúveis em água e sua função é dar suporte, forma ou proteção externa aos organismos.

Proteínas fibrosas

Um exemplo de proteína fibrosa é a queratina. A queratina é bastante versátil, formando estruturas como lã, cabelo, espinhos, chifres, garras e unhas (Figura 60).



Figura 60 - Estruturas compostas de queratina.
Fonte: Fotomontagem feita pelo autor.

A queratina possui estrutura secundária quase exclusivamente na forma de hélice α , sendo que duas hélices se enrolam formando uma bobina ou super-hélice esquerda. As super-hélices se ligam entre si por pontes dissulfeto, formando os protofilamentos, e o conjunto dos protofilamentos forma as protofibrilas (Figura 61). Na queratina predominam resíduos de aminoácidos hidrofóbicos Ala, Val, Leu, Ile, Met e Phe. O número e posição das ligações dissulfeto define por exemplo se um cabelo será liso ou crespo, e pode ser alterado quimicamente com o uso de agentes redutores e oxidantes, como ocorre nos alisamentos definitivos ou na permanente (Figura 62). Nos chifres a resistência da queratina é aumentada pelo número maior de ligações dissulfetos, podendo conter até 18% de Met.

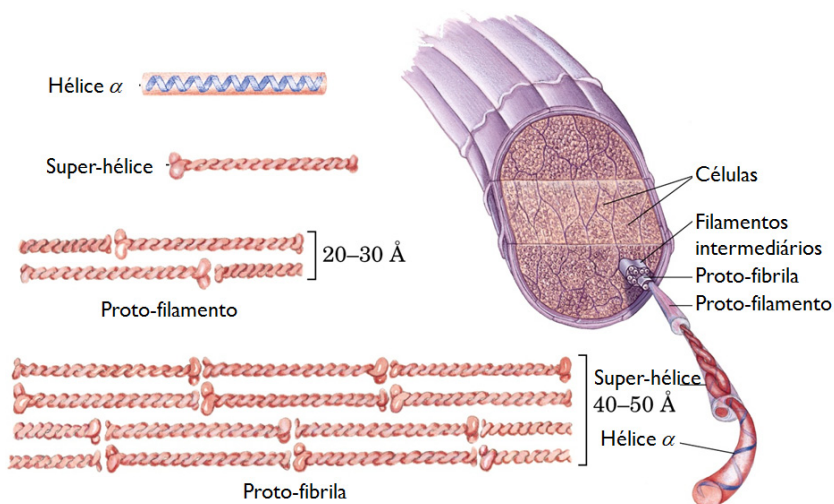


Figura 61 - Estrutura da queratina.
 Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5ª. Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 124.

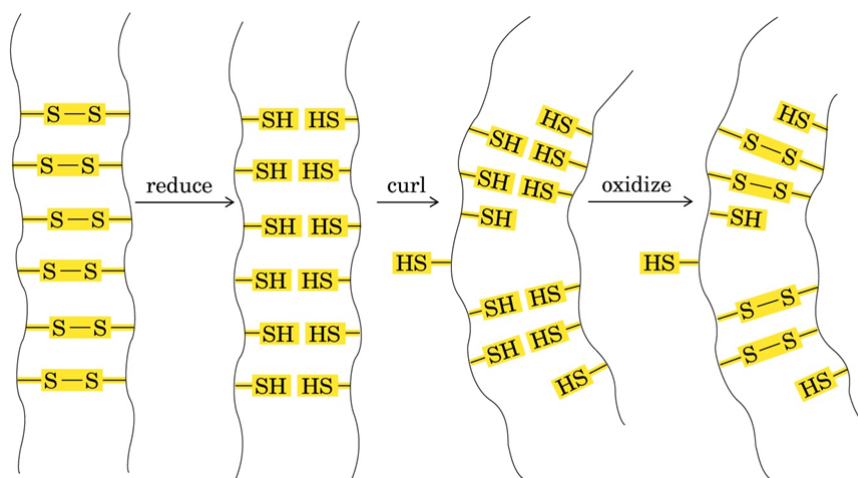


Figura 62 - Alteração das ligações dissulfeto de um cabelo liso para cacheado.
 Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5ª. Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 125.

