

Bioquímica

Objetivos:

Visualizar a estrutura tridimensional de peptídeos e proteínas, usando-se recursos computacionais. Montar modelos estruturais de proteínas, usando-se kit de plástico.

Materiais:

1. Computadores iMac e PC;
2. Programa VMD (*Visual Molecular Dynamics*) para visualização de macromoléculas biológicas;
3. Kit de montagem de proteína "Protein Folder";
4. Arquivos com coordenadas atômicas de proteínas.

Introdução

Na análise da estrutura de uma proteína, podemos visualizar diferentes níveis de complexidade. Do mais simples para o mais complexo. A sequência de resíduos de aminoácidos é a estrutura primária. A identificação das partes da estrutura primária que formam hélices, fitas e laços é a estrutura secundária. As coordenadas atômicas de todos os átomos que formam a proteína é a estrutura terciária. Por último, se a proteína tem mais de uma cadeia polipeptídica, esta apresenta uma estrutura quaternária. A figura abaixo ilustra os níveis de complexidade estrutural para a proteína purina nucleosídeo fosforilase. Todas as proteínas têm até a estrutura terciária, as que apresentam mais de uma cadeia peptídica formando um oligômero têm estrutura quaternária.

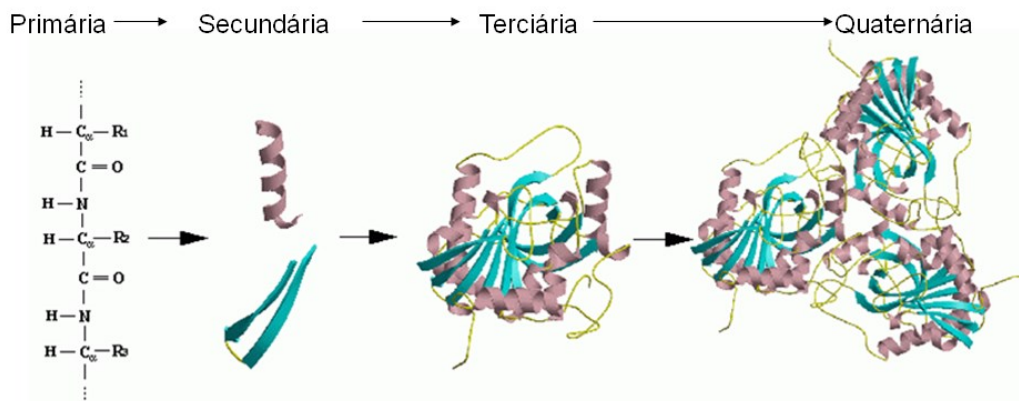


Figura 1. Níveis estruturais das proteínas. A proteína mostrada na figura é a purina nucleosídeo fosforilase humana.

A tabela 1 mostra a denominação para as principais estruturas quaternárias de proteínas

Tabela 1. Principais estruturas quaternárias de proteínas.

| Estrutura quaternária | Número de monômeros |
|-----------------------|---------------------|
| Dímero | 2 |
| Trímero | 3 |
| Tetrâmetro | 4 |
| Pentâmero | 5 |
| Hexâmero | 6 |
| Heptâmero | 7 |
| Octâmero | 8 |

Procedimento:

1) Montagem de modelos estruturais

Os canais de K^+ dependentes de voltagem são de fundamental importância na sinalização nervosa (comunicação entre a célula pré-sináptica e célula pós-sináptica), assim qualquer interferência com esta proteína transmembranar pode ter efeitos danosos à transmissão do sinal nervoso. Algumas espécies de escorpião tiram vantagem disso para paralisar suas presas. Podemos pensar no veneno de escorpiões como um coquetel de peptídeos e proteínas. Um dos componentes do veneno do escorpião (*Leiurus quinquestriatus hebraeus*)(figura 2) apresenta uma neurotoxina, formada por um peptídeo de 38 resíduos de aminoácidos (agitoxina 2), que bloqueia o canal de K^+ dependente de voltagem, paralisando sua vítima.



Figura 2. Escorpião *Leiurus quinquestriatus hebraeus* (Fonte da foto: <http://www.latoxan.com/VENOM/SCORPION/Leiurus-quinquestriatus-hebraeus.php>)

Carregar coordenadas atômicas da proteína (arquivo agitoxina2.pdb).

Visualizar a proteína no seguinte esquema de visualização (*Graphics*→ *Representations*→ *Drawing Method* na opção: *NewCartoon*. No *Coloring Method* na opção *Secondary Structure*. Desenhe esta estrutura secundária.

Use o kit de montagem “Protein Folder” e monte a estrutura que você está visualizando na tela.

2) Visualização da hemoglobina S

A partir da elucidação da estrutura tridimensional da hemoglobina (uma proteína formada preponderantemente por hélices) foi possível identificar as bases estruturais da patologia conhecida como anemia falciforme. Tal doença é caracterizada pela mutação de um resíduo de aminoácido da hemoglobina. A mutação é de glutamato para valina, na posição 6 da cadeia beta. **Esta denominação de cadeia beta não está relacionada com a estrutura secundária.** Pessoas com tal patologia apresentam problemas de circulação devido à perda de flexibilidade da hemácia. Vamos visualizar a estrutura da hemoglobina de pessoas que apresentam tal mutação.

Carregar coordenadas atômicas da hemoglobina S (arquivo hemoglobinaS.pdb).

Visualizar a proteína nos seguintes esquemas de visualização (*Graphics* → *Representations* → *Drawing Method* → *NewCartoon*. No *Coloring Method* na opção *Chain*. Você tem na tela a estrutura da hemoglobina S, presente em pacientes com anemia falciforme.

Qual a estrutura quaternária desta proteína? (Use a Tabela 1)_____

A mutação que leva à anemia falciforme ocorre na posição 6 das cadeias betas (*chains* B e D). Clique no *VMD main* em *Extension* -> *Analysis*->*Sequence viewer*. Com esta opção você pode identificar o resíduo da posição 6 das cadeias B e D. O resíduo esperado nesta posição é um glutamato (Glu).

Qual o resíduo da posição 6 da cadeia beta?_____

O resíduo modificado encontra-se na superfície da proteína?_____

Por que esta mutação causa a patologia conhecida como anemia falciforme?

Referências:

ALBERTS, B. *et al.* Biologia Molecular da Célula. 4a edição. Artmed editora, Porto Alegre, 2004 (Capítulo 3).

CANDURI F, DE AZEVEDO WF Jr. *Curr Computer-Aided Drug Design* 2005; 1(1): 53-64.

LESK, A. M. *Introduction to Protein Architecture*. Oxford University Press, New York, 2001.

BRANDEN, c. & TOOSE, J. *Introduction to Protein Structure*. 2nd Ed. Garland Publishing, Inc. New York, 1999.

<http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/>

<http://www.fi.muni.cz/usr/mejzlik/mirrors/www.nyu.edu/pages/mathmol/software.html>

<http://www.rcsb.org/pdb/>