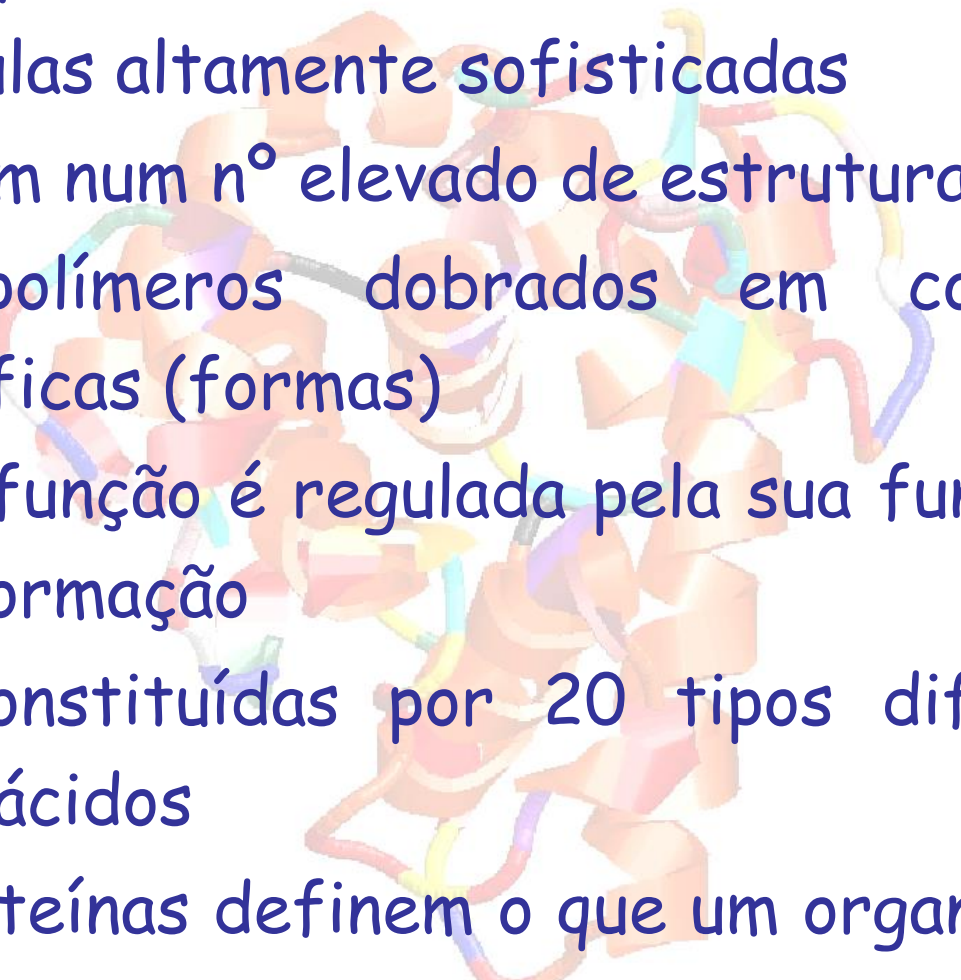


PROTEÍNAS

As **proteínas** são biomoléculas formadas essencialmente por carbono, hidrogénio, oxigénio e azoto. Podem também ter enxofre, fósforo, ferro ou cobre.

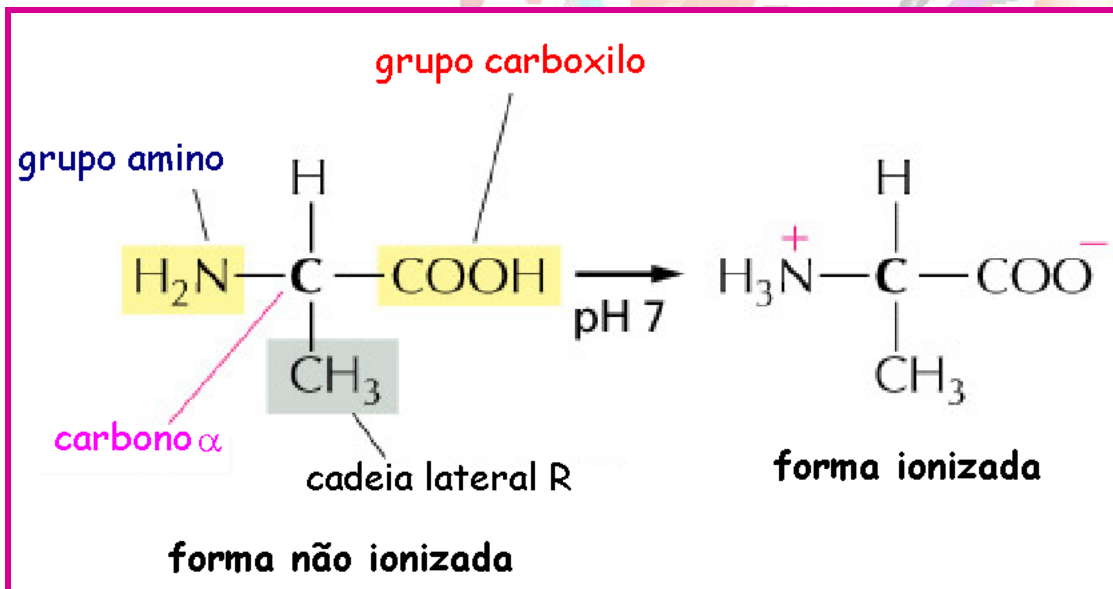


- 
- Constituintes principais da maioria das células (>50% peso seco)
 - Moléculas altamente sofisticadas
 - Existem num nº elevado de estruturas únicas
 - São polímeros dobrados em conformações específicas (formas)
 - A sua função é regulada pela sua função química e conformação
 - São constituídas por 20 tipos diferentes de amino-ácidos
 - As proteínas definem o que um organismo é, qual o seu aspecto e como se comporta

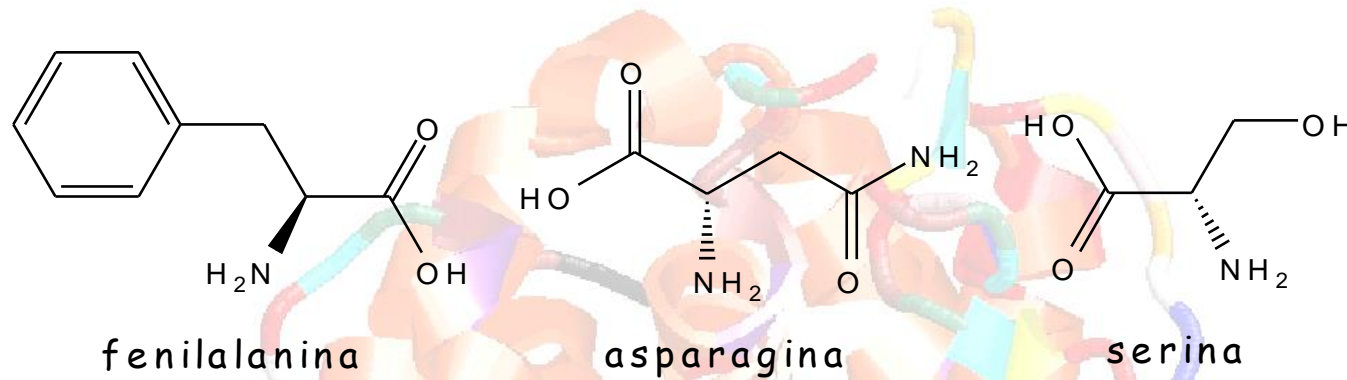
NÓS SOMOS AS NOSSAS PROTEÍNAS

São formadas a partir de pequenas moléculas- os **aminoácidos** (aa). Estes estão unidos por ligações a que se dá o nome de **ligações peptídicas**.

Os aminoácidos possuem um **grupo carboxilo** (-COOH) e um **grupo amino** (-NH₂).



Existem 20 aminoácidos naturais

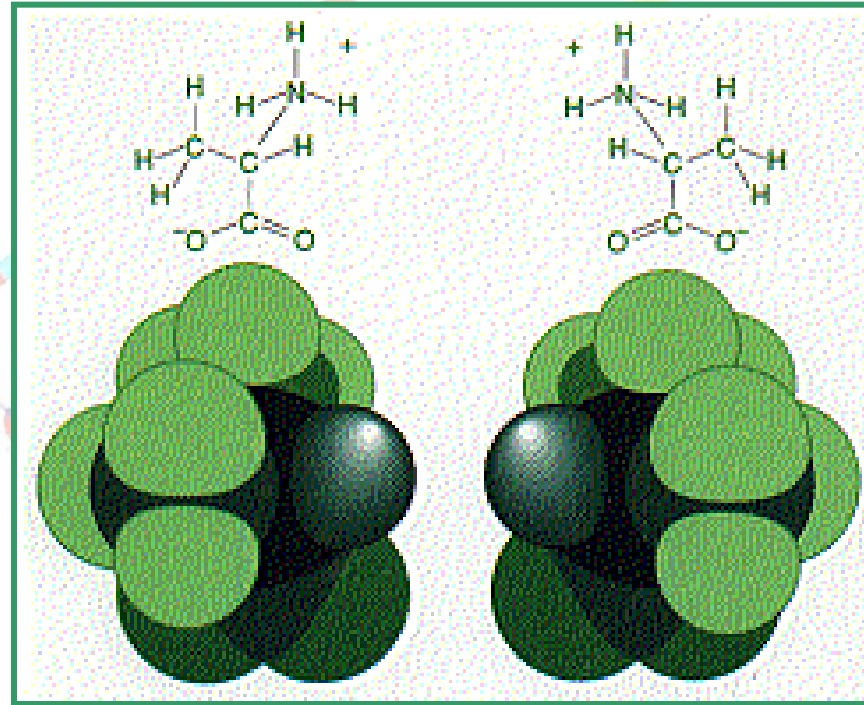


A versatilidade química dos a.a. é determinante para a sua função na proteína.

União de amino ácidos:

- **péptido** (até 50 aminoácidos)
- **proteína** > 50 aminoácidos

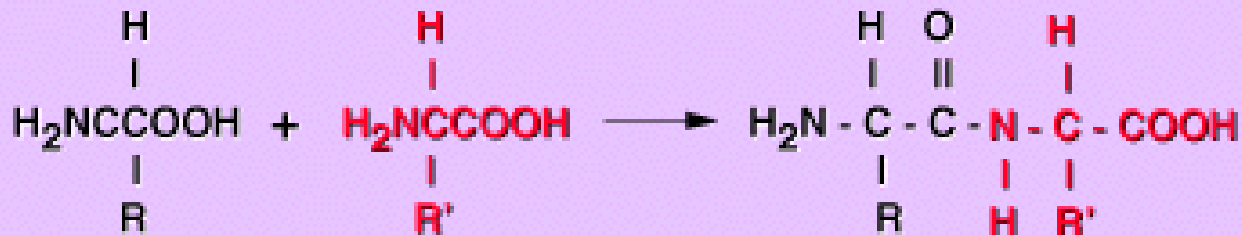
Os aminoácidos biológicos são todos da série L

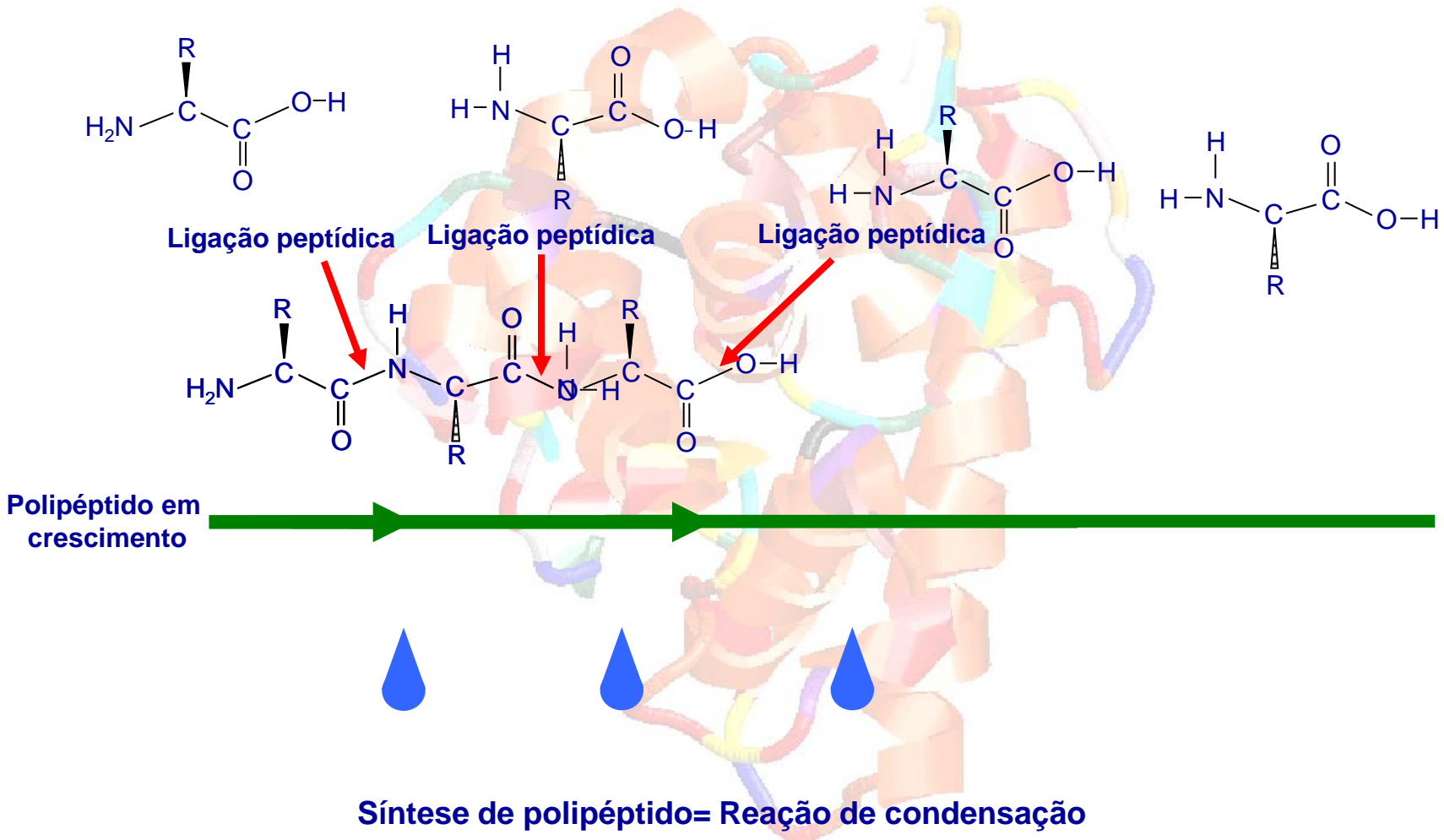


Execpção: as paredes celulares das bactérias possuem D-alanina- os antibióticos β -lactamas inibem a sua síntese.

