

Dinâmica, enovelamento e alosteria de proteínas

Guilherme Menegon Arantes

*Instituto de Química
Universidade de São Paulo*

garantes@iq.usp.br

<http://gaznevada.iq.usp.br>

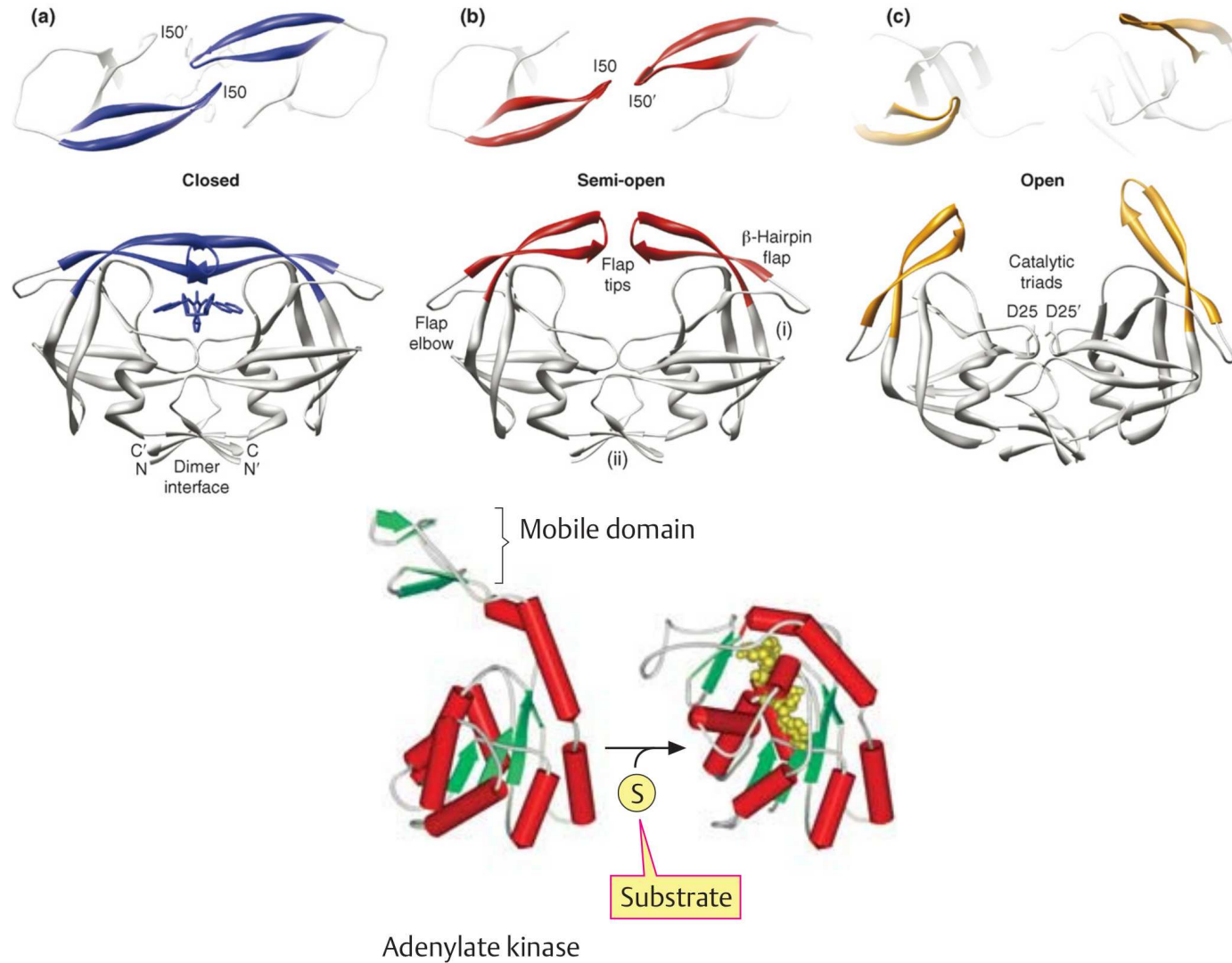


Resumo da aula

- Dinâmica molecular e física estatística
- Escalas de dinâmica conformacional
- Enovelamento de proteínas
- Estrutura e função biológica intrinsecamente ligadas
- Um exemplo clássico: Hemoglobina
 - Função: transporte de O_2
 - Modulação da afinidade por ligantes
- Alostéria e cooperatividade

