



Potencial de Ação



Prof. Dr. Walter F. de Azevedo, Jr.

walter@azevedolab.net

[Biography 01](#) ♥

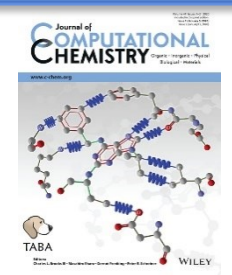
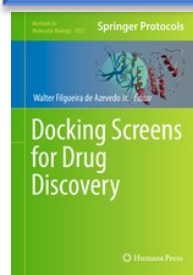
[Biography 02](#) ♥

[Biography 03](#) ♥

[Biography 04](#) ♥

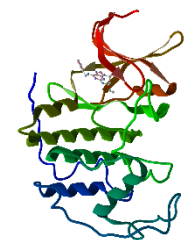
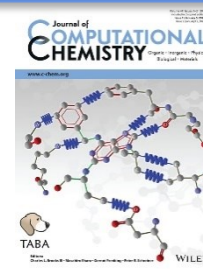
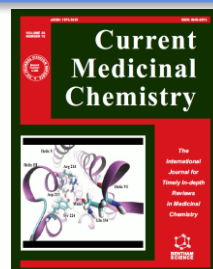
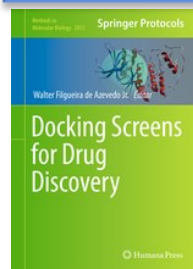


Frontiers Section Editor (Bioinformatics and Biophysics) for the [Current Drug Targets](#) ISSN: 1873-5592
 Section Editor (Bioinformatics in Drug Design and Discovery) for the [Current Medicinal Chemistry](#) ISSN: 1875-533X



Conteúdo

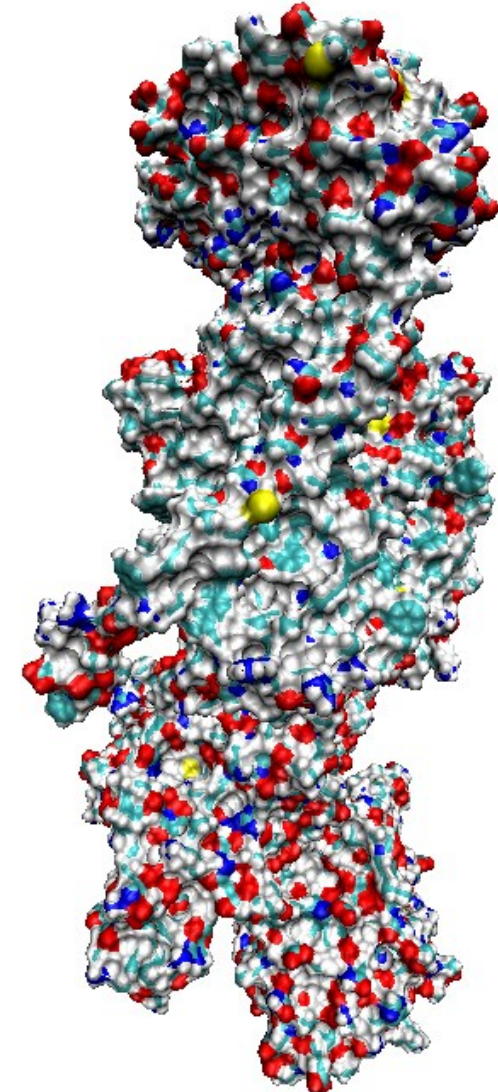
- [Resumo](#)
- [Estrutura Básica do Neurônio](#)
- [Bomba de Sódio e Potássio](#)
- [Potencial de Repouso](#)
- [Potencial de Ação](#)
- [Modelo de Hodgkin-Huxley](#)
- [Simulação Computacional](#)
- [Cristalografia por Difração de Raios X](#)
- [Autor](#)
- [Referências](#)
- [Sugestões de Leituras e Estudos](#)



Resumo

Nesta aula estudamos o potencial elétrico do neurônio. Por incrível que possa parecer, a célula é uma fonte de eletricidade. Não que iremos carregar o nosso celular a partir de uma célula, mas as diferenças de concentrações de íons entre os meios intracelular e extracelular geram um potencial elétrico de dezenas de milivolts. Estudaremos a bomba de sódio e potássio (mostrada ao lado) e o potencial de repouso da célula. Estudaremos o potencial de ação e o modelo de Hodgkin-Huxley. Este modelo é considerado o padrão para explicar o potencial de ação na célula. O modelo de Hodgkin-Huxley é um **modelo computacional**, sendo o primeiro modelo da abordagem de **biologia de sistemas** a ser desenvolvido. Ele faz uso de uma analogia com um **circuito elétrico** para explicar a mudança súbita de potencial elétrico observada durante o potencial de ação. Usaremos o programa HHsim para a simulação computacional do potencial de ação. Esse programa é uma implementação direta da equação que descreve o modelo de Hodgkin-Huxley do potencial de ação. Veremos como os biofísicos determinam a estrutura tridimensional de proteínas.

Palavras-chave: neurônio, potencial de repouso, potencial de ação, bomba de sódio e potássio, canal iônico, modelo de Hodgkin-Huxley, canal de sódio, canal de potássio, circuito resistivo-capacitivo, simulação computacional, cristalografia por difração de raios X.



Estrutura Básica do Neurônio

No nosso estudo da eletricidade na célula, focaremos na membrana celular, boa parte destes fenômenos serão discutidos para entendermos o funcionamento elétrico dos neurônios. Os **neurônios** são **células nucleadas**, que apresentam um corpo central chamado de **soma**. Essas células apresentam grandes variações de forma, assim para os propósitos dos nossos estudos, vamos considerar que o neurônio apresenta a estrutura básica, mostrada no diagrama esquemático ao lado. No diagrama temos, além do corpo celular, **dendritos** e um terminal único, chamado **axônio**. O axônio é responsável pela transmissão do **impulso nervoso**. Podendo ser bem extenso, comparado com o resto do neurônio.

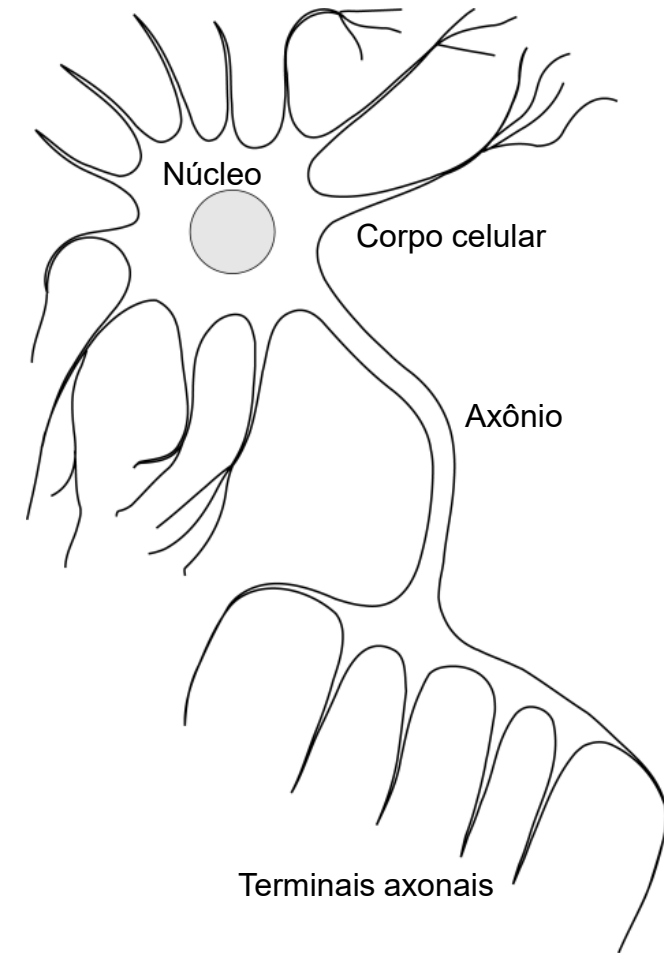
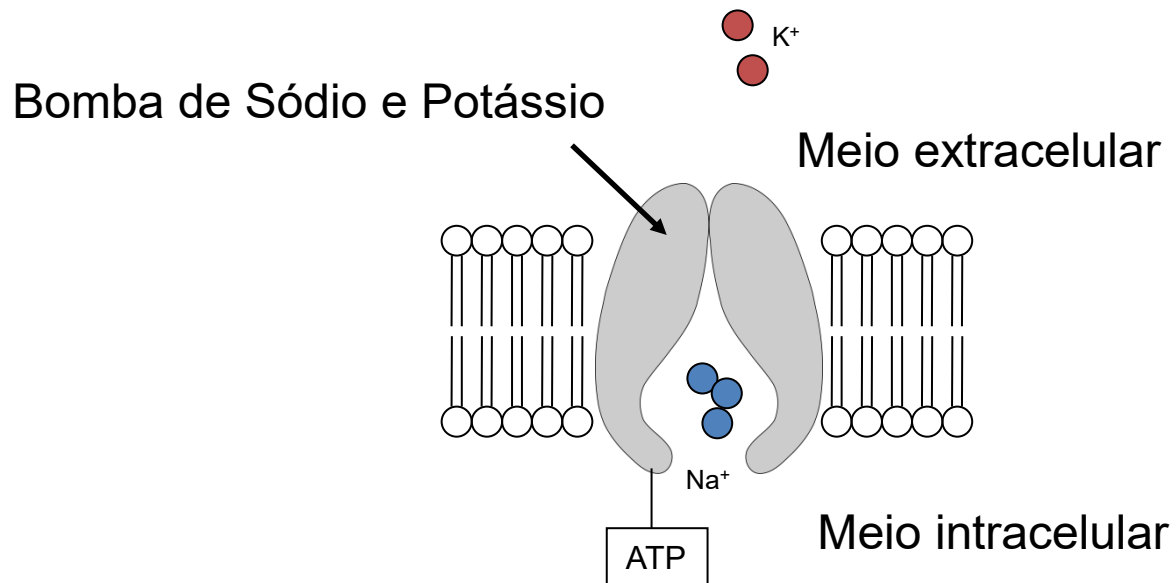


Diagrama esquemático de um neurônio.

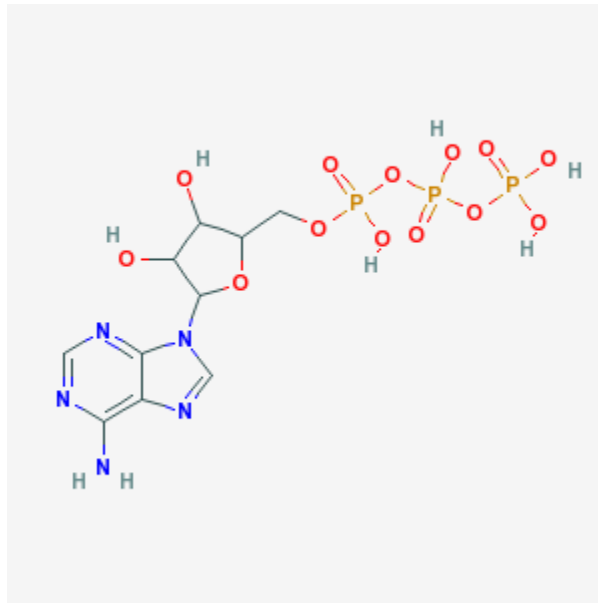
Bomba de Sódio e Potássio

A célula apresenta proteínas intrínsecas, responsáveis pelo transporte passivo de íons pela membrana. Além dos canais iônicos, relacionados ao **transporte passivo** de íons, ou seja, sem gasto de energia, temos, também, o **transporte ativo** de íons na membrana. Neste tipo de transporte, a proteína envolvida é a **bomba iônica**. Na aula de hoje veremos a **bomba de sódio e potássio**, representada no diagrama abaixo.

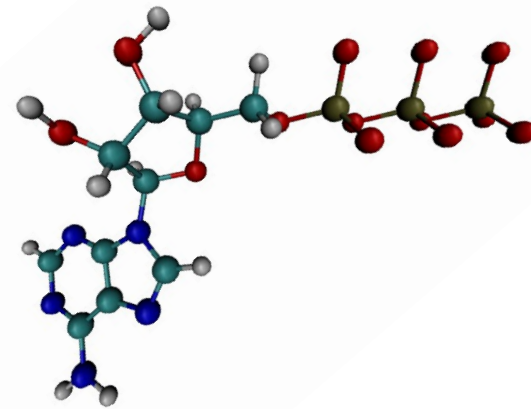


Bomba de Sódio e Potássio

A **bomba de sódio e potássio** é uma proteína intrínseca (atravessa a membrana) com **atividade enzimática**. Ela catalisa a clivagem da molécula **adenosina trifosfato** (ATP), atividade de **ATPase**. ATP (mostrado nas figuras abaixo) é um nucleotídeo contendo 3 grupos fosfatos. ATP é uma reserva de **energia química** para o **metabolismo celular**.



a) ATP (estrutura química)



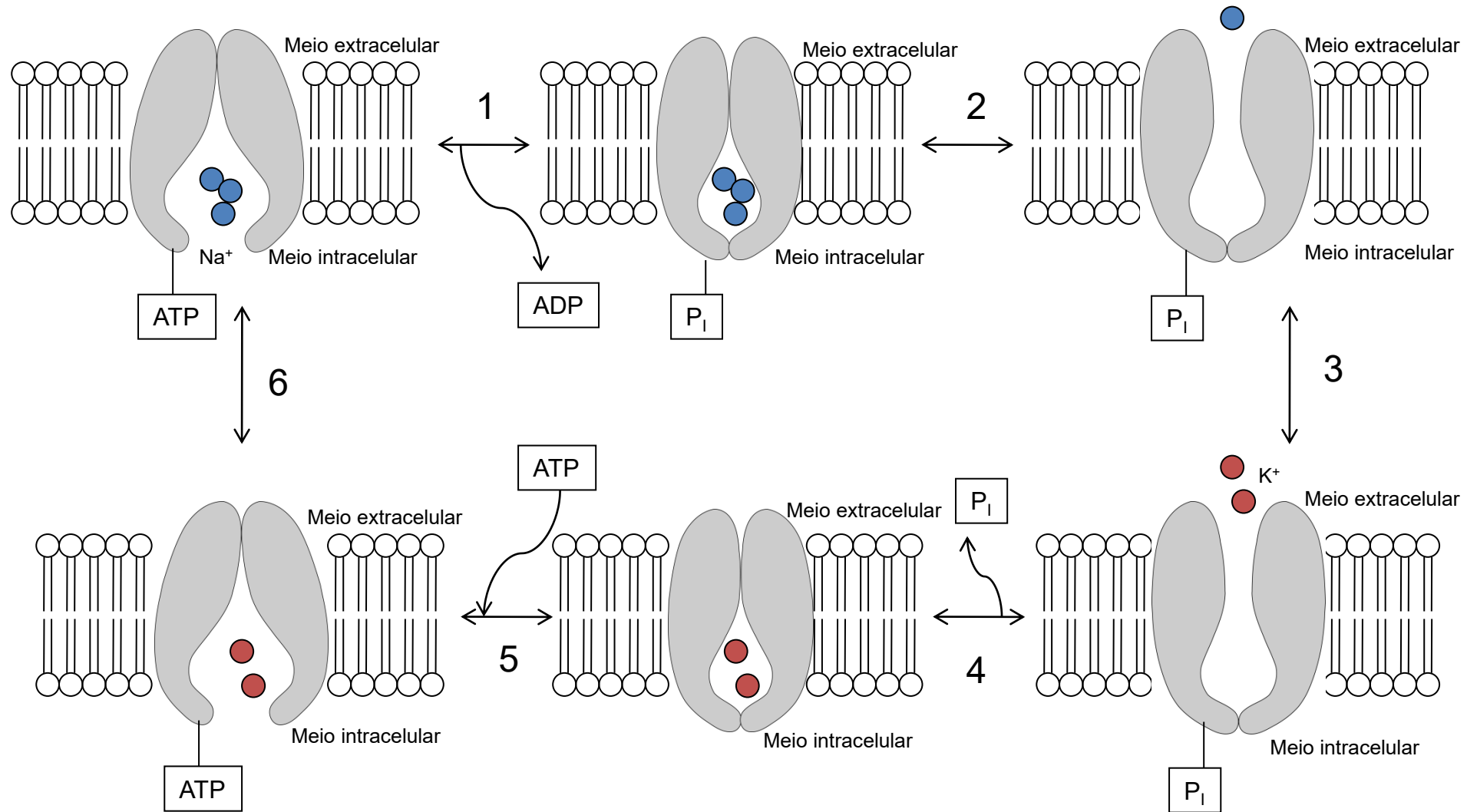
b) ATP (estrutura 3D)

Bomba de Sódio e Potássio

A ação da bomba de sódio e potássio segue as seguintes etapas:

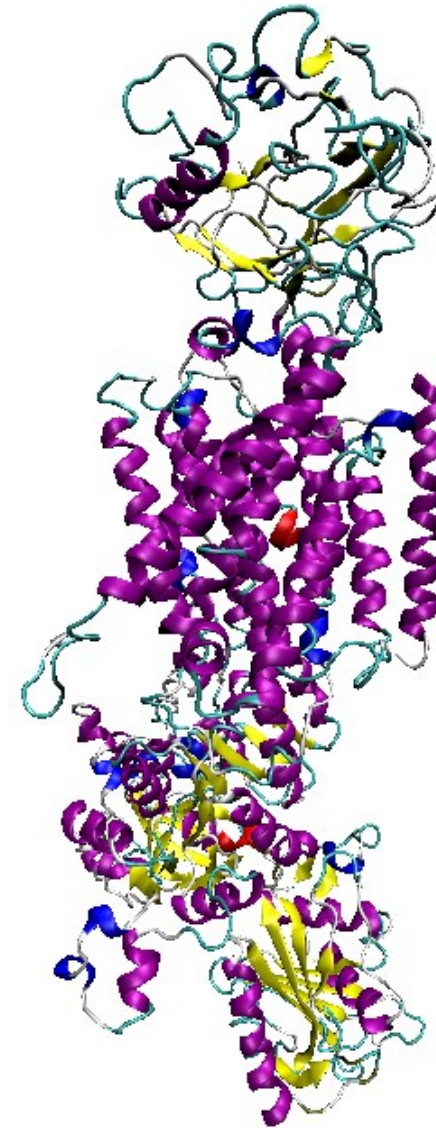
- 1) A bomba de sódio e potássio liga-se a 3 íons de sódio (Na^+) intracelulares.
- 2) ATP é hidrolisado, causando a **fosforilação** de um resíduo de aspartato da bomba de sódio e potássio com a liberação de uma molécula de **adenosina difosfato** (ADP).
- 3) A mudança estrutural da bomba de sódio e potássio leva a uma exposição os íons de sódio (Na^+) que são liberados para o **meio extracelular**.
- 4) A bomba de sódio e potássio liga-se a 2 íons de potássio (K^+) extracelulares, isto causa a **desfosforilação** da bomba, trazendo-a de volta à sua conformação anterior, transportando potássio (K^+) para dentro da célula.
- 5) A forma desfosforilada da bomba de sódio e potássio apresenta afinidade mais alta por íons de sódio (Na^+). Os íons de potássio (K^+) são liberados, a molécula de ATP liga-se à bomba.
- 6) O sistema está pronto para um novo ciclo.

Bomba de Sódio e Potássio



Bomba de Sódio e Potássio

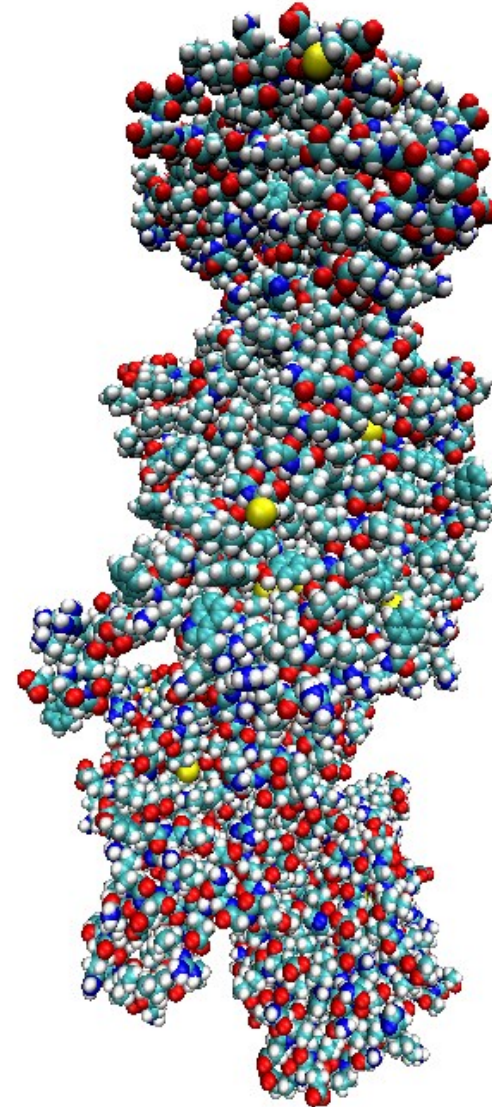
Aproximadamente um terço de todo ATP da célula é usado para o funcionamento da bomba de sódio e potássio, o que indica a sua importância para o metabolismo celular. Em 2007 foi elucidada a estrutura tridimensional da bomba de sódio e potássio, mostrada na figura ao lado ([Morth et al., 2007](#)) (código PDB: 3KDP). A análise da estrutura indicou uma divisão clara de regiões hidrofóbicas e hidrofílicas, que sugerem a inserção desta proteína com a membrana.