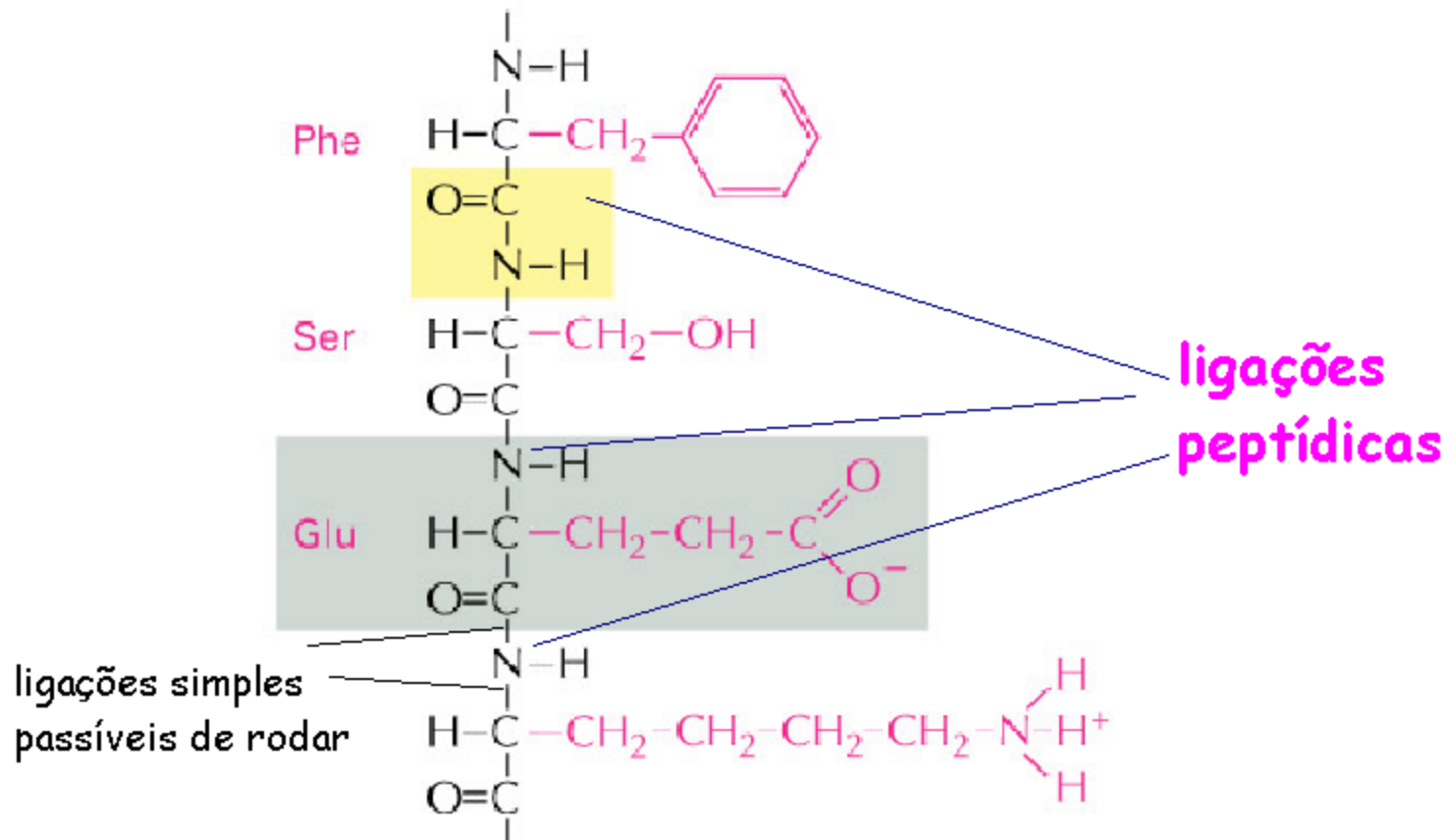
Os péptidos e proteínas são formados pela união de aminoácidos através da **ligação peptídica**.

Ligação peptídica: ligação covalente entre um grupo carboxilo de um aminoácido e um grupo amino de outro, com formação de uma molécula de água (condensação).





terminal N da cadeia peptídica



terminal C da cadeia peptídica

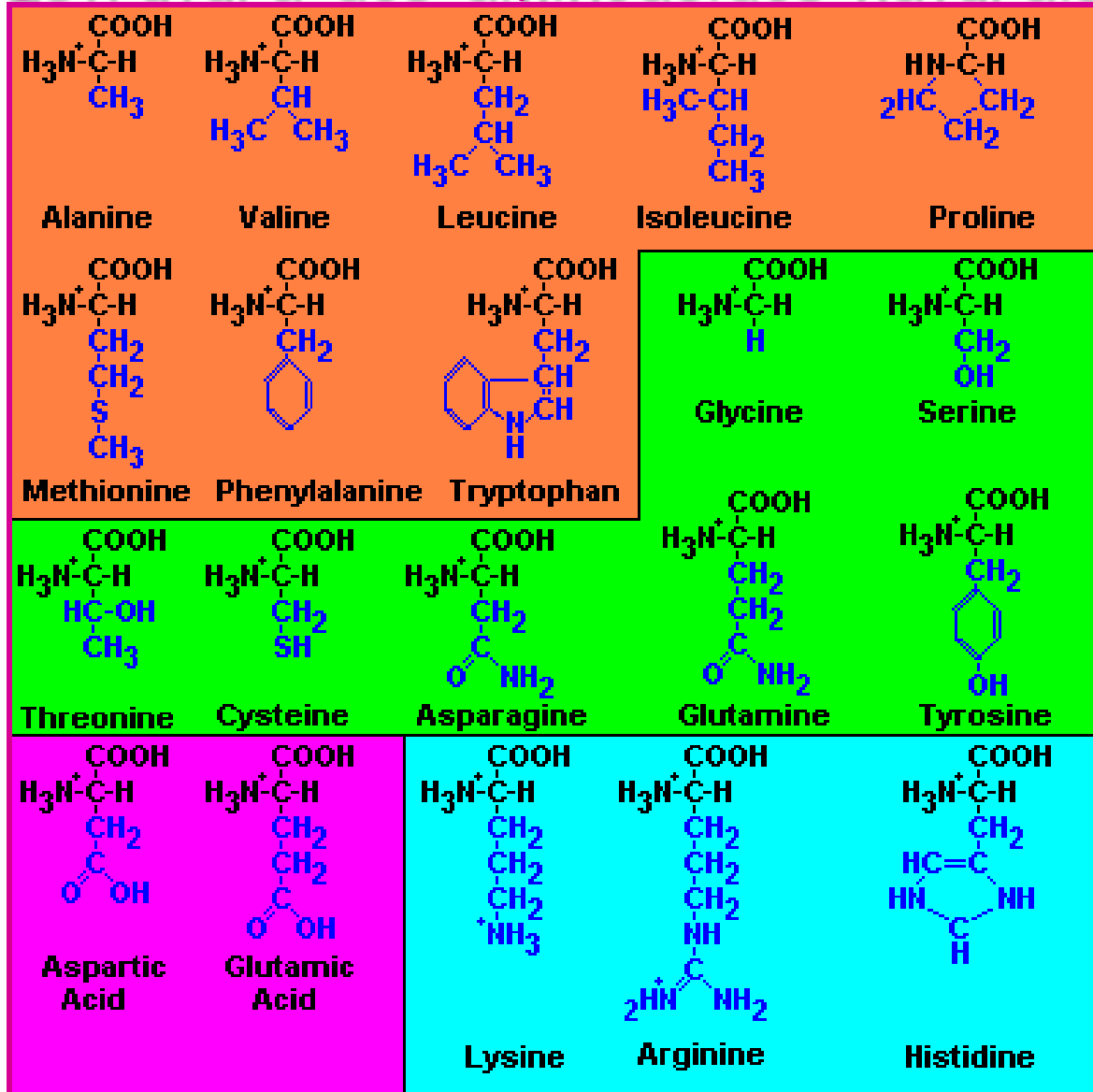
As **cadeias laterais (grupos R)** ligados ao carbono α dão aos aminoácidos as suas características únicas:

- polaridade
- carga
- hidrofobicidade
- reactividade química

Aminoácidos hidrófobos tendem a residir essencialmente no interior da proteína: não ionizam nem formam ligações por ponte de hidrogénio.

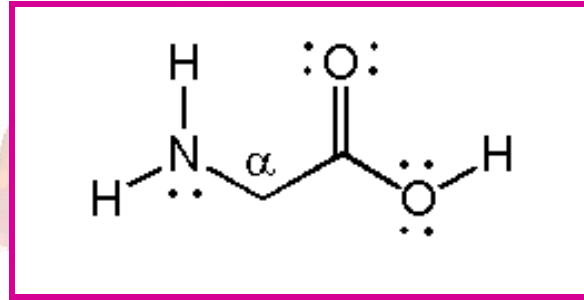
Aminoácidos hidrofílicos tendem a interactivar com o meio exterior da proteína: formam ligações por ponte de hidrogénio.

Estrutura dos aminoácidos naturais



castanho = aminoácidos hidrófobos; verde = aminoácidos polares;
 rosa = aminoácidos ácidos; turquesa = aminoácidos básicos

Os grupos α -COOH e α -NH₂ podem sofrer ionização estabelecendo-se o seguinte equilíbrio:



O ácido carboxílico é muito mais ácido do que o grupo NH₃⁺.

A pH fisiológico (7.4) o grupo carboxílico está desprotonado e a amina protonada- esta espécie chama-se zwitteriônica

A ESTRUTURA DA PROTEÍNA DETERMINA A FUNÇÃO



A **sequência** e o **tipo de aminoácidos**, e a **estrutura tridimensional** que a proteína adota condiciona a sua função.

As proteínas desempenham nas células quase todos os papéis.



Enzimas

Catalisam a quebra ou formação de ligações covalentes nas células

Ex: Triptofano sintetase, Pepsina, DNA polimerase, proteína cinase

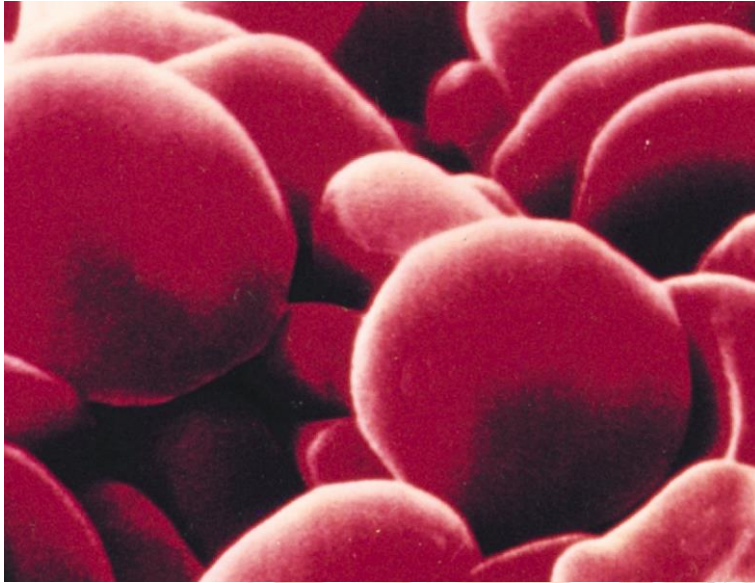


Proteínas estruturais

Asseguram o suporte mecânico às células e tecidos

Componentes da matriz extracelular e em tendões e ligamentos; microtúbulos e filamentos no interior da célula.

Ex: Colagénio, elastina, tubulina, actina, α -queratina



Proteínas de transporte

Transportam pequenas moléculas ou iões

Proteínas do sangue, das membranas celulares, ...

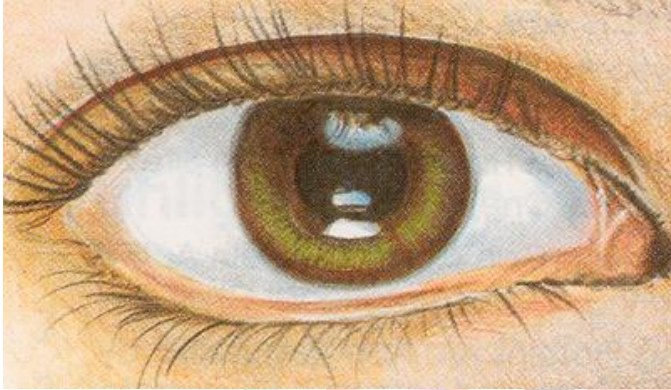
Ex: Bacteriorodopsina, transportadores de glucose, bomba de Cálcio, ...



Proteínas de sinalização

Responsáveis pela sinalização célula-célula

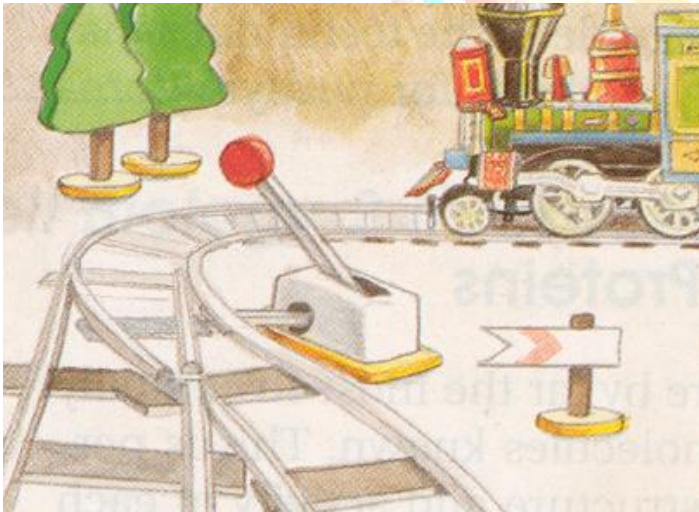
Ex: Hormonas, Neurotransmissores, factor de crescimento da epiderme (EGF), ...



Receptores

Detecta sinais na membrana e transmite-os à maquinaria celular

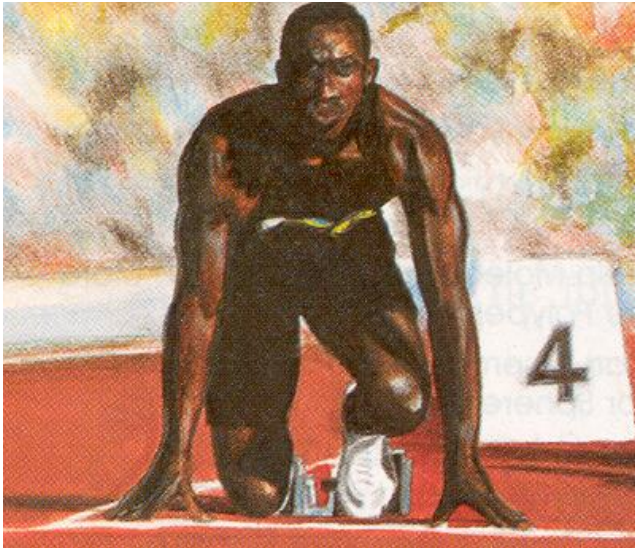
Ex: Rodopsina, receptor de acetilcolina, receptor da insulina, ...