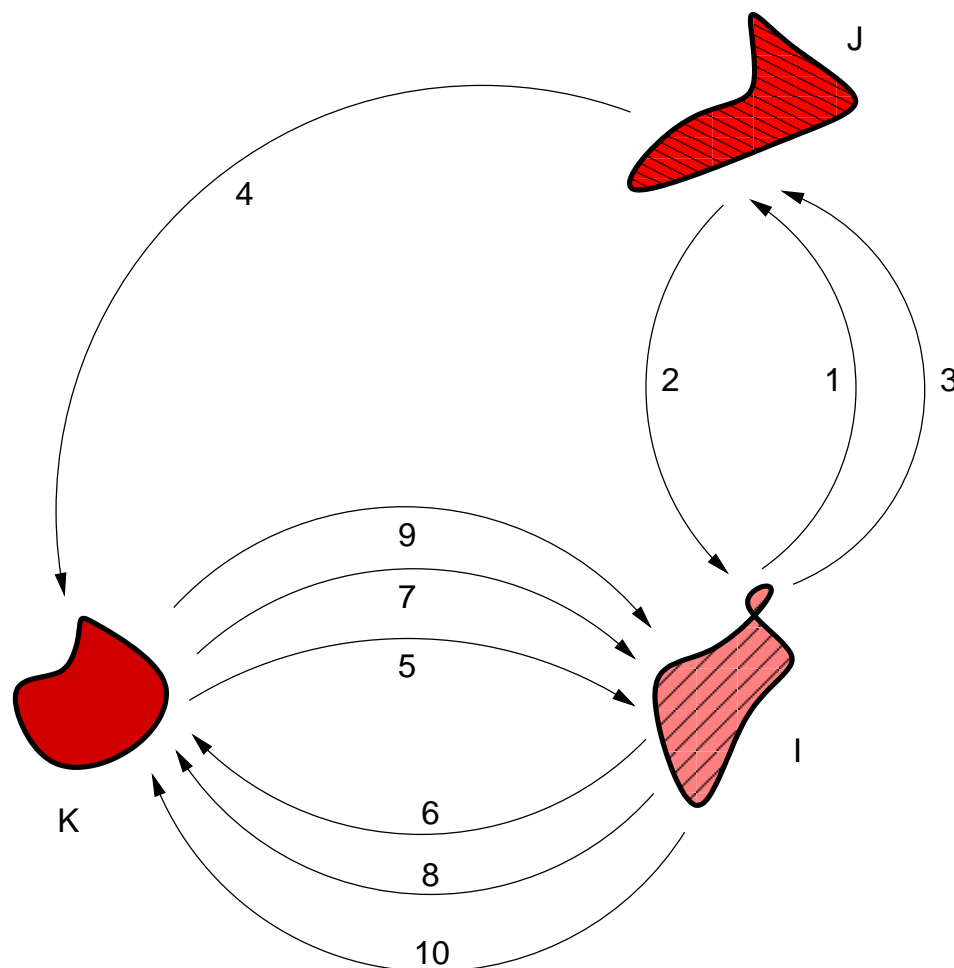


Proteínas tem estrutura flexível



Dinâmica Molecular

- Técnica para explorar superfície potencial e visitar geometrias possíveis



Dinâmica Molecular

- Trajetórias (sucessão de estruturas no tempo) são geradas pela integração da eq. de Newton:

$$m_i \frac{\partial^2 \mathbf{r}_i}{\partial t^2} = \vec{F}_i$$

- Exemplo de trajetória (10 eventos):

$I \rightarrow J \rightarrow I \rightarrow J \rightarrow K \rightarrow I \rightarrow K \rightarrow I \rightarrow K \rightarrow I \rightarrow K$

- Probabilidades (p_i) determinadas por simples contagem!
Ex: $p_I = 4/10$, $p_J = 2/10$ e $p_K = 4/10$.

- **Pergunta:** Quais estados de maior e menor energia?
- Como propriedades das configurações são fáceis de obter (Ex: E_I é dado pelo potencial), podemos calcular $\langle W \rangle$