Referência: Morth JP, Pedersen BP, Toustrup-Jensen MS, Sørensen TL, Petersen J, Andersen JP, Vilsen B, Nissen P. Crystal structure of the sodium-potassium pump. *Nature*. 2007; 450(7172): 1043-1049. doi: 10.1038/nature06419. PMID: 18075585. [PubMed](#)

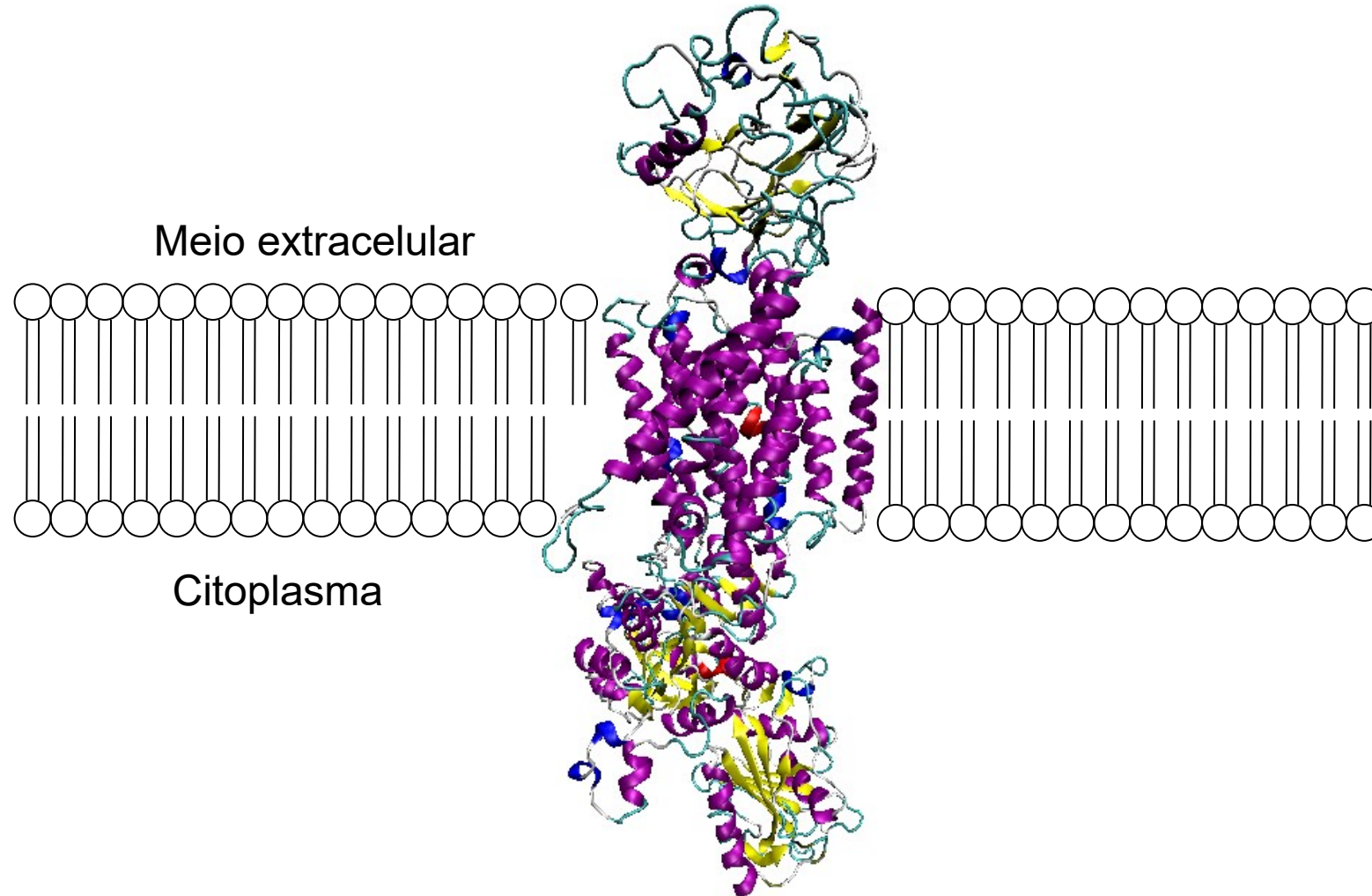
Bomba de Sódio e Potássio

Usaremos a bomba de sódio e potássio para ilustrar como podemos baixar as informações estruturais do site do **Protein Data Bank** (PDB) (<https://www.rcsb.org/>). Tecnicamente, chamamos o PDB de base de dados, que nada mais é que um sistema que armazena informações. No caso do PDB as informações são as estruturas tridimensionais das moléculas biológicas. Hoje (23 de março de 2021), há mais 175 mil estruturas disponíveis nessa base. Cada estrutura que está no PDB pode ser acessada a partir de um código alfanumérico (letras e números) de quatro dígitos. A estrutura da bomba de sódio e potássio está depositada com o código 3KDP. Veremos nos próximos slides como baixar a estrutura.



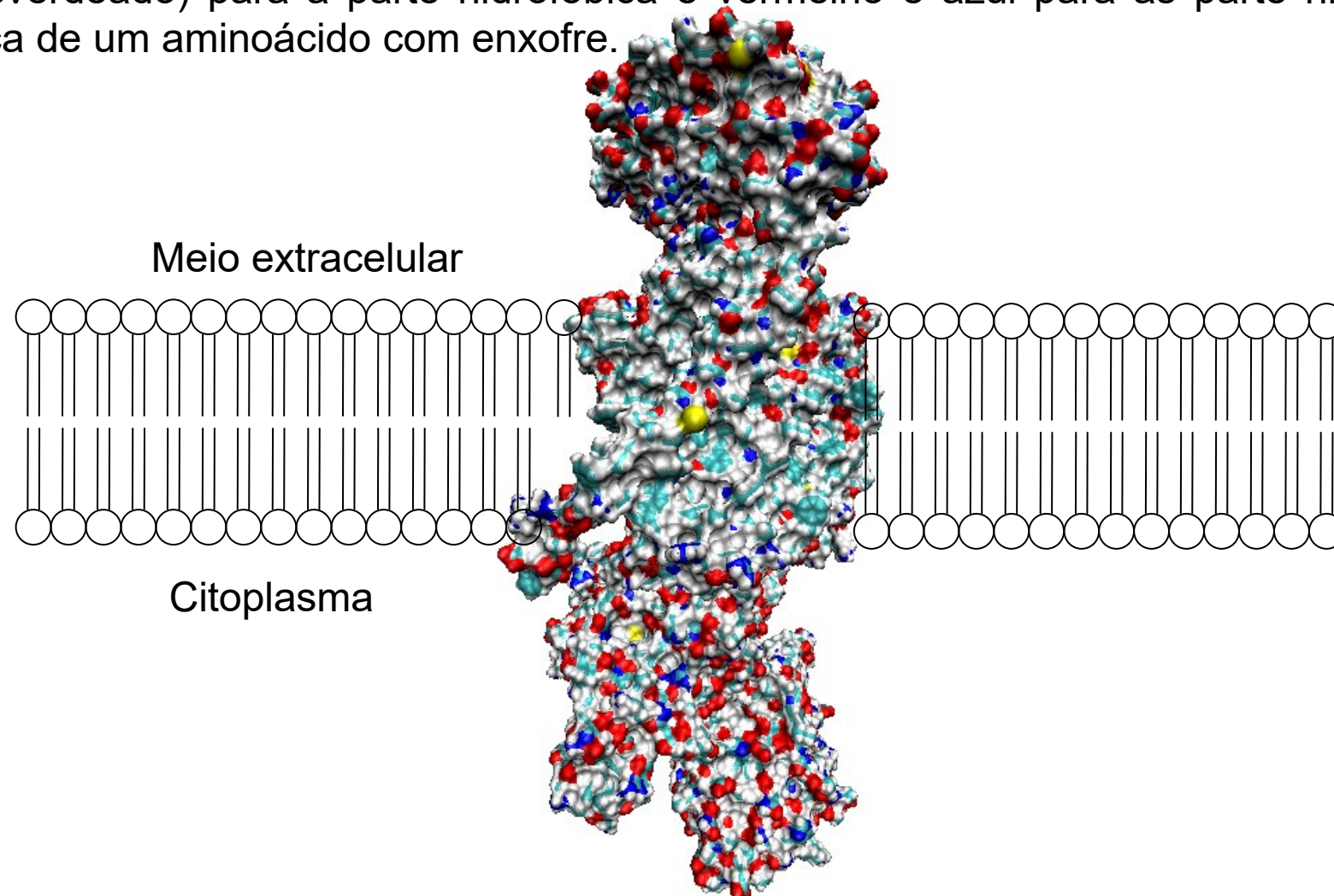
Bomba de Sódio e Potássio

A bomba de Na^+/K^+ apresenta um domínio rico em hélices, que podemos prever estão em contato com a parte hidrofóbica na bicamada, como indicado abaixo.



Bomba de Sódio e Potássio

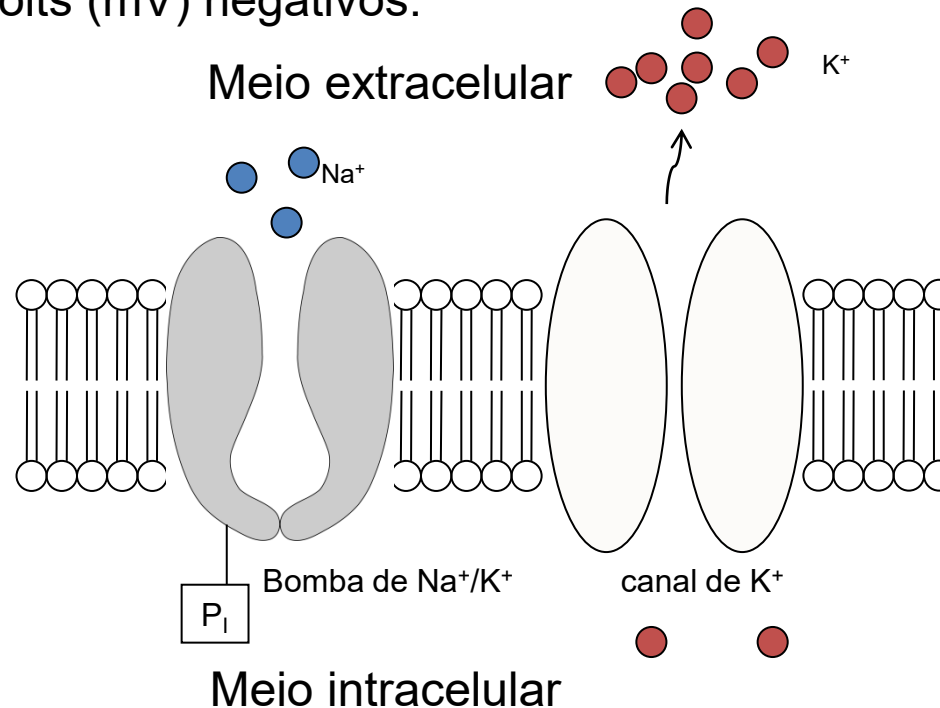
Abaixo temos a representação da superfície molecular da bomba de sódio e potássio. Usamos a cor ciano (azul esverdeado) para a parte hidrofóbica e vermelho e azul para as parte hidrofílicas. O amarelo indica a presença de um aminoácido com enxofre.



Como vimos para o receptor de acetilcolina, a parte da proteína em contato com as caudas da bicamada de fosfolipídios são preponderantemente hidrofóbicas.

Potencial de Repouso

O meio intracelular de um neurônio em repouso apresenta **um potencial elétrico negativo** com relação ao meio extracelular, chamado **potencial de repouso**. Proteínas intrínsecas, chamadas **canais de potássio**, apresentam-se abertas, permitindo a saída de íons de potássio (K^+). Assim, a saída de íons K^+ deixa um excesso de carga negativa no interior da célula e, como resultado, um potencial negativo. A ação conjunta da bomba de sódio e potássio e do canal de potássio leva a um acúmulo de carga positiva no meio extracelular. Tal situação, tem como consequência uma diferença de potencial negativa do meio intracelular com relação ao meio extracelular. Se colocarmos um **eletrodo** no interior de um neurônio em repouso, teremos um potencial elétrico de algumas dezenas de milivolts (mV) negativos.



Potencial de Repouso

Nas próximas semanas iremos usar o programa HHsim para realizar a simulação computacional de fenômenos elétrico na célula. Caso vocês tenham notebook ou desktop seria interessante, **mas não obrigatório**, a instalação do programa.



HHsim: Graphical Hodgkin-Huxley Simulator

David S. Touretzky, Mark V. Albert, Nathaniel D. Daw, Alok Ladsariya and Mahtiyar Bonakdarpour

HHsim is a graphical simulation of a section of excitable neuronal membrane using the Hodgkin-Huxley equations. It provides full access to the Hodgkin-Huxley parameters, membrane parameters, stimulus parameters, and ion concentrations. To learn about the Hodgkin-Huxley equations, see:

- [Channeling with Bard](#), an online tutorial by [G. Bard Ermentrout](#).
- [Biophysics of Computation: Information Processing in Single Neurons](#), by Christof Koch. (See [chapter 6](#).)
- [Theoretical Neuroscience](#), by [Peter Dayan](#) and [Larry F. Abbott](#). (See [chapter 5](#).)
- [A Simple Sodium - Potassium Gate Model](#), by James K. Peterson.

In contrast with NEURON or GENESIS, which are vastly more sophisticated research tools, HHsim is simple educational software designed specifically for graduate or undergraduate neurophysiology courses. The user interface can be mastered in a couple of minutes and provides many ways for the student to experiment.

HHsim is **free software** distributed under the GNU [General Public License](#). The official HHsim web site is at <http://www.cs.cmu.edu/~dst/HHsim/>. The [online documentation](#), including sample [screen shots](#), is available on this web site, and also included with the program when you download it. Also included are [sample exercises](#) that use the simulator.

Download HHsim Now

HHsim is available as a Windows or MacOS executable file that does not require a Matlab license. Source code is included. It is also available in source-only form; use that version on Linux. The latest release of HHsim is version 3.6, released in March/July 2017.

<p>Windows/x86_64 Version 3.6 - March 15, 2017 HHsim_36_win.zip (682 MB)</p>	<p>Linux Please run the source version.</p>	<p>Mac OS X (Intel Architecture) Version 3.6 - July, 2017 HHsim3_6_Mac.zip</p>
<p>Matlab source code only Version 3.6 - March 15, 2017 hhsim_36_source.zip or browse the code online</p>		

Installation Instructions (version 3.6)

Windows:

1. Unzip hhsim_36_win.zip to a directory of your choice.
2. Run HHsim_36.exe, which is the HHsim installer. You must have Administrator rights on the machine in order to run the installer.
3. Ignore the "Connection" option and just keep pressing the "Next" button.
4. The installer will first install the MATLAB Runtime Component, allowing you to run standalone MATLAB applications. It will then install HHsim and leave an icon on your desktop.
5. You are now ready to use HHsim.

Linux:

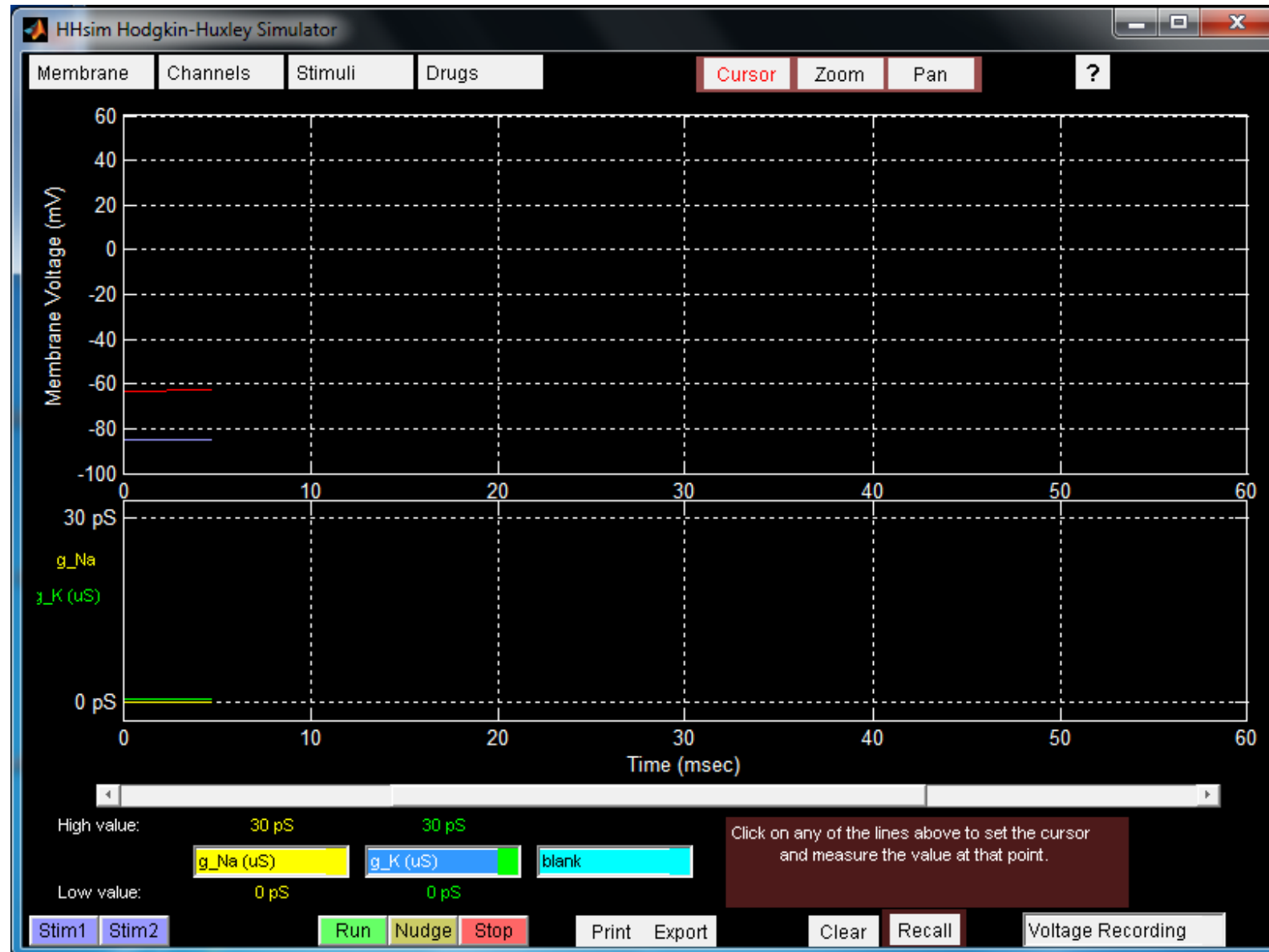
- Please run HHsim from source. You will need to install MATLAB first.

O HHsim está disponível no link:

<http://www.cs.cmu.edu/~dst/HHsim/> Há versões para Windows, Mac e Linux.

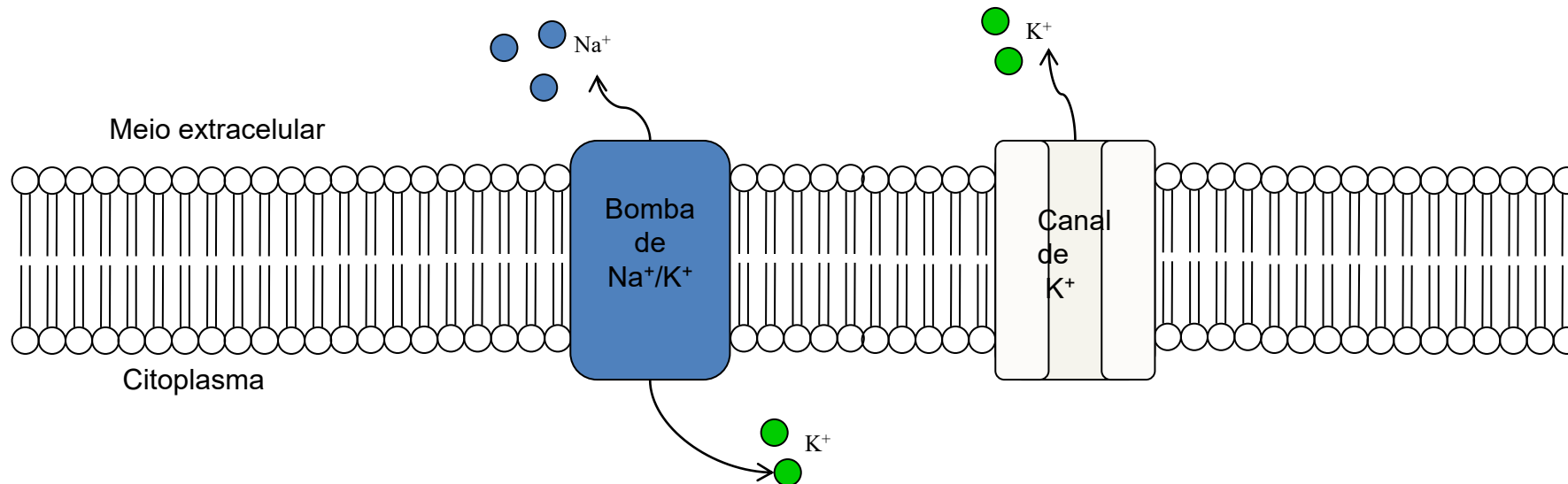
Potencial de Repouso

Ao lado temos a tela inicial do HHsim.