Outra proteína fibrosa importante é o colágeno, encontrado nos tecidos conectivos como tendões, cartilagens e córnea (Figura 63).

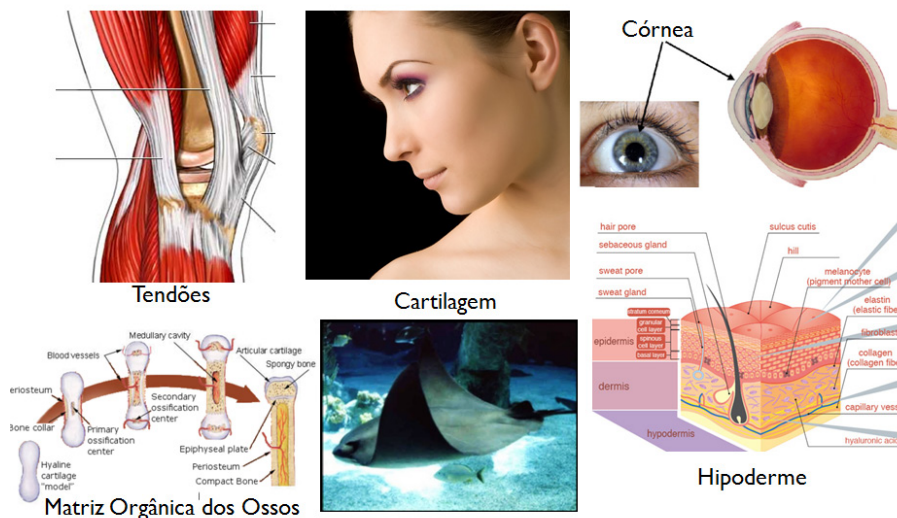


Figura 63 - Estruturas compostas de colágeno.
 Fonte: Fotomontagem feita pelo autor.

O colágeno possui uma estrutura secundária incomum, com uma hélice esquerda (anti-horária) com $\theta = -51^\circ$ e o ângulo $\Psi = +153^\circ$. O que permite esse giro invertido são os resíduos de aminoácidos que o compõe Gly, Pro e 4-Hyp (4-hidroxi prolina). A ordem desses aminoácidos costuma ser Gly-Pro-4Hyp. A estrutura rígida da Pro aliada a flexibilidade da Gly permitem o giro invertido. A Gly é algumas vezes substituída por Ala, sendo a proporção Gly 35%, Ala 11% e Pro com 4-Hyp 21%. Assim como na queratina, as hélices do colágeno também se enrolam umas sobre as outras, só que no colágeno são três hélices enroladas e não duas (Figura 64). Essas super-hélices formam as fibrilas de colágeno. Para manter as fibrilas unidas o colágeno não faz uso de ligações dissulfeto, ao invés disso ele possui resíduos de Lys e HyLys (hidroxilisina) que se unem por ligações covalentes (Figura 65).