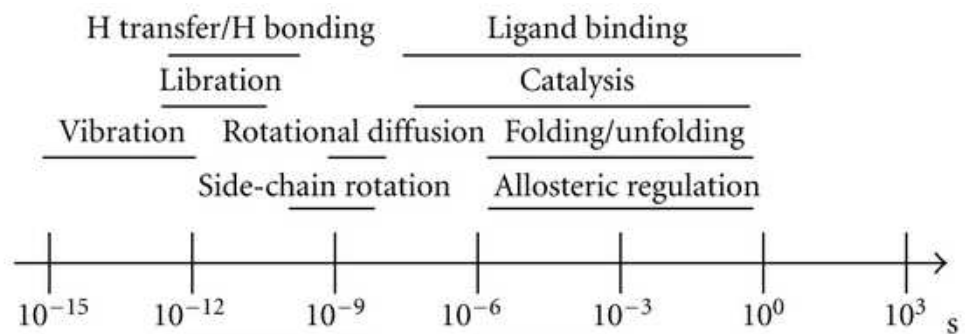
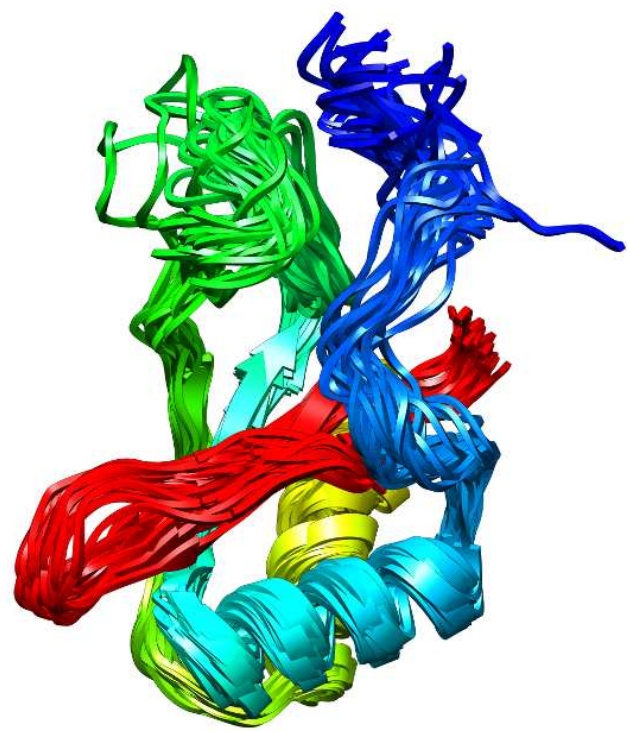
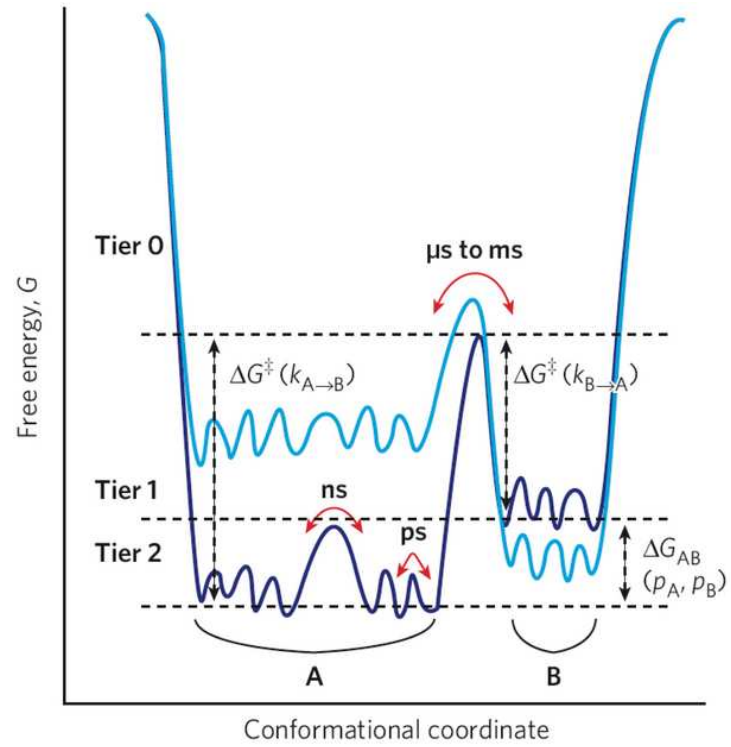