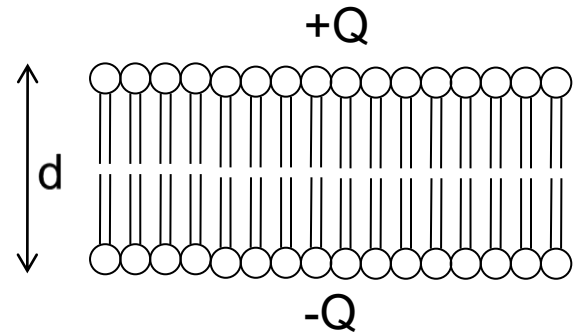
Potencial de Repouso

Como vimos anteriormente, o potencial de repouso é resultado da ação conjunta da bomba de sódio e potássio e do canal de potássio. A bomba de sódio e potássio envia 3 íons de sódio (Na^+) para o meio extracelular e 2 íons de potássio (K^+) para o meio intracelular, com gasto de uma molécula de ATP (adenosina trifosfato). Aproximadamente um terço do ATP gasto pela célula é usado pela bomba de sódio e potássio para manter este fluxo iônico. O canal de potássio permite que o excesso de potássio seja expelido da célula, sem gasto de ATP. A ação conjunta das duas proteínas intrínsecas leva a uma perda de carga positiva pela célula, causando o aparecimento de um potencial negativo no meio intracelular, este potencial é chamado de potencial de repouso, pois não precisamos de estímulo externo para gerá-lo.

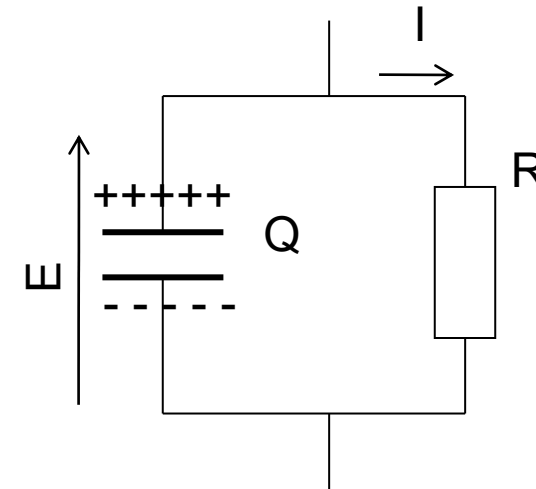


Potencial de Repouso

Em repouso, a membrana celular comporta-se como um circuito resistivo capacitivo. A **resistância elétrica** é a oposição à passagem dos íons pela membrana. A capacitância é o acúmulo da carga elétrica entre os dois lados da membrana. No meio intracelular temos carga negativa (-Q) e positiva no meio extracelular (+Q).



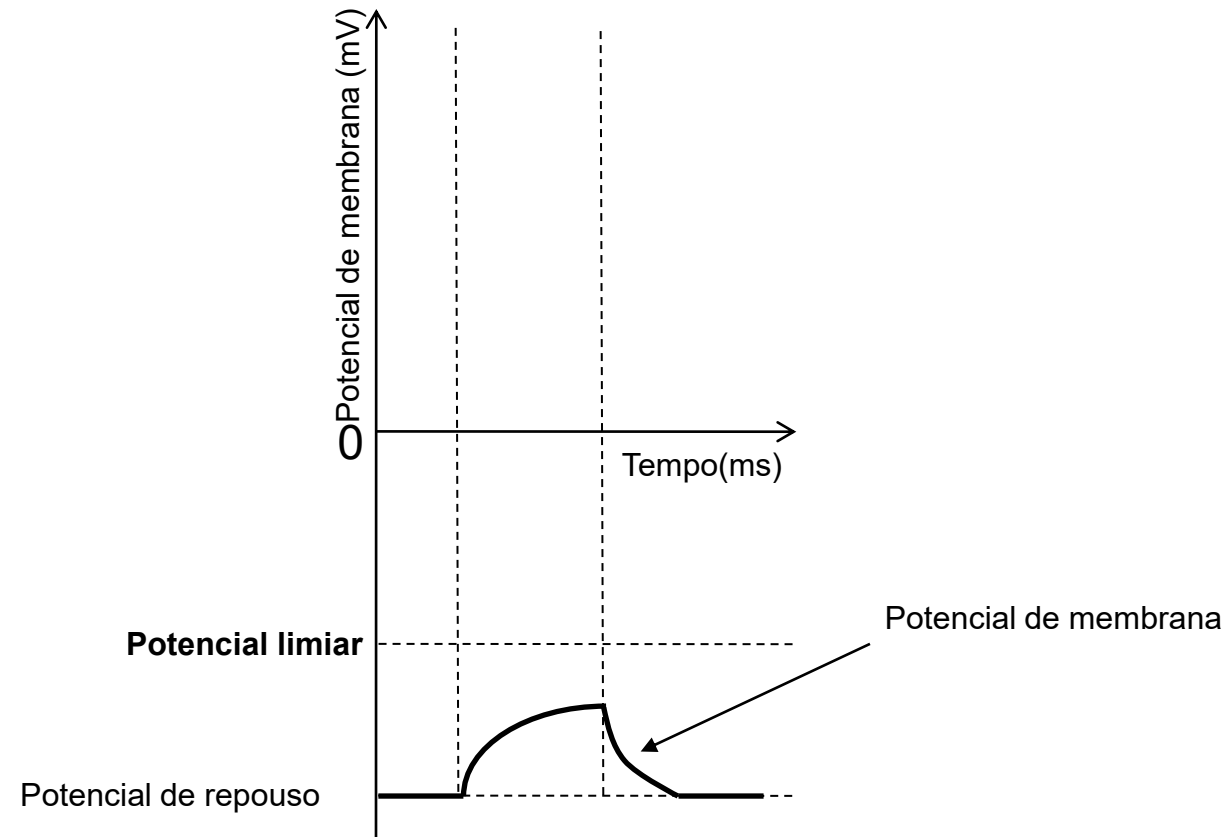
Membrana Celular
(Bicamada Fosfolipídica)



Circuito RC

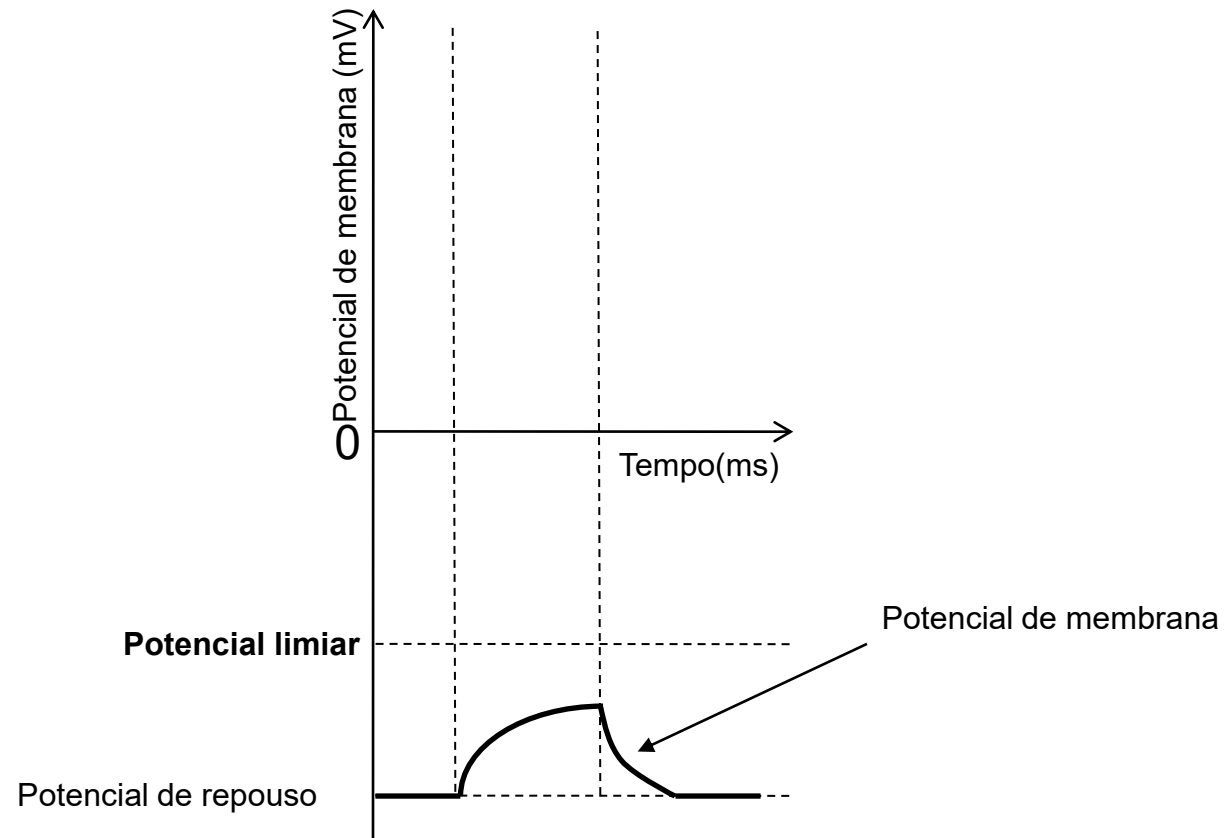
Potencial de Repouso

Um estímulo elétrico na membrana leva a um pequeno aumento do **potencial da membrana** (veja o gráfico). Esse aumento é breve (da ordem de milissegundos), logo a membrana volta ao repouso. O estímulo indicado aqui eleva o potencial de membrana poucos milivolts, onde potencial de membrana fica abaixo de um valor de referência chamado **potencial limiar**. Veja no gráfico, que durante todo o processo o potencial de membrana está negativo (abaixo de zero).



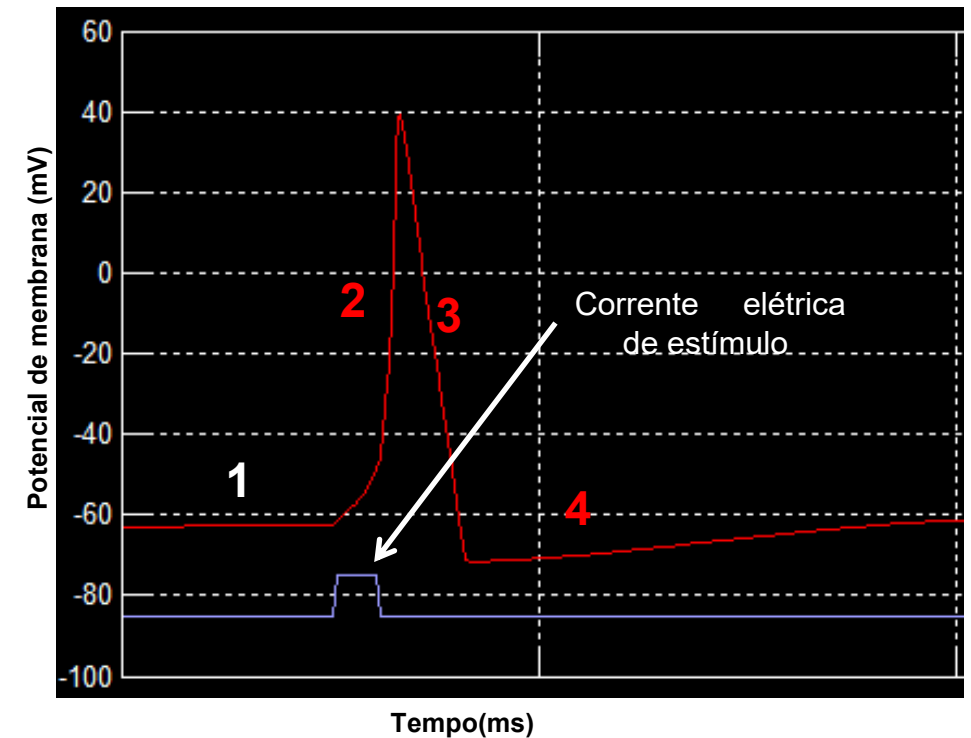
Potencial de Repouso

Durante o estímulo (choque elétrico) o potencial de membrana sobe. Ao encerrar o estímulo, o potencial diminui e volta ao repouso. Veja que o aumento e a descida do potencial de membrana são processos tênues, onde há um aumento suave do potencial elétrico seguida de uma queda também suave deste potencial.



Potencial de Ação

Quando o neurônio passa para o estado de **potencial de ação**, temos um aumento do potencial de membrana, além do potencial limiar. O aumento do potencial elétrico leva o neurônio a uma situação onde há **influxo** de sódio, entram em ação dois outros canais transmembranares, os canais de sódio e Potássio, ambos dependentes do potencial elétrico da membrana. Aqui cabe uma pequena observação. Na linguagem física **não** usamos o termo “voltagem” em português para indicar potencial elétrico, contudo, a grande maioria dos textos de fisiologia em português, quando referem-se aos canais citados, usa a denominação “dependentes de voltagem”. No presente texto usaremos os termos “canais dependentes de voltagem”, para mantermos os termos usados na área de fisiologia.

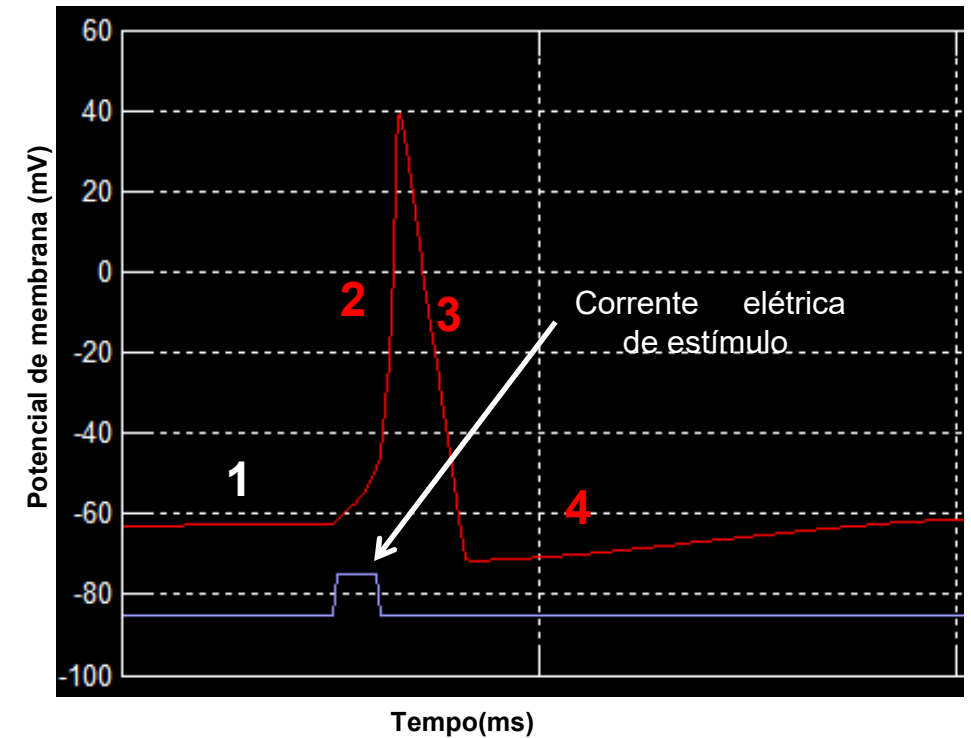


Fases indicadas no gráfico acima

- 1 Potencial de repouso
 - 2 **Despolarização**
 - 3 **Repolarização**
 - 4 **Hiperpolarização**
- Potencial de ação**

Potencial de Ação

As etapas canônicas do potencial de ação ocorrem devido à ação coordenada dos canais de sódio e potássio dependentes de voltagem. A abertura do **canal de sódio dependente de voltagem (despolarização)**, o fechamento do canal de sódio e abertura do canal de potássio (**repolarização e hiperpolarização**), conforme vemos no gráfico ao lado. A linha roxa indica o estímulo que é dado para o início do potencial de ação, veja que o estímulo não está em escala com o potencial indicado pela linha vermelha. O eixo horizontal é o eixo do tempo (ms), e o eixo vertical o eixo do potencial de membrana (mV). A linha vermelha indica a variação do potencial de membrana, durante as diferentes etapas do potencial de ação. O neurônio é considerado inicialmente em potencial de repouso.

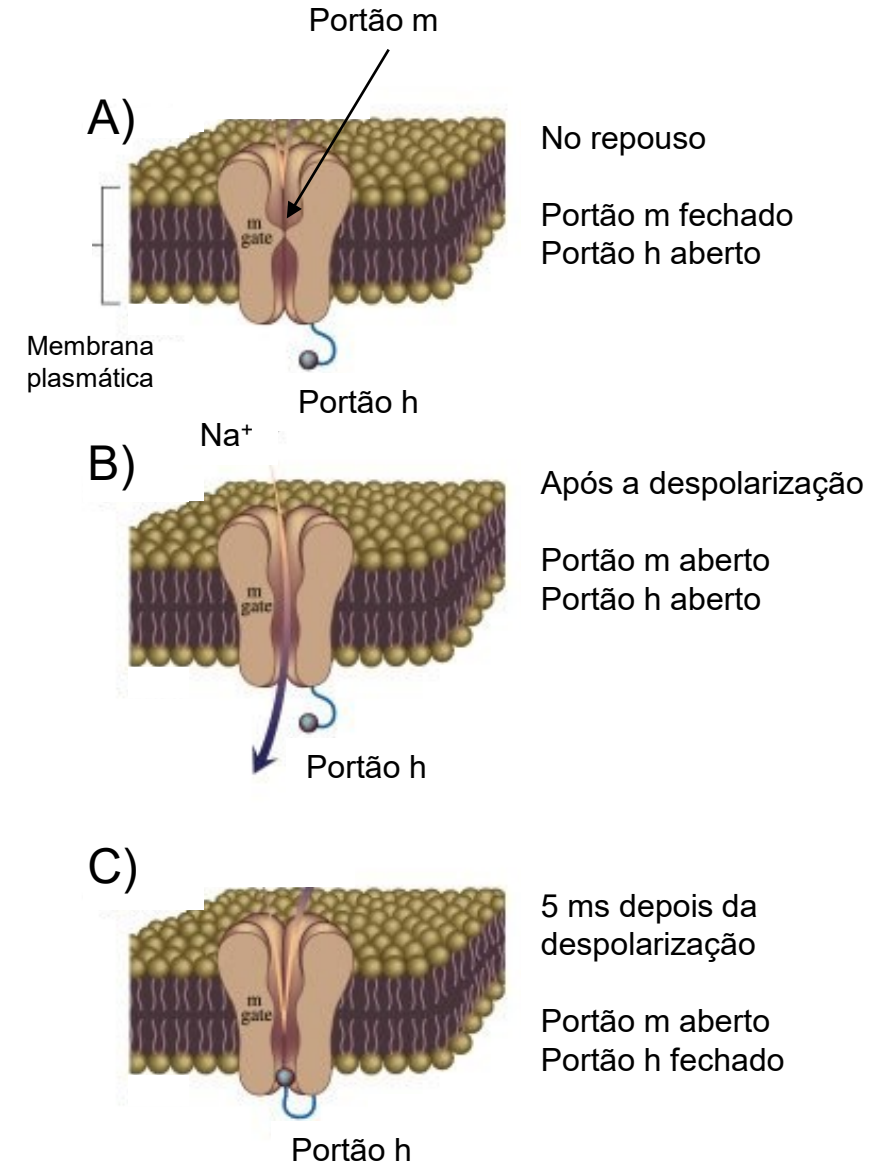


Fases indicadas no gráfico acima

- 1 Potencial de repouso
 - 2 **Despolarização**
 - 3 **Repolarização**
 - 4 **Hiperpolarização**
- Potencial de ação**