Proteínas de regulação génica

Ligam-se ao DNA para ligar/desligar a expressão dos genes

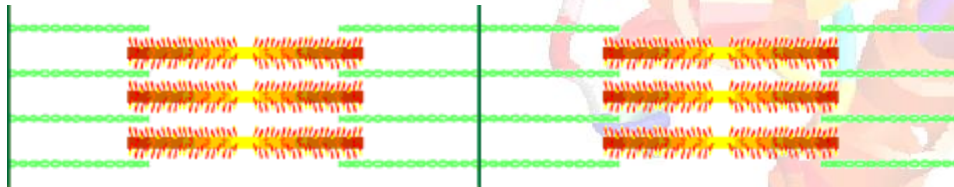
Ex: Repressor da lactose,



Proteínas motoras

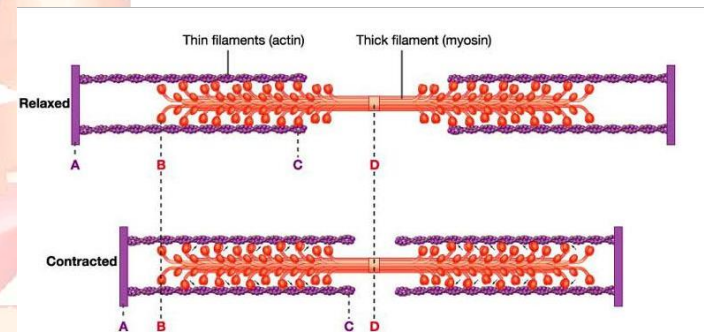
Produzem movimento nas células e tecidos

Ex: Miosina e actina no músculo esquelético,



Miosina (vermelho) e actina filaments (verde) na contração muscular.

Quando há energia (ATP) a miosina move-se levando com ela a actina





Funções específicas

Altamente variáveis

Ex: Proteínas anti-
congelantes, GFP (Green
Fluorescent Protein),
Proteínas-*Cola*

Os níveis de organização de uma proteína designam-se por **estruturas**:

➤ **Estrutura primária**- sequência de aminoácidos na cadeia polipeptídica

➤ **Estrutura secundária**- arranjo espacial ou **conformação** ("folding") de segmentos relativamente curtos da cadeia polipeptídica

➤ **Estrutura terciária**- reflecte o modo como os elementos da estrutura secundária se arranjam uns com os outros.

➤ **Estrutura quaternária**- refere-se à organização de diferentes sub- unidades ou monómeros de uma proteína complexa.

ESTRUTURA DAS PROTEÍNA

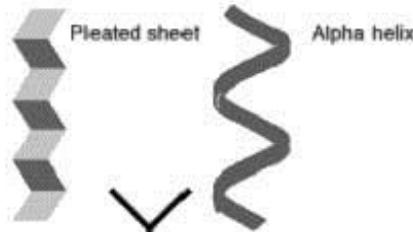
ESTRUTURA

Primária



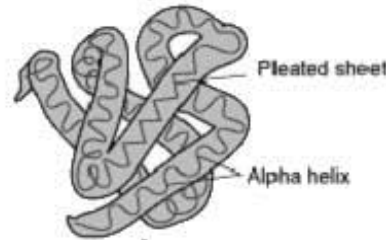
Formação

Secundária



"Folding"

Terciária



Empacotamento

Quaternária



Interação

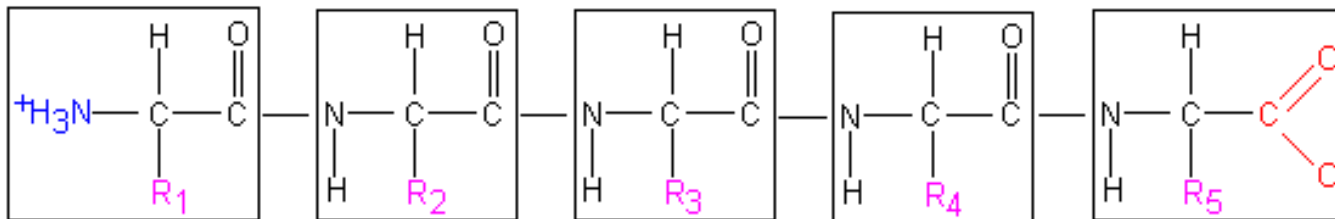
PROCESSO

A estrutura primária condiciona todas as outras

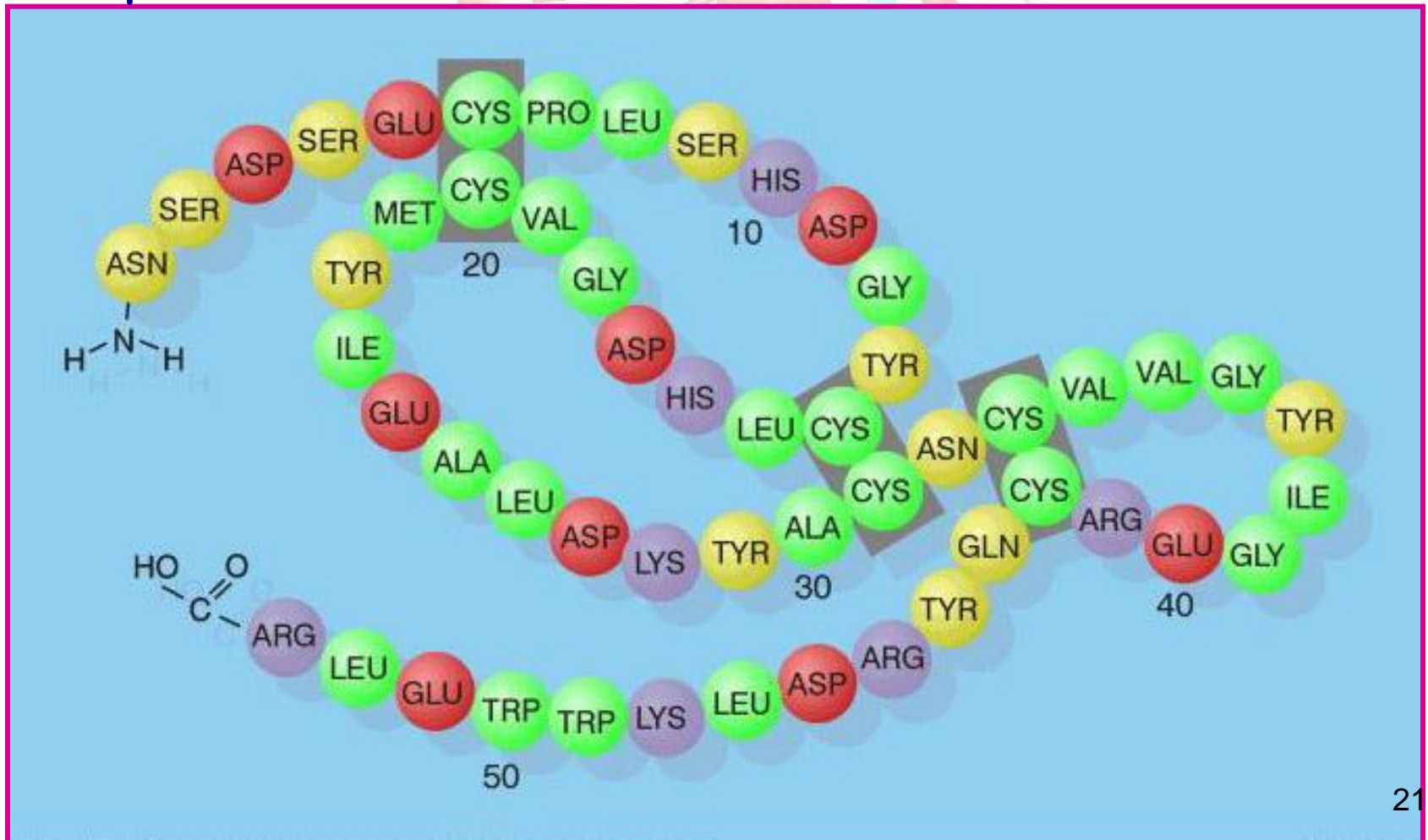
ESTRUTURA PRIMÁRIA - sequência específica de aminoácidos da proteína definida pela informação genética da célula.

- número de aminoácidos;
- natureza dos aminoácidos;
- sequência de aminoácidos.

Estrutura primária da proteína



A sequência de aminoácidos é o elo entre a mensagem genética no DNA e a estrutura tridimensional que executa a função biológica de uma proteína.

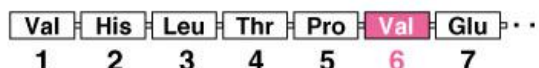
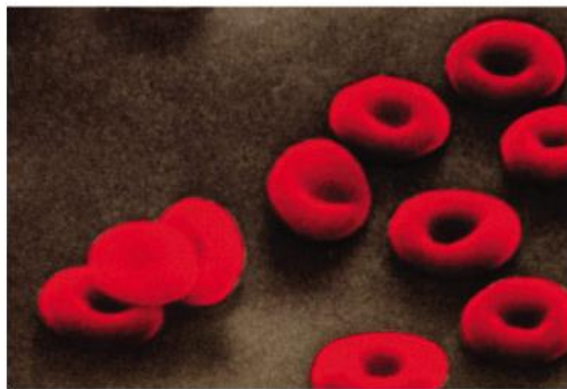


Importância da sequência de aminoácidos:

- O conhecimento da sequência de uma proteína é muito útil para a elucidação de seu mecanismo de acção.
- A sequência de uma proteína revela muito sobre sua história evolutiva (as proteínas só se assemelham umas às outras, em sequência de aminoácidos, se tiverem um ancestral comum)
- A determinação da sequência faz parte da patologia molecular. Alterações na sequência dos aminoácidos podem produzir funções anormais e doenças.

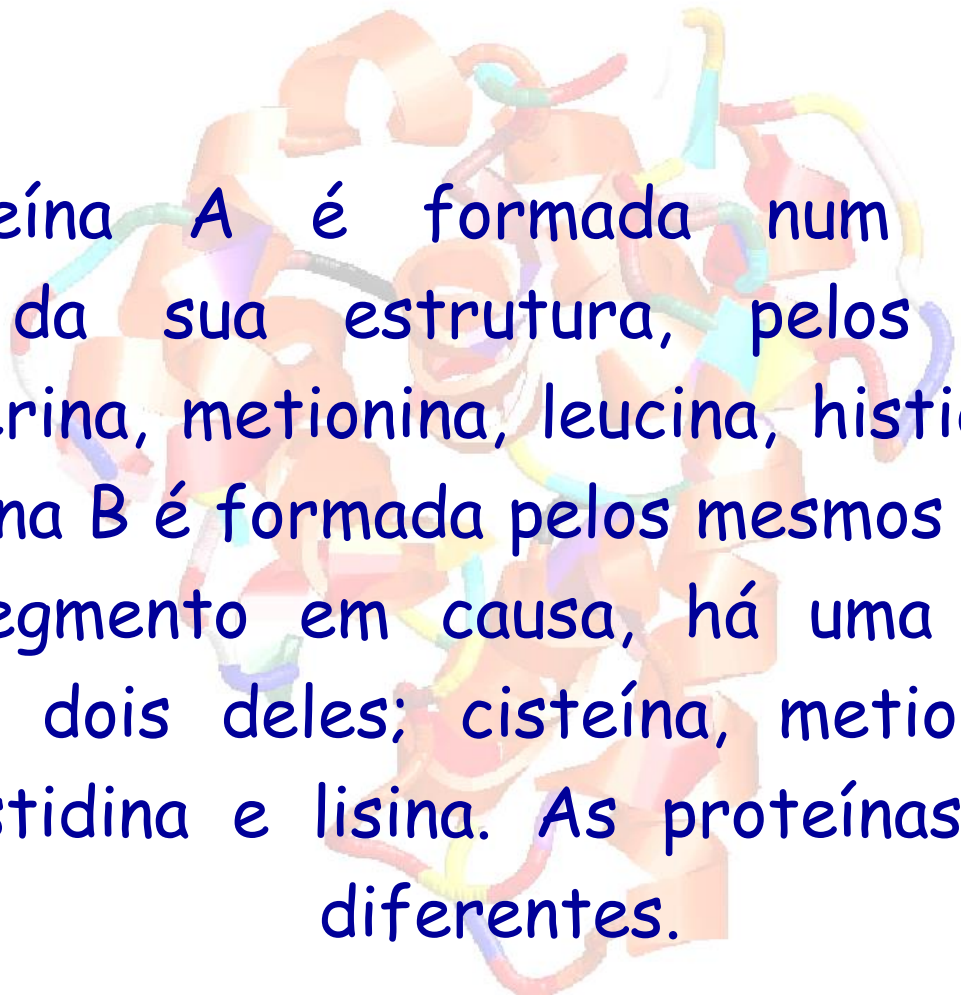
A anemia falciforme é uma doença genética hereditária, provocada pela "substituição errada" de um aminoácido na estrutura primária da hemoglobina.

Causa má formação das hemácias, que assumem forma semelhante a foices, o que causa deficiência do transporte de gases nos indivíduos portadores da doença.



A estrutura primária de uma proteína é destruída por hidrólise química ou enzimática das ligações peptídicas, com libertação de péptidos menores e aminoácidos livres.

A insulina foi a primeira proteína cuja sequência de aminoácidos foi conhecida (Frederick Sanger, em 1953, mostrou pela primeira vez que uma proteína tem uma sequência de aminoácidos precisamente definida).



Uma proteína A é formada num determinado segmento da sua estrutura, pelos aminoácidos cisteína, serina, metionina, leucina, histidina e lisina. Uma proteína B é formada pelos mesmos aminoácidos, mas, no segmento em causa, há uma inversão na posição de dois deles; cisteína, metionina, serina, leucina, histidina e lisina. As proteínas A e B são diferentes.

Number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Human	G	L	S	D	G	E	W	Q	L	V	L	N	V	W	G
Whale	V	L	S	E	G	E	W	Q	L	V	L	H	V	W	A

Number	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Human	K	V	E	A	D	I	P	G	H	G	Q	E	V	L	I
Whale	K	V	E	A	D	V	A	G	H	G	Q	D	I	L	I

Number	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
Human	R	L	F	K	G	H	P	E	T	L	E	K	F	D	K
Whale	R	L	F	K	S	H	P	E	T	L	E	K	F	D	R

Number	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
Human	F	K	H	L	K	S	E	D	E	M	K	A	S	E	D
Whale	F	K	H	L	K	T	E	A	E	M	K	A	S	E	D

Number	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
Human	L	K	K	H	G	A	T	V	L	T	A	L	G	G	I
Whale	L	K	K	H	G	V	T	V	L	T	A	L	G	A	I

Number	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
Human	L	K	K	K	G	H	H	E	A	E	I	K	P	L	A
Whale	L	K	K	K	G	H	H	E	A	E	L	K	P	L	A

Number	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
Human	Q	S	H	A	T	K	H	K	I	P	V	K	Y	L	E
Whale	Q	S	H	A	T	K	H	K	I	P	I	K	Y	L	E

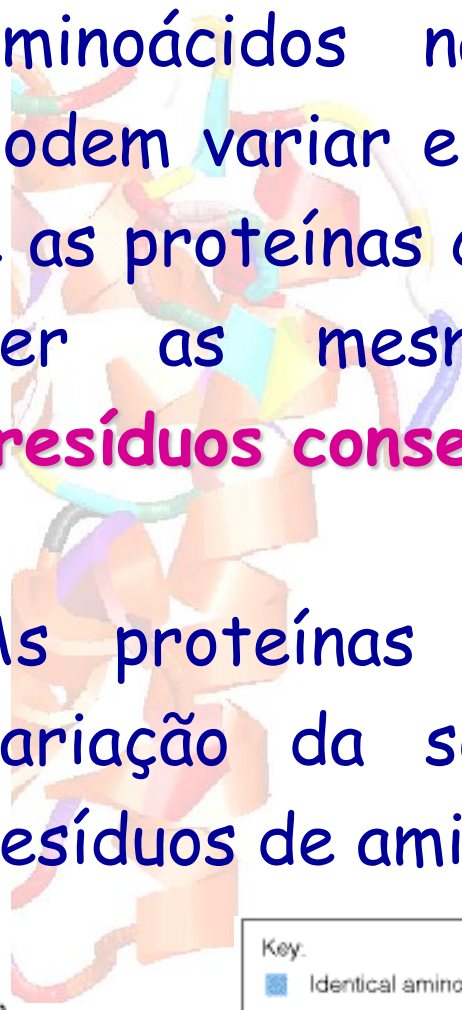
Number	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
Human	F	I	S	E	C	I	I	Q	V	L	Q	S	K	H	P
Whale	F	I	S	E	A	I	I	H	V	L	H	S	R	H	P