Mecânica Estatística

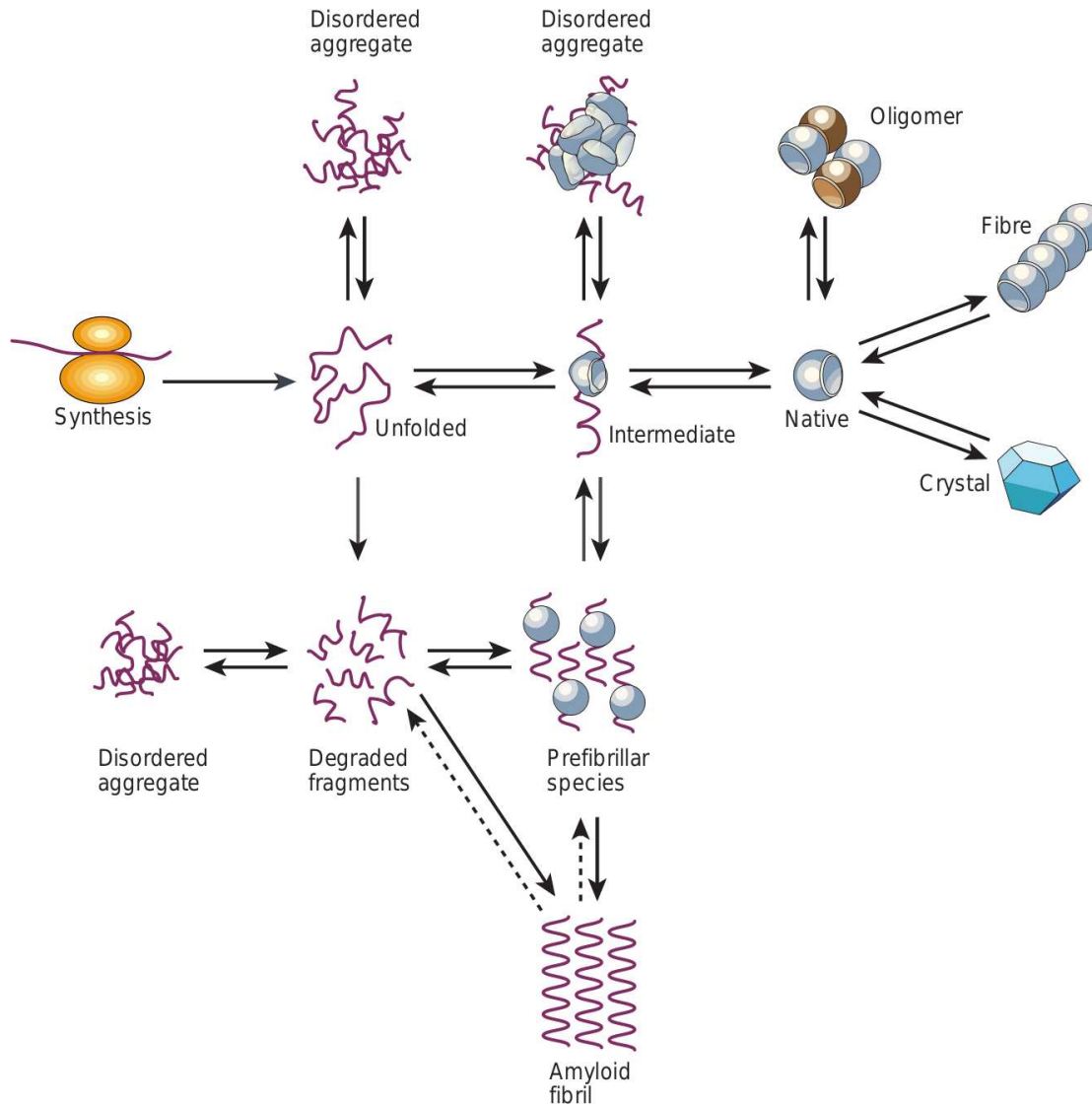
- Conexão entre propriedades microscópicas (moléculas) e medidas macroscópicas (termodinâmica)
- $\langle W \rangle = \sum_i p_i W_i$, onde W_i é uma propriedade microscópica qualquer. $\langle W \rangle$ é o valor médio, medido no experimento.
- Simples média ponderada sobre possíveis configurações i . $p_i \propto e^{-E_i}$ são probabilidades (Fator de Boltzmann)
- Ex: Proteína tem 3 possíveis conformações: I , J e K . A energia média ($\equiv U$, energia interna) é
$$\langle E \rangle = p_I E_I + p_J E_J + p_K E_K$$



Dinâmica conformacional de proteínas

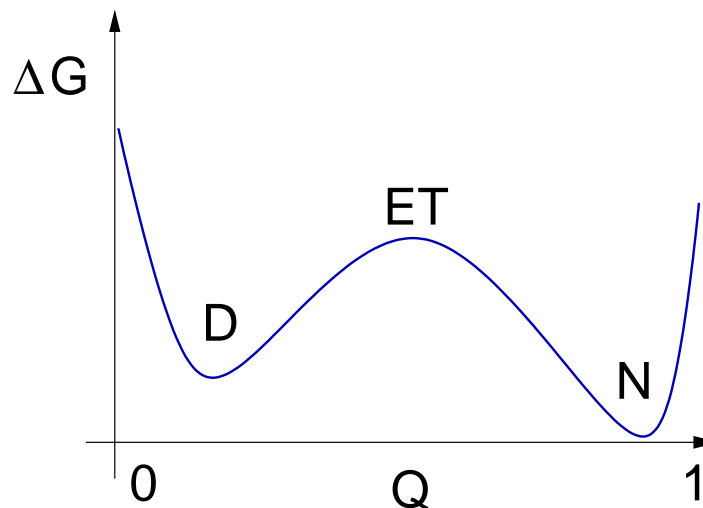


Possíveis “destinos” de uma proteína



Enovelamento de proteínas

- Proteínas globulares (~ 100 aa.) (re)enovelam *in vitro*. Logo, estado Nativo (N) ideve ser mínimo de energia livre
- 2 estados: $D \rightleftharpoons N$, $\Delta G_{enov} \approx 5 - 10$ kcal/mol
- Sequência $1^a \rightarrow$ Estrutura 3D única e definida
- **Dois problemas do enovelamento:**
 - Dada uma sequência, predizer qual a estrutura 3D (vejam trabalhos do David Baker, Rosetta)
 - Qual o mecanismo (intermediários, TS, transições)?