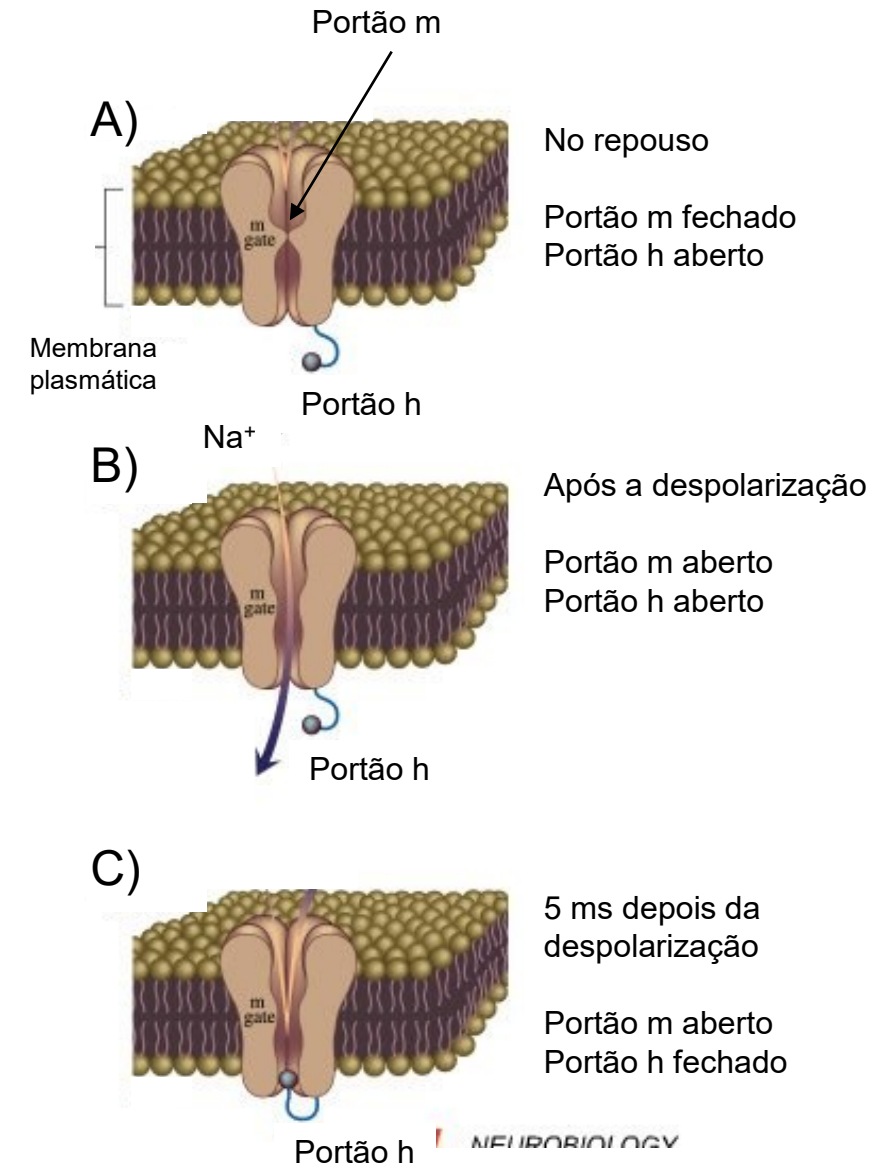
Potencial de Ação

O canal de sódio é um tipo especializado de canal iônico dependente de voltagem (potencial elétrico). Sua abertura está condicionada ao aumento do potencial de membrana acima do potencial limiar. Quando temos um potencial de membrana, acima de um valor limite de potencial (potencial limiar), o canal abre-se, permitindo o influxo de íons de sódio na célula. O canal permanece aberto por aproximadamente 1 milissegundo (1 ms). Tempo suficiente para elevar o potencial de membrana para dezenas mV positivos. O canal de sódio possui dois portões distintos, portões m (de **ativação**) e h (de **inativação**). O portão h fecha-se após a despolarização e permanece fechado, não permitindo o início de um novo potencial de ação (**período refratário**).



Potencial de Ação

Os canais de potássio abrem-se imediatamente após a despolarização, o que permite a saída de carga positiva da célula, na forma de íons de potássio. O canal de potássio fica aberto durante a fase de repolarização, onde o potencial de membrana será trazido a valores negativos, chegando a ficar mais negativo que o potencial de repouso, durante a fase seguinte, chamada de fase de hiperpolarização.



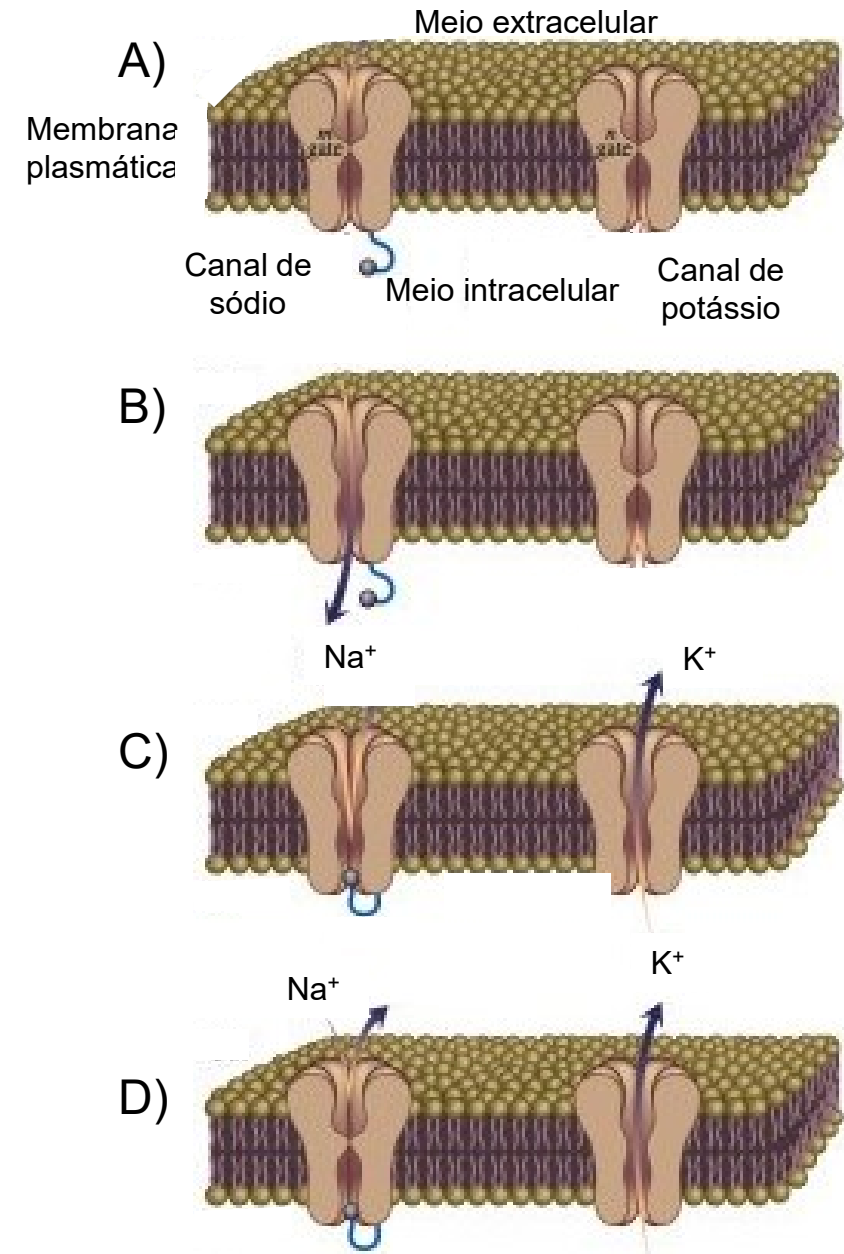
Potencial de Ação

Descrição do potencial de ação: A) Os canais de sódio e potássio estão fechados (**potencial de repouso**).

B) O aumento do potencial na membrana leva o canal de sódio dependente de voltagem a abrir-se, o que permite o rápido influxo de sódio na célula, aumentando de forma significativa o potencial de membrana. Esta fase é chamada **despolarização** (ou fase ascendente).

C) Aproximadamente 1 ms depois, os canais de sódio fecham-se e os canais de potássio dependentes de voltagem (potencial elétrico) abrem-se, permitindo a saída do excesso de carga positiva da célula. Esta fase é a de **repolarização** (ou fase descendente).

D) A saída de grande quantidade de íons de potássio leva a célula a atingir um potencial de membrana abaixo do potencial de repouso. Esta fase é chamada de **hiperpolarização**.



Modelo de Hodgkin-Huxley

O **modelo de Hodgkin-Huxley** foi proposto em 1952 ([Hodgkin and Huxley, 1952](#)) para modelar o **potencial de ação** do axônio de **sépie**. A sépie é um **cefalópode** que apresenta um axônio com diâmetro maior que o axônio de vertebrados, o que facilita inserção de eletrodos para medição do potencial de membrana.



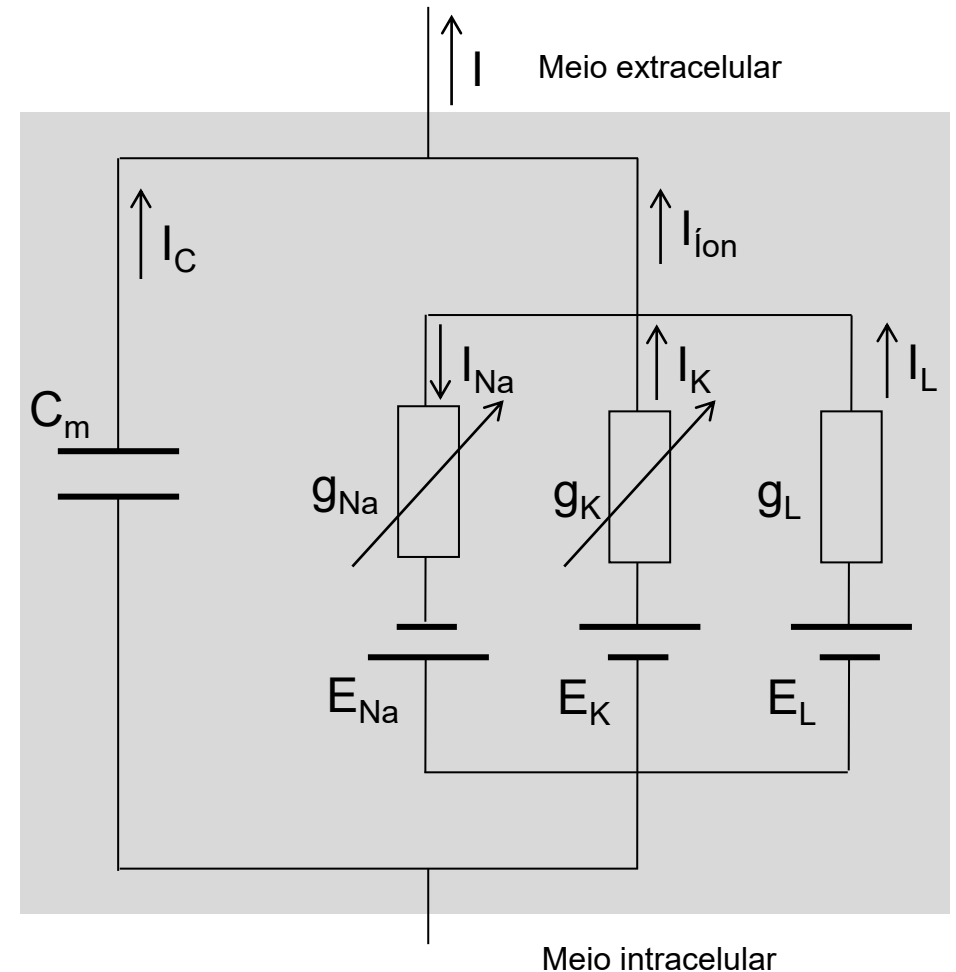
Referência: Hodgkin AL, Huxley AF. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J Physiol.* 1952; 117(4): 500–544. doi: 10.1113/jphysiol.1952.sp004764. PMID: 12991237 [PubMed](#)

Modelo de Hodgkin-Huxley

Na figura ao lado, temos o circuito elétrico equivalente da membrana celular durante o potencial de ação, chamado de **modelo de Hodgkin-Huxley**. No circuito temos 3 tipos de correntes iônicas, a corrente do sódio (I_{Na}), a corrente do potássio (I_K) e uma terceira corrente chamada em inglês de “leak current” (I_L), que é composta principalmente de íons de cloro. A principal contribuição do modelo Hodgkin-Huxley foi a introdução das condutâncias na análise do comportamento elétrico do axônio. **A condutância (g) é o inverso da resistência elétrica (R), conforme a equação abaixo:**

$$g = \frac{1}{R}$$

A unidade de condutância é o Siemens (1 S = 1/Ohm).



Circuito elétrico equivalente a membrana celular, segundo o modelo de Hodgkin-Huxley.

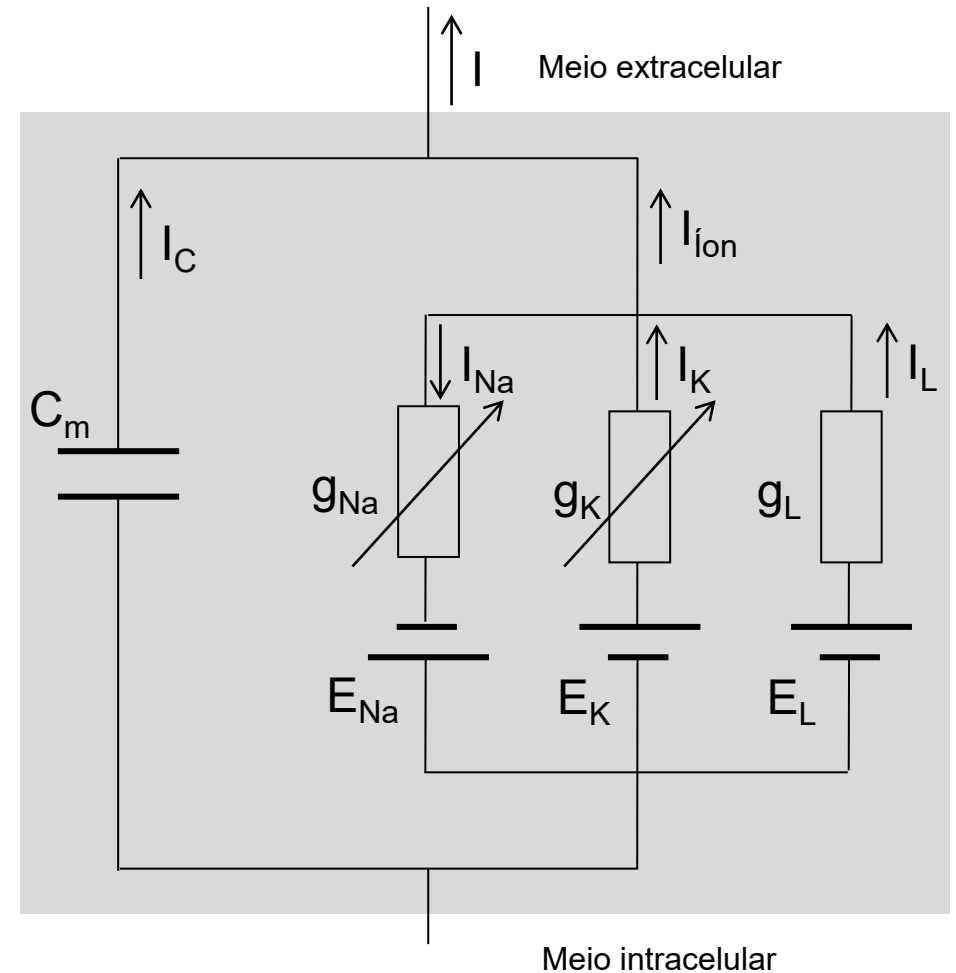
Modelo de Hodgkin-Huxley

Ao incluirmos as condutâncias (g), temos a possibilidade de modelar o potencial de ação, considerando o circuito equivalente ao lado. Temos as condutâncias para sódio (g_{Na}), potássio (g_K) e uma terceira para o termo “leak” (g_L), ou seja, vazamento de íons. A corrente total (I) é a soma da corrente iônica (I_{ion}) e a corrente capacitiva (I_C), como segue:

$$I = I_C + I_{ion} \quad .$$

A corrente iônica total (I_{ion}) é dada pela soma de todas as correntes devido a cada canal (I_{Na} e I_K) e a terceira corrente (I_L) é constante e minoritária. Assim temos,

$$I_{ion} = I_{Na} + I_K + I_L$$



Circuito elétrico equivalente a membrana celular, segundo o modelo de Hodgkin-Huxley.

Modelo de Hodgkin-Huxley

Vemos no circuito equivalente a presença de 3 fontes de potencial, nominalmente E_{Na} , E_K e E_L , relativas ao sódio, potássio e vazamento (*leak*). Considerando a análise do circuito, temos as seguintes equações para as correntes que formam a corrente iônica,

$$I_{Na} = g_{Na} (V - E_{Na}) ,$$

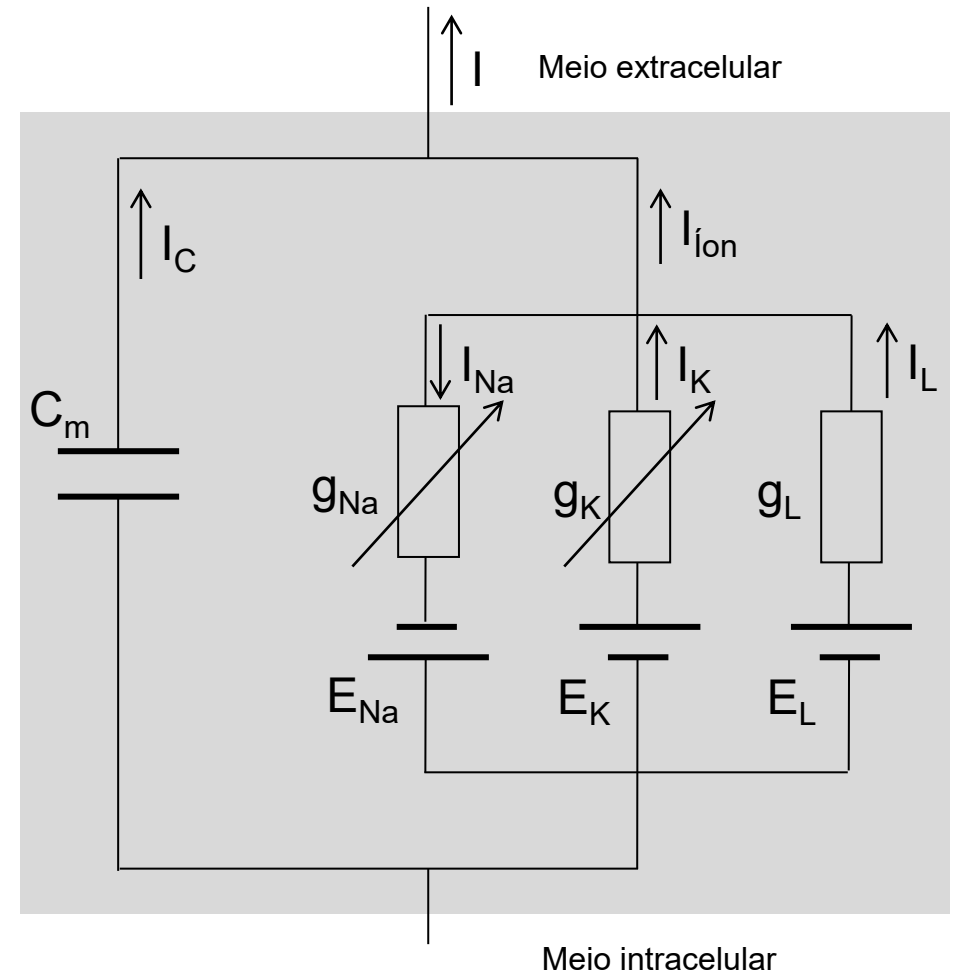
$$I_K = g_K (V - E_K)$$

e

$$I_L = g_L (V - E_L)$$

onde V é o potencial da membrana.

Veja no circuito que as condutâncias do sódio (g_{Na}) e do potássio (g_K) são variáveis e a condutância de vazamento é constante.



Circuito elétrico equivalente a membrana celular, segundo o modelo de Hodgkin-Huxley.

Modelo de Hodgkin-Huxley

Usando o circuito equivalente, vemos que na fase de **despolarização** temos a condutância do sódio alta, o que permitirá entrada de deste íons na célula, elevando a corrente I_{Na} e o potencial de membrana (V). Na fase **repolarização**, teremos aumento condutância do potássio, o que levará este íon para o meio extracelular e diminuirá potencial de membrana.

