

PRINCÍPIOS de BIOQUÍMICA de Lehninger

8ª Edição

David L. Nelson • Michael M. Cox





Aviso!

Todo esforço foi feito para garantir a qualidade editorial desta obra, agora em versão digital. Destacamos, contudo, que diferenças na apresentação do conteúdo podem ocorrer em função de restrições particulares às versões impressa e digital e das características técnicas específicas de cada dispositivo de leitura.

Este *eBook* é uma versão da obra impressa, podendo conter referências a este formato (p. ex.: “Circule conforme indicado no exemplo 1”, “Preencha o quadro abaixo”, etc.). Buscamos adequar todas as ocorrências para a leitura do conteúdo na versão digital, porém alterações e inserções de texto não são permitidas no *eBook*. Por esse motivo, recomendamos a criação de notas. Em caso de divergências, entre em contato conosco através de [nosso site](#).

Nota

Assim como a medicina, a bioquímica é uma ciência em constante evolução. À medida que novas pesquisas e a própria experiência clínica ampliam o nosso conhecimento, são necessárias modificações na terapêutica, onde também se insere o uso de medicamentos. Os autores desta obra consultaram as fontes consideradas confiáveis, num esforço para oferecer informações completas e, geralmente, de acordo com os padrões aceitos à época da publicação. Entretanto, tendo em vista a possibilidade de falha humana ou de alterações nas ciências médicas, os leitores devem confirmar estas informações com outras fontes. Por exemplo, e em particular, os leitores são aconselhados a conferir a bula completa de qualquer medicamento que pretendam administrar, para se certificar de que a informação contida neste livro está correta e de que não houve alteração na dose recomendada nem nas precauções e contraindicações para o seu uso. Essa recomendação é particularmente importante em relação a medicamentos introduzidos recentemente no mercado farmacêutico ou raramente utilizados.

David L. Nelson

Professor Emeritus of Biochemistry
University of Wisconsin-Madison

Michael M. Cox

Professor of Biochemistry
University of Wisconsin-Madison

Aaron A. Hoskins

Associate Professor of Biochemistry
University of Wisconsin-Madison

PRINCÍPIOS *de* BIOQUÍMICA *de* Lehninger

8ª Edição

Revisão técnica:

Carla Dalmaz

Professora titular do Departamento de Bioquímica,
Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
(UFRGS).

Doutora em Bioquímica pela Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Carlos Termignoni

Professor titular do Centro de Biotecnologia do Departamento de Bioquímica da UFRGS.
Doutor em Biologia Molecular pela Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São
Paulo (EPM-Unifesp).

Maria Luiza Saraiva-Pereira

Professora titular do Departamento de Bioquímica da UFRGS.

Doutora em Biologia Molecular pela United Medical and Dental Schools of Guy's and St Thomas's Hospitals, University of London, Reino Unido.

Tradução:

Carla Dalmaz (Páginas iniciais, Capítulos 7, 10, 14 a 21, Glossário)

Carlos Termignoni (Capítulos 1 a 6, 11 a 13)

Maria Luiza Saraiva-Pereira (Capítulos 8, 9, 22 a 28)

Tiele Patricia Machado (Índice)

Versão impressa desta obra: 2022



Porto Alegre
2022

Obra originalmente publicada sob o título *Lehninger principles of biochemistry*, 8th edition
ISBN 9781319228002 / 1319228003

First published in the United States by W.H. Freeman and Company.
Copyright © 2021, 2017, 2013, 2008 by W.H. Freeman and Company.
All Rights Reserved.

Gerente editorial: *Letícia Bispo de Lima*

Colaboraram nesta edição:

Coordenador editorial: *Alberto Schwanke*

Preparação de originais: *Taína Rana Winter de Lima e Tiele Patricia Machado*

Leitura final: *Marquieli de Oliveira*

Editoração: *Clic Editoração Eletrônica Ltda.*

Produção digital: *Loope Editora* | www.loope.com.br

Arte sobre capa original: *Kaéle Finalizando Ideias*

Imagem da capa: *Janet Iwasa, University of Utah*

Capa: Nesta interpretação artística, uma protocélula composta por uma bicamada de ácidos graxos envolve um compartimento aquoso contendo uma ribozima de RNA e ácidos nucleicos. Protocélulas são usadas por bioquímicos para explorar reações que poderiam mimetizar aquelas que levaram à origem da vida na Terra. Bilhões de anos atrás, moléculas hidrofóbicas podem ter formado agrupamentos semelhantes a células, como as protocélulas, em que moléculas capazes de se autorreplicar podiam se concentrar e se proteger do ambiente externo. Elas provavelmente forneceram as origens das membranas, ácidos nucleicos e catalisadores encontrados nas células de hoje.



Princípios de bioquímica de Lehninger [recurso eletrônico] / David L. Nelson, Michael M. Cox, Aaron A. Hoskins ; tradução: Carla Dalmaz... [et al.] ; revisão técnica: Carla Dalmaz, Carlos Termignoni, Maria Luiza Saraiva Pereira. – 8. ed. – Porto Alegre : Artmed, 2022.
E-pub.

ISBN 978-65-5882-070-3

1. Bioquímica. I. Cox, Michael M. II. Hoskins, Aaron A. III. Título.

CDU 577

Catálogo na publicação: Karin Lorien Menoncin – CRB 10/2147

Reservados todos os direitos de publicação ao GRUPO A EDUCAÇÃO S.A.
(Artmed é um selo editorial do GRUPO A EDUCAÇÃO S.A.)
Rua Ernesto Alves, 150 – Bairro Floresta
90220-190 – Porto Alegre – RS
Fone: (51) 3027-7000

SAC 0800 703-3444 – www.grupoa.com.br

É proibida a duplicação ou reprodução deste volume, no todo ou em parte, sob quaisquer formas ou por quaisquer meios (eletrônico, mecânico, gravação, fotocópia, distribuição na Web e outros), sem permissão expressa da Editora.

Para nossos professores

Albert Finholt

Andy LiWang

Arthur Kornberg

David E. Sheppard

Douglas A. Nelson

Eugene P. Kennedy

Harold B. White

Homer Knoss

I. Robert Lehman

Jeff Gelles

JoAnne Stubbe

Melissa J. Moore

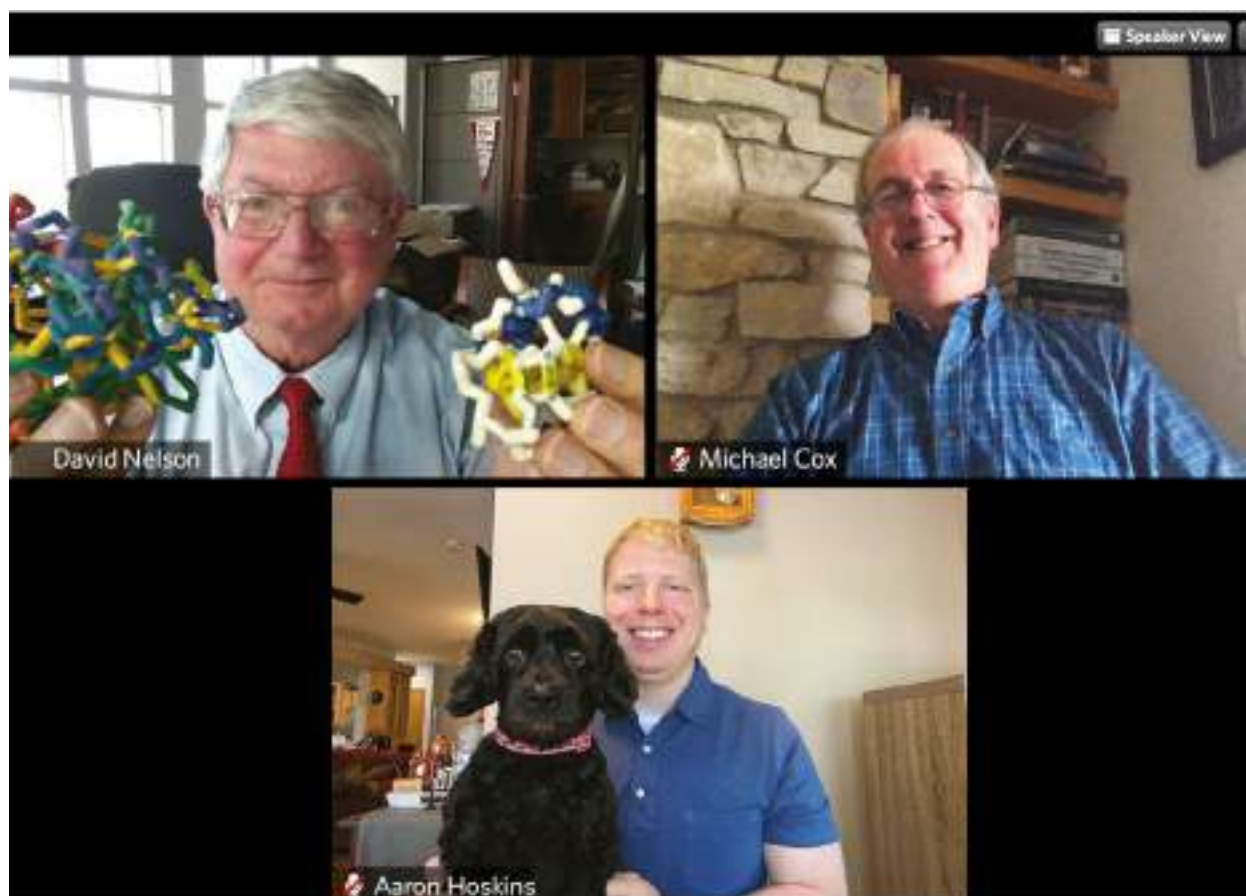
Patti LiWang

Paul R. Burton

Wesley A. Pearson

William P. Jencks

Sobre os autores



A partir da esquerda, no alto: David L. Nelson, Michael M. Cox e Aaron A. Hoskins (fotos de David L. Nelson, Michael M. Cox e Aaron A. Hoskins)

David L. Nelson nasceu em Fairmont, Minnesota, formou-se em Química e Biologia no St. Olaf College, em 1964, e obteve o PhD em Bioquímica pela Stanford Medical School sob a orientação de Arthur Kornberg. Realizou Pós-doutorado na Harvard Medical School sob a supervisão de Eugene P. Kennedy, um dos primeiros estudantes formados por Albert Lehninger. Em 1971, Nelson ingressou na University of Wisconsin-Madison, tornando-se professor titular de bioquímica em 1982. Por 8 anos, foi diretor do Center for Biology Education, na University of Wisconsin-Madison. Tornou-se professor emérito em 2013.

O trabalho de pesquisa de Nelson está centrado nas transduções de sinal que regulam o movimento ciliar e a exocitose no protozoário *Paramecium*. Por 43 anos, lecionou (com Mike Cox) em um curso intensivo de bioquímica avançada para estudantes de graduação em ciências

da vida. Também lecionou disciplinas de pós-graduação em estrutura e função de membranas e em neurobiologia molecular. Recebeu prêmios por sua excelência como professor, incluindo o prêmio por ensino acadêmico Dreyfus Teacher-Scholar e o prêmio Atwood por distinção como professor. Entre 1991 e 1992, foi professor visitante de química e biologia no Spelman College. O segundo amor de Nelson é a história, razão pela qual agora ensina história da bioquímica e coleciona instrumentos científicos antigos.

Michael M. Cox nasceu em Wilmington, Delaware. Em sua primeira disciplina de bioquímica, a primeira edição do livro *Bioquímica de Lehninger* foi uma importante influência, direcionando sua fascinação com a biologia e o inspirando a uma carreira em bioquímica. Após concluir sua pós-graduação na Brandeis University, sob orientação de William P. Jencks, e seu pós-doutorado na Stanford com I. Robert Lehman, ele ingressou na University of Wisconsin-Madison em 1983. Tornou-se professor titular de Bioquímica em 1992.

Mike Cox coordenou um grupo ativo de pesquisa em Wisconsin, investigando a função e o mecanismo de enzimas que atuam na interface da replicação, do reparo e da recombinação do DNA. Esse trabalho resultou na publicação de mais de 200 artigos até o momento.

Por mais de três décadas, Cox lecionou introdução à bioquímica para estudantes de graduação, além de várias disciplinas de cursos de pós-graduação. Ele organizou um curso sobre responsabilidade profissional para estudantes de graduação do primeiro ano, e estabeleceu um programa sistemático para recrutar estudantes de graduação talentosos para o trabalho em laboratório de pesquisa, desde estágios iniciais de suas carreiras na universidade. Cox recebeu muitos prêmios, tanto por suas atividades de ensino quanto de pesquisa, incluindo o prêmio Eli Lilly em química biológica, sua eleição para a American Association for the Advancement of Science (AAAS) e o prêmio UW Regents por excelência no ensino. Entre seus passatempos, está a transformação de 7 hectares de uma fazenda em Wisconsin em um arboreto, além de ser um colecionador de vinhos e auxiliar na elaboração de projetos para prédios de laboratórios.

Aaron A. Hoskins nasceu em Lafayette, Indiana, e concluiu seu bacharelado em química na Purdue University em 2000, tendo concluído seu PhD em química biológica no Massachusetts Institute of Technology sob a orientação de JoAnne Stubbe. Em 2006, seguiu para a Brandeis University e para a University of Massachusetts Medical School, onde realizou seu pós-doutorado sob a supervisão de Melissa Moore e Jeff Gelles. Hoskins ingressou como professor de bioquímica na University of Wisconsin-Madison em 2011.

Sua tese de doutorado enfocou a biossíntese *de novo* de nucleotídeos púricos. Na Brandeis University e na University of Massachusetts, ele iniciou seus estudos do processo de *splicing* do pré-mRNA eucariótico. Durante esse período, desenvolveu novas ferramentas para o estudo microscópico de moléculas únicas no spliceossoma.

Seu laboratório dedica-se à compreensão de como os componentes dos spliceossomas são

agregados, como ocorre sua regulação e como reconhecem íntrons. Hoskins recebeu prêmios por suas pesquisas científicas, tendo inclusive sido nomeado Jovem Investigador Beckman e Cientista Shaw. Ele leciona introdução à bioquímica para estudantes de graduação desde 2012. Hoskins também gosta de brincar com sua gata (Louise) e com sua cachorra (Agatha) e fazer ioga/exercício físico, além de tentar ler um novo livro por semana.

Sobre a natureza da ciência

No século XXI, a educação científica típica com frequência deixa de lado o suporte filosófico da ciência ou usa definições simplificadas demais. Se você pretende seguir uma carreira em ciências, pode ser útil considerar uma vez mais os termos **ciência**, **cientista** e **método científico**.

Ciência é tanto um modo de pensar sobre o mundo natural como a soma das teorias e das informações que derivam desse pensamento. O poder e o sucesso da ciência derivam diretamente do fato de utilizar ideias que podem ser testadas: informações sobre fenômenos naturais que podem ser observadas, medidas e reproduzidas, além de teorias que têm valor prognóstico. O progresso da ciência se baseia em um pressuposto fundamental muitas vezes não explícito, mas crucial para a empreitada: de que as leis que governam as forças e os fenômenos existentes no universo não estão sujeitas a mudanças. O ganhador do Prêmio Nobel Jacques Monod referiu-se a essa suposição como o “postulado da objetividade”. O mundo natural, portanto, pode ser compreendido aplicando-se um processo de investigação – o método científico. A ciência não poderia ter sucesso em um universo que nos pregasse peças. A não ser pelo postulado da objetividade, a ciência não tem outros pressupostos invioláveis do mundo natural. Uma ideia científica útil é aquela (1) que tenha sido ou possa ser mensurada de maneira reproduzível (2), que possa ser utilizada para prever novos fenômenos de maneira precisa e (3) que focalize o mundo ou o universo natural.

As ideias científicas podem assumir diversas formas. Os termos que os cientistas utilizam para descrevê-las têm significados bem diferentes daqueles usados por não cientistas. Uma *hipótese* é uma ideia ou pressuposto que fornece uma explicação razoável e testável para uma ou mais observações, mas talvez não tenha ampla comprovação experimental. Uma *teoria científica* é muito mais do que um palpite. É uma ideia comprovada até certo ponto e que fornece uma explicação para um corpo de observações experimentais. Uma teoria pode ser testada e desenvolvida, constituindo, assim, uma base para avanços e inovações. Quando uma teoria científica é repetidamente testada e validada em várias frentes, ela pode ser aceita como um fato.

É importante ressaltar que o que constitui ciência ou uma ideia científica se define pelo fato de ser ou não publicado na literatura após ter sido revisado por outros cientistas. Até o final de 2014, cerca de 34.500 periódicos científicos revisados por pares publicaram, no mundo todo, aproximadamente 2,5 milhões de artigos a cada ano, uma rica e contínua safra de informações que é patrimônio de todo ser humano.

Os **cientistas** são indivíduos que aplicam rigorosamente o método científico para compreender o mundo natural. O fato de ser graduado em determinada disciplina não torna uma pessoa cientista, nem a falta de tal graduação impede que alguém faça importantes contribuições científicas. Um cientista precisa ter o ímpeto de desafiar uma ideia quando novos achados o

exigem. As ideias que um cientista aceita devem ser fundamentadas em observações reproduzíveis e mensuráveis, e ele deve relatar essas observações com total honestidade.

O **método científico** é uma coleção de caminhos, em que todos podem levar a uma descoberta científica. No caminho da *hipótese e experimentação*, o cientista levanta uma hipótese e a submete a um teste experimental. Muitos processos com os quais os bioquímicos trabalham todos os dias foram descobertos dessa maneira. A estrutura do DNA, elucidada por James Watson e Francis Crick, levou à hipótese de que os pares de bases constituíam a base para a transferência de informações na síntese de polinucleotídeos. Essa hipótese ajudou a inspirar a descoberta da DNA-polimerase e da RNA-polimerase.

Watson e Crick produziram sua estrutura do DNA por meio de um processo de *construção de modelo e cálculo*. Não houve experimento real envolvido, embora a construção do modelo e os cálculos realizados tenham utilizado dados coletados por outros cientistas. Muitos cientistas aventuraram-se usando o processo de *exploração e observação* como um caminho para a descoberta. Viagens históricas de descoberta (entre elas a de Charles Darwin, no H.M.S. *Beagle*, em 1831) ajudaram no mapeamento do planeta e na catalogação dos seres vivos, e modificaram a forma como vemos o mundo. Os cientistas modernos seguem um caminho semelhante quando exploram as profundezas do oceano ou lançam sondas para outros planetas. Um processo análogo ao da hipótese e experimentação é o da *hipótese e dedução*. Crick pensou que deveria existir uma molécula adaptadora que facilitasse a tradução da informação do RNA mensageiro em proteína. Essa hipótese do adaptador levou à descoberta do RNA transportador por Mahlon Hoagland e Paul Zamecnik.

Nem todos os caminhos para a descoberta envolvem planejamento – com frequência, a *casualidade* também tem um papel. A descoberta da penicilina por Alexander Fleming, em 1928, e dos RNA catalisadores por Thomas Cech, no início dos anos 1980, foram duas descobertas feitas por acaso, embora alcançadas por cientistas bem preparados para investigá-las. A *inspiração* também pode levar a importantes avanços. A reação em cadeia da polimerase (PCR), que atualmente constitui parte central da biotecnologia, foi desenvolvida por Kary Mullis, em 1983, após um momento de inspiração durante uma viagem pelo norte da Califórnia.

Esses diversos caminhos que levam à descoberta científica podem parecer um tanto diferentes, mas têm importantes aspectos em comum. Eles se concentram no mundo natural e têm base na *observação e/ou experimentação reproduzíveis*. Todas as ideias, palpites e fatos experimentais que se originam dessas empreitadas podem ser testados e reproduzidos por cientistas em qualquer lugar do mundo. Todos podem ser utilizados por outros cientistas para construir novas hipóteses e fazer novas descobertas. Todos levam à informação, que é incluída no mundo da ciência. A compreensão do universo requer um trabalho árduo. Ao mesmo tempo, nenhuma jornada humana é mais empolgante e potencialmente recompensadora do que a tentativa, às vezes bem-sucedida, de compreender parte do mundo natural.

Agradecimentos

Há 50 anos, Al Lehninger publicou a 1ª edição de *Bioquímica*, definindo o formato básico das disciplinas de bioquímica durante gerações em todo o mundo. Estamos honrados por termos conseguido manter a tradição de Lehninger desde o seu falecimento em 1986, agora apresentando a 8ª edição de *Princípios de bioquímica de Lehninger*.

Este livro é resultado de um esforço conjunto, e sua produção seria impossível sem a equipe da W. H. Freeman, que nos apoiou em todas as etapas. Elizabeth Simmons, Gerente de Programa, Bioquímica, nos guiou destemidamente pelo novo mundo da publicação de livros-texto nessa era de mídias. Catherine Murphy, Editora de Desenvolvimento, ajudou a desenvolver o plano de revisão desta edição, nos manteve focados no plano, avaliou cuidadosamente os comentários dos revisores e editou o texto para que tivesse clareza. Vivien Weiss, Gerente de Projeto de Conteúdo Sênior, juntou as partes de texto de modo que ficasse perfeitamente integrado. Diana Blume, Natasha Wolfe, Maureen McCutcheon e John Callahan são responsáveis pelo lindo *design* do texto e da capa do livro. Adam Steinberg e Emiko Paul criaram o novo *layout* desta edição. A Pesquisadora de Fotografia Jennifer Atkins e a Gerente de Permissões de Mídia Christine Buese localizaram imagens e obtiveram permissões para utilizá-las. Cate Dapron editou o texto, e Paula Pyburn o revisou. Karen Misler, Gerente de Projeto Editorial, e Paul W. Rohloff, Gerente Sênior de Fluxo de Projeto, trabalharam diligentemente para nos manter no cronograma, e Nathan Livingston ajudou a orquestrar revisões e forneceu apoio administrativo. Cassandra Korsvik e Kelsey Hughes, Editores de Mídia, e Jim Zubricky, Especialista em Soluções de Aprendizado, supervisionaram a enorme tarefa de criar e aprimorar as mídias do conteúdo. Agradecemos também a Maureen Rachford, Gerente de Marketing Sênior, por coordenar as vendas e os esforços de marketing que divulgam o *Princípios de bioquímica de Lehninger* a professores e estudantes.

Em Madison, Brook Soltvedt é (e tem sido em todas as edições nas quais trabalhamos) nossa editora e crítica de primeira linha. Ela é a primeira a ver os originais dos capítulos, e ajuda na escrita e no desenvolvimento das ilustrações, garantindo consistência interna ao conteúdo e à nomenclatura, nos incentivando a manter nosso ritmo de trabalho. Muito da arte e dos gráficos moleculares foi criado por Adam Steinberg, da Art for Science, que nos ofereceu valiosas sugestões, que levaram a ilustrações melhores e mais claras. A habilidade de Linda Strange, que revisou seis edições deste livro (incluindo a primeira), ainda está evidente na clareza do texto. Sentimo-nos afortunados por termos parceiros talentosos como Brook, Adam e Linda em nossa equipe. Somos gratos também a Brian White, da University of Massachusetts Boston, que escreveu a maior parte das questões de análise de dados no final dos capítulos.



Aqui estão alguns dos muitos indivíduos que ajudaram a criar esta edição do *Princípios de bioquímica*: Diana Blume, Diretora de Design e Gerência de Conteúdo; Christine Buese, Gerente de Permissões de Mídia; John Callahan, Designer da Capa; Bob Cherry, Supervisor de Produção; Keri deManigold, Diretor Sênior de Produção Digital; Janice Donnola, Coordenadora de Arte; Daryl Fox, Vice-Presidente Sênior, STEM; Jen Driscoll Hollis, Diretor de Conteúdo, Ciências da Vida e da Terra; Kelsey Hughes, Editora de Mídia; Lisa Kinne, Gerência Sênior de Edição; Cassandra Korsvik, Editora Sênior de Mídia; Nathan Livingston, Assistente Editorial; Matthew McAdams, Gerente de Arte; Michael McCarty, Editor de Permissões para o Texto; Karen Misler, Gerência do Projeto Editorial; Catherine Murphy, Editora de Desenvolvimento; Paul W. Rohloff, Gerência Sênior de Fluxo de Trabalho; Liz Simmons, Gerência do Programa de Bioquímica; Brook Soltvedt, Editora; H. Adam Steinberg, Cientista Artista; e Vivien Weiss, Gerência Sênior de Conteúdo do Projeto.

Muitos outros nos auxiliaram nesta 8ª edição com seus comentários, sugestões e críticas. Somos profundamente gratos a todos eles:

Aaron Sholders, *Colorado State University Fort Collins*

Abdel Omri, *Laurentian University*

Aleksandra Stamenov, *University of California–Merced*

Alexander G. Zestos, *American University*

Alfred Ponticelli, *University at Buffalo, Jacobs School of Medicine and Biomedical Sciences*

Allen Nicholson, *Temple University–Philadelphia*

Allison Lamanna, *University of Michigan–Ann Arbor*

Allyn Ontko, *Arkansas State University*

Amanda Parker, *William Cary University*

Amber Howerton, *Nevada State College*

Amy Babbes, *Scripps College*
Amy Greene, *Albright College*
Andy Koppisch, *Northern Arizona University*
Andy LiWang, *University of California–Merced*
Angela K. Stoeckman, *Bethel University*
Anthony Clementz, *Concordia University Chicago*
Artem Domashevskiy, *John Jay College of Criminal Justice, CUNY*
Balasubrahmanyam Addepalli, *University of Cincinnati*
Benjamin Lasseter, *Christopher Newport University*
Bhuvana Katkere, *Pennsylvania State University–Main Campus*
Blythe Janowiak, *St. Louis University*
Bobby Burkes, *Grambling State University*
Bonnie Hall, *Grand View University*
Brannon McCullough, *Northern Arizona University*
Brenda Royals, *Park University*
Brian Callahan, *Binghamton University*
Brian Trewyn, *Colorado School of Mines*
Bruce Jacobson, *St. Cloud State University*
Bryan Knuckley, *University of North Florida*
Burt Goldberg, *New York University*
Candace Timpfe, *Georgia Gwinnett College*
Cassidy Dobson, *Truman State University*
Chandrakanth Emani, *Western Kentucky University–Bowling Green*
Chandrika Kulatilleke, *City University of New York–Baruch College*
Charles Hoogstraten, *Michigan State University*
Cheryl Ingram-Smith, *Clemson University*
Chris Wang, *Ambrose University*
Christopher Cottingham, *University of North Alabama*
Christopher Hamilton, *Hillsdale College*
Christopher Jurgenson, *Delta State University*
Christopher Reid, *Bryant University*
Christopher Rohlman, *Albion College*
Christopher T. Calderone, *Carleton College*
Chuan Xiao, *University of Texas–El Paso*
Chu-Young Kim, *University of Texas–El Paso*
Corin Slown, *California State University Monterey Bay*
Craig Peebles, *University of Pittsburgh*
D. Andrew Burden, *Middle Tennessee State University*

Dana Baum, *St. Louis University–Main Campus*
Daniel Edwards, *California State University–Chico*
Daniel Golemboski, *Bellarmino College–Louisville*
Danny Ho, *Columbia University–New York*
Darryl Aucoin, *Caldwell College*
David Bartley, *Adrian College*
David H. Eagerton, *Campbell University*
David Snyder, *William Paterson University*
Deborah Polayes, *George Mason University*
Didem Vardar-Ulu, *Boston University*
Dipak K. Ghosh, *North Carolina A & T State University*
Donald Beitz, *Iowa State University*
Donald Doyle, *Georgia Institute of Technology*
Donna Pattison, *University of Houston*
Elizabeth Middleton, *Purchase College, SUNY*
Evelyn Swain, *Presbyterian College*
Fares Najjar, *University of Oklahoma–Norman*
Garland Crawford, *Mercer University–Macon*
George Nora, *Northern State University*
Gerald F. Audette, *York University, North York*
Gerwald Jogl, *Brown University*
Gillian Rudd, *Georgia Gwinnett College*
Glover Martin, *University of Massachusetts–Boston*
Graham Moran, *Loyola University Chicago*
Grazyna Nowak, *University of Arkansas for Medical Sciences*
Heather Coan, *Western Carolina University*
Heather Larson, *Indiana University Southeast*
Henrike Besche, *Harvard Medical School*
Ike Shibley, *Pennsylvania State University–Berks Campus*
Isaac Forquer, *Portland State University*
James D. West, *The College of Wooster*
James Lee, *Old Dominion University*
James Nolan, *Georgia Gwinnett College*
Jamie Towle-Weicksel, *Rhode Island College*
Jane Hobson, *Kwantlen Polytechnic University*
Jason Fowler, *Lincoln Memorial University*
Jason Kahn, *University of Maryland*
Jean Gaffney, *Baruch College*

Jennifer Cecile, *Appalachian State University*
Jennifer E. Grant, *University of Wisconsin Stout*
Jennifer Fishovitz, *Saint Mary's College*
Jennifer Sniegowski, *Arizona State University–Downtown*
Jeremy T. Mitchell-Koch, *Bethel College–North Newton*
Jeremy Thorner, *University of California–Berkeley*
Jim Roesser, *Virginia Commonwealth University*
Joanna Krueger, *University of North Carolina–Charlotte*
Joanne Souza, *Stony Brook University*
Joel Gray, *Texas State University*
John Chik, *Mount Royal University*
John Conrad, *University of Nebraska–Omaha*
John Means, *University of Rio Grande*
John Richardson, *Austin College*
Jonathan Parrish, *University of Alberta*
Joseph Jez, *Washington University in St. Louis*
Joseph Schulz, *Occidental College*
Joshua M. Blose, *College at Brockport–State University of New York*
Joshua Sakon, *University of Arkansas–Fayetteville*
Joshua Sokoloski, *Salisbury University*
Judy Moore, *Lenoir-Rhyne University–Hickory*
Justin DiAngelo, *Pennsylvania State University–Berks Campus*
Kalju Kahn, *University of California–Santa Barbara*
Katarzyna Roberts, *Rogers State University*
Katherine Launer-Felty, *Connecticut College*
Kathleen Foley Geiger, *Michigan State University*
Katie Garber, *St. Norbert College*
Kavita Shah, *Purdue University–Main Campus*
Kelli Slunt, *University of Mary Washington*
Kenneth Balazovich, *University of Michigan*
Kerry Smith, *Clemson University*
Kersten Schroeder, *University of Central Florida*
Kevin Brown, *University of Florida–Gainesville*
Kevin Francis, *Texas A&M–Kingsville*
Kevin Kearney, *MCPHS University*
Kevin Redding, *Arizona State University*
Kevin Siebenlist, *Marquette University*
Kimberly Lane, *Radford University*

Kimberly Lyle-Ippolito, *Anderson University*
Kirsten Fertuck, *Northeastern University–Boston*
Koni Stone, *California State University Stanislaus*
Kristin Dittenhafer-Reed, *Hope College*
Lawrence Gracz, *Massachusetts College of Pharmacy & Health Sciences*
Leah Cohen, *College of Staten Island, CUNY*
Lilian Chooback, *University of Central Oklahoma*
Lori Isom, *University of Central Arkansas*
Lori Wallrath, *University of Iowa–Iowa City*
Marcello Forconi, *College of Charleston*
Margaret Daugherty, *Colorado College*
Maria Kuhn, *Madonna University*
Marilena Hall, *Stonehill College*
Marina Gimpelev, *Dominican College*
Mario Pennella, *University of Wisconsin–Madison*
Marjorie A. Jones, *Illinois State University*
Mark Snider, *The College of Wooster*
Mary Elizabeth Peek, *Georgia Institute of Technology Main Campus*
Mary Hatcher-Skeers, *Scripps College*
Matthew Hartman, *Virginia Commonwealth University*
Matthew R. Jensen, *Concordia University, St. Paul*
Meagan Mann, *Austin Peay State University*
Megan E. Rudock, *Wake Forest University*
Michael Borenstein, *Temple University School of Pharmacy*
Michael Cascio, *Duquesne University*
Michael Koelle, *Yale University*
Michael Massiah, *George Washington University*
Michael Mendenhall, *University of Kentucky*
Michael Pikaart, *Hope College*
Michael Sehorn, *Clemson University*
Michael Trakselis, *Baylor University*
Michelle Pozzi, *Texas A&M University*
Mrinal Bhattacharjee, *Long Island University–Brooklyn*
Narasimha Sreerama, *Colorado State University*
Natasha DeVore, *Missouri State University Springfield*
Neena Grover, *Colorado College*
Newton Hilliard, *Arkansas Technical University*
Nianli Sang, *Drexel University*

Nicholas Burgis, *Eastern Washington University*
Nicholas Grossoehme, *Winthrop University*
Nitin Jain, *University of Tennessee*
Nuran Ercal, *Missouri University of Science & Technology*
P. Matthew Joyner, *Pepperdine University*
Patrick Larkin, *Texas A&M University–Corpus Christi*
Patrick Schacht, *California Baptist University*
Paul Adams, *University of Arkansas*
Paul Bond, *Shorter University*
Paul DeLaLuz, *Lee University*
Paul Hager, *East Carolina University*
Paul Larsen, *University of California–Riverside*
Peter Kahn, *Rutgers University*
Pingwei Li, *Texas A&M University*
Pradip Sarkar, *Parker University*
Ramin Radfar, *Wofford College*
Ravinder Abrol, *California State University–Northridge*
Rebecca Corbin, *Ashland University*
Rekha Srinivasan, *Case Western Reserve University*
Reza Karimi, *Pacific University*
Richard Amasino, *University of Wisconsin–Madison*
Richard Singiser, *Clayton State University*
Rishab K. Gupta, *University of California–Los Angeles*
Robert B. Congdon, *Broome Community College, SUNY*
Robert Brown, *Memorial University of Newfoundland*
Robert J. Warburton, *Shepherd University*
Robin Haynes, *Harvard University*
Ronald Gary, *University Nevada–Las Vegas*
Russ Feirer, *St. Norbert College & Medical College of Wisconsin*
Ryan Steed, *University of North Carolina–Asheville*
Sabeeha Merchant, *University of California–Berkeley*
Samuel Butcher, *University of Wisconsin–Madison*
Sandra Barnes, *Alcorn State University*
Sarah J. Smith, *Bucknell University*
Sarah Lee, *Abilene Christian University*
Scott Lefler, *Arizona State University–Tempe*
Scott Napper, *University of Saskatchewan*
Silvana Constantinescu, *Marymount College–Rancho Palos Verdes*

Siva Panda, *Augusta State University*
Somdeb Mitra, *New York University*
Steven Cok, *Framingham State College*
Steven Ellis, *University of Louisville*
Stylianios Fakas, *Alabama A & M University*
Susan Colette Daubner, *St. Mary's University*
Susan Mitroka, *Worcester State University*
Tamar B. Caceres, *Union University*
Tamara Hendrickson, *Wayne State University*
Tamiko Porter, *Indiana University–Purdue University Indianapolis*
Tanea Reed, *Eastern Kentucky University*
Tanya Dahms, *University of Regina*
Taylor J. Mach, *Concordia University, St. Paul*
Terry Kubiseski, *York University–Keele Campus*
Thomas Vida, *University of Houston*
Todd Johnson, *Weber State University–Ogden*
Todd M. Weaver, *University of Wisconsin La Crosse*
Tom Huxford, *San Diego State University*
Tomas T. Ding, *North Carolina Central University*
Tuhin Das, *John Jay College of Criminal Justice, CUNY*
Vishwa D. Trivedi, *Bethune Cookman University*
Wallace Sharif, *Morehouse College*
Xiangshu Jin, *Michigan State University–East Lansing*
Xuemin Wang, *University of Missouri–St. Louis*
Yingchun Li, *Texas A&M University–Prairie View*
Yongli Chen, *Hawaii Pacific University–Hilo*
Yu Wang, *The University of Alabama*
Yulia Gerasimova, *University of Central Florida*
Yun Li, *Delaware Valley University*
Zeenat Bashir, *Canisius College*

Não temos espaço aqui para citar todas as pessoas que contribuíram para o desenvolvimento deste livro, mas expressamos aqui nosso sincero agradecimento – e o livro pronto que eles ajudaram a completar. Assumimos, é claro, total responsabilidade por eventuais incorreções.

Queremos agradecer, de modo especial, aos nossos alunos da University of Wisconsin-Madison por inúmeras sugestões e comentários. Se alguma coisa no livro não estiver bem, eles não deixarão de nos informar. Somos muito gratos aos estudantes e à equipe de nossos grupos de pesquisa, atuais e do passado, que nos ajudaram a equilibrar as demandas com o nosso tempo;

aos nossos colegas do Departamento de Bioquímica da University of Wisconsin-Madison, que nos ajudaram com conselhos e críticas, e a muitos estudantes e professores que nos escreveram para sugerir formas de melhorar o livro. Esperamos que nossos leitores continuem nos estimulando para futuras edições.

Finalmente, expressamos nossa profunda gratidão aos nossos companheiros (Brook, Beth e Tim) e às nossas famílias, que mostraram extraordinária paciência neste projeto, bem como apoio à escrita de nosso livro.

David L. Nelson
Michael M. Cox
Aaron A. Hoskins
Madison, Wisconsin

Sumário

1. Fundamentos de bioquímica

1.1 Fundamentos celulares

As células são as unidades estruturais e funcionais de todos os organismos vivos
A difusão limita o tamanho das células
Os organismos são classificados em três domínios de vida distintos
Os organismos diferem amplamente quanto às suas fontes de energia e aos precursores biossintéticos
Células de bactérias e de arqueias possuem propriedades comuns, mas diferem em aspectos importantes
As células eucarióticas têm vários tipos de organelas membranosas que podem ser isoladas para estudo
O citoplasma é organizado pelo citoesqueleto e é altamente dinâmico
As células constroem estruturas supramoleculares
Estudos *in vitro* podem subestimar interações importantes entre moléculas

1.2 Fundamentos químicos

Biomoléculas são compostos de carbono que possuem uma variedade de grupos funcionais
As células contêm um conjunto universal de pequenas moléculas

QUADRO 1-1. Peso molecular, massa molecular e suas unidades corretas

As macromoléculas são os principais constituintes das células
A estrutura tridimensional é descrita pela configuração e pela conformação

QUADRO 1-2. Louis Pasteur e atividade óptica: *in vino, veritas*

As interações entre biomoléculas são estereoespecíficas

1.3 Fundamentos físicos

Os organismos vivos existem em um estado estacionário dinâmico e nunca em equilíbrio com o meio em que se encontram
Os organismos transformam energia e matéria a partir do meio circundante
Criar e manter ordem requer trabalho e energia

QUADRO 1-3. Entropia: tudo se desintegra

Reações de acoplamento de energia na biologia

K_{eq} e ΔG° são medidas da tendência de uma reação ocorrer espontaneamente

Enzimas promovem sequências de reações químicas

O metabolismo é regulado para ser balanceado e econômico

1.4 Fundamentos genéticos

A continuidade genética está incorporada em uma única molécula de DNA

A estrutura do DNA permite sua replicação e seu reparo com uma fidelidade quase perfeita

A sequência linear no DNA codifica proteínas com estruturas tridimensionais

1.5 Fundamentos evolutivos

Mudanças nas instruções hereditárias possibilitam a evolução

As biomoléculas inicialmente surgiram por evolução química

O RNA ou precursores relacionados podem ter sido os primeiros genes e catalisadores

A evolução biológica começou há mais de 3,5 bilhões de anos

A primeira célula provavelmente usou combustíveis inorgânicos

As células eucarióticas evoluíram em vários estágios a partir de precursores mais simples

A anatomia molecular revela relações evolutivas

A genômica funcional mostra a alocação de genes para processos celulares específicos

A comparação entre genomas é cada vez mais importante na biologia e na medicina

I. ESTRUTURA E CATÁLISE

2. Água, o solvente da vida

2.1 Interações fracas em sistemas aquosos

Ligações de hidrogênio são responsáveis pelas propriedades incomuns da água

A água forma ligações de hidrogênio com solutos polares

A água interage eletrostaticamente com solutos carregados

Gases apolares são fracamente solúveis em água

Compostos apolares forçam mudanças energeticamente desfavoráveis na estrutura da água

Interações de van der Waals são atrações interatômicas fracas

Interações fracas são cruciais para a estrutura e a função das macromoléculas

Solutos concentrados produzem pressão osmótica

2.2 Ionização da água e de ácidos e bases fracas

A água pura é levemente ionizada

A ionização da água é expressa pela constante de equilíbrio

A escala de pH indica as concentrações de H^+ e OH^-

QUADRO 2-1. Sendo sua própria cobaia (não tente fazer isso em casa!)

Ácidos fracos e bases fracas têm constantes de dissociação ácida características

A determinação do pK_a de ácidos fracos é feita por curvas de titulação

2.3 Tamponamento *versus* mudanças no pH em sistemas biológicos

Tampões são misturas de ácidos fracos e suas bases conjugadas

A equação de Henderson-Hasselbalch relaciona o pH, o pK_a e a concentração do tampão

Ácidos ou bases fracas tamponam células e tecidos contra mudanças no pH

O diabetes não controlado produz uma acidose que traz risco de vida

3. Aminoácidos, peptídeos e proteínas

3.1 Aminoácidos

Os aminoácidos têm algumas características estruturais em comum

Todos os resíduos de aminoácidos nas proteínas são estereoisômeros L

Os aminoácidos podem ser classificados de acordo com o grupo R

QUADRO 3-1. Absorção de luz pelas moléculas: a lei de Lambert-Beer

Aminoácidos incomuns também têm funções importantes

Aminoácidos podem agir como ácidos e bases

Os aminoácidos diferem entre si quanto às propriedades acidobásicas

3.2 Peptídeos e proteínas

Peptídeos são cadeias de aminoácidos

Pode-se diferenciar peptídeos pelo comportamento de ionização

Peptídeos e polipeptídeos biologicamente ativos ocorrem em uma ampla variedade de tamanhos e composições

Algumas proteínas contêm outros grupos químicos além dos aminoácidos

3.3 Trabalhando com proteínas

Proteínas podem ser separadas e purificadas

Proteínas podem ser separadas e caracterizadas por eletroforese

As proteínas não separadas são detectadas e quantificadas com base nas suas funções

3.4 A estrutura das proteínas: estrutura primária

A função de uma proteína depende da sua sequência de aminoácidos

A estrutura das proteínas é estudada com o uso de métodos que exploram a química das proteínas

A espectrometria de massas fornece informações sobre massa molecular, sequência de aminoácidos e proteomas inteiros

Pequenos peptídeos e proteínas podem ser sintetizados quimicamente

As sequências de aminoácidos fornecem informações bioquímicas importantes

QUADRO 3-2. Sequências-consenso e representações de sequências

Sequências de proteínas ajudam a elucidar a história da vida na Terra

4. Estrutura tridimensional das proteínas

4.1 Visão geral da estrutura das proteínas

A conformação de uma proteína é estabilizada por interações fracas

A agregação de aminoácidos hidrofóbicos longe do contato com a água favorece o enovelamento das proteínas

Os grupos polares contribuem com ligações de hidrogênio e pares iônicos para o enovelamento das proteínas

As interações de van der Waals são individualmente fracas, mas seu somatório impulsiona o enovelamento

A ligação peptídica é rígida e planar

4.2 Estrutura secundária das proteínas

A α -hélice é uma estrutura secundária comum das proteínas

QUADRO 4-1. Distinção entre o giro no sentido da mão direita e o da mão esquerda

A sequência de aminoácidos afeta a estabilidade da α -hélice

A conformação β organiza as cadeias polipeptídicas em forma de folhas

As voltas β são comuns nas proteínas

Estruturas secundárias comuns têm ângulos diedros característicos

As estruturas secundárias comuns podem ser identificadas por dicroísmo circular

4.3 Estruturas terciária e quaternária das proteínas

As proteínas fibrosas são adaptadas para desempenhar funções estruturais

QUADRO 4-2. Por que marinheiros, exploradores e universitários devem comer frutas e vegetais frescos

A diversidade estrutural reflete a diversidade funcional das proteínas globulares

QUADRO 4-3. Protein Data Bank

A mioglobina forneceu as primeiras noções sobre a complexidade da estrutura proteica globular

As proteínas globulares têm grande diversidade de estruturas terciárias

Algumas proteínas ou segmentos proteicos são intrinsecamente desordenados

Os motivos das proteínas são a base para a sua classificação

A estrutura quaternária varia de simples dímeros a grandes complexos

4.4 Desnaturação e enovelamento das proteínas

A perda da estrutura da proteína determina a perda da função

A sequência de aminoácidos determina a estrutura terciária

Os polipeptídeos enovelam-se rapidamente em um processo gradativo

Algumas proteínas precisam de ajuda para se enovelar

Defeitos no enovelamento proteico constituem a base molecular de muitas doenças genéticas humanas

QUADRO 4-4. Morte por enovelamento errôneo: doenças de príons

4.5 Determinação das estruturas de proteínas e biomoléculas

QUADRO 4-5. Videogames e projeção de proteínas

Difração de raios X fornecem mapas da densidade eletrônica de cristais de proteínas

As distâncias entre os átomos de uma proteína podem ser medidas por ressonância magnética nuclear

Milhares de moléculas são utilizadas para determinar a estrutura por criomicroscopia eletrônica

5. Função das proteínas

5.1 Ligação reversível de uma proteína com um ligante: proteínas que ligam oxigênio

O oxigênio pode ligar-se ao grupo prostético heme
As globinas são uma família de proteínas que ligam oxigênio
A mioglobina tem um único sítio de ligação ao oxigênio
As interações proteína-ligante podem ser descritas quantitativamente
A estrutura da proteína afeta como o ligante é ligado
A hemoglobina transporta oxigênio no sangue
As subunidades da hemoglobina têm estruturas semelhantes às da mioglobina
A hemoglobina sofre mudanças estruturais quando liga oxigênio
A hemoglobina liga o oxigênio em um processo cooperativo

QUADRO 5-1. Monóxido de carbono: um assassino invisível

A interação cooperativa do ligante pode ser descrita em termos quantitativos
Dois modelos que propõem mecanismos para a ligação cooperativa
A hemoglobina também transporta H^+ e CO_2
A ligação do oxigênio com a hemoglobina é regulada por 2,3-bisfosfoglicerato
A anemia falciforme é uma doença molecular da hemoglobina

5.2 Complementariedade das ligações entre proteínas e ligantes: o sistema imune e as imunoglobulinas

A resposta imune inclui um arsenal de células e proteínas especializadas
Os anticorpos têm dois sítios idênticos de ligação ao antígeno
Os anticorpos ligam-se ao antígeno de maneira firme e específica
A interação antígeno-anticorpo é a base para uma grande variedade de procedimentos analíticos importantes

5.3 As interações entre proteínas são moduladas por energia química: actina, miosina e motores moleculares

A actina e a miosina são as principais proteínas do músculo
Proteínas suplementares organizam os filamentos finos e grossos em estruturas ordenadas
Os filamentos grossos de miosina deslizam sobre os filamentos finos de actina

6. Enzimas

6.1 Introdução às enzimas

A maioria das enzimas são proteínas

As enzimas são classificadas segundo as reações que catalisam

6.2 Como as enzimas funcionam

As enzimas alteram a velocidade da reação, mas não o equilíbrio

Velocidade e equilíbrio da reação têm definições termodinâmicas precisas

Alguns princípios são suficientes para explicar o poder catalítico e a especificidade das enzimas

As interações não covalentes entre enzima e substrato são otimizadas no estado de transição

A contribuição de interações covalentes e íons metálicos para a catálise

6.3 A cinética enzimática como abordagem para compreender os mecanismos

A concentração do substrato afeta a velocidade das reações catalisadas por enzimas

A relação entre a concentração do substrato e a velocidade da reação pode ser expressa com a equação de Michaelis-Menten

A cinética de Michaelis-Menten pode ser analisada quantitativamente

Os parâmetros cinéticos são utilizados para comparar a atividade das enzimas

Muitas enzimas catalisam reações com dois ou mais substratos

A atividade enzimática depende do pH

A cinética do estado pré-estacionário pode fornecer evidências de etapas específicas das reações

As enzimas estão sujeitas à inibição reversível ou irreversível

QUADRO 6-1. Curando a doença do sono com um cavalo de Troia bioquímico

6.4 Exemplos de reações enzimáticas

O mecanismo de ação da quimotripsina envolve a acilação e a desacilação de um resíduo de serina

O conhecimento dos mecanismos das proteases levou a novos tratamentos para a infecção por HIV

A hexocinase sofre um encaixe induzido quando o substrato se liga
O mecanismo de reação da enolase requer a presença de íons metálicos
O conhecimento dos mecanismos enzimáticos leva à criação de antibióticos úteis

6.5 Enzimas regulatórias

Enzimas alostéricas sofrem mudanças conformacionais em resposta à ligação de moduladores
As propriedades cinéticas das enzimas alostéricas não seguem o comportamento de Michaelis-Menten
Algumas enzimas são reguladas por modificações covalentes reversíveis
Os grupos fosforila afetam a estrutura e a atividade catalítica das enzimas
Fosforilações múltiplas possibilitam um controle requintado da regulação
Algumas enzimas e outras proteínas são reguladas pela clivagem proteolítica de precursores de enzimas
A coagulação do sangue é mediada por uma cascata de zimogênios ativados de forma proteolítica
Algumas enzimas utilizam vários mecanismos regulatórios

7. Carboidratos e glicobiologia

7.1 Monossacarídeos e dissacarídeos

Aldoses e cetoses são as duas famílias de monossacarídeos

QUADRO 7-1. O que faz o açúcar ser doce?