Number	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135
Human	G	D	F	G	A	D	A	Q	G	A	M	N	K	A	L
Whale	G	N	F	G	A	D	A	Q	G	A	M	N	K	A	L

Number	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153
Human	E	L	F	R	K	D	M	A	S	N	Y	K	E	L	G	F	Q	G
Whale	E	L	F	R	K	D	I	A	A	K	Y	K	E	L	G	Y	Q	G

As sequências de resíduos de aminoácidos nas proteínas podem variar entre espécies e as proteínas continuarem a ter as mesmas funções (resíduos conservativos)

As proteínas evoluem por variação da sequência dos resíduos de aminoácidos

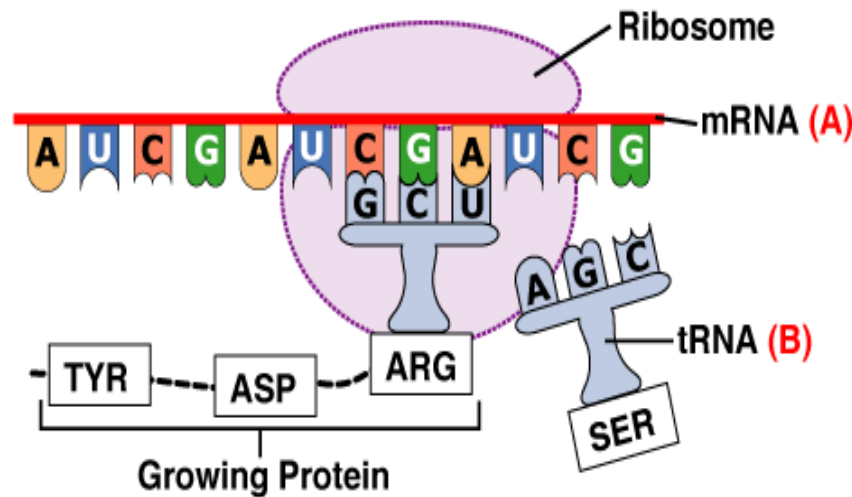
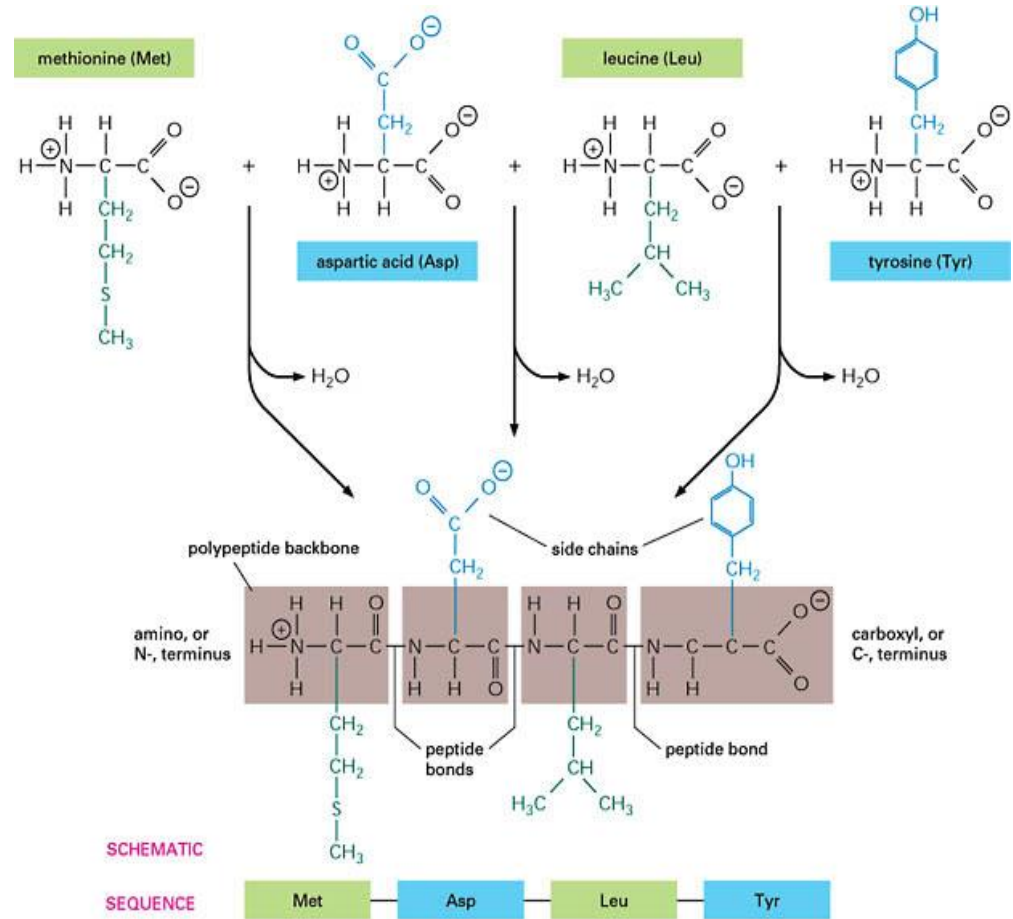


Key:

- Identical amino acids
- Conservative substitutions
- Nonconservative substitutions

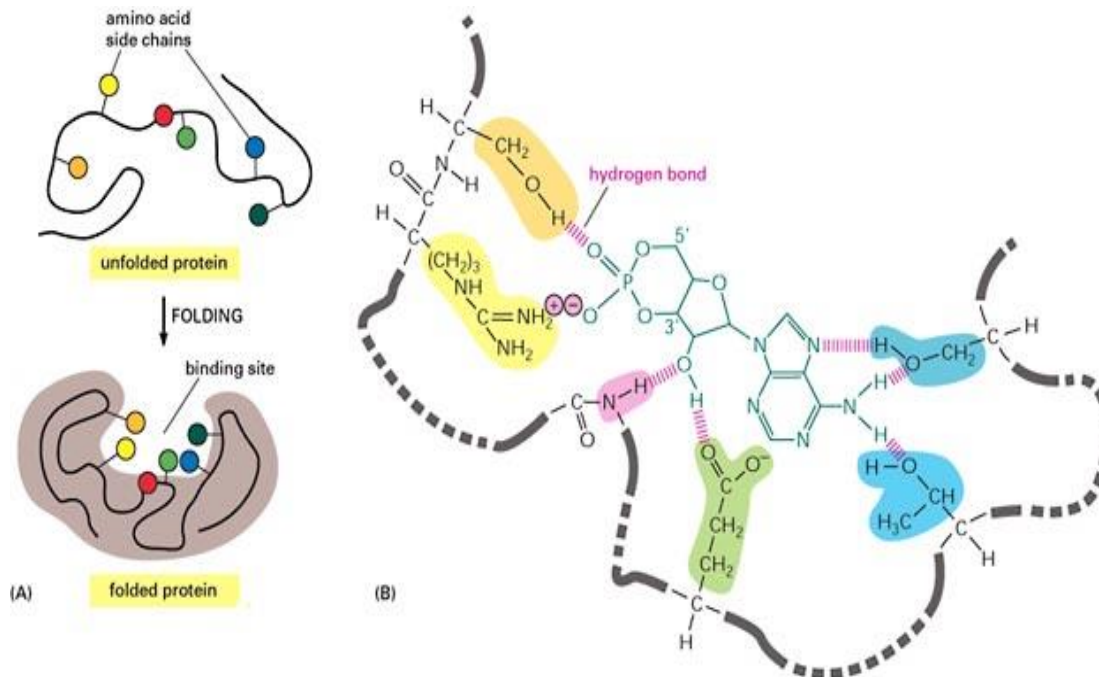
CONSTRUÇÃO DAS PROTEÍNAS

- Ocorre no ribossoma
- Envolve polimerização dos aa transportados pelo tRNA



"Folding" da proteína

- Ocorre no citossol
- Envolve interação espacial entre os vários elementos da estrutura primária, dando origem à estrutura secundária



ESTRUTURA SECUNDÁRIA - É dada pelo arranjo espacial de aminoácidos próximos entre si na sequência primária da proteína.

É o último nível de organização em algumas proteínas fibrosas, que são estruturalmente mais simples

Ocorre entre outras coisas graças à possibilidade de rotação das ligações entre os carbonos α dos aminoácidos e seus grupos amina e carboxilo.

O arranjo secundário de uma proteína pode ocorrer de forma regular

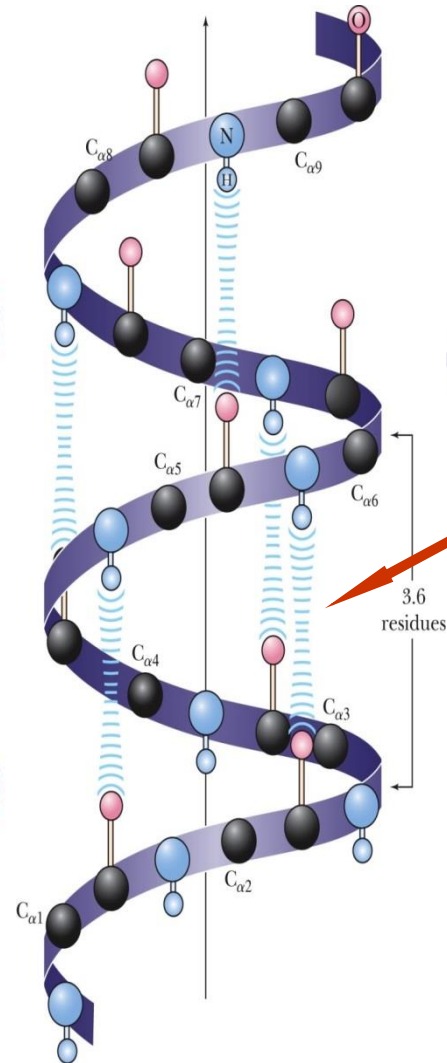
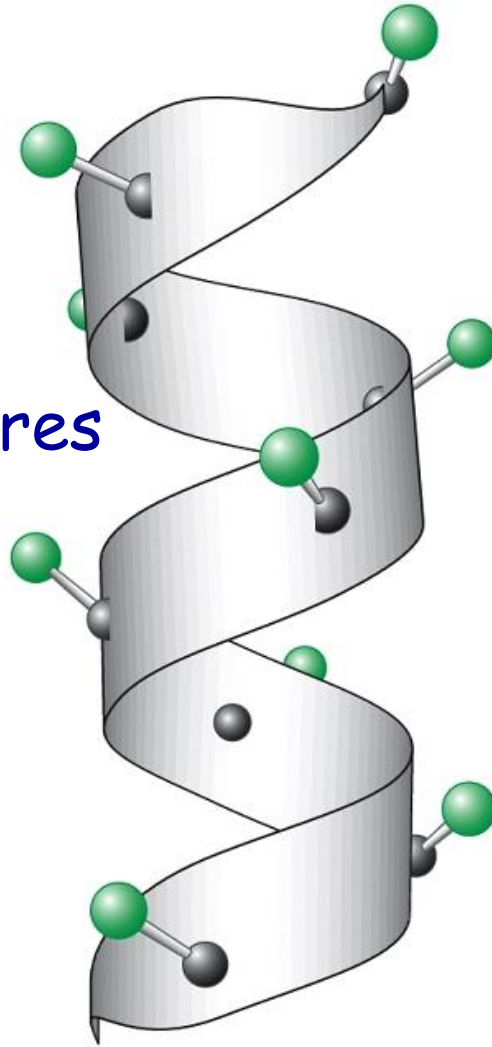
α - HÉLICE: (é a mais comum)

Caracteriza-se por:

- uma hélice em espiral formada por 3,6 resíduos de aminoácidos por volta
- pelo arranjo das cadeias laterais dos aminoácidos em forma de hélice, evitando assim o impedimento estereoquímico
- por ser estabilizada por ligações por ponte de hidrogénio e por interações hidrofóbicas.

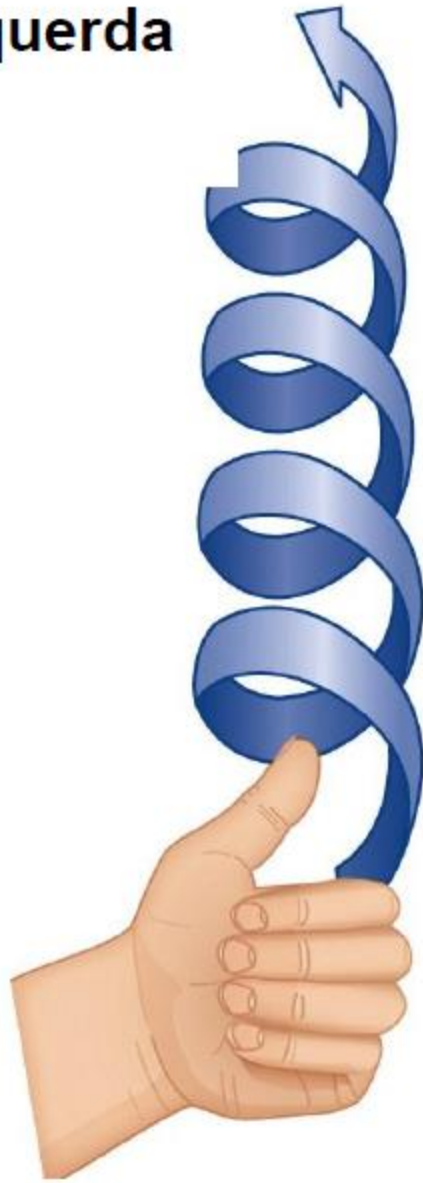
α - Hélice:

Cadeias laterais apolares

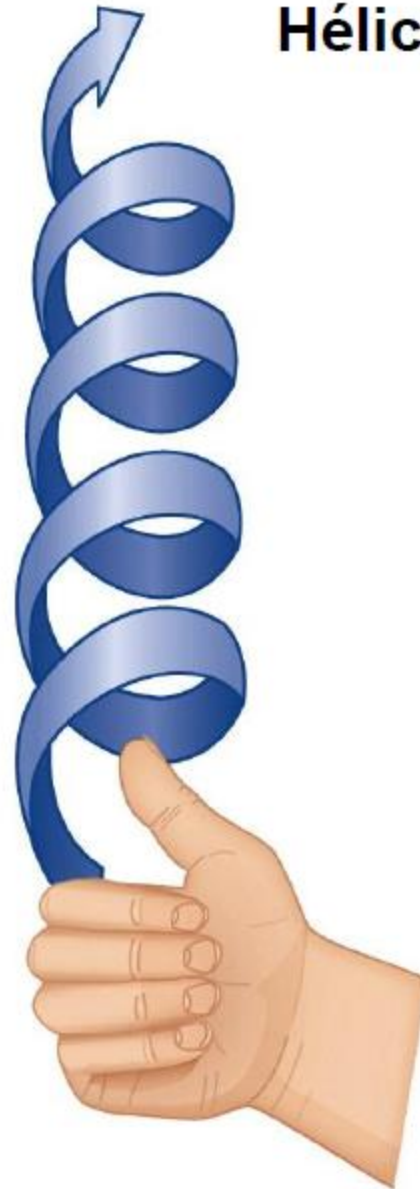


Pontes de hidrogénio

Hélice esquerda



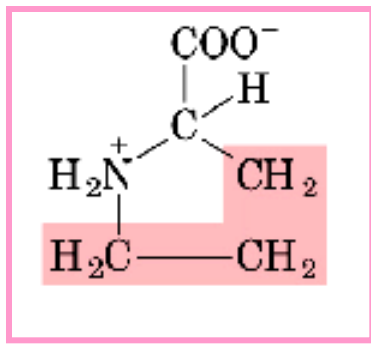
Hélice direita



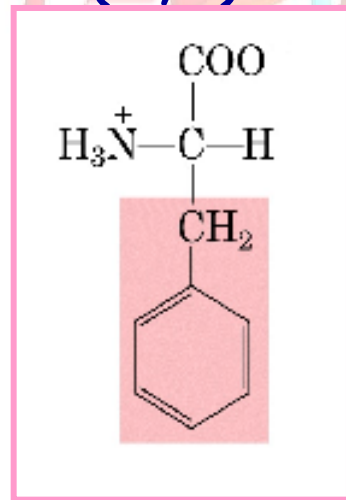
Alguns aminoácidos não podem adoptar os requisitos de formação de **Hélice α**

➤ Cadeias laterais muito volumosas em resíduos consecutivos destabilizam a **hélice α** *i.e.* prolina (1) e fenilalanina (2).