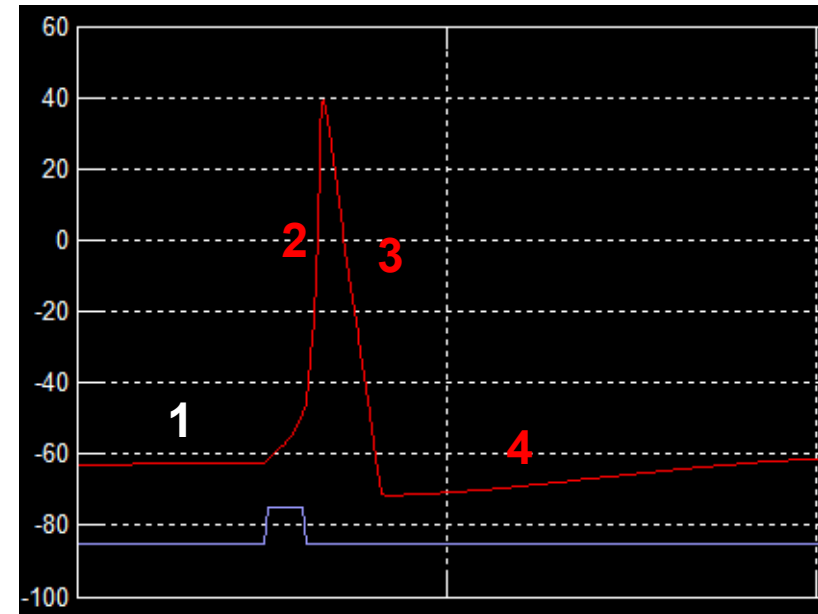
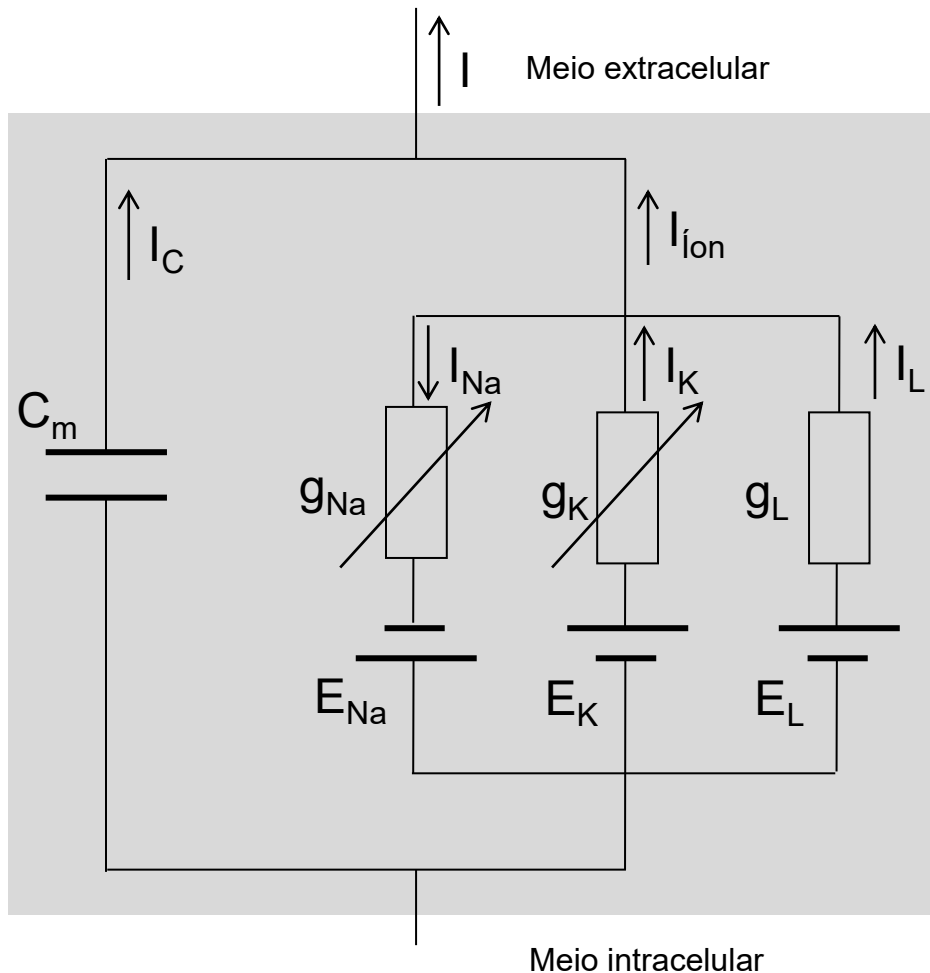


Gráfico do potencial contra o tempo (linha vermelha), gerado pelo HHSim (<http://www.cs.cmu.edu/~dst/HHSim/>).

Simulação Computacional

O **modelo de Hodgkin-Huxley** é um modelo computacional, sendo considerado o primeiro modelo da abordagem de **biologia de sistemas**. Esse modelo descreve a resposta do axônio de sépia a diferentes estímulos elétricos. Temos a implementação do modelo computacional de Hodgkin-Huxley (modelo HH) em diversos programas. Apresentaremos aqui um que foi implementado na linguagem MatLab, chamado HHsim que está disponível no site <http://www.cs.cmu.edu/~dst/HHsim/>. A partir do simulador do potencial de ação (Hhsim), podemos testar diferentes tipos de estímulos elétricos aplicados ao axônio, bem como o efeito de moléculas que interagem com os canais iônicos.

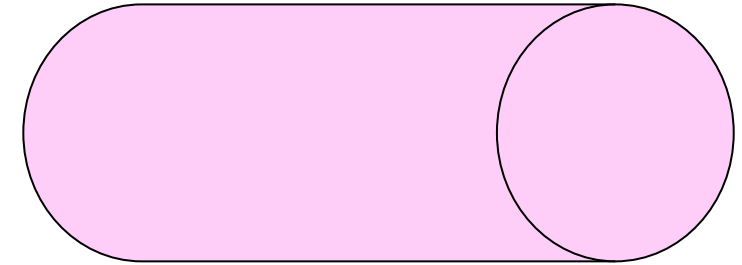


Diagrama esquemático de uma seção do axônio de sépia.

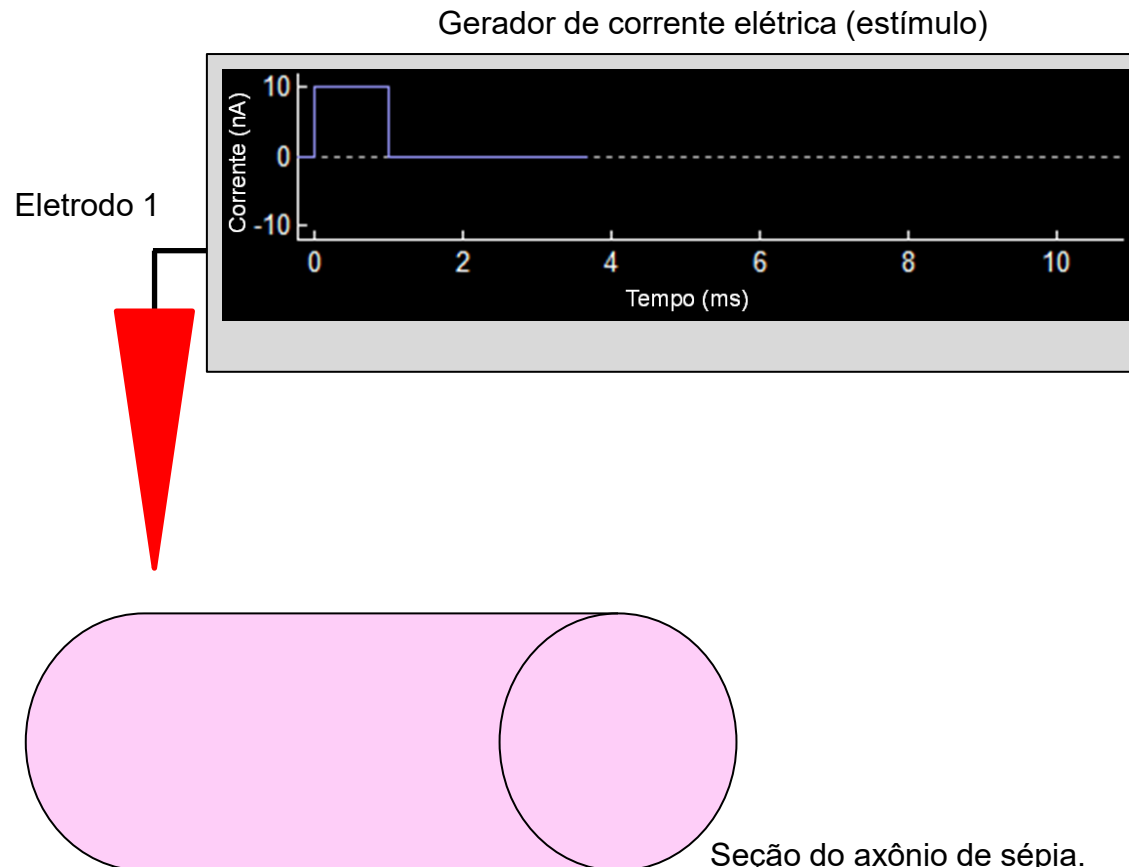


Axônio pré-sináptico da sépia, colorido em rosa para destaque.

Fonte: http://dels-old.nas.edu/USNC-IBRO-USCRC/resources_methods_squid.shtml

Simulação Computacional

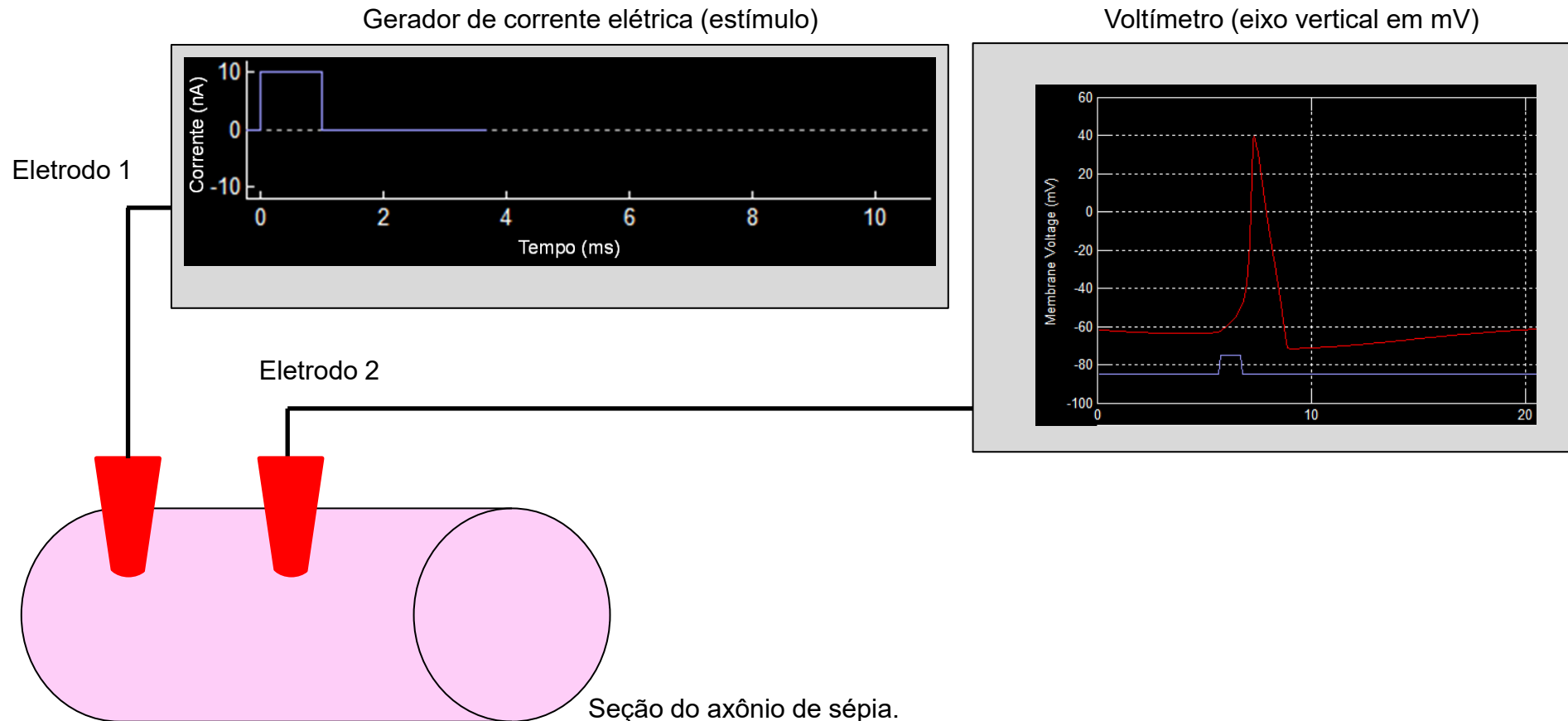
O diagrama esquemático abaixo ilustra o arranjo experimental simulado no HHsim. Temos o cilindro representando uma seção do axônio da sépia, onde foram inseridos 2 eletrodos. Temos o eletrodo 1 responsável pelo estímulo, que será medido em unidades de corrente elétrica, nA (nanoAmpère, 10^{-9} A).



Referência: Hodgkin AL, Huxley AF. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J Physiol.* 1952; 117(4): 500–544. doi: 10.1113/jphysiol.1952.sp004764. PMID: 12991237 [PubMed](#)

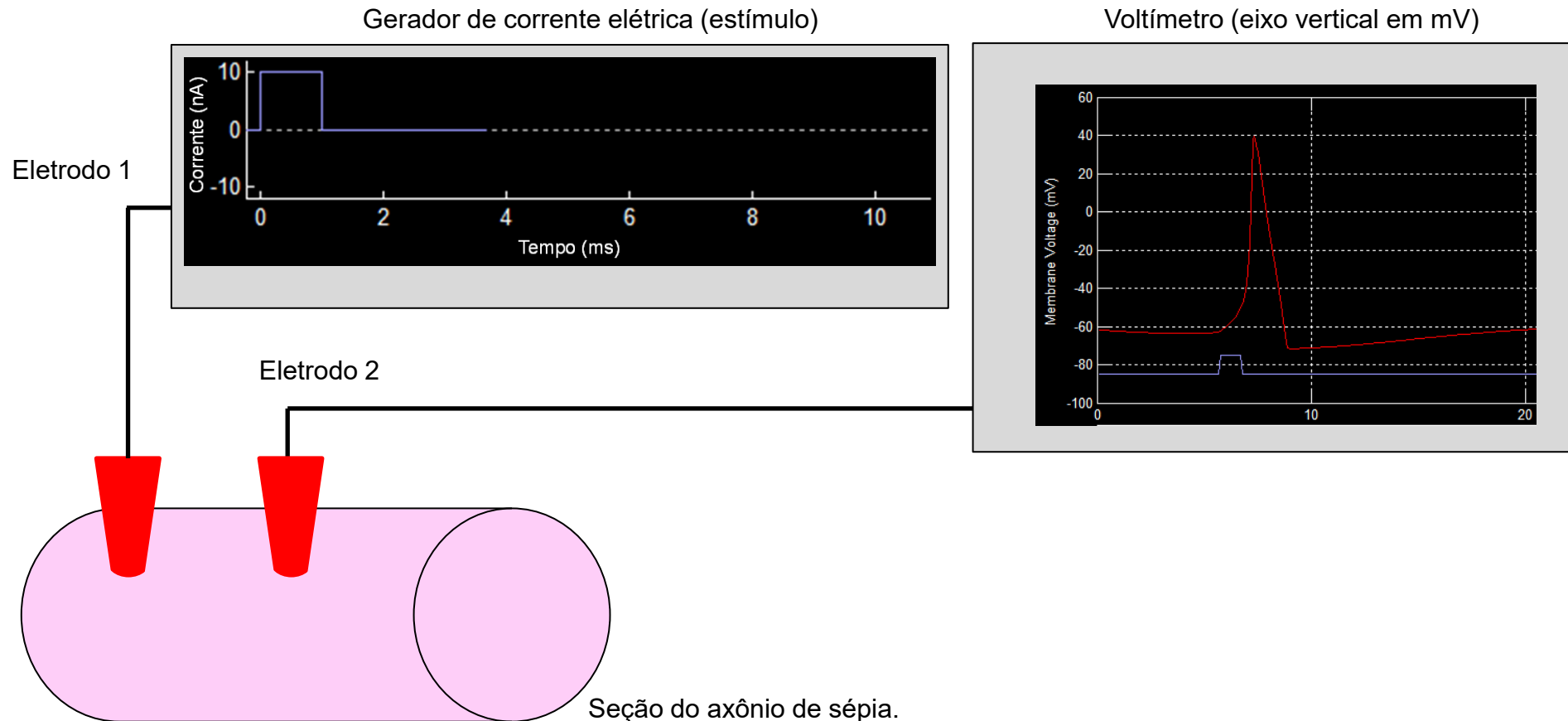
Simulação Computacional

Temos um segundo eletrodo (eletrodo 2) inserido após o eletrodo 1. O posicionamento de eletrodo 2 indica que ele está mais próximo do terminal axonal que o eletrodo 1. Assim, o estímulo gerado no eletrodo 1 pode propagar-se ao longo do axônio e ser registrado no eletrodo 2. O eletrodo 2 está ligado a um voltímetro, que registra o potencial de membrana em mV em função do tempo (eixo horizontal).



Simulação Computacional

Na situação ilustrada abaixo, temos que o voltímetro mostra a evolução temporal (eixo horizontal) do potencial de membrana, num período de 20 ms, suficiente para vermos todas as fases do potencial de ação (despolarização, repolarização e hiperpolarização).



Simulação Computacional

Vamos usar o HHsim para destacar as características do potencial de ação. Na figura abaixo temos a situação de potencial de repouso. A linha vermelha indica o potencial da membrana (em repouso), a linha roxa indica o estímulo aplicado, a linha amarela a condutância do Na^+ e a verde a condutância do K^+ .

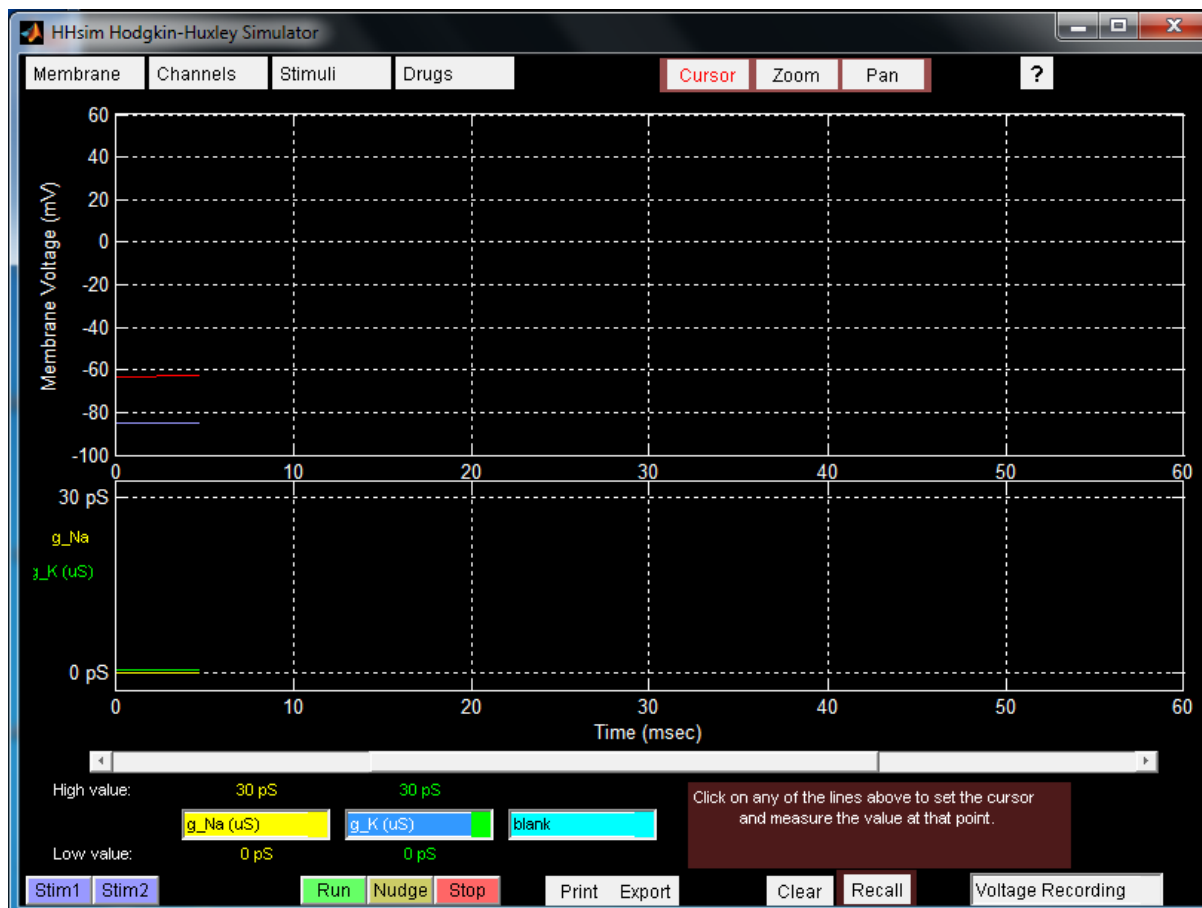


Gráfico do potencial contra o tempo (linha vermelha), gerado pelo HHsim.

Simulação Computacional

Aplicamos um estímulo, linha roxa, temos que o potencial de membrana atinge um valor acima do potencial limiar (linha vermelha). Em tal situação, abrem-se os canais de Na^+ dependentes de voltagem. Confirmamos a situação, verificando a condutância do Na^+ (linha amarela), que começa a subir, indicando o influxo de Na^+ . O eixo horizontal é o do tempo. Todo evento está registrado em pouco mais de 20 ms.