Os monossacarídeos têm centros assimétricos
Os monossacarídeos comuns têm estruturas cíclicas
Os organismos contêm diversos derivados de hexoses
Açúcares que são aldeídos ou que podem formar aldeídos são açúcares redutores

QUADRO 7-2. Medidas da glicose sanguínea no diagnóstico e tratamento do diabetes

7.2 Polissacarídeos

Alguns homopolissacarídeos são formas de armazenamento de combustível
Alguns homopolissacarídeos têm funções estruturais
Fatores estéricos e ligações de hidrogênio influenciam o enovelamento dos homopolissacarídeos

Peptidoglicanos reforçam a parede celular bacteriana

Os glicosaminoglicanos são heteropolissacarídeos da matriz extracelular

7.3 Glicoconjugados: proteoglicanos, glicoproteínas e glicolipídeos

Os proteoglicanos são macromoléculas da superfície celular e da matriz extracelular que contêm glicosaminoglicanos

QUADRO 7-3. Defeitos na síntese ou na degradação de glicosaminoglicanos sulfatados podem levar a doenças graves em seres humanos

As glicoproteínas têm oligossacarídeos ligados covalentemente

Glicolipídeos e lipopolissacarídeos são componentes de membranas

7.4 Carboidratos como moléculas informacionais: o código do açúcar

As estruturas de oligossacarídeos são densas em informação

Lectinas são proteínas que leem o código dos açúcares e medeiam muitos processos biológicos

As interações lectina-carboidrato são altamente específicas e, com frequência, multivalentes

7.5 Trabalhando com carboidratos

8. Nucleotídeos e ácidos nucleicos

8.1 Algumas definições básicas e convenções

Nucleotídeos e ácidos nucleicos têm pentoses e bases características

As ligações fosfodiéster ligam nucleotídeos consecutivos nos ácidos nucleicos

As propriedades das bases nucleotídicas afetam a estrutura tridimensional dos ácidos nucleicos

8.2 Estrutura dos ácidos nucleicos

O DNA é uma dupla-hélice que armazena informação genética

O DNA pode ocorrer em formas tridimensionais diferentes

Certas sequências de DNA adotam estruturas incomuns
RNA mensageiros codificam cadeias polipeptídicas
Muitos RNA têm estruturas tridimensionais mais complexas

8.3 Química dos ácidos nucleicos

DNA e RNA duplas-hélices podem ser desnaturados
Nucleotídeos e ácidos nucleicos sofrem transformações não enzimáticas
Algumas bases do DNA são metiladas
A síntese química de DNA foi automatizada
As sequências gênicas podem ser amplificadas com a reação em cadeia da polimerase

QUADRO 8-1. Uma arma potente em medicina forense

As sequências de longas hélices de DNA podem ser determinadas
Tecnologias de sequenciamento de DNA estão avançando rapidamente

8.4 Outras funções de nucleotídeos

Os nucleotídeos carregam energia química nas células
Nucleotídeos da adenina são componentes de muitos cofatores enzimáticos
Alguns nucleotídeos são moléculas regulatórias
Os nucleotídeos de adenina também servem como sinais

9. Tecnologias da informação baseadas no DNA

9.1 Estudo dos genes e de seus produtos

Genes podem ser isolados por clonagem do DNA
Endonucleases de restrição e DNA-ligases produzem DNA recombinante
Os vetores de clonagem permitem a amplificação dos segmentos de DNA inseridos
Genes clonados podem ser expressos para amplificar a produção de proteínas
Muitos sistemas diferentes são utilizados para expressar proteínas recombinantes
A alteração de genes clonados produz proteínas alteradas
Marcadores terminais fornecem instrumentos para a purificação por afinidade
A reação em cadeia da polimerase oferece muitas opções para experimentos de clonagem
Bibliotecas de DNA são catálogos especializados de informação genética

9.2 Explorando a função da proteína na escala das células ou de organismos inteiros

Sequências ou relações estruturais podem sugerir a função da proteína
Quando e onde uma proteína está presente em uma célula pode sugerir a função proteica
Saber com o que uma proteína interage pode sugerir sua função
O efeito da deleção ou da alteração de uma proteína pode sugerir sua função

QUADRO 9-1. Livrando-se de pragas com *gene drives*

Muitas proteínas ainda não foram descobertas

9.3 Genômica e história da humanidade

O genoma humano contém vários tipos de sequências
O sequenciamento do genoma fornece informações sobre a humanidade
Comparações do genoma ajudam a localizar genes envolvidos em doenças
Sequências no genoma informam o passado do ser humano e fornecem oportunidades para o futuro

QUADRO 9-2. Conhecendo o parente mais próximo da humanidade

10. Lipídeos

10.1 Lipídeos de armazenamento

Os ácidos graxos são derivados de hidrocarbonetos
Os triacilgliceróis são ésteres de ácidos graxos e glicerol
Os triacilgliceróis armazenam energia e proporcionam isolamento térmico
A hidrogenação parcial de óleos de cozinha melhora sua estabilidade, mas cria ácidos graxos com efeitos danosos para a saúde
As ceras servem como reservas de energia e como impermeabilizantes à água

10.2 Lipídeos estruturais em membranas

Os glicerofosfolipídeos são derivados do ácido fosfatídico
Alguns glicerofosfolipídeos têm ácidos graxos em ligação éter
Galactolipídeos de vegetais e lipídeos éter de arqueias resultam de adaptações ao ambiente
Os esfingolipídeos são derivados da esfingosina
Os esfingolipídeos nas superfícies celulares são sítios de reconhecimento biológico

Os fosfolipídeos e os esfingolipídeos são degradados nos lisossomos

QUADRO 10-1. Acúmulo anormal de lipídeos de membrana: algumas doenças humanas hereditárias

Os esteróis têm quatro anéis de carbono fusionados

10.3 Lipídeos como sinalizadores, cofatores e pigmentos

Fosfatidilinositóis e derivados da esfingosina atuam como sinalizadores intracelulares

Os eicosanoides carregam mensagens para células próximas

Os hormônios esteroides carregam mensagens entre os tecidos

As plantas vasculares produzem milhares de sinais voláteis

As vitaminas A e D são precursoras de hormônios

As vitaminas E e K e as quinonas lipídicas são cofatores de oxirredução

Os dolícóis ativam açúcares precursores para vias de biossíntese

Muitos pigmentos naturais são dienos conjugados lipídicos

Os policetídeos são produtos naturais com poderosas atividades biológicas

10.4 Trabalhando com lipídeos

A extração de lipídeos requer solventes orgânicos

A cromatografia de adsorção separa lipídeos de polaridades diferentes

A cromatografia gasosa separa misturas de derivados voláteis de lipídeos

A hidrólise específica auxilia a determinação das estruturas dos lipídeos

A espectrometria de massas revela a estrutura lipídica completa

A lipidômica busca catalogar todos os lipídeos e suas funções

11. Membranas biológicas e transporte

11.1 Composição e arquitetura das membranas

A bicamada lipídica é estável em água

A arquitetura da bicamada define a estrutura e as funções das membranas biológicas

O sistema de endomembranas é dinâmico e apresenta funções diversas

Proteínas de membrana são receptores, transportadores e enzimas

Proteínas de membrana diferem quanto à natureza da sua associação com a bicamada

A topologia de uma proteína integral de membrana geralmente pode ser prevista a partir da sua sequência

Lipídeos ligados covalentemente ancoram ou direcionam algumas proteínas de membrana

11.2 Dinâmica das membranas

Os grupos acila no interior da bicamada são ordenados em graus variados

A movimentação de lipídeos através da bicamada necessita de catálise

Lipídeos e proteínas difundem-se lateralmente na bicamada

Esfingolipídeos e colesterol agrupam-se em balsas da membrana

Curvaturas na membrana e fusão entre membranas são centrais para muitos processos biológicos

As proteínas integrais da membrana plasmática estão envolvidas em adesão a superfícies, sinalização e outros processos celulares

11.3 Transporte de solutos através de membranas

O transporte pode ser passivo ou ativo

Transportadores e canais iônicos possuem algumas propriedades estruturais em comum, mas têm mecanismos de ação diferentes

O transportador de glicose dos eritrócitos é o mediador do transporte passivo

QUADRO 11-1. Defeitos no transportador de glicose e o diabetes

O trocador cloreto-bicarbonato catalisa o cotransporte eletroneutro de ânions através da membrana plasmática

O transporte ativo leva ao movimento do soluto contra o gradiente de concentração ou o gradiente eletroquímico

ATPases do tipo P sofrem fosforilação durante seus ciclos catalíticos

ATPases do tipo V e do tipo F são bombas de prótons impulsionadas por ATP

Transportadores ABC usam ATP para impulsionar o transporte ativo de uma grande variedade de substratos

QUADRO 11-2. Defeito de canal iônico na fibrose cística

Gradientes iônicos fornecem energia para o transporte ativo secundário

As aquaporinas formam canais hidrofílicos transmembrana para a passagem de água

Canais iônicos seletivos permitem a passagem rápida de íons através das membranas

A estrutura de um canal de K^+ revela os fundamentos da sua especificidade

12. Sinalização bioquímica

12.1 Características gerais da transdução de sinais

Os sistemas de transdução de sinal possuem características em comum
O processo geral da transdução de sinais nos animais é universal

12.2 Receptores acoplados à proteína G e segundos mensageiros

O sistema do receptor β -adrenérgico age por meio do segundo mensageiro AMPc
O AMPc ativa a proteína-cinase A

QUADRO 12-1. FRET: bioquímica em células vivas

Vários mecanismos provocam o término da resposta β -adrenérgica
O receptor β -adrenérgico é dessensibilizado por fosforilação e associação com a arrestina
O AMPc age como segundo mensageiro para muitas moléculas reguladoras

QUADRO 12-2. Receptores guanilato-ciclase, GMPc e proteína-cinase G

As proteínas G agem como comutadores autolimitantes em muitos processos
Diacilglicerol, inositol-trisfosfato e Ca^{2+} têm funções relacionadas com segundos mensageiros
O cálcio é um segundo mensageiro limitado no espaço e no tempo

12.3 Os GPCR na visão, no olfato e no paladar

O olho dos vertebrados utiliza mecanismos clássicos dos GPCR

QUADRO 12-3. Daltonismo: o experimento de John Dalton após a sua morte

O olfato e o paladar dos vertebrados utilizam mecanismos similares aos do sistema visual
Todos os sistemas de GPCR compartilham características universais

12.4 Receptores tirosinas-cinases

A estimulação do receptor de insulina desencadeia uma cascata de reações de fosforilação de proteínas
O fosfolípido de membrana PIP_3 age em uma ramificação na sinalização por insulina
Comunicações cruzadas entre sistemas de sinalização são comuns e complexas

12.5 Proteínas adaptadoras multivalentes e balsas da membrana

Módulos proteicos se ligam a resíduos fosforilados de Tyr, Ser ou Thr nas proteínas associadas
Balsas e cavéolas da membrana segregam proteínas sinalizadoras

12.6 Canais iônicos regulados (portões)

Canais iônicos são a base da sinalização elétrica rápida nas células excitáveis
Canais iônicos dependentes de voltagem produzem os potenciais de ação dos neurônios
Os neurônios têm canais receptores que respondem a diferentes neurotransmissores
Algumas toxinas têm canais iônicos como alvos

12.7 Regulação da transcrição por receptores nucleares de hormônios

12.8 Regulação do ciclo celular por proteínas-quinasas

O ciclo celular tem quatro estágios
Os níveis de proteínas-quinasas dependentes de ciclina oscilam
As CDK são reguladas por fosforilação, degradação de ciclinas, fatores de crescimento e inibidores específicos
As CDK regulam a divisão celular pela fosforilação de proteínas cruciais

12.9 Oncogenes, genes supressores de tumores e morte celular programada

Oncogenes são formas mutantes dos genes de proteínas que regulam o ciclo celular

QUADRO 12-4. Desenvolvimento de inibidores da proteína-quinase para o tratamento de câncer

Defeitos em determinados genes eliminam os controles normais da divisão celular
A apoptose é o suicídio celular programado

II. BIOENERGÉTICA E METABOLISMO

13. Introdução ao metabolismo

13.1 Bioenergética e termodinâmica

As transformações biológicas de energia obedecem às leis da termodinâmica
A variação de energia livre padrão está diretamente relacionada com a constante de equilíbrio
A variação de energia livre real depende das concentrações dos reagentes e dos produtos

As variações de energia livre padrão são somadas

13.2 Lógica química e as reações bioquímicas comuns

As reações bioquímicas ocorrem em padrões que se repetem

QUADRO 13-1. Introdução aos nomes das enzimas

As equações bioquímicas e químicas não são idênticas

13.3 Transferências de grupos fosforila e ATP

A variação de energia livre para a hidrólise do ATP é grande e negativa

Outros compostos fosforilados e tioésteres também possuem energias livres de hidrólise negativas elevadas

O ATP fornece energia por transferências de grupo, e não por hidrólise simples

O ATP doa grupos fosforila, pirofosforila e adenilila

QUADRO 13-2. O lampejar do vaga-lume: informações luminosas do ATP

A montagem de macromoléculas informacionais requer energia

Transfosforilações entre nucleotídeos ocorrem em todos os tipos de células

13.4 Reações biológicas de oxidação-redução

O fluxo de elétrons pode realizar trabalho biológico

As reações de oxidação-redução podem ser descritas como semirreações

As oxidações biológicas geralmente envolvem desidrogenação

Os potenciais de redução medem a afinidade por elétrons

Os potenciais de redução padrão podem ser usados para calcular a variação de energia livre

Alguns tipos de coenzimas e proteínas servem como carreadores universais de elétrons

O NAD tem outras funções importantes além de transferir elétrons

Os nucleotídeos de flavina são fortemente ligados às flavoproteínas

13.5 Regulação das vias metabólicas

As células e os organismos mantêm um estado estacionário dinâmico

A quantidade de uma enzima e a sua atividade catalítica podem ser reguladas

As reações fora do equilíbrio nas células são pontos de regulação comuns

Os nucleotídeos da adenina têm papéis especiais na regulação metabólica

14. Glicólise, gliconeogênese e a via das pentoses-fosfato

14.1 Glicólise

Uma visão geral: a glicólise tem duas fases

A fase preparatória da glicólise requer ATP

A fase de pagamento da glicólise produz ATP e NADH

O balanço geral mostra um ganho líquido de dois ATP e dois NADH por glicose

14.2 Vias alimentadoras da glicólise

O glicogênio e o amido endógenos são degradados por fosforólise

Os polissacarídeos e os dissacarídeos da dieta sofrem hidrólise a monossacarídeos

14.3 Destinos do piruvato

Os efeitos de Pasteur e Warburg devem-se à dependência unicamente da glicose para a produção de ATP

QUADRO 14-1. A alta velocidade da glicólise em tumores sugere alvos para a quimioterapia e facilita o diagnóstico

O piruvato é o aceptor final de elétrons na fermentação láctica

QUADRO 14-2. Catabolismo da glicose em condições limitantes de oxigênio

O etanol é o produto reduzido na fermentação alcoólica

As fermentações são usadas para produzir alguns alimentos comuns e reagentes químicos industriais

14.4 Gliconeogênese

O primeiro contorno: a conversão de piruvato em fosfoenolpiruvato requer duas reações exergônicas

O segundo e o terceiro contornos são desfosforilações simples por fosfatases

A gliconeogênese é essencial, mas energeticamente dispendiosa

Os mamíferos, diferentemente de plantas e microrganismos, não podem converter ácidos graxos em glicose

14.5 Regulação coordenada da glicólise e da gliconeogênese

As isoenzimas da hexocinase são afetadas diferentemente por seu produto, a glicose-6-fosfato

QUADRO 14-3. Isoenzimas: proteínas diferentes que catalisam a mesma reação

A regulação da fosfofrutocinase 1 e da frutose-1,6-bisfosfatase é recíproca

A frutose-2,6-bisfosfato é um regulador alostérico potente da PFK-1 e da FBPase-1

A xilulose-5-fosfato é um importante regulador do metabolismo dos carboidratos e das gorduras

A enzima glicolítica piruvato-cinase é inibida alostericamente por ATP

A conversão de piruvato em fosfoenolpiruvato é estimulada quando ácidos graxos estão disponíveis

A regulação transcricional altera o número de moléculas das enzimas

14.6 Oxidação da glicose pela via das pentoses-fosfato

QUADRO 14-4. Por que Pitágoras não comeria falafel: deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase

A fase oxidativa produz NADPH e pentoses-fosfato

A fase não oxidativa recicla as pentoses-fosfato a glicose-6-fosfato

A glicose-6-fosfato é repartida entre a glicólise e a via das pentoses-fosfato

A deficiência de tiamina causa a beri beri e a síndrome de Wernicke-Korsakoff

15. Metabolismo do glicogênio nos animais

15.1 Estrutura e função do glicogênio

Animais vertebrados necessitam de uma fonte rápida de combustível para o encéfalo e os músculos

Grânulos de glicogênio apresentam muitas camadas de cadeias ramificadas de D-glicose

15.2 Degradação e síntese do glicogênio

A degradação do glicogênio é catalisada pela glicogênio-fosforilase

A glicose-1-fosfato pode entrar na glicólise ou ser usada, no fígado, para repor a glicose sanguínea

QUADRO 15-1. Carl e Gerty Cori: pioneiros no estudo do metabolismo do glicogênio e doenças relacionadas

A UDP-glicose, um nucleotídeo-açúcar, doa glicose para a síntese do glicogênio

A glicogenina fornece um fragmento iniciador para a síntese do glicogênio

15.3 Regulação coordenada da degradação e da síntese do glicogênio

A glicogênio-fosforilase é regulada por fosforilação estimulada por hormônios e por efetores alostéricos

A glicogênio-sintase também está sujeita a múltiplos níveis de regulação

Sinais alostéricos e hormonais coordenam globalmente o metabolismo dos carboidratos

Os metabolismos de carboidratos e de lipídeos são integrados por mecanismos hormonais e alostéricos

16. Ciclo do ácido cítrico

16.1 Produção de acetil-CoA (acetato ativado)

O piruvato é oxidado a acetil-CoA e CO_2

O complexo da PDH utiliza três enzimas e cinco coenzimas para oxidar o piruvato

O complexo da PDH canaliza seus intermediários por meio de cinco reações

16.2 Reações do ciclo do ácido cítrico

A sequência das reações do ciclo do ácido cítrico é quimicamente lógica

O ciclo do ácido cítrico tem oito etapas

QUADRO 16-1. Enzimas plurifuncionais: proteínas com mais de uma função

QUADRO 16-2. Citrato: uma molécula simétrica que reage assimetricamente

A energia das oxidações do ciclo é conservada de maneira eficiente

16.3 O nodo central do metabolismo intermediário

O ciclo do ácido cítrico funciona em processos anabólicos e catabólicos

Reações anapleróticas repõem os intermediários do ciclo do ácido cítrico

A biotina da piruvato-carboxilase transporta grupos de um carbono (CO_2)

16.4 Regulação do ciclo do ácido cítrico

A produção de acetil-CoA pelo complexo da PDH é regulada por mecanismos alostéricos e covalentes

O ciclo do ácido cítrico também é regulado em três etapas exergônicas

A atividade do ciclo do ácido cítrico muda em tumores

Certos intermediários são canalizados por meio de metabolons

17. Catabolismo dos ácidos graxos

17.1 Digestão, mobilização e transporte de gorduras

As gorduras da dieta são absorvidas no intestino delgado

Hormônios ativam a mobilização dos triacilgliceróis armazenados

Os ácidos graxos são ativados e transportados para dentro das mitocôndrias

17.2 Oxidação de ácidos graxos

A β -oxidação de ácidos graxos saturados tem quatro etapas básicas

As quatro etapas da β -oxidação são repetidas para produzir acetil-CoA e ATP

QUADRO 17-1. Uma longa soneca no inverno: oxidando gorduras durante a hibernação

A acetil-CoA pode ser oxidada posteriormente no ciclo do ácido cítrico

A oxidação de ácidos graxos insaturados requer duas reações adicionais

A oxidação completa de ácidos graxos de número ímpar requer três reações extras

QUADRO 17-2. Coenzima B₁₂: uma solução radical para um problema desconcertante

A oxidação dos ácidos graxos é estritamente regulada

Fatores de transcrição ativam a síntese de proteínas para o catabolismo de lipídeos

Defeitos genéticos nas acil-CoA-desidrogenases causam doenças graves

Os peroxissomos também realizam β -oxidação

O ácido fitânico sofre α -oxidação nos peroxissomos

17.3 Corpos cetônicos

Os corpos cetônicos formados no fígado são exportados para outros órgãos como combustível

Os corpos cetônicos são produzidos em excesso no diabetes e durante o jejum

18. Oxidação de aminoácidos e produção de ureia

18.1 Destinos metabólicos dos grupos amino

As proteínas da dieta são enzimaticamente degradadas a aminoácidos
O piridoxal-fosfato participa da transferência de grupos α -amino para o α -cetoglutarato
O glutamato libera seu grupo amino na forma de amônia no fígado
A glutamina transporta a amônia na corrente sanguínea
A alanina transporta a amônia dos músculos esqueléticos para o fígado
A amônia é tóxica para os animais

18.2 Excreção de nitrogênio e ciclo da ureia

A ureia é produzida a partir da amônia por meio de cinco etapas enzimáticas
Os ciclos do ácido cítrico e da ureia podem estar ligados

QUADRO 18-1. Ensaio para avaliar lesão tecidual

A atividade do ciclo da ureia é regulada em dois níveis
A interconexão de vias reduz o custo energético da síntese da ureia
Defeitos genéticos do ciclo da ureia podem ser fatais

18.3 Vias de degradação dos aminoácidos

Alguns aminoácidos podem contribuir para a gliconeogênese, outros, para a síntese de corpos cetônicos
Diversos cofatores enzimáticos desempenham papéis importantes no catabolismo dos aminoácidos
Seis aminoácidos são degradados a piruvato
Sete aminoácidos são degradados, produzindo acetil-CoA
O catabolismo da fenilalanina é geneticamente defeituoso em algumas pessoas
Cinco aminoácidos são convertidos em α -cetoglutarato
Quatro aminoácidos são convertidos em succinil-CoA

QUADRO 18-2. MMA: às vezes mais do que uma doença genética

Os aminoácidos de cadeia ramificada não são degradados no fígado
A asparagina e o aspartato são degradados a oxalacetato

19. Fosforilação oxidativa

19.1 A cadeia respiratória mitocondrial

Os elétrons são canalizados para aceptores universais de elétrons
Os elétrons passam por uma série de transportadores ligados à membrana
Os transportadores de elétrons atuam em complexos multienzimáticos
Complexos mitocondriais associam-se e formam respirassomos
Outras vias doam elétrons para a cadeia respiratória via ubiquinona
A energia da transferência de elétrons é conservada de maneira eficaz em um gradiente de prótons
Espécies reativas de oxigênio são geradas durante a fosforilação oxidativa

19.2 Síntese de ATP

No modelo quimiosmótico, oxidação e fosforilação estão obrigatoriamente acopladas
A ATP-sintase tem dois domínios funcionais, F_0 e F_1
O ATP é estabilizado em relação ao ADP na superfície de F_1
O gradiente de prótons impulsiona a liberação de ATP a partir da superfície da enzima
Cada subunidade β da ATP-sintase pode assumir três diferentes conformações
A catálise rotacional é a chave para o mecanismo de alteração na ligação durante a síntese de ATP
O acoplamento quimiosmótico permite estequiometrias não integrais de consumo de O_2 e síntese de ATP
A força próton-motriz fornece energia ao transporte ativo
Sistemas de lançadeiras conduzem indiretamente NADH citosólico para as mitocôndrias para oxidação

QUADRO 19-1. Plantas quentes e fedidas e vias respiratórias alternativas

19.3 Regulação da fosforilação oxidativa

A fosforilação oxidativa é regulada pelas necessidades de energia das células
Uma proteína inibitória impede a hidrólise de ATP durante a hipóxia
A hipóxia leva à produção de ERO e a várias respostas adaptativas
As vias produtoras de ATP são reguladas de modo coordenado

19.4 Mitocôndrias na termogênese, na síntese de esteroides e na apoptose

O desacoplamento em mitocôndrias do tecido adiposo marrom produz calor

Monoxigenases P-450 mitocondriais catalisam hidroxilações de esteroides
As mitocôndrias são de importância central para o início da apoptose

19.5 Genes mitocondriais: suas origens e efeitos de mutações

As mitocôndrias evoluíram a partir de bactérias endossimbióticas
Mutações no DNA mitocondrial acumulam-se ao longo de toda a vida do organismo
Algumas mutações nos genomas mitocondriais causam doenças
Uma forma rara de diabetes resulta de defeitos nas mitocôndrias das células β pancreáticas

20. Fotossíntese e síntese de carboidratos em vegetais

20.1 Absorção de luz

O fluxo de elétrons impulsionado pela luz e a fotossíntese ocorrem nos cloroplastos das plantas
As clorofilas absorvem energia luminosa para a fotossíntese
A clorofila canaliza a energia absorvida para os centros de reação pela transferência de éxcitons

20.2 Centros de reação fotoquímica

Bactérias fotossintetizantes têm dois tipos de centros de reação
Nas plantas vasculares, dois centros de reação agem em sequência
O complexo de citocromos b_6f une os fotossistemas II e I, conservando a energia da transferência de elétrons
A transferência cíclica de elétrons permite variações na razão de ATP/NADPH sintetizados
Transições de estado mudam a distribuição do LHCII entre os dois fotossistemas
A água é quebrada no centro de liberação de oxigênio

20.3 Evolução de um mecanismo universal para a síntese de ATP

Um gradiente de prótons acopla o fluxo de elétrons e a fosforilação
A estequiometria aproximada da fotofosforilação foi estabelecida
A estrutura e o mecanismo da ATP-sintase são quase universais

20.4 Reações de assimilação de CO_2

A assimilação de dióxido de carbono ocorre em três estágios
A síntese de cada triose-fosfato a partir do CO_2 requer seis NADPH e nove ATP
Um sistema de transporte exporta trioses-fosfato do cloroplasto e importa fosfato
Quatro enzimas do ciclo de Calvin são indiretamente ativadas pela luz

20.5 Fotorrespiração e as vias C_4 e CAM

A fotorrespiração resulta da atividade de oxigenase da rubisco
O fosfoglicolato é reciclado em um conjunto de reações de alto custo em plantas C_3

QUADRO 20-1. A engenharia genética de organismos fotossintetizantes pode aumentar a sua eficiência?

Em plantas C_4 , a fixação do CO_2 e a atividade da rubisco são separadas no espaço
Em plantas CAM, a captura de CO_2 e a ação da rubisco são separadas no tempo

20.6 Biossíntese de amido, sacarose e celulose

A ADP-glicose é o substrato para a síntese de amido em plastídios vegetais e para a síntese de glicogênio em bactérias
A UDP-glicose é o substrato para a síntese de sacarose no citosol de células das folhas
A conversão de trioses-fosfato em sacarose e amido é cuidadosamente regulada
O ciclo do glioxilato e a gliconeogênese produzem glicose em sementes em germinação
A celulose é sintetizada por estruturas supramoleculares na membrana plasmática
Reservatórios de intermediários comuns conectam vias em diferentes organelas

21. Biossíntese de lipídeos

21.1 Biossíntese de ácidos graxos e eicosanoides

A malonil-CoA é formada a partir de acetil-CoA e bicarbonato
A síntese dos ácidos graxos ocorre em uma sequência de reações que se repetem
A ácido graxo-sintase de mamíferos tem múltiplos sítios ativos
A ácido graxo-sintase recebe grupos acetila e malonila
As reações da ácido graxo-sintase são repetidas para formar palmitato
A síntese de ácidos graxos é um processo citosólico na maioria dos eucariotos, mas, nas plantas, ocorre nos cloroplastos
O acetato é transportado para fora da mitocôndria como citrato
A biossíntese de ácidos graxos é regulada rigorosamente

Os ácidos graxos saturados de cadeia longa são sintetizados a partir do palmitato
A dessaturação dos ácidos graxos requer uma oxidase de função mista
Os eicosanoides são formados a partir de ácidos graxos poli-insaturados de 20 ou 22 carbonos

QUADRO 21-1. Oxidases, oxigenases, enzimas citocromo P-450 e overdoses de fármacos

21.2 Biossíntese de triacilgliceróis

Os triacilgliceróis e os glicerofosfolipídeos são sintetizados a partir dos mesmos precursores
A biossíntese de triacilgliceróis nos animais é regulada por hormônios
O tecido adiposo gera glicerol-3-fosfato por meio da gliceroneogênese
As tiazolidinedionas atuam no tratamento do diabetes tipo 2 aumentando a gliceroneogênese

21.3 Biossíntese de fosfolipídeos de membrana

As células dispõem de duas estratégias para ligar as cabeças polares dos fosfolipídeos
As vias para a biossíntese de lipídeos mostram inter-relação
Em eucariotos, fosfolipídeos de membrana estão sujeitos a remodelamento
A síntese de plasmalogênio requer a formação de um álcool graxo unido por ligação éter
As vias de síntese de esfingolipídeos e glicerofosfolipídeos compartilham precursores e alguns mecanismos
Os lipídeos polares são direcionados a membranas celulares específicas

21.4 Colesterol, esteroides e isoprenoides: biossíntese, regulação e transporte

O colesterol é formado a partir da acetil-CoA em quatro estágios
O colesterol tem destinos diversos
O colesterol e outros lipídeos são transportados em lipoproteínas plasmáticas
A HDL realiza o transporte reverso de colesterol
Os ésteres de colesterila entram nas células por endocitose mediada por receptor
A síntese e o transporte do colesterol são regulados em vários níveis
A desregulação do metabolismo do colesterol pode levar a doenças cardiovasculares

QUADRO 21-2. A hipótese lipídica e o desenvolvimento das estatinas

O transporte reverso do colesterol por HDL se opõe à formação de placas e à aterosclerose
Os hormônios esteroides são formados por clivagem da cadeia lateral e oxidação do colesterol
Os intermediários na biossíntese de colesterol têm muitos destinos alternativos

22. Biossíntese de aminoácidos, nucleotídeos e moléculas relacionadas

22.1 Visão geral do metabolismo do nitrogênio

Uma rede global de ciclagem de nitrogênio mantém uma reserva de nitrogênio biologicamente disponível

QUADRO 22-1. Estilos de vida incomuns de seres obscuros, porém abundantes

A fixação do nitrogênio é realizada por enzimas do complexo da nitrogenase

A amônia é incorporada em biomoléculas via glutamato e glutamina

A reação da glutamina-sintetase é um ponto importante de regulação no metabolismo do nitrogênio

Diversas classes de reações desempenham papéis especiais na biossíntese de aminoácidos e nucleotídeos

22.2 Biossíntese de aminoácidos

Os organismos variam muito em sua capacidade de sintetizar os 20 aminoácidos comuns

O α -cetoglutarato origina glutamato, glutamina, prolina e arginina

Serina, glicina e cisteína são derivadas do 3-fosfoglicerato

Três aminoácidos não essenciais e seis aminoácidos essenciais são sintetizados a partir de oxalacetato e piruvato

O corismato é um intermediário-chave na síntese de triptofano, fenilalanina e tirosina

A biossíntese de histidina utiliza precursores da biossíntese de purinas

A biossíntese de aminoácidos está sob regulação alostérica

22.3 Moléculas derivadas de aminoácidos

A glicina é precursora das porfirinas

QUADRO 22-2. Sobre reis e vampiros

A degradação do heme tem múltiplas funções

Os aminoácidos são precursores da creatina e da glutatona

D-Aminoácidos são encontrados principalmente em bactérias

Aminoácidos aromáticos são precursores de muitas substâncias de origem vegetal

Aminas biológicas são produtos da descarboxilação dos aminoácidos

A arginina é precursora na síntese biológica de óxido nítrico

22.4 Biossíntese e degradação de nucleotídeos

A síntese *de novo* de nucleotídeos púricos inicia-se com o PRPP

A biossíntese de nucleotídeos púricos é regulada por meio de inibição por retroalimentação

Os nucleotídeos pirimídicos são sintetizados a partir de aspartato, PRPP e carbamoil-fosfato

A biossíntese de nucleotídeos pirimídicos é regulada por inibição por retroalimentação

Nucleosídeos monofosfatados são convertidos em nucleosídeos trifosfatados

Os ribonucleotídeos são precursores dos desoxirribonucleotídeos

O timidilato é derivado do dCDP e do dUMP

A degradação de purinas e pirimidinas produz ácido úrico e ureia, respectivamente

Bases púricas e pirimídicas são recicladas por vias de recuperação

O excesso de ácido úrico causa gota

Muitos agentes quimioterápicos têm como alvo enzimas da via biossintética de nucleotídeos

23. Regulação hormonal e integração do metabolismo em mamíferos

23.1 Estrutura e ação hormonal

Os hormônios atuam por meio de receptores celulares específicos de alta afinidade

Os hormônios são quimicamente diferentes

Alguns hormônios são liberados por uma hierarquia “de cima para baixo” de sinais neuronais e hormonais

Os sistemas hormonais “de baixo para cima” enviam sinais de volta para o encéfalo e para outros tecidos

23.2 Metabolismo tecido-específico

O fígado processa e distribui nutrientes

Os tecidos adiposos armazenam e fornecem ácidos graxos

Os tecidos adiposos marrom e bege são termogênicos

Os músculos usam ATP para trabalho mecânico

O encéfalo usa energia para a transmissão de impulsos elétricos

QUADRO 23-1. Creatina e creatina-cinase: auxiliares de diagnóstico inestimáveis e amigos dos fisiculturistas

O sangue transporta oxigênio, metabólitos e hormônios

23.3 Regulação hormonal do metabolismo energético

- A insulina neutraliza a glicose alta no sangue no estado bem alimentado
- As células β pancreáticas secretam insulina em resposta a alterações na glicose sanguínea
- O glucagon combate níveis baixos de glicose sanguínea
- O metabolismo é alterado durante o jejum e a inanição para prover combustível para o encéfalo
- A adrenalina sinaliza atividade iminente
- O cortisol sinaliza estresse, incluindo baixa glicose sanguínea

23.4 Obesidade e regulação da massa corporal

- O tecido adiposo tem funções endócrinas importantes
- A leptina estimula a produção de hormônios peptídicos anorexigênicos
- A leptina dispara uma cascata de sinalização que regula a expressão gênica
- A adiponectina age por meio da AMPK para aumentar a sensibilidade à insulina
- A AMPK coordena o catabolismo e o anabolismo em resposta ao estresse metabólico
- A via mTORC1 coordena o crescimento celular com o suprimento de nutrientes e energia
- A dieta regula a expressão de genes essenciais para a manutenção da massa corporal
- O comportamento alimentar de curto prazo é influenciado pela grelina, pelo PYY₃₋₃₆ e pelos canabinoides
- Os simbiontes microbianos do intestino influenciam o metabolismo energético e a adipogênese

23.5 Diabetes *mellitus*

QUADRO 23-2. O árduo caminho até a insulina purificada

- O diabetes *mellitus* resulta de defeitos na produção ou na ação da insulina
- Ácidos carboxílicos (corpos cetônicos) se acumulam no sangue de pessoas com diabetes não tratado
- No diabetes tipo 2, os tecidos se tornam insensíveis à insulina
- O diabetes tipo 2 é controlado com dieta, exercícios, medicamentos e cirurgia

III. VIAS DA INFORMAÇÃO

24. Genes e cromossomos

24.1 Elementos cromossômicos

Os genes são segmentos de DNA que codificam cadeias polipeptídicas e RNA

As moléculas de DNA são muito mais longas do que o invólucro celular ou viral que as contém

Os genes eucarióticos e os cromossomos são muito complexos

24.2 Supertorção do DNA

A maior parte do DNA celular se encontra subenrolada

O subenrolamento do DNA é definido pelo número de ligação topológico

As topoisomerases catalisam mudanças no número de ligação do DNA

A compactação do DNA necessita de uma forma especial de supertorção

24.3 Estrutura dos cromossomos

A cromatina é formada por DNA, proteínas e RNA

As histonas são proteínas básicas pequenas

Os nucleossomos são as unidades organizacionais fundamentais da cromatina

QUADRO 24-1. Epigenética, estrutura dos nucleossomos e variantes de histonas

Os nucleossomos são empacotados em estruturas cromossômicas altamente condensadas

QUADRO 24-2. Cura de doenças pela inibição de topoisomerases

QUADRO 24-3. Inativação do cromossomo X por um lncRNA: prevenindo o excesso de uma coisa boa (ou ruim)

As estruturas condensadas dos cromossomos são mantidas pelas proteínas SMC

O DNA das bactérias também é altamente organizado

25. Metabolismo do DNA

25.1 Replicação do DNA

A replicação do DNA segue um conjunto de regras fundamentais

O DNA é degradado por nucleases

O DNA é sintetizado por DNA-polimerases

A replicação tem alto grau de precisão

A *E. coli* tem pelo menos cinco DNA-polimerases

A replicação do DNA requer muitas enzimas e fatores proteicos

A replicação do cromossomo de *E. coli* prossegue em estágios
A replicação em células eucarióticas é semelhante, porém mais complexa
DNA-polimerases virais fornecem alvos para a terapia antiviral

25.2 Reparo do DNA

As mutações estão ligadas ao câncer
Todas as células têm múltiplos sistemas de reparo de DNA

QUADRO 25-1. Reparo do DNA e câncer

A interação das forquilhas de replicação com o dano ao DNA pode levar à síntese de DNA translesão propensa a erro

25.3 Recombinação do DNA

A recombinação homóloga bacteriana é uma função de reparo do DNA
A recombinação homóloga eucariótica é necessária para a segregação adequada de cromossomos durante a meiose

QUADRO 25-2. Por que a segregação adequada de cromossomos é importante

QUADRO 25-3. Como uma quebra de fita de DNA chama a atenção

Algumas quebras de fita dupla são reparadas por união de extremidades não homólogas
A recombinação sítio-específica resulta em rearranjos de DNA precisos
Elementos genéticos de transposição movem-se de um local para outro
Os genes de imunoglobulinas se reúnem por recombinação

26. Metabolismo do RNA

26.1 Síntese de RNA dependente de DNA

O RNA é sintetizado pelas RNA-polimerases
A síntese de RNA começa nos promotores

QUADRO 26-1. A RNA-polimerase deixa sua marca em um promotor

A transcrição é regulada em vários níveis
Sequências específicas sinalizam a terminação da síntese de RNA
As células eucarióticas têm três tipos de RNA-polimerases nucleares
A RNA-polimerase II precisa de muitos outros fatores proteicos para a sua atividade
RNA-polimerases são alvos de fármacos

26.2 Processamento do RNA

Os mRNA de eucariotos recebem um cap na extremidade 5'

Tanto íntrons como éxons são transcritos de DNA para RNA

O RNA catalisa o *splicing* de íntrons

Em eucariotos, o spliceossoma realiza o *splicing* de pré-mRNA nuclear

Proteínas catalisam o *splicing* de tRNA

Os mRNA de eucariotos têm uma estrutura característica da extremidade 3'

Um gene pode dar origem a vários produtos por meio do processamento diferencial do RNA

QUADRO 26-2. *Splicing* alternativo e atrofia muscular espinal

Os rRNA e os tRNA também sofrem processamento

Os RNA com função especial sofrem vários tipos de processamento

Os mRNA celulares são degradados em velocidades diferentes

26.3 Síntese de RNA e DNA dependente de RNA

A transcriptase reversa produz DNA a partir de RNA viral

Alguns retrovírus causam câncer e Aids

QUADRO 26-3. Combatendo a Aids com inibidores da transcriptase reversa do HIV

Muitos transposons, retrovírus e íntrons podem ter uma origem evolutiva comum

A telomerase é uma transcriptase reversa especializada

Alguns RNA são replicados por RNA-polimerases dependentes de RNA

As RNA-polimerases dependentes de RNA compartilham uma dobra estrutural comum

26.4 RNA catalíticos e a hipótese de um mundo de RNA

As ribozimas compartilham características com enzimas proteicas

As ribozimas participam de uma variedade de processos biológicos

As ribozimas fornecem pistas da origem da vida em um mundo de RNA

QUADRO 26-4. O método SELEX para gerar polímeros de RNA com novas funções

27. Metabolismo das proteínas

27.1 O código genético

O código genético foi decifrado utilizando-se moldes artificiais de mRNA

QUADRO 27-1. Exceções que comprovam a regra: variações naturais no código genético

A oscilação possibilita que alguns tRNA reconheçam mais de um códon
O código genético é resistente a mutações
Mudanças na fase de leitura da tradução afetam a forma como o código é lido
Alguns mRNA são editados antes da tradução

27.2 Síntese proteica

O ribossomo é uma máquina supramolecular complexa
RNA transportadores têm características estruturais próprias
Estágio 1: As aminoacil-tRNA-sintetases ligam os aminoácidos corretos aos seus respectivos tRNA

QUADRO 27-2. Expansão natural e artificial do código genético

Estágio 2: Um aminoácido específico inicia a síntese proteica
Estágio 3: As ligações peptídicas são formadas no estágio de alongamento

QUADRO 27-3. Pausa, terminação e resgate de ribossomos

Estágio 4: A terminação da síntese de polipeptídeos necessita de um sinal especial
Estágio 5: As cadeias polipeptídicas recém-sintetizadas passam por enovelamento e processamento
A síntese proteica é inibida por muitos antibióticos e toxinas

27.3 Endereçamento e degradação das proteínas

As modificações pós-traducionais de muitas proteínas eucarióticas começam no retículo endoplasmático
A glicosilação tem um papel-chave no endereçamento de proteínas
As sequências-sinal para o transporte nuclear não são clivadas
As bactérias também usam sequências-sinal para o endereçamento de proteínas
As células importam proteínas por meio de endocitose mediada por receptor
A degradação de proteínas é mediada por sistemas especializados em todas as células

28. Regulação da expressão gênica

28.1 As proteínas e os RNA da regulação gênica

A RNA-polimerase se liga ao DNA nos promotores

A iniciação da transcrição é regulada por proteínas e por RNA
Muitos genes bacterianos são agrupados e regulados em operons
O operon *lac* está sujeito à regulação negativa
As proteínas regulatórias têm domínios de ligação de DNA separados
Proteínas regulatórias também têm domínios de interação proteína-proteína

28.2 Regulação da expressão gênica em bactérias

O operon *lac* sofre regulação positiva
Muitos genes que codificam as enzimas da biossíntese de aminoácidos são regulados por atenuação da transcrição
A indução da resposta SOS requer a destruição das proteínas repressoras
A síntese de proteínas ribossômicas é coordenada com a síntese de rRNA
O funcionamento de alguns mRNA é regulado por RNA pequenos em *cis* ou em *trans*
Alguns genes são regulados por recombinação genética

28.3 Regulação da expressão gênica em eucariotos

A cromatina ativa na transcrição é estruturalmente distinta da cromatina inativa
A maioria dos promotores eucarióticos é regulada positivamente
Ativadores e coativadores de ligação ao DNA facilitam a montagem dos fatores de transcrição basais
Os genes do metabolismo da galactose em leveduras estão sujeitos a regulação positiva e regulação negativa
Os ativadores da transcrição têm uma estrutura modular
A expressão gênica eucariótica pode ser regulada por sinais intercelulares e intracelulares
A regulação pode resultar da fosforilação de fatores de transcrição nuclear
Muitos mRNA de eucariotos estão sujeitos à repressão da tradução
O silenciamento gênico pós-transcricional é mediado por RNA de interferência
A regulação da expressão gênica mediada por RNA se dá por várias formas nos eucariotos
O desenvolvimento é controlado por cascatas de proteínas regulatórias
Células-tronco têm um potencial de desenvolvimento que pode ser controlado

QUADRO 28-1. Sobre barbatanas, asas, bicos e outras coisas

Respostas das questões

Glossário

Conheça Também

Sobre o Grupo A

Capítulo 1

FUNDAMENTOS DE BIOQUÍMICA

Há cerca de 14 bilhões de anos, o universo surgiu como uma explosão cataclísmica de partículas subatômicas quentes e ricas em energia. Logo nos primeiros segundos, formaram-se os elementos mais simples (hidrogênio e hélio). À medida que o universo se expandia e esfriava, o material ia se condensando sob a influência da gravidade, formando estrelas. Algumas estrelas atingiram proporções enormes e, então, explodiram como supernovas, liberando a energia necessária para a fusão de núcleos atômicos mais simples, formando, assim, os elementos mais complexos. Átomos e moléculas formaram nuvens de partículas de poeira, e a sua agregação levou, por fim, à formação de rochas, planetóides e planetas. Dessa maneira, ao decorrer de bilhões de anos, formou-se a Terra, além dos elementos químicos que hoje existem nela. A vida surgiu na Terra há cerca de 4 bilhões de anos na forma de microrganismos simples com a capacidade de extrair energia de compostos químicos e, mais tarde, da luz solar. Eles passaram a usar essa energia para produzir um vasto conjunto de **biomoléculas** mais complexas a partir de compostos e elementos simples presentes na superfície terrestre. Os seres humanos e todos os outros organismos vivos são formados a partir da poeira estelar.

A bioquímica procura responder como as extraordinárias propriedades dos organismos vivos se originam de milhares de biomoléculas diferentes. Quando essas moléculas são isoladas e examinadas individualmente, vê-se que elas seguem todas as leis da física e da química que descrevem o comportamento da matéria inanimada – assim como todos os processos que ocorrem nos organismos vivos. O estudo da bioquímica revela como os conjuntos de moléculas inanimadas que constituem os organismos vivos interagem para manter e perpetuar a vida obedecendo unicamente às mesmas leis da física e da química que regem o universo não vivo.

Os capítulos deste livro estão organizados na forma de discussão dos princípios ou questões centrais da bioquímica. Neste primeiro capítulo, são abordadas as características que definem os seres vivos, e são discutidos os seguintes princípios:

P1 A célula é a unidade fundamental da vida. As células variam em complexidade e podem ser altamente especializadas para o ambiente em que vivem ou a função que realizam nos organismos multicelulares, porém, ainda assim, compartilham semelhanças impressionantes.

P2 As células utilizam um conjunto relativamente pequeno de metabólitos baseados no carbono para criar máquinas poliméricas, estruturas supramoleculares e repositórios de informações. A estrutura química desses componentes determina suas funções nas células. O conjunto de moléculas executa um programa cujo resultado é a reprodução desse programa e a autoperpetuação desse conjunto de moléculas – em resumo, a vida.

P3 Os organismos vivos existem em um estado de equilíbrio dinâmico e nunca em equilíbrio fixo com o meio em que se encontram. Os seres vivos obtêm energia dos arredores, e a utilizam para manter a homeostase e realizar trabalho útil, obedecendo às leis da termodinâmica. Essencialmente, toda a energia obtida por uma célula provém de um fluxo de elétrons, impulsionado pela luz do sol ou por reações de oxidorredução (redox) metabólicas.

P4 As células têm a capacidade de se autorreplicar e auto-organizar de forma precisa, usando as informações químicas armazenadas no genoma. Uma célula bacteriana isolada e colocada em um meio nutritivo estéril pode dar origem, em 24 horas, a 1 bilhão de “filhas” idênticas. Cada célula é uma cópia fiel da célula original, e sua formação é totalmente dirigida pela informação contida no material genético da célula original. Em uma escala maior, a prole de um animal vertebrado apresenta uma semelhança marcante com os pais, também resultante da herança dos genes parentais.

P5 Os seres vivos se modificam ao longo do tempo por meio de uma evolução gradativa. O resultado de eras de evolução é a formação de uma enorme diversidade de formas de vida, fundamentalmente relacionadas entre si por meio de ancestrais comuns. Isso pode ser visto em nível molecular observando-se as semelhanças entre as sequências de genes e as estruturas de proteínas.

Apesar dessas propriedades comuns e da unidade fundamental da vida que compartilham, é difícil fazer generalizações sobre os organismos vivos. A Terra possui uma diversidade enorme de seres vivos em uma ampla gama de habitats, desde fontes térmicas até a tundra do Ártico e de intestinos de animais até dormitórios universitários. Esses habitats têm correspondência com diversas adaptações bioquímicas obtidas por meio de um arcabouço químico comum. Para maior clareza, em alguns pontos este livro se arrisca a certas generalizações que, embora imperfeitas, são úteis. Com frequência, as exceções a essas generalizações são ressaltadas.

A **bioquímica** descreve, em termos moleculares, as estruturas, os mecanismos e os processos químicos compartilhados por todos os organismos e estabelece os princípios de organização que são a base de todas as formas de vida. Embora a bioquímica contribua com esclarecimentos importantes e aplicações práticas na medicina, na agricultura, na nutrição e na indústria, ela se preocupa principalmente com a maravilha que é a própria vida.

Neste capítulo introdutório, é feita uma revisão dos fundamentos celulares, químicos, físicos e genéticos da bioquímica e do importantíssimo princípio da evolução – como a vida surgiu e evoluiu até a diversidade de organismos que existe hoje. À medida que se avança na leitura do livro, pode ser útil voltar a este capítulo de tempos em tempos para refrescar a memória sobre essas questões básicas.

1.1 Fundamentos celulares

A unidade e a diversidade dos organismos são evidentes mesmo no nível celular. Os menores organismos são formados por uma única célula e são microscópicos. Os organismos multicelulares são maiores e têm muitos tipos diferentes de células que variam em tamanho, forma e função especializada. [P1](#) Apesar dessas diferenças óbvias, todas as células dos organismos, desde os mais simples até os mais complexos, têm em comum certas propriedades fundamentais, que podem ser vistas no nível bioquímico.

As células são as unidades estruturais e funcionais de todos os organismos vivos

Células de todos os tipos têm determinadas características estruturais em comum ([Fig. 1-1](#)). A **membrana plasmática** define o contorno da célula, separando o conteúdo celular do ambiente externo. Ela é composta de moléculas de lipídeos e proteínas que formam uma barreira fina, resistente, flexível e hidrofóbica ao redor da célula. A membrana é uma barreira para a passagem livre de íons inorgânicos e da maioria das outras moléculas carregadas ou polares. Proteínas de transporte presentes na membrana plasmática possibilitam a passagem de determinados íons e moléculas, proteínas receptoras transmitem sinais para o interior da célula e enzimas de membrana participam em algumas vias de reações. Uma vez que, individualmente, os lipídeos e as proteínas da membrana plasmática não estão ligados covalentemente, toda a estrutura é extraordinariamente flexível, o que permite mudanças tanto na forma como no tamanho da célula. À medida que a célula cresce, novas moléculas de proteínas e de lipídeos são inseridas na membrana plasmática; a divisão celular produz duas novas células, cada qual com a sua própria membrana. Esse crescimento e a divisão celular (fissão) ocorrem sem perda da integridade da membrana.

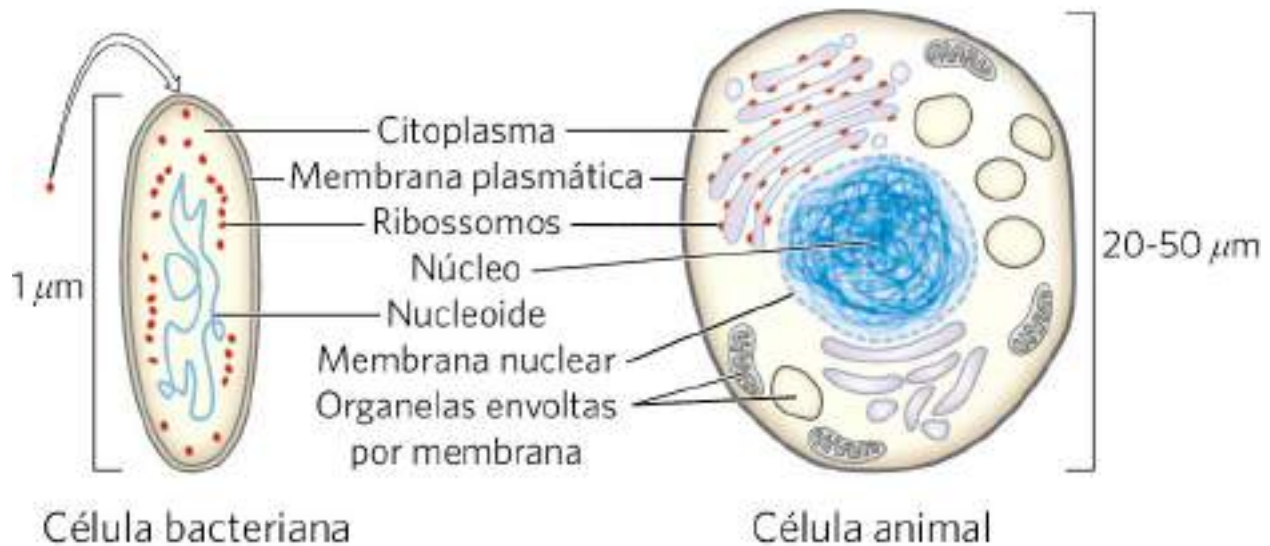


FIGURA 1-1 Características universais das células vivas. Todas as células têm núcleo ou nucleóide contendo seu DNA, membrana plasmática e citoplasma. As células eucarióticas contêm várias organelas ligadas a membranas (incluindo mitocôndria e cloroplastos) e partículas grandes (como os ribossomos).

O volume interno envolto pela membrana plasmática, o **citoplasma** (Fig. 1-1), é composto de uma solução aquosa, o citosol, e uma grande variedade de partículas em suspensão que desempenham funções específicas. Esses componentes particulados (organelas envolvidas por membrana, como mitocôndrias e cloroplastos; estruturas supramoleculares, como **ribossomos** e **proteassomos**, os locais de síntese e degradação das proteínas, respectivamente) sedimentam quando o citoplasma é centrifugado a 150.000 g (g é a força gravitacional da Terra). O que sobra como sobrenadante líquido é o **citosol**, uma solução altamente concentrada contendo enzimas e as moléculas de RNA (ácido ribonucleico) que as codificam; os componentes (aminoácidos e nucleotídeos) usados para formar essas macromoléculas; centenas de moléculas orgânicas pequenas, denominadas **metabólitos**, intermediários das vias de biossíntese e de degradação; **coenzimas**, compostos essenciais para muitas das reações catalisadas por enzimas; e íons inorgânicos (p. ex., K^+ , Na^+ , Mg^{2+} e Ca^{2+}).

Todas as células têm, pelo menos em algum momento de sua vida, um **nucleóide** ou um **núcleo**, no qual o **genoma** – o conjunto completo de genes, composto de DNA (ácido desoxirribonucleico) – é replicado e armazenado, com suas proteínas associadas. Nas bactérias e nas arqueias, o nucleóide não é separado do citoplasma por uma membrana, ao passo que, nos **eucariotos**, o núcleo fica confinado dentro de uma dupla membrana, o envelope nuclear. As células com envelope nuclear compõem o grande grupo Eukarya (do grego *eu*, “verdade”, e *karyon*, “núcleo”). Os microrganismos sem membrana nuclear, antes classificados como **procariotos** (do grego *pro*, “antes”), são agora considerados como pertencentes a dois grupos muito distintos: os domínios Bacteria e Archaea, descritos a seguir.

A difusão limita o tamanho das células

A maioria das células é microscópica, invisível a olho nu. As células dos animais e das plantas têm um diâmetro geralmente entre 5 e 100 μm , e muitos microrganismos unicelulares têm comprimento de apenas 1 a 2 μm (informações sobre as unidades e suas abreviaturas estão apresentadas no final do livro). O que limita o tamanho de uma célula? O limite inferior provavelmente é determinado pelo número mínimo de cada um dos tipos de biomoléculas necessárias para a célula. As menores células, certas bactérias conhecidas como micoplasmas, têm 300 nm de diâmetro e um volume de cerca de 10^{-14} mL. Um único ribossomo bacteriano tem 20 nm na sua maior dimensão, de forma que alguns poucos ribossomos já ocupam uma porção substancial do volume total de uma célula de micoplasma.

O limite superior para o tamanho das células provavelmente é determinado pela velocidade do transporte de nutrientes para dentro da célula e de dejetos para fora. À medida que o tamanho da célula aumenta, a relação superfície/volume diminui. No caso de uma célula esférica, a área de superfície é uma função do quadrado do raio (r^2), enquanto que o volume é uma função do r^3 . Uma célula bacteriana do tamanho da *Escherichia coli* é muito pequena, e a relação entre a área da superfície e o volume é tão grande que todas as partes do citoplasma são facilmente alcançadas pelos nutrientes que atravessam a membrana e se movem dentro da célula. Com o aumento do tamanho, no entanto, a relação superfície/volume diminui, até o ponto em que o metabolismo necessita consumir nutrientes mais rapidamente do que as quantidades que podem ser supridas pelos carreadores transmembrana. Muitos tipos de células animais têm a superfície altamente dobrada ou com convoluções que fazem a relação entre a superfície e o volume ser aumentada, o que permite altos índices de incorporação de materiais dos arredores (**Fig. 1-2**).