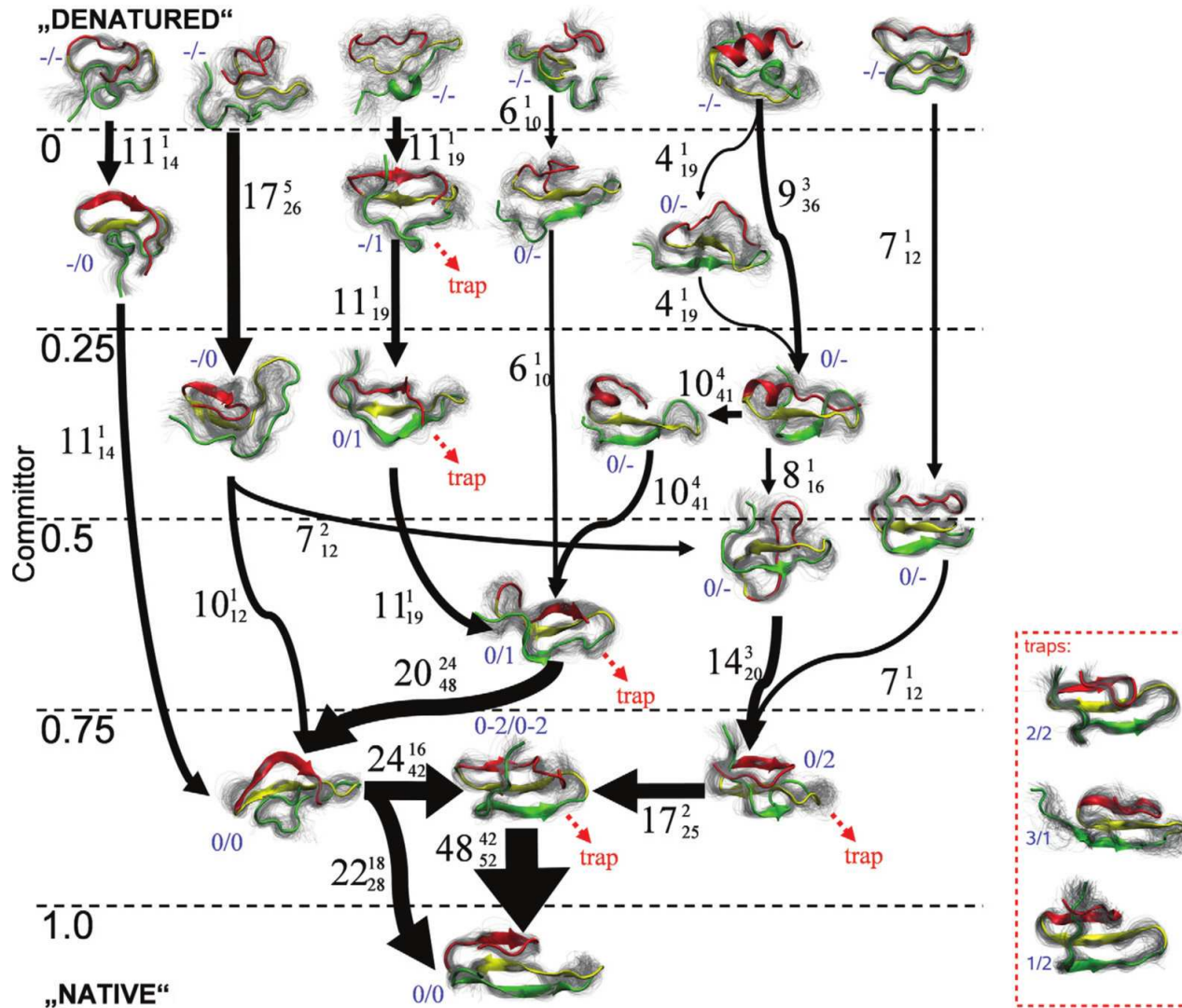


Enovelamento: Paradoxo de Levinthal (1968)