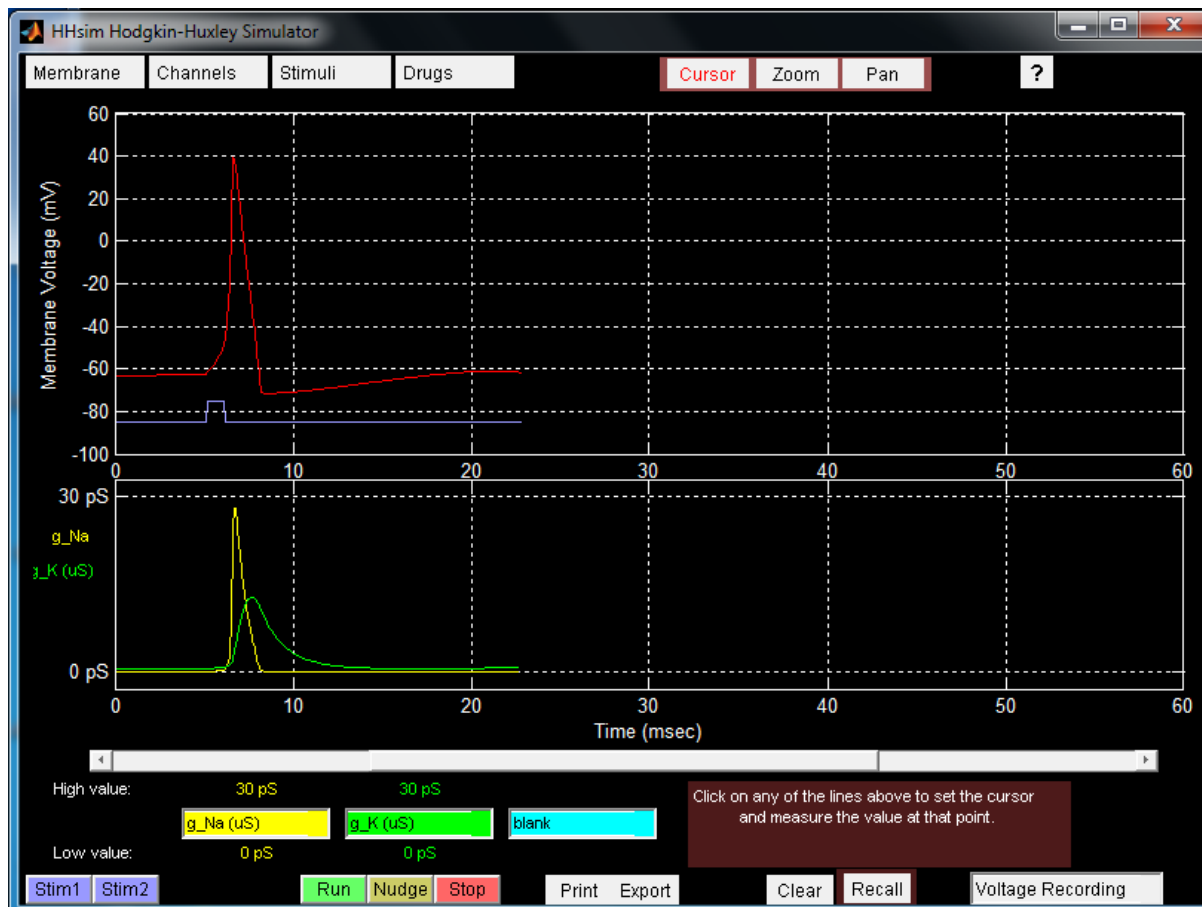


Gráfico do potencial contra o tempo (linha vermelha), gerado pelo HHsim.

Simulação Computacional

Comparando-se as condutâncias, vemos que a condutância do Na^+ (linha amarela) atinge o valor máximo, antes da a condutância do K^+ (linha amarela). Isto deve-se ao fato do canal de Na^+ dependente de voltagem abrir-se antes do canal de K^+ dependente de voltagem.

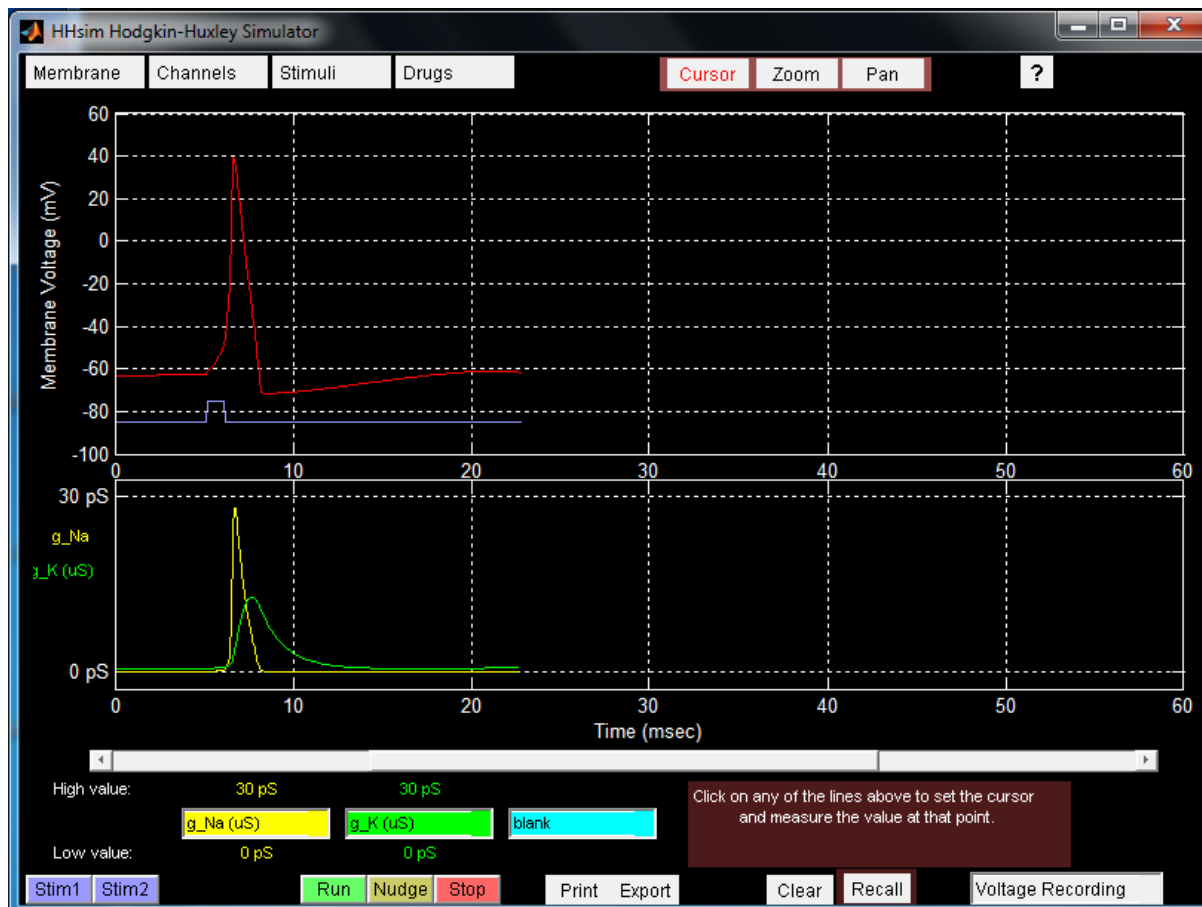


Gráfico do potencial contra o tempo (linha vermelha), gerado pelo HHsim.

Simulação Computacional

Depois de poucos milissegundos, ambos canais estão fechados, como vemos com as condutâncias retornando para o valor zero. Depois de mais alguns milissegundos, o potencial de membrana (linha vermelha) retorna ao valor de repouso.

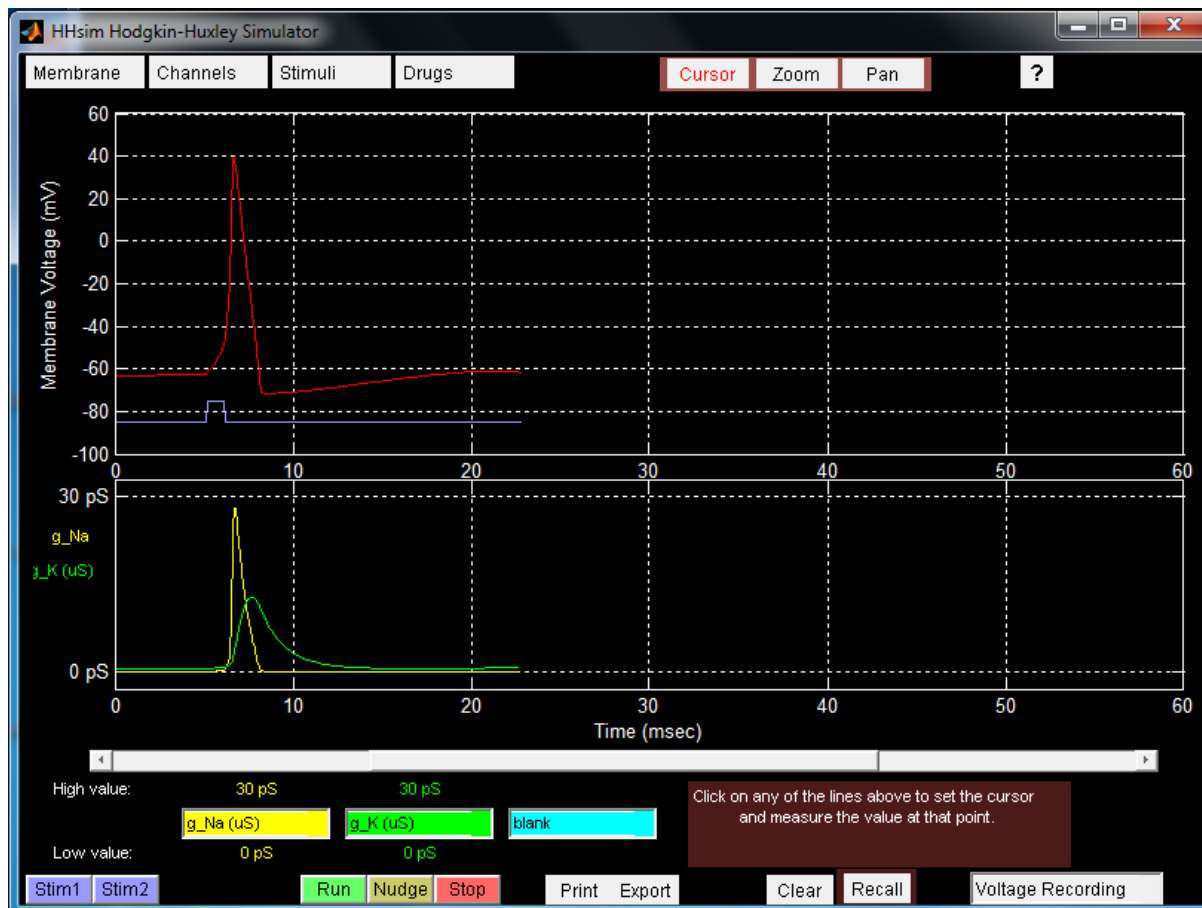
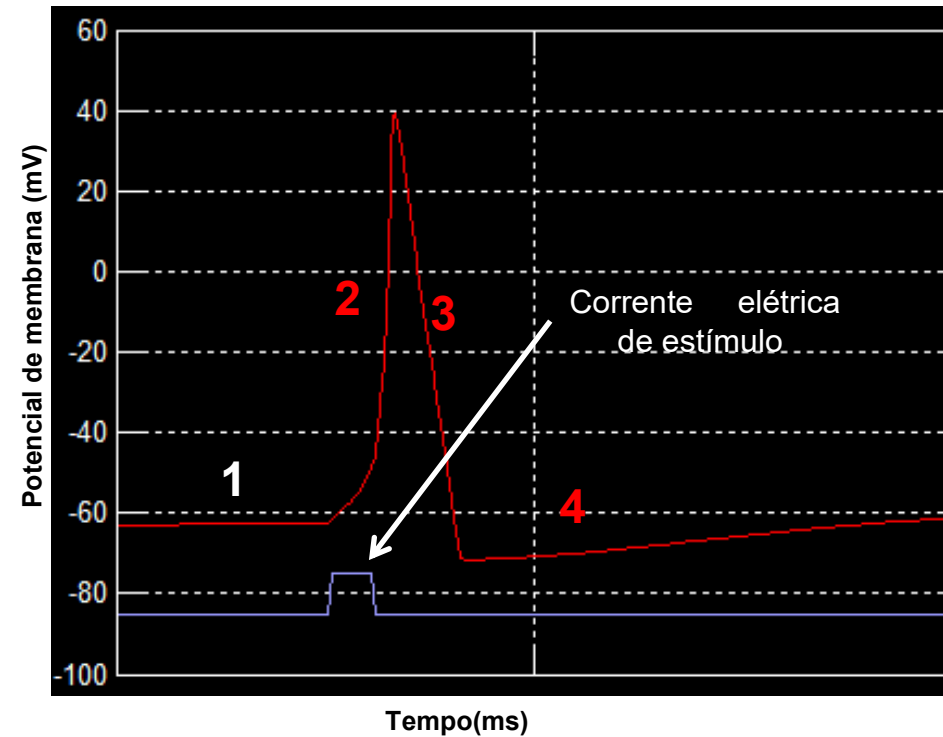


Gráfico do potencial contra o tempo (linha vermelha), gerado pelo HHsim.

Simulação Computacional



Fases indicadas no gráfico acima

1 Potencial de repouso

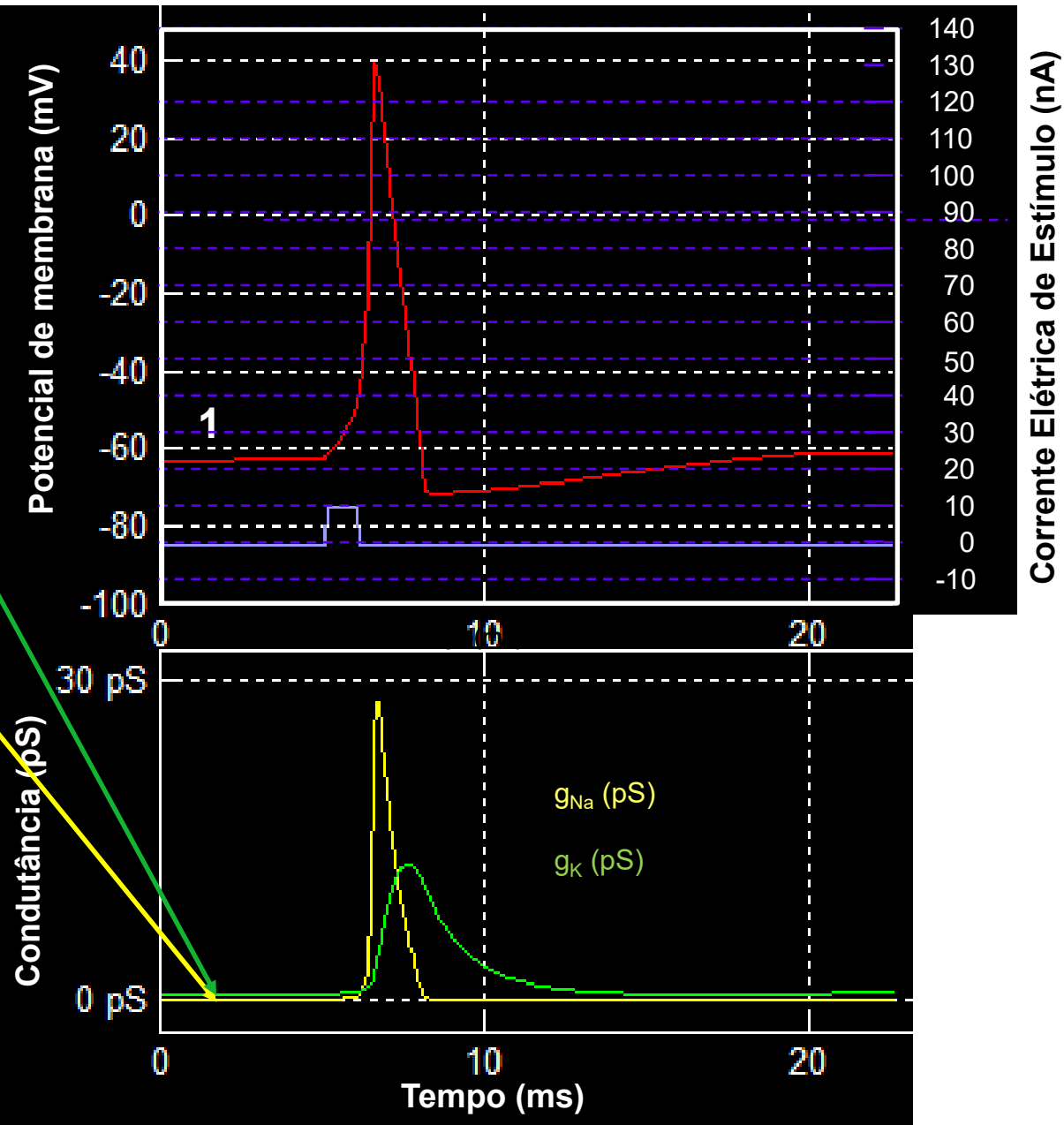
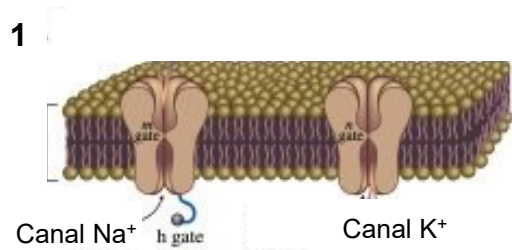
2 Despolarização

3 Repolarização

4 Hiperpolarização

Potencial de ação

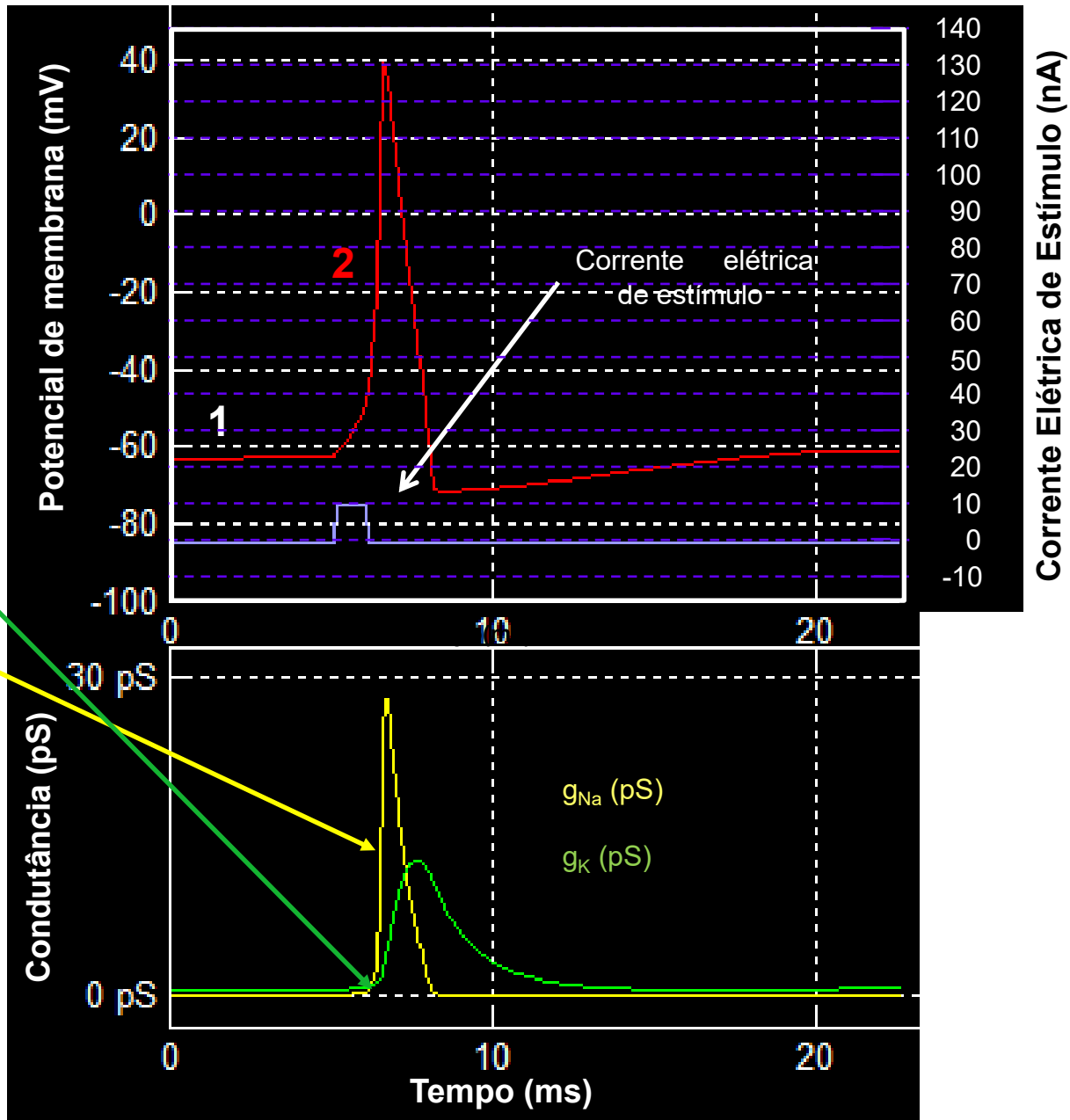
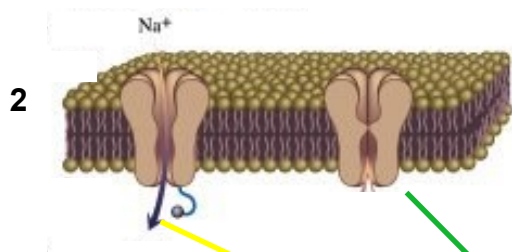
Simulação Computacional