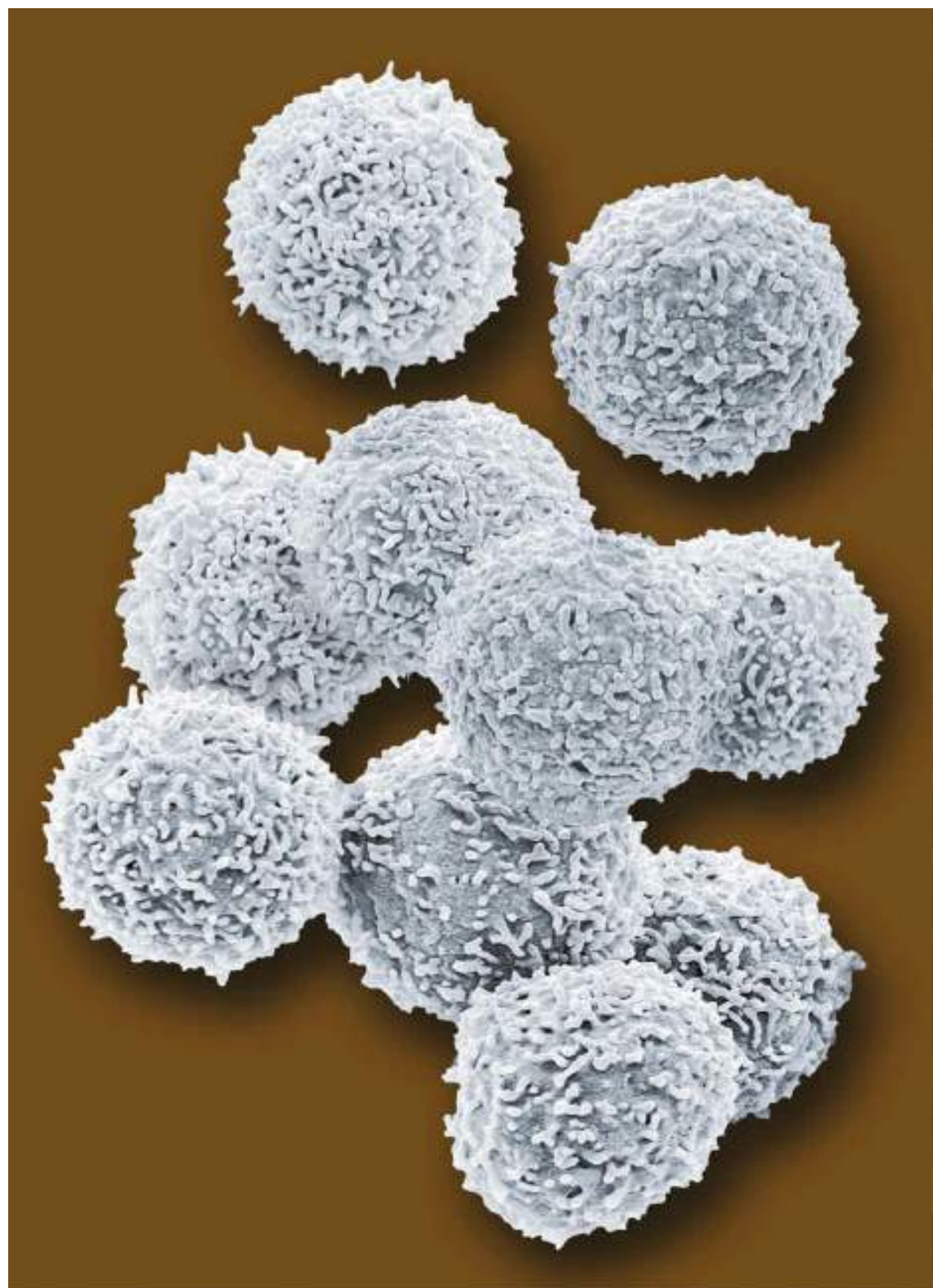


FIGURA 1-2 A maioria das células animais tem superfícies enoveladas de forma intrincada. Os linfócitos humanos mostrados nesta micrografia eletrônica colorida artificialmente têm um diâmetro de cerca de 10 a 12 μm . A superfície toda cheia de dobras faz a área da superfície ser muito maior do que a superfície de uma esfera com o mesmo diâmetro. [Steve Gschmeissner/Science Source.]

Os organismos são classificados em três domínios de vida distintos

A disponibilidade de técnicas para determinar sequências de DNA de forma rápida e acessível aumentou em muito a nossa capacidade de deduzir as relações evolutivas entre os organismos. As semelhanças entre sequências de genes de diversos organismos propiciam uma visão aprofundada do processo evolutivo. Uma das maneiras de interpretar as semelhanças entre sequências permite enquadrar todos os organismos vivos em um dos três grandes ramos da árvore da evolução da vida, originada a partir de um progenitor comum (**Fig. 1-3**). Pode-se diferenciar dois grandes grupos de microrganismos unicelulares de acordo com fundamentos genéticos e bioquímicos: **Bacteria** e **Archaea**. As bactérias habitam o solo, as águas superficiais e os tecidos de organismos vivos ou em decomposição. Muitas das arqueias, reconhecidas na década de 1980 por Carl Woese como um grupo distinto, habitam ambientes extremos – lagos de sais, fontes hidrotermais, pântanos altamente ácidos e as profundezas dos oceanos. As evidências disponíveis sugerem que Bacteria e Archaea divergiram cedo na evolução. Todos os organismos eucariotos, que formam o terceiro domínio, **Eukarya**, evoluíram a partir do mesmo ramo que deu origem a Archaea; por isso, os eucariotos estão mais próximos das arqueias do que das bactérias.

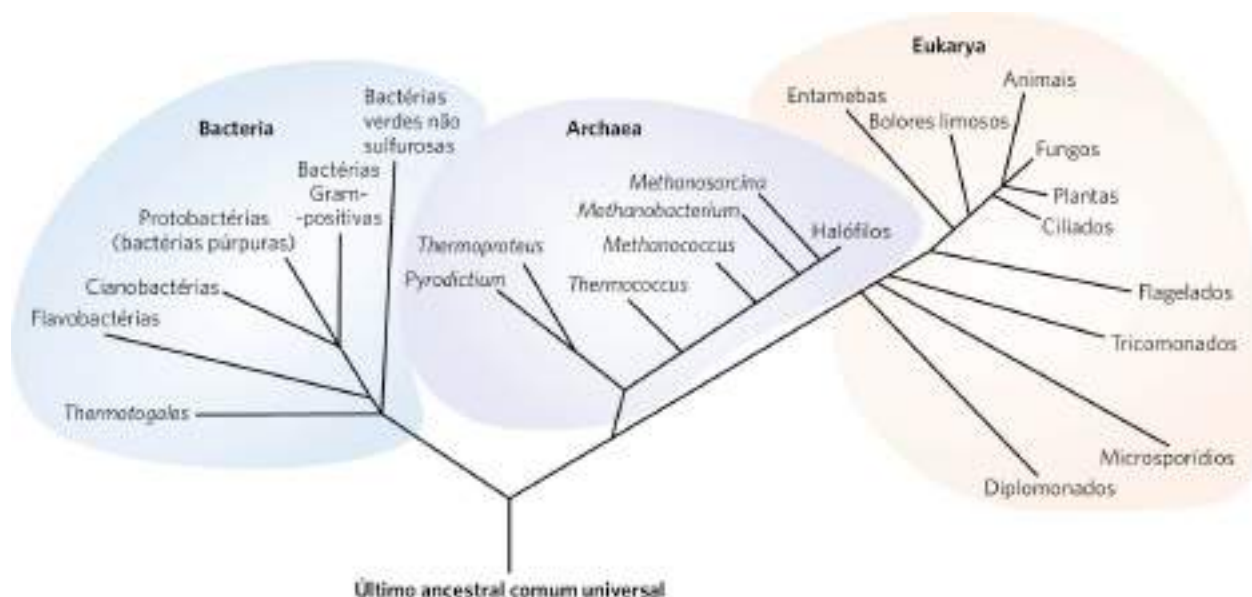


FIGURA 1-3 Filogenia dos três domínios da vida. As relações filogenéticas são geralmente ilustradas por uma “árvore genealógica” desse tipo. A base para essa árvore é a similaridade nas sequências de nucleotídeos dos RNA ribossomais de cada grupo. [Informações de C. R. Woese, *Microbiol. Rev.* 51:221, 1987, Fig. 4.]

Dentro dos domínios Archaea e Bacteria existem subgrupos que se diferenciam de acordo com os seus respectivos habitats. Alguns dos organismos que vivem em habitats **aeróbicos** com suprimento abundante de oxigênio obtêm energia transferindo elétrons das moléculas de combustíveis para o oxigênio no interior da célula. Outros ambientes são **anaeróbicos**, desprovidos de oxigênio, e os microrganismos adaptados a esses ambientes obtêm energia pela transferência de elétrons para nitrato (formando N_2), sulfato (formando H_2S) ou CO_2 (formando CH_4). Muitos dos organismos que evoluíram em ambientes anaeróbicos são anaeróbios *obrigatórios*, e morrem quando expostos ao oxigênio. Outros são anaeróbios *facultativos*, capazes de viver em presença ou ausência de oxigênio.

Os organismos diferem amplamente quanto às suas fontes de energia e aos precursores biossintéticos

P3 É possível classificar os organismos pela maneira como eles obtêm a energia e o carbono de que necessitam para sintetizarem o material celular (como resumido na **Fig. 1-4**). Eles são classificados em duas grandes categorias de acordo com as fontes de energia: **fototróficos** (do grego *trophe*–, “nutrição”), que captam e utilizam a luz solar, e **quimiotróficos**, que obtêm energia pela oxidação de um combustível químico. Alguns organismos quimiotróficos oxidam combustíveis inorgânicos — HS^- a S^0 (enxofre elementar), S^0 a SO_4^{2-} , NO_2^- a NO_3^- ou Fe^{2+} a Fe^{3+} , por exemplo. Os organismos fototróficos e os quimiotróficos podem ser classificados com base na capacidade de sintetizarem todas as suas biomoléculas diretamente do CO_2 (**autotróficos**) ou se necessitam de nutrientes orgânicos previamente formados por outros organismos (**heterotróficos**). É possível descrever o modo de nutrição de um organismo pela combinação desses termos. Por exemplo, cianobactérias são fotoautotróficas; seres humanos são quimio-heterotróficos. Distinções ainda mais sutis podem ser feitas, pois muitos organismos podem obter energia e carbono de mais de uma fonte sob diferentes condições ambientais ou de desenvolvimento.

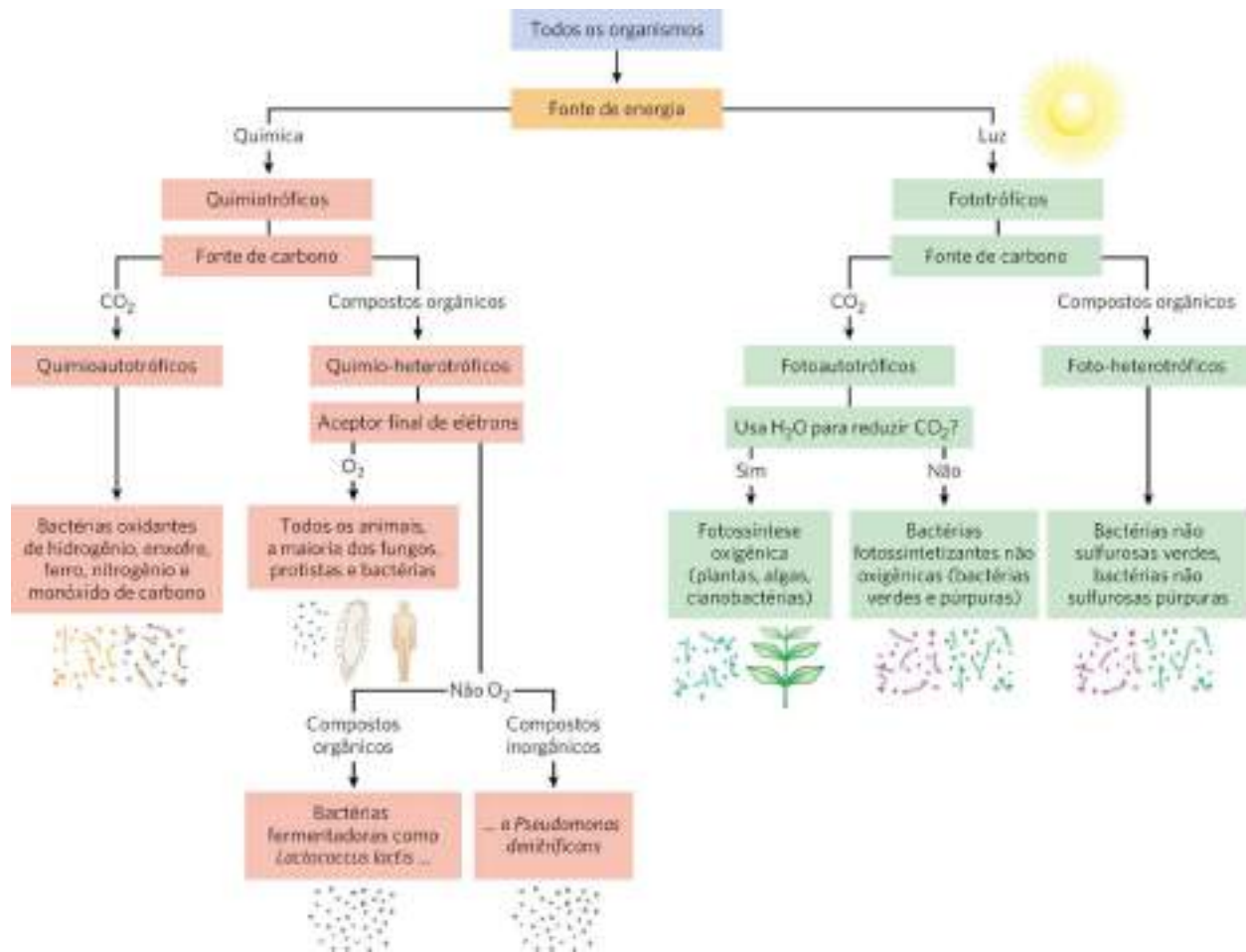


FIGURA 1-4 Todos os organismos podem ser classificados de acordo com a sua fonte de energia (luz solar ou compostos químicos oxidáveis) e sua fonte de carbono usada para a síntese do material celular.

Células de bactérias e de arqueias possuem propriedades comuns, mas diferem em aspectos importantes

Escherichia coli, a bactéria mais estudada, é geralmente um habitante inofensivo do intestino humano. A célula de *E. coli* (Fig. 1-5a) é um ovoide de cerca de 2 μm de comprimento e menos de 1 μm de diâmetro. Outras bactérias podem ser esféricas ou ter forma de bastão, e algumas são bem maiores. *E. coli* tem uma membrana externa protetora e uma membrana plasmática interna que envolve o citoplasma e o nucleóide. Entre as membranas interna e externa há uma camada fina, mas resistente, de um polímero de alto peso molecular (peptidoglicano), que confere à célula sua forma e rigidez. A membrana plasmática e as camadas externas a ela constituem o **envelope celular**. As membranas plasmáticas das bactérias consistem em uma bicamada fina de moléculas lipídicas impregnada com proteínas. As membranas plasmáticas das arqueias têm uma arquitetura similar, porém os lipídeos podem ser surpreendentemente diferentes dos lipídeos de bactérias (ver Fig. 10-6).

- (a) **Ribossomos** Os ribossomos de bactérias e arqueias são menores do que os dos eucariotos, mas têm a mesma função - realizar a síntese de proteínas a partir de uma mensagem de RNA.

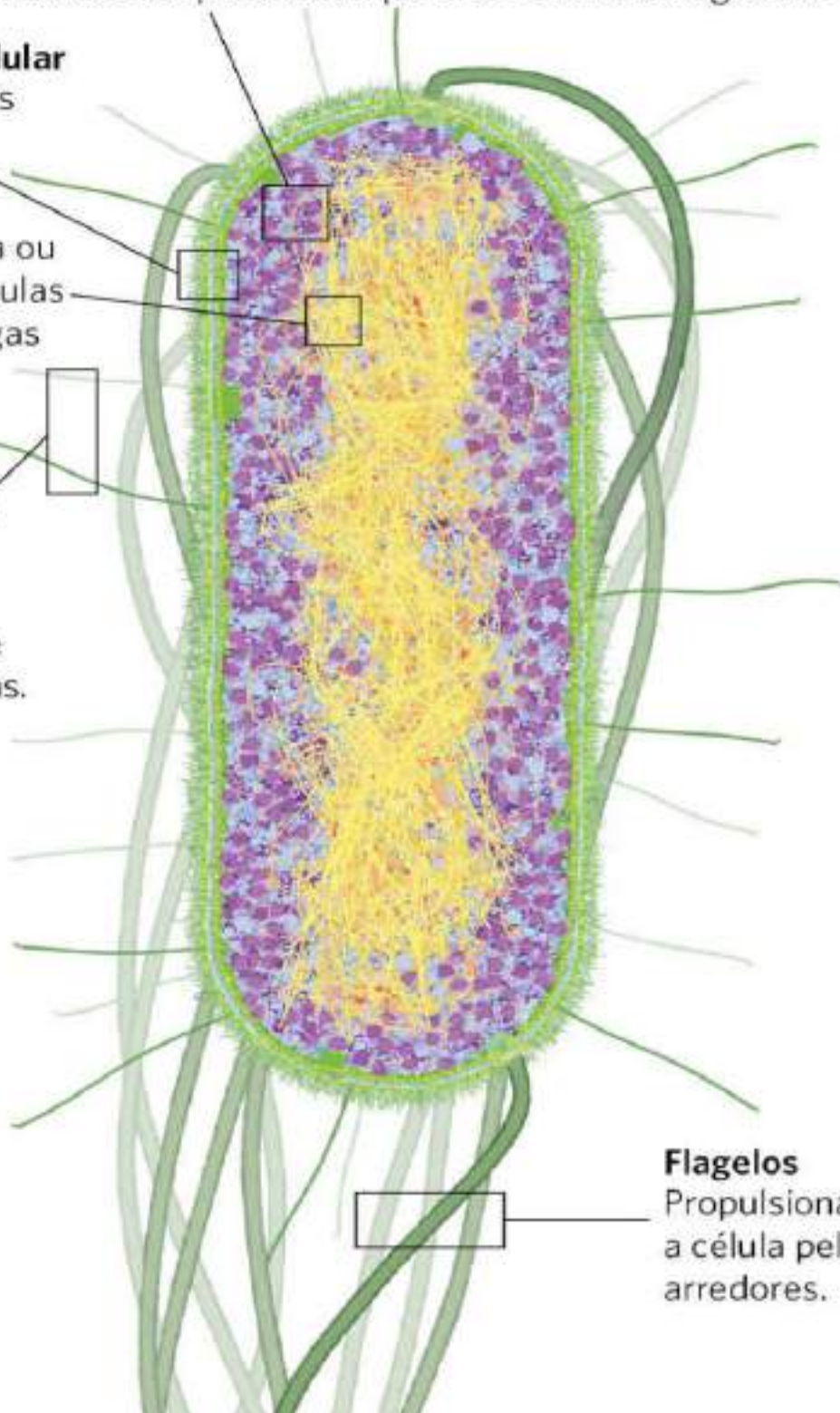
Envelope celular

As estruturas diferem.

Nucleoide

Contém uma ou várias moléculas de DNA longas e circulares.

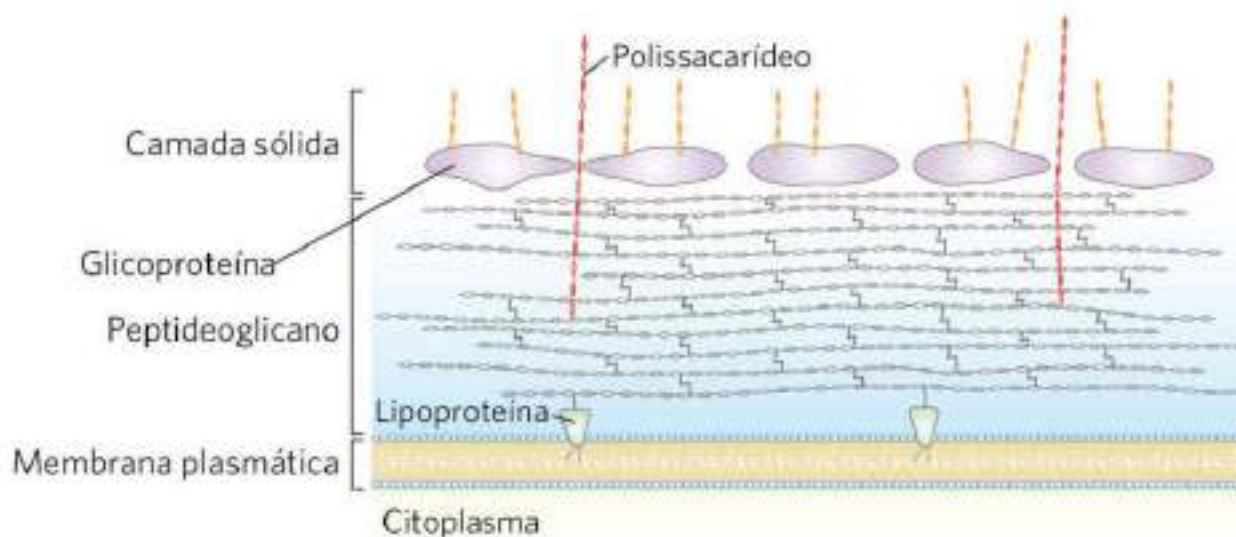
Pili Fornece pontos de adesão à superfície de outras células.



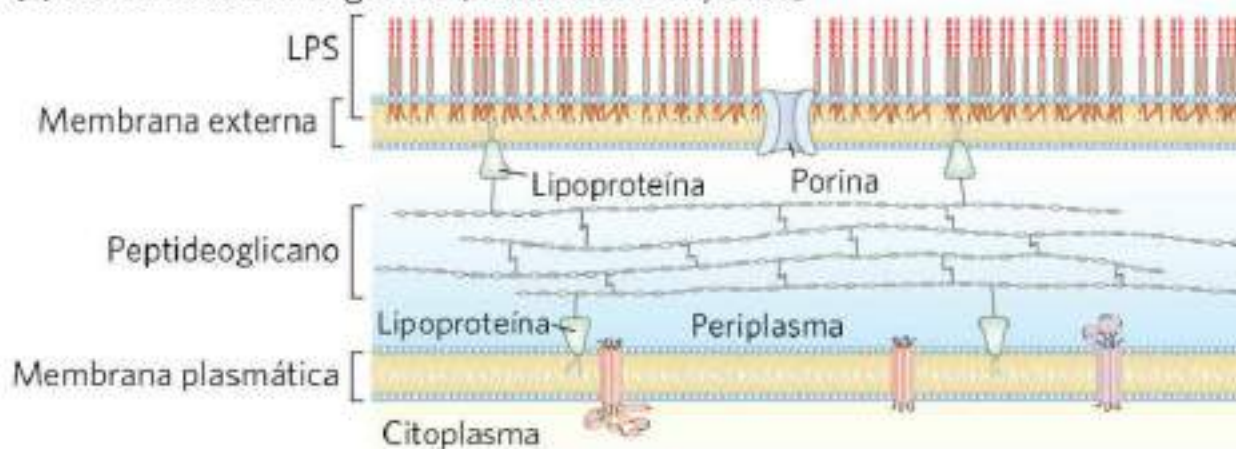
Flagelos

Propulsionam a célula pelos arredores.

(b) Bactérias Gram-positivas



(c) Bactérias Gram-negativas (mostradas à esquerda)



(d) *Methanothermus*, arqueia extremamente tolerante ao calor

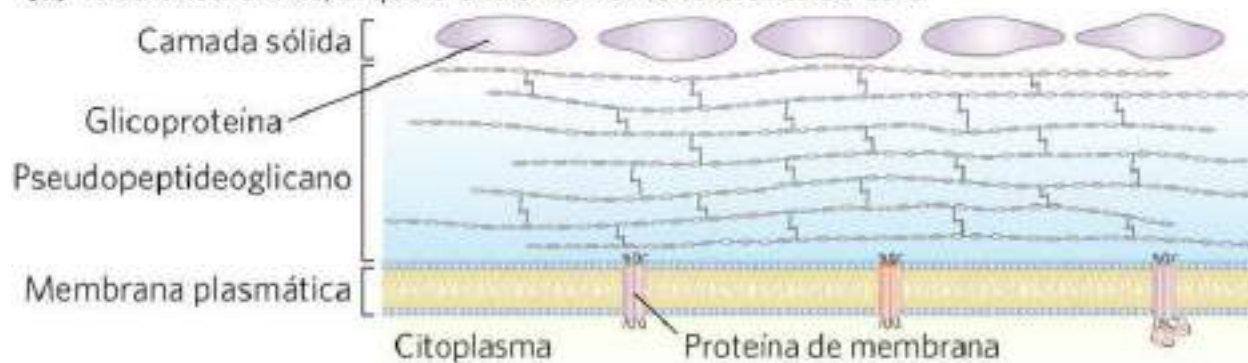


FIGURA 1-5 Algumas características estruturais comuns das células de bactérias e arqueias. (a) Este desenho em escala correta da bactéria *E. coli* serve para ilustrar algumas características comuns. (b) O envelope celular das bactérias Gram-positivas é uma única membrana com uma camada grossa e rígida de peptideoglicanos em sua superfície externa. Vários tipos de

polissacarídeos e outros polímeros complexos estão entrelaçados com os peptidoglicanos, e, envolvendo o todo, há uma “camada sólida” e porosa de glicoproteínas. (c) *E. coli* é Gram-negativa e tem uma membrana dupla. A sua membrana externa tem um lipopolissacarídeo (LPS) na superfície externa e fosfolípídeos na superfície interna. Essa membrana externa está impregnada de canais proteicos (porinas), que permitem a difusão de pequenas moléculas, mas não de proteínas, através deles. A membrana interna (plasmática), feita de fosfolípídeos e proteínas, é impermeável tanto a moléculas pequenas quanto a moléculas grandes. Entre as membranas interna e externa, no periplasma, há uma camada delgada de peptidoglicanos, que confere à célula forma e rigidez, mas não retém o corante de Gram. (d) As membranas de arqueias variam em estrutura e composição, mas todas têm uma membrana única envolta por uma camada externa que inclui uma estrutura tipo peptidoglicano ou uma concha (camada sólida) de proteínas porosas, ou ambas. [(a) David S. Goodsell. (b, c, d) Informações de S.-V. Albers e B. H. Meyer, *Nature Rev. Microbiol.* 9:414, 2011, Fig. 2.]

Bactérias e arqueias têm seus envelopes celulares com especializações grupo-específicas (Fig. 1-5b-d). Algumas bactérias, denominadas Gram-positivas porque se coram com o corante de Gram (desenvolvido por Hans Peter Gram, em 1884), têm uma camada espessa de peptidoglicanos na parte externa de sua membrana plasmática, mas não apresentam membrana externa. As bactérias Gram-negativas têm uma membrana externa formada por uma bicamada lipídica, na qual estão inseridos lipopolissacarídeos complexos e proteínas denominadas porinas, que formam canais transmembrana para a difusão de compostos de baixo peso molecular e íons que atravessam essa membrana externa. As estruturas na parte externa da membrana plasmática das arqueias diferem de organismo para organismo, mas elas também têm uma camada de peptidoglicanos ou proteínas que conferem rigidez aos envelopes celulares.

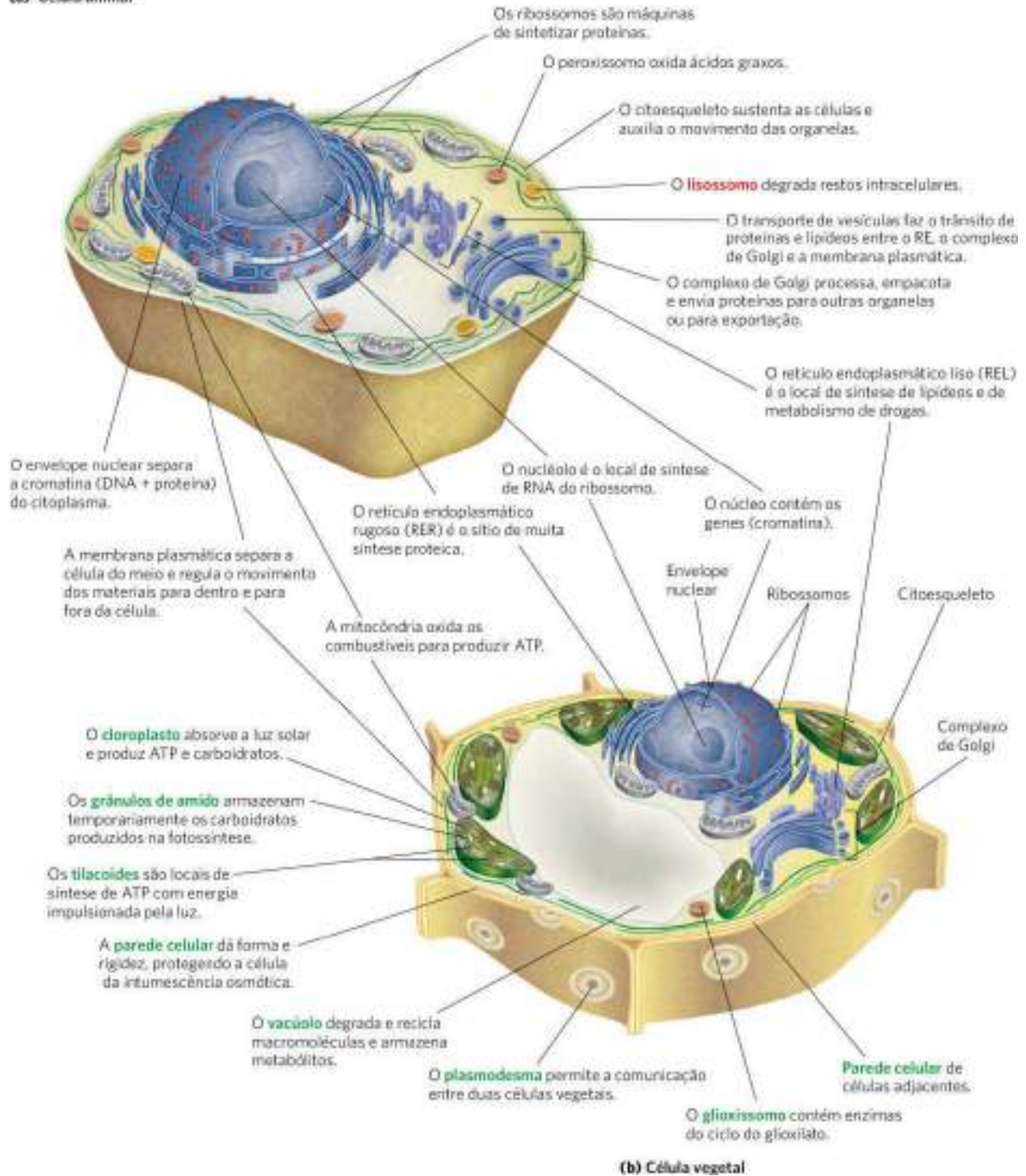
P2 O citoplasma de *E. coli* contém cerca de 15 mil ribossomos, várias cópias (de 10 a milhares) de cada uma das aproximadamente 1.000 diferentes enzimas, talvez 1.000 compostos orgânicos diferentes de massa molecular menor do que 1.000 (metabólitos e cofatores) e uma variedade de íons inorgânicos. O nucleóide contém uma única molécula de DNA circular, e o citoplasma (como na maioria das bactérias) contém um ou mais segmentos de DNA circular, denominados **plasmídeos**. Na natureza, alguns plasmídeos conferem resistência a toxinas e a antibióticos presentes no ambiente. Em laboratório, esses segmentos de DNA circular são fáceis de manipular e são ferramentas poderosas para a engenharia genética (ver Capítulo 9).

Outras espécies de bactérias, e também de arqueias, contêm um conjunto similar de biomoléculas, mas cada espécie tem especializações físicas e metabólicas relacionadas com o nicho ecológico em que vivem e as suas fontes nutricionais. As cianobactérias, por exemplo, têm membranas internas especializadas em captar energia da luz (ver Fig. 20-23). Muitas arqueias vivem em ambientes extremos e têm adaptações bioquímicas para sobreviverem em extremos de temperatura, pressão ou concentração de sais. Diferenças observadas na estrutura dos ribossomos deram as primeiras pistas de que bactérias e arqueias pertencem a grupos distintos. A maioria das bactérias (inclusive *E. coli*) existe na forma de células individuais, mas muitas vezes se associam a biofilmes ou películas, nos quais inúmeras células se aderem umas às outras e, ao mesmo tempo, ao substrato sólido que fica junto ou próximo de alguma superfície aquosa. Células de algumas espécies de bactérias (p. ex., mixobactérias) apresentam um comportamento social simples, formando agregados multicelulares em resposta a sinais de células vizinhas.

As células eucarióticas têm vários tipos de organelas membranosas que podem ser isoladas para estudo

As células eucarióticas típicas (**Fig. 1-6**) são muito maiores do que as bactérias – em geral, com diâmetro entre 5 e 100 μm e um volume de mil a um milhão de vezes maior do que o das bactérias. As características que distinguem os eucariotos são o núcleo e uma grande variedade de organelas envoltas por membranas com funções específicas. Entre essas organelas estão a **mitocôndria**, local da maior parte das reações extratoras de energia da célula; o **retículo endoplasmático** e o **complexo de Golgi**, que desempenham papéis centrais na síntese e no processamento de lipídeos e de proteínas de membrana; os **peroxissomos**, onde ácidos graxos de cadeia muito longa são oxidados e espécies reativas de oxigênio são desintoxicadas; e os **lisossomos**, contendo enzimas digestivas que degradam restos celulares já desnecessários. Além dessas organelas, as células vegetais também têm **vacúolos** (que acumulam grandes quantidades de ácidos orgânicos) e **cloroplastos** (nos quais a luz solar impulsiona a síntese de ATP [adenosina trifosfato] no processo da fotossíntese). No citoplasma de muitas células, também estão presentes grânulos ou gotículas que armazenam nutrientes, como amido e gordura.

(a) Célula animal



(b) Célula vegetal

FIGURA 1-6 Estrutura da célula eucariótica. Ilustrações esquemáticas dos dois principais tipos de célula eucariótica: (a) representação de célula animal e (b) representação de célula vegetal. Células vegetais geralmente têm de 10 a 100 μm de diâmetro – maiores do que as células animais, que geralmente têm de 5 a 30 μm . As estruturas marcadas em vermelho são exclusivas de células animais, e as marcadas em verde, de células vegetais. Os microrganismos eucarióticos (como protistas e fungos) têm estruturas semelhantes às das células animais e vegetais, mas muitos também têm organelas especializadas não ilustradas aqui.

Um avanço importante na bioquímica foi o desenvolvimento, por Albert Claude, Christian de Duve e George Palade, de métodos para separar as organelas do citosol e entre si – etapa essencial na investigação de suas respectivas estruturas e funções. Em um processo comum de fracionamento (**Fig. 1-7**), as células ou tecidos em solução são suavemente rompidos por cisalhamento físico. Esse tratamento rompe a membrana plasmática, porém deixa intacta a maioria das organelas. O homogeneizado é, então, centrifugado; as organelas, como núcleo, mitocôndria e lisossomos, diferem em tamanho e, por isso, sedimentam com velocidades diferentes.

Centrifugação diferencial

Homogeneização do tecido

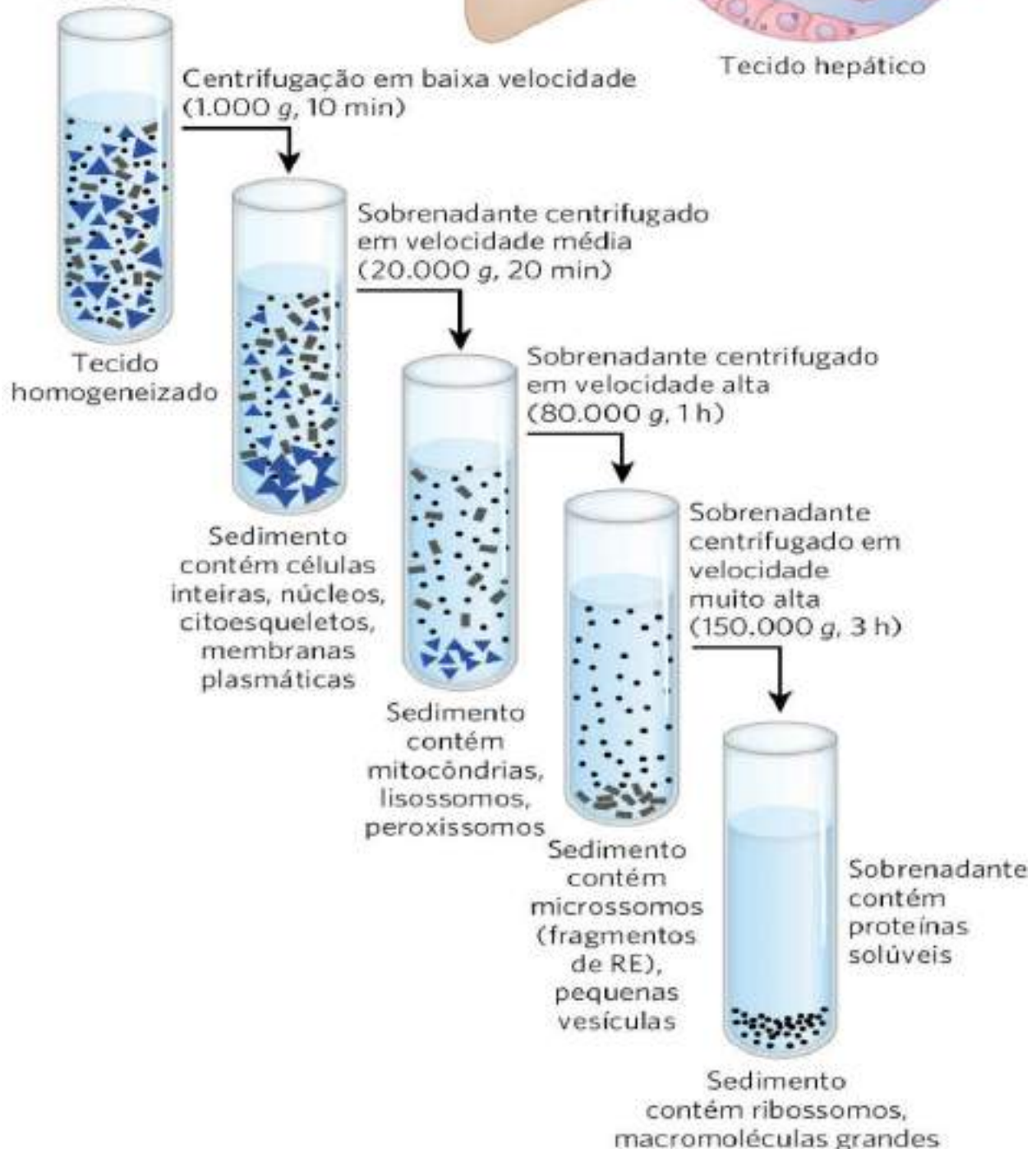
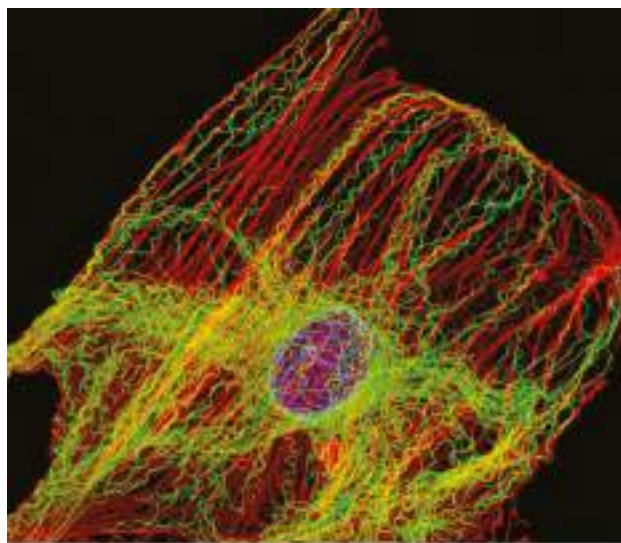


FIGURA 1-7 Fracionamento subcelular de tecidos. Inicialmente, um tecido como o hepático é homogeneizado mecanicamente para romper as células e dispersar o conteúdo em um tampão aquoso. O meio tamponado contém sacarose para manter uma pressão osmótica semelhante à das organelas, equilibrando, assim, a difusão da água para dentro e para fora das organelas, as quais intumesceriam e explodiriam em uma solução de osmolaridade mais baixa (ver Fig. 2-12). As partículas grandes e pequenas em suspensão podem ser separadas por centrifugação em diferentes velocidades. As partículas maiores sedimentam com mais rapidez do que as partículas pequenas, e o material solúvel não sedimenta. Pela escolha cuidadosa das condições de centrifugação, as frações subcelulares podem ser separadas para determinar suas respectivas características bioquímicas. [Informações de B. Alberts et al., *Molecular Biology of the Cell*, 2nd ed, p. 165, Garland Publishing, 1989.]

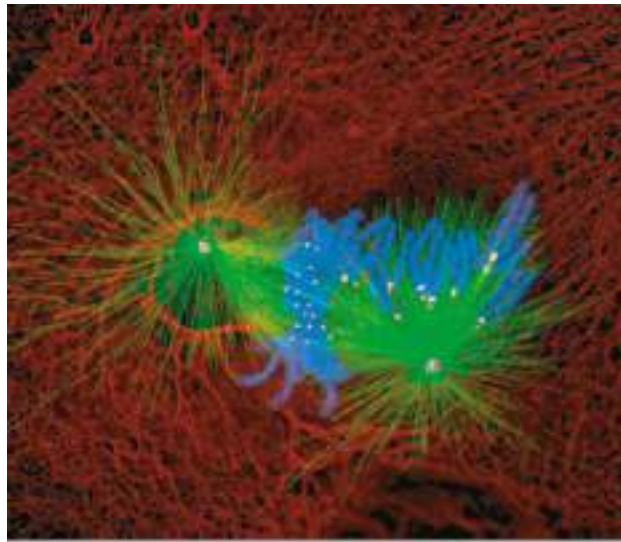
Esses métodos foram utilizados para descobrir, por exemplo, que os lisossomos contêm enzimas degradativas, as mitocôndrias contêm enzimas oxidativas e os cloroplastos contêm pigmentos fotossintéticos. O isolamento de uma organela rica em determinada enzima é geralmente a primeira etapa da purificação dessa enzima.

O citoplasma é organizado pelo citoesqueleto e é altamente dinâmico

A microscopia de fluorescência revelou que as células eucarióticas são atravessadas em várias direções por diversos tipos de filamentos proteicos que formam uma rede tridimensional interligada, o **citoesqueleto**. Os eucariotos têm três tipos gerais de filamentos citoplasmáticos – filamentos de actina, microtúbulos e filamentos intermediários (**Fig. 1-8**) – que diferem quanto à largura (de cerca de 6 a 22 nm), à composição e a funções específicas. Todos eles conferem estrutura e organização ao citoplasma e forma às células. Os filamentos de actina e os microtúbulos também auxiliam a movimentação tanto das organelas quanto da célula inteira.



(a)



(b)

FIGURA 1-8 Os três tipos de filamentos do citoesqueleto: filamentos de actina, microtúbulos e filamentos intermediários. As estruturas celulares podem ser marcadas com um anticorpo (que reconhece determinada proteína) ligado covalentemente a um composto fluorescente. As estruturas marcadas tornam-se visíveis quando a célula é observada sob microscópio de fluorescência. (a) Nesta cultura celular de fibroblastos, os feixes de filamentos de actina estão marcados em vermelho; os microtúbulos, em sentido radial a partir do centro da célula, estão marcados em verde; e os cromossomos (no núcleo), estão marcados em azul. (b) Célula de pulmão de salamandra em mitose. Os microtúbulos (em verde), ligados a estruturas chamadas de cinetócoros (em amarelo) nos cromossomos condensados (em azul), puxam os cromossomos para polos opostos, ou centrossomos (em cor-de-rosa), da célula. Os filamentos intermediários, formados por queratina (em vermelho), mantêm a estrutura da célula. [(a) James J. Faust e David G. Capco. (b) Dr. Alexey Khodjakov, Wadsworth Center, New York State Department of Health.]

Cada tipo de componente do citoesqueleto é composto de subunidades proteicas simples que se associam de forma não covalente para formar filamentos com espessura uniforme. Esses filamentos não são estruturas permanentes, eles são constantemente desmontados pela dissociação de suas subunidades e remontados em novos filamentos. As suas localizações na célula não são rigidamente fixas, podem mudar drasticamente com a mitose, a citocinese, o movimento ameboide ou outras mudanças na forma da célula. A montagem, a desmontagem e a localização de todos os tipos de filamentos são reguladas por outras proteínas, que servem para ligar ou reunir os filamentos ou para mover as organelas citoplasmáticas ao longo dos filamentos. (As bactérias contêm proteínas semelhantes à actina que desempenham funções similares nas células.)

Os filamentos se desmontam e se remontam em outro lugar. Vesículas providas de membrana brotam de uma organela e se fundem com outra organela. As organelas movem-se pelo citoplasma ao longo de filamentos proteicos, e esse movimento é realizado por proteínas motoras dependentes de energia. O **sistema de endomembranas** (ver Fig. 11-4) separa processos metabólicos específicos e fornece superfícies sobre as quais ocorrem determinadas reações catalisadas por enzimas. A **exocitose** e a **endocitose**, mecanismos de transporte para fora e para

dentro da célula, respectivamente, envolvem fusão e fissão de membranas, proporcionam conexão entre o citoplasma e o meio circundante e, assim, possibilitam a secreção de substâncias produzidas na célula e a captação de materiais extracelulares.

A organização estrutural do citoplasma está longe de ser aleatória. A movimentação e o posicionamento das organelas e dos elementos do citoesqueleto estão sob regulação rigorosa, e, em certas etapas de sua vida, uma célula eucariótica sofre reorganizações drásticas e bem orquestradas, como no caso dos eventos da mitose. As interações entre o citoesqueleto e as organelas são não covalentes, reversíveis e sujeitas à regulação em resposta a vários sinais intra e extracelulares.

As células constroem estruturas supramoleculares

As macromoléculas e as suas subunidades monoméricas diferem muito quanto ao tamanho. Uma molécula de alanina tem menos de 0,5 nm de comprimento. [P2](#) Uma molécula de hemoglobina, a proteína transportadora de oxigênio dos eritrócitos (ou hemácias, glóbulos vermelhos do sangue) é formada por subunidades contendo cerca de 600 subunidades de aminoácidos em quatro longas cadeias, enoveladas em forma globular e associadas em uma estrutura de 5,5 nm de diâmetro. As proteínas, por sua vez, são muito menores do que os ribossomos (cerca de 20 nm de diâmetro), os quais são menores do que organelas como as mitocôndrias, que têm geralmente 1 μm de diâmetro. Tem-se uma variação enorme entre biomoléculas simples e estruturas celulares que podem ser vistas ao microscópio óptico. A **Figura 1-9** ilustra a hierarquia estrutural na organização celular.

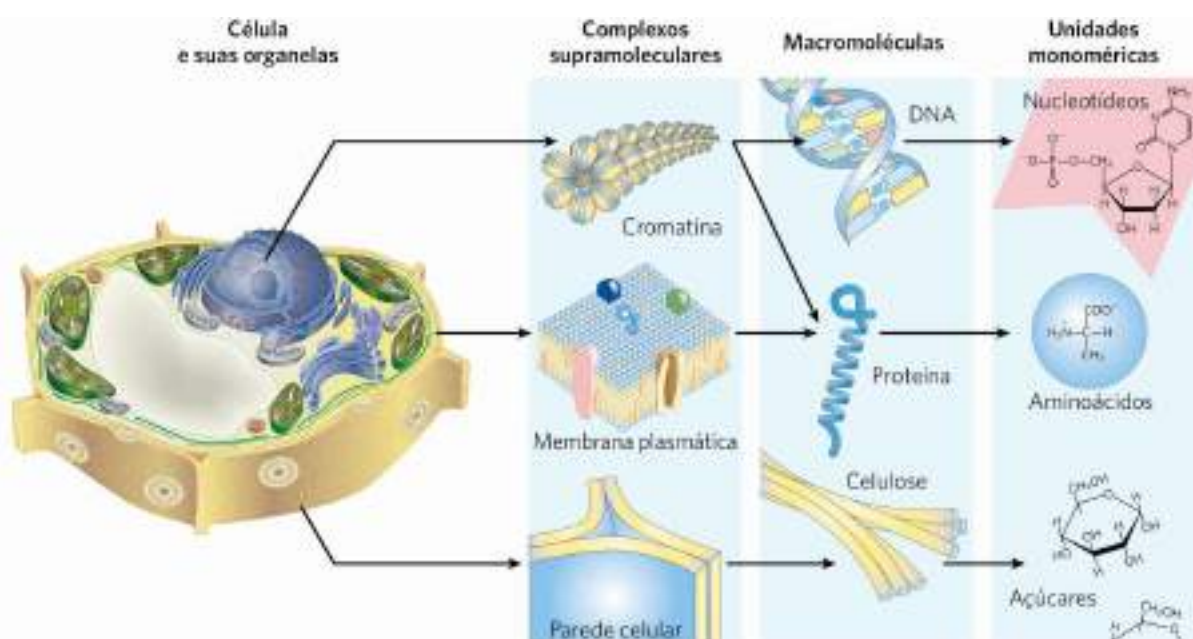


FIGURA 1-9 Hierarquia estrutural na organização molecular das células. As organelas e as demais estruturas relativamente grandes das células são feitas de complexos supramoleculares, que, por sua vez, são feitos de macromoléculas e de subunidades moleculares menores. Por exemplo, o núcleo desta célula vegetal contém cromatina, complexo supramolecular que consiste em DNA e proteínas básicas (histonas). O DNA é feito de subunidades monoméricas simples (nucleotídeos), assim como as proteínas (aminoácidos). [Informações de W. M. Becker e D. W. Deamer, *The World of the Cell*, 2nd ed, Fig. 2-15, Benjamin/Cummings Publishing Company, 1991.]

As subunidades monoméricas das proteínas, dos ácidos nucleicos e dos polissacarídeos são unidas por ligações covalentes. Nos complexos supramoleculares, contudo, as macromoléculas são unidas por interações não covalentes – individualmente muito mais fracas do que as covalentes. Entre essas interações não covalentes, estão as ligações de hidrogênio, as interações iônicas (entre grupos carregados); e agrupamentos de grupos apolares em solução aquosa, criados por interações de van der Waals (também chamadas forças de London) e pelo efeito hidrofóbico. Todas essas interações têm energia muito menor do que a energia das ligações covalentes. (As interações não covalentes estão descritas no Capítulo 2.) O grande número de interações fracas entre as macromoléculas nos complexos supramoleculares estabiliza essas agregações, gerando as estruturas características desses complexos.

Estudos *in vitro* podem subestimar interações importantes entre moléculas

Uma abordagem para se entender um processo biológico é o estudo *in vitro* de moléculas purificadas (do latim, que significa “no vidro” – no tubo de ensaio), evitando, assim, a interferência de outras moléculas presentes na célula intacta – isto é, *in vivo* (“no vivo”). Embora essa abordagem tenha trazido muitos esclarecimentos, deve-se considerar que o interior de uma célula é totalmente diferente do interior de um tubo de ensaio. Componentes “interferentes” eliminados na purificação podem ser cruciais para a função biológica ou para a regulação da molécula que está sendo purificada. Por exemplo, estudos *in vitro* de enzimas puras são comumente realizados com concentrações muito baixas da enzima em soluções aquosas sob agitação. Na célula, uma enzima está dissolvida ou suspensa no citosol, que tem consistência gelatinosa, junto a milhares de outras proteínas, algumas das quais podem se ligar a essa enzima e influenciar a atividade enzimática. Algumas enzimas são componentes de complexos multienzimáticos, nos quais os reagentes são transferidos de uma enzima para a outra sem nunca passarem para o solvente. Quando todas as macromoléculas conhecidas de uma célula são representadas segundo seus tamanhos e concentrações conhecidos (**Fig. 1-10**), fica claro que o citosol é bem congestionado e que a difusão de macromoléculas dentro do citosol deve ser mais lenta, devido a colisões com outras estruturas grandes. Em resumo, uma molécula pode ter um comportamento muito diferente quando está em uma célula e quando está *in vitro*. Um desafio central na bioquímica é entender as influências da organização celular e das associações

macromoleculares sobre a função de enzimas individuais e outras biomoléculas – para entender a função tanto *in vivo* como *in vitro*.

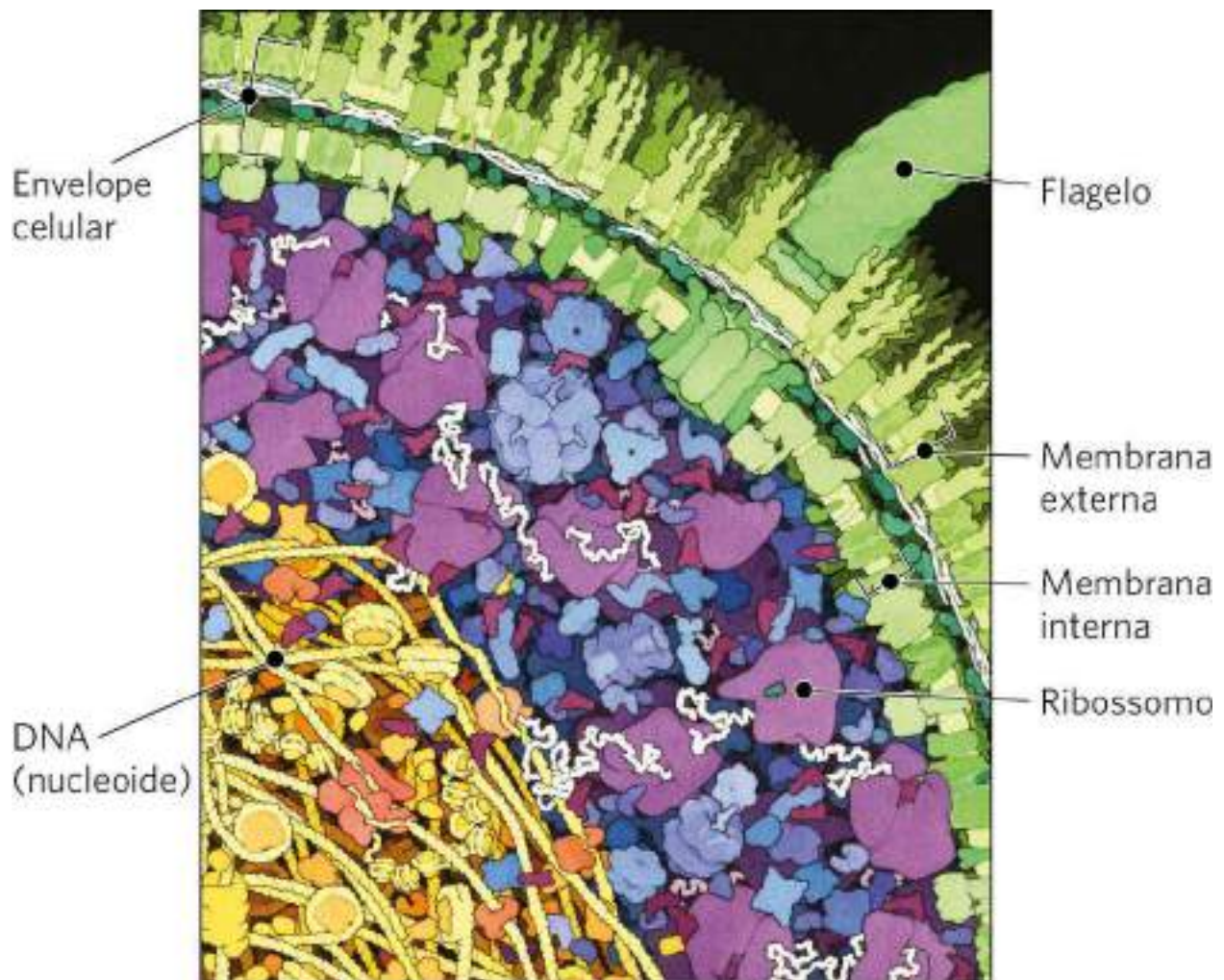


FIGURA 1-10 Célula congestionada. Este desenho é uma representação precisa dos tamanhos relativos e do número de macromoléculas em uma pequena região da célula de *E. coli*. [© David S. Goodsell, 1999.]