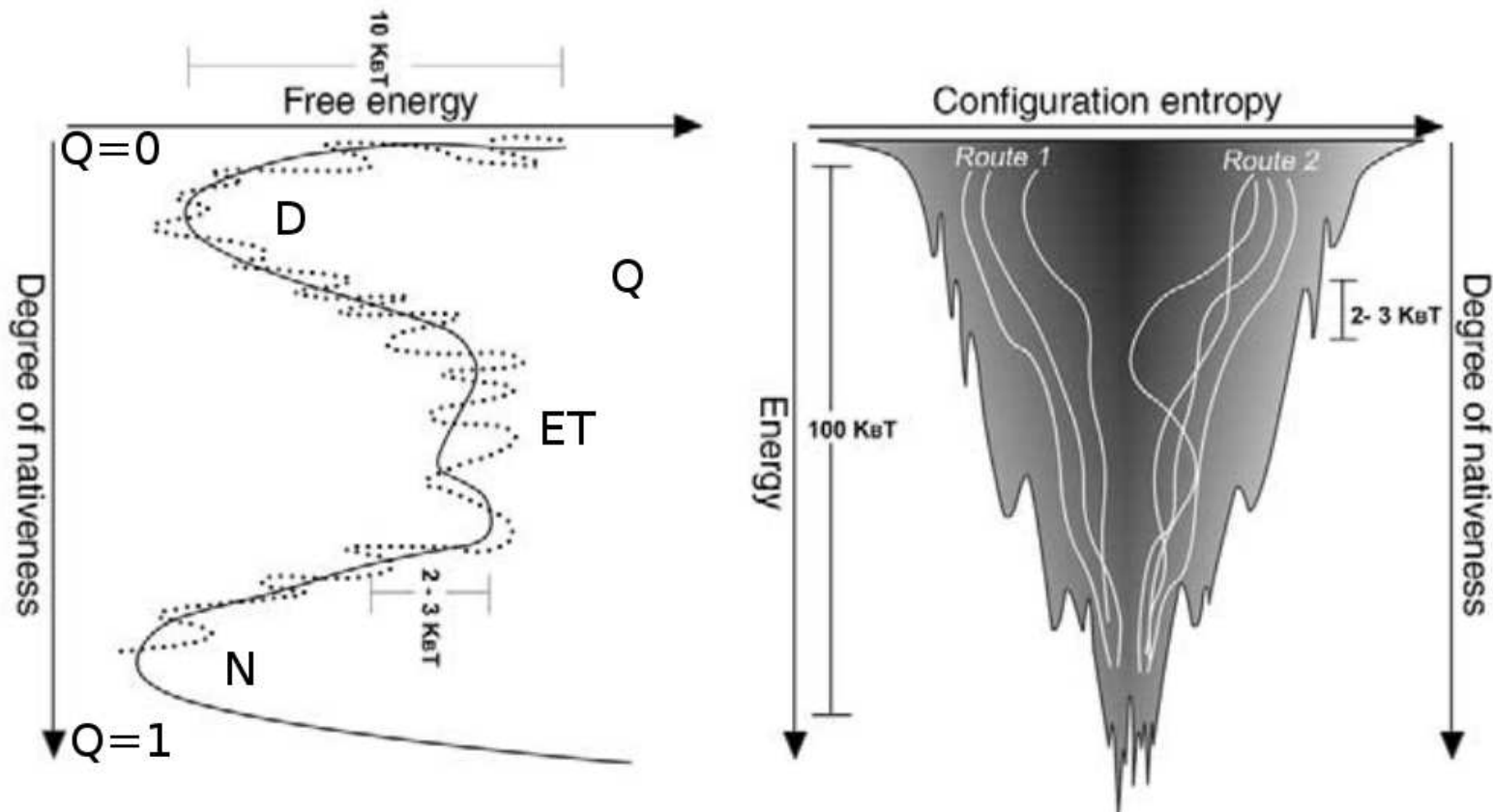
- Número imenso de possibilidades conformacionais
- Exemplo: Proteína com 100 aa. 3 geometrias por aa (pouco, estima-se 5-10).
 $3^N = 3^{100} \approx 10^{48}$ configurações!
- Caso 10^{12} conformações sejam amostradas (visitadas) por segundo, procura por todos estados demoraria 10^{36} s. Mas universo tem “só” 10^{18} s de existência!!!
- Solução: Interações → transições → enovelamento