Fases indicadas no gráfico

- 1 Potencial de repouso
 - 2 **Despolarização**
 - 3 **Repolarização**
 - 4 **Hiperpolarização**
- Potencial de ação

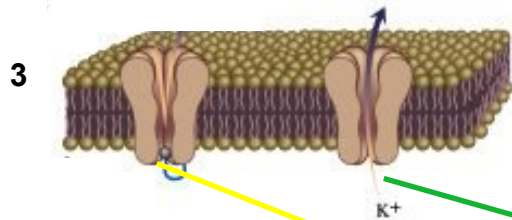
Simulação Computacional



Fases indicadas no gráfico

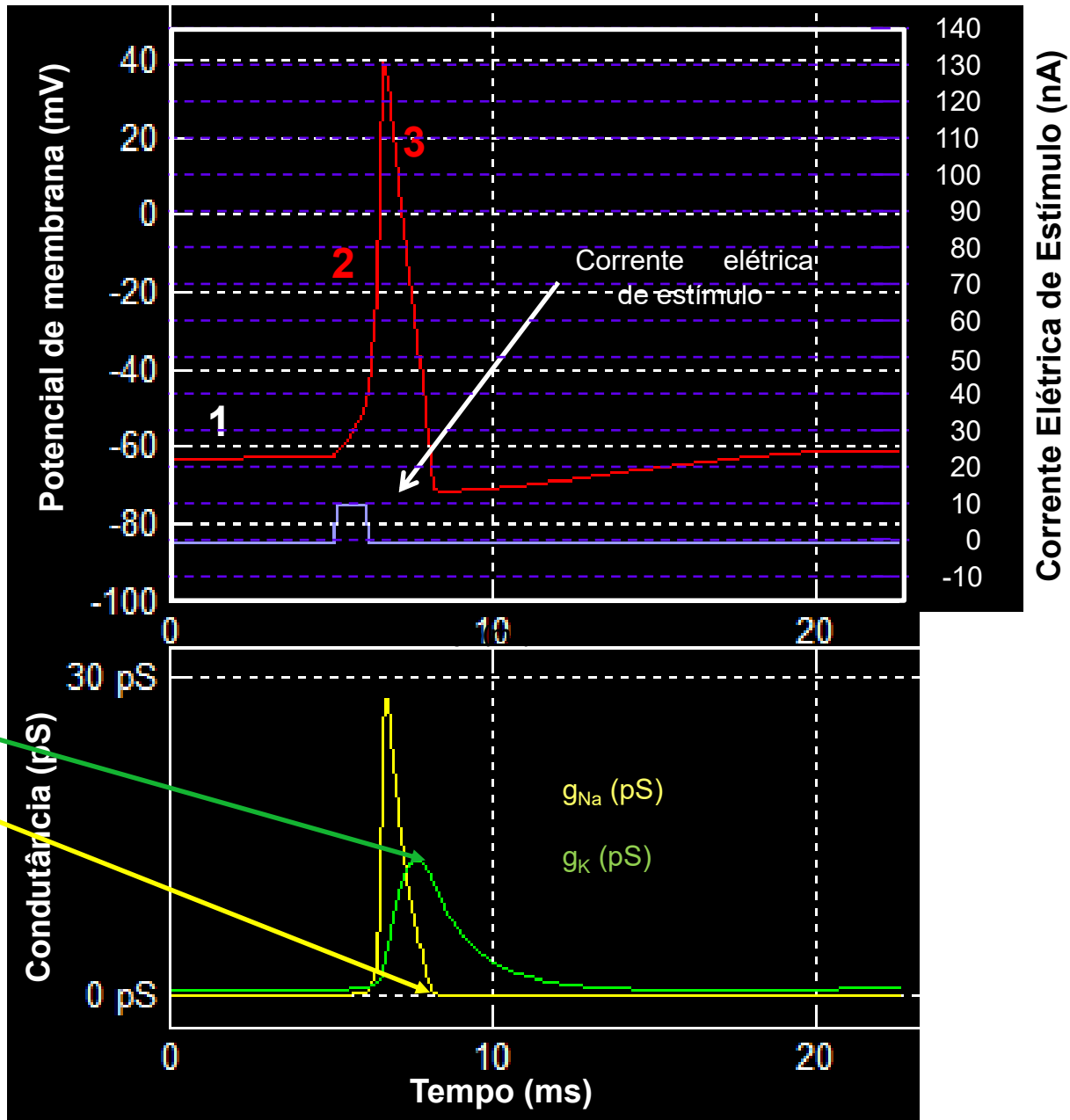
- 1 Potencial de repouso
 - 2 **Despolarização**
 - 3 **Repolarização**
 - 4 **Hiperpolarização**
- Potencial de ação**

Simulação Computacional

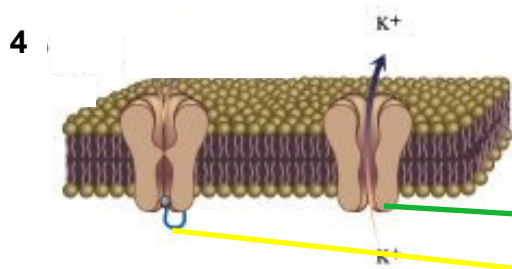


Fases indicadas no gráfico

- 1 Potencial de repouso
 - 2 **Despolarização**
 - 3 **Repolarização**
 - 4 **Hiperpolarização**
- Potencial de ação**

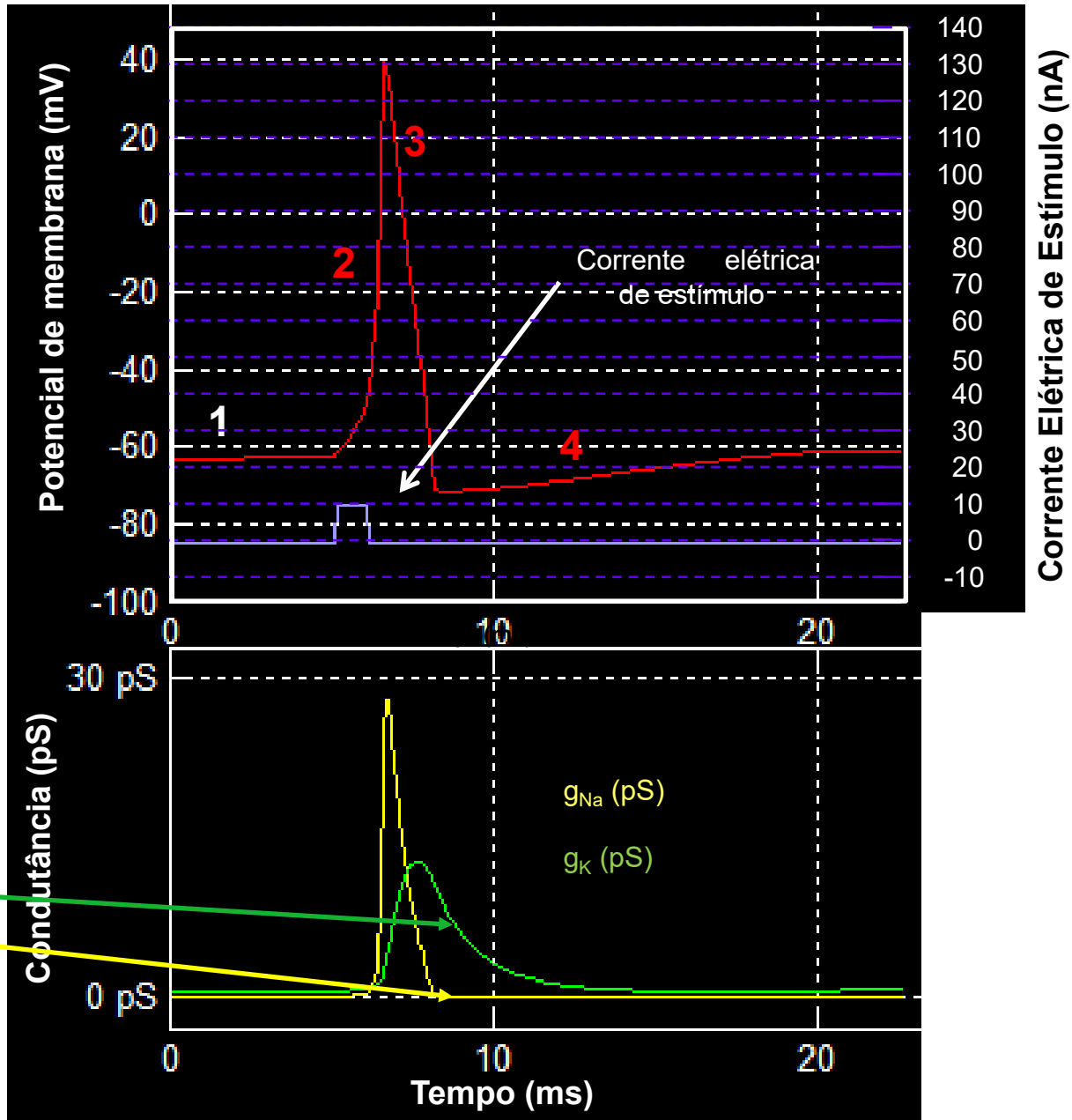


Simulação Computacional

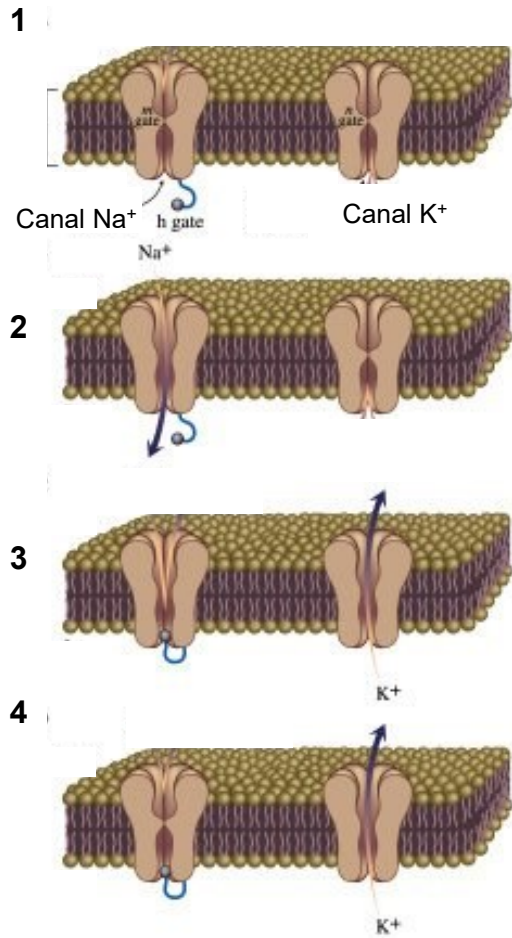


Fases indicadas no gráfico

- 1 Potencial de repouso
 - 2 **Despolarização**
 - 3 **Repolarização**
 - 4 **Hiperpolarização**
- Potencial de ação**

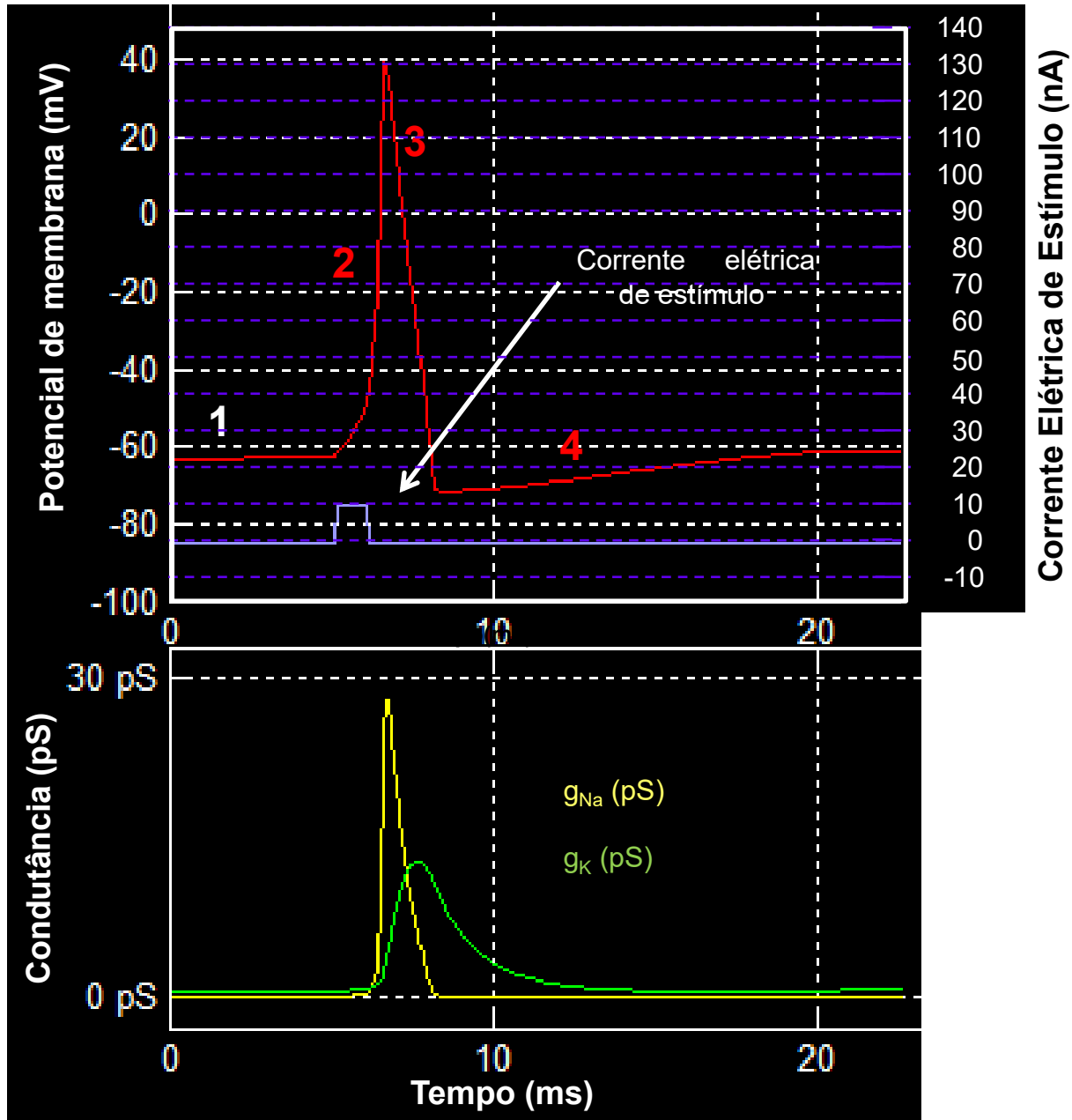


Simulação Computacional



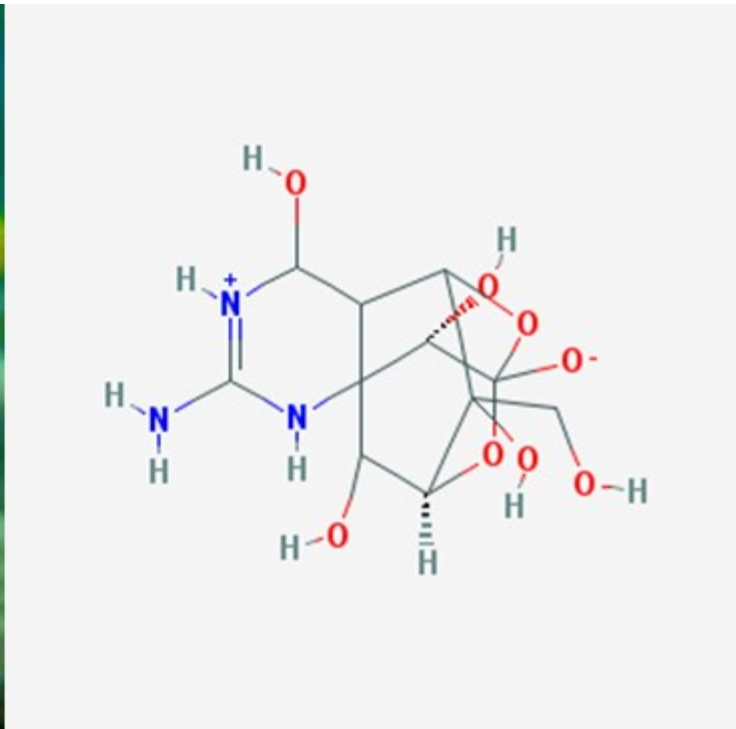
Fases indicadas no gráfico

- 1 Potencial de repouso
 - 2 **Despolarização**
 - 3 **Repolarização**
 - 4 **Hiperpolarização**
- Potencial de ação**



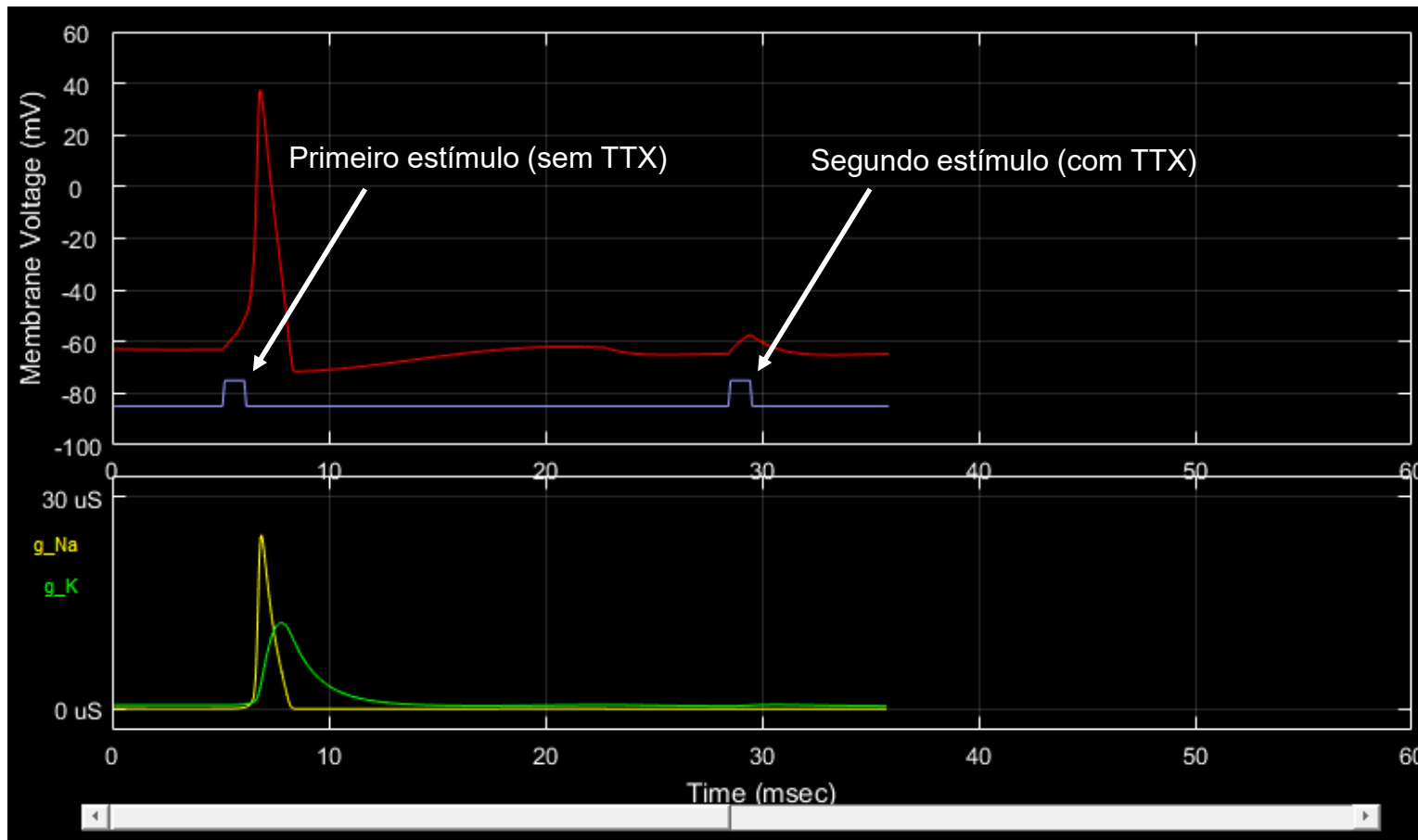
Simulação Computacional

A tetrodotoxina (TTX) é capaz de bloquear o canal de sódio dependente de voltagem. Essa toxina é encontrada no peixe baiacu.