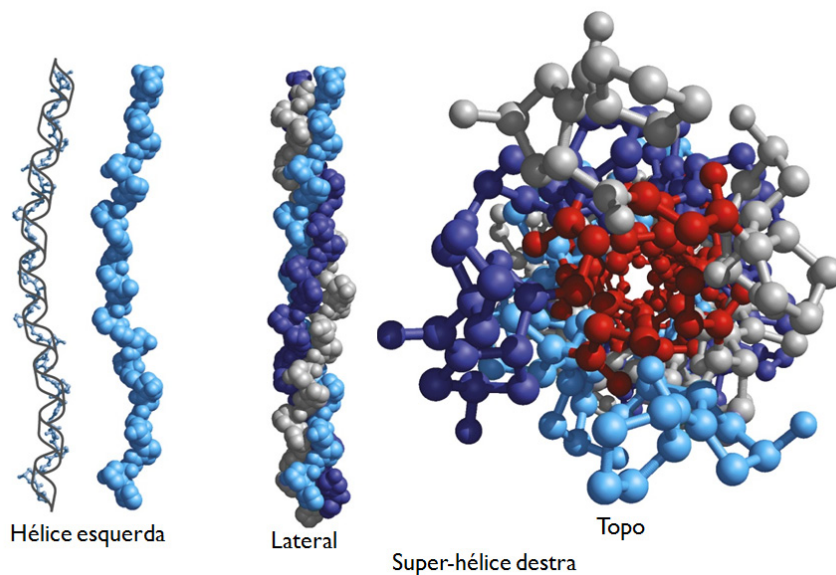


Figura 64 - Super-hélice do colágeno.
 Fonte: NELSON, D.L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5ª. Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 124.

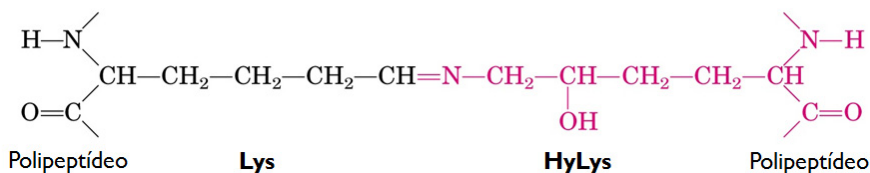
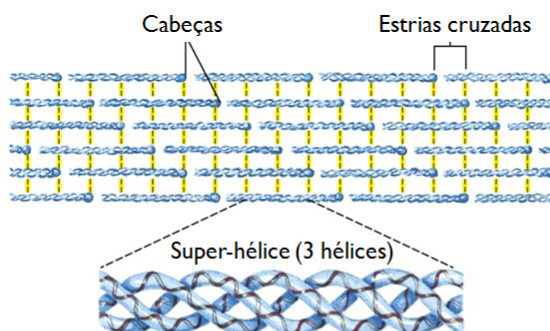


Figura 65 - Fibrilas do colágeno unidas por ligações covalentes.
 Fonte: NELSON, D.L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5ª. Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 125 e 128.

Outro exemplo de proteína de estrutura terciária fibrosa é a fibroína da seda. Diferente das anteriores, a estrutura secundária predominante é a folha pregueada β antiparalela (Figura 66). Como em todas as folhas β , temos aminoácidos pequenos Gly e Ala, e as folhas são unidas por forças

de Van der Waals e ligações de hidrogênio. A fibroína é totalmente estendida, o que significa que ela não estira, dando uma excelente resistência ao estiramento unida a uma flexibilidade lateral. Ela é produzida por insetos como o bicho da seda e aracnídeos como a aranha (Figura 67).