RESUMO 1.1 *Fundamentos celulares*

- Todas as células compartilham determinadas propriedades fundamentais: elas são delimitadas por uma membrana plasmática, têm um citosol contendo metabólitos, coenzimas, íons inorgânicos, enzimas e um conjunto de genes contidos dentro de um nucleóide (bactérias e arqueias) ou de um núcleo (eucariotos).
- O tamanho das células é limitado pela necessidade de fornecer oxigênio para todas as partes da célula.

- Comparando as respectivas sequências de DNA, os pesquisadores conseguem classificar os organismos em três grupos: Bacteria, Archaea e Eukarya. Archaea e Eukarya estão mais relacionadas entre si do que cada uma delas com Bacteria.
 - Todos os organismos necessitam de uma fonte de energia para realizar trabalho celular. Os organismos fototróficos obtêm energia da luz solar, e os quimiotróficos obtêm energia de combustíveis químicos.
 - As células de bactérias e de arqueias têm citosol, nucleóide e plasmídeos contidos dentro do envelope celular.
 - Os organismos eucariotes possuem uma gama de organelas envolvidas por membranas com funções especializadas, que podem ser estudadas em organelas isoladas.
 - As proteínas do citoesqueleto organizam-se em longos filamentos que dão forma e rigidez às células e servem como trilhos ao longo dos quais as organelas se deslocam por toda a célula. Compartimentos ligados por membranas formam um sistema de endomembranas dinâmico e interconectado.
 - Complexos supramoleculares mantidos coesos por interações não covalentes fazem parte de uma hierarquia de estruturas, algumas delas visíveis ao microscópio óptico.
 - O estudo *in vitro* de componentes celulares isolados simplifica os sistemas experimentais, mas estudos desse tipo podem subestimar interações importantes que ocorrem na célula viva.
-

1.2 Fundamentos químicos

A bioquímica tem como objetivo explicar as formas e as funções biológicas em termos químicos. Durante a primeira metade do século XX, investigações bioquímicas conduzidas em paralelo sobre a oxidação da glicose em leveduras e células de músculo animal revelaram semelhanças químicas impressionantes entre esses dois tipos de células aparentemente muito diferentes; por exemplo, a degradação da glicose nas leveduras e nas células musculares envolvia os mesmos 10 intermediários químicos e as mesmas 10 enzimas. Estudos posteriores sobre muitos outros processos químicos em diferentes organismos confirmaram a generalização dessa observação, perfeitamente resumida em 1954 pelo bioquímico Jacques Monod: “O que vale para *E. coli* também vale para um elefante”. O entendimento que hoje temos de que todos os organismos têm uma origem evolutiva comum baseia-se, em parte, nessa universalidade observada de transformações e intermediários químicos, que normalmente se denomina “unicidade da bioquímica”.

Entre os mais de 90 elementos químicos de ocorrência natural, menos de 30 são essenciais para os organismos. A maioria dos elementos da matéria viva tem um número atômico relativamente baixo; somente três têm números atômicos maiores do que o selênio, 34 (**Fig. 1-11**). Os quatro elementos químicos mais abundantes nos organismos vivos, em termos de porcentagem do número total de átomos, são hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e carbono, que, juntos, constituem mais de 99% da massa da maioria das células. Eles são os elementos mais leves capazes de formar, de maneira efetiva, uma, duas, três e quatro ligações, respectivamente; em geral, os elementos mais leves formam as ligações mais fortes. Os microelementos constituem uma fração ínfima do peso do corpo humano, mas todos eles são essenciais à vida, geralmente por serem essenciais para a função de proteínas específicas, incluindo muitas enzimas. A capacidade da molécula de hemoglobina de transportar oxigênio, por exemplo, é totalmente dependente de quatro íons ferro, que representam somente 0,3% da massa total da molécula.

1 H																	2 He
3 Li	4 Be											5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne
11 Na	12 Mg											13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar
19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn	31 Ga	32 Ge	33 As	34 Se	35 Br	36 Kr
37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe
55 Cs	56 Ba											57 La	58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 Pm	62 Sm
87 Fr	88 Ra											72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir
												78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi
												84 Po	85 At	86 Rn			

Elementos principais
 Elementos-traço

Lantanídeos
 Actinídeos

FIGURA 1-11 Elementos essenciais para a vida e a saúde dos animais. Os macroelementos (sombreados em vermelho-claro) são componentes estruturais das células e dos tecidos e são necessários na dieta em quantidades de gramas por dia. Para os microelementos (sombreados em amarelo), as quantidades necessárias são muito menores: para o ser humano, são suficientes alguns miligramas por dia de Fe, Cu e Zn, e quantidades ainda menores dos demais elementos. As necessidades mínimas para plantas e microrganismos são semelhantes às mostradas aqui; o que varia são as maneiras pelas quais eles conseguem esses elementos.

Biomoléculas são compostos de carbono que possuem uma variedade de grupos funcionais

A química dos organismos vivos está organizada em torno do carbono, que contribui com mais da metade do peso seco das células. O carbono pode formar ligações simples com átomos de hidrogênio, assim como ligações simples e duplas com átomos de oxigênio e nitrogênio (**Fig. 1-12**). A capacidade dos átomos de carbono de formar ligações simples muito estáveis com até quatro outros átomos de carbono tem uma importância biológica muito grande. Dois átomos de carbono também podem compartilhar dois (ou três) pares de elétrons, formando, assim, ligações duplas (ou triplas).

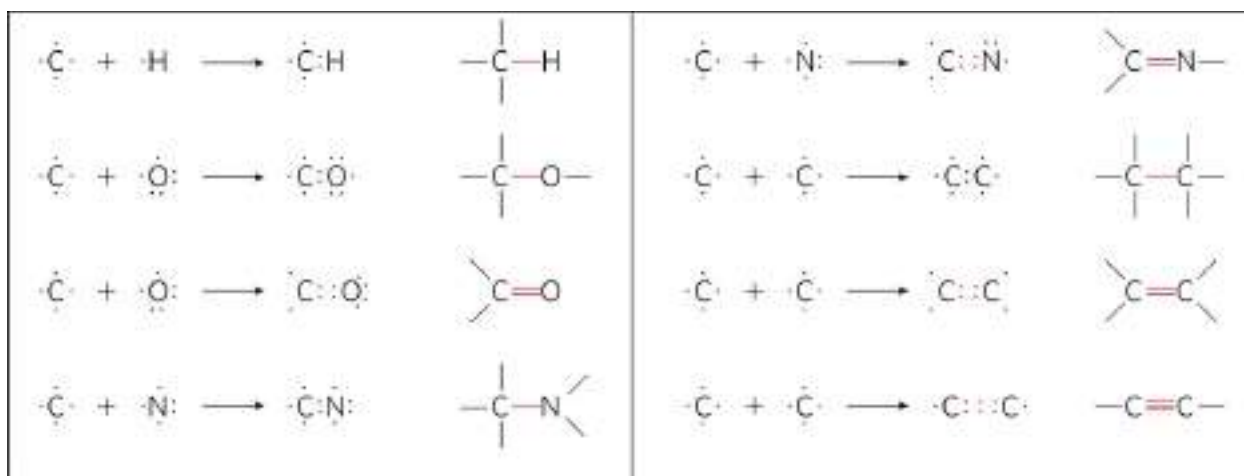


FIGURA 1-12 A versatilidade do carbono em formar ligações. O átomo de carbono pode formar ligações covalentes simples, duplas e triplas (todas indicadas em vermelho), particularmente com outros átomos de carbono. Ligações triplas são raras em biomoléculas.

As quatro ligações simples que podem ser formadas pelo átomo de carbono se projetam a partir do núcleo, na direção dos quatro vértices de um tetraedro (**Fig. 1-13**), com um ângulo aproximado de $109,5^\circ$ entre duas ligações quaisquer e com comprimento médio de ligação de $0,154 \text{ nm}$. A rotação em torno de cada ligação simples é livre, a menos que grupos muito grandes ou altamente carregados estejam ligados aos átomos de carbono, quando, então, a rotação pode ficar reduzida. A ligação dupla é mais curta (cerca de $0,134 \text{ nm}$) e rígida, permitindo somente uma rotação limitada em torno do seu eixo.



FIGURA 1-13 Geometria da ligação do carbono. (a) Os átomos de carbono têm um arranjo tetraédrico bem característico para as quatro ligações simples. (b) A ligação simples carbono-carbono tem liberdade de rotação, como mostrado para o composto etano ($\text{CH}_3\text{—CH}_3$). (c) Ligações duplas são mais curtas e não permitem rotação livre. Os dois carbonos ligados por ligação dupla e os átomos designados por A, B, X e Y estão todos em um mesmo plano rígido.

Nas biomoléculas, átomos de carbono ligados covalentemente podem formar cadeias lineares, cadeias ramificadas e estruturas cíclicas. Provavelmente, a versatilidade do carbono em se ligar com outro carbono e com outros elementos foi o principal fator na seleção dos compostos de carbono para a maquinaria molecular das células durante a origem e a evolução dos seres vivos. Nenhum outro elemento químico consegue formar moléculas com tanta diversidade de tamanhos, formas e composição.

A maioria das biomoléculas pode ser considerada como derivados de hidrocarbonetos, tendo átomos de hidrogênio substituídos por uma grande gama de grupos funcionais que conferem propriedades químicas específicas às moléculas, formando as diversas famílias de compostos orgânicos. Exemplos comuns dessas biomoléculas são os álcoois, que têm um ou mais grupos hidroxila; as aminas, com grupos amino; os aldeídos e as cetonas, com grupos carbonila; e os ácidos carboxílicos, com grupos carboxila (**Fig. 1-14**). Muitas biomoléculas são polifuncionais, contendo dois ou mais tipos de grupos funcionais (**Fig. 1-15**), cada qual com suas próprias características químicas e de reatividade. A “personalidade” química de um composto é determinada pela química de seu grupos funcionais e por como eles se posicionam no espaço tridimensional.

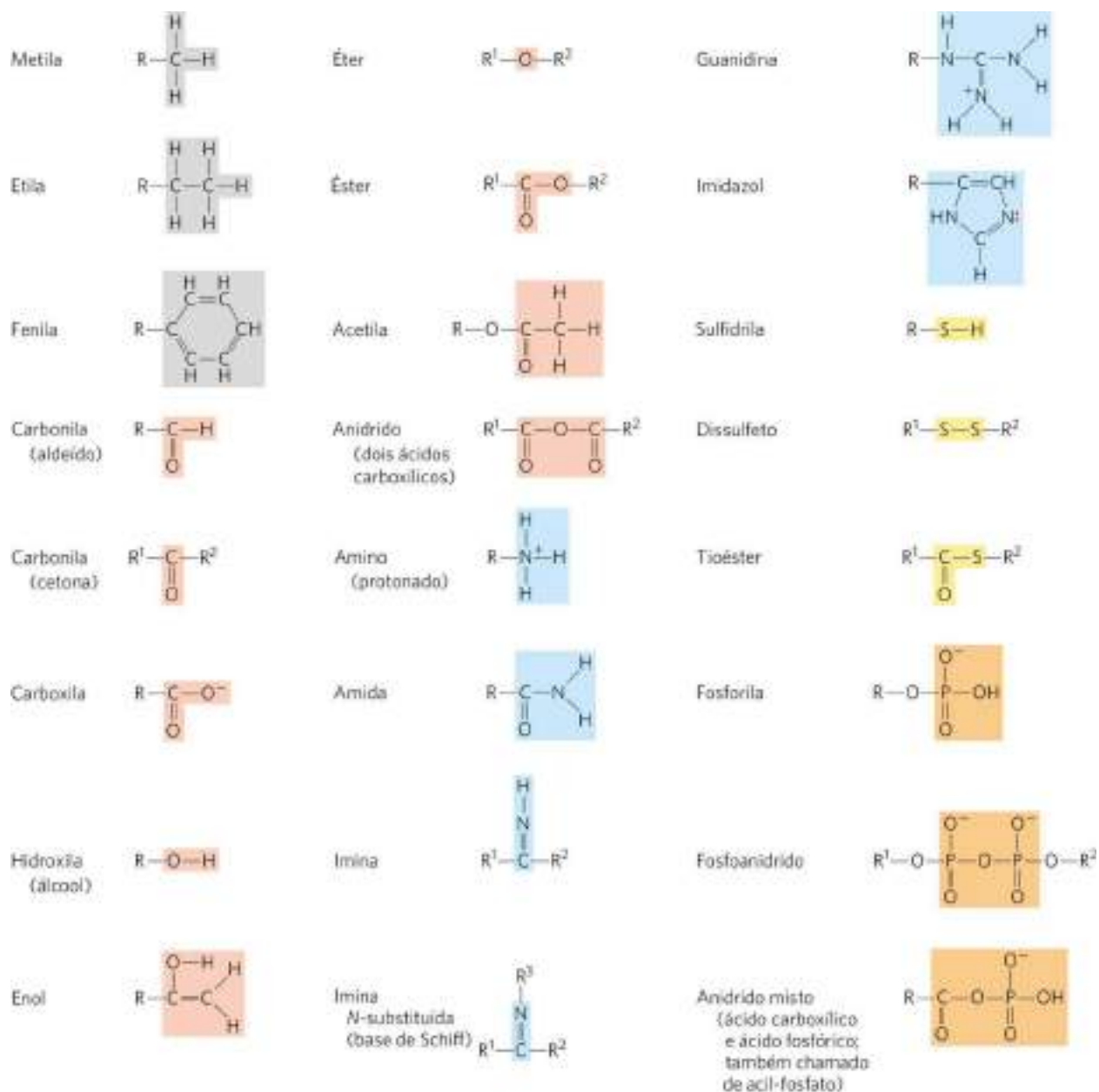


FIGURA 1-14 Alguns grupos funcionais comuns em biomoléculas. Os grupos funcionais estão identificados com a cor normalmente usada para representar o elemento que caracteriza aquele grupo: cinza para C, vermelho para O, azul para N, amarelo para S e cor de laranja para P. Nesta figura, e em todo o livro, será usado R para representar “qualquer substituinte”. Um grupo funcional pode ser simples, como um átomo de hidrogênio, mas geralmente é um grupo que contém carbono. Quando dois ou mais substituintes são representados em uma molécula, eles são designados como R¹, R², e assim por diante.

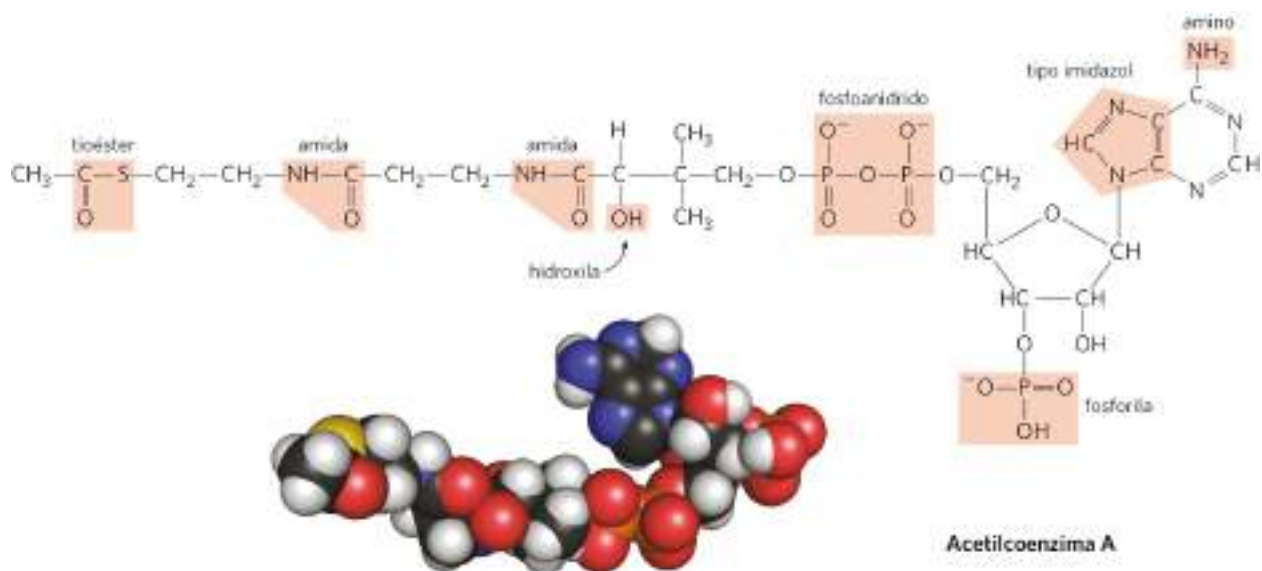


FIGURA 1-15 Vários grupos funcionais comuns em uma única biomolécula. A acetilcoenzima A (acetil-CoA) é um carreador de grupos acetila em algumas reações enzimáticas. Os grupos funcionais estão mostrados na fórmula estrutural. No modelo de volume atômico, N é mostrado em azul, C em preto, P em laranja, O em vermelho e H em branco. Os átomos em amarelo, à esquerda, são os átomos de enxofre cruciais para a formação da ligação tioéster entre a porção acetila e a coenzima A. [Dados da estrutura da acetil-CoA de PDB ID 1DM3, Y. Modis and R. K. Wierenga, *J. Mol. Biol.* 297:1171, 2000.]

As células contêm um conjunto universal de pequenas moléculas

Há um conjunto de talvez milhares de diferentes moléculas orgânicas pequenas ($M_r \sim 100$ a ~ 500) dissolvidas na fase aquosa (citossol) das células, com concentração intracelular na faixa de nanomolar a > 10 mM (ver Fig. 13-31). (Ver no **Quadro 1-1** uma explicação sobre as várias maneiras de se referir ao peso molecular.) Elas são os metabólitos centrais das principais vias que ocorrem em quase todas as células, isto é, os metabólitos e as vias metabólicas que foram conservados ao longo do curso da evolução. Esse conjunto de moléculas inclui os aminoácidos comuns, os nucleotídeos, os açúcares e seus derivados fosforilados e os ácidos mono, di e tricarboxílicos. As moléculas podem ser polares ou carregadas, e a maioria dessas moléculas é hidrossolúvel. Essas moléculas ficam aprisionadas no interior das células porque a membrana plasmática é impermeável a elas. Entretanto, transportadores de membrana específicos podem catalisar o deslocamento de algumas moléculas para dentro e para fora da célula ou entre compartimentos nas células eucarióticas. A ocorrência universal do mesmo conjunto de compostos nas células vivas reflete a conservação evolutiva das vias metabólicas que se desenvolveram nas células primitivas.

QUADRO 1-1

Peso molecular, massa molecular e suas unidades corretas

Há duas maneiras comuns (e equivalentes) de descrever massa molecular, e ambas são usadas neste livro. A primeira é o *peso molecular*, ou *massa molecular relativa*, denominado M_r . O peso molecular de uma substância é definido como a relação entre a massa da molécula da substância e um duodécimo da massa do átomo de carbono-12 (^{12}C). Visto que M_r é uma razão, ele é adimensional – não tem unidade associada. A segunda é a *massa molecular*, denominada m , que é simplesmente a massa de uma molécula, ou a massa molar dividida pelo número de Avogadro. A massa molecular, m , é expressa em daltons (abreviado Da). Um dalton é equivalente a um duodécimo da massa do carbono-12; um quilodalton (kDa) é 1.000 daltons; um megadalton (MDa) é um milhão de daltons.

Vamos considerar, por exemplo, uma molécula com massa mil vezes maior do que a massa da água. Pode-se dizer que essa molécula tem $M_r = 18.000$ ou $m = 18.000$ daltons. Além disso, pode-se descrevê-la como uma “molécula com 18 kDa”. Portanto, a expressão $M_r = 18.000$ daltons está incorreta.

Outra unidade conveniente para descrever a massa de um único átomo ou molécula é a unidade de massa atômica (antes denominada “u.m.a”, agora geralmente referida como u). Uma unidade de massa atômica (1 u) é definida como um duodécimo da massa do átomo do carbono-12. Uma vez que a medição experimental da massa de um átomo de carbono-12 é $1,9926 \times 10^{-23}$ g, então $u = 1,6606 \times 10^{-24}$ g. A unidade de massa atômica é conveniente para descrever a massa de um pico observado na espectrometria de massas (ver Capítulo 3).

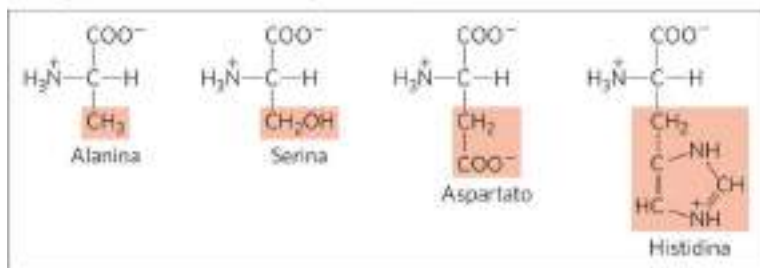
Existem outras biomoléculas pequenas que são específicas a certos tipos de células ou organismos. Por exemplo, plantas vasculares contêm, além do conjunto universal, pequenas moléculas chamadas de **metabólitos secundários**, que exercem funções específicas para a vida vegetal. Esses metabólitos incluem compostos que dão às plantas seus aromas e cores característicos, além de compostos como a morfina, o quinino, a nicotina e a cafeína, que são apreciados pelos seus efeitos fisiológicos nos humanos, mas usados para outros propósitos nas plantas.

O conjunto completo de moléculas pequenas em uma dada célula submetida a um conjunto específico de condições tem sido chamado de **metaboloma**, em analogia ao termo “genoma”. A **metabolômica** é a caracterização sistemática do metaboloma sob condições bem específicas (como após a administração de um fármaco ou após um sinal biológico, como a insulina).

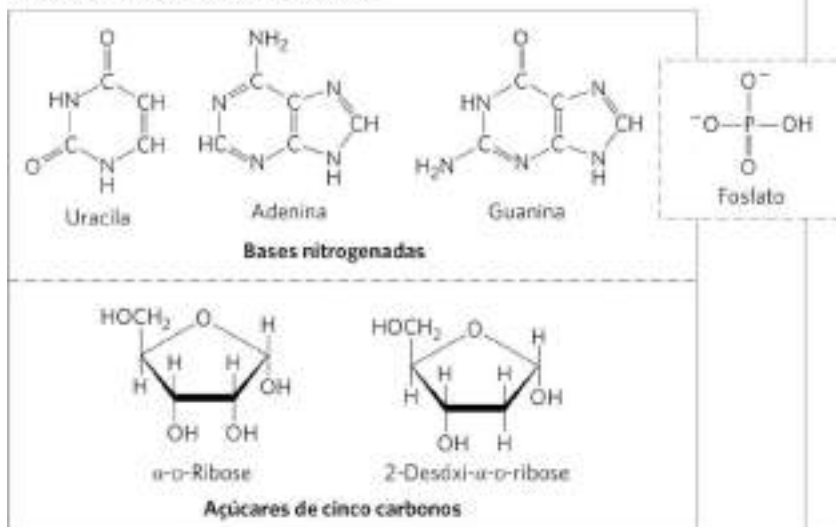
As macromoléculas são os principais constituintes das células

Muitas moléculas biológicas são **macromoléculas**, polímeros com peso molecular acima de ~5.000 que são formados a partir de precursores relativamente simples (**Fig. 1-16**). Polímeros mais curtos são chamados de **oligômeros** (do grego, *oligos*, “poucos”). Proteínas, ácidos nucleicos e polissacarídeos são macromoléculas compostas de monômeros com pesos moleculares de 500 ou menos. A síntese de macromoléculas é uma atividade que consome muita energia nas células. As macromoléculas podem, ainda, sofrer processamentos adicionais que resultam em complexos supramoleculares, formando unidades funcionais, como os ribossomos. A **Tabela 1-1** mostra as principais classes de biomoléculas em uma célula de *E. coli*.

(a) Alguns dos aminoácidos das proteínas



(b) Componentes dos ácidos nucleicos



(c) Alguns componentes dos lipídeos

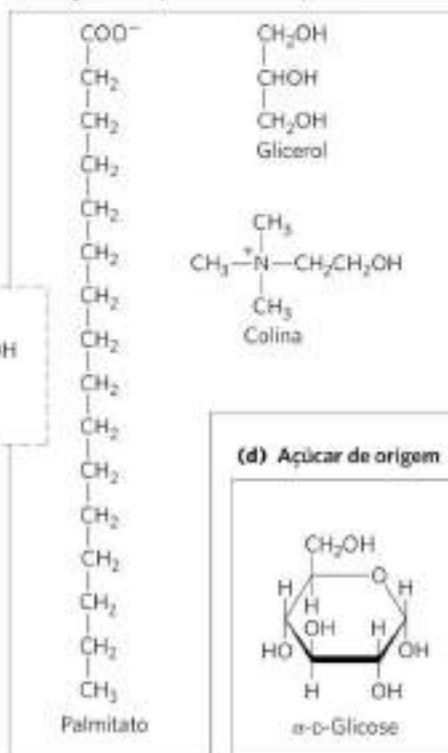


FIGURA 1-16 Os compostos orgânicos a partir dos quais é formada a maior parte dos materiais celulares: as bases da bioquímica. Estão mostrados (a) 4 dos 20 aminoácidos que formam todas as proteínas (as cadeias laterais estão sombreadas em vermelho); (b) as 5 bases nitrogenadas, os 2 açúcares de 5 carbonos e os íons fosfato que formam os ácidos nucleicos; (c) 4 componentes dos lipídeos de membrana (incluindo o fosfato); e (d) D-glicose, o açúcar simples que forma a maioria dos carboidratos.

TABELA 1-1 Componentes moleculares de uma célula de <i>E. coli</i>		
	Porcentagem do peso total da célula	Número aproximado de espécies moleculares diferentes
Água	70	1

Proteínas	15	3.000
Ácidos nucleicos		
DNA	1	1-4
RNA	6	> 3.000
Polissacarídeos	3	20
Lipídeos	2	50 ^a
Subunidades monoméricas e intermediários	2	2.600
Íons inorgânicos	1	20
Fonte: A. C. Guo et al., <i>Nucleic Acids Res.</i> 41:D625, 2013.		
^a Caso se considere todas as permutações e combinações de ácidos graxos substituintes, esse número fica ainda maior.		

As **proteínas**, polímeros longos de aminoácidos, constituem a maior fração de massa das células (além da água). Algumas proteínas têm atividade catalítica e funcionam como enzimas; outras atuam como elementos estruturais, receptores de sinal ou transportadores que carregam substâncias específicas para dentro ou para fora das células. As proteínas são, talvez, as mais versáteis de todas as biomoléculas; uma lista com todas as suas funções seria muito longa. O conjunto de todas as proteínas em funcionamento em determinada célula é chamado de **proteoma** da célula, e a **proteômica** é a caracterização sistemática de todas as proteínas presentes em um conjunto específico de condições. Os **ácidos nucleicos**, DNA e RNA, são polímeros de nucleotídeos. Eles armazenam e transmitem a informação genética, e algumas moléculas de RNA também têm funções estruturais e catalíticas em complexos supramoleculares. O **genoma** é a sequência completa do DNA da célula (ou, no caso de vírus de RNA, do seu RNA), e a **genômica** é a caracterização de estrutura, função, evolução e mapeamento dos genomas.

Os **polissacarídeos**, polímeros de açúcares simples, como a glicose, apresentam três funções principais: depósito de combustível de alto conteúdo energético, componentes estruturais rígidos da parede celular (em plantas e bactérias) e elementos de reconhecimento extracelular que se ligam a proteínas de outras células. Polímeros mais curtos de açúcares (oligosacarídeos) ligados a proteínas ou lipídeos na superfície da célula servem como sinais celulares específicos. O **glicoma** da célula é o conjunto de todas as moléculas contendo carboidratos. Os **lipídeos**, derivados de hidrocarbonetos não hidrossolúveis, servem como componentes estruturais das membranas, depósitos de combustível de alto conteúdo energético, pigmentos e sinais intracelulares. O conjunto de todas as moléculas contendo lipídeos constitui o **lipidoma** da célula.

Proteínas, polinucleotídeos e polissacarídeos apresentam um grande número de subunidades monoméricas e, conseqüentemente, alto peso molecular – na faixa de 5.000 até mais de 1 milhão para proteínas, até vários *bilhões* no caso do DNA e milhões para polissacarídeos, como o amido. Individualmente, as moléculas de lipídeos são muito menores (M_r entre 750 e 1.500) e não são classificadas como macromoléculas, embora elas possam se associar de forma não covalente em estruturas muito grandes. As membranas celulares são formadas por grandes agregados não covalentes de moléculas de lipídeos e proteínas.

Dadas as suas características sequências de subunidades ricas em informações, as proteínas e os ácidos nucleicos são muitas vezes classificados como **macromoléculas informacionais**. Alguns oligossacarídeos, como observado anteriormente, também atuam como moléculas informacionais.

A estrutura tridimensional é descrita pela configuração e pela conformação

As ligações covalentes e os grupos funcionais das biomoléculas são, obviamente, essenciais para o seu funcionamento, assim como a disposição dos constituintes atômicos das moléculas no espaço tridimensional – isto é, sua estereoquímica. Compostos contendo carbono normalmente existem como **estereoisômeros**, moléculas com as mesmas ligações químicas e mesma fórmula molecular, mas com diferente **configuração**, a disposição espacial fixa dos átomos. As interações entre biomoléculas são geralmente **estereoespecíficas**, e isso exige configurações específicas das moléculas para interagirem entre si.

A **Figura 1-17** mostra três maneiras de ilustrar a estereoquímica, ou configuração, de moléculas simples. O diagrama em perspectiva especifica a estereoquímica de forma inequívoca, mas o ângulo das ligações e os comprimentos das ligações centro a centro são mais bem representados pelo modelo de esfera e bastão. No modelo de volume atômico, o raio de cada “átomo” é proporcional ao seu raio de van der Waals, e os contornos do modelo definem o espaço ocupado pela molécula (a região do espaço no qual os átomos das outras moléculas não podem penetrar).

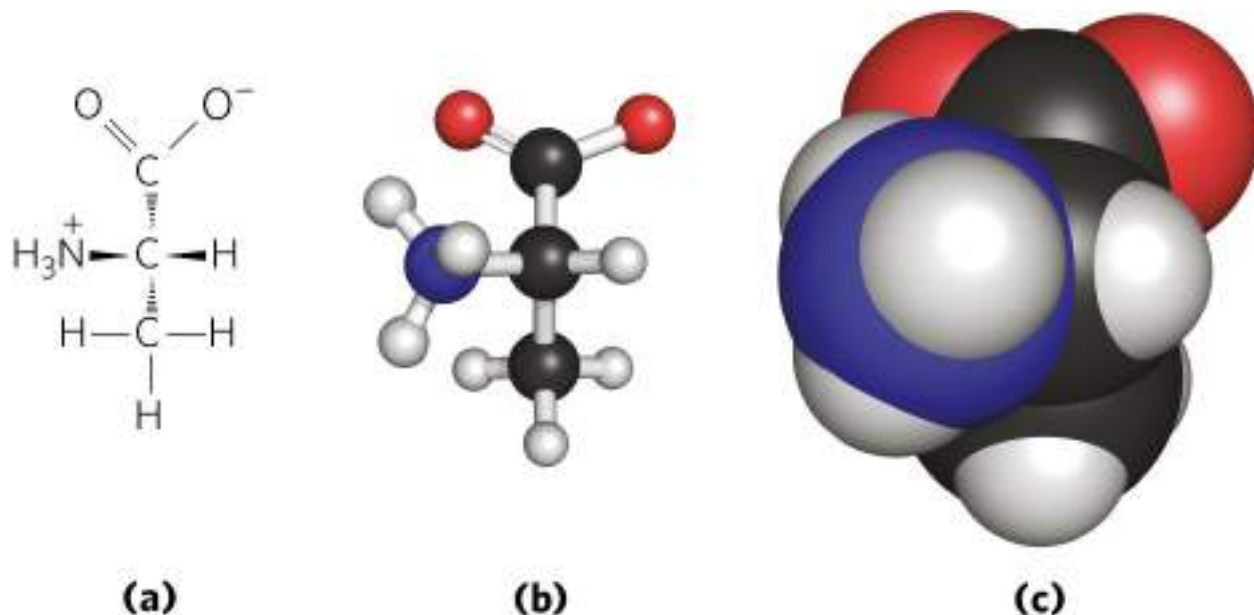


FIGURA 1-17 Representações das moléculas. Três maneiras de representar a estrutura do aminoácido alanina (mostrado aqui na forma iônica encontrada em pH neutro). (a) Fórmula estrutural em perspectiva: uma cunha sólida (—) representa uma ligação na qual o átomo se projeta para fora do plano do papel, na direção do leitor; a cunha tracejada (---) representa a ligação estendida para trás do plano do papel. (b) Modelo de esfera e bastão, mostrando os comprimentos relativos das ligações e os ângulos das ligações. (c) Modelo de volume atômico, no qual cada átomo é mostrado com seus raios de van der Waals nas proporções corretas.

A configuração é conferida pela presença de (1) ligações duplas, em torno das quais existe pouca ou nenhuma liberdade de rotação, ou (2) centros quirais, em torno dos quais grupos substituintes são arranjados em uma orientação específica. A característica que permite identificar estereoisômeros é o fato de que um não pode ser convertido no outro sem romper temporariamente uma ou mais ligações covalentes. A **Figura 1-18a** mostra a configuração do ácido maleico e seu isômero, o ácido fumárico. Esses compostos são **isômeros geométricos**, ou **isômeros *cis-trans***, que diferem no arranjo de seus grupos substituintes com respeito à ligação dupla rígida (que não gira) (do latim *cis*, “deste lado” – grupos do mesmo lado da ligação dupla; *trans*, “para além de” – grupos em lados opostos). O ácido maleico (maleato no pH neutro do citoplasma) é o isômero *cis*, e o ácido fumárico (fumarato), o isômero *trans*; ambos os compostos são bem definidos, eles podem ser separados um do outro e cada um tem propriedades químicas únicas. Um sítio de ligação (p. ex., em uma enzima) que é complementar a uma dessas moléculas não será complementar à outra, o que explica por que esses dois compostos têm papéis biológicos distintos apesar da constituição química similar. O pigmento da visão nos olhos dos animais vertebrados, a rodopsina, contém retinal, um lipídeo derivado da vitamina A (Fig. 1-18b). No evento primário da visão, a luz converte um isômero do retinal em outro, disparando um sinal neuronal para o encéfalo (ver Fig. 12-19).

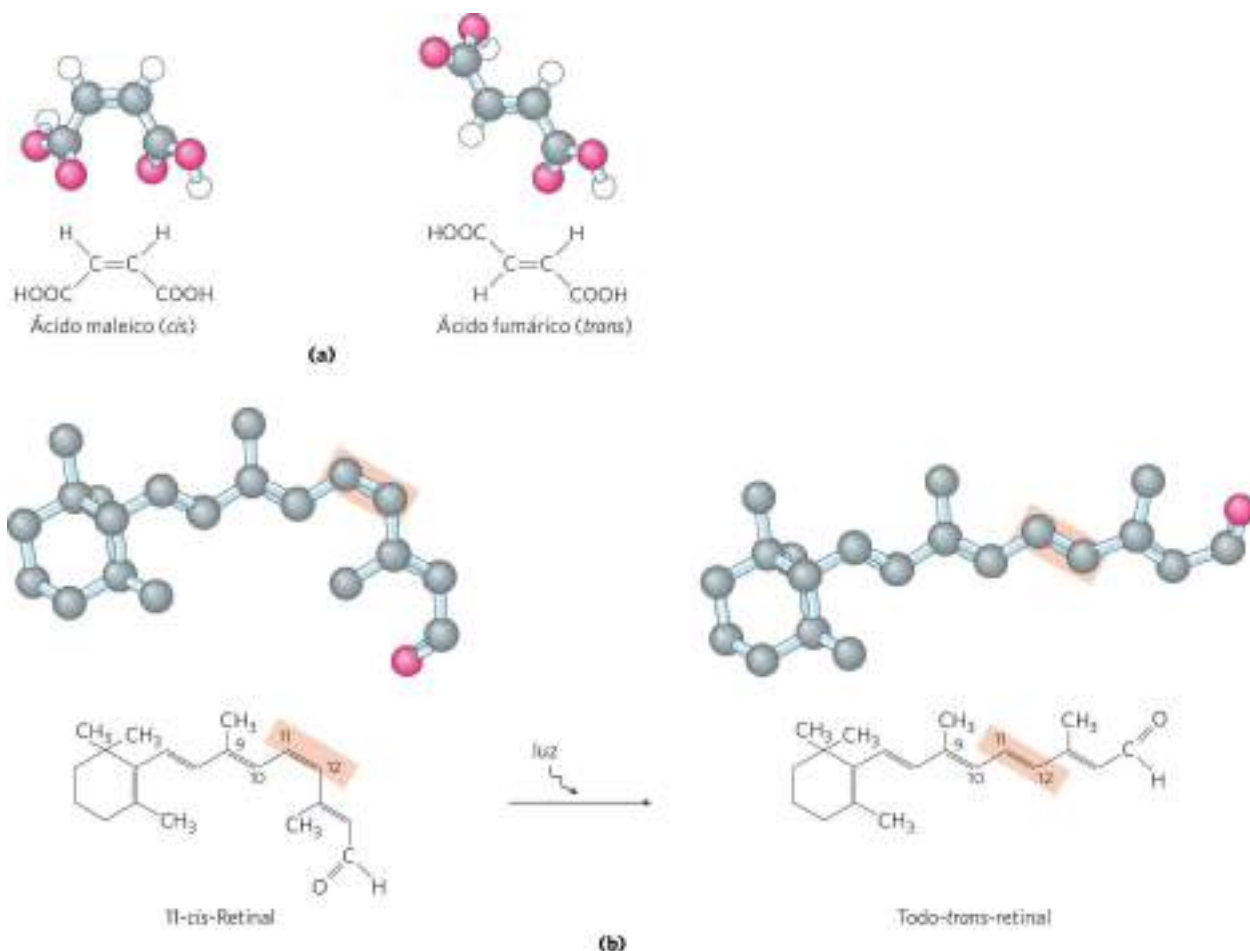
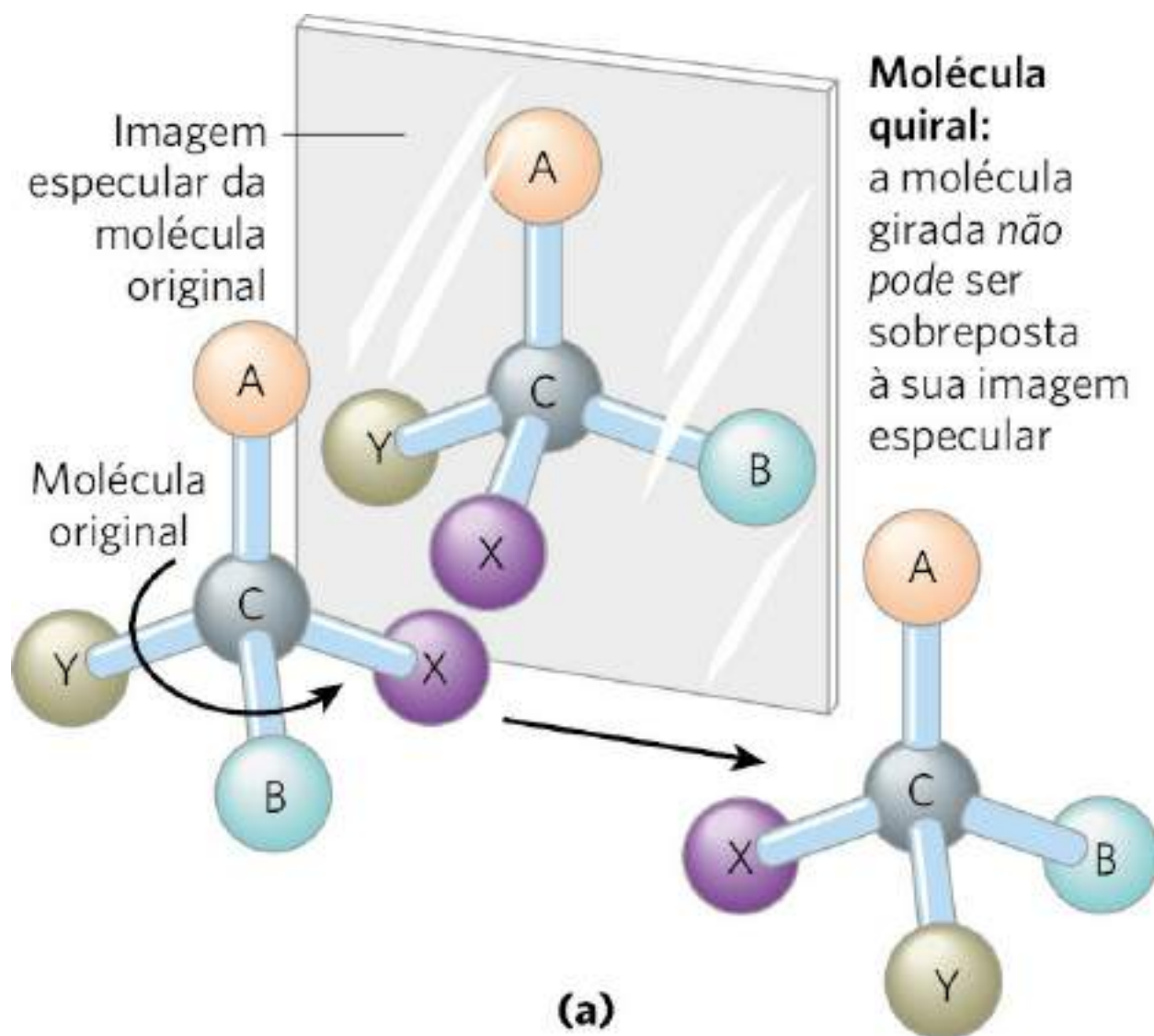


FIGURA 1-18 Configuração de isômeros geométricos. (a) Isômeros como o ácido maleico (maleato em pH 7) e o ácido fumárico (fumarato) não podem ser convertidos um no outro sem quebrar ligações covalentes, o que requer o gasto de muito mais energia do que a energia cinética média que as moléculas têm em temperaturas fisiológicas. (b) Na retina dos vertebrados, o evento inicial na detecção de luz é a absorção da luz visível por 11-*cis*-retinal. A energia da luz absorvida (em torno de 250 kJ/mol) converte 11-*cis*-retinal em todo-*trans*-retinal, provocando mudanças na célula da retina que desencadeiam um impulso nervoso. (Observe que os átomos de hidrogênio não estão representados nos modelos esfera e bastão dos retinais.)

No segundo tipo de estereoisômeros, os quatro diferentes substituintes ligados a um átomo de carbono tetraédrico podem ser arranjados em duas diferentes formas no espaço – isto é, têm duas configurações –, produzindo dois estereoisômeros com propriedades químicas semelhantes ou idênticas, porém com determinadas propriedades físicas e biológicas diferentes. Um átomo de carbono com quatro substituintes diferentes é considerado assimétrico, e carbonos assimétricos são denominados **centros quirais** (do grego *chiroi*, “mão”; alguns estereoisômeros estão relacionados estruturalmente da mesma forma que a mão direita está relacionada com a esquerda). Uma molécula com somente um carbono quiral pode ter dois estereoisômeros; quando possuir dois ou mais (n) carbonos quirais, pode haver 2^n estereoisômeros. Os estereoisômeros que são imagens especulares um do outro são chamados de **enantiômeros** (Fig. 1-19). Pares de

estereoisômeros que não são imagens especulares um do outro são chamados de **diastereoisômeros** (Fig. 1-20).



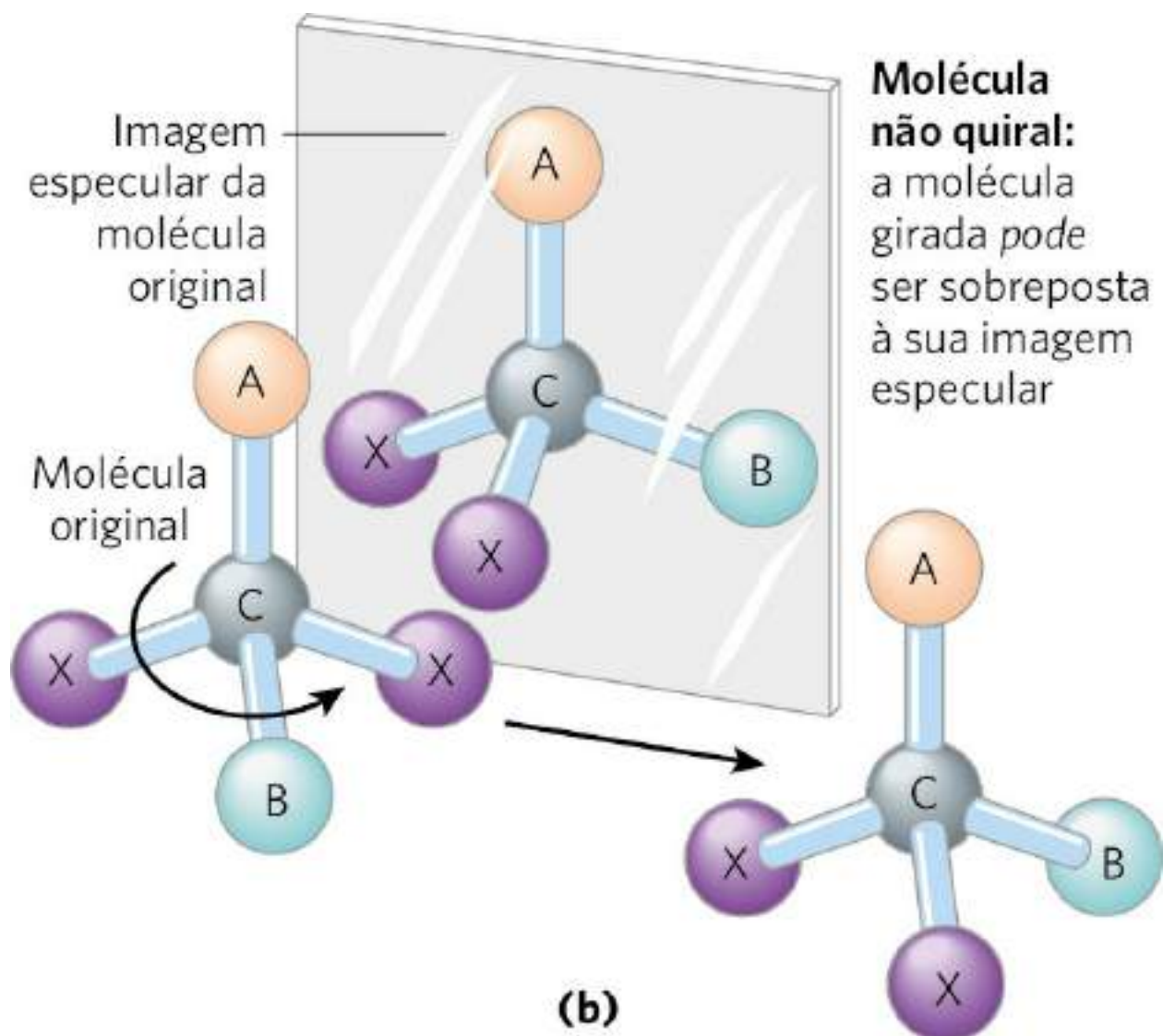


FIGURA 1-19 Assimetria molecular: moléculas quirais e não quirais. (a) Quando um átomo de carbono tem quatro grupos substituintes diferentes (A, B, X, Y), eles podem estar arranjados de duas maneiras, que são imagens especulares não sobreponíveis uma à outra (enantiômeros). O átomo de carbono assimétrico é chamado de átomo quiral ou centro quiral. (b) Quando um carbono tetraédrico tem apenas três grupos diferentes (i.e., um mesmo grupo ocorre duas vezes), somente uma configuração é possível, e a molécula é simétrica ou não quiral. Nesse caso, a imagem da molécula se sobrepõe à sua imagem no espelho: a molécula do lado esquerdo pode girar no sentido anti-horário (quando a ligação vertical de A para C é vista de cima para baixo) para formar a molécula vista no espelho.

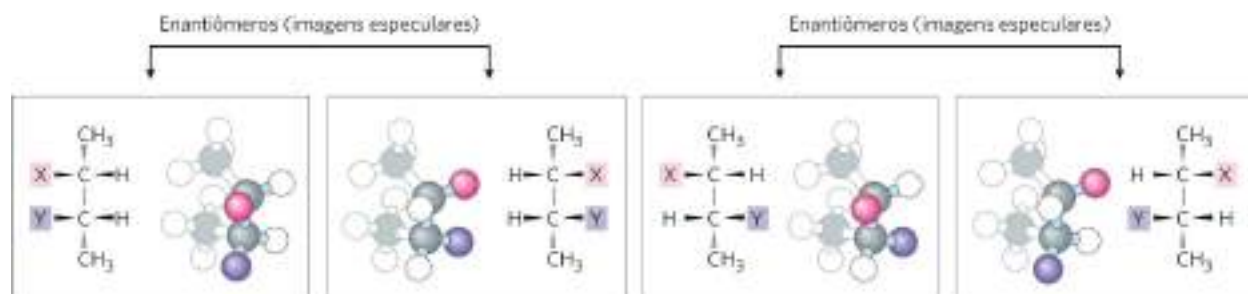


FIGURA 1-20 Enantiômeros e diastereoisômeros. Existem quatro diferentes estereoisômeros do 2,3-butano bissubstituído ($n = 2$ carbonos assimétricos, portanto $2^n = 4$ estereoisômeros). Cada um deles está mostrado dentro de um retângulo com a fórmula em perspectiva usando o modelo de esfera e bastão. As moléculas foram giradas para permitir a visualização de todos os grupos. Dois pares de estereoisômeros são imagens especulares um do outro, isto é, enantiômeros. Os outros pares possíveis não são imagens especulares, sendo diastereoisômeros. [Informações de F. Carroll, *Perspectives on Structure and Mechanism in Organic Chemistry*, p. 63, Brooks/Cole Publishing Co., 1998.]

Como o biólogo, microbiologista e químico Louis Pasteur observou pela primeira vez em 1843 (**Quadro 1-2**), os enantiômeros têm reatividades químicas quase idênticas, mas diferem em uma propriedade física bem característica: a **atividade óptica**. Em soluções separadas, dois enantiômeros giram o plano da luz polarizada em direções opostas, mas uma solução contendo concentrações equimolares de cada enantiômero (**mistura racêmica**) apresenta atividade óptica rotatória nula. Compostos sem centros quirais não causam rotação no plano da luz polarizada.

QUADRO 1-2

Louis Pasteur e atividade óptica: *in vino, veritas*

Louis Pasteur descobriu o fenômeno da atividade óptica em 1843, quando investigava os sedimentos cristalinos que se acumulavam nos barris de vinho (forma do ácido tartárico chamada de ácido paratartárico – também chamado de ácido racêmico, do latim *racemus*, “cacho de uvas”). Ele usou pinças muito finas para separar dois tipos de cristais idênticos na forma, mas com imagem especular um do outro. Os dois tipos de cristal têm todas as propriedades químicas do ácido tartárico, mas, em solução, um tipo gira a luz plano-polarizada para a esquerda (levorrotatório) e o outro, para a direita (dextrorrotatório). Posteriormente, Pasteur descreveu o experimento e sua interpretação:

Em corpos isoméricos, os elementos e as proporções nas quais eles estão combinados são os mesmos, somente o arranjo dos átomos é diferente [...]. Sabe-se, por um lado, que os arranjos moleculares dos dois ácidos tartáricos são assimétricos, e, por outro lado, que esses arranjos são absolutamente idênticos, exceto que exibem assimetria em direções opostas. Os átomos do ácido destro estão agrupados na forma de uma espiral voltada para a direita, ou posicionados no ápice de um tetraedro irregular ou dispostos de acordo com esse ou aquele arranjo assimétrico? Não sabemos.*

Agora sabemos. Estudos de cristalografia por raios X realizados em 1951 confirmaram que as formas levorrotatória e dextrorrotatória do ácido tartárico são imagens especulares uma da outra no nível molecular e determinaram a configuração absoluta de cada uma (Fig. 1). A mesma abordagem foi usada para demonstrar que, embora o aminoácido alanina tenha duas formas estereoisoméricas (designadas D e L), nas proteínas, a alanina existe exclusivamente em uma das formas (o isômero L; ver Capítulo 3).