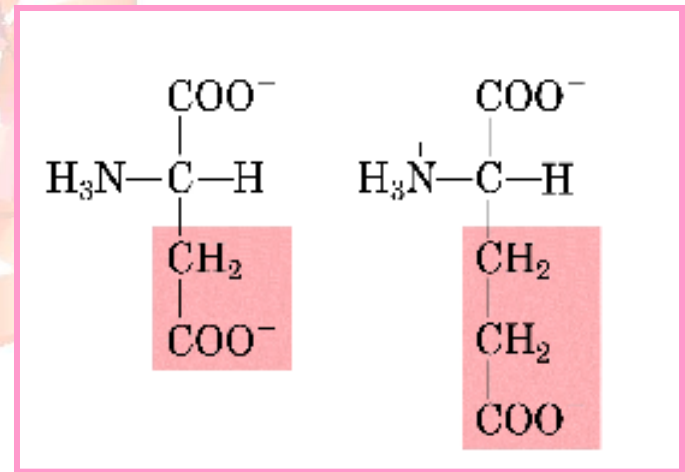
➤ Aminoácidos carregados com o mesmo sinal em resíduos consecutivos destabilizam a hélice- α , *i.e.* arginina e glutamina (3,4).



1



2

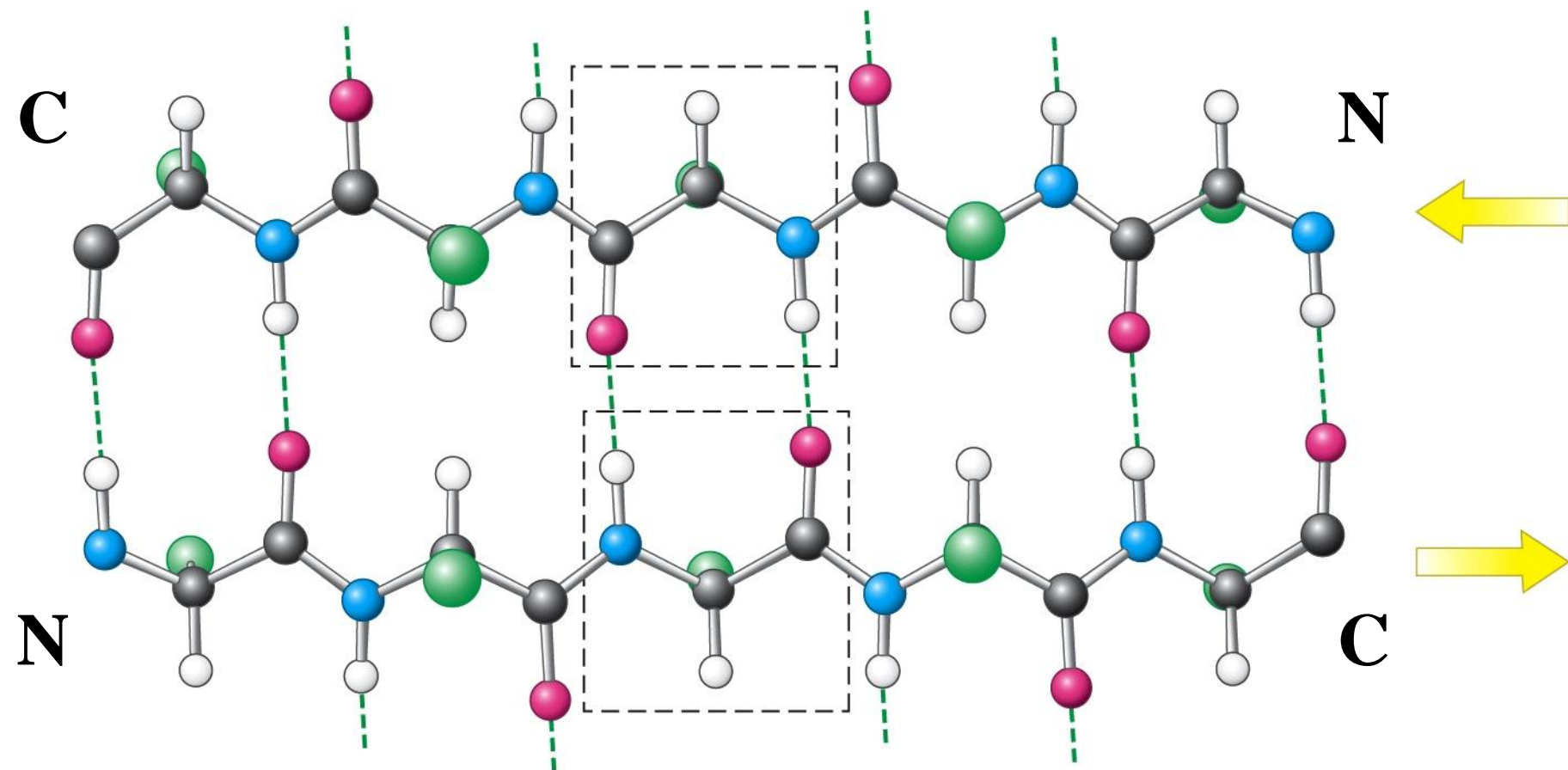


3 e 4

CONFORMAÇÃO- β (folha pregueada ou estrutura – β)– Envolve 2 ou mais segmentos polipeptídicos da mesma molécula arranjados em paralelo ou no sentido anti- paralelo.

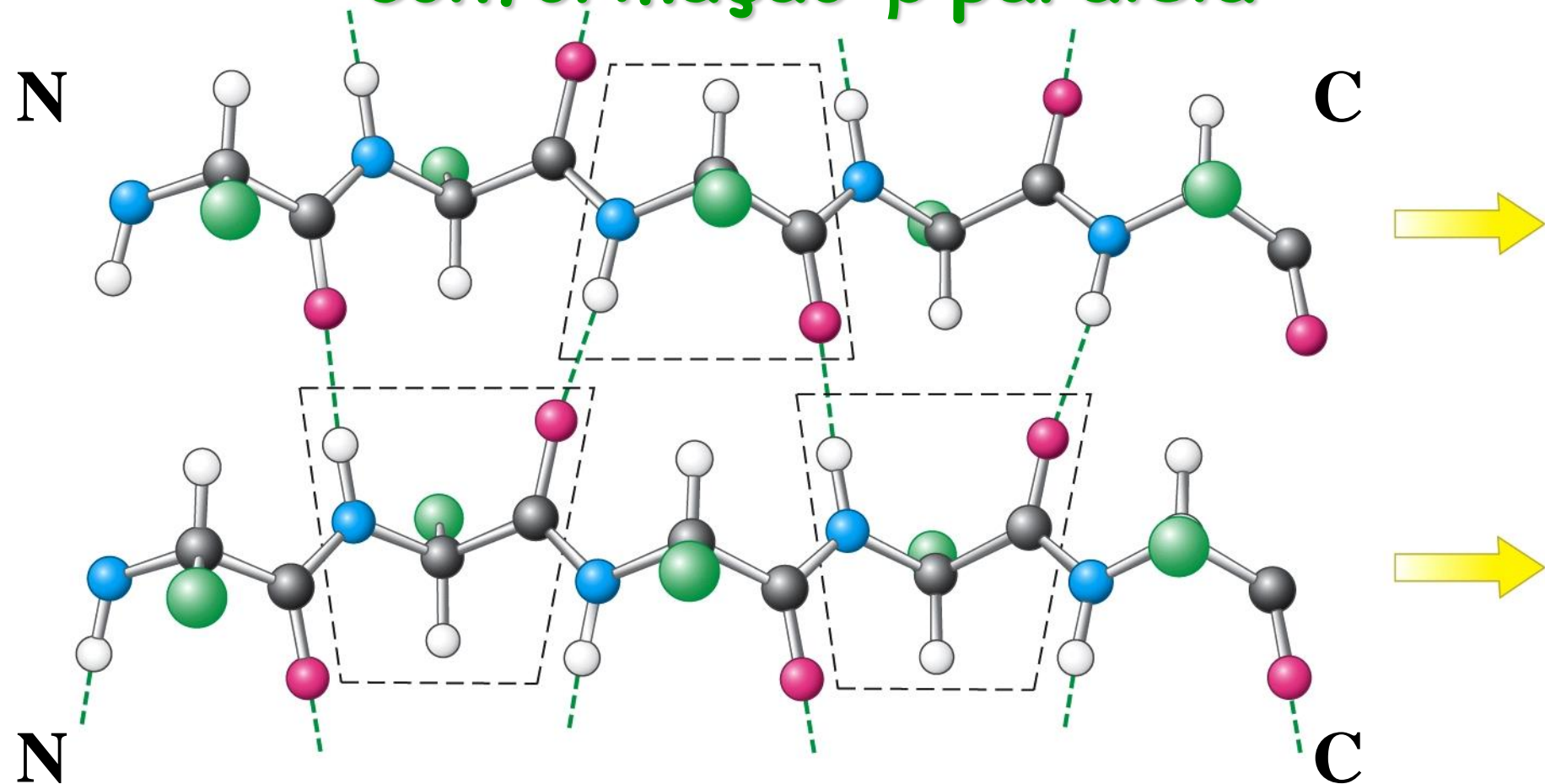
Os segmentos em **conformação- β** da proteína adquirem um aspecto de uma folha de papel dobrada em pregas

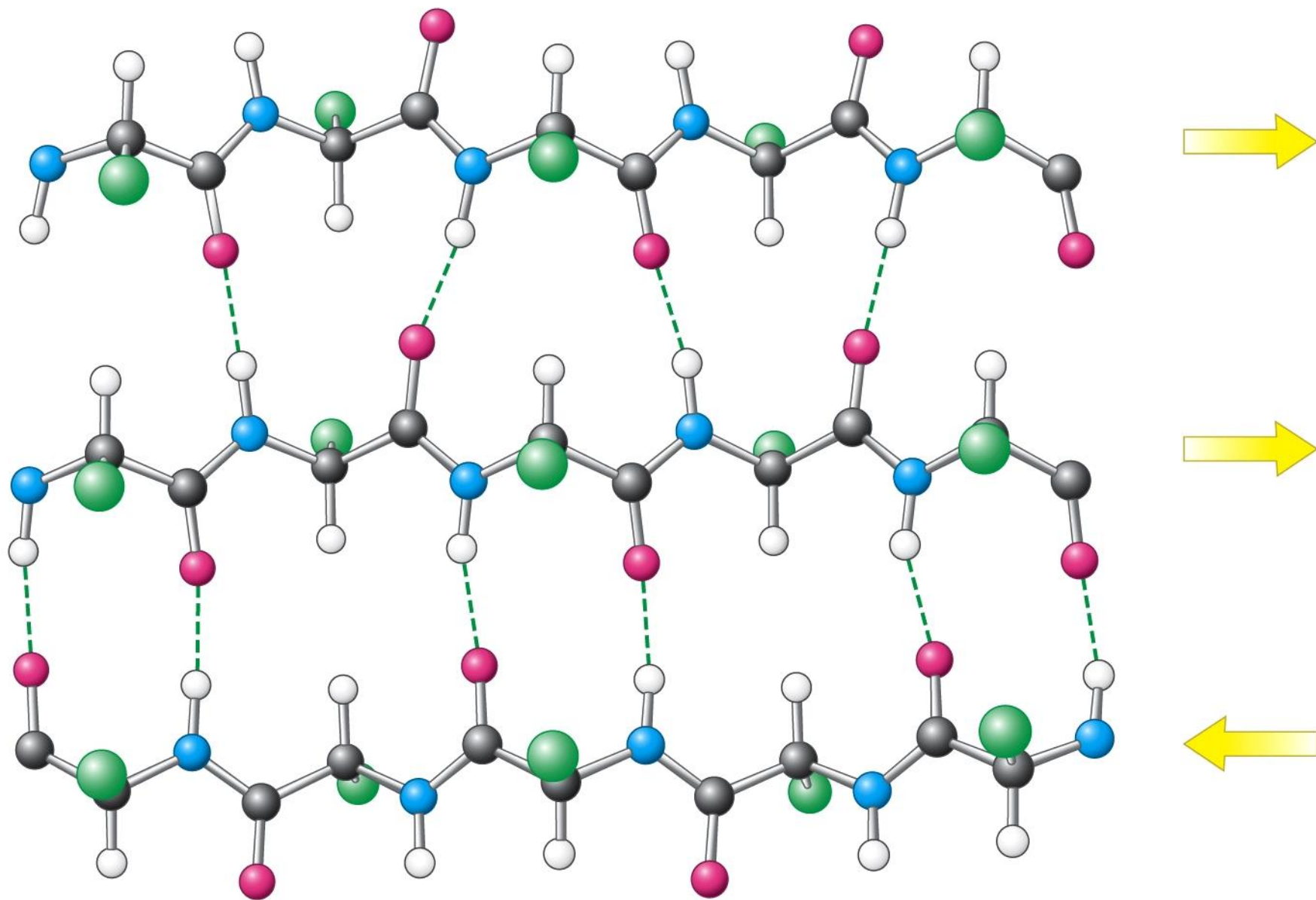
Conformação β anti- paralela



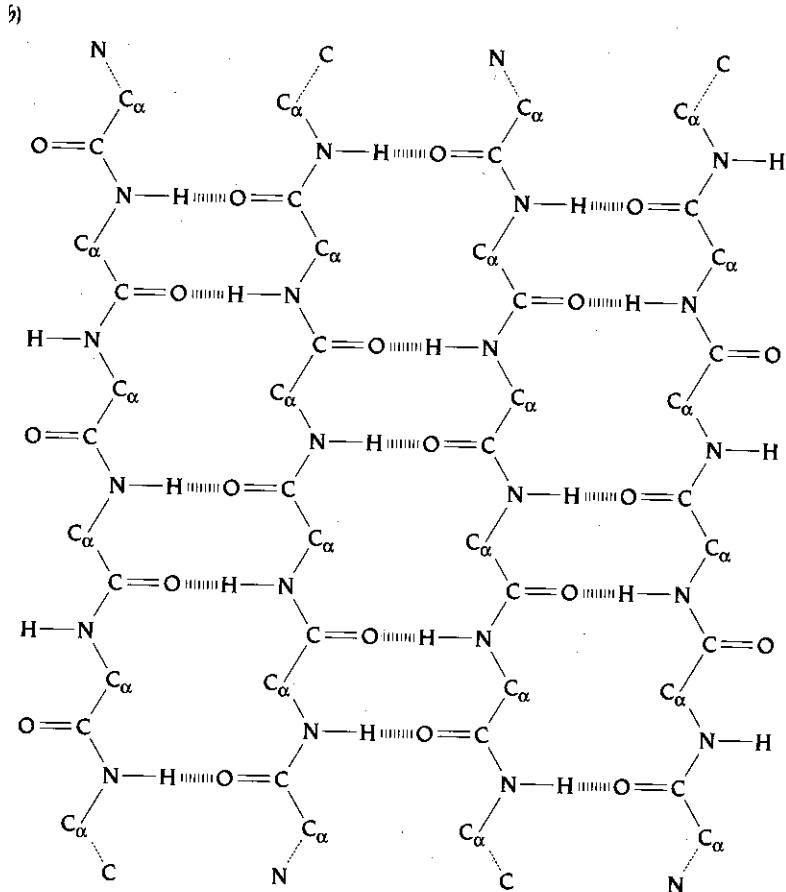
A principal força de estabilização da **Conformação β** é a ligação por ponte de hidrogénio

Ligações de hidrogénio na conformação β paralela

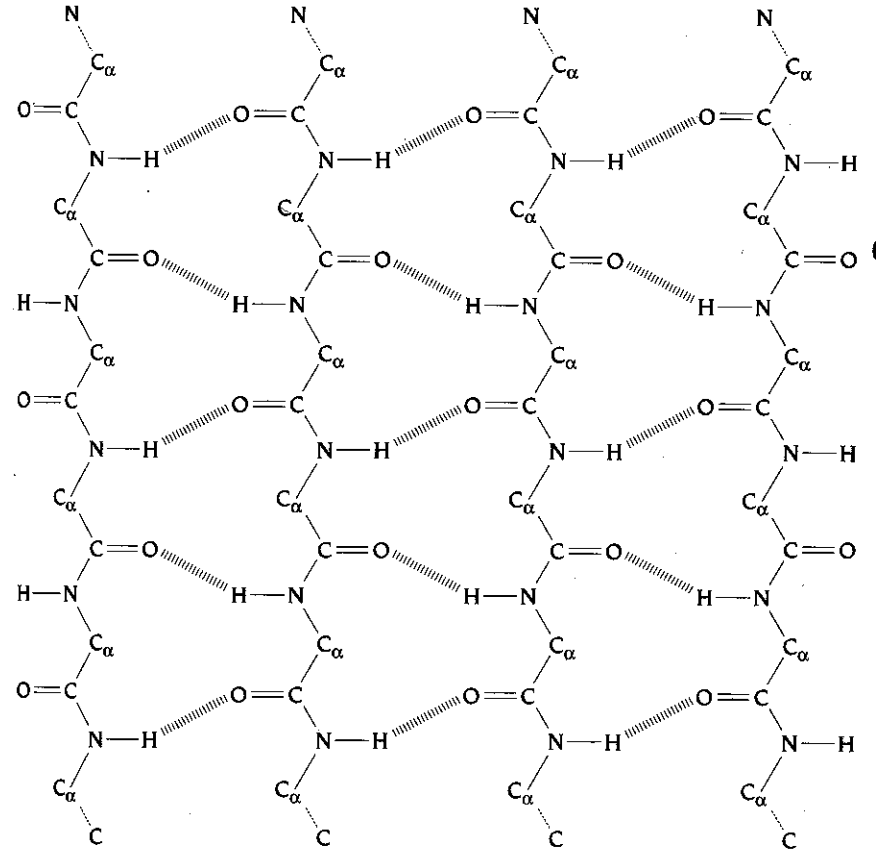




Anti-paralela



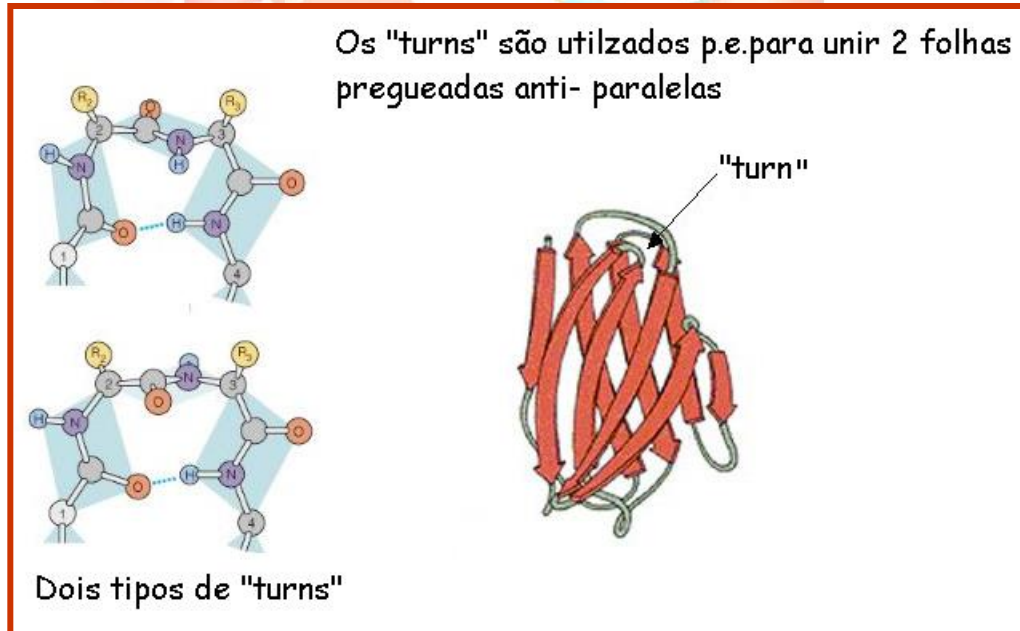
Paralela



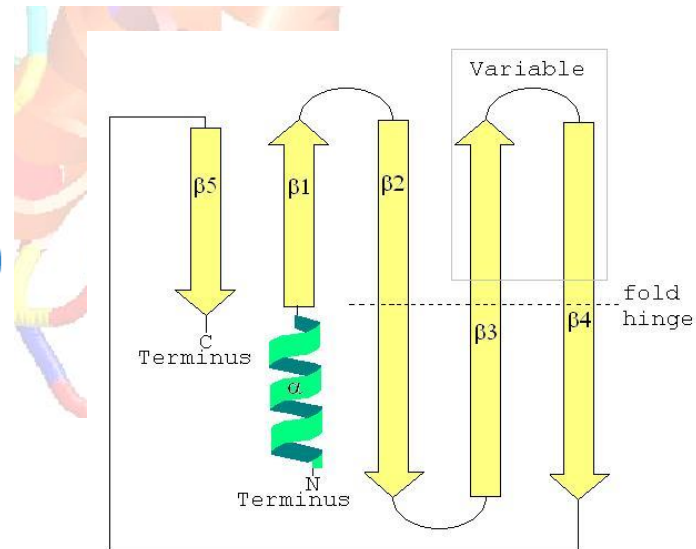
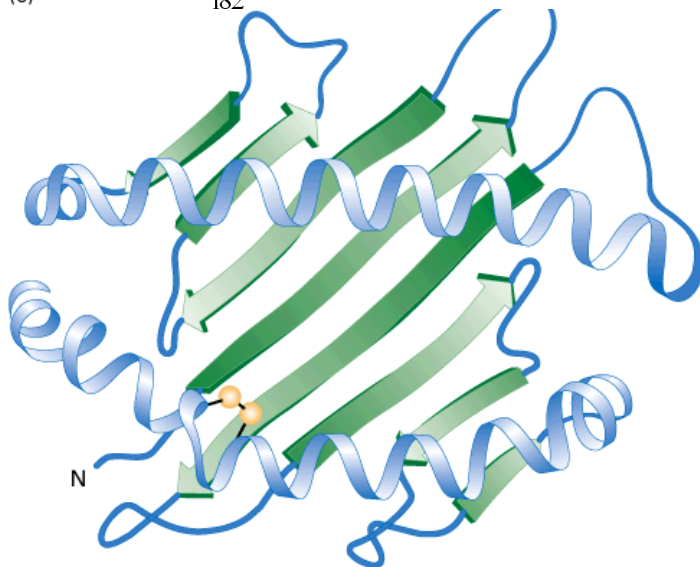
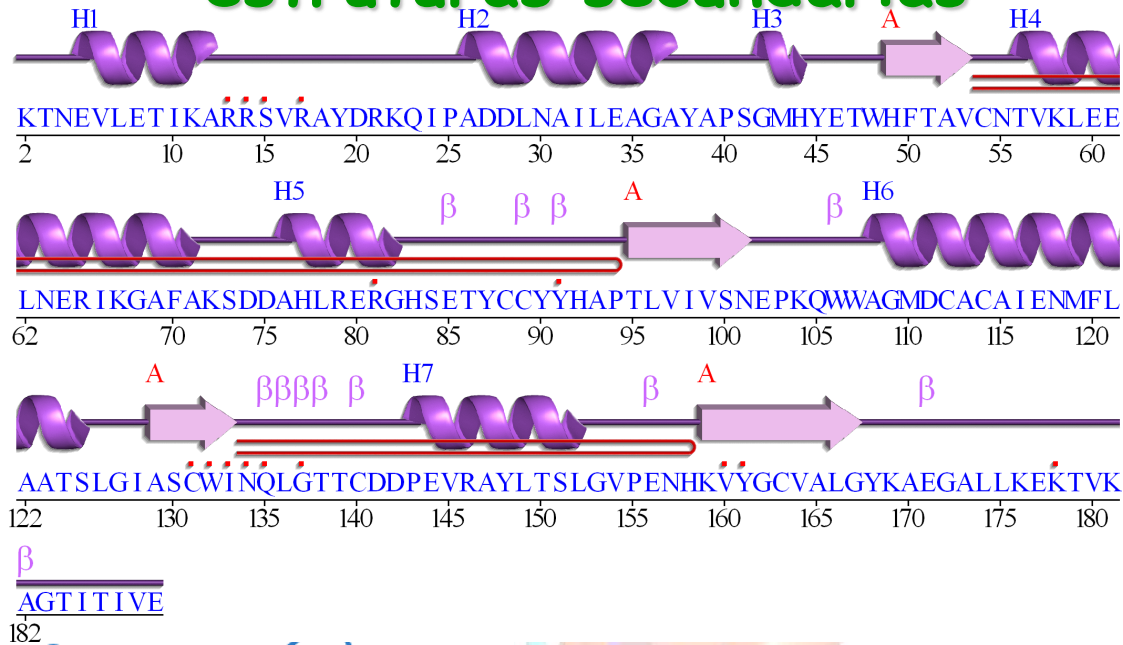
Anti-paralela é energeticamente mais estável

"ReverseTurns" (elementos de reversão)

- São o elemento mais simples de estrutura secundária
- Ocorrem quando a cadeia proteica necessita de mudar de direcção de modo a ligar dois outros elementos da estrutura secundária (por exemplo, duas conformações β).
- Tornam possível a estrutura tridimensional das proteínas.



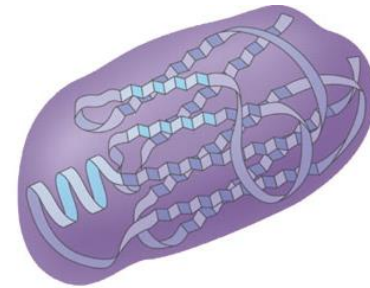
Numa única proteína pode haver vários tipos de estruturas secundárias



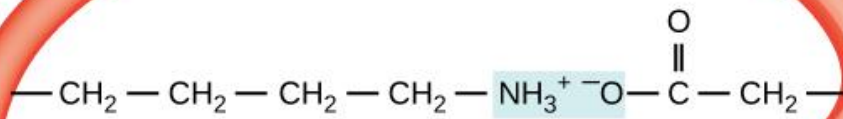
A **estrutura terciária** é uma conformação tridimensional, que resulta de ligações que se estabelecem entre as cadeias laterais dos resíduos de aminoácidos e da interação dessas cadeias com o meio aquoso. O resultado é o enovelamento global de toda a cadeia polipeptídica- **estrutura nativa**

Ligações que intervêm nesta estrutura:

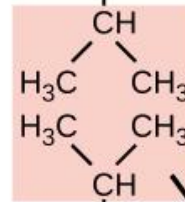
- Ligações covalentes (dissulfureto)
 - Ligações por ponte de hidrogénio
 - Interações iónicas
 - Forças de Van der Waals
 - Interações hidrofóbicas



cadeia polipeptídica

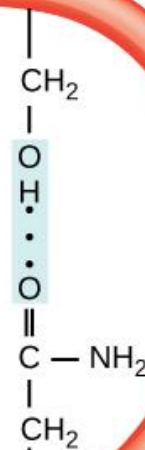


interação iónica

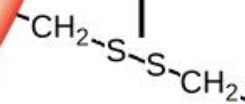


interações hidrofóbicas

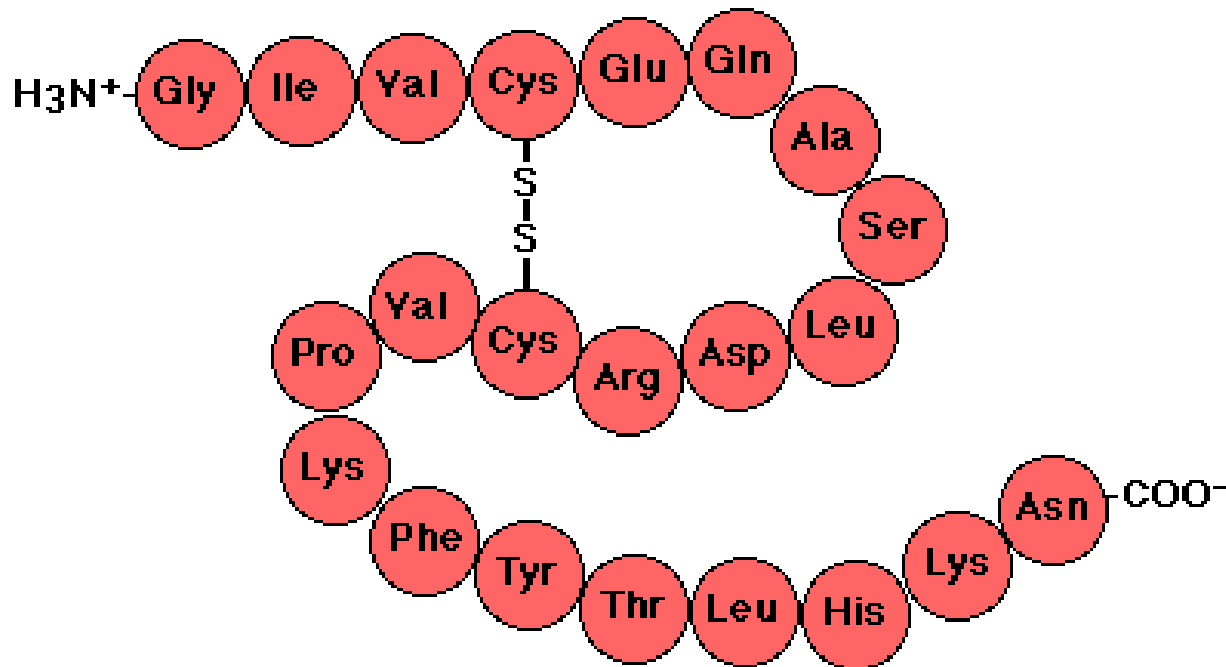
ligação de hidrogénio



ligação disulfureto



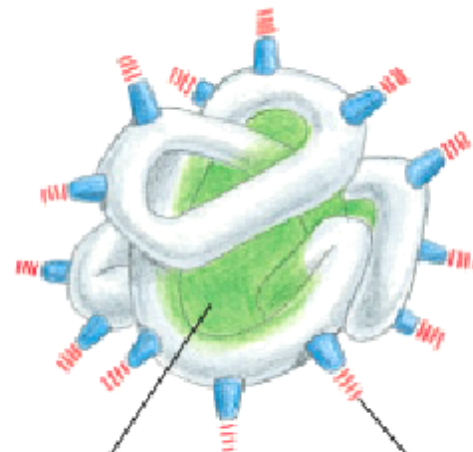
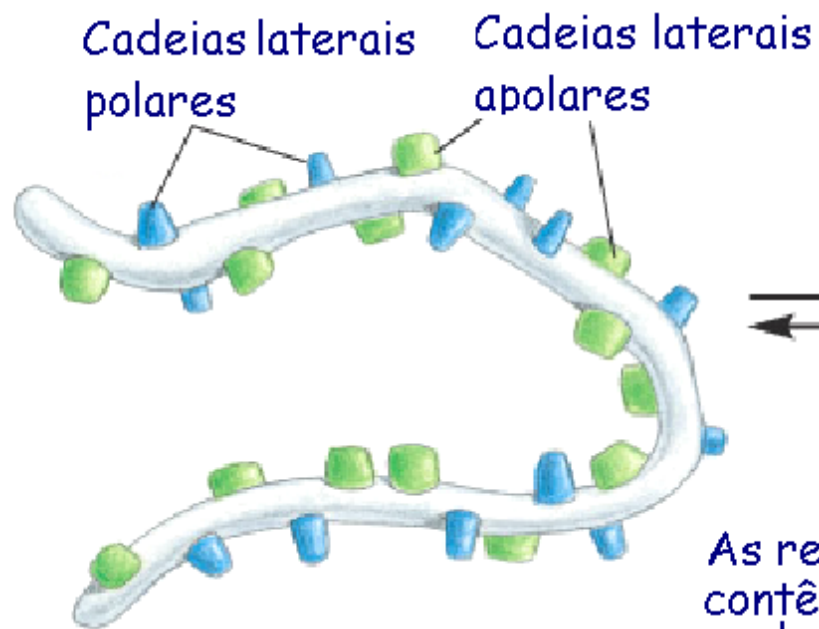
Pontes dissulfureto: ligações covalentes que se formam por reação entre dois grupos SH das cadeias laterais de duas cisteínas: podem ser intra ou inter cadeia



Curiosidade:

As ligações dissulfureto são responsáveis pela diferença entre cabelos lisos e ondulados.





As regiões hidrofóbicas contêm cadeias laterais apolares

Podem formar-se ligações por ponte de hidrogénio entre a água e as cadeias laterais polares

Cadeia polipeptídica não dobrada

Conformação dobrada

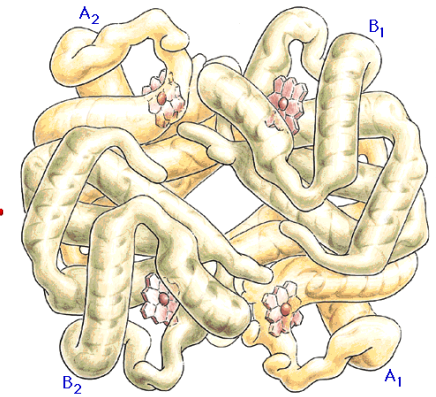
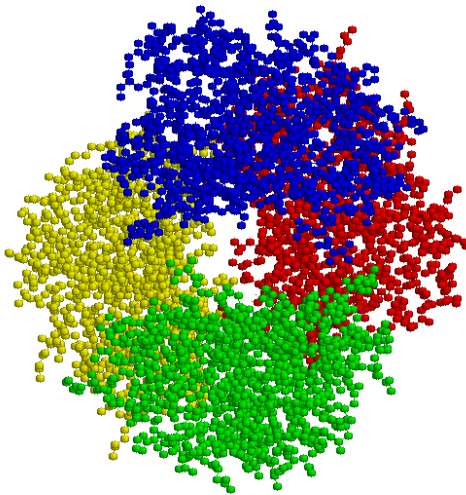
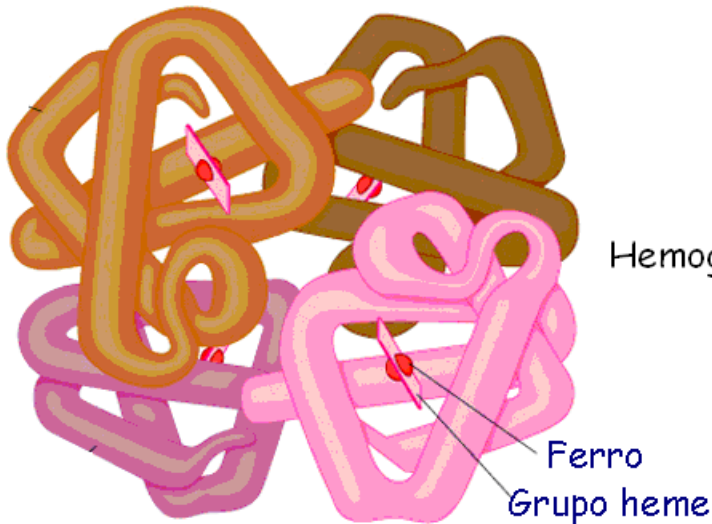
A **Estrutura Quaternária** é a associação tridimensional de várias cadeias polipeptídicas, que podem ser iguais ou diferentes

Cadeia polipeptídica



Colagénio

Os polipéptidos formam sub-unidades discretas não estão todas unidas tipo "spagetti"



Principais tipos de proteínas

Proteínas Fibrosas:

Contêm cadeias polipeptídicas organizadas de forma paralela ao longo de um único eixo.

Consistem em cadeias muito longas

São mecanicamente robustas

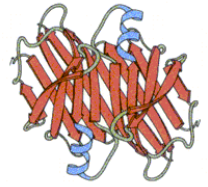
São insolúveis em água

Exercem importantes papéis estruturais

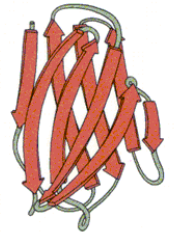
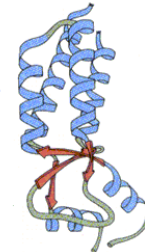
α - e β -queratinas, fibroína, colagénio, etc



Myohemerythrin



Prealbumin



Colágeno- proteína mais abundante em vertebrados (30% do conteúdo proteico); matriz do osso; material dos tendões, cartilagens)

Queratina- cabelo, unhas e pele

Elastina- fibra elástica em ligamentos e vasos sanguíneos arteriais

Fibroína- feita pelo bicho da seda e aranhas



Proteínas Globulares: a maior parte do trabalho é feita por estas proteínas; têm uma estrutura 3D compacta. São solúveis em água. Sintetizam, transportam, catalisam etc...

Proteínas Globulares:

Estrutura compacta

Solúvel em água ou em camadas bilipídicas

Estrutura secundária complexa apenas com mistura de hélices α e folhas β

Estrutura quaternária mantida por ligações não covalentes

Funções em todos os aspetos do metabolismo

Proteínas Fibrosas:

Estrutura estendida

Insolúvel em água ou em camadas bilipídicas

Estrutura secundária de apenas um tipo

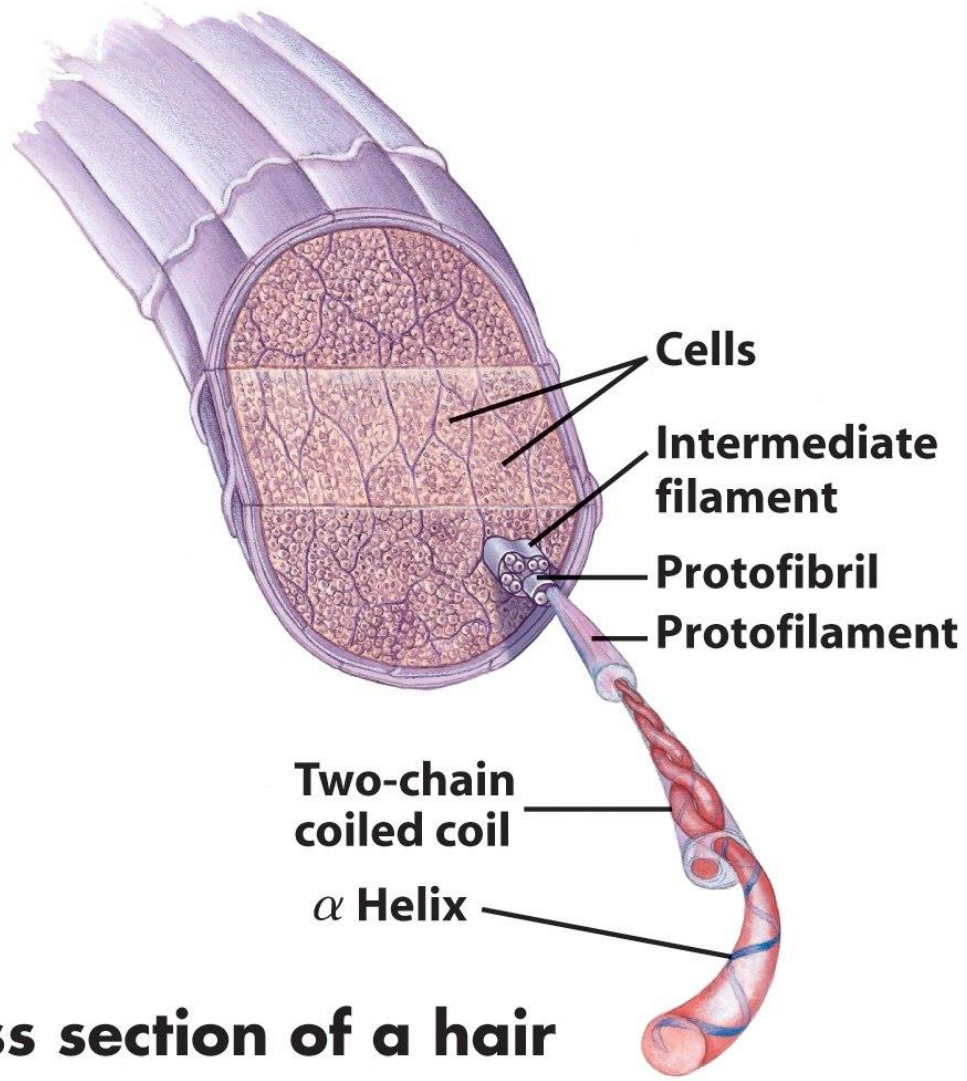
Estrutura quaternária mantida por ligações covalentes S-S

Funções de estrutura

Queratina

- A queratina é rica em cisteína
- Tem estrutura secundária em hélice- α
- As hélice- α formam as chamadas "coiled coils"
- As "coiled coils" associam-se
- As propriedades da queratina dependem do grau de "cross-linking" -dissulfureto
 - Pouco "cross-linking" dá origem a uma proteína flexível (cabelo e pele).
 - Muito "cross-linking" dá origem a proteína rígidas (chifres, garras).



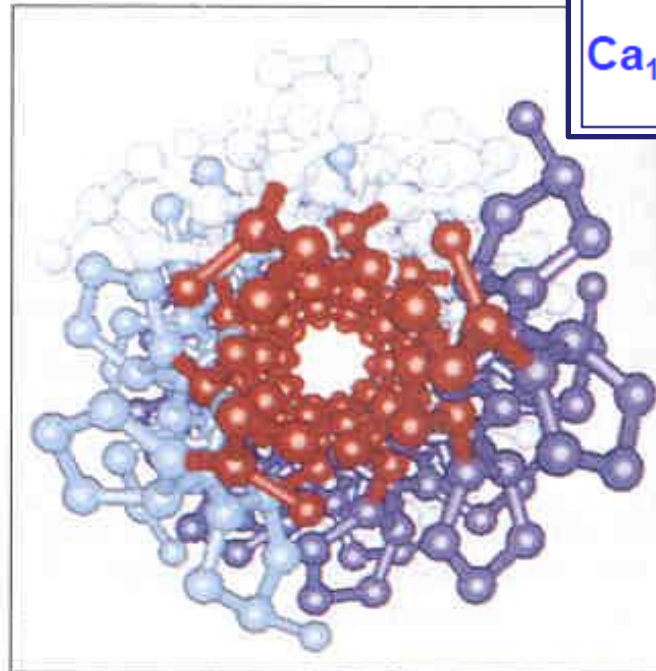
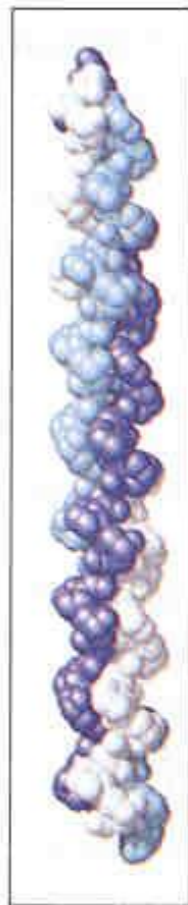
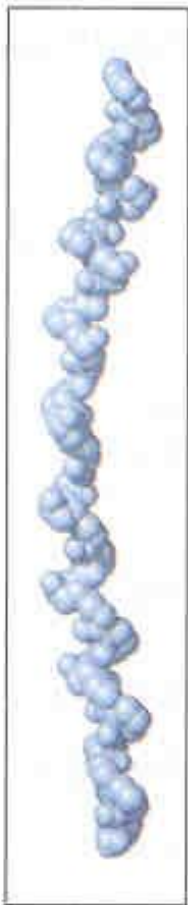
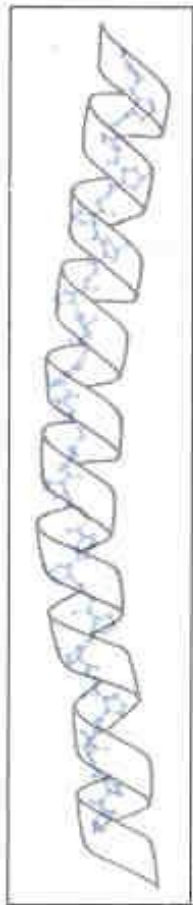


Cross section of a hair

Colagénio

- Proteína mais abundante no corpo humano
- Presente em todos os tecidos, 4% fígado, 10% pulmão, 50% cartilagem, 23% osso e 74% pele
- Função: forma e tensão estrutural
 - ✓ Formado por três cadeias polipeptídicas unidas por pontes de hidrogénio
 - ✓ Cadeias em hélice "left-handed" com \pm 1000 aminoácidos
 - ✓ Cadeias em hélice podem apresentar variações na sequências de aa \rightarrow propriedades diferentes
 - ✓ Disposição espacial das cadeias é helicoidal

Estrutura do colágeno



Tendão-100% colag.

Cartilagem-colag.
embebido em matriz
poliosídica

Osso-matriz colag.
cimentada por
depósitos de



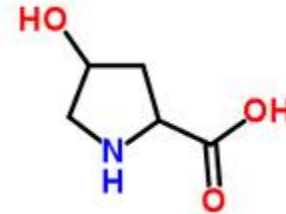
- Sequência de aa de cada uma das cadeias é incomum, tem um resíduo de glicina a cada 3 aa

X-Y-glicil-X-Y-glicil-X-Y-glicil

N-Glu	-	Met	-	Ser	-	Tyr	-	Gly	-	Tyr	-	Asp	-	Glu	-	Lys	-	Ser	-	Ala	-	Gly	-	Val	-	Ser	-	Val	-	15
Pro	-	Gly	-	Pro	-	Met	-	Gly	-	Pro	-	Ser	-	Gly	-	Pro	-	Arg	-	Gly	-	Leu	-	Hyp	-	Gly	-	Pro	-	30
Hyp	-	Gly	-	Ala	-	Hyp	-	Gly	-	Pro	-	Gln	-	Gly	-	Phe	-	Gln	-	Gly	-	Pro	-	Hyp	-	Gly	-	Glu	-	45
Hyp	-	Gly	-	Glu	-	Hyp	-	Gly	-	Ala	-	Ser	-	Gly	-	Pro	-	Met	-	Gly	-	Pro	-	Arg	-	Gly	-	Pro	-	60
Hyp	-	Gly	-	Pro	-	Hyp	-	Gly	-	Lys	-	Asn	-	Gly	-	Asp	-	Asp	-	Gly	-	Glu	-	Ala	-	Gly	-	Lys	-	75
Pro	-	Gly	-	Arg	-	Hyp	-	Gly	-	Gln	-	Arg	-	Gly	-	Pro	-	Hyp	-	Gly	-	Pro	-	Gln	-	Gly	-	Ala	-	90
Arg	-	Gly	-	Leu	-	Hyp	-	Gly	-	Thr	-	Ala	-	Gly	-	Leu	-	Hyp	-	Gly	-	Met	-	Hyl	-	Gly	-	His	-	105
Arg	-	Gly	-	Phe	-	Ser	-	Gly	-	Leu	-	Asp	-	Gly	-	Ala	-	Lys	-	Gly	-	Asn	-	Thr	-	Gly	-	Pro	-	120
Ala	-	Gly	-	Pro	-	Lys	-	Gly	-	Glu	-	Hyp	-	Gly	-	Ser	-	Hyp	-	Gly	-	Glx	-	Asx	-	Gly	-	Ala	-	135
Hyp	-	Gly	-	Gln	-	Met	-		-		-		-		-		-		-		-		-		-		-		-	

Escorbuto

- Causado pela deficiência dietética de ácido ascórbico
- ↓ síntese de hidroxiprolina
- ↓ hidroxiprolina ↓ pontes de hidrogénio que estabilizam a tripla hélice
- Forma-se um colágeno menos estável
- Manifestações clínicas:



Supressão do crescimento dos ossos em crianças
Cicatrização deficiente
Fragilidade capilar → Hemorragias

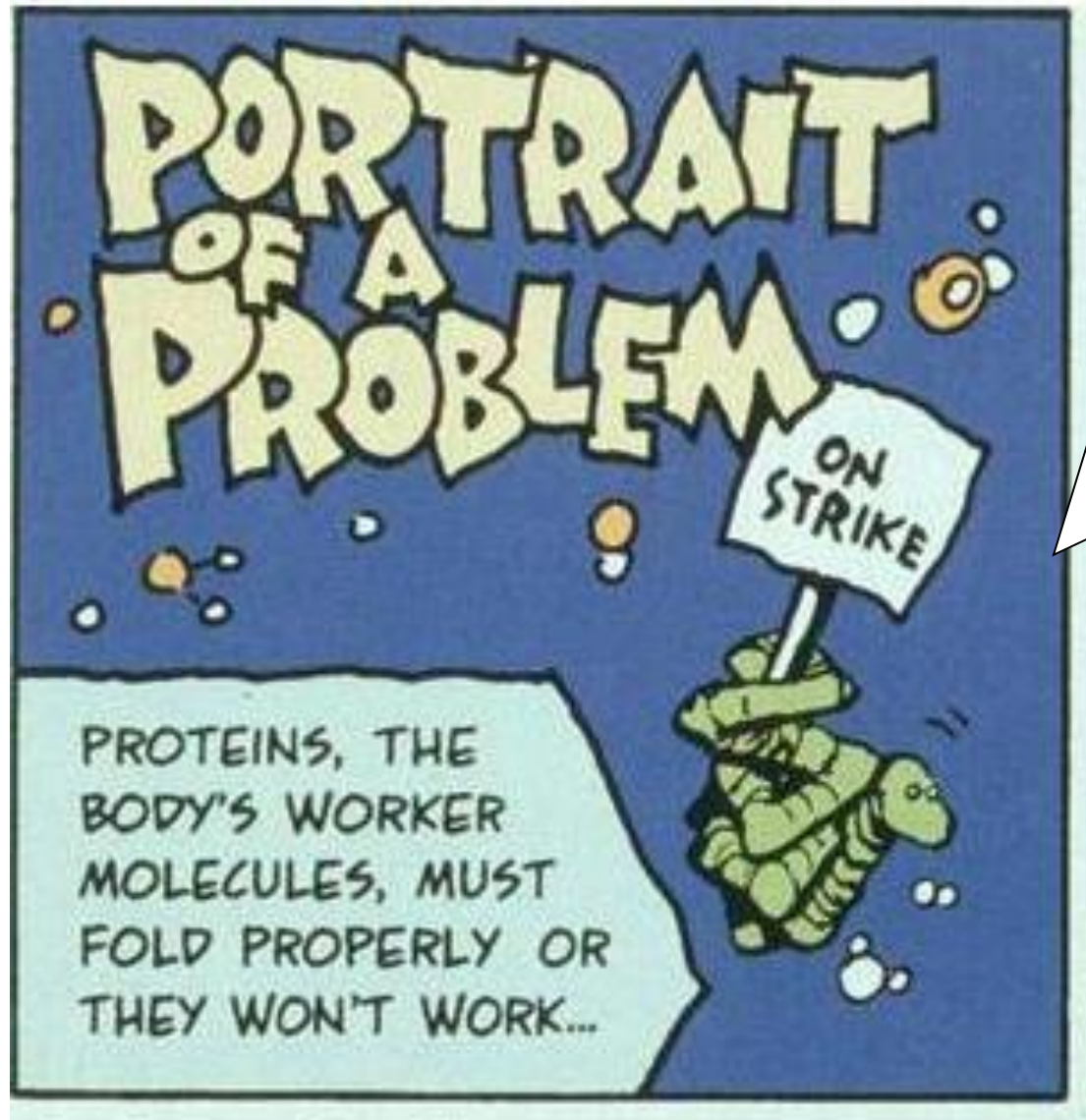
Doenças provocadas pelo misfolding de proteínas

Incluem condições em que a proteína:

- É incapaz de fazer o *folding* correto (fibrose quística, esclerose lateral amiotrófica);
- Não é suficientemente estável para realizar a sua função (algumas formas de cancro);
- Não é capaz de "viajar" corretamente (hipercolesterolemia familiar, deficiência);
- Forma agregados insolúveis que se depositam de um modo tóxico (doenças neurodegenerativas: Alzheimer, Parkinson etc).

Disease	Associated proteins	Affected tissues
Amyloidosis—systemic		
Primary systemic amyloidosis	Ig light chain	Most tissues
Ig heavy-chain-associated amyloidosis	Ig heavy chain	Most tissues
Secondary (reactive) systemic amyloidosis	SAA	Most tissues
Senile systemic amyloidosis	Transthyretin	Microvasculature
Hemodialysis-related amyloidosis	β_2 -Microglobulin	Osteoarticular tissues
Hereditary systemic ApoAI amyloidosis	ApoA-I	Liver, kidney, heart
Hereditary systemic ApoAII amyloidosis	ApoA-II	Kidney, heart
Finnish hereditary amyloidosis	Gelsolin	Most tissues
Hereditary lysozyme amyloidosis	Lysozyme	Kidney, liver
Hereditary cystatin C amyloid angiopathy	Cystatin C	Most tissues
Amyloidosis—localized		
Injection-localized amyloidosis	Insulin	Skin, muscles
Hereditary renal amyloidosis	Fibrinogen	Kidney
Senile seminal vesicle amyloid	Lactoferrin, seminogelin	Seminal vesicles
Familial subepithelial corneal amyloidosis	Lactoferrin	Cornea
Cataract	Crystallin	Eye
Medullary thyroid carcinoma	Calcitonin	Thyroid tissues
Neurodegenerative diseases		
Alzheimer's disease	Amyloid- β , tau	Brain
Parkinson's disease	α -Synuclein	Brain
Lewy-body dementia	α -Synuclein	Brain
Huntington's disease	Huntington	Brain
Spongiform encephalopathies	Prion	Brain, peripheral nervous system
Hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis	Cystatin C	Cerebral vasculature
Amyotrophic lateral sclerosis	Superoxide dismutase 1	Brain
Familial British dementia	Abri	Brain
Familial Danish dementia	ADan, amyloid- β	Brain
Familial amyloidotic polyneuropathy	Transthyretin	Peripheral nervous system
Frontotemporal dementias	Tau	Brain
Other diseases		
Diabetes mellitus	IAPP, amylin	Pancreas (islet)
Atherosclerosis	Modified LDL	Arteries
Sickle cell anemia	Hemoglobin	Erythrocytes

"Folding" de proteínas



by Larry Gonick

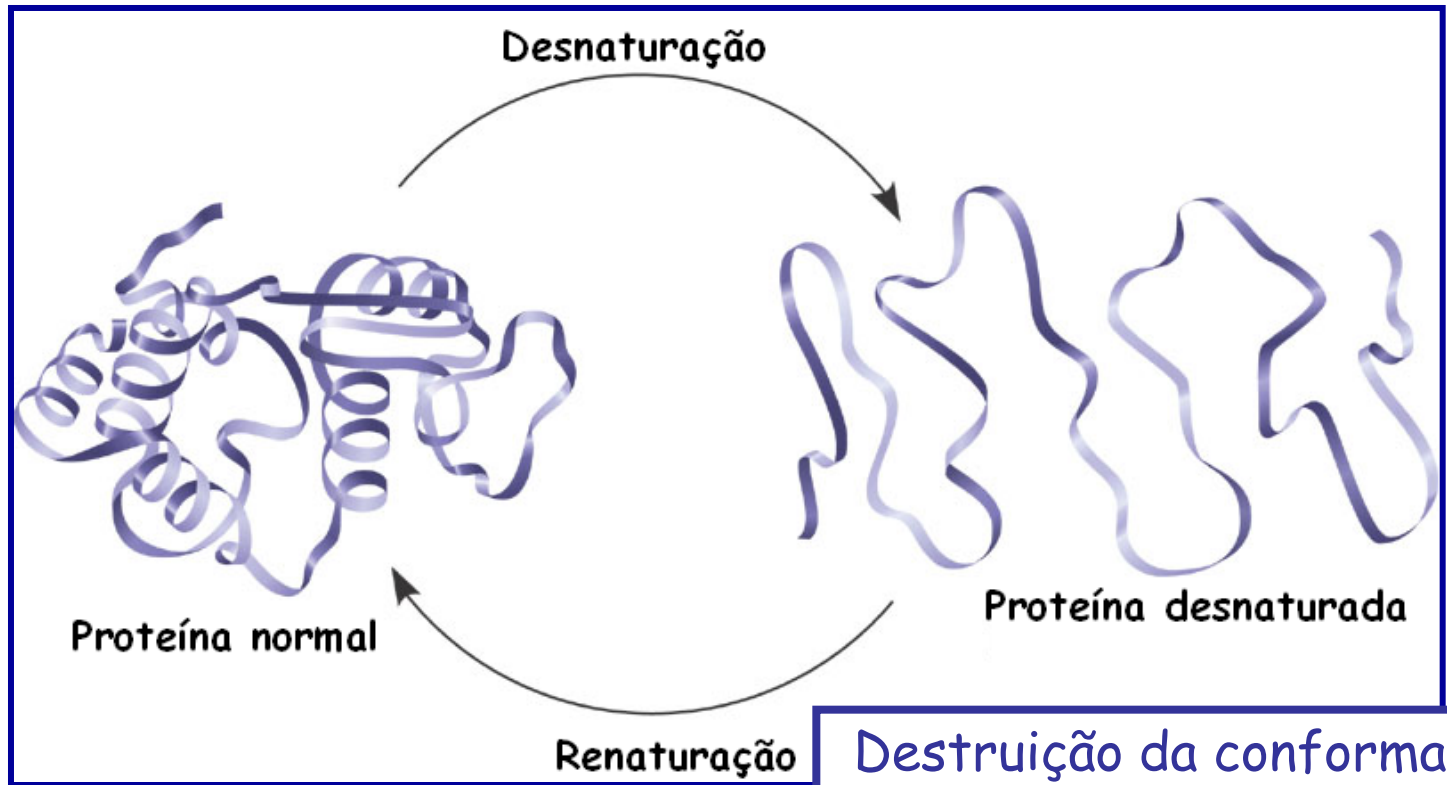
"A conformation específica das proteínas determina o seu funcionamento. Na maioria dos casos a função da proteína depende da capacidade para reconhecer ou se ligar a outra molécula.."

Campbell & Reece (2005)

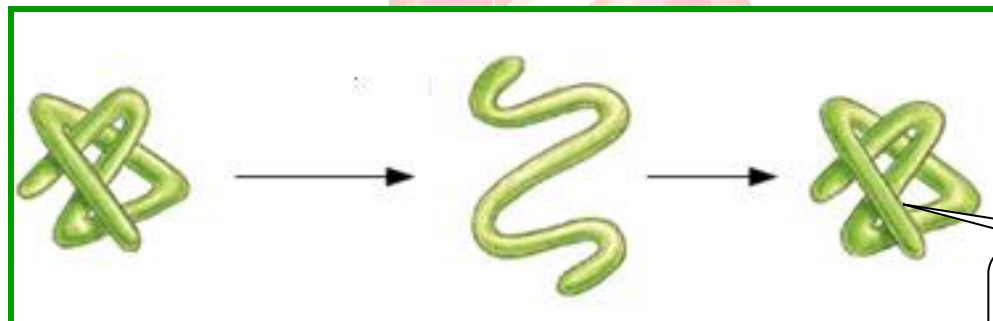
DESNATURAÇÃO DE PROTEÍNAS

- Desnaturação é a perda da estrutura tridimensional (secundária, terciária e quaternária) das proteínas. Com a desnaturação as proteínas perdem sua função. Não há perda da estrutura primária
- Ocorre em presença de temperaturas elevadas e de certos reagentes químicos (Ex: cozedura de um ovo, ou "ondulação do cabelo")
- Esses agentes rompem as ligações fracas que mantêm a estrutura tridimensional (secundária, terciária e quaternária).
- As pontes S-S são rompidas com agentes químicos.⁵⁹

Desnaturação da proteína



Destruição da conformação
= Perda de função



Algumas proteínas
simples conseguem
renaturar sozinhas