Simulação Computacional

Abaixo temos a situação do potencial de membrana de um axônio de sépia simulado com o HHsim (<https://www.cs.cmu.edu/~dst/HHsim/>). No primeiro estímulo não temos TTX. No segundo estímulo temos TTX. Vemos que com TTX não há disparo do potencial de ação. A TTX funciona fechando o canal de sódio dependente de voltagem, o que não possibilita o disparo do potencial de ação.



Cristalografia por Difração de Raios X

Nesta aula vimos o papel biológico de diversas proteínas. A partir da informação sobre a estrutura tridimensional dessas moléculas conseguimos traçar uma relação entre a estrutura e sua função biológica. Como os biofísicos sabem a estrutura tridimensional das proteínas? A principal técnica usada é a cristalografia por difração de raios X. As estruturas tridimensionais dessas proteínas estão disponíveis no site do [protein data bank](https://www.rcsb.org).

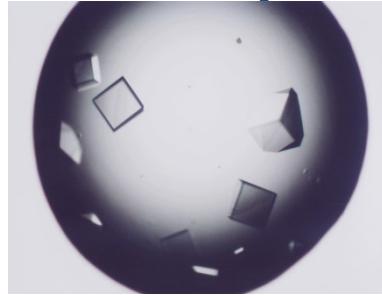
The screenshot shows the RCSB PDB website homepage. The browser address bar displays <https://www.rcsb.org>. The navigation menu includes: RCSB PDB, Deposit, Search, Visualize, Analyze, Download, Learn, About, Documentation, Careers, COVID-19, MyPDB, and Contact us. The main content area features the RCSB PDB logo, statistics (220,113 Structures from the PDB and 1,068,577 Computed Structure Models (CSM)), a search bar with the placeholder text "Enter search term(s), Entry ID(s), or sequence", and an "Include CSM" toggle. Below the search bar are links for "Advanced Search" and "Browse Annotations". A banner at the bottom of the main content area reads "Access Computed Structure Models (CSMs) of available model organisms" with a "Learn more" button. The left sidebar contains a "Welcome" message and a list of navigation options: Deposit, Search, Visualize, Analyze, and Download. The right sidebar features a "May Molecule of the Month" section with a 3D protein structure visualization.

Cristalografia por Difração de Raios X

O site do protein data bank ([rcsb.org](https://www.rcsb.org)) é uma base de dados com centenas de milhares de estruturas de proteínas, a maioria resolvida pela técnica de cristalografia por difração de raios X. A cristalografia determinada com precisão a posição de cada átomo da proteína. Para vocês terem uma ideia, uma proteína pequena tem milhares de átomos. No próximo slide mostramos os principais passos da técnica de cristalografia.

The screenshot shows the RCSB PDB website homepage. The browser address bar displays <https://www.rcsb.org>. The navigation menu includes: RCSB PDB, Deposit, Search, Visualize, Analyze, Download, Learn, About, Documentation, Careers, COVID-19, MyPDB, and Contact us. The main content area features the RCSB PDB logo, statistics (220,113 Structures from the PDB and 1,068,577 Computed Structure Models (CSM)), a search bar with the placeholder text "Enter search term(s), Entry ID(s), or sequence", and an "Include CSM" toggle. Below the search bar are links for "Advanced Search" and "Browse Annotations". A banner at the bottom of the main content area reads "Access Computed Structure Models (CSMs) of available model organisms" with a "Learn more" button. The left sidebar contains a "Welcome" message and a list of navigation options: Deposit, Search, Visualize, Analyze, and Download. The right sidebar features a "May Molecule of the Month" section with a 3D protein structure visualization.

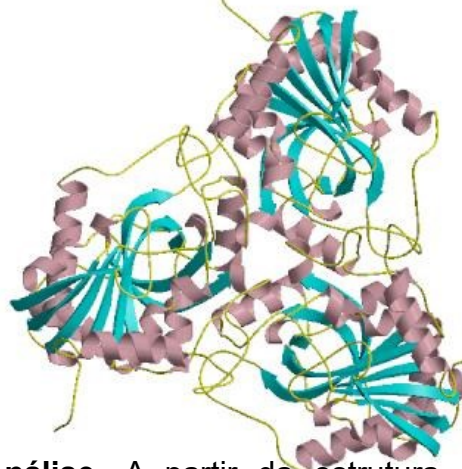
Cristalografia por Difração de Raios X



1. Cristalização. Nesta etapa a macromolécula é trazida a um estado de supersaturação que favorece a formação de cristais, como os mostrados acima. Os cristais de moléculas biológicas normalmente apresentam dimensões inferiores a 1 mm de comprimento em cada aresta.

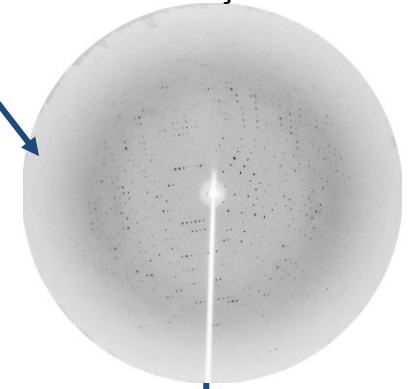


2. Coleta de dados de difração de raios X. Os cristais apresentam um arranjo ordenado de moléculas, como uma pilha de tijolos ordenados. Na analogia, cada tijolo representa uma molécula. As distâncias entre os átomos são da ordem de 1 Å (0,1 nm ou 10^{-10} m), usando-se raios X (com comprimento de onda da ordem de Å) teremos difração.

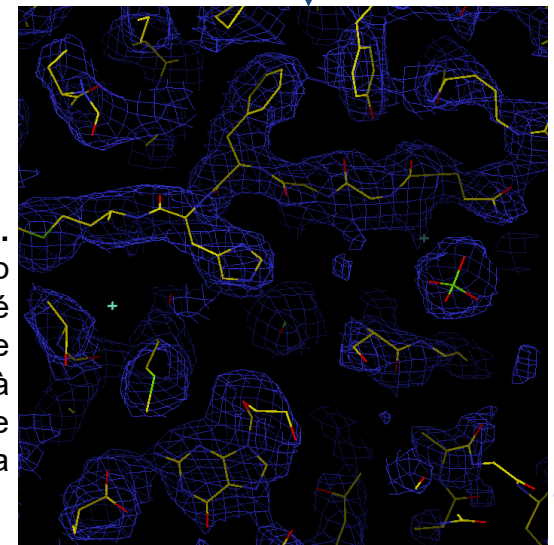


5. Análise. A partir da estrutura resolvida procedemos à análise, onde relaciona-se a estrutura 3D à sua função biológica.

3. Interpretação do padrão de difração de raios X. A figura abaixo é o registro da difração de raios X de um cristal. Os raios X interagem com o cristal, o que produz um padrão de difração. A análise dessa informação possibilita a resolução de estrutura 3D.



4. Resolução da estrutura. A partir da análise do padrão de difração é possível gerar mapas de densidade eletrônica (à direita). A interpretação de tais mapas gera a estrutura 3D de molécula.



Cristalografia por Difração de Raios X

Publications

The Impact of Crystallographic D

pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33568025/

Review > Curr Med Chem. 2021 Oct 27;28(34):7006-7022.

doi: 10.2174/0929867328666210210121320.

The Impact of Crystallographic Data for the Development of Machine Learning Models to Predict Protein-Ligand Binding Affinity

Martina Veit-Acosta¹, Walter Filgueira de Azevedo Junior²

Affiliations — collapse

Affiliations

- 1 Western Michigan University, 1903 Western, Michigan Ave, Kalamazoo, MI49008, United States.
- 2 Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS); Av. Ipiranga, 6681 Porto Alegre/RS 90619-900, Brazil.

PMID: 33568025 DOI: 10.2174/0929867328666210210121320

Abstract

Background: One of the main challenges in the early stages of drug discovery is the computational assessment of protein-ligand binding affinity. Machine learning techniques can contribute to predicting this type of interaction. We may apply these techniques following two approaches. Firstly, using the experimental structures for which affinity data is available. Secondly, using protein-ligand docking simulations

FULL TEXT LINKS

[BenthamScience Full-Text Article](#)

ACTIONS

[Cite](#)[Favorites](#)

SHARE



PAGE NAVIGATION

[Title & authors](#)[Abstract](#)[Similar articles](#)[Publication types](#)[MeSH terms](#)

Cristalografia por Difração de Raios X

Table 2. Structures available in the PDB for each type of binding affinity/thermodynamic data.

Binding Affinity/thermodynamic Data	Total ¹	X-ray ²	NMR ³	Neutron ⁴	EM ⁵
K_i	6681	6641	29	6	9
K_d	6077	5998	77	4	2
K_a	157	157	0	0	0
IC_{50}	8993	8952	28	2	12
EC_{50}	841	836	1	2	3
ΔG	140	138	1	1	0
ΔH	137	135	1	1	0

¹Total number of structures for which binding affinity/thermodynamic data is available; The numbers indicate entries available for each type of data. We may count the same complex more than once if it has more than one experimentally determined type of binding affinity/thermodynamic data.

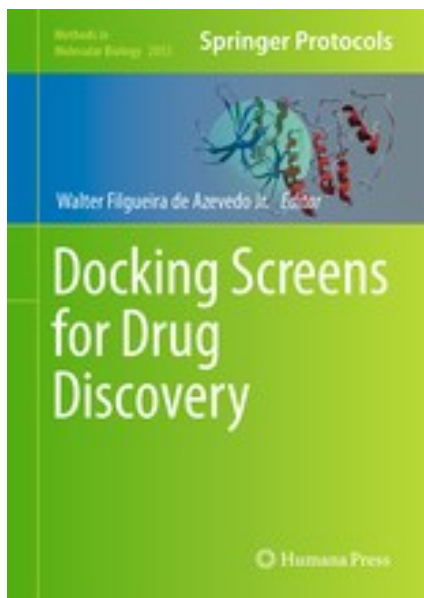
²Structures solved by X-ray crystallography for which binding affinity/thermodynamic data is available.

³Structures solved by nuclear magnetic resonance (NMR) for which binding affinity/thermodynamic data is available.

⁴Structures solved by neutron crystallography for which binding affinity/thermodynamic data is available.

⁵Structures solved by electron micrography (EM) for which binding affinity/thermodynamic data is available.

Autor



[Dr. Walter F. de Azevedo, Jr.](#) earned a BSc in Physics (1990), an MSc in Applied Physics (1992), and a DSc in Applied Physics (1997) from the University of São Paulo (Brazil). In his doctoral studies, Dr. Azevedo worked under the supervision of Prof. Yvonne Primerano Mascarenhas (University of São Paulo) and Prof. Sung-Hou Kim (University of California, Berkeley) on a split Doctoral program with a fellowship from the Brazilian Research Council (CNPq). During his first two years at Berkeley, he was under a CNPq fellowship (1993-95). Due to his performance, Prof. S.-H. Kim hired him as Visiting Researcher for the Department of Chemistry, University of California at Berkeley (1995-96).

The work developed during these three years at Berkeley resulted in his thesis about the structure of Cyclin-Dependent Kinase 2 (CDK2) in complex with inhibitors (PDB access code: [2A4L](#)) ([de Azevedo et al., 1996](#); [de Azevedo et al., 1997](#)). Dr. Azevedo is the first author of both papers, and these publications gathered more than [1,000 citations on the Web of Science](#). During 1997-98 he had a postdoc position at São Paulo State University (Unesp) with a [Fapesp](#) fellowship. He holds a habilitation degree in Physics (livre-docência) from the São Paulo State University (Unesp)(2004). In 1998, Dr. Azevedo participated in a research project with NASA that sent proteins to crystallize in a microgravity environment onboard the Space Shuttle Discovery (STS-95). This research had coverage of Brazilian [TV networks](#). He published a book entitled "[Docking Screens for Drug Discovery](#)" with Springer Nature in 2019. This book sold 46,000 copies (April 2024) with over 2 million dollars in sales (<https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4939-9752-7>). In 2020, the [Journal Plos Biology](#) ranked Dr. Azevedo among the most influential researchers in the world (Fields: Biochemistry & Molecular Biology and Biophysics).

Dr. Azevedo has vast editorial experience. He is the frontiers section editor (Bioinformatics/Biophysics) for the [Current Drug Targets](#), section editor (Bioinformatics in Drug Design and Discovery) for the [Current Medicinal Chemistry](#), review editor for [Frontiers in Chemistry](#), associate editor for [Exploration of Drug Science](#), member of the editorial boards [Molecular Diversity](#) and the [Journal of Molecular Structures](#), and editor of Docking Screens for Drug Discovery (Methods of Molecular Biology)-Springer Nature. He is a reviewer for over 60 high-impact journals, including Nature Communications and Briefings in Bioinformatics. His research interests are interdisciplinary, with three main emphases: machine learning, complex systems, and computational systems biology. Dr. Azevedo has over 200 scientific publications about protein structures, computer models of complex systems, and simulations of protein systems. These workers have over 7300 citations on the Web of Science ([h-index: 48. m-quotient: 1.7](#)), +7800 citations in Scopus ([h-index: 50](#)), and +9700 citations on Google Scholar ([h-index: 53](#)).

Referências

Bitencourt-Ferreira G, de Azevedo WF Jr. Molecular Dynamics Simulations with NAMD2. *Methods Mol Biol.* 2019; 2053: 109–124.

Compiani M, Capriotti E. Computational and theoretical methods for protein folding. *Biochemistry.* 2013;52(48):8601-24.

Da Silva AD, Bitencourt-Ferreira G, de Azevedo WF Jr. Taba: A Tool to Analyze the Binding Affinity. *J Comput Chem.* 2021; 41(1): 69–73.

De Azevedo WF Jr. Molecular dynamics simulations of protein targets identified in *Mycobacterium tuberculosis*. *Curr Med Chem.* 2011; 18(9):1353–1366.

Fourches D, Ash J. 4D-quantitative structure-activity relationship modeling: making a comeback. *Expert Opin Drug Discov.* 2019;14(12):1227-1235.

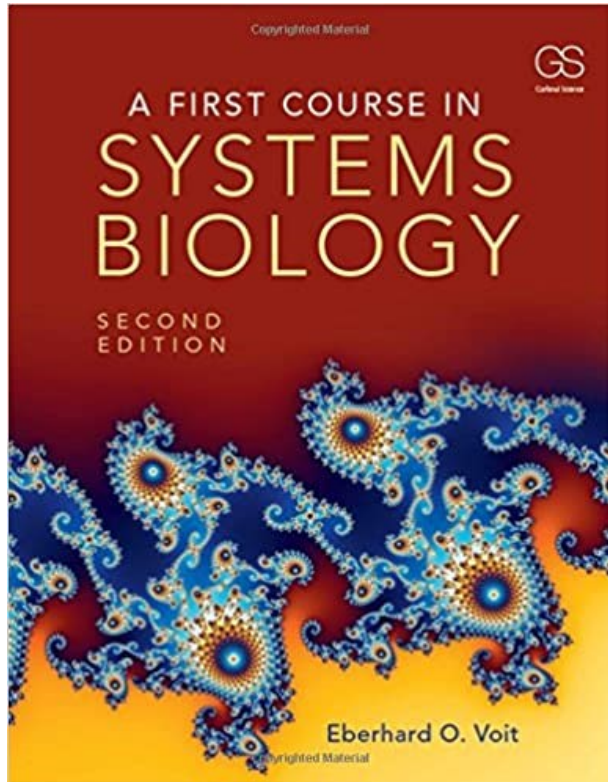
Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD: visual molecular dynamics. *J Mol Graph.* 1996;14(1):33-8, 27-8.

Phillips JC, Braun R, Wang W, Gumbart J, Tajkhorshid E, Villa E et al. Scalable molecular dynamics with NAMD. *J Comput Chem* 2005; 26:1781–1802.

Thomsen R, Christensen MH. MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. *J Med Chem.* 2006; 49(11): 3315–3321.

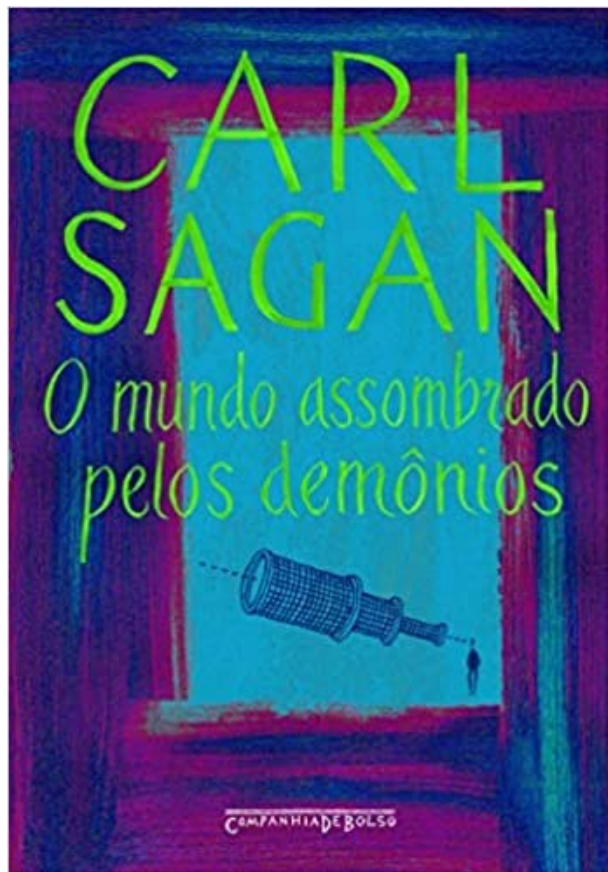
Zhao J, Cao Y, Zhang L. Exploring the computational methods for protein-ligand binding site prediction. *Comput Struct Biotechnol J.* 2021;18:417-426.

Sugestões de Leituras e Estudos



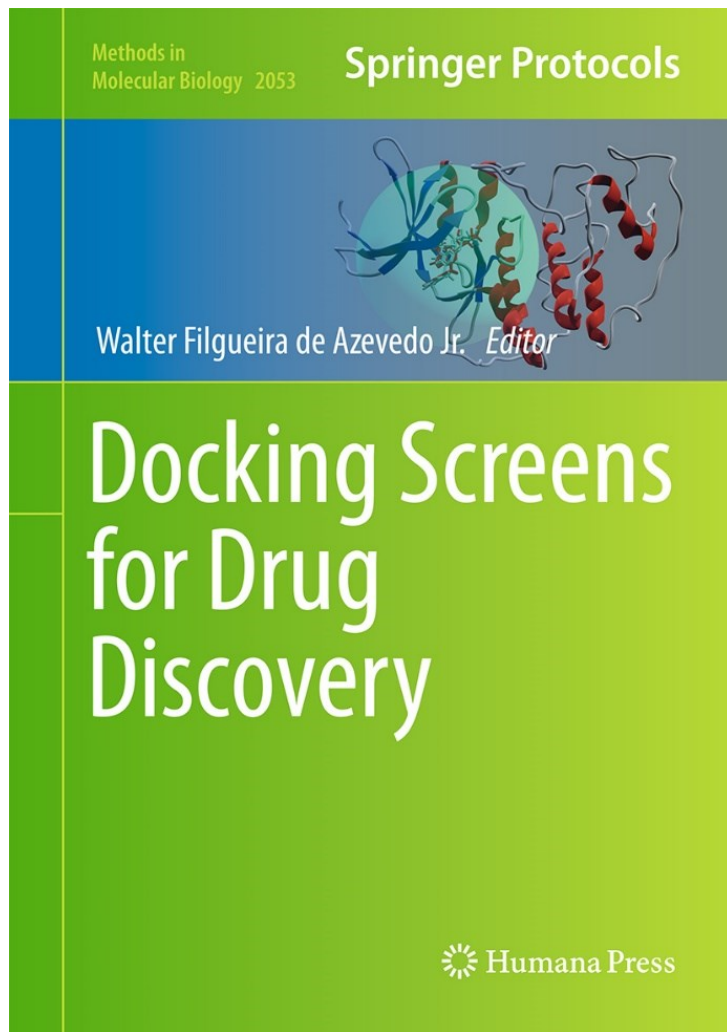
Fonte: <https://www.amazon.com.br/First-Course-Systems-Biology/dp/0815345682>

Sugestões de Leituras e Estudos



Fonte: <https://www.amazon.com.br/mundo-assombrado-pelos-dem%C3%B4nios/dp/853590834X>

Sugestões de Leituras e Estudos



Fonte: <https://www.amazon.com/Docking-Screens-Discovery-Methods-Molecular-dp-1493997548/dp/1493997548>



Obrigado!