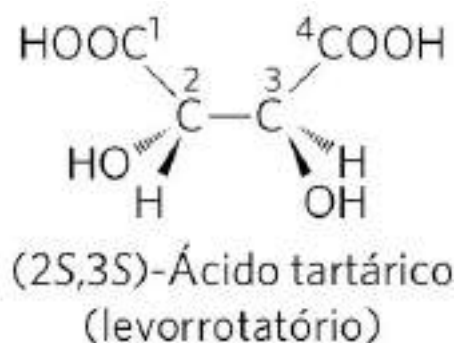
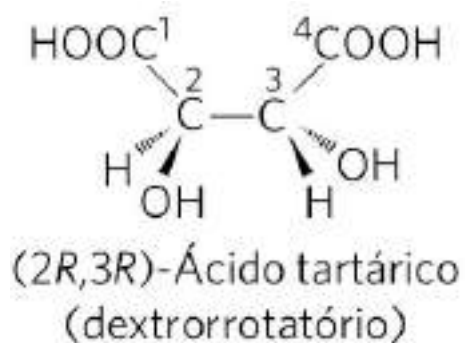
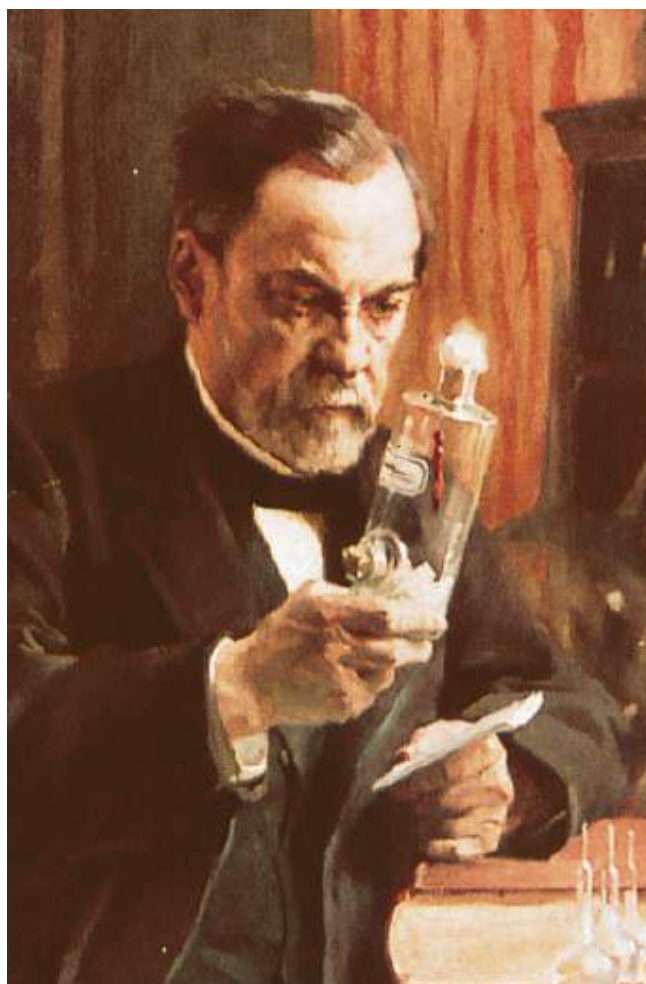


FIGURA 1 Pasteur separou cristais de dois estereoisômeros do ácido tartárico e mostrou que soluções contendo cada uma das formas separadas fazem a luz polarizada girar na mesma magnitude, porém em direções opostas. Foi demonstrado posteriormente que as formas dextrorrotatória e levorrotatória são os isômeros (*R,R*) e (*S,S*), representados aqui.



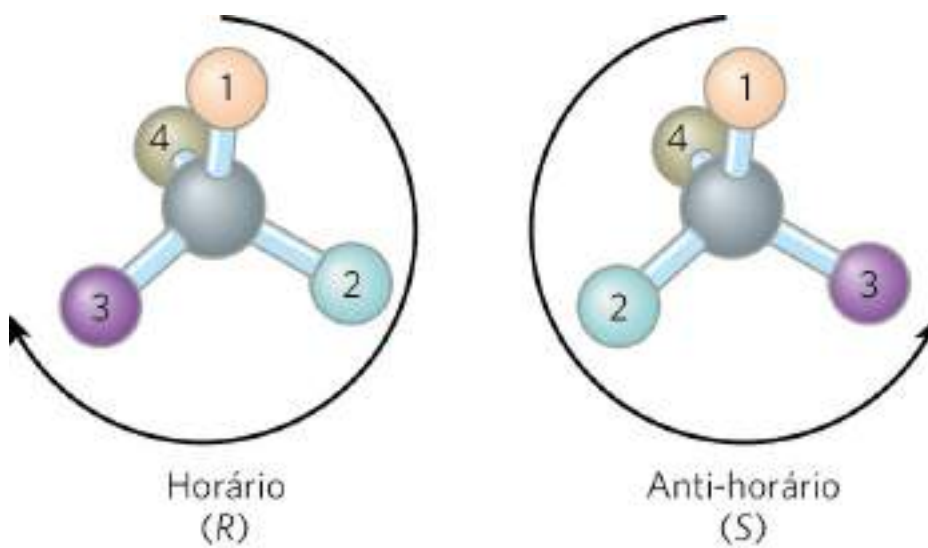
*Da palestra de Pasteur para a Société Chimique de Paris, em 1883, citado em R. DuBos, *Louis Pasteur: Free Lance of Science*, p. 95. New York: Charles Scribner's Sons, 1976.

Convenção

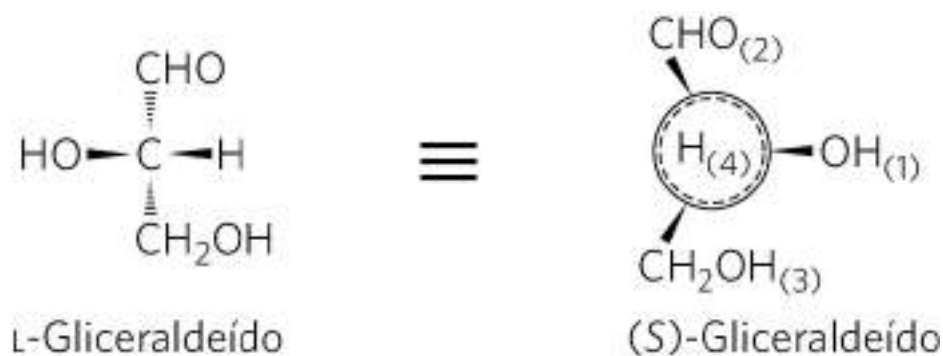
Dada a importância da estereoquímica nas reações entre biomoléculas (ver adiante), os bioquímicos são obrigados a dar nome e a representar a estrutura de cada biomolécula de forma a não deixar qualquer dúvida sobre a estereoquímica. Para compostos com mais de um centro quiral, a nomenclatura mais usada é a do sistema RS. Nesse sistema, para cada grupo funcional ligado a um carbono quiral é dada uma escala de *prioridade*. As prioridades de alguns substituintes comuns são:



No sistema de nomenclatura RS, o átomo quiral é visto com o grupo de mais baixa prioridade (grupo 4 no diagrama a seguir) apontando para a direção oposta à do observador. Se a prioridade dos outros três grupos (1 a 3) decresce no sentido horário, então a configuração é (*R*) (do latim *rectus*, “direita”); se decresce no sentido anti-horário, então a configuração é (*S*) (do latim *sinister*, “esquerda”). Dessa maneira, cada carbono quiral é designado como (*R*) ou (*S*), e a inclusão dessas designações no nome do composto fornece uma descrição que não deixa dúvida sobre a estereoquímica de cada centro quiral.



Outro sistema de nomenclatura para estereoisômeros, o sistema D e L, é descrito no Capítulo 3. Qualquer um desses dois sistemas permite identificar moléculas com apenas um centro quiral sem deixar margem a dúvidas. Os dois sistemas de nomenclatura se baseiam em critérios diferentes, portanto não é possível fazer uma correlação entre, por exemplo, o isômero L e o isômero (S) vistos no exemplo.



Diferentemente da configuração, tem-se a **conformação** molecular, que é a disposição espacial dos grupos substituintes que, sem quebrar qualquer ligação, são livres para assumir posições diferentes no espaço em virtude da liberdade de rotação em torno das ligações simples. Por exemplo, no etano, um hidrocarboneto simples, a liberdade de rotação ao redor da ligação C—C é quase total. Dependendo do grau de rotação, muitas conformações diferentes e intercambiáveis do etano são possíveis (**Fig. 1-21**). Duas conformações são de especial interesse: a escalonada, que é mais estável do que qualquer uma das outras e, portanto, a predominante, e a eclipsada, que é a menos estável. Essas duas formas conformacionais não podem ser isoladas uma da outra, pois estão livremente se convertendo uma na outra. Entretanto, a substituição de um ou mais átomos de hidrogênio em cada carbono por um grupo funcional que seja muito grande ou carregado eletricamente restringe a liberdade de rotação da ligação C—C. Isso limita o número de conformações estáveis dos derivados do etano.

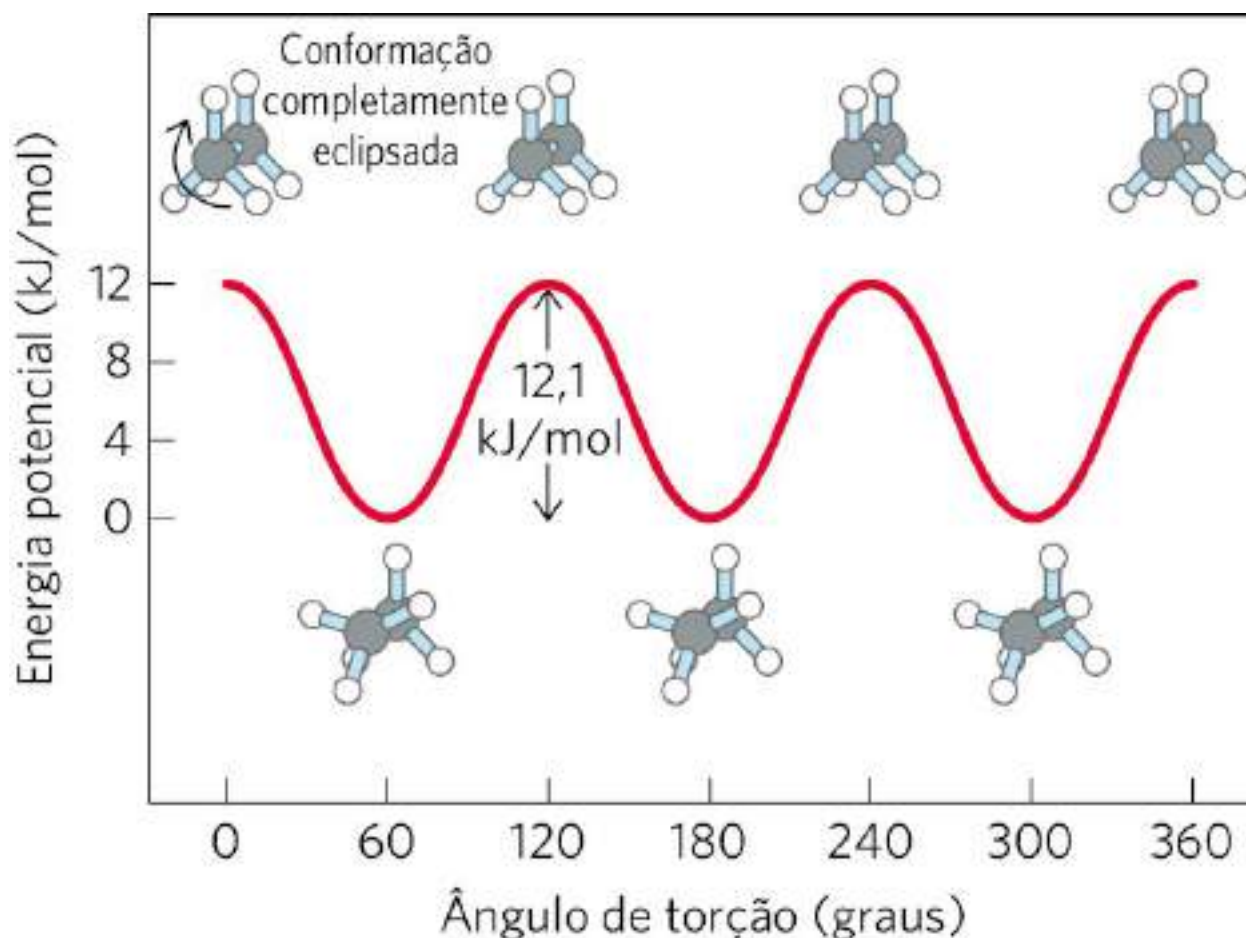


FIGURA 1-21 Conformações. O etano tem muitas conformações possíveis devido à liberdade de rotação em torno da ligação C–C. No modelo de esfera e bastão, quando o átomo de carbono frontal (visto da posição do leitor) é girado (junto a seus três hidrogênios) em relação ao átomo de carbono de trás, a energia potencial da molécula aumenta até um máximo na forma completamente eclipsada (nos ângulos de 0° , 120° , etc.) e depois diminui a um mínimo na forma totalmente escalonada (ângulos de torção de 60° , 180° , etc.). As formas eclipsada e escalonada não podem ser isoladas separadamente porque as diferenças de energia, mesmo pequenas, são suficientes para haver continuamente uma interconversão muito rápida entre as duas formas (milhões de vezes por segundo).

As interações entre biomoléculas são estereoespecíficas

P2 Quando biomoléculas interagem, o “encaixe” entre elas tem de ser estereoquimicamente correto; elas são complementares. A estrutura tridimensional das biomoléculas grandes e pequenas (a combinação de configuração e conformação) é de extrema importância para as suas interações biológicas: um reagente com a respectiva enzima, um hormônio com seu receptor e um antígeno com seu anticorpo específico, por exemplo (**Fig. 1-22**). O estudo da estereoquímica das biomoléculas, com métodos físicos precisos, é uma parte importante da pesquisa moderna sobre a estrutura celular e as funções bioquímicas.

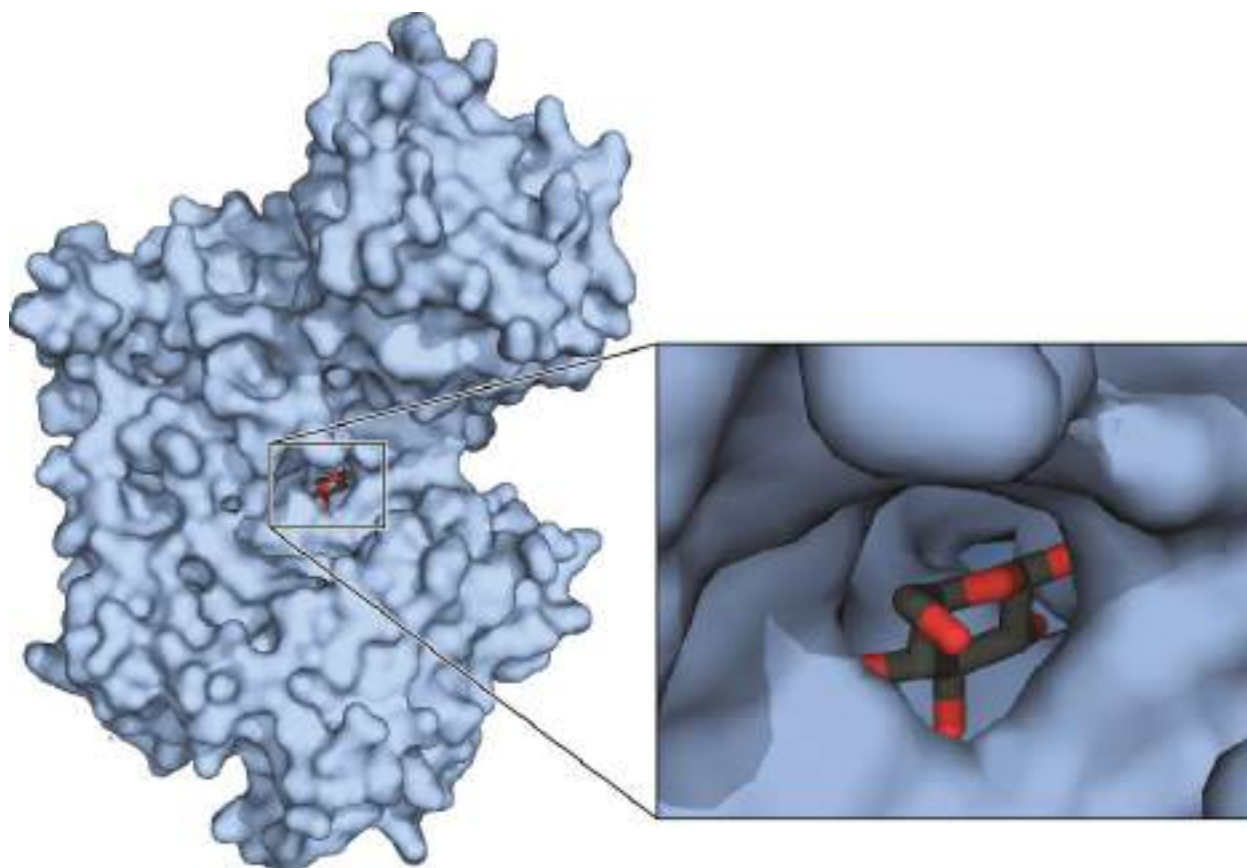


FIGURA 1-22 Encaixe complementar entre uma macromolécula e uma molécula pequena. A molécula de glicose encaixa-se em uma cavidade na superfície da enzima hexocinase e é mantida nessa orientação por várias interações não covalentes entre a proteína e o açúcar. Essa representação da molécula de hexocinase foi produzida com o auxílio de um *software* que calcula a forma da superfície externa de uma macromolécula, definida pelo raio de van der Waals de todos os átomos da molécula ou pelo método do “volume de exclusão do solvente”, que é o volume no qual uma molécula de água não consegue penetrar. [Dados de PDB ID 3B8A, P. Kuser et al., *Proteins* 72:731, 2008.]

Nos seres vivos, as moléculas quirais normalmente estão presentes apenas em uma das suas formas quirais. Por exemplo, nas proteínas, os aminoácidos ocorrem somente como isômeros L, e a glicose ocorre somente como isômero D. (As convenções para a denominação de estereoisômeros de aminoácidos estão descritas no Capítulo 3, e para os açúcares, no Capítulo 7. O sistema RS, descrito anteriormente, é mais útil no caso de determinadas biomoléculas.) Em contrapartida, quando um composto com um átomo de carbono assimétrico é sintetizado quimicamente em laboratório, a reação em geral produz ambas as formas quirais possíveis: uma mistura das formas D e L, por exemplo. Células vivas produzem somente uma das formas quirais de uma determinada biomolécula, uma vez que as enzimas que as sintetizam também são quirais.

A estereoespecificidade, a capacidade de distinguir entre estereoisômeros, é uma propriedade das enzimas e de outras proteínas e uma marca característica das interações bioquímicas. Se o sítio de ligação de uma proteína for complementar a um dos isômeros do composto quiral, então ele não será complementar ao outro isômero, da mesma forma que uma luva para a mão esquerda

não se ajusta à mão direita. Alguns exemplos descritivos da capacidade dos sistemas biológicos em distinguir estereoisômeros estão mostrados na **Figura 1-23**.

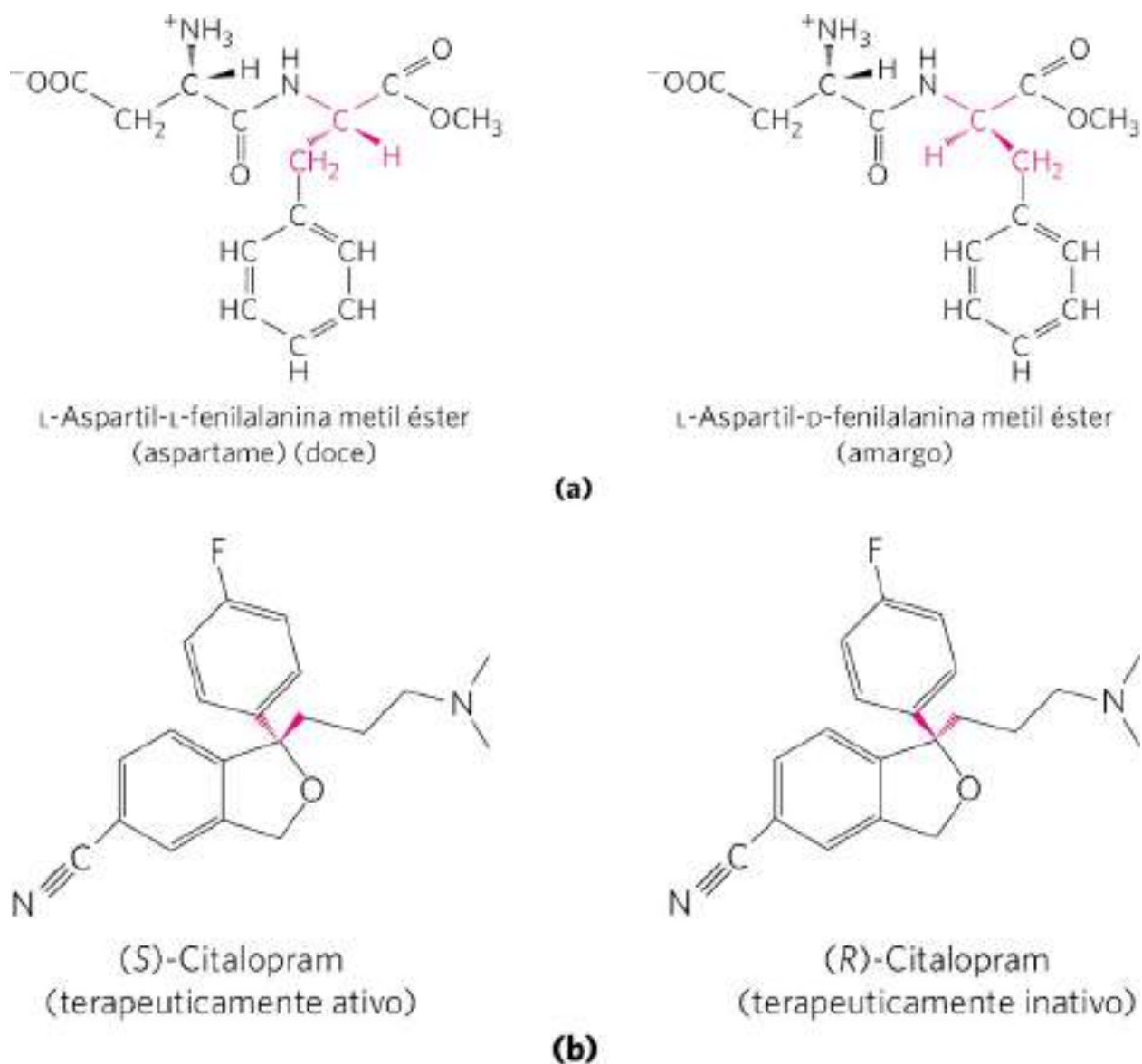


FIGURA 1-23 Estereoisômeros têm diferentes efeitos no ser humano. (a) O aspartame, um adoçante artificial, é facilmente distinguível pelos receptores gustativos do seu estereoisômero de gosto amargo, apesar de os dois diferirem apenas pela configuração em um dos seus dois carbonos quirais. (b) O medicamento antidepressivo citalopram, inibidor seletivo da recaptação da serotonina, é composto por uma mistura racêmica dos dois estereoisômeros, mas somente (S)-citalopram tem efeito terapêutico. A preparação estereoquimicamente pura de (S)-citalopram (oxalato de escitalopram) é vendida sob um nome comercial distinto. Como se pode prever, a dose efetiva da forma pura equivale à metade da dose efetiva da mistura racêmica.

As classes mais comuns de reações químicas encontradas na bioquímica estão descritas no Capítulo 13, a título de introdução às reações do metabolismo.

RESUMO 1.2 *Fundamentos químicos*

- Devido à versatilidade das ligações que pode fazer, o carbono pode produzir um conjunto enorme de esqueletos carbono-carbono com uma grande variedade de grupos funcionais; esses grupos conferem as personalidades química e biológica das biomoléculas.
 - Um conjunto praticamente universal de vários milhares de moléculas pequenas é encontrado nas células vivas; a interconversão dessas moléculas nas vias metabólicas centrais foi conservada ao longo da evolução.
 - Proteínas e ácidos nucleicos são macromoléculas – polímeros lineares longos feitos de subunidades monoméricas simples; as suas sequências contêm as informações que dão a cada molécula sua estrutura tridimensional e suas funções biológicas.
 - A configuração das moléculas pode ser alterada somente mediante quebra e reformação de ligações covalentes. Em um átomo de carbono com quatro substituintes diferentes (um carbono quiral), os grupos substituintes podem estar arranjados em duas formas diferentes, gerando estereoisômeros com propriedades distintas. Somente um dos estereoisômeros é biologicamente ativo. A conformação de uma molécula é a disposição dos átomos no espaço que pode ser mudada por rotação em torno de ligações simples, sem haver quebra de qualquer ligação covalente.
 - As interações entre moléculas biológicas são geralmente estereoespecíficas: elas necessitam de um encaixe (ou ajuste) preciso entre as estruturas complementares das duas moléculas que interagem entre si.
-

1.3 Fundamentos físicos

As células e os seres vivos precisam realizar trabalho para se manterem vivos e se reproduzirem. As reações de síntese que ocorrem dentro das células, da mesma maneira que os processos de síntese em uma fábrica qualquer, exigem consumo de energia. Também é necessário fornecer energia para o movimento de uma bactéria, de um velocista olímpico, para a luz de um vaga-lume ou para a descarga de um peixe elétrico. O armazenamento e a expressão de informações também necessitam de energia, sem a qual estruturas ricas em informação inevitavelmente se tornam desordenadas e sem sentido.

Ao longo da evolução, as células desenvolveram mecanismos altamente eficazes para o acoplamento da energia obtida da luz solar ou de combustíveis químicos aos processos dependentes de energia que devem ser realizados. Um dos objetivos da bioquímica é compreender, em termos químicos e quantitativos, os meios pelos quais a energia é extraída, armazenada e canalizada para o trabalho útil nas células. As conversões de energia nas células, como todas as demais conversões de energia, podem ser entendidas dentro do contexto das leis da termodinâmica. O Capítulo 13 apresenta uma discussão mais aprofundada da termodinâmica celular.

Os organismos vivos existem em um estado estacionário dinâmico e nunca em equilíbrio com o meio em que se encontram

As moléculas e os íons presentes nos seres vivos diferem quanto ao tipo e à concentração em relação aos que existem no meio circundante. Um paramécio em uma lagoa, um tubarão no oceano, uma bactéria no solo e uma macieira em um pomar têm composições diferentes das do meio em que se encontram e, uma vez atingida a maturidade, todos mantêm uma composição aproximadamente constante, apesar das contínuas alterações no meio.

Embora a composição característica de um organismo mude relativamente pouco ao longo do tempo, a população de moléculas dentro de um organismo está muito longe de um estado estático. Moléculas pequenas, macromoléculas e complexos supramoleculares são continuamente sintetizados e degradados em reações químicas que envolvem um fluxo constante de massa e de energia através do sistema. As moléculas de hemoglobina que carregam oxigênio dos seus pulmões para o encéfalo neste exato momento foram sintetizadas em algum momento no último mês, e no mês seguinte todas elas serão degradadas e completamente substituídas por novas moléculas de hemoglobina. A glicose ingerida na última refeição agora circula na corrente sanguínea, e, antes do final do dia, todas essas moléculas de glicose terão sido convertidas em algo diferente – dióxido de carbono ou gordura, talvez – sendo substituídas por um novo suprimento de glicose; assim, a concentração de glicose no sangue permanece mais ou menos

constante durante todo o dia. As quantidades de hemoglobina e glicose no sangue permanecem quase constantes porque as taxas de síntese ou ingestão contrabalançam as taxas de degradação, consumo ou conversão em algum outro produto. Essa constância na concentração é o resultado de um *estado estacionário dinâmico*, um estado estacionário que está longe de ser um equilíbrio. A manutenção desse estado requer investimento constante de energia; quando a célula não consegue mais obter energia, ela morre e começa a decair para um estado de equilíbrio com o meio em que se encontra. A seguir, serão discutidos os significados exatos de “estado estacionário” e “equilíbrio”.

Os organismos transformam energia e matéria a partir do meio circundante

Para reações químicas que ocorrem em solução, pode-se definir um **sistema** com todos os reagentes e produtos, o solvente que os contém e a atmosfera imediata – em suma, tudo o que estiver dentro de uma região definida do espaço. Juntos, o sistema e seus arredores constituem o **universo**. Se o sistema não trocar nem matéria nem energia com o meio, ele é chamado de **isolado**. Se o sistema trocar energia, mas não trocar matéria com o meio, tem-se um **sistema fechado**, e se trocar energia e matéria com o meio, é um **sistema aberto**.

Um organismo vivo é um sistema aberto, pois ele troca tanto matéria quanto energia com o meio. Os seres vivos obtêm energia do meio de duas formas: (1) absorvendo combustíveis químicos (como glicose) do meio e extraindo energia pela oxidação desses combustíveis (ver Quadro 1-3, Caso 2) ou (2) absorvendo energia da luz solar.

A primeira lei da termodinâmica descreve o princípio da conservação de energia: *em qualquer mudança física ou química, a quantidade total de energia no universo permanece constante, embora a forma da energia possa mudar*. Ou seja, quando a energia é “usada” pelo sistema, ela não é “gasta”, mas sim convertida de uma forma em outra, por exemplo, da energia potencial das ligações químicas para a energia cinética de calor e movimento. As células são transdutores de energia sofisticados, capazes de converter energia química, eletromagnética, mecânica e osmótica entre si com alta eficiência (**Fig. 1-24**).

Energia potencial



Transformações de energia realizam trabalho



(a)

- Nutrientes do meio (moléculas complexas, como açúcares e gorduras)
- Luz solar

(b)

Transformações químicas dentro das células



Trabalho celular:

- síntese química
- trabalho mecânico
- gradientes elétrico e osmótico
- produção de luz
- transferência de informação genética

(c)

Calor

Desordem (entropia) aumentada no meio

(d)

O metabolismo produz compostos mais simples do que as moléculas combustíveis iniciais: CO_2 , NH_3 , H_2O , HPO_4^{2-}

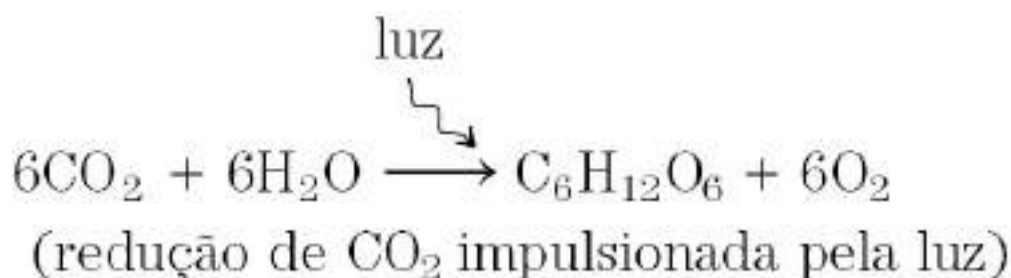
Desordem (entropia) diminuída no sistema

(e)

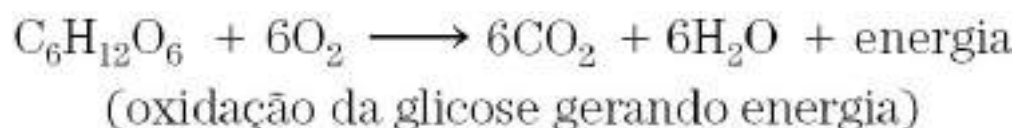
Compostos simples polimerizam para formar macromoléculas ricas em informação: DNA, RNA, proteínas

FIGURA 1-24 Algumas transformações de energia em organismos vivos. À medida que a energia metabólica é gasta para realizar trabalho celular, o grau de desordem do sistema mais o grau de desordem do meio externo (expresso quantitativamente como entropia) aumenta conforme a energia potencial das moléculas nutrientes complexas diminui. (a) Os seres vivos extraem energia dos arredores; (b) convertem parte dela em formas úteis de energia para produzir trabalho; (c) devolvem parte dela aos arredores na forma de calor; e (d) liberam moléculas como produto final que são menos organizadas que os combustíveis iniciais, aumentando a entropia do universo. Um dos efeitos dessas transformações é (e) o aumento da ordem (diminuição da aleatoriedade) do sistema na forma de macromoléculas complexas.

P3 Praticamente todos os organismos vivos obtêm a energia de que precisam, direta ou indiretamente, a partir da energia radiante da luz solar. Nos organismos fotoautotróficos, a ruptura da molécula da água promovida pela luz durante a fotossíntese libera elétrons para a redução de CO₂ e a liberação de O₂ na atmosfera:



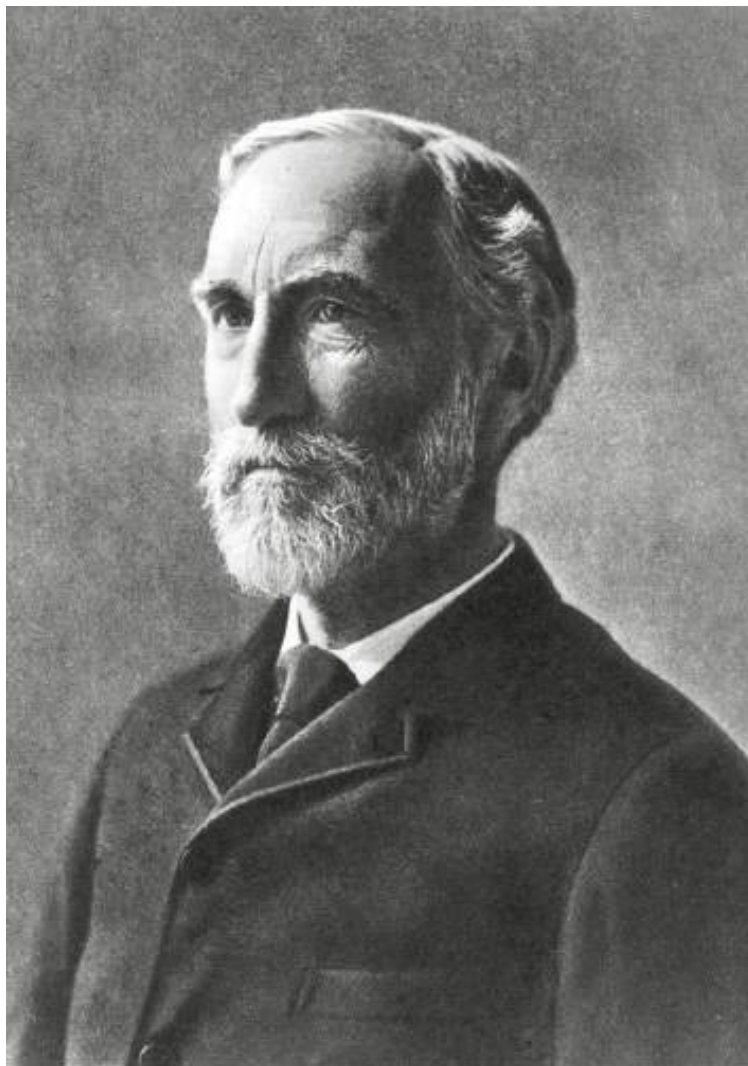
Organismos não fotossintetizantes (i.e., organismos quimiotróficos) obtêm energia pela oxidação de produtos ricos em energia armazenados em plantas e resultantes da fotossíntese, passando, então, os elétrons adquiridos do O₂ atmosférico através de intermediários até formar água, CO₂ e outros produtos finais, que são reciclados no meio ambiente:



Portanto, organismos autotróficos e heterotróficos participam do ciclo global de O₂ e CO₂, acionado, em última instância, pela luz solar, fazendo os organismos desses dois grandes grupos serem interdependentes. Praticamente toda a transdução de energia nas células pode ser relacionada com esse fluxo de elétrons de uma molécula para outra, em um fluxo que vai de um potencial eletroquímico mais alto para um mais baixo; assim, essa é forma análoga ao fluxo de elétrons em um circuito elétrico acionado por bateria. **P3** Todas essas reações envolvidas no fluxo de elétrons são **reações de oxirredução**: um reagente é oxidado (perde elétrons) enquanto outro é reduzido (ganha elétrons).

Criar e manter ordem requer trabalho e energia

Como observado anteriormente, DNA, RNA e proteínas são moléculas informacionais. A sequência precisa dos monômeros contém informações, assim como a sequência de letras nesta frase. As células, além de usarem energia química para formar as ligações covalentes entre as subunidades monoméricas, investem energia para ordenar as subunidades na sequência correta. É extremamente improvável que aminoácidos em uma mistura venham a se condensar espontaneamente em um único tipo de proteína, com uma sequência única. Isso representaria o aumento da ordem em uma população de moléculas; entretanto, de acordo com a segunda lei da termodinâmica, a tendência na natureza é ir no sentido oposto, sempre de maior desordem no universo: *a aleatoriedade do universo aumenta continuamente*. Para sintetizar macromoléculas a partir das respectivas unidades monoméricas, é preciso fornecer energia livre ao sistema (nesse caso, a célula). O Capítulo 13 apresenta uma discussão da energética das reações de oxirredução em termos quantitativos.



J. Willard Gibbs, 1839-1903 [Science Source.]

A aleatoriedade ou a desordem dos componentes de um sistema químico é expressa como **entropia, S** (**Quadro 1-3**). Qualquer alteração na aleatoriedade do sistema é expressa como variação da entropia, ΔS , que, por convenção, tem um valor positivo quando a aleatoriedade aumenta. J. Willard Gibbs, o cientista que desenvolveu a teoria da variação de energia durante as reações químicas, demonstrou que a **energia livre, G** , de qualquer sistema fechado pode ser definida em termos de três grandezas: **entalpia, H** , ou conteúdo de calor, que, de forma geral, expressa o número e os tipos de ligações; entropia, S ; e temperatura absoluta, T (em Kelvin). A definição de energia livre é $G = H - TS$. Quando uma reação química ocorre em temperatura constante, a **variação de energia livre, ΔG** , é determinada pela variação da entalpia, ΔH , refletindo os tipos e o número de ligações químicas e interações não covalentes quebradas e formadas, e a variação da entropia, ΔS , que descreve a variação na aleatoriedade do sistema:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

em que, por definição, ΔH é negativo para uma reação que libera calor (reação exotérmica), e ΔS é positivo para uma reação que aumenta a aleatoriedade do sistema (diminui a ordem).

QUADRO 1-3

Entropia: tudo se desintegra

O termo “entropia”, que literalmente significa “mudança em seu interior”, foi usado pela primeira vez em 1851 por Rudolf Clausius, um dos formuladores da segunda lei da termodinâmica. Esse termo se refere à aleatoriedade ou desordem dos componentes de um sistema químico. Entropia é um conceito central na bioquímica; a vida depende de continuamente manter a ordem contra a tendência da natureza de aumentar a desordem. Uma definição quantitativa rigorosa de entropia envolve considerações probabilísticas e estatísticas. Entretanto, ela pode ser ilustrada qualitativamente por três exemplos simples, cada um demonstrando um aspecto da entropia. Os descritores-chave da entropia são *aleatoriedade* e *desordem*, manifestadas em diferentes maneiras.

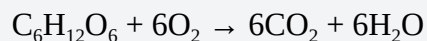
Caso 1: A chaleira e a aleatorização do calor

Sabe-se que o vapor gerado pela água em ebulição pode realizar trabalho útil. Contudo, suponha-se que apaguemos a chama sob a chaleira cheia de água a 100 °C (o “sistema”) na cozinha (o “meio”). À medida que a água da chaleira esfria, nenhum trabalho é feito, mas o calor passa da chaleira para o meio, aumentando a temperatura do meio (cozinha)

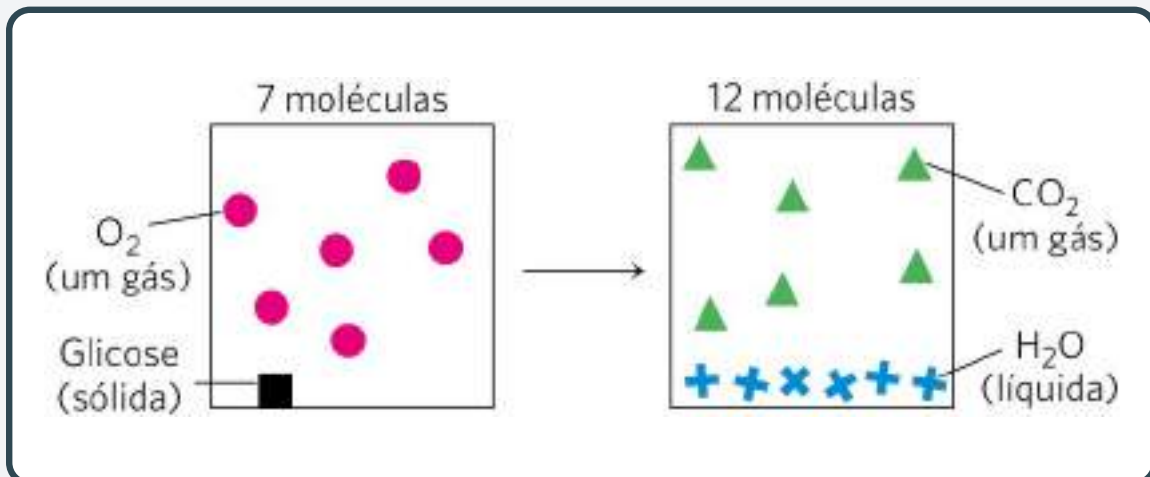
por uma quantidade infinitesimal até atingir o equilíbrio completo. Nesse momento, todas as partes da chaleira e da cozinha estão precisamente na mesma temperatura. A energia livre que antes estava concentrada na chaleira a 100 °C, que tinha *potencial* para realizar um trabalho, desapareceu. O mesmo equivalente de energia calorífica continua presente na chaleira + cozinha (i.e., o “universo”), mas se tornou completamente aleatório. Essa energia não está mais disponível para realizar trabalho porque não existem mais diferenças de temperatura dentro da cozinha. Além disso, o aumento da entropia da cozinha (o meio) é irreversível. Sabe-se, pela experiência da vida cotidiana, que o calor nunca passa espontaneamente da cozinha de volta para a chaleira para aumentar novamente a temperatura da água a 100 °C.

Caso 2: A oxidação da glicose

A entropia é um estado não somente da energia, mas também da matéria. Organismos aeróbios (heterotróficos) extraem energia livre da glicose obtida do meio através da oxidação da glicose com O₂, que também é obtido do meio. Os produtos desse metabolismo oxidativo, CO₂ e H₂O, retornam ao meio. Nesse processo, o meio sofre um aumento de entropia, ao passo que o organismo permanece em estado estacionário e não sofre mudanças na sua ordem interna. Apesar de alguma entropia surgir da dissipação do calor, ela resulta também de outro tipo de desordem, ilustrado pela equação da oxidação da glicose:



Isso pode ser representado esquematicamente como



Os átomos contidos em 1 molécula de glicose mais 6 moléculas de oxigênio, um total de 7 moléculas, passam a ficar dispersos de forma mais aleatória após a reação de oxidação, passando para um total de 12 moléculas (6CO₂ + 6H₂O).

Sempre que uma reação química resultar em aumento no número de moléculas – ou quando uma substância sólida é convertida em produtos líquidos ou gasosos, que permitem maior liberdade de movimentação molecular que os sólidos – a desordem molecular aumenta e, em consequência, a entropia também aumenta.

Caso 3: Informação e entropia

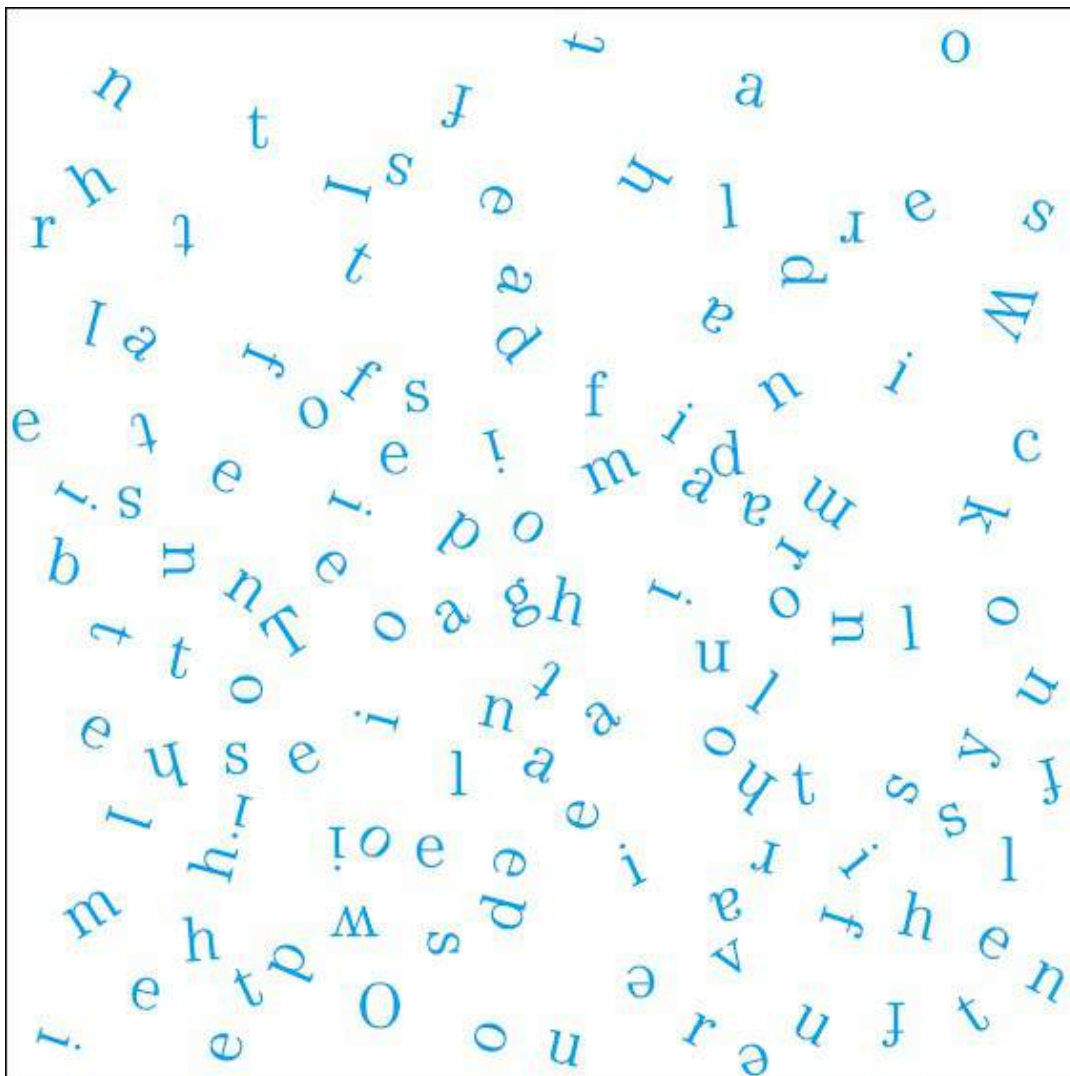
A seguinte fala da obra de Shakespeare *Júlio Cesar*, ato IV, Cena 3, é enunciada por Brutus, quando ele percebe que precisa enfrentar o exército de Marco Antônio. Essa frase é um arranjo não aleatório e rico em informações feito com 125 letras do alfabeto (em inglês):

There is a tide in the affairs of men,
Which, taken at the flood, leads on to fortune;
Omitted, all the voyage of their life
Is bound in shallows and in miseries.

Em português:

*Os negócios humanos apresentam altas como as do mar:
Aproveitadas, levam-nos as correntes à fortuna;
Mas, uma vez perdidas, corre a viagem da vida
entre baixios e perigos*

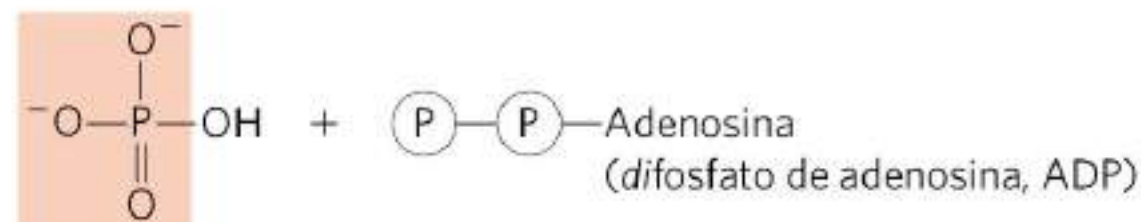
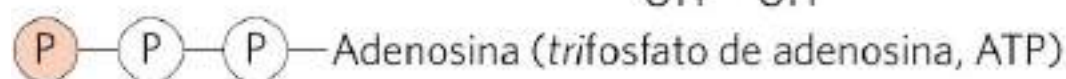
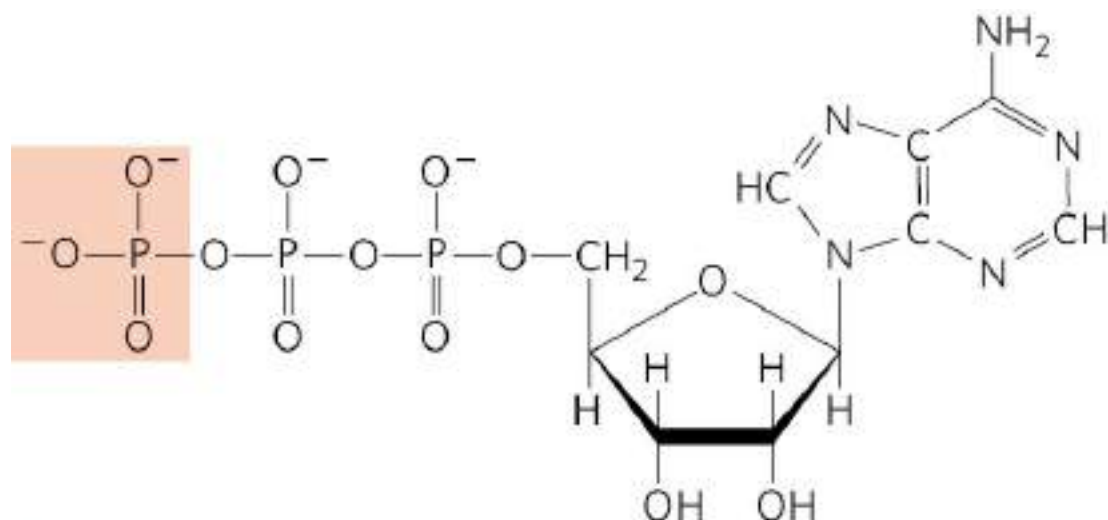
Além do que esse trecho afirma explicitamente, ele carrega muitos significados ocultos. O trecho não só reflete uma sequência complexa de eventos na peça, mas também ecoa ideias sobre conflito, ambição e os encargos da liderança. Impregnado pelo conhecimento de Shakespeare sobre a natureza humana, ele é muito rico em informação.



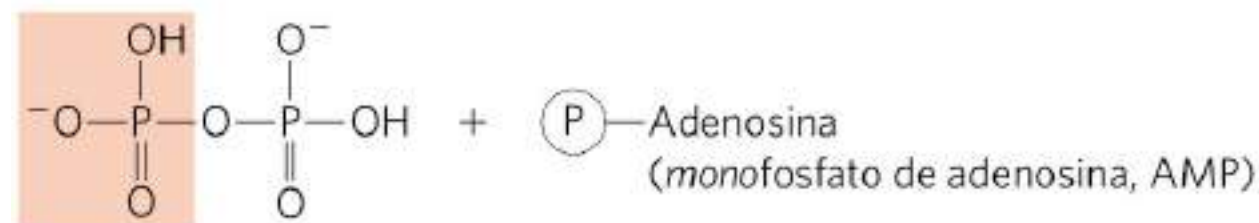
Contudo, se as 125 letras desse trecho estivessem distribuídas em um padrão completamente ao acaso e caótico, como mostrado no quadro acima, elas não teriam significado algum.

Dessa forma, as 125 letras contêm pouca ou nenhuma informação, mas são muito ricas em entropia. Essas considerações levaram à constatação de que informação é uma forma de energia, que foi denominada “entropia negativa”. Não é à toa que o ramo da matemática denominado teoria da informação, que é básico para a programação lógica de computadores, está intimamente relacionado com a teoria da termodinâmica. Os seres vivos são estruturas altamente organizadas, não aleatórias, imensamente ricas em informação e, portanto, pobres em entropia.

Um processo tende a ocorrer espontaneamente somente se ΔG for negativo (se energia livre é *liberada* no processo). Ainda assim, o funcionamento das células depende basicamente de moléculas, como proteínas e ácidos nucleicos, para as quais a energia livre de formação é positiva: as moléculas são menos estáveis e mais altamente ordenadas do que a mistura de seus componentes monoméricos. Para que essas reações consumidoras de energia (**endergônicas**) e, portanto, termodinamicamente desfavoráveis, ocorram, as células acoplam-nas a reações que liberam energia (**exergônicas**), de forma que o processo como um todo é exergônico: a *soma* da variação da energia livre é negativa. As reações exergônicas mais usadas dessa maneira envolvem o trifosfato de adenosina (ATP; **Fig. 1-25**), em que as duas ligações anidrido fosfórico são capazes de suprir a energia livre necessária para tornar possível a reação endergônica acoplada. A Seção 13.3 discute o papel do ATP em mais detalhes.