Enovelamento: Exemplo do domínio PinWW



Enovelamento: Superfícies e funis de energia

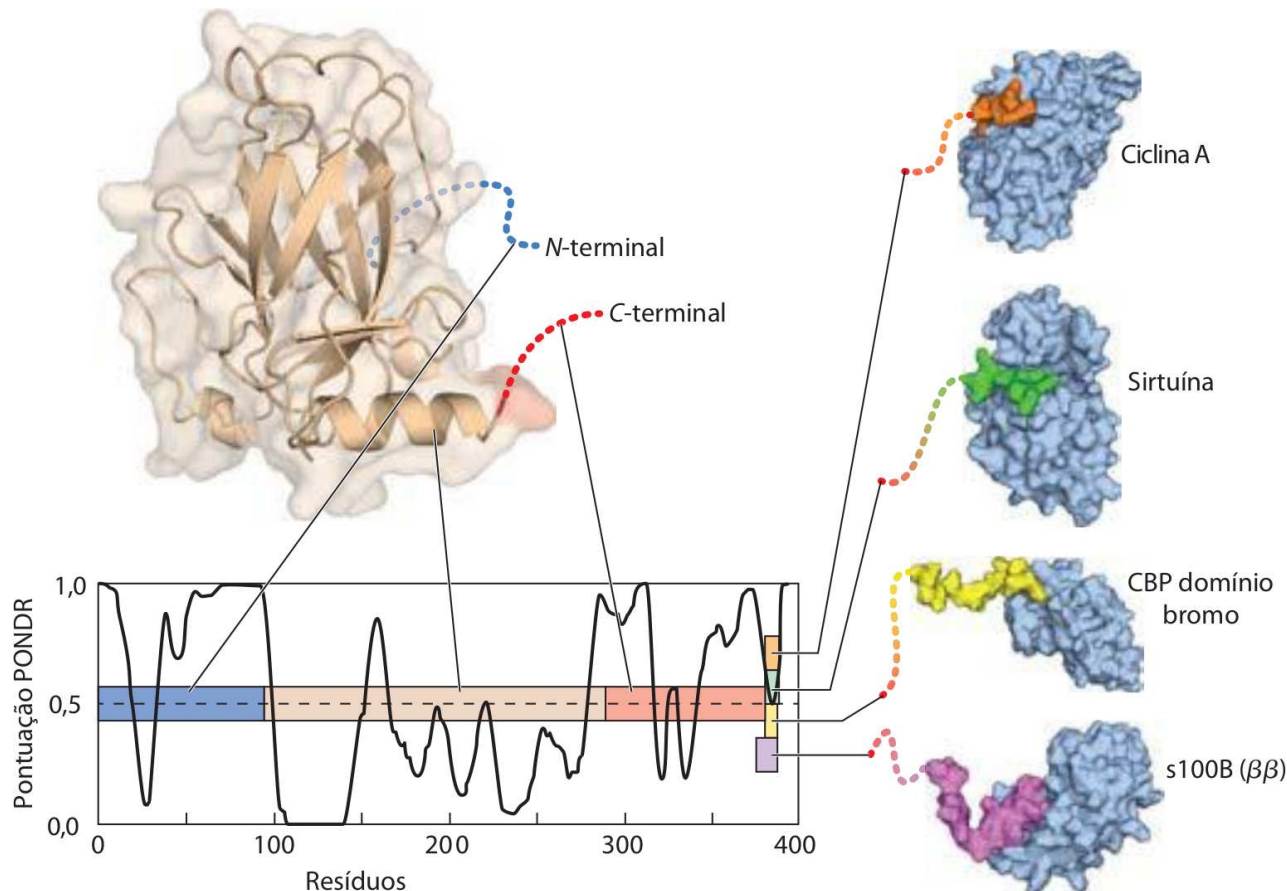


$$\Delta G_{enov} \approx \underbrace{\Delta H_{enov}}_{\Downarrow} - T \underbrace{\Delta S_{solv}}_{\downarrow} - T \underbrace{\Delta S_{conf}}_{\Uparrow}$$



Muitas proteínas ($\sim 25\%$) são desordenadas

- Em regiões terminais (como a p53 abaixo) ou inteiras
- Podem precisar de “chaperonas” que ajudam a enovelar



Relação estrutura–função em bioquímica

- Dogma central: Estrutura \rightleftharpoons Mecanismo \rightleftharpoons Função
- Exemplo: Mioglobina (Mb) e Hemoglobina (Hb)
- Ambas com estrutura monomérica semelhante (vejamos). São carregadoras de O_2 , que liga-se ao heme
- Dado equilíbrio $Mb + O_2 \rightleftharpoons Mb \cdot O_2$, temos:

$$K_d = \frac{[Mb][O_2]}{[MbO_2]}$$

$$\theta \equiv \frac{\textit{sitios ocupados}}{\textit{total de sitios}} = \frac{[MbO_2]}{[MbO_2] + [Mb]} = \frac{[O_2]}{[O_2] + K_d}$$

- Vejamos como varia $\theta \times [O_2]$ para Mb e Hb

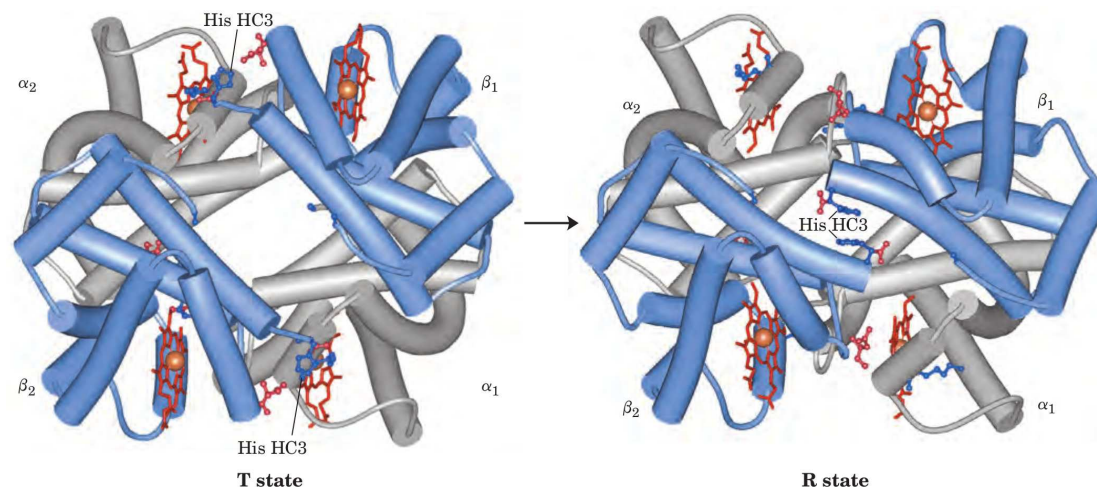


Diferenças entre Mb e Hb tem origem estrutural

- Para o equilíbrio $Hb + nO_2 \rightleftharpoons Hb \cdot (O_2)_n$, temos:

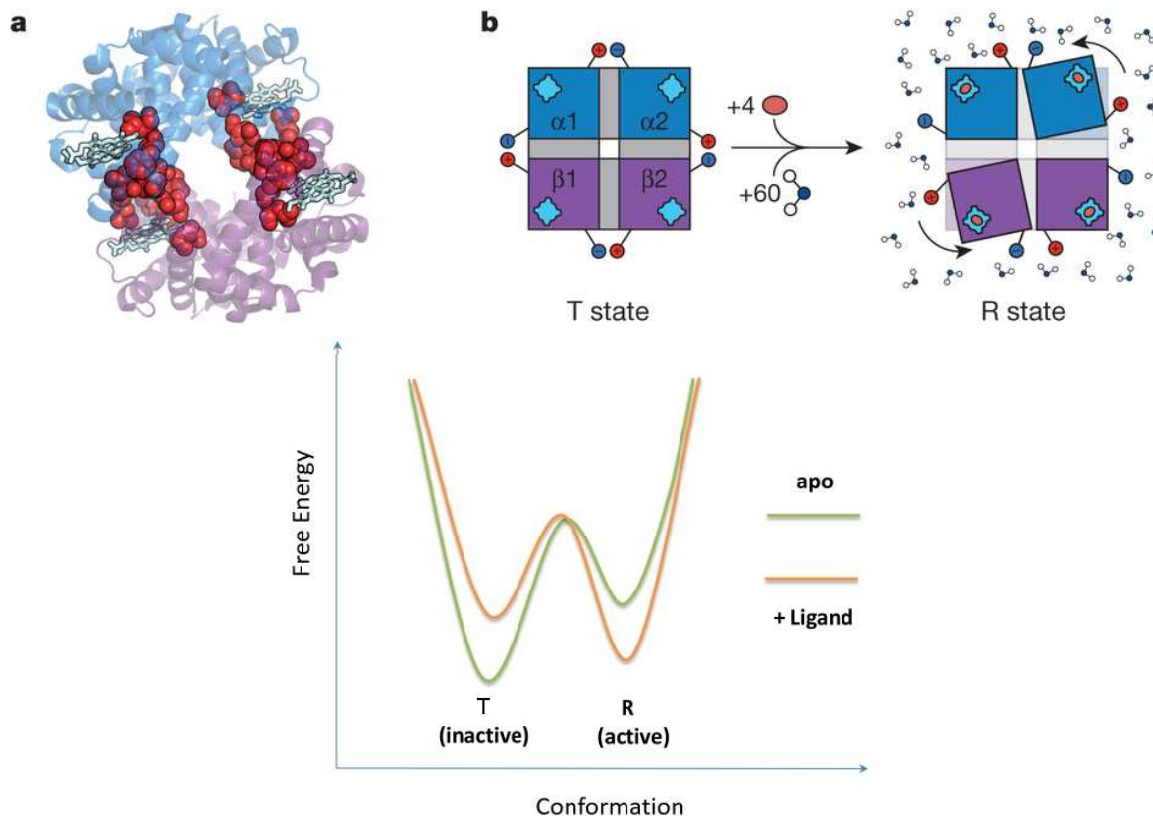
$$K_d = \frac{[Hb][O_2]^n}{[Hb(O_2)_n]} \quad \theta = \frac{[O_2]^k}{[O_2]^k + K_d}$$

- Se $k = 1$, temos uma curva hiperbólica $\rightarrow Mb$. Se $1 < k \leq n$, temos curva sigmoideal $\rightarrow Hb$ (cooperatividade).
- Hb é um tetrâmero. Transições estruturais explicam curvas sigmoideais. Vejamos sua estrutura 4^a.



Alosteria e mudanças estruturais

- Ligação de efetor → mudança estrutural → altera afinidade de outro sítio distante
- Ligante: homo ou heterotrópico



Alosteria e cooperatividade

- Estados *Tenso* (\bigcirc , $<$ afinidade) e *Relaxado* ($>$ afinidade)
- Cooperatividade induzida pela comunicação entre sub-unidades e pelo balanceamento dos equilíbrios acoplados
- Ligação do efetor L desloca os equilíbrios para direita