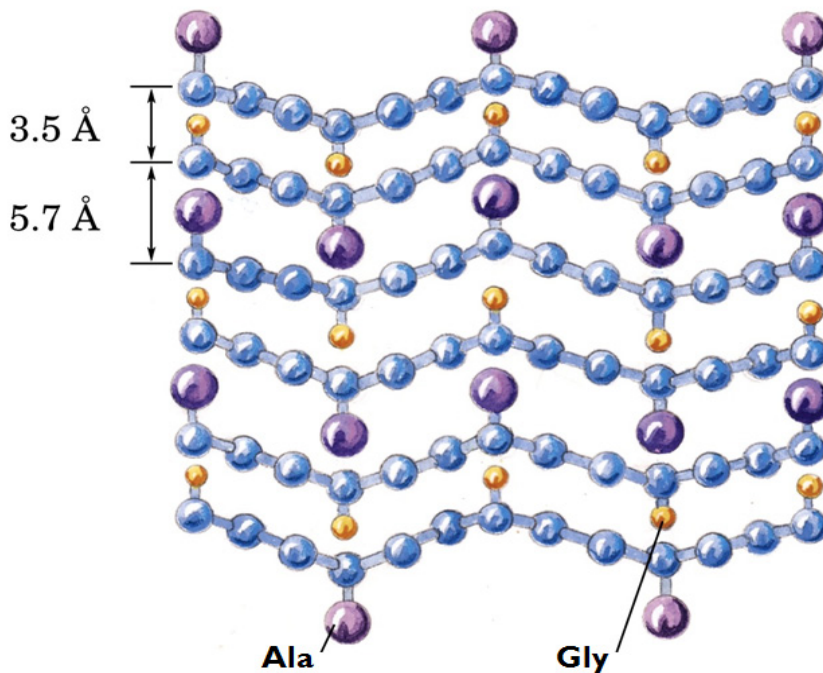


Figura 66 - Fibroína da seda.
 Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5ª. Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 125 e 128.

► Fibroína da Seda



Bicho da seda



Seda



Teia de Aranha



Aranha tecendo a teia

Figura 67 - Exemplos de fibroína da seda.
 Fonte: Fotomontagem feita pelo autor.
 NELSON, D. L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5ª. Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 128.

Proteínas globulares

As proteínas globulares apresentam grande diversidade de estruturas, sendo que todas têm em comum uma cadeia peptídica dobrada na forma esférica ou globular. As estruturas secundárias podem ser de vários tipos, mas as curvas sempre estão presentes, podendo ocupar até 1/3 dos aminoácidos. As solubilidade em água depende da disposição dos resíduos hidrofóbicos na molécula. Para a proteína globular ser solúvel em água é necessário que a cadeia lateral dos resíduos hidrofóbicos estejam voltadas para o interior da molécula e as cadeias laterais hidrofílicas voltadas para o exterior. Qualquer fator externo que perturbe esta disposição altera a solubilidade em água da proteína. As funções exercidas pelas proteínas globulares são mais amplas e variadas do que as proteínas fibrosas, podendo agir como enzimas, proteínas regulatórias, imunoglobulinas, proteínas de transporte, etc. A percentagem das estruturas secundárias varia muito, por exemplo, a quimotripsina apresenta 14% de hélice α e 45% de folha β , enquanto a mioglobina apresenta 78% de hélice α e 0% de folha β .

Um exemplo de proteína globular é a mioglobina. Ela é uma proteína pequena com $M = 16.700\text{g/mol}$ e 153 aminoácidos em sua cadeia peptídica (Figura 68). Além da cadeia peptídica ela possui um grupo prostético heme ligado a um resíduo de Hys (Figura 69). Sua estrutura é 78% hélice α , sendo o resto quase todo composto de curvas. Sua função é o transporte de O_2 nos músculos.

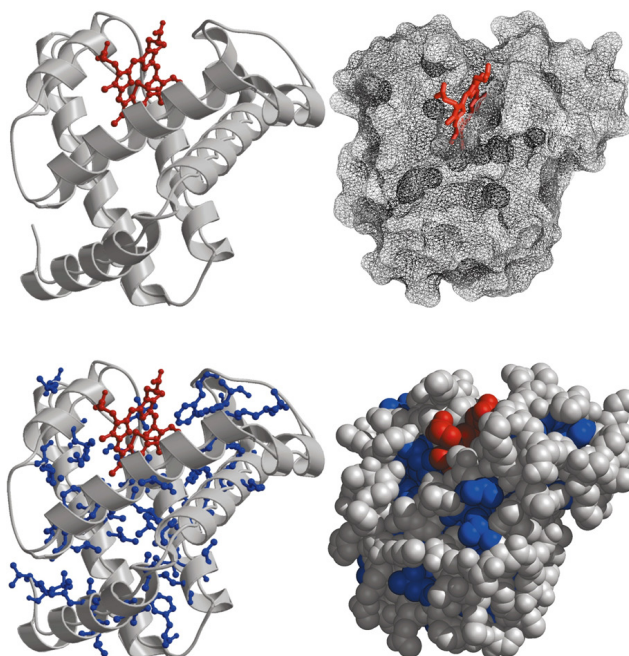


Figura 68 - Mioglobina.

Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5ª. Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 130.

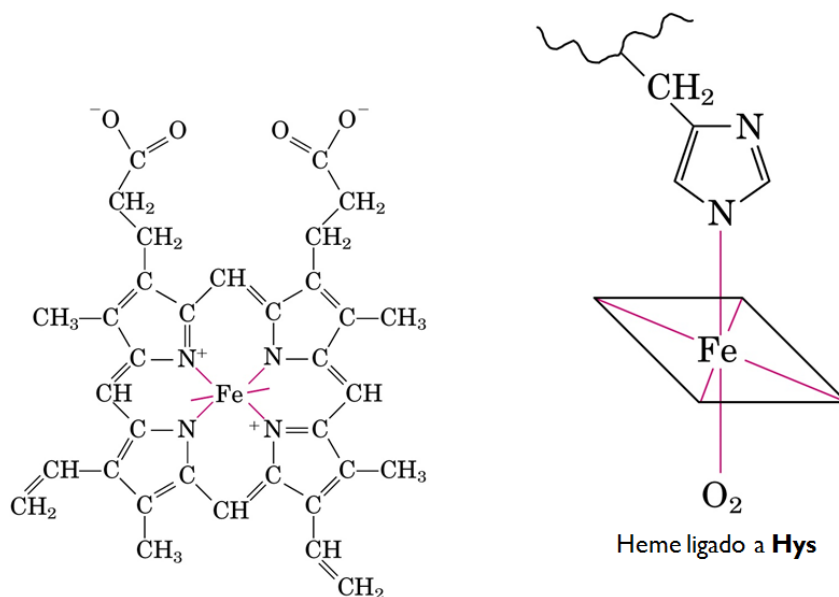


Figura 69 - Grupo heme ligado a Hys.

Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5ª. Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 130.

Estrutura Quaternária

Algumas vezes uma proteína pode ter mais de uma cadeia peptídica separada. Nestes casos a proteína apresenta estrutura quaternária. O número de cadeias peptídicas pode variar de duas a centenas. A maneira como essas cadeias estão arranjadas e interagem umas com as outras é chamado de estrutura quaternária. Uma proteína com muitas subunidades é chamada de multímero, com poucas subunidades é chamada de oligômero. Se alguma dessas unidades se repete ela é denominada de protômero.

A hemoglobina por exemplo, apresenta quatro cadeias peptídicas separadas sendo portanto um tetrâmero. Dessas cadeias duas se repetem, sendo dois protômeros α com 141 resíduos de aminoácidos e dois protômeros β com 146 resíduos de aminoácidos. A massa molar da hemoglobina é de 64.500g/mol e ela ainda apresenta quatro grupos heme em sua estrutura (Figura 70).

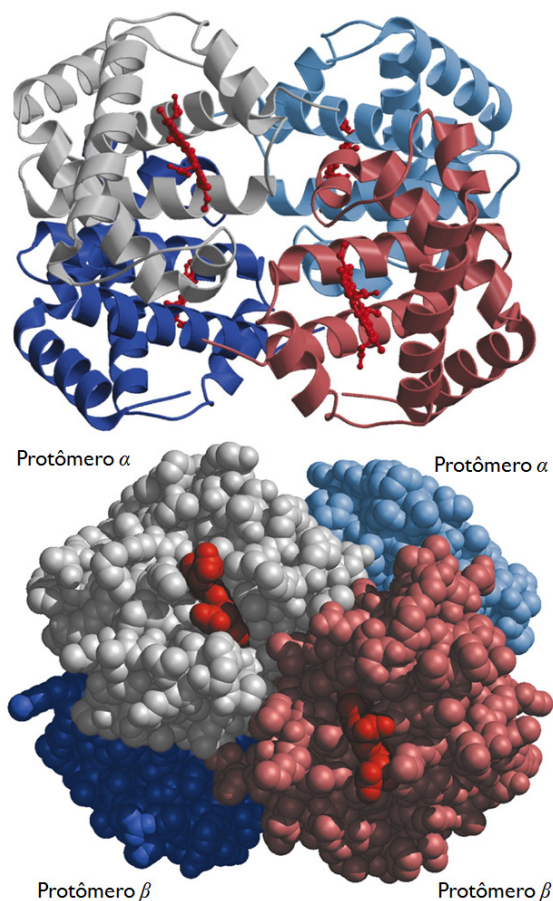


Figura 70 - Hemoglobina.
 Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger.
 5ª. Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 139.

Existe um motivo para as proteínas apresentarem várias cadeias peptídicas ou cadeias repetidas. Quando o corpo faz uma proteína ocorre um erro a cada 10.000 aminoácidos, por esse motivo proteínas muito grandes apresentariam um número maior de erros. Outro problema é que cada aminoácido é codificado por três nucleotídeos, ou seja, uma proteína muito grande implicaria num código genético muito grande e complexo. Por esse motivo, proteínas com mais de 100.000g/mol possuem várias subunidades ou protômeros. Um caso extremo são os vírus, que possuem código genético muito pequeno, nesse caso os protômeros podem se repetir inúmeras vezes. O vírus do mosaico do tabaco possui 2.130 subunidades iguais formando o seu capsídeo cilíndrico que protege o seu RNA (Figura 71).

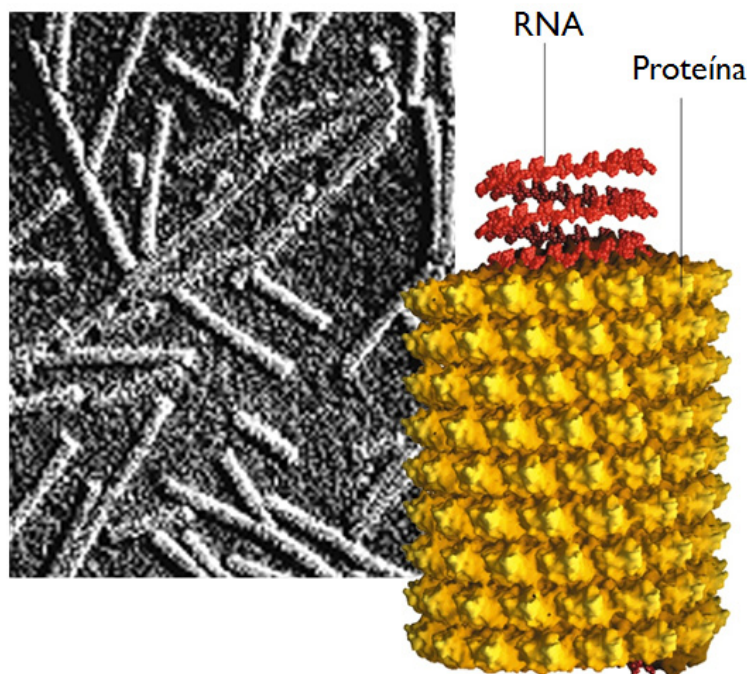


Figura 71 - Capsídeo do vírus do mosaico do tabaco.
Fonte: NELSON, D. L., COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5ª.
Ed. Artmed, Porto Alegre – RS, 2011. Pg. 140.

CONCLUSÃO

Os peptídeos e proteínas são moléculas fundamentais para o bom funcionamento dos organismos. Suas estruturas, apesar de apresentarem quatro graus de complexidade podem ser determinadas e estudadas. Conhecer as estruturas dos peptídeos e proteínas é o primeiro passo para entender o seu funcionamento.



RESUMO

Na aula de hoje aprendemos sobre como os aminoácidos se unem formando os peptídeos e proteínas. Vimos que as proteínas possuem estrutura primária, secundária, terciária e quaternária. Aprendemos como é feita a síntese de peptídeos e proteínas, e como é identificada a sua estrutura primária. Vimos os tipos de estrutura secundária e os fatores que determinam a estrutura secundária assumida pelo segmento protéico. Aprendemos sobre estrutura terciária, sobre as forças que controlam a maneira como a proteína se dobra. E por fim vimos que algumas proteínas apresentam estrutura quaternária, porque ela ocorre e como os segmentos protéicos interagem entre si.



AUTO-AVALIAÇÃO

- 1- Desenhe uma ligação peptídica: Porque uma ligação peptídica tem configuração trans e não cis?
- 2- Quais ligações num esqueleto peptídico podem girar livremente?
- 3- O que é uma ligação dissulfeto? Qual a importância dela para a estrutura de uma proteína?
- 4- Proponha uma síntese para o tripeptídeo Ala-Pro-Cys?
- 5- Um nonapeptídeo sofre hidrólise ácida parcial gerando os fragmentos abaixo. O peptídeo intacto reage com o reagente de Edman dando PTH-Leu. Qual a seqüência de aminoácidos no peptídeo?
 - a) Pro, Ser.
 - b) Gly, Glu.
 - c) Met, Ala, Leu.
 - d) Gly, Ala.
 - e) Glu, Ser, Val, Pro.
 - f) Glu, Pro, Gly.
 - g) Met, Leu.
 - h) His, Val.
- 6- Qual a seqüência de aminoácidos num polipeptídeo, sabendo-se que: A hidrólise ácida total fornece Ala, Arg, His, 2 Lys, Leu, 2 Met, Pro, 2 Ser, Thr e Val. A carboxipeptidase A libera Val. O reagente de Edman libera PTH-Leu. A quebra com brometo de cianogênio produz três fragmentos: a) His, Lys, Met, Pro, Ser; b) Thr, Val; c) Ala, Arg, Leu, Lys, Met, Ser. A tripsina fornece quatro fragmentos: a) Arg, Leu, Ser; b) Met, Pro, Ser, Thr, Val; c) Lys; d) Ala, His, Lys, Met.
- 7- Quais os tipos mais comuns de estrutura secundária?
- 8- O que é uma estrutura secundária?
- 9- Por que a pro é incompatível com a hélice α ?
- 10- Qual seria a estrutura secundária se os aminoácidos não tivessem cadeia lateral? Justifique:
- 11- Por que a folha pregueada β só comporta aminoácidos pequenos?
- 12- Qual a importância das curvas β ?
- 13- Quais os tipos de estrutura terciária?
- 14- Por que a curvas β podem ser até 1/3 dos aminoácidos das proteínas globulares, mas quase não existem nas fibrosas?
- 15- Cite um exemplo de proteína fibrosa e de proteína globular:
- 16- A clara de ovo contém albumina, que é solúvel em água. Que tipo de proteína a albumina deve ser, fibrosa ou globular? Justifique: Explique como uma proteína pode ser solúvel em água:

17- O que é uma estrutura quaternária? Por que nem todas as proteínas tem estrutura quaternária?

18- Por que o vírus do mosaico do tabaco possui estrutura quaternária em seu capsídeo? Justifique:



PRÓXIMA AULA

Na próxima aula, vamos aprender a trabalhar com aminoácidos, peptídeos e proteínas em laboratório.

REFERÊNCIAS

BRUICE, P. Y. **Química Orgânica**. 4^a. Ed. Pearson Prentice e Hall, São Paulo – SP, 2006. Vol. 2. capítulo 23,

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**, 5^a. Edição, Artmed, Porto Alegre – RS, 2011, capítulos 3 e 4.

CAREY, F. A. **Química Orgânica**, Vol 2, 7^a. Edição, AMGH Editora Ltda, 2011, capítulo 27.

SOLOMONS, T. W. G., FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**, Vol 2, 9^a. Edição, LTC, Rio de Janeiro – RJ, 2009, capítulo 24.