Fosfato inorgânico (P_i)



Pirofosfato inorgânico (PP_i)

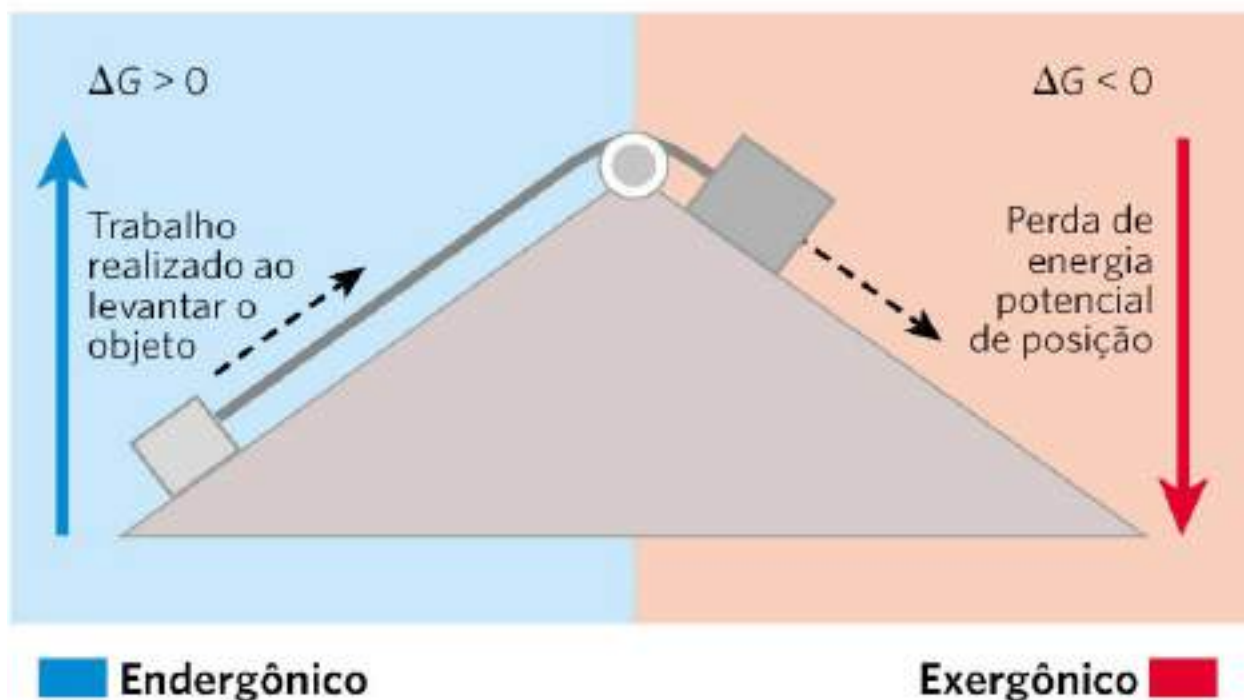
FIGURA 1-25 O trifosfato de adenosina (ATP) fornece energia. Aqui, cada $\textcircled{P}$ representa um grupo fosforila. A remoção do grupo fosforila terminal (marcado em vermelho-claro) do ATP, pela quebra da ligação fosfoanidrido, formando difosfato de adenosina (ADP) e o íon fosfato inorgânico (HPO_4^{2-}), é altamente exergônica; essa reação costuma ser acoplada a várias reações endergônicas nas células (como no Exemplo 1-2). O ATP também fornece energia para vários processos celulares pela clivagem que libera os dois fosfatos terminais, resultando em pirofosfato inorgânico ($\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7^{2-}$), frequentemente abreviado como PP_i .

Reações de acoplamento de energia na biologia

A questão central da *bioenergética* (estudo da transformação de energia em sistemas vivos) é a maneira pela qual a energia do metabolismo dos combustíveis ou da captura de luz é acoplada a

reações que necessitam de energia. Com relação ao acoplamento energético, é útil considerar um exemplo mecânico simples, como o mostrado na **Figura 1-26a**. Um objeto no topo de um plano inclinado tem certa quantidade de energia potencial em decorrência da sua posição elevada. Ele tende a deslizar para baixo ao longo do plano, perdendo sua energia potencial de posição à medida que se aproxima do chão. Quando um mecanismo apropriado puxado por uma corda acopla o objeto em queda a outro menor, o movimento de deslizamento espontâneo do maior pode levantar o menor, realizando certa quantidade de trabalho. A quantidade de energia disponível para realizar trabalho é a **variação de energia livre**, ΔG , sendo sempre um pouco menor do que a quantidade teórica de energia liberada, uma vez que uma parte da energia é dissipada como calor decorrente do atrito. Quanto maior for a elevação e maior for o objeto, maior será a energia liberada (ΔG) com o deslizamento e maior será a quantidade de trabalho que poderá ser realizado. O objeto maior pode levantar o objeto menor apenas porque, no início, o objeto maior estava *longe da sua posição de equilíbrio*; ele havia sido levantado previamente acima do chão por um processo que, por sua vez, necessitou de um suprimento de energia.

(a) Exemplo mecânico



(b) Exemplo químico

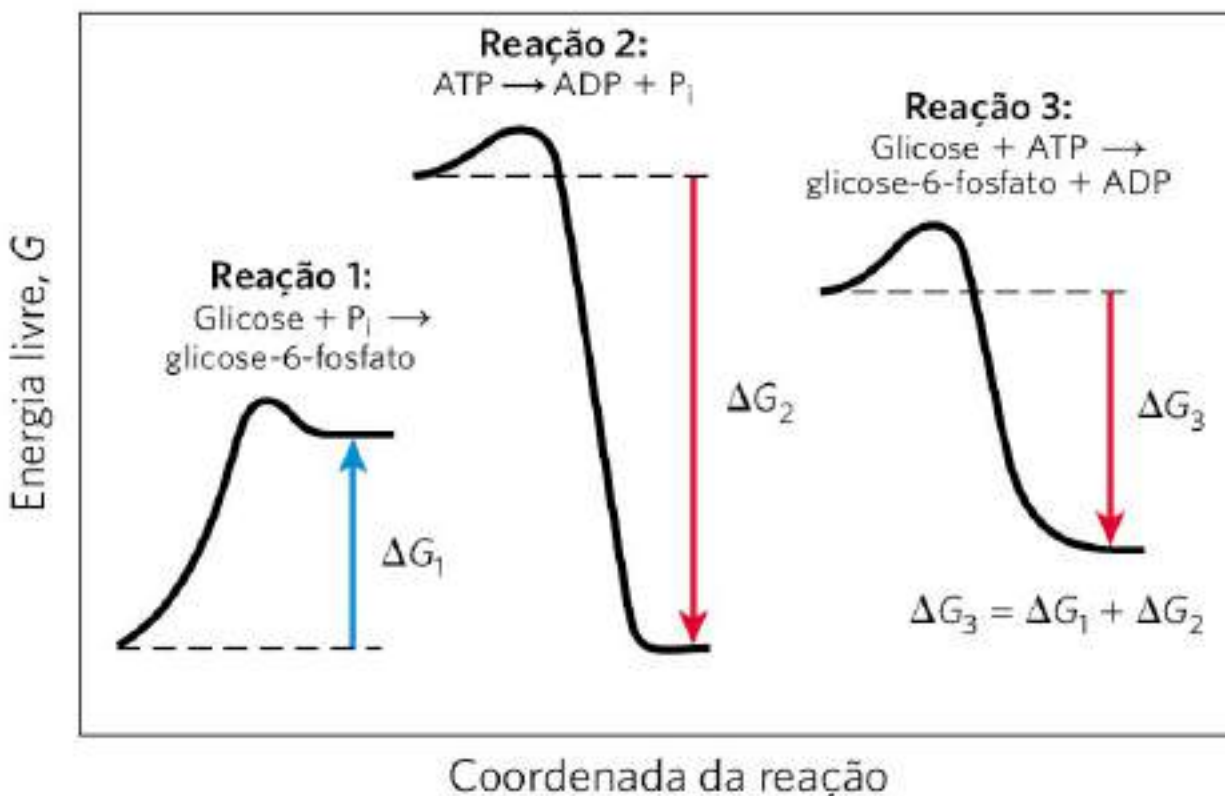
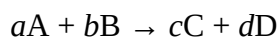


FIGURA 1-26 Acoplamento energético em processos mecânicos e químicos. (a) O movimento da queda de um objeto libera energia potencial que pode realizar trabalho mecânico. A energia potencial disponibilizada pelo movimento de queda espontânea, no processo exergônico (em vermelho), pode ser acoplada ao processo endergônico, representado pelo movimento ascendente de um segundo objeto (em azul). (b) Na reação 1, a formação de glicose-6-fosfato a partir da glicose e do fosfato inorgânico (P_i) gera um produto com conteúdo energético maior que o dos reagentes. Para essa reação endergônica, ΔG é positivo. Na reação 2, a quebra exergônica do trifosfato de adenosina (ATP) tem uma grande variação negativa de energia livre (ΔG_2). A terceira reação é a soma das reações 1 e 2, e a variação de energia livre, ΔG_3 , é a soma aritmética de ΔG_1 e ΔG_2 . Pelo fato de ΔG_3 ser negativo, o processo como um todo é exergônico e ocorre espontaneamente.

Como isso se aplica às reações químicas? Em sistemas fechados, as reações químicas ocorrem espontaneamente até chegar ao **equilíbrio**. Quando um sistema está em equilíbrio, a velocidade de formação de produtos fica exatamente igual à velocidade com que os produtos são convertidos em reagentes. Portanto, não existe variação líquida na concentração de reagentes e produtos. Quando um sistema muda do estado inicial ao estado de equilíbrio, a variação de energia é dada pela variação de energia livre, ΔG , desde que não ocorra variação de temperatura ou de pressão. A magnitude de ΔG depende da reação química em questão *e do quão longe do equilíbrio o sistema estava inicialmente*. Cada composto envolvido em uma reação química contém certa quantidade de energia potencial, relacionada com o tipo e o número das ligações. Nas reações que ocorrem espontaneamente, os produtos têm menos energia livre que os reagentes, portanto a reação libera energia livre, que, por sua vez, fica disponível para realizar trabalho. Essas reações são exergônicas; a diminuição na energia livre dos reagentes em relação aos produtos é expressa como um valor negativo. Reações endergônicas precisam de um fornecimento de energia, e os valores de ΔG são positivos. A Figura 1-26b ilustra o acoplamento entre uma reação endergônica e uma reação exergônica. Assim como no processo mecânico, somente parte da energia liberada na reação química exergônica pode ser utilizada para realizar trabalho. Em sistemas vivos, parte da energia é dissipada como calor ou perdida com o aumento da entropia.

K_{eq} e ΔG° são medidas da tendência de uma reação ocorrer espontaneamente

A tendência de uma reação química em se completar pode ser expressa como uma constante de equilíbrio. Para uma reação na qual a mols de A reagem com b mols de B para gerar c mols de C e d mols de D,



a constante de equilíbrio, K_{eq} , é dada por

$$K_{eq} = \frac{[C]_{eq}^c [D]_{eq}^d}{[A]_{eq}^a [B]_{eq}^b}$$

em que $[A]_{eq}$ é a concentração de A, $[B]_{eq}$ é a concentração de B, e assim por diante, *quando o sistema atingiu o equilíbrio*. K_{eq} não tem dimensão (i.e., não tem unidade de medida), mas, como está explicado no próximo capítulo, a unidade molar é introduzida no cálculo para ressaltar que concentrações molares (representadas pelos colchetes) devem ser usadas no cálculo de constantes de equilíbrio. Um valor alto de K_{eq} indica que a reação tende a prosseguir até que os reagentes estejam quase completamente convertidos nos produtos.

EXEMPLO 1-1 ATP e ADP estão em equilíbrio nas células?

A quebra do ATP produz difosfato de adenosina (ADP) e fosfato inorgânico (P_i). A constante de equilíbrio, K_{eq} , para a reação é 2×10^5 M:



Se as concentrações medidas dentro das células forem: $[ATP] = 5$ mM, $[ADP] = 0,5$ mM e $[P_i] = 5$ mM, essa reação estará em equilíbrio na célula viva?

SOLUÇÃO: A definição da constante de equilíbrio para essa reação é:

$$K_{eq} = [ADP] [P_i] / [ATP]$$

Das concentrações celulares medidas fornecidas acima, pode-se calcular a **razão massa-ação, Q**:

$$Q = [ADP][P_i]/[ATP] = (0,5 \text{ mM})(5 \text{ mM}) / 5 \text{ mM} = 0,5 \text{ mM} = 5 \times 10^{-4} \text{ M}$$

Esse valor está *longe* da constante de equilíbrio para a reação (2×10^5 M), portanto essa reação está *muito longe* do equilíbrio nas células. $[ATP]$ está muito acima, e $[ADP]$, muito abaixo do esperado para a condição de equilíbrio. Como uma célula pode manter uma relação $[ATP]/[ADP]$ tão distante do equilíbrio? A célula faz isso extraindo continuamente energia (de nutrientes como glicose) e utilizando-a para fazer ATP a partir de ADP e P_i .

Gibbs mostrou que ΔG (a variação real da energia livre) para qualquer reação química é uma função da **variação de energia livre padrão**, ΔG° (constante característica de cada reação específica), e um termo que expressa a concentração inicial de reagentes e produtos:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C]_i^c [D]_i^d}{[A]_i^a [B]_i^b} \quad (1-1)$$

em que $[A]_i$ é a concentração inicial de A, e assim por diante; R é a constante dos gases; e T é a temperatura absoluta.

ΔG é uma medida da distância que um sistema está em relação à sua posição de equilíbrio. Quando uma reação já alcançou o equilíbrio, não há mais nenhuma força para impulsionar a reação, e já não é mais possível realizar trabalho: $\Delta G = 0$. Para esse caso especial, $[A]_i = [A]_{eq}$, e assim por diante, para todos os reagentes e produtos, e

$$\frac{[C]_i^c [D]_i^d}{[A]_i^a [B]_i^b} = \frac{[C]_{eq}^c [D]_{eq}^d}{[A]_{eq}^a [B]_{eq}^b}$$

Substituindo, na Equação 1-1, 0 por ΔG e K_{eq} por $[C]_i^c [D]_i^d / [A]_i^a [B]_i^b$, obtém-se a relação

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$$

da qual pode-se ver que ΔG° é simplesmente uma outra maneira (além de K_{eq}) de expressar a força que impulsiona uma reação. Uma vez que é possível medir K_{eq} experimentalmente, tem-se uma maneira de determinar ΔG° , que é uma constante termodinâmica característica de cada reação.

As unidades de ΔG° e ΔG são joules por mol (ou calorias por mol). Quando $K_{eq} \gg 1$, ΔG° é grande e negativo, e quando $K_{eq} \ll 1$, ΔG° é grande e positivo. A partir de uma tabela de valores de K_{eq} e de ΔG° determinados experimentalmente, pode-se ver logo à primeira vista quais reações tendem a se completar e quais não.

Um cuidado deve ser tomado a respeito da interpretação de ΔG° : constantes *termodinâmicas* como essas indicam onde o equilíbrio final de uma reação se encontra, mas não com que rapidez esse equilíbrio é alcançado. As velocidades das reações são governadas por parâmetros *cinéticos*, tópico que será considerado em detalhes no Capítulo 6.

P3 Nos seres vivos, como no exemplo mecânico da Figura 1-26a, uma reação exergônica pode ser acoplada a uma reação endergônica para impulsionar uma reação que, não fosse esse

acoplamento, seria desfavorável. A Figura 1-26b – um tipo de gráfico denominado **diagrama de coordenada da reação** – ilustra esse princípio para a conversão de glicose em glicose-6-fosfato, a primeira etapa da via de oxidação da glicose. A forma mais simples de produzir glicose-6-fosfato seria:

Reação 1: $\text{Glicose} + \text{P}_i \rightarrow \text{glicose-6-fosfato}$ (endergônica; ΔG_1 é positivo)

Essa reação não ocorre espontaneamente; ΔG_1 é positivo. Uma segunda reação, extremamente exergônica, pode ocorrer em todas as células:

Reação 2: $\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i$ (exergônica; ΔG_2 é negativo)

Essas duas reações químicas compartilham um intermediário comum, P_i , o qual é consumido na reação 1 e produzido na reação 2. Portanto, as duas reações podem ser acopladas na forma de uma terceira reação, que pode ser escrita como a soma das reações 1 e 2, com o intermediário comum, P_i , omitido de ambos os lados da equação:

Reação 3: $\text{Glicose} + \text{ATP} \rightarrow \text{glicose-6-fosfato} + \text{ADP}$

Pelo fato de mais energia ser liberada na reação 2 do que consumida na reação 1, a energia livre para a reação 3, ΔG_3 , é negativa, e a síntese de glicose-6-fosfato pode consequentemente ocorrer na reação 3.

EXEMPLO 1-2 *As variações de energia livre padrão são aditivas*

Dado que a variação de energia livre padrão para a reação $\text{glicose} + \text{P}_i \rightarrow \text{glicose-6-fosfato}$ é 13,8 kJ/mol, e a variação da energia livre para a reação $\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i$ é –30,5 kJ/mol, qual é a variação de energia livre da reação $\text{glicose} + \text{ATP} \rightarrow \text{glicose-6-fosfato} + \text{ADP}$?

SOLUÇÃO: É possível escrever a equação para essa reação como a soma de duas outras reações:



Soma: $\text{Glicose} + \text{ATP} \rightarrow \text{glicose-6-fosfato} + \text{ADP}$

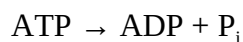
A variação da energia livre padrão de duas reações que se somam resultando em uma terceira é simplesmente a soma da variação da energia de cada uma das reações

individuais. O valor negativo de ΔG° ($-16,7$ kJ/mol) indica que essa reação ocorre espontaneamente.

O acoplamento de reações exergônicas com endergônicas por meio de um intermediário comum é central às trocas de energia nos sistemas vivos. Como será visto mais adiante, reações que quebram ATP (como a reação 2 da Fig. 1-26b) liberam energia para impulsionar muitos processos endergônicos nas células. A quebra de ATP nas células é exergônica porque *todas as células vivas mantêm uma concentração de ATP bem acima da sua concentração de equilíbrio*. É esse desequilíbrio que permite que o ATP atue como o principal carreador de energia química nas células. **P3** Como será visto em mais detalhes no Capítulo 13, não é a mera quebra de ATP que fornece energia para realizar as reações endergônicas; em vez disso, é a *transferência de um grupo fosforila* do ATP para outra molécula pequena (glicose, no caso citado) que conserva parte da energia potencial originalmente no ATP.

EXEMPLO 1-3 O custo energético da síntese de ATP

Se a constante de equilíbrio, K_{eq} , para a reação



for $2,22 \times 10^5$ M, deve-se calcular a variação da energia livre padrão, ΔG° , para a *síntese* de ATP a partir de ADP e P_i a 25°C .

SOLUÇÃO: Primeiro, deve-se calcular ΔG° para a reação acima:

$$\begin{aligned}\Delta G^\circ &= -RT \ln K_{eq} \\ &= -(8,315 \text{ J/mol} \cdot \text{K})(298 \text{ K})(\ln 2,22 \times 10^5) \\ &= -30,5 \text{ kJ/mol}\end{aligned}$$

Essa é a variação da energia livre padrão para a *quebra* de ATP em ADP e P_i . A variação da energia livre padrão para a reação *inversa* tem o mesmo valor absoluto, mas sinal contrário. A variação da energia livre padrão para a reação inversa da reação apresentada é, portanto, $30,5$ kJ/mol. Então, para sintetizar 1 mol de ATP sob condições normais (25°C , concentração 1 M de ATP, ADP e P_i), deve ser fornecido um mínimo de $30,5$ kJ de energia. A variação de energia livre real nas células – aproximadamente 50 kJ/mol – é maior do que isso, pois as concentrações de ATP, ADP e P_i nas células não são o padrão 1 M (ver Exemplo 13-2).

Enzimas promovem sequências de reações químicas

Todas as macromoléculas biológicas são muito menos estáveis termodinamicamente quando comparadas com as subunidades monoméricas que as compõem, mas ainda assim são *cineticamente estáveis*: sua quebra *não catalisada* ocorre tão lentamente (ao longo de anos, em vez de segundos) que, na escala de tempo razoável para seres vivos, essas moléculas podem ser consideradas estáveis. Praticamente todas as reações químicas das células só ocorrem a velocidades significativas devido à presença de **enzimas** – biocatalisadores que, como todos os outros catalisadores, aumentam bastante a velocidade de reações químicas específicas sem, contudo, serem consumidos no processo.

O caminho de reagente(s) a produto(s) quase sempre envolve uma barreira energética, chamada de barreira de ativação (**Fig. 1-27**), que precisa ser superada para que a reação possa ocorrer. A quebra de ligações existentes e a formação de novas ligações geralmente requer, em primeiro lugar, a modificação das ligações existentes para criar um **estado de transição** que tenha energia livre maior que a dos reagentes e dos produtos (ver Seção 6.2). O ponto mais alto no diagrama de coordenada da reação representa o estado de transição, e a diferença de energia entre o reagente no estado basal e no estado de transição consiste na **energia de ativação**, $\Delta G^\ddagger$. Uma enzima catalisa a reação ao propiciar um ajuste mais confortável ao estado de transição: uma superfície que complementa o estado de transição em sua estereoquímica, polaridade e carga. A ligação da enzima ao estado de transição é exergônica, e a energia liberada por essa ligação reduz a energia de ativação para a reação, aumentando em muito a velocidade da reação.

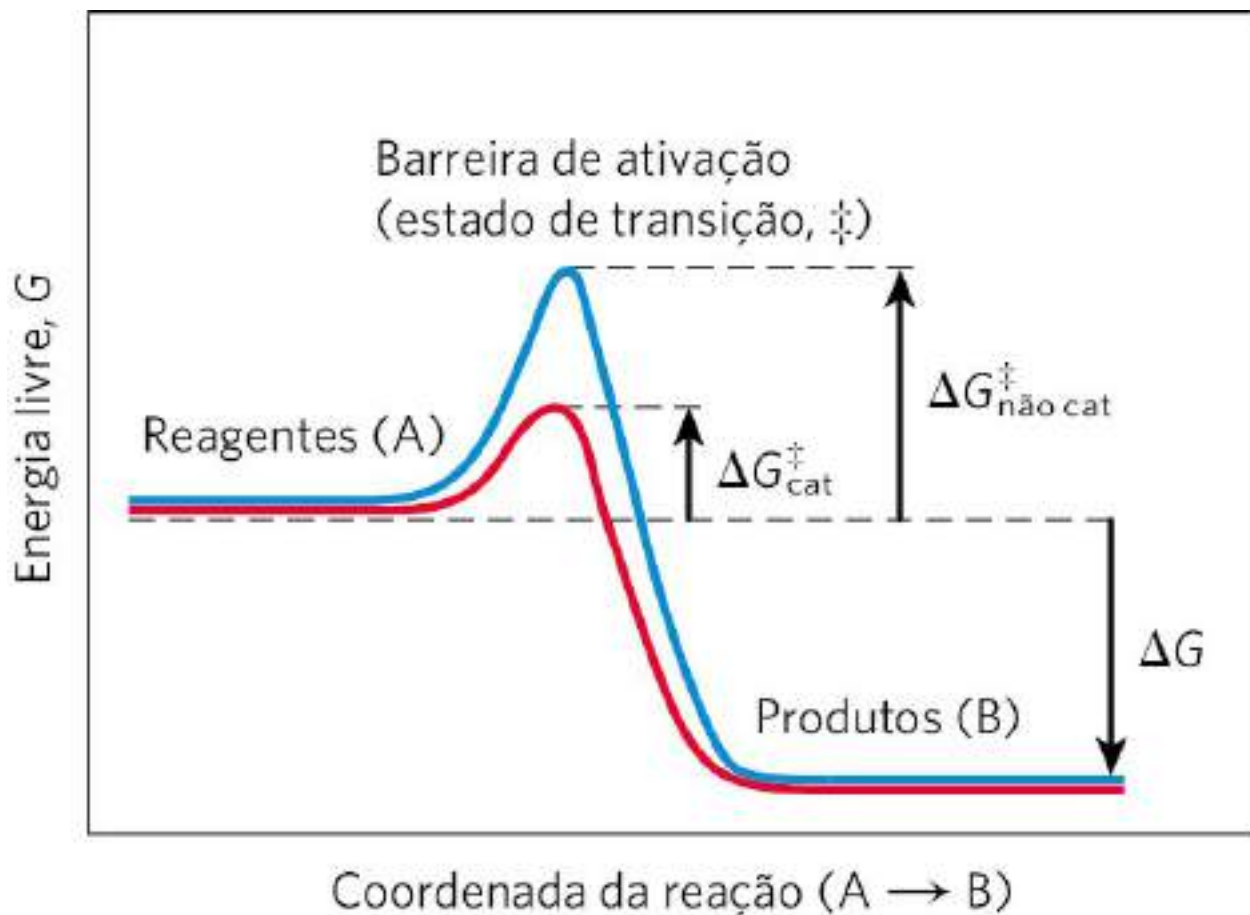


FIGURA 1-27 Mudanças de energia durante uma reação química. Uma barreira de ativação, representando o estado de transição, precisa ser superada na conversão dos reagentes (A) em produtos (B), mesmo que os produtos sejam mais estáveis do que os reagentes, como indicado por uma variação grande e negativa da energia livre (ΔG). A energia necessária para transpor a barreira de potencial é chamada de energia de ativação ($\Delta G^\ddagger$). As enzimas catalisam as reações diminuindo a barreira de ativação. Elas ligam-se fortemente aos intermediários dos estados de transição, e a energia de ligação dessa interação efetivamente reduz a energia de ativação de $\Delta G^\ddagger_{\text{não cat}}$ (curva azul) para $\Delta G^\ddagger_{\text{cat}}$ (curva vermelha). (Observe que a energia de ativação *não* está relacionada com a variação da energia livre, ΔG .)

Uma contribuição adicional para a catálise ocorre quando dois ou mais reagentes se ligam na superfície da enzima próximos um do outro e em uma orientação estereoespecífica que favorece a reação. Isso aumenta em várias ordens de grandeza a probabilidade de haver colisões produtivas entre os reagentes. Como resultado desses fatores e de vários outros (discutidos no Capítulo 6), muitas reações catalisadas por enzimas normalmente ocorrem a velocidades 10^6 vezes maiores do que as reações não catalisadas.

Os catalisadores das células são, com raras exceções, proteínas. (Algumas moléculas de RNA têm atividade enzimática, como discutido nos Capítulos 26 e 27.) Novamente, com algumas exceções, cada enzima catalisa uma reação específica, e cada reação em uma célula é catalisada por uma enzima diferente. Portanto, cada célula necessita de milhares de enzimas diferentes. A multiplicidade de enzimas, suas especificidades (capacidade de diferenciar os reagentes uns dos

outros) e suas possibilidades de regulação dão às células a capacidade de diminuir seletivamente as barreiras de ativação. Essa seletividade é crucial para a regulação efetiva dos processos celulares. Ao permitir que reações específicas ocorram a velocidades significativas em determinados momentos, as enzimas determinam como a matéria e a energia são canalizadas nas atividades celulares.

As milhares de reações químicas catalisadas por enzimas que ocorrem nas células são organizadas funcionalmente em muitas sequências de reações consecutivas, chamadas de **vias**, nas quais o produto de uma reação é o reagente da reação seguinte. Algumas vias degradam nutrientes orgânicos em produtos finais simples e, assim, podem extrair energia química e convertê-la em formas úteis à célula. O conjunto dessas reações degradativas e fornecedoras de energia livre é denominado **catabolismo**. A energia liberada pelas reações catabólicas impulsiona a síntese de ATP. Como resultado, a concentração celular de ATP é mantida bem acima da concentração de equilíbrio, de modo que o ΔG para a quebra de ATP é grande e negativo. De maneira similar, o catabolismo leva à produção de carreadores de elétrons reduzidos, NADH (nicotinamida adenina dinucleotídeo) e NADPH (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato), sendo que ambos podem doar elétrons em processos que geram ATP ou realizar etapas redutoras em vias biossintéticas. Em geral, eles são coletivamente chamados de NAD(P)H.

Outras vias iniciam com moléculas precursoras pequenas e as convertem progressivamente em moléculas maiores e mais complexas, incluindo proteínas e ácidos nucleicos. Essas vias sintéticas, que invariavelmente necessitam de um suprimento de energia, são coletivamente chamadas de **anabolismo**. A rede global de vias catalisadas por enzimas, tanto as catabólicas quanto as anabólicas, constitui o **metabolismo** celular. O ATP (assim como outros nucleosídeos trifosfato que se equivalem energeticamente) é o elo que conecta os componentes catabólicos e anabólicos dessa rede (mostrada esquematicamente na **Fig. 1-28**). **P2** As vias de reações catalisadas por enzimas que atuam sobre os principais constituintes das células – proteínas, gorduras, açúcares e ácidos nucleicos – são praticamente idênticas em todos os seres vivos. Essa impressionante **unidade da vida** é uma das evidências da existência e um precursor comum na evolução de todos os seres vivos.

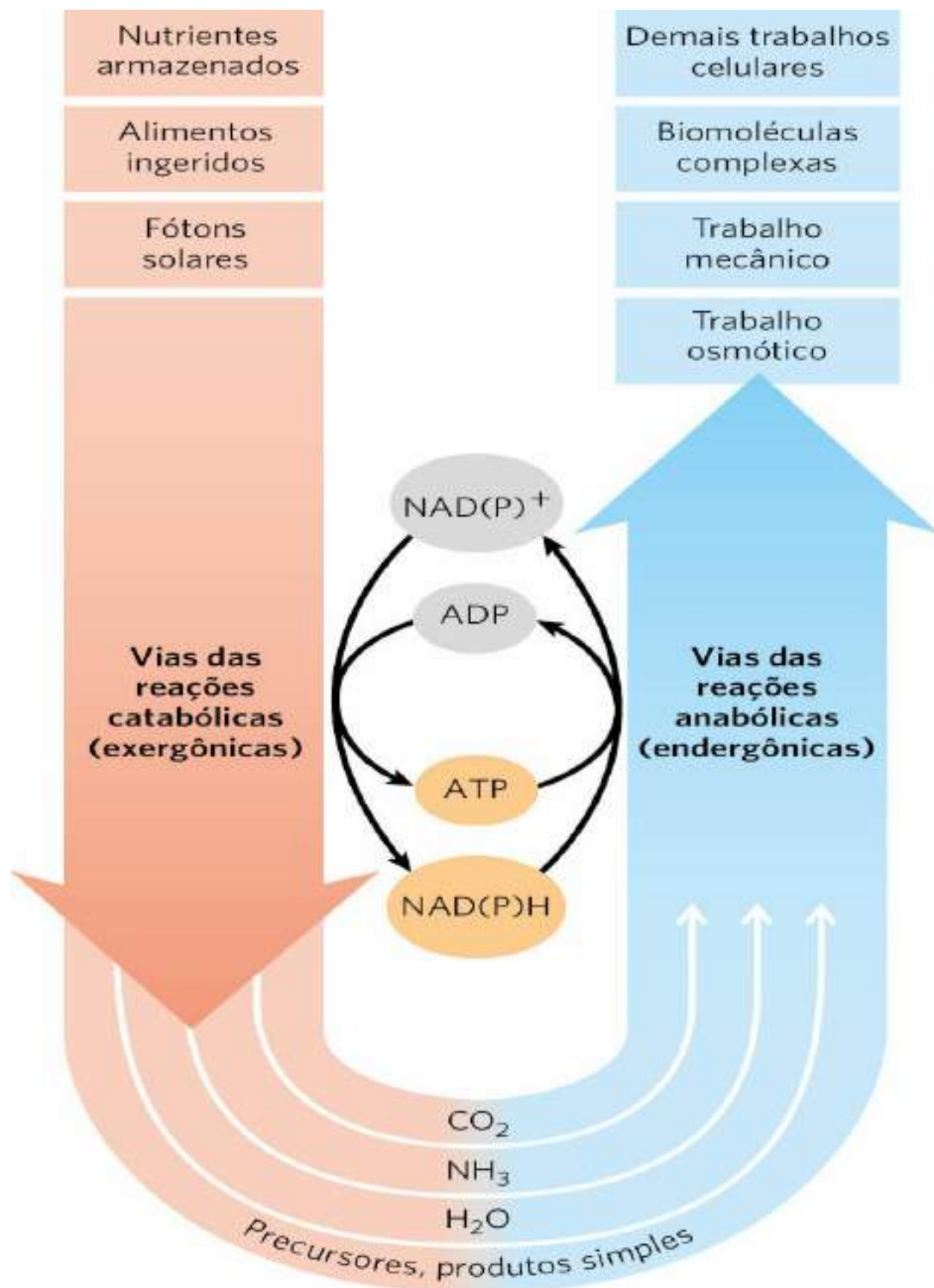
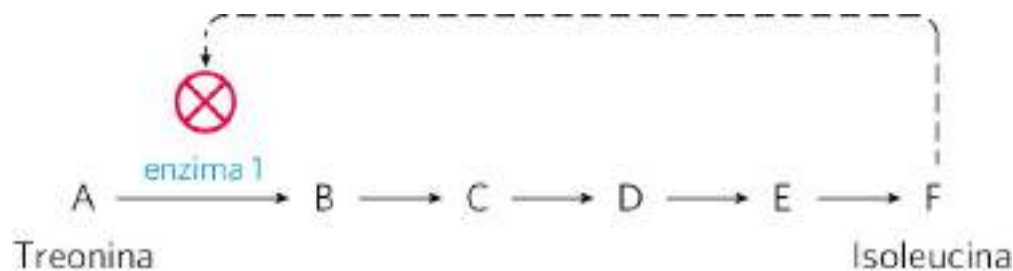


FIGURA 1-28 O papel central do ATP e do NAD(P)H no metabolismo. O ATP é o intermediário químico compartilhado que conecta os processos celulares que liberam energia com os que consomem energia. O seu papel na célula é análogo ao do dinheiro na economia: ele é “produzido/adquirido” nas reações exergônicas e “gasto/consumido” nas endergônicas. O NADH é um cofator carreador de elétrons que coleta elétrons de reações oxidativas. O NADPH, uma molécula semelhante, carrega elétrons em uma ampla gama de reações na biossíntese. Esses cofatores essenciais às reações anabólicas, presentes em concentrações relativamente baixas, precisam ser constantemente regenerados por reações catabólicas.

O metabolismo é regulado para ser balanceado e econômico

As células não só sintetizam simultaneamente milhares de diferentes tipos de carboidratos, gorduras, proteínas e moléculas de ácidos nucleicos e suas subunidades mais simples, mas os produzem nas quantidades e proporções exatas que a célula necessita em cada circunstância determinada. Por exemplo, os precursores de proteínas e ácidos nucleicos devem ser produzidos em grandes quantidades quando a célula estiver crescendo rapidamente. Em contrapartida, a demanda por esses precursores é muito menor em células que não estão em crescimento. As enzimas-chave em cada via metabólica são reguladas de modo que cada tipo de molécula precursora seja produzida na quantidade apropriada às demandas momentâneas das células.

Considere, por exemplo, a via em *E. coli* leva à síntese do aminoácido isoleucina, um dos constituintes das proteínas. A via tem cinco etapas catalisadas por cinco enzimas diferentes (A até F representam os intermediários na via):



Se a célula começa a produzir mais isoleucina do que o necessário para a síntese de proteínas, a isoleucina não usada começa a se acumular, e esse aumento na concentração inibe a atividade catalítica da primeira enzima da via, reduzindo imediatamente a produção de isoleucina. Essa **inibição por retroalimentação** (ou *feedback*) mantém a produção e a utilização de cada intermediário metabólico balanceada. (Ao longo deste livro, o símbolo  é usado para indicar a inibição de uma reação enzimática.)

Embora seja uma ferramenta importante para organizar o conhecimento do metabolismo, o conceito de vias metabólicas independentes é muito simplificado. Existem milhares de metabólitos intermediários na célula, muitos dos quais fazem parte de mais de uma via metabólica. **P3** O metabolismo seria melhor representado por uma rede de vias interconectadas e interdependentes. Qualquer mudança na concentração de qualquer metabólito dá início a um efeito de rearranjo, que afeta o fluxo de materiais nas outras vias. A tarefa de entender essas

interações complexas entre intermediários e vias em termos quantitativos é desencorajadora, mas a abordagem propiciada pela **biologia de sistemas**, discutida no Capítulo 9, começou a dar informações importantes que ajudam a compreender melhor a regulação global do metabolismo.

As células regulam também a síntese de seus próprios catalisadores, as enzimas, em resposta ao aumento ou à diminuição da necessidade de qualquer produto metabólico; esse é o assunto do Capítulo 28. A regulação da expressão de genes (a tradução da informação contida no DNA em proteínas ativas na célula) e a síntese de enzimas são outros níveis de controle metabólico na célula. Todos esses níveis devem ser levados em consideração para descrever o controle global do metabolismo celular.

RESUMO 1.3 *Fundamentos físicos*

- As células vivas extraem e canalizam energia para se manterem em um estado estacionário dinâmico que está longe de um equilíbrio.
- As células vivas são sistemas abertos, trocando matéria e energia com os arredores. A energia é obtida da luz solar ou de combustíveis químicos quando a energia do fluxo de elétrons é convertida em ligações químicas na molécula de ATP.
- A tendência das reações químicas a seguir na direção do equilíbrio pode ser expressa como variação de energia livre, ΔG . Quando o ΔG de uma reação for negativo, a reação é exergônica e tende a seguir para sua conclusão; quando o ΔG for positivo, a reação é endergônica e tende a ir na direção oposta. Quando duas reações podem ser somadas para produzir uma terceira, o ΔG da reação global é a soma dos valores de ΔG das duas reações separadas.
- As reações que convertem ATP em P_i e ADP são altamente exergônicas (ΔG negativo grande). Muitas reações celulares endergônicas são impulsionadas pelo seu acoplamento, mediante um intermediário comum, com reações altamente exergônicas.
- A variação da energia livre padrão, ΔG° , é uma constante física relacionada com a constante de equilíbrio pela equação $\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$.
- A maioria das reações das células ocorre com velocidades apropriadas apenas devido à presença de enzimas capazes de as catalisarem. As enzimas atuam em parte pela estabilização do estado de transição, reduzindo a energia de ativação, $\Delta G^\ddagger$, e aumentando a velocidade de reação em várias ordens de grandeza. A atividade catalítica das enzimas nas células é regulada.
- O metabolismo é o somatório das muitas sequências de reações interconectadas, nas quais as células convertem metabólitos uns nos outros. Cada sequência é regulada para

suprir aquilo que a célula precisa em um dado momento e para gastar energia somente quando necessário.

1.4 Fundamentos genéticos

P4 Talvez a propriedade mais extraordinária dos organismos e das células seja a capacidade de se reproduzirem por incontáveis gerações mantendo uma fidelidade quase perfeita. Essa continuidade dos traços hereditários sugere uma constância, ao longo de milhões de anos, na estrutura das moléculas que contêm a informação genética. Poucos registros históricos de civilizações sobreviveram por mil anos, mesmo quando riscados em placas de cobre ou talhados em pedra (**Fig. 1-29**). Entretanto, existem evidências fortes de que as instruções genéticas dos seres vivos permaneceram praticamente sem modificações por períodos de tempo muito maiores; muitas bactérias têm praticamente o mesmo tamanho, forma e estrutura interna que bactérias que viveram há cerca de 4 bilhões de anos. Essa continuidade de estrutura e de composição é o resultado da continuidade da estrutura do material genético.



(a)



(b)

FIGURA 1-29 Duas inscrições antigas. (a) O Obelisco de Sennaquerib, escrito em torno de 700 a.C., descreve com caracteres da linguagem assíria alguns eventos históricos durante o reinado do Rei Senaqueribe. O Obelisco contém cerca de 20 mil caracteres, pesa cerca de 50 kg e sobreviveu de forma quase intacta por 2.700 anos. (b) Uma única molécula de DNA da bactéria *E. coli*, extravasada de uma célula rompida, é centenas de vezes mais comprida do que a própria célula e contém codificada toda a informação necessária para especificar a estrutura e as funções da célula. O DNA dessa bactéria contém cerca de 4,6 milhões de caracteres (nucleotídeos), pesa menos que 10^{-10} g e sofreu alterações pequenas ao longo dos últimos milhões de anos. (Os pontos amarelos e os pontos e as manchas escuras nessa micrografia eletrônica colorizada são artefatos da preparação.) [(a) Erich Lessing/Art Resource, New York. (b) Dr. Gopal Murti/Science Source.]

A natureza química e a estrutura tridimensional do material genético, o **ácido desoxirribonucleico (DNA)**, estão entre as descobertas mais notáveis da biologia no século XX. **P2** A sequência de subunidades monoméricas, os nucleotídeos (estritamente, desoxirribonucleotídeos, como discutido a seguir), nesse polímero linear codifica as instruções para formar todos os outros componentes celulares, e serve de molde para a produção de moléculas de DNA idênticas que são passadas para os descendentes por ocasião da divisão celular.

A continuidade genética está incorporada em uma única molécula de DNA

O DNA é um polímero orgânico longo e fino, uma molécula rara em que uma dimensão (a largura) tem uma escala atômica, e outra (comprimento), uma escala humana (uma molécula de DNA pode ter muitos centímetros de comprimento). Um espermatozoide ou um óvulo humano, que carregam a informação hereditária acumulada de bilhões de anos de evolução, transmitem essa herança na forma de moléculas de DNA, nas quais a sequência linear de subunidades de nucleotídeos ligados covalentemente codifica a mensagem genética.

Em geral, quando são descritas as propriedades de espécies químicas, descreve-se o comportamento global de um número muito grande de moléculas idênticas. Embora seja difícil prever o comportamento de uma única molécula em uma população, digamos, de um picomol (cerca de 6×10^{11} moléculas) de um composto, o comportamento *médio* das moléculas é previsível, uma vez que o cálculo da média inclui um grande número de moléculas. O DNA celular é uma exceção notável. **P4** O DNA que forma todo o material genético de uma *célula de E. coli* é *uma única molécula* contendo 4,64 milhões de pares de nucleotídeos. Essa única molécula tem de ser replicada com perfeição nos mínimos detalhes para que uma célula de *E. coli* possa gerar descendentes idênticos por divisão celular; não existe a possibilidade de considerar médias nesse processo. O mesmo vale para todas as células. O espermatozoide humano traz para o óvulo que ele fertiliza somente uma molécula de DNA em cada um dos seus 23 cromossomos, que se combinam com somente uma molécula de DNA de cada cromossomo correspondente no óvulo. O resultado dessa união é altamente previsível: um embrião com todos os seus cerca de 20 mil genes, construído com 3 bilhões de pares de nucleotídeos, intacto. Um feito químico impressionante!

EXEMPLO 1-4 A fidelidade da replicação do DNA

Vamos calcular o número de vezes que o DNA de uma célula moderna de *E. coli* foi copiado desde que a primeira célula bacteriana precursora surgiu, há cerca de 3,5 bilhões de anos. Para simplificar, vamos pressupor que, nesse período, *E. coli* passou por uma média de 1 divisão celular a cada 12 horas (esse valor é superestimado para uma bactéria moderna, mas provavelmente subestimado para uma bactéria ancestral).

SOLUÇÃO:

$$(1 \text{ geração}/12\text{h})(24\text{h}/\text{dia})(365 \text{ dias}/\text{ano})(3,5 \times 10^9 \text{ anos})$$
$$= 2,6 \times 10^{12} \text{ gerações}$$

Uma única página deste livro contém cerca de 5 mil caracteres, de forma que o livro inteiro contém 5 milhões de caracteres. O cromossomo da *E. coli* também contém cerca de 5 milhões de caracteres (pares de nucleotídeos). Imagine fazer uma cópia manuscrita deste livro, passá-la para um colega que faz uma nova cópia, que a passa para um terceiro colega que faz uma nova cópia, e assim por diante. O quanto cada uma das cópias sucessivas do livro estaria parecida com a original? Agora, tente imaginar o texto que resultaria ao se fazer cópias de cópias a mão trilhões de vezes!

A estrutura do DNA permite sua replicação e seu reparo com uma fidelidade quase perfeita

P4 A capacidade das células vivas de preservar seu material genético e duplicá-lo para a próxima geração é resultado da complementariedade estrutural entre as duas fitas da molécula de DNA (**Fig. 1-30**). A unidade básica do DNA é um polímero linear de quatro subunidades monoméricas diferentes, os **desoxirribonucleotídeos**, arranjados em uma sequência linear precisa. Essa sequência linear codifica a informação genética. Duas dessas fitas poliméricas estão torcidas uma em torno da outra, formando a dupla-hélice de DNA, na qual cada desoxirribonucleotídeo em uma fita pareia especificamente com um desoxirribonucleotídeo complementar na fita oposta. **P4** Antes de uma célula se dividir, as duas fitas de DNA se separam uma da outra e cada uma serve de molde para a síntese de uma nova fita complementar, gerando duas moléculas em forma de dupla-hélice idênticas, uma para cada célula-filha. Se qualquer uma das fitas é danificada em qualquer momento, a continuidade da informação é

garantida pela informação presente na fita oposta, que pode atuar como molde para reparar o dano.

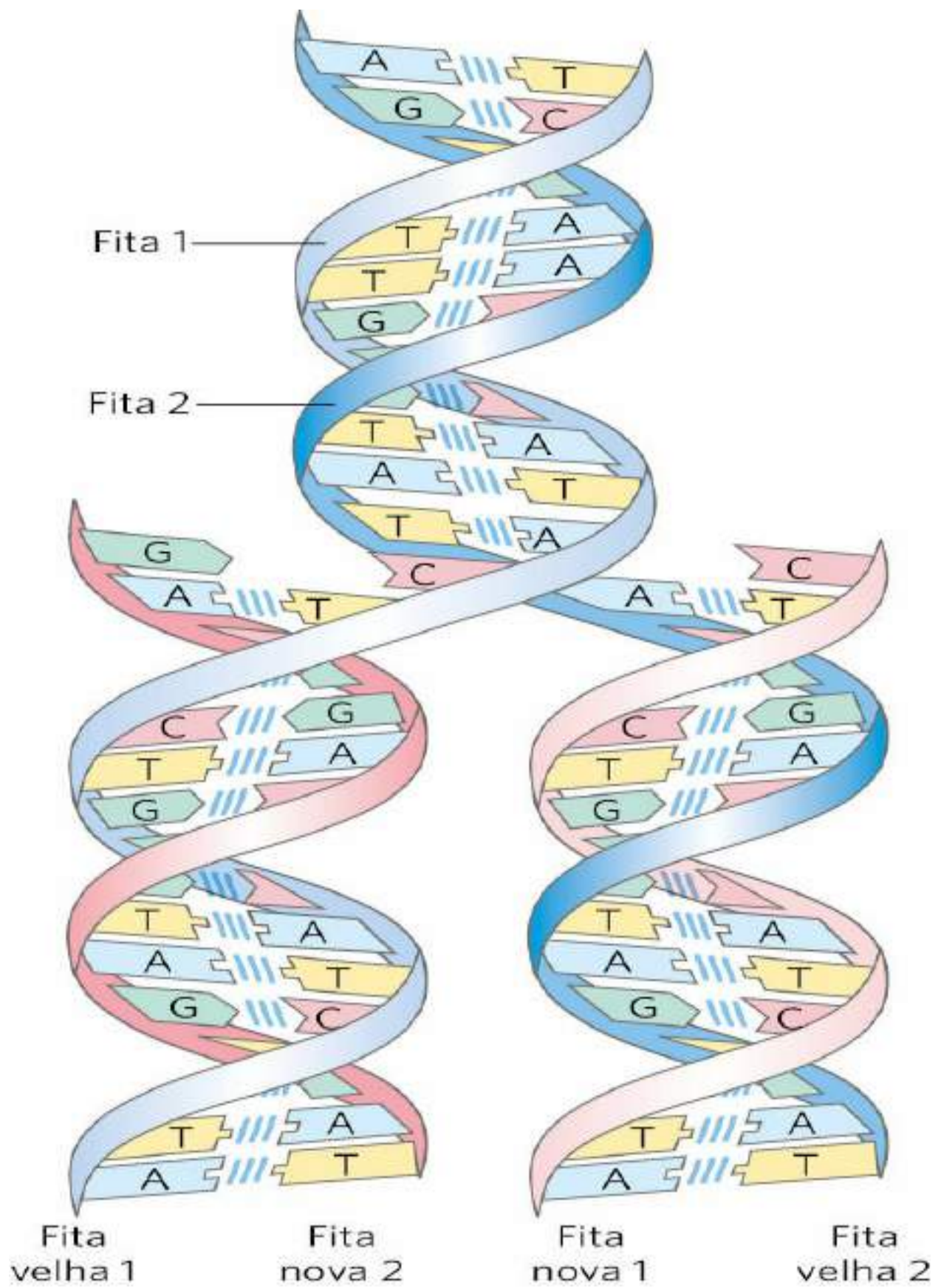


FIGURA 1-30 Complementaridade entre as duas fitas de DNA. O DNA é um polímero linear de quatro tipos de desoxirribonucleotídeos ligados covalentemente: desoxiadenilato (A), desoxiguanilato (G), desoxicitidilato (C), desoxitimidilato (T). Cada nucleotídeo, por meio de sua estrutura tridimensional única, pode se associar especificamente, mas não covalentemente, a um nucleotídeo da cadeia complementar: A sempre se associa com T, e G sempre se associa com C. Desse modo, na molécula de DNA de fita dupla, toda a sequência de nucleotídeos em uma das fitas é *complementar* à sequência da outra. As duas fitas, mantidas unidas por ligações de hidrogênio (representadas por traços verticais em azul-claro) entre cada par de nucleotídeos complementar, enrolam-se uma na outra, formando a dupla-hélice de DNA. Na replicação do DNA, as duas fitas (em azul) separam-se e são sintetizadas duas fitas novas (em cor-de-rosa), cada qual com uma sequência complementar às fitas originais. O resultado são duas moléculas tipo dupla-hélice, cada uma idêntica ao DNA original.

A sequência linear no DNA codifica proteínas com estruturas tridimensionais

P4 A informação no DNA é codificada na sua sequência linear (unidimensional) de subunidades de desoxirribonucleotídeos, mas a expressão dessa informação resulta em uma célula tridimensional. Essa transformação da informação de uma dimensão para três dimensões ocorre em duas fases. Uma sequência linear de desoxirribonucleotídeos no DNA codifica (por meio de um intermediário, o RNA) a produção de uma proteína com uma sequência linear de aminoácidos correspondente à sequência do DNA (**Fig. 1-31**). A proteína é enovelada em uma forma tridimensional específica, determinada pela sequência de aminoácidos e estabilizada principalmente por interações não covalentes. Embora a forma final da proteína enovelada seja ditada pela sua sequência de aminoácidos, o processo de enovelamento de muitas proteínas é auxiliado por “chaperonas moleculares” (ver Fig. 4-28). A estrutura tridimensional precisa, ou **conformação nativa**, de uma proteína é crucial para sua função.

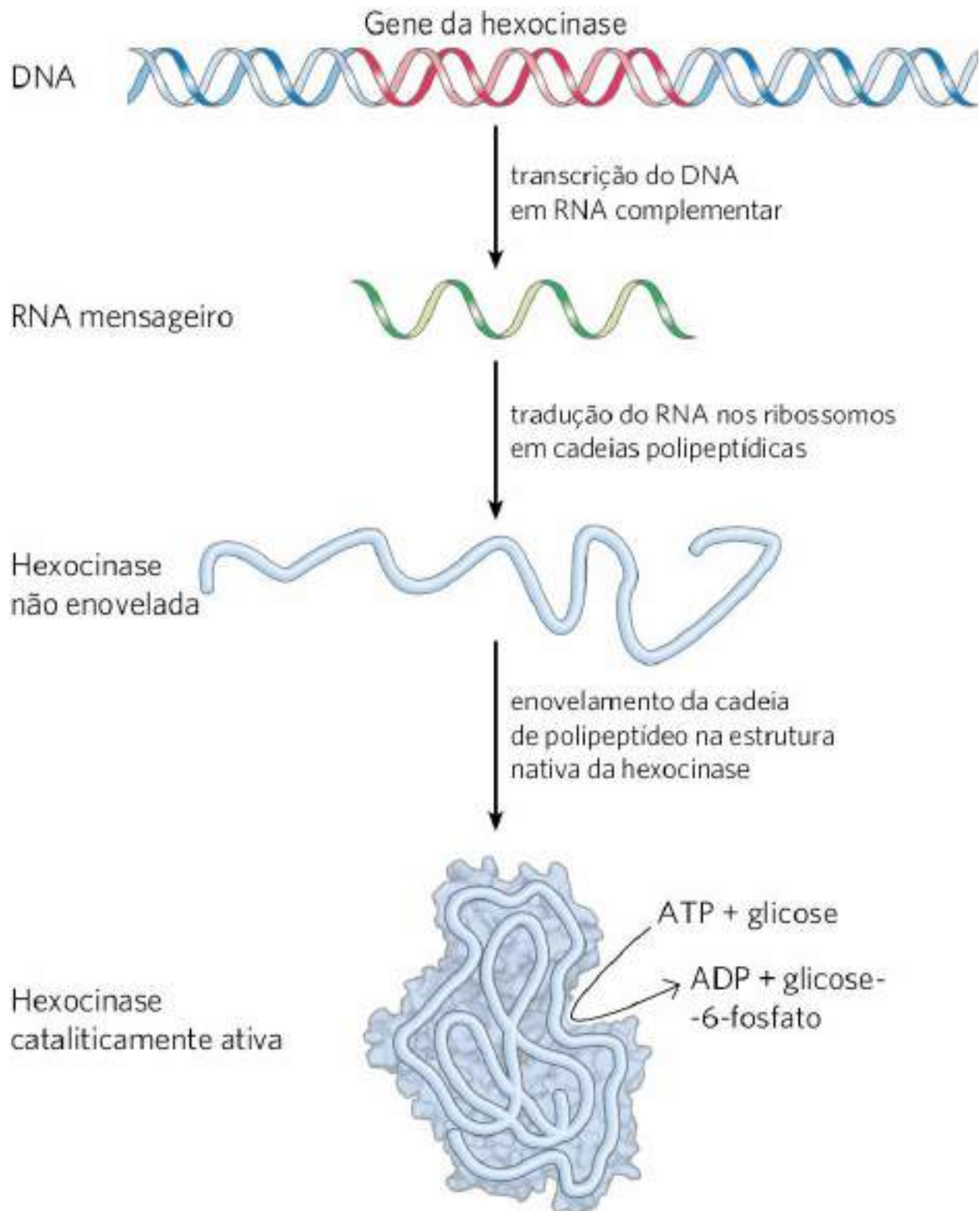


FIGURA 1-31 Do DNA ao RNA, à proteína e à enzima (hexocinase). A sequência linear de desoxirribonucleotídeos no DNA (o gene) que codifica a proteína hexocinase é primeiro transcrita formando uma molécula de ácido ribonucleico (RNA) com uma sequência complementar de ribonucleotídeos. A sequência do RNA (RNA mensageiro) é, então, traduzida na cadeia

linear da proteína hexocinase, que se enovela em sua forma nativa tridimensional com o auxílio das chaperonas moleculares. Atingida a forma nativa, a hexocinase passa a ter atividade catalítica: ela catalisa a fosforilação da glicose, usando ATP como doador do grupo fosforila.

Uma vez em sua conformação nativa, a proteína pode associar-se não covalentemente com outras macromoléculas (outras proteínas, ácidos nucleicos ou lipídeos) para formar complexos supramoleculares, como cromossomos, ribossomos e membranas. As moléculas individuais desses complexos têm sítios de ligação específicos com alta afinidade para outras moléculas e se agrupam espontaneamente dentro das células, formando complexos funcionais.

Embora as sequências de aminoácidos das proteínas carreguem todas as informações necessárias para se chegar até a conformação nativa da proteína, o enovelamento e a automontagem precisos também necessitam do ambiente celular adequado – pH, força iônica, concentrações de íons metálicos, e assim por diante. Portanto, a sequência de DNA sozinha não é suficiente para formar e manter uma célula completamente funcional.

RESUMO 1.4 *Fundamentos genéticos*

- A informação genética é codificada na sequência linear de quatro tipos de desoxirribonucleotídeos no DNA.
- A despeito do tamanho enorme do DNA, a sequência dos seus nucleotídeos é muito precisa, e a manutenção dessa precisão ao longo de períodos extensos é a base da continuidade genética dos organismos.
- A dupla-hélice da molécula de DNA contém um molde interno para sua própria replicação e reparo.
- A sequência linear de aminoácidos em uma proteína, que está codificada no DNA do seu gene, produz a estrutura tridimensional única dessa proteína – processo que também depende das condições do ambiente.
- Macromoléculas individuais com afinidade específica por outras macromoléculas têm a capacidade de se auto-organizarem em complexos supramoleculares.

1.5 Fundamentos evolutivos

Nada na biologia faz sentido exceto sob a luz da evolução.

— Theodosius Dobzhansky, *The American Biology Teacher*, março de 1973

O grande progresso na bioquímica e na biologia molecular ocorrido nas últimas décadas confirmou a validade dessa contundente generalização de Dobzhansky. **P5** A semelhança surpreendente entre as vias metabólicas e as sequências de genes nos três domínios da vida indica fortemente que todos os organismos modernos derivam de um ancestral evolutivo comum por meio de uma série de pequenas mudanças (mutações), cada uma conferindo uma vantagem seletiva a algum organismo em determinado nicho ecológico.

Mudanças nas instruções hereditárias possibilitam a evolução

Apesar da fidelidade quase perfeita na replicação genética, erros pouco frequentes não corrigidos (não reparados) no processo de replicação do DNA levam a mudanças na sequência de nucleotídeos do DNA, produzindo uma **mutação** genética e, assim, alterando as instruções para um determinado componente celular. Danos reparados incorretamente em uma das fitas do DNA provocam o mesmo efeito. As mutações no DNA passadas aos descendentes – isto é, mutações presentes nas células reprodutivas – podem ser danosas ou mesmo letais ao novo organismo ou célula; eles podem, por exemplo, ser a causa da síntese de uma enzima defeituosa que seja incapaz de catalisar uma reação metabólica essencial. Eventualmente, contudo, uma mutação dá *melhores* condições para que um organismo ou uma célula sobreviva em um dado ambiente (**Fig. 1-32**). A enzima mutante pode ter adquirido, por exemplo, uma especificidade um pouco diferente que agora a torna capaz de usar um composto que previamente a célula não tinha capacidade de metabolizar. Se uma população de células estiver em um ambiente em que aquele composto é a única fonte ou a fonte mais abundante de combustível disponível, então a célula mutante terá vantagem seletiva em relação às células não mutantes (**tipo selvagem**) da população. A célula mutante e suas descendentes irão sobreviver e prosperar no novo ambiente, ao passo que as células do tipo selvagem irão definhando e ser eliminadas. Isso é o que Charles Darwin quis dizer com seleção natural – o que muitas vezes é resumido como “sobrevivência do mais adaptado”.

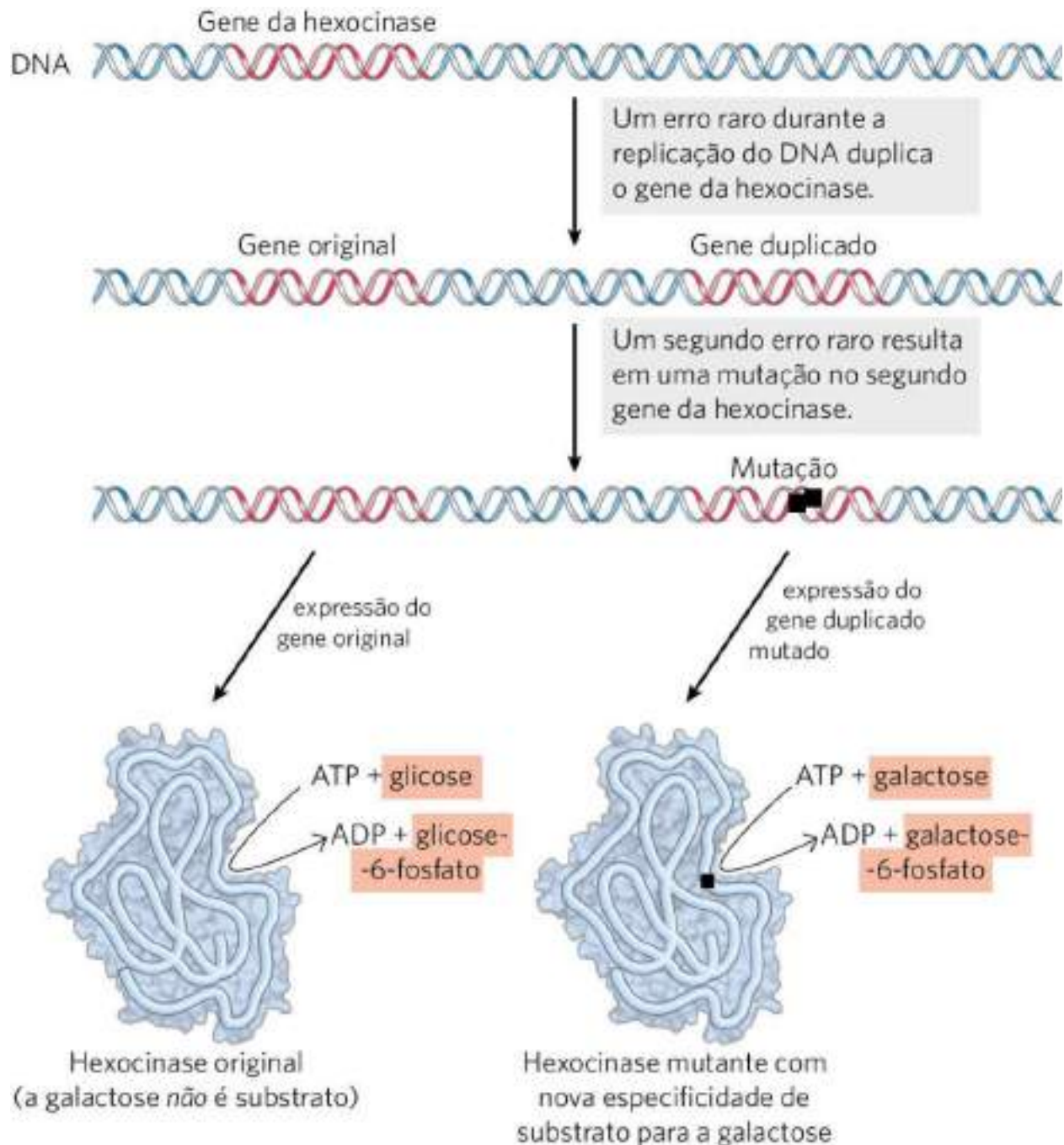


FIGURA 1-32 Duplicação e mutação de genes: um caminho para gerar novas atividades enzimáticas. Nesse exemplo, o único gene da hexocinase em um organismo hipotético pode acabar acidentalmente copiado duas vezes durante a replicação do DNA, de modo que o organismo passa a ter duas cópias inteiras desse gene, uma delas desnecessária. Ao longo de gerações, à medida que o DNA com os dois genes para a hexocinase é repetidamente replicado, alguns erros raros podem ocorrer, levando a mudanças na sequência de nucleotídeos do gene excedente e, portanto, da proteína que ele codifica. Em alguns casos raríssimos, a proteína produzida a partir desse gene mutado é alterada de tal maneira que ela passa a se ligar a um novo substrato – galactose, nesse caso hipotético. A célula contendo o gene mutante adquire uma nova capacidade (metabolizar galactose) e isso permite que ela sobreviva em um nicho ecológico com disponibilidade de galactose, e não de glicose. Se a mutação ocorrer sem a duplicação do gene, a função original do produto do gene é perdida.

Eventualmente, uma segunda cópia de um gene inteiro é introduzida em um cromossomo como resultado da replicação defeituosa do cromossomo. A segunda cópia é desnecessária, e mutações nesse gene não serão prejudiciais, mas podem se tornar um meio pelo qual a célula pode evoluir, produzindo um novo gene com uma nova função enquanto mantém o gene original e a sua função. Sob essa óptica, as moléculas de DNA dos organismos modernos são documentos históricos, registros de uma longa jornada desde as primeiras células até os organismos modernos. Todavia, esse relato histórico contido no DNA não é completo, pois muitas mutações devem ter sido apagadas ou reescritas ao longo da evolução. Ainda assim, as moléculas de DNA são a melhor fonte da história biológica que nós temos. **P5** A frequência de erros na replicação do DNA representa um balanço entre erros demais, que gerariam células-filhas inviáveis, e relativamente poucos erros, o que impediria a variação genética que permite a sobrevivência das células mutantes em novos nichos ecológicos.

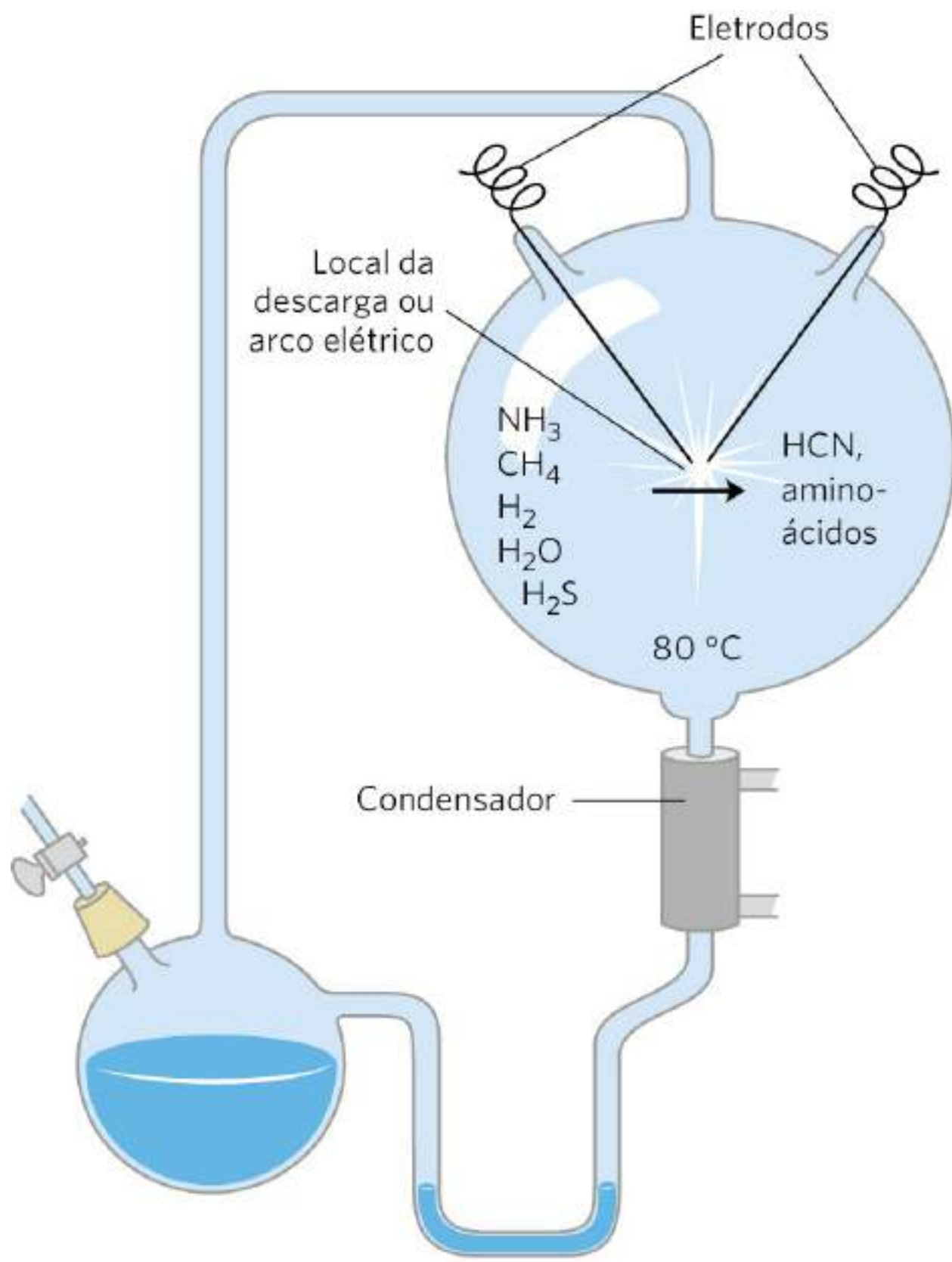
Vários bilhões de anos de seleção natural acabaram refinando os sistemas celulares para tirar o máximo de proveito das propriedades físicas e químicas das matérias-primas disponíveis. As mutações genéticas ocasionais que ocorreram em indivíduos de uma população, combinadas com a seleção natural, resultaram na evolução da enorme variedade de espécies de seres vivos existentes atualmente, cada uma delas adaptada a um nicho ecológico particular.

As biomoléculas inicialmente surgiram por evolução química

Em nossa discussão até aqui, não cobrimos o primeiro capítulo da história da evolução: o surgimento da primeira célula viva. Os compostos orgânicos, incluindo as biomoléculas básicas, como aminoácidos e carboidratos, desconsiderando sua ocorrência nos organismos vivos, são encontrados na crosta terrestre, no mar e na atmosfera apenas em quantidades ínfimas. Então, como o primeiro organismo vivo conseguiu adquirir seus blocos de construção orgânicos característicos? De acordo com uma hipótese, esses compostos foram criados pelo efeito de poderosas forças ambientais – radiação ultravioleta, raios ou erupções vulcânicas – sobre os gases na atmosfera terrestre prebiótica e sobre os solutos inorgânicos em fontes hidrotermais superaquecidas nas profundezas do oceano.

Essa hipótese foi testada em um experimento clássico sobre a origem abiótica (não biológica) de biomoléculas orgânicas conduzido, em 1953, pelo bioquímico Stanley Miller no laboratório do físico e químico Harold Urey. Miller submeteu uma mistura de gases supostamente existentes na terra prebiótica, incluindo NH_3 , CH_4 , H_2O e H_2 , a faíscas elétricas produzidas por um par de eletrodos (para simular raios) por um período de uma semana ou mais e, então, analisou o conteúdo do frasco que foi mantido hermeticamente fechado durante a reação (**Fig. 1-33**). A fase gasosa da mistura continha CO e CO_2 , além dos gases presentes no material de partida. A fase líquida continha uma grande variedade de compostos orgânicos, incluindo alguns aminoácidos, ácidos orgânicos, aldeídos e cianeto de hidrogênio (HCN). Esse experimento

demostrou que a produção abiótica de biomoléculas é possível em um tempo relativamente curto e em condições relativamente brandas. Quando as amostras de Miller cuidadosamente armazenadas foram encontradas em 2010 e examinadas com técnicas altamente sensíveis e com alto poder de resolução (cromatografia líquida de alto desempenho e espectrometria de massas), suas observações originais foram confirmadas e ampliadas significativamente. Resultados previamente não publicados por Miller que incluíam H_2S na mistura gasosa (imitando as condições das atividades vulcânicas no fundo do mar; **Fig. 1-34**) mostraram a formação de 23 aminoácidos e 7 compostos organossulfurados, bem como um grande número de outros compostos simples que podem ter servido como blocos de construção na evolução prebiótica.



(a)



(b)

FIGURA 1-33 Produção abiótica de biomoléculas. (a) Aparelho de descargas elétricas usado por Miller e Urey em experimentos demonstrando a formação abiótica de compostos orgânicos em condições atmosféricas primitivas. Após submeter a mistura gasosa do sistema a descargas elétricas, os produtos formados foram coletados por condensação. Entre esses produtos, havia biomoléculas como aminoácidos. (b) Stanley L. Miller (1930-2007) usando seu aparelho de descargas elétricas. [(b) Bettmann/Getty Images.]

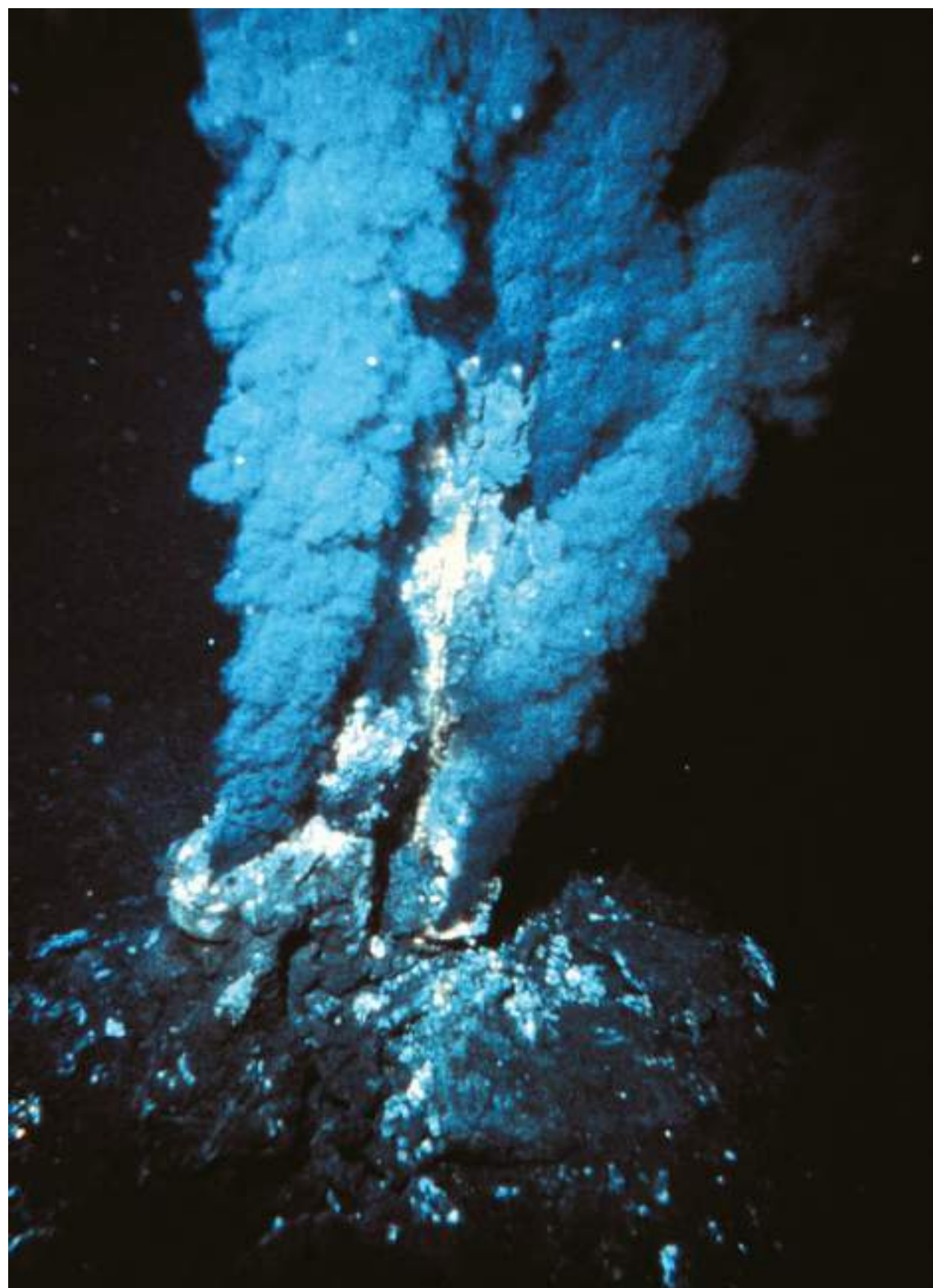


FIGURA 1-34 Fumarola negra. Fontes hidrotermais no leito do oceano emitem água superaquecida e rica em minerais dissolvidos. Uma fumarola negra é formada quando o líquido superaquecido que jorra da fonte encontra a água fria do oceano, causando a precipitação dos sulfatos dissolvidos. Diversas formas de vida, incluindo arqueias e alguns animais multicelulares surpreendentemente complexos, são encontradas nas vizinhanças dessas fumarolas, que podem ter sido os locais da biogênese inicial. [NOAA/Science Source]

Experimentos de laboratório mais refinados forneceram boas evidências de que muitos dos componentes químicos das células podem se formar sob essas condições. Polímeros do ácido nucleico **RNA (ácido ribonucleico)** podem agir como catalisadores em reações biológicas importantes (ver Capítulos 26 e 27), de modo que o RNA provavelmente desempenhou um papel crucial na evolução prebiótica, tanto como catalisador quanto como repositório de informação.

O RNA ou precursores relacionados podem ter sido os primeiros genes e catalisadores

Nos organismos modernos, ácidos nucleicos codificam a informação genética que especifica a estrutura das enzimas, que, por sua vez, catalisam a replicação e o reparo dos ácidos nucleicos. A dependência mútua dessas duas classes de biomoléculas traz uma pergunta instigante: quem veio primeiro, DNA ou proteína?

A resposta pode ser que ambos surgiram aproximadamente ao mesmo tempo, e que o RNA veio antes de ambos. A descoberta de que moléculas de RNA podem atuar como catalisadoras da sua própria formação sugere que o RNA, ou uma molécula similar, pode ter sido o primeiro gene e o primeiro catalisador. De acordo com esse cenário (**Fig. 1-35**), um dos primeiros estágios da evolução biológica foi a formação ao acaso de uma molécula de RNA que poderia catalisar a formação de outra molécula de RNA com a mesma sequência – um RNA autorreplicante e autoperpetuante. A concentração de uma molécula de RNA autorreplicante cresceria exponencialmente, visto que uma molécula formou várias, várias formaram muitas mais, e assim por diante. A fidelidade da autorreplicação supostamente não era perfeita, de modo que o processo gerou variantes do RNA, muitas das quais podiam até ser melhores na autorreplicação. Na competição por nucleotídeos, a mais eficiente entre as sequências autorreplicantes ganharia, e os replicadores menos eficientes se extinguiriam da população.

Formação prebiótica de compostos simples, incluindo nucleotídeos, a partir dos componentes primitivos da atmosfera ou dos gases das fendas vulcânicas submersas



Produção de moléculas de RNA curtas com sequências aleatórias



Replicação seletiva de segmentos de RNA catalíticos autoduplicantes



Síntese de peptídeos específicos, catalisada por RNA



Aumento do papel dos peptídeos na replicação do RNA; coevolução do RNA e das proteínas



Sistema de tradução primitiva se desenvolve, com genoma de RNA e catalisadores RNA-proteína



RNA genômico começa a ser copiado em DNA



Genoma de DNA, tradução em complexos RNA-proteína (ribossomos) com catalisadores de RNA e proteína

FIGURA 1-35 Possível roteiro para o “mundo de RNA”.

A divisão de funções entre DNA (armazenamento da informação genética) e proteínas (catálise) foi, segundo a hipótese do “mundo de RNA”, um desenvolvimento posterior. Novas variantes de moléculas autorreplicantes de RNA se desenvolveram com a capacidade adicional de catalisar a condensação de aminoácidos, formando peptídeos. Eventualmente, o(s) peptídeo(s) formado(s) reforçou(aram) a capacidade autorreplicante do RNA, e o par – molécula de RNA e peptídeo auxiliar – poderia sofrer novas modificações na sequência, gerando sistemas autorreplicantes cada vez mais eficientes. A impressionante descoberta de que, na maquinaria de síntese de proteínas das células modernas (ribossomos), são moléculas de RNA e não de proteínas que catalisam a formação de ligações peptídicas é consistente com a hipótese do mundo de RNA.

Tempos depois da evolução desse sistema primitivo de síntese de proteínas, ocorreu um novo incremento: moléculas de DNA com sequências complementares às moléculas de RNA autorreplicantes assumiram a função de conservar a informação “genética”, e as moléculas de RNA evoluíram para exercer funções na síntese proteica. (Explicamos no Capítulo 8 por que o DNA é uma molécula mais estável que o RNA e, portanto, um depósito mais adequado para manter a informação hereditária.) As proteínas se revelaram catalisadores versáteis e, com o passar do tempo, assumiram a maior parte dessa função. Compostos semelhantes a lipídeos presentes na mistura primordial formaram camadas relativamente impermeáveis ao redor de conjuntos de moléculas autorreplicantes. A concentração de proteínas e ácidos nucleicos dentro desses invólucros lipídicos favoreceu as interações moleculares necessárias para a autorreplicação.

O cenário do mundo de RNA é intelectualmente satisfatório, mas deixa uma questão sem resposta: de onde vieram os nucleotídeos necessários para fazer as primeiras moléculas de RNA? Uma alternativa a esse cenário supõe que vias metabólicas simples evoluíram primeiro, talvez nas fontes hidrotermais do leito dos oceanos. Um conjunto de reações químicas inter-relacionadas nesses locais pode ter produzido os precursores necessários, incluindo nucleotídeos, antes do advento das membranas lipídicas ou do RNA. Sem maiores evidências experimentais, nenhuma dessas hipóteses pode ser descartada.

A evolução biológica começou há mais de 3,5 bilhões de anos

A Terra se formou há cerca de 4,6 bilhões de anos, e a primeira evidência de vida data de mais de 3,5 bilhões de anos atrás (ver a linha do tempo na **Fig. 1-36**). Em 1996, cientistas trabalhando na Groenlândia encontraram evidências químicas de vida (“moléculas fósseis”) que datavam de 3,85 bilhões de anos atrás, formas de carbono incrustadas em rochas que parecem ter uma origem nitidamente biológica. Em algum lugar da Terra, durante o primeiro bilhão de anos,

surgiram os primeiros organismos capazes de replicar sua própria estrutura a partir de um molde (RNA?), que foi o primeiro material genético. Esses compostos eram relativamente estáveis, pois, no alvorecer da vida, a atmosfera terrestre estava praticamente desprovida de oxigênio e existiam poucos microrganismos para decompor os compostos orgânicos formados por processos naturais. Dada essa estabilidade e a enormidade de tempo transcorrido, o improvável se tornou inevitável: vesículas lipídicas contendo compostos orgânicos e RNA autorreplicante deram origem às primeiras células (protocélulas), e essas protocélulas com maior capacidade de autorreplicação se tornaram mais numerosas. Foi o início do processo da evolução biológica.

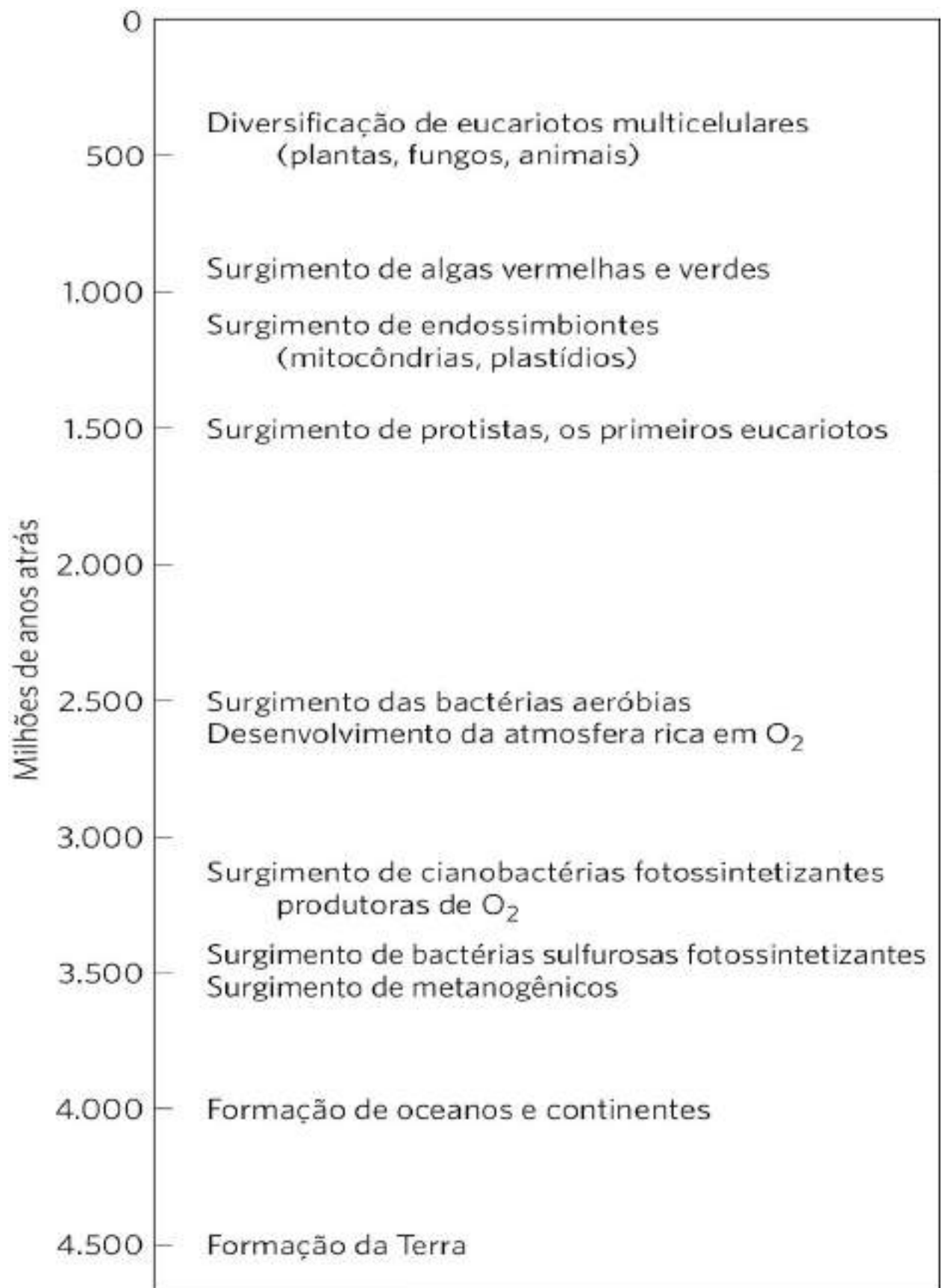
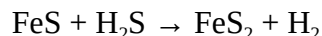


FIGURA 1-36 Marcos da evolução da vida na Terra.

A primeira célula provavelmente usou combustíveis inorgânicos

As células primitivas surgiram em uma atmosfera redutora (não existia oxigênio) e provavelmente obtiveram energia de compostos inorgânicos, como sulfeto ferroso e carbonato ferroso, ambos abundantes na superfície terrestre. Por exemplo, a reação



produz energia suficiente para impulsionar a síntese de ATP ou compostos semelhantes. Os compostos orgânicos de que essas células primitivas precisavam podem ter surgido das ações não biológicas de raios ou do calor dos vulcões ou de fontes hidrotermais no leito dos oceanos sobre os componentes da atmosfera primitiva, tais como CO , CO_2 , N_2 , NH_3 e CH_4 . Foi proposta uma fonte alternativa de compostos orgânicos: o espaço extraterrestre. As missões espaciais realizadas em 2006 (a sonda espacial Stardust da Nasa) e em 2014 (o módulo Philae da Agência Espacial Europeia) encontraram partículas na poeira de cometas contendo o aminoácido simples glicina e 20 outros compostos orgânicos capazes de reagir para formar biomoléculas.

Os organismos unicelulares primitivos adquiriram gradualmente a capacidade de extrair energia de compostos do meio e utilizá-la para sintetizar mais das suas próprias moléculas precursoras, tornando-se, portanto, menos dependentes de fontes externas. Um evento evolutivo muito significativo foi o desenvolvimento de pigmentos capazes de capturar a energia da luz solar, que pode, então, ser usada para reduzir, ou “fixar”, CO_2 e formar compostos orgânicos mais complexos. Provavelmente, o doador de elétrons original para esses processos **fotossintéticos** foi o H_2S , produzindo o elemento enxofre ou sulfato de enxofre (SO_4^{2-}) como produto secundário. Algumas fontes hidrotermais do fundo do mar (fumarolas negras; Fig. 1-36) emitem quantidades significativas de H_2 , que é outro possível doador de elétrons no metabolismo dos primeiros organismos. Células posteriores desenvolveram a capacidade enzimática de usar H_2O como doador de elétrons em reações fotossintéticas, produzindo O_2 como resíduo. As cianobactérias são os descendentes modernos desses primeiros produtores de oxigênio fotossintético.

Uma vez que a atmosfera da Terra nos estágios iniciais da evolução biológica estava praticamente desprovida de oxigênio, as primeiras células eram anaeróbicas. Sob essas condições, organismos quimiotróficos podiam oxidar compostos orgânicos até CO_2 , passando elétrons não para o O_2 , mas para aceptores como o SO_4^{2-} , que produz H_2S como produto. Com o surgimento das bactérias fotossintéticas produtoras de O_2 , a atmosfera tornou-se progressivamente rica em oxigênio – um oxidante poderoso e mortalmente tóxico para os organismos anaeróbios. Respondendo à pressão evolutiva que o bioquímico e teórico da

evolução Lynn Margulis e o escritor científico Dorion Sagan chamaram de “holocausto do oxigênio”, algumas linhagens de microrganismos originaram os organismos aeróbios, que obtinham energia passando elétrons das moléculas de combustível ao oxigênio. Como a transferência de elétrons de moléculas orgânicas para o O_2 libera uma grande quantidade de energia, os organismos aeróbios tiveram uma vantagem energética sobre os organismos anaeróbios quando ambos competiam nesse ambiente contendo oxigênio. Essa vantagem se traduziu na predominância de organismos aeróbios em ambientes ricos em O_2 .

As bactérias e as arqueias modernas habitam praticamente todos os nichos ecológicos da biosfera, e existem organismos capazes de usar praticamente qualquer tipo de composto orgânico como fonte de carbono e energia. Microrganismos fotossintetizantes, tanto em água salgada como em água doce, captam energia solar e a utilizam para gerar carboidratos e todos os demais constituintes da célula, que, por sua vez, são usados como alimento pelas outras formas de vida. O processo evolutivo continua e pode ser observado em laboratório com células bacterianas que se reproduzem muito rapidamente.

As células eucarióticas evoluíram em vários estágios a partir de precursores mais simples

Registros fósseis começam a mostrar evidências da existência de organismos maiores e mais complexos a partir de 1,5 bilhão de anos atrás, provavelmente das primeiras células eucarióticas (ver Fig. 1-37). Detalhes do trajeto evolutivo de células não nucleadas para células nucleadas não podem ser deduzidos somente a partir de registros fósseis, porém comparações bioquímicas e morfológicas dos organismos modernos sugeriram uma sequência de eventos consistente com as evidências fósseis.

Três grandes mudanças devem ter ocorrido. Primeiro, à medida que as células adquiriram mais DNA, os mecanismos necessários para um enovelamento compacto em torno de proteínas específicas, formando complexos separados e mantendo a capacidade de promover a divisão correta entre as células-filhas, tornaram-se mais elaborados. Proteínas especializadas foram necessárias para estabilizar o DNA enovelado e para separar os complexos DNA-proteína (cromossomos) resultantes durante a divisão celular. Essa foi a evolução dos cromossomos. Segundo, à medida que as células se tornaram maiores, um sistema intracelular de membranas se desenvolveu, incluindo uma dupla membrana envolvendo o DNA. Essa membrana segregou o processo nuclear de síntese de RNA a partir do molde de DNA do processo citoplasmático de síntese de proteínas nos ribossomos. Essa foi a evolução do núcleo, característica definidora dos eucariotos. Terceiro, as células eucarióticas primitivas, que eram incapazes de fotossíntese ou metabolismo aeróbico, englobaram bactérias aeróbias ou bactérias fotossintéticas, formando uma associação de **endossimbiose** que posteriormente se tornou permanente (**Fig. 1-37**). Algumas bactérias aeróbias evoluíram para formar as mitocôndrias dos eucariotos modernos, e algumas

cianobactérias fotossintetizantes se tornaram os plastídios, como os cloroplastos das algas verdes, as prováveis ancestrais das células das plantas modernas.

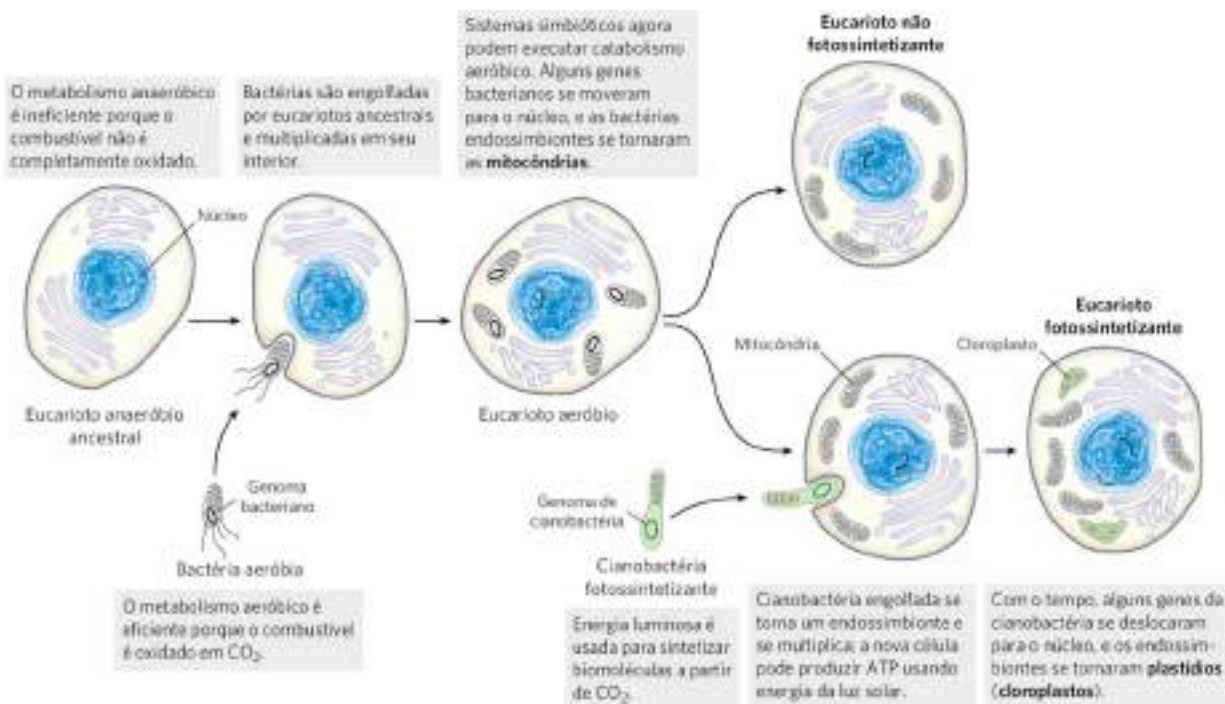


FIGURA 1-37 Evolução dos eucariotos por endossimbiose. O primeiro eucarioto, um organismo anaeróbico, adquiriu uma bactéria púrpura como endossimbionte, que carregou consigo a capacidade de fazer catabolismo aeróbico e se tornou, com o tempo, a mitocôndria. Quando a cianobactéria fotossintetizante se tornou endossimbionte de alguns eucariotos aeróbicos, essas células se tornaram os precursores fotossintéticos das plantas e algas verdes modernas.

Em um estágio posterior da evolução, organismos unicelulares obtiveram vantagem ao se agregarem e, assim, adquiriram maior motilidade, eficiência e sucesso reprodutivo em relação aos organismos unicelulares de vida livre competidores. A continuação da evolução desses agregados de organismos levou a associações permanentes entre células individuais e, por fim, a uma especialização dentro da colônia que levou à diferenciação celular.

As vantagens da especialização celular levaram à evolução de organismos cada vez mais complexos e altamente diferenciados, nos quais algumas células realizavam as funções sensoriais, outras, as funções digestivas, outras, as fotossintéticas ou reprodutivas, e assim por diante. Muitos organismos multicelulares modernos contêm centenas de tipos de células diferentes, cada qual especializada em uma função que mantém o organismo como um todo. Mecanismos fundamentais que evoluíram precocemente tiveram aprimoramentos e refinamentos posteriores com a evolução. Os mesmos mecanismos e estruturas básicas que sustentam o movimento dos cílios em *Paramecium* e dos flagelos em *Chlamydomonas* são utilizados, por exemplo, pelos espermatozoides altamente diferenciados dos vertebrados.

A anatomia molecular revela relações evolutivas

Agora que genomas podem ser sequenciados com relativa rapidez e baixo custo, os bioquímicos têm um tesouro de informações cada vez maior sobre a anatomia molecular das células, que pode ser usado para analisar relações evolutivas e refinar a teoria da evolução. Até o momento, a filogenia molecular derivada da sequência de genes é consistente e, em alguns casos, é até mais precisa que a filogenia clássica baseada em estruturas macroscópicas. **P5** Embora os seres vivos tenham divergido continuamente em sua anatomia geral, no nível molecular, a unidade da vida logo fica evidente; estruturas e mecanismos moleculares são muito semelhantes, desde os organismos mais simples até os mais complexos. Essas semelhanças são mais facilmente percebidas no nível das sequências, tanto nas sequências de DNA que codificam proteínas como nas próprias sequências das proteínas.

Quando dois genes têm sequências com semelhanças facilmente detectáveis (sequência de nucleotídeos no DNA ou sequência de aminoácidos nas proteínas que eles codificam), suas sequências são consideradas homólogas, e as proteínas que eles codificam são **homólogos**. No curso da evolução, novos processos, estruturas ou mecanismos regulatórios são adquiridos, o que se reflete em alterações nos genomas dos organismos em evolução. O genoma de um eucarioto simples, como a levedura, deve ter genes relacionados com a formação da membrana nuclear, genes estes não presentes nas bactérias ou nas arqueias. O genoma de um inseto deve conter genes que codificam proteínas envolvidas na segmentação característica do corpo, os quais não estão presentes na levedura. Os genomas de todos os vertebrados devem compartilhar genes que especificam o desenvolvimento da coluna vertebral, e o dos mamíferos deve ter os genes característicos necessários para o desenvolvimento da placenta – uma característica dos mamíferos –, e assim por diante. A comparação entre genomas completos das espécies de cada filo está levando à identificação de genes cruciais relacionados com mudanças evolutivas fundamentais para determinar a organização corporal e o desenvolvimento dos organismos.

A genômica funcional mostra a alocação de genes para processos celulares específicos

Uma vez que a sequência de um genoma esteja completamente determinada, e uma função é atribuída a cada um dos genes, os geneticistas moleculares podem, então, agrupar os genes de acordo com os processos (síntese de DNA, síntese proteica, geração de ATP, e assim por diante) nos quais eles atuam e descobrir qual parte do genoma que está alocada para cada atividade celular. Entre os genes de *E. coli*, *A. thaliana* e *H. sapiens*, a maior categoria é formada por genes de função desconhecida (até agora), os quais correspondem a mais de 40% dos genes de cada uma dessas espécies. Os genes que codificam as proteínas de transporte que movem íons e moléculas pequenas através da membrana plasmática correspondem a uma proporção significativa dos genes em todas essas três espécies, mais em bactérias e plantas do que nos

mamíferos (10% dos ~4.400 genes de *E. coli*, 8% dos ~27.000 genes de *A. thaliana* e 4% dos ~20.000 genes de *H. sapiens*). Os genes que codificam as proteínas e o RNA necessários para síntese proteica somam de 3 a 4% do genoma de *E. coli*, porém, nas células mais complexas de *A. thaliana*, mais genes são necessários para direcionar as proteínas até as suas localizações finais nas células do que genes necessários para sintetizar essas mesmas proteínas (cerca de 6 e 2% do genoma, respectivamente). Em geral, quanto mais complexo for o organismo, maior será a porção do genoma que codifica genes envolvidos na *regulação* de processos celulares e menor será a porção dedicada aos processos básicos ou funções “*housekeeping*” (de manutenção), como geração de ATP e síntese proteica. Tipicamente, os **genes constitutivos** (*housekeeping*) são expressos em todas as condições e não são muito regulados.

A comparação entre genomas é cada vez mais importante na biologia e na medicina



Estudos de larga escala nos quais a sequência genômica completa foi determinada em centenas ou milhares de pessoas com câncer, diabetes tipo 2, esquizofrenia ou outras doenças ou condições permitiram identificar muitos genes com mutações que se correlacionam com a condição médica. Normalmente, diferenças de sequências são encontradas em vários genes diferentes, cada uma contribuindo parcialmente para a predisposição a determinada condição ou doença. Cada um desses genes codifica uma proteína que, em princípio, pode vir a ser alvo de medicamentos para o tratamento de doenças. Espera-se que, no caso de algumas doenças genéticas, os tratamentos paliativos até agora utilizados sejam substituídos por curas e que possam ser tomadas medidas preventivas melhores em relação à susceptibilidade a doenças associadas a marcadores genéticos específicos. O atual “histórico médico” poderá ser substituído pelo “prognóstico médico”. ■

RESUMO 1.5 *Fundamentos evolutivos*

- Eventualmente, mutações herdadas geram organismos mais adaptados para sobreviverem e se reproduzirem em um dado nicho ecológico e, assim, os seus descendentes passam a predominar na população presente nesse nicho. Esse processo de mutação e seleção é a base da evolução darwiniana, que vai desde a primeira célula até todos os organismos atuais. O grande número de genes compartilhados por todos os seres vivos explica as semelhanças fundamentais entre todos eles.
- Os componentes das primeiras células podem ter sido produzidos próximo a fontes hidrotermais no leito dos oceanos ou então pela ação de raios e altas temperaturas sobre

moléculas atmosféricas simples, como CO₂ e NH₃.

- As células primitivas podem ter sido formadas pelo encapsulamento de uma molécula de RNA autorreplicante em uma camada lipídica tipo membrana. Os papéis catalíticos e genéticos exercidos pelos primeiros genomas de RNA foram, ao longo do tempo, sendo realizados por proteínas e DNA, respectivamente.
- Fontes hidrotermais podem ter proporcionado combustíveis oxidáveis (compostos de ferro) para os primeiros organismos.
- As células eucarióticas adquiriram a capacidade de realizar fotossíntese e fosforilação oxidativa a partir de bactérias endossimbióticas. Nos organismos multicelulares, alguns tipos de células diferenciadas se especializaram em uma ou mais funções essenciais para a sobrevivência do organismo.
- Relações filogenéticas detalhadas podem ser determinadas a partir da similaridade de sequências de proteínas entre vários organismos.
- A partir do conhecimento dos papéis das proteínas codificadas no genoma, os cientistas podem ter uma ideia aproximada da proporção do genoma dedicado a processos específicos, como o transporte através de membranas ou a síntese de proteínas.
- O conhecimento da sequência completa de genomas de organismos de diferentes ramos da árvore filogenética fornece pistas sobre a evolução e dá grandes oportunidades para a medicina.

TERMOS-CHAVE

Todos os termos estão definidos no glossário.

bioquímica

metabólito

núcleo

genoma

eucariotos

Bacteria

Archaea

citoesqueleto

estereoisômeros
configuração
centro quiral
conformação
entropia, S
entalpia, H
variação de energia livre, ΔG
reação endergônica
reação exergônica
equilíbrio
variação de energia livre padrão, ΔG°
energia de ativação, $\Delta G^\ddagger$
catabolismo
anabolismo
metabolismo
biologia de sistemas
mutação
genes constitutivos

QUESTÕES

As respostas dos problemas numéricos devem ser dadas com o número correto de algarismos significativos. (Para solucionar as questões apresentadas no final dos capítulos, pode ser necessário consultar as tabelas no verso da capa.) Ver seção de “Respostas das questões” no final do livro.

1. O tamanho das células e seus componentes Em geral, as células de organismos eucariotos têm um diâmetro celular de $50\ \mu\text{m}$.

(a) Qual é o tamanho em que se veria uma célula dessas usando um microscópio eletrônico com aumento de 10 mil vezes?

(b) Se essa fosse uma célula do fígado (hepatócito) com as mesmas dimensões, quantas mitocôndrias ela poderia conter? Considere que a célula seja esférica e que não possua nenhum outro componente celular e que as mitocôndrias sejam esféricas com um diâmetro de $1,5 \mu\text{m}$. (O volume da esfera é de $\frac{4}{3} \pi r^3$.)

(c) A glicose é o principal nutriente produtor de energia para a maioria das células. Supondo uma concentração celular de 1 mM de glicose (i.e., 1 milimol/L), calcule quantas moléculas de glicose poderiam estar presentes em uma célula eucariótica esférica. (O número de Avogadro, o número de moléculas em 1 mol de substância não ionizada, é $6,02 \times 10^{23}$.)

2. Componentes de *E. coli* As células de *E. coli* têm forma de bastão e cerca de $2 \mu\text{m}$ de comprimento e $0,8 \mu\text{m}$ de diâmetro. A *E. coli* tem um envelope de proteção celular de 10 nm de espessura. O volume do cilindro é $\pi r^2 a$, em que a é a altura do cilindro.

(a) Qual é a porcentagem do volume total da bactéria ocupada pelo envelope?

(b) A *E. coli* é capaz de crescer e se multiplicar rapidamente porque contém cerca de 15 mil ribossomos esféricos (diâmetros de 18 nm), que realizam a síntese proteica. Qual porcentagem do volume celular é ocupada pelos ribossomos?

(c) O peso molecular de uma molécula de DNA de *E. coli* é de cerca de $3,1 \times 10^9$ g/mol. O peso molecular médio do par de nucleotídeos é de 660 g/mol, e cada par de nucleotídeos contribui com 0,34 nm para o comprimento do DNA. Calcule o comprimento de uma molécula de DNA de *E. coli*. Compare o comprimento da molécula de DNA com as dimensões da célula. Agora, considere a fotomicrografia mostrando uma única molécula de DNA da bactéria *E. coli* liberada de uma célula quebrada (Fig. 1-31b). Como a molécula de DNA pode caber dentro da célula?

3. Isolamento de ribossomos por meio de centrifugação diferencial Considere uma amostra bruta de lisado celular obtida pela homogeneização mecânica de células de *E. coli*. O sobrenadante do lisado celular foi centrifugado a uma velocidade intermediária (20.000 *g*) por 20 min, e o sobrenadante dessa centrifugação foi, então, centrifugado a alta velocidade (80.000 *g*) por 1 h. Qual procedimento deve ser seguido para isolar os ribossomos dessa amostra?

4. Alta velocidade do metabolismo bacteriano A velocidade do metabolismo das células bacterianas é muito maior do que a das células animais. Sob condições ideais, algumas bactérias duplicam o tamanho e se dividem a cada 20 min, enquanto o crescimento rápido da maioria das células animais necessita de 24 horas. A alta velocidade do metabolismo bacteriano requer uma relação superfície-volume celular alta.

(a) Por que a relação superfície-volume afeta a velocidade máxima do metabolismo?

(b) Calcule a relação superfície-volume para a bactéria *Neisseria gonorrhoeae* esférica ($0,5 \mu\text{m}$ de diâmetro), responsável pela doença gonorreia. A área da superfície de uma esfera é dada por $4\pi r^2$.

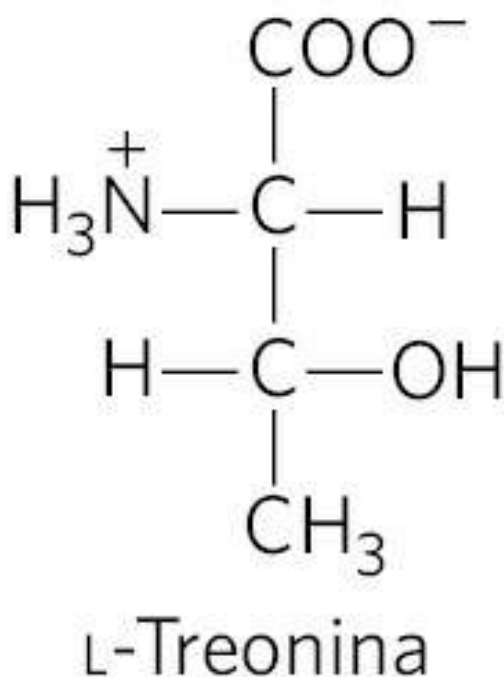
(c) Quantas vezes a relação superfície-volume de *Neisseria gonorrhoeae* é maior do que a relação superfície-volume de uma ameba globular, uma célula eucariótica grande (150 μm de diâmetro)?

5. Transporte rápido nos axônios Os neurônios têm uma extensão fina e longa chamada de axônio, uma estrutura especializada em conduzir sinais através do sistema nervoso do organismo. Os axônios que se originam na medula espinal de uma pessoa e terminam nos músculos dos dedos dos pés podem ter um comprimento de 2 m. Pequenas vesículas fechadas contendo materiais essenciais para a função dos neurônios movem-se ao longo de microtúbulos do citoesqueleto desde o corpo celular até as pontas dos axônios. Se a velocidade média de uma vesícula é de 1 $\mu\text{m/s}$, quanto tempo levará para a vesícula se mover do corpo celular que está localizado na medula espinal até a ponta dos axônios nos dedos dos pés?

6. Comparando vitamina C natural vs. sintética Alguns fornecedores de alimentos naturais alegam que as vitaminas obtidas de fontes naturais são mais saudáveis do que as obtidas por síntese química. Por exemplo, o ácido L-ascórbico (vitamina C) puro extraído dos frutos da rosa mosqueta seria melhor do que o ácido L-ascórbico puro produzido pela indústria química. Existe alguma diferença entre a vitamina obtida por esses dois métodos? O organismo é capaz de distinguir a fonte de origem das vitaminas? Explique a resposta.

7. Projeções de Fischer da L e da D-treonina

(a) Identifique os grupos funcionais nas projeções de Fischer da L-treonina.

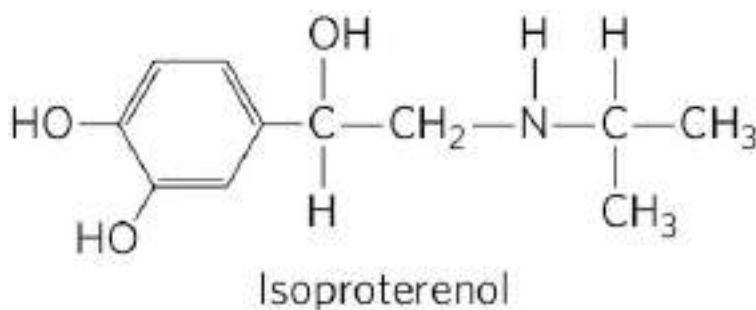


(b) Desenhe a projeção de Fischer da D-treonina.

(c) Quantos centros quirais a D-treonina tem?



8. Estereoquímica e atividade de substâncias Algumas vezes, as diferenças quantitativas na atividade biológica entre dois enantiômeros de um composto são enormes. Por exemplo, o isômero D do fármaco isoproterenol, usado no tratamento de asma leve, é de 50 a 80 vezes mais efetivo como broncodilatador do que o isômero L. Identifique o centro quiral no isoproterenol. Por que os dois enantiômeros têm bioatividades tão radicalmente diferentes?

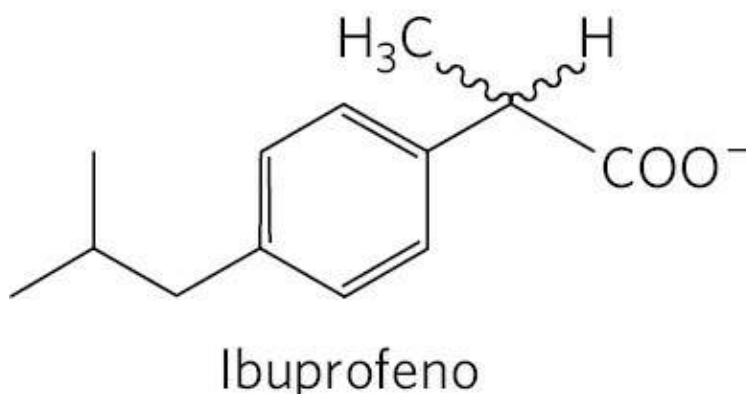


9. Separação de biomoléculas No estudo de uma determinada biomolécula (proteína, ácido nucleico, carboidrato ou lipídeo) em laboratório, o bioquímico primeiro precisa separá-la das outras moléculas da amostra – isto é, precisa *purificá-la*. Técnicas de purificação específicas estão descritas mais adiante no texto. Entretanto, analisando as subunidades monoméricas de uma biomolécula, tem-se alguma ideia sobre as características que permitem separá-la das outras moléculas. Por exemplo, como se poderia separar **(a)** aminoácidos de ácidos graxos e **(b)** nucleotídeos de glicose?

10. Possibilidades de vida baseada no silício Na tabela periódica, o carbono e o silício estão no mesmo grupo e podem formar até quatro ligações químicas. Assim, muitas histórias de ficção científica se fundamentam na premissa da vida baseada no silício. Considere o que foi visto sobre a versatilidade das ligações do carbono (consulte um livro-texto introdutório de química inorgânica sobre as propriedades de ligação do silício, se necessário). Qual é a propriedade do carbono que o faz tão adaptado para a química dos seres vivos? Quais características do silício o tornam *menos* adaptado que o carbono como elemento central de organização da vida?

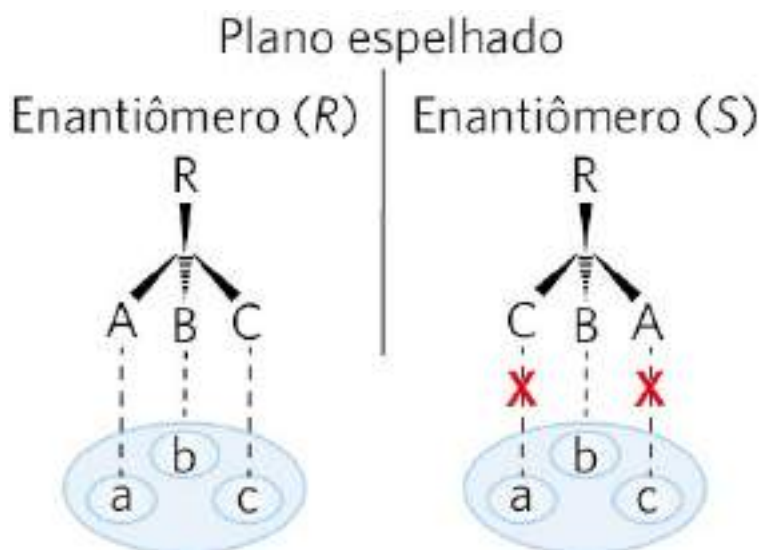


11. Estereoquímica e atividade do fármaco ibuprofeno O ibuprofeno é um medicamento vendido sem receita médica que bloqueia a formação de uma classe de prostaglandinas que causa inflamação e dor.



O ibuprofeno está disponível como mistura racêmica de (*R*)-ibuprofeno e (*S*)-ibuprofeno. Os seres vivos têm uma isomerase que catalisa a inversão quiral do enantiômero (*R*) para o enantiômero (*S*). A velocidade da reação inversa é desprezível. A figura representa o posicionamento dos dois enantiômeros em relação aos sítios de ligação a, b e c na enzima isomerase que converte o enantiômero (*R*) em (*S*). Cada um dos três sítios reconhece um determinado grupo funcional do enantiômero (*R*) do ibuprofeno. Contudo, os sítios a e c não reconhecem os grupos funcionais correspondentes no enantiômero (*S*).

(a) Quais substituintes representam A, B e C no enantiômero (*R*) e no enantiômero (*S*)?

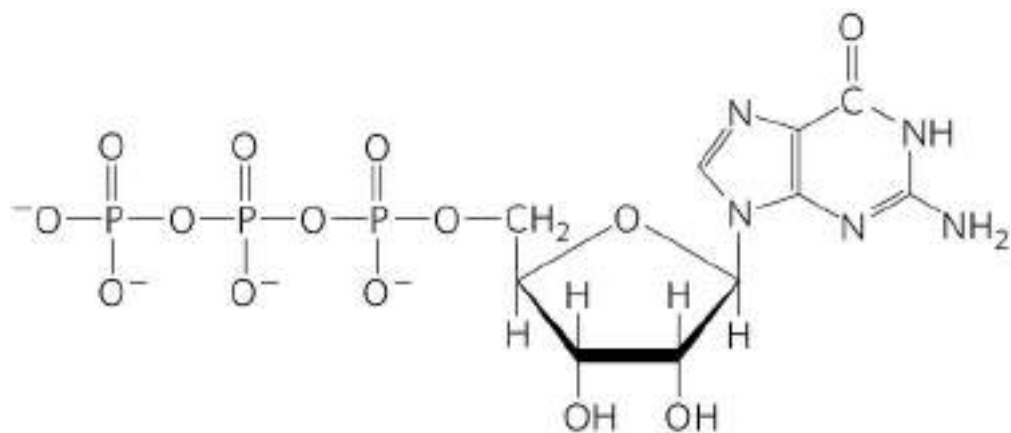


Dado que o enantiômero (*S*) do ibuprofeno é 100 vezes mais eficaz para alívio da dor que o enantiômero (*R*), os laboratórios farmacêuticos produzem versões enantiomericamente puras dos fármacos que antigamente eram comercializados como mistura racêmica, como o esomeprazol e o escitalopram.

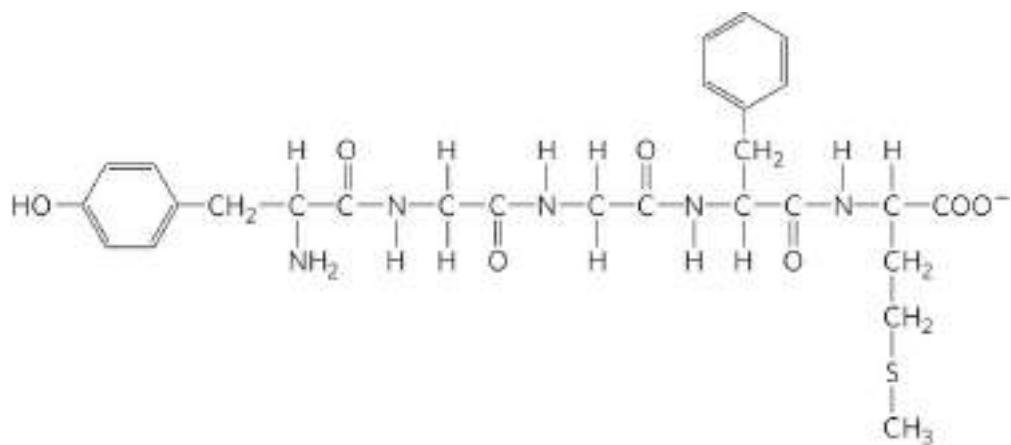
(b) Uma vez que (*S*)-ibuprofeno é mais eficaz, por que os laboratórios não vendem (*S*)-ibuprofeno enantiomericamente puro?

12. Componentes de biomoléculas complexas Três biomoléculas importantes são mostradas nas suas formas ionizadas em pH fisiológico. Identifique os constituintes químicos que fazem parte de cada uma das moléculas.

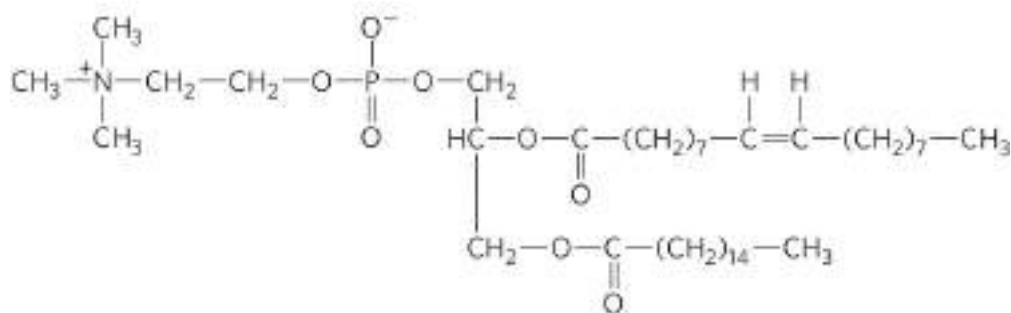
(a) Trifosfato de guanosina (GTP), nucleotídeo rico em energia que serve como precursor do RNA:



(b) Metioninaencefalina, um opioide endógeno:



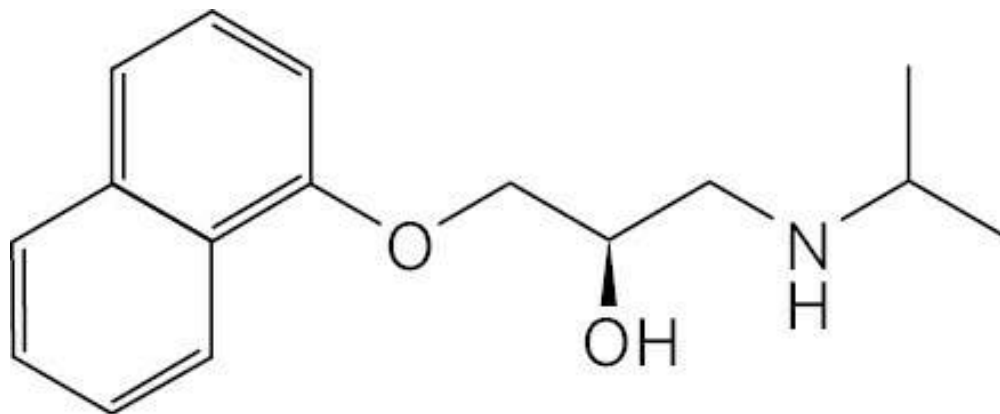
(c) Fosfatidilcolina, componente de muitas membranas:



13. Determinação experimental da estrutura de uma biomolécula Pesquisadores isolaram uma substância X desconhecida do músculo de um coelho. A estrutura dessa molécula foi determinada a partir das seguintes observações e experimentos. A análise qualitativa mostrou que X é inteiramente composta de C, H e O. Uma amostra de X foi pesada e oxidada completamente, e as quantidades de H_2O e CO_2 produzidos foram medidas; essa análise quantitativa revelou que X contém 40,00% de C, 6,71% de H e 53,29% de O em peso. A massa molecular de X, determinada por espectrometria de massas, foi de 90,00 u (unidades de massa atômica; ver Quadro 1-1). A espectroscopia infravermelha mostrou que X contém uma dupla ligação. X dissolve-se prontamente em água, produzindo uma solução ácida, que apresentou atividade óptica quando testada no polarímetro.

- (a) Determine a fórmula empírica e molecular de X.
- (b) Desenhe as possíveis estruturas de X que se ajustam à fórmula molecular e contêm uma ligação dupla. Considere *apenas* estruturas lineares ou ramificadas, e despreze estruturas cíclicas. Observe que o oxigênio faz ligações muito fracas consigo mesmo.
- (c) Qual é a significância estrutural da atividade óptica observada? Quais estruturas em (b) são consistentes com as observações?
- (d) Qual é a significância estrutural da observação de que a solução de X era ácida? Quais estruturas em (b) são consistentes com as observações?
- (e) Qual é a estrutura de X? Mais de uma estrutura é consistente com todos os dados?

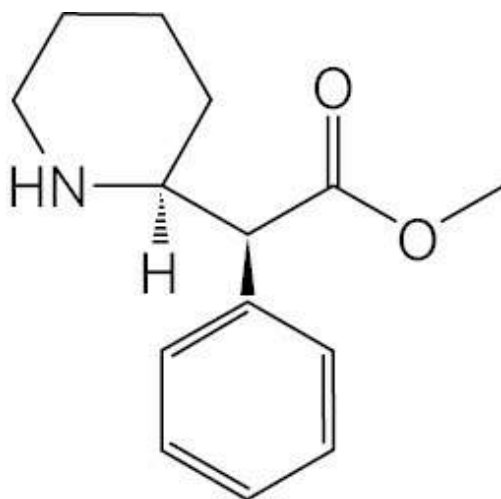
14. Nomenclatura de estereoisômeros com um carbono quiral usando o sistema RS Propranolol é um composto quiral. (R)-Propranolol é usado como contraceptivo; (S)-propranolol é usado no tratamento da hipertensão. Observe a estrutura de um dos isômeros do propranolol.



- (a) Identifique o carbono quiral no propranolol.
- (b) A estrutura mostrada é do isômero (R) ou do isômero (S)?
- (c) Desenhe o outro isômero do propranolol.

15. Nomenclatura de estereoisômeros com dois carbonos quirais usando o sistema RS O isômero (*R,R*) do metilfenidato é usado para tratar o transtorno de déficit de atenção/hiperatividade (TDAH). O isômero (*S,S*) é um antidepressivo.

(a) Identifique os dois carbonos quirais na estrutura a seguir.

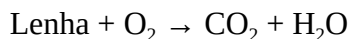


(b) A estrutura mostra o isômero (*R,R*) ou o isômero (*S,S*)?

(c) Desenhe o outro isômero do metilfenidato.

16. Estado dos esporos bacterianos O esporo de bactérias é metabolicamente inerte e pode permanecer assim por anos. Os esporos não contêm quantidade mensurável de ATP, não consomem oxigênio e são isentos de água. Entretanto, quando um esporo é transferido para um meio líquido apropriado, ele germina, faz ATP e a divisão celular começa em cerca de 1 hora. Esporos estão vivos ou mortos? Explique a resposta.

17. Energia de ativação de uma reação de combustão A lenha é quimicamente instável em comparação com os seus produtos de oxidação, CO_2 e H_2O .



(a) O que se pode dizer sobre a variação de energia livre padrão dessa reação?

(b) Por que a lenha empilhada perto da lareira não entra em combustão espontânea, transformando-se nos produtos mais estáveis?

(c) Como se pode fornecer energia de ativação para essa reação?

(d) Suponha que se tenha uma enzima (lenhase) que catalise a conversão rápida de lenha em CO_2 e H_2O em temperatura ambiente. Em termos termodinâmicos, como essa enzima faria isso?

18. Consequências da substituição de nucleotídeos Suponha que uma desoxicitidina (C) em uma das fitas de DNA seja erroneamente substituída por desoxitimidina (T) durante a divisão

celular. Qual seria a consequência para a célula se essa mudança de desoxinucleotídeo não fosse reparada?

19. Mutações e funções de proteínas Suponha que o gene de uma proteína de 500 aminoácidos de comprimento sofra uma mutação. Se a mutação levar à síntese de uma proteína mutante na qual apenas um dos 500 aminoácidos esteja incorreto, a proteína pode perder *toda* a sua atividade biológica. Como uma mudança tão *pequena* na sequência de uma proteína pode inativá-la?

20. Duplicação de genes e evolução Suponha que um erro raro na replicação do DNA leve à duplicação de um único gene, fazendo a célula-filha ter duas cópias do mesmo gene.

(a) Como essa mudança favorece a aquisição de uma nova função pela célula-filha?

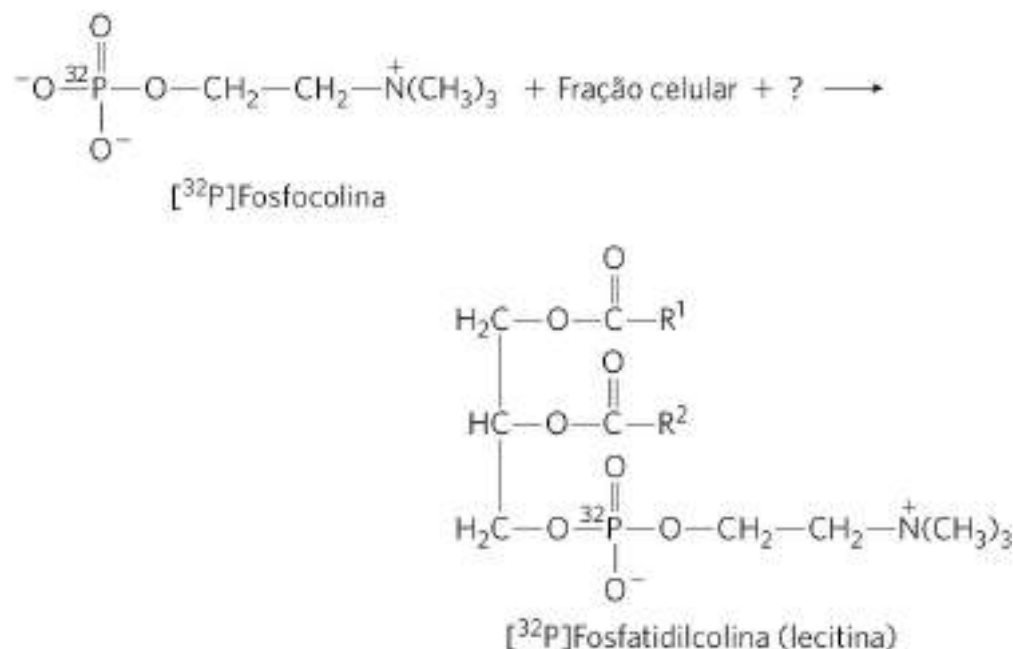
(b) Na planta vascular *Arabidopsis thaliana*, 50 a 60% do genoma consiste em conteúdo duplicado. Como isso pode conferir uma vantagem seletiva?

21. O tardígrado criptobiótico e a vida Tardígrados, também chamado de urso d'água, são pequenos animais que podem atingir até 0,5 mm de comprimento. Em geral, os tardígrados terrestres (figura) vivem no ambiente úmido de musgos e líquens. Algumas dessas espécies são capazes de sobreviver em condições extremas. Alguns tardígrados podem entrar em um estado reversível, denominado **criptobiose**, no qual o metabolismo cessa completamente até que surjam condições favoráveis. Nesse estado, várias espécies de tardígrados resistem a desidratação, temperaturas extremas e pressões desde 6.000 atm até o vácuo, condições anóxicas e irradiação vinda do espaço. Tardígrados em criptobiose se enquadram na definição de vida? Explique sua resposta.



22. Efeitos da radiação ionizante sobre as bactérias O tratamento de uma cultura de bactérias (*E. coli*) com radiação ionizante faz com que apenas uma pequena fração das células sobreviva. As sobreviventes mostram-se mais resistentes à radiação do que as células iniciais. Quando expostas a níveis de radiação ainda maiores, uma pequena fração dessas células resistentes sobrevive e é ainda mais resistente à radiação. A repetição desse procedimento com níveis cada vez mais altos de radiação produz uma cepa de *E. coli* muito mais resistente à radiação do que a cepa original. Quais mudanças podem ter ocorrido a cada ciclo sucessivo de radiação e seleção?

23. Problema de análise de dados Em 1956, E. P. Kennedy e S. B. Weiss publicaram seus estudos sobre a síntese do lipídeo de membrana fosfatidilcolina (lecitina) no fígado de ratos. A hipótese deles era de que a fosfatidilcolina se ligaria a algum componente celular para produzir lecitina. Nos experimentos iniciais, a incubação de fosfocolina marcada com $[^{32}\text{P}]$ em temperatura fisiológica (37°C) com células hepáticas de rato rompidas rendeu lecitina. Esse passou a ser o método para analisar as enzimas envolvidas na síntese de lecitina.



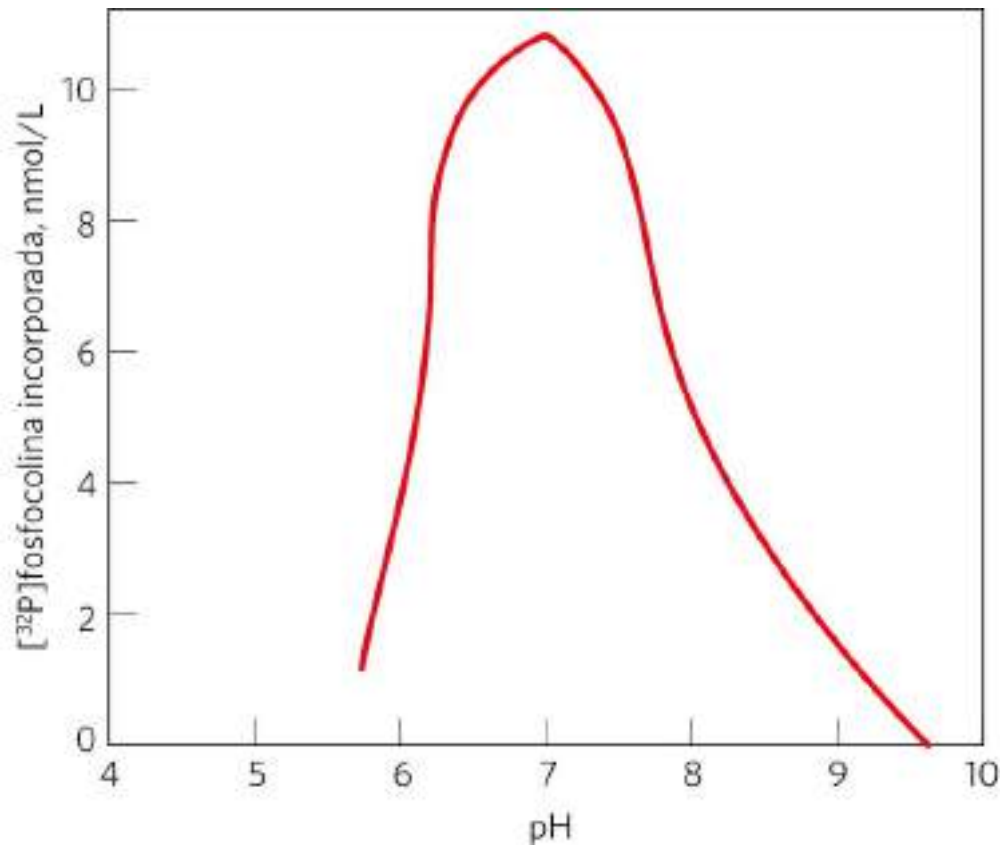
Os pesquisadores centrifugaram a preparação de células rompidas para separar as membranas das proteínas solúveis e testaram três preparações: extrato total, membranas e proteínas solúveis. A Tabela 1 resume esses resultados.

TABELA 1 Frações celulares necessárias para a incorporação de [^{32}P]-fosfocolina em lecitina

Número do tubo	Preparação	[^{32}P]-fosfocolina incorporada à lecitina
1	Extrato total	6,3 μmol
2	Membranas	18,5 μmol
3	Proteínas solúveis	2,6 μmol

(a) A enzima responsável por essa reação é uma proteína solúvel do citoplasma ou uma enzima ligada a membranas? Por quê?

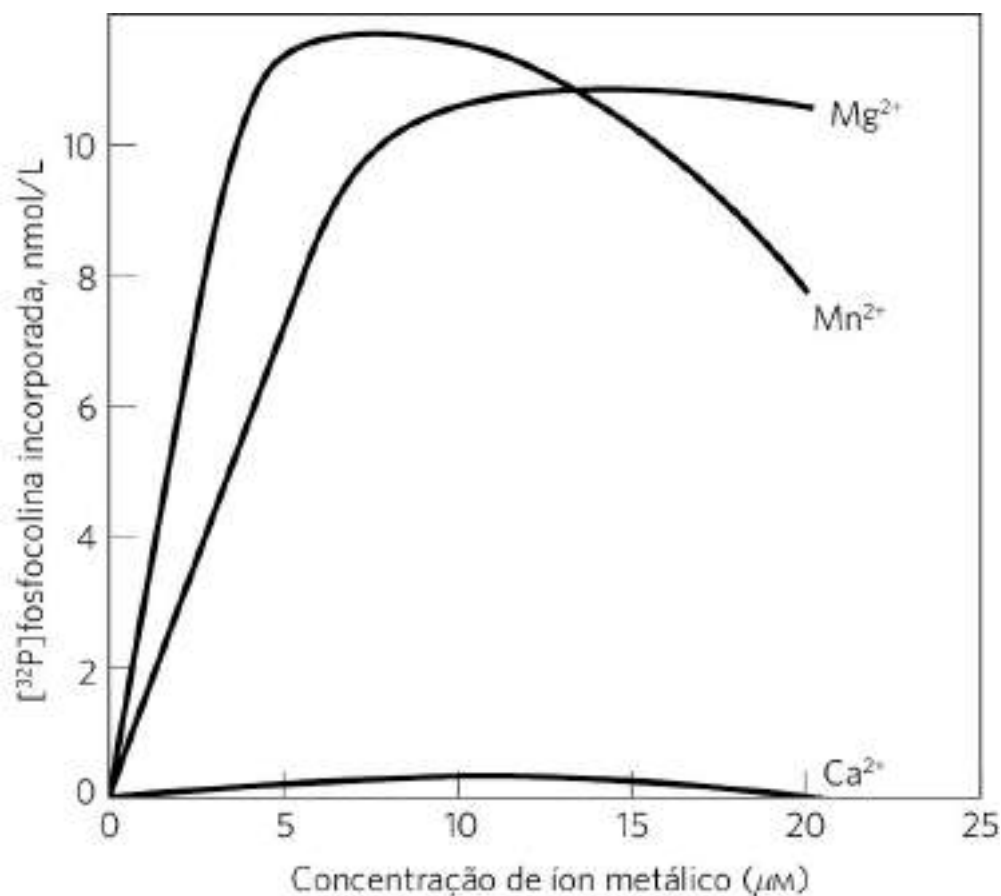
Uma vez estabelecida a localização da enzima, os pesquisadores passaram a investigar o efeito do pH sobre a atividade da enzima. Eles fizeram o teste padrão em soluções tampão com diferentes valores de pH, entre 6 e 9. O gráfico mostra os resultados obtidos. A atividade enzimática corresponde à quantidade, em nanomols por litro, de [^{32}P]-fosfocolina incorporada na lecitina.



(b) Qual é o pH ideal para essa enzima?

(c) O quanto a enzima é mais ativa em pH 8 do que em pH 6?

Rações com intermediários fosforilados geralmente necessitam de um íon metálico divalente. Os pesquisadores testaram Ca^{2+} , Mn^{2+} e Mg^{2+} para determinar se um íon metálico divalente era importante nessa reação. O gráfico mostra os resultados obtidos.



(d) A enzima depende de qual íon metálico?

Os pesquisadores chegaram à conclusão de que a reação poderia necessitar de energia. Para testar essa hipótese, eles incubaram membranas de fígado de rato e [³²P]-fosfocolina com diferentes nucleotídeos. Como o ATP que era vendido em 1956 não era altamente purificado como as preparações comerciais de hoje, eles usaram duas fontes de ATP, o lote 116 e o lote 122. A Tabela 2 mostra os resultados.

TABELA 2 Nucleotídeos necessários para a síntese de lecitina a partir de fosfocolina

Número do tubo	Nucleotídeo adicionado	[³² P]-fosfocolina incorporada à lecitina
1	5 μmol de ATP do lote 116	5,1 μmol
2	5 μmol de ATP do lote 122	0,2 μmol
3	5 μmol de ATP do lote 122 + 0,5 μmol de GDP	0,4 μmol
4		15,0 μmol

	5 μmol de ATP do lote 122 + 0,5 μmol de CTP	
5	5 μmol de ATP do lote 122 + 0,1 μmol de CTP	10,0 μmol
6	5 μmol de ATP do lote 122 + 0,5 μmol de UTP	0,4 μmol
7	0,5 μmol de CTP sem ATP	8,0 μmol

(e) Qual é a sua interpretação da Tabela 2?

(f) Escreva a equação para a reação que os pesquisadores estudaram, incluindo todos os componentes necessários, inclusive fração celular, íon metálico e cofator nucleotídeo.

Referência

Kennedy, E. P. e S. B. Weiss. 1956. The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipids. *J. Biol. Chem.* 193–214.

Parte 1

ESTRUTURA E CATÁLISE

A bioquímica usa as técnicas e os conhecimentos da química para entender as maravilhosas propriedades e atividades dos seres vivos. Para isso, o estudante inicialmente precisa adquirir o vocabulário e a linguagem da bioquímica, que são apresentados na Parte I deste livro.

Os capítulos da Parte I são dedicados à estrutura e à função das principais classes dos constituintes das células: água (Capítulo 2), aminoácidos e proteínas (Capítulos 3 a 6), açúcares e polissacarídeos (Capítulo 7), nucleotídeos e ácidos nucleicos (Capítulo 8), ácidos graxos e lipídeos (Capítulo 10) e, por fim, membranas e proteínas de sinalização das membranas (Capítulos 11 e 12). No contexto de estrutura e função, também são discutidas as tecnologias utilizadas no estudo de cada classe de biomolécula. Um capítulo inteiro (Capítulo 9) é dedicado às biotecnologias relacionadas com a clonagem e a genômica.

Iniciamos, no Capítulo 2, abordando a água, pois as suas propriedades afetam a estrutura e a função de todos os demais constituintes das células. Para cada classe de molécula orgânica, primeiro consideramos a química das unidades monoméricas que se associam por ligações covalentes (aminoácidos, monossacarídeos, nucleotídeos e ácidos graxos) e, depois, a descrição das estruturas das macromoléculas e dos complexos supramoleculares derivados dela. Um tema relevante é que, nos sistemas vivos, as macromoléculas, apesar do seu grande tamanho, são entidades químicas altamente ordenadas com as subunidades monoméricas em sequências específicas, que lhes conferem as suas estruturas e funções características. Esse tema fundamental pode ser subdividido em três princípios básicos que se inter-relacionam: (1) a estrutura específica de cada macromolécula determina as suas funções; (2) as interações não covalentes têm um papel crucial na determinação das estruturas e das funções das macromoléculas; e (3) as subunidades monoméricas dos polímeros estão em sequências específicas, o que constitui uma forma de informação indispensável para a manutenção da vida.

A relação entre estrutura e função é especialmente evidente nas proteínas, que apresentam uma diversidade de funções extraordinária. Uma sequência específica de aminoácidos no polímero produz uma estrutura fibrosa resistente, encontrada no cabelo e na lã; outra sequência produz uma proteína que transporta oxigênio no sangue; uma terceira faz com que se ligue a outras proteínas e catalise a clivagem das ligações entre seus aminoácidos. De maneira semelhante, as funções especiais dos polissacarídeos, dos ácidos nucleicos e dos lipídeos podem ser compreendidas como o resultado direto das suas estruturas químicas, com subunidades monoméricas características ligadas de forma precisa para formar polímeros funcionais. Açúcares ligados entre si se tornam depósitos de energia, de fibras estruturais e de pontos para reconhecimento moleculares específicos; nucleotídeos enfileirados no DNA ou no RNA constituem o projeto que determina um organismo inteiro; e agregados de lipídeos formam

membranas. O Capítulo 12 unifica a discussão sobre as funções das biomoléculas, descrevendo como sistemas sinalizadores específicos regulam as atividades das biomoléculas – dentro da célula, dentro de um órgão e entre órgãos – para manter um organismo em homeostase. Falhas em manter a homeostase levam à perda de função, isto é, à doença.

À medida que passamos das unidades monoméricas para polímeros cada vez maiores, o foco químico muda de ligações covalentes para interações não covalentes. As ligações covalentes, nos níveis monomérico e macromolecular, impõem restrições às formas que as biomoléculas grandes podem assumir. As interações não covalentes são muito numerosas e ditam a conformação nativa estável das moléculas grandes, ao mesmo tempo que possibilitam a flexibilidade necessária para a respectiva função biológica. Como veremos, interações não covalentes são essenciais à capacidade catalítica das enzimas, à interação crítica entre bases complementares nos ácidos nucleicos e ao arranjo e propriedades de lipídeos nas membranas. O princípio de que sequências de subunidades monoméricas são ricas em informação está bem evidente na discussão sobre os ácidos nucleicos (Capítulo 8). Contudo, além dos ácidos nucleicos, proteínas e alguns polímeros curtos de açúcares (oligossacarídeos) também são moléculas ricas em informação. A sequência de aminoácidos é uma forma de informação e dá orientações para o enovelamento característico de cada proteína, fazendo-as atingir uma estrutura tridimensional única, que, por sua vez, determina as funções da proteína. Alguns oligossacarídeos também têm sequências e estruturas tridimensionais únicas, que são reconhecidas por outras macromoléculas.

Cada classe de moléculas tem uma hierarquia estrutural semelhante: subunidades de estrutura fixa são conectadas por ligações de flexibilidade limitada e formam macromoléculas com estruturas tridimensionais que são o resultado de interações não covalentes. Essas macromoléculas interagem para formar estruturas supramoleculares e organelas, que permitem que as células desempenhem as suas várias funções metabólicas. No seu conjunto, as moléculas descritas na Parte I constituem os ingredientes da vida.

Capítulo 2

ÁGUA, O SOLVENTE DA VIDA

A água é a substância mais abundante nos sistemas vivos, constituindo mais de 70% do peso da maioria dos seres vivos. O primeiro organismo vivo na Terra, sem dúvida, apareceu em um ambiente aquoso, e o curso da evolução foi moldado pelas propriedades do meio aquoso no qual a vida começou.

Este capítulo inicia com descrições das propriedades físicas e químicas da água, a partir das quais todos os aspectos das estruturas e funções das células são adaptados. As forças de atração entre moléculas da água e a pequena tendência da água a ionizar são de crucial importância para a estrutura e a função das biomoléculas. Revisamos o tópico da ionização em termos de constantes de equilíbrio, pH e curvas de titulação, e consideramos como as soluções aquosas de ácidos fracos ou bases fracas e seus sais agem como tampões que se contrapõem a mudanças de pH em sistemas biológicos. A molécula da água e seus produtos de ionização, H^+ e OH^- , influenciam profundamente a estrutura, a auto-organização e as propriedades de todos os componentes celulares, incluindo proteínas, ácidos nucleicos e lipídeos. As interações não covalentes responsáveis pela intensidade e especificidade do “reconhecimento” entre biomoléculas são definitivamente influenciadas pelas propriedades da água como solvente, incluindo sua capacidade de formar ligações de hidrogênio com ela mesma e com solutos.

Este capítulo enfatiza os seguintes princípios:

- P1 As propriedades da água como solvente moldaram a evolução dos seres vivos.** A maioria dos intermediários pequenos do metabolismo, bem como os ácidos nucleicos e as proteínas, são solúveis em água. Bicamadas lipídicas, provavelmente os precursores das membranas biológicas, se formam espontaneamente em água e são estabilizadas por interações com a água. Embora as ligações de hidrogênio, as interações iônicas e o efeito hidrofóbico sejam individualmente fracos, os seus efeitos combinados influenciam profundamente a estrutura tridimensional e a estabilidade das estruturas das moléculas biológicas.
- P2 O comportamento de ionização da água e dos ácidos e bases fracos dissolvidos em água pode ser representado por uma ou mais constantes de equilíbrio.** A maior parte das moléculas biológicas é ionizável; suas estruturas e funções dependem do seu estado de ionização, que é caracterizado pelas constantes de equilíbrio.
- P3 Uma solução aquosa de um ácido fraco e de seu sal constituem um tampão que resiste a mudanças de pH decorrentes da adição de ácidos ou bases.** Sistemas biológicos são tampões que mantêm o pH em uma faixa estreita, na qual as macromoléculas mantêm suas estruturas funcionais, que são dependentes do estado de ionização. Situações que produzem

um pH do sangue fora da faixa entre 7,3 e 7,5 constituem perigo de vida para os humanos.

P4 As enzimas, que catalisam todos os processos dentro de uma célula, evoluíram para funcionar de forma ideal em um pH (fisiológico) quase neutro. Entretanto, enzimas que atuam em compartimentos intracelulares com pH baixo ou alto têm suas maiores atividades nesses valores de pH.

2.1 Interações fracas em sistemas aquosos

Ligações de hidrogênio entre moléculas de água fornecem as forças coesivas que fazem a água ser líquida em temperatura ambiente e um sólido cristalino (gelo) com um arranjo de moléculas altamente ordenado em temperaturas baixas. **P1** As biomoléculas polares dissolvem-se facilmente em água, uma vez que elas podem substituir interações entre moléculas de água (água-água) por interações energeticamente mais favoráveis entre água e soluto (água-soluto). Por outro lado, as biomoléculas apolares são muito pouco solúveis em água, uma vez que elas interferem nas interações água-água, mas são incapazes de formar interações água-soluto. Em soluções aquosas, moléculas apolares tendem a formar agregados. **P1** Ligações de hidrogênio e interações iônicas, hidrofóbicas (do grego para “medo de água”) e interações de van der Waals são individualmente fracas, mas, quando em conjunto, elas influenciam de modo significativo as estruturas tridimensionais de proteínas, ácidos nucleicos, polissacarídeos e lipídeos de membranas.

Ligações de hidrogênio são responsáveis pelas propriedades incomuns da água

A água tem ponto de fusão, ponto de ebulição e calor de vaporização mais altos que a maioria dos outros solventes. Essas propriedades incomuns são decorrentes da atração recíproca entre moléculas de água vizinhas, que confere à água líquida uma grande coesão interna. Ao observar a estrutura de elétrons da molécula de H_2O , percebe-se a origem dessas atrações intermoleculares.

Cada átomo de hidrogênio de uma molécula de água compartilha um par de elétrons com o átomo central do oxigênio. A geometria da molécula de água é ditada pelas formas dos orbitais dos elétrons mais externos do átomo de oxigênio, que são similares aos orbitais sp^3 da ligação ao carbono (ver Fig. 1-13). Esses orbitais podem ser descritos como tendo um formato aproximado de tetraedro, com um átomo de hidrogênio em cada um de dois dos vértices e pares de elétrons não compartilhados nos outros dois vértices (**Fig. 2-1a**). O ângulo da ligação H–O–H é de $104,5^\circ$, levemente menor que o ângulo $109,5^\circ$ de um tetraedro perfeito, em consequência do agrupamento dos orbitais do átomo de oxigênio que não participam de ligações.

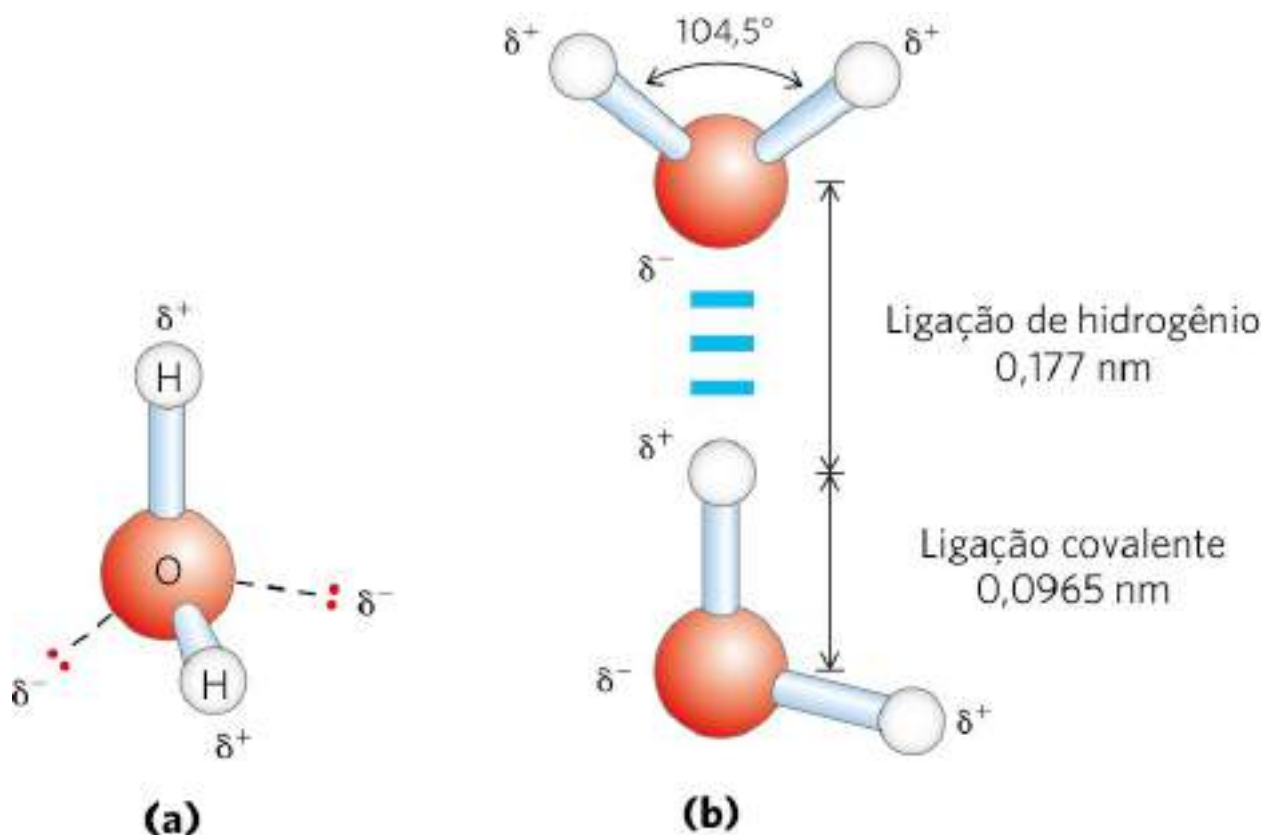


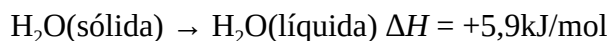
FIGURA 2-1 Estrutura da molécula de água. (a) A natureza dipolar da molécula de água está ilustrada no modelo de esfera e bastão; as linhas tracejadas representam orbitais não ligantes. Há um arranjo quase tetraédrico do par de elétrons da camada mais externa ao redor do átomo de oxigênio. Os dois átomos de hidrogênio têm cargas parciais positivas (δ^+), e o átomo de oxigênio tem carga parcial negativa (δ^-). (b) Duas moléculas de H₂O unidas por ligação de hidrogênio (representada aqui e ao longo de todo o livro por três linhas azuis) entre o átomo de oxigênio da molécula superior e um átomo de hidrogênio da molécula inferior. As ligações de hidrogênio são mais longas e mais fracas que as ligações covalentes O–H.

O núcleo do átomo de oxigênio atrai elétrons mais fortemente que o núcleo de hidrogênio (um próton); ou seja, o oxigênio é mais eletronegativo. Assim, os elétrons compartilhados geralmente estão mais nas vizinhanças do átomo de oxigênio do que nas vizinhanças do átomo de hidrogênio. O resultado desse compartilhamento desigual de elétrons é a formação, na molécula de água, de dois dipolos elétricos, um ao longo de cada ligação O–H; cada hidrogênio carrega uma carga parcial positiva (δ^+), e o oxigênio carrega uma carga parcial negativa igual em magnitude à soma das duas cargas parciais positivas ($2\delta^-$). Como resultado, há uma atração eletrostática entre o átomo de oxigênio de uma molécula de água e o hidrogênio de outra (Fig. 2-1b), chamada de **ligação de hidrogênio**. Ao longo deste livro, as ligações de hidrogênio estão representadas com três linhas paralelas azuis, como na Figura 2-1b.

Ligações de hidrogênio são relativamente fracas. A ligação de hidrogênio na água líquida tem uma **energia de dissociação da ligação** (a energia necessária para quebrar uma ligação) de cerca de 23 kJ/mol, sendo que a da ligação O–H covalente na água é de 470 kJ/mol, e, da ligação C–C covalente, de 350 kJ/mol. A ligação de hidrogênio é cerca de 10% covalente, devido à

sobreposição dos orbitais da ligação, e cerca de 90% eletrostática. Em temperatura ambiente, a energia térmica de uma solução aquosa (a energia cinética do movimento dos átomos e moléculas individuais) é da mesma ordem de magnitude que a necessária para quebrar ligações de hidrogênio. Quando a água é aquecida, o aumento da temperatura causa o aumento da velocidade de moléculas de água individuais. Em qualquer dado momento, a maioria das moléculas na água líquida é ligada por ligações de hidrogênio, mas cada ligação de hidrogênio dura somente de 1 a 20 picossegundos ($1 \text{ ps} = 10^{-12} \text{ s}$); quando uma ligação de hidrogênio quebra, uma outra ligação de hidrogênio se forma em 0,1 ps, com a mesma molécula ou com outra molécula de água. A expressão “agrupamentos oscilantes” é aplicada aos grupos de vida curta de moléculas de água interligados por ligações de hidrogênio na água líquida. O somatório de todas as ligações de hidrogênio entre as moléculas de água confere à água líquida uma grande coesão interna. Redes extensas de moléculas de água unidas por ligações de hidrogênio também formam pontes entre solutos (como proteínas e ácidos nucleicos), que permitem que essas moléculas maiores interajam umas com as outras por distâncias de vários nanômetros sem se tocarem fisicamente.

O arranjo aproximadamente tetraédrico dos orbitais ao redor do átomo de oxigênio (Fig. 2-1a) permite que cada molécula de água forme ligações de hidrogênio com até quatro moléculas de água vizinhas. Na água líquida em temperatura ambiente e pressão atmosférica, entretanto, as moléculas de água estão desorganizadas e em movimento contínuo, de modo que cada molécula de água forma ligações de hidrogênio com somente 3,4 outras moléculas, em média. No gelo, por outro lado, cada molécula de água está fixa no espaço e forma ligações de hidrogênio com quatro outras moléculas de água, formando uma estrutura de rede regular (**Fig. 2-2**). As ligações de hidrogênio são responsáveis pelo ponto de fusão relativamente alto da água, pois é necessária muita energia térmica para quebrar uma proporção suficiente de ligações de hidrogênio para desestabilizar a rede de cristais do gelo. Quando o gelo se funde ou a água evapora, calor é retirado do meio pelo sistema:



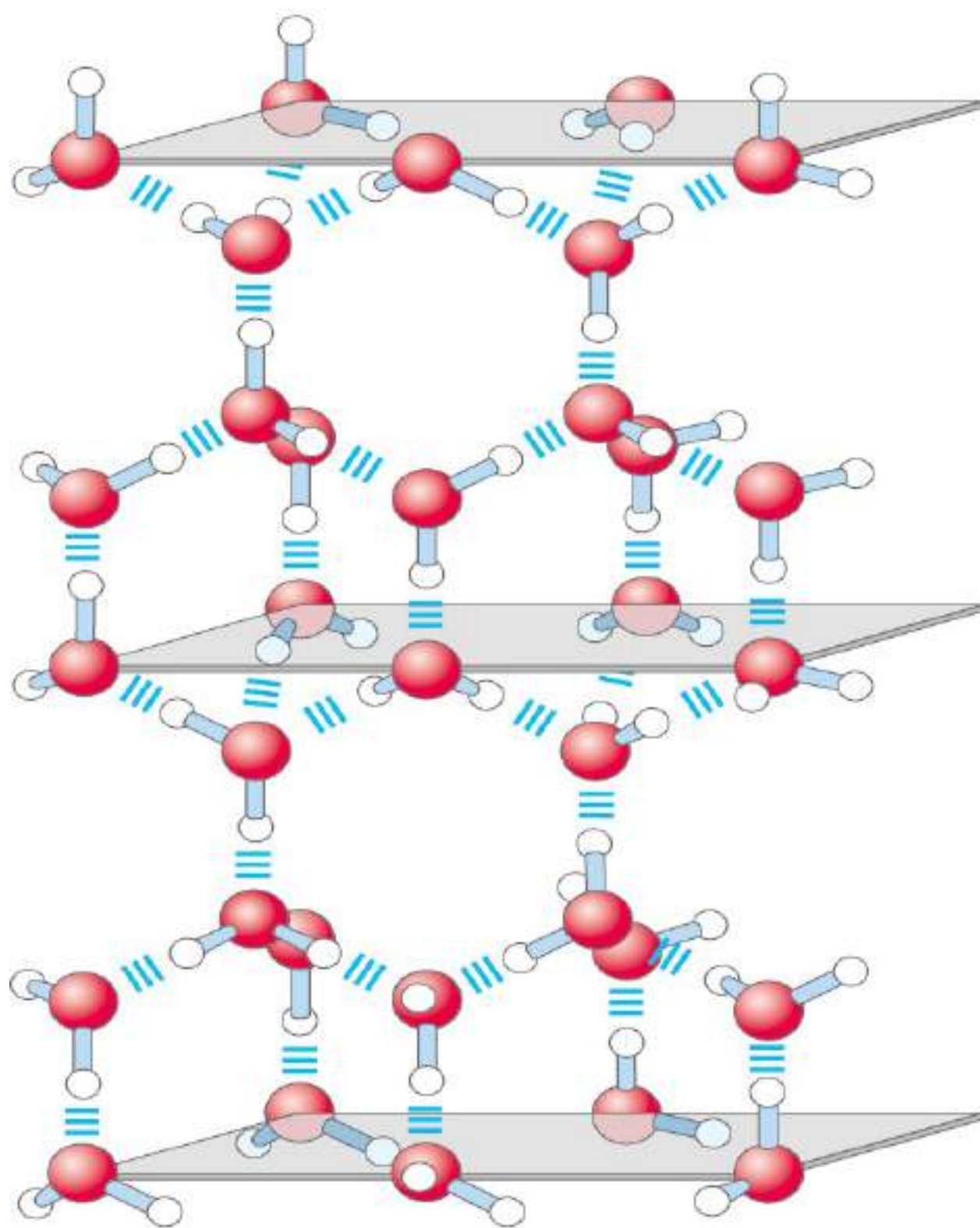


FIGURA 2-2 Ligações de hidrogênio no gelo. No gelo, cada molécula de água forma quatro ligações de hidrogênio, o máximo possível para uma molécula de água, criando uma estrutura de rede cristalina regular. Em contrapartida, na água líquida em temperatura ambiente e pressão atmosférica, cada molécula de água faz uma média de 3,4 ligações de hidrogênio com outras moléculas de água. Essa estrutura em rede cristalina regular faz o gelo ser menos denso que a água líquida, e, consequentemente, o gelo flutua na água líquida.

Durante a fusão ou a evaporação, a entropia do sistema aquoso aumenta à medida que as disposições mais ordenadas das moléculas de água em forma de gelo passam a assumir disposições menos ordenadas no estado líquido ou completamente desordenadas no estado gasoso. Em temperatura ambiente, tanto a fusão do gelo quanto a evaporação da água ocorrem espontaneamente; a tendência das moléculas de água de se associarem por meio de ligações de hidrogênio é compensada pela tendência energética para a desordem. Lembre-se que, para um processo ocorrer espontaneamente, a variação de energia livre (ΔG) deve ter um valor negativo: $\Delta G = \Delta H - T \Delta S$, em que ΔG representa a força motriz, ΔH a mudança de entalpia para formar e romper ligações e ΔS a mudança no nível de desordem. Como ΔH é positivo para a fusão e a evaporação, fica evidente que é o aumento na entropia (ΔS) que torna ΔG negativo, impulsionando, assim, a mudança de estado.

A água forma ligações de hidrogênio com solutos polares

Formar ligações de hidrogênio não é uma exclusividade da molécula de água. Elas se formam prontamente entre um átomo eletronegativo (aceptor de hidrogênio, geralmente oxigênio ou nitrogênio) e um átomo de hidrogênio ligado covalentemente a outro átomo eletronegativo (doador de hidrogênio) na mesma ou em outra molécula (**Fig. 2-3**). Átomos de hidrogênio covalentemente ligados a átomos de carbono não participam de ligações de hidrogênio, uma vez que o átomo de carbono é apenas levemente mais eletronegativo que o hidrogênio e, portanto, a ligação C–H é muito pouco polar. Essa diferença explica por que o butano ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$) tem ponto de ebulição de apenas $-0,5^\circ\text{C}$ enquanto que o butanol ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{OH}$) tem um ponto de ebulição de 117°C . O butanol tem um grupo hidroxila que é polar, então pode formar ligações de hidrogênio intermoleculares. Biomoléculas polares não carregadas, como os açúcares, dissolvem-se rapidamente em água, devido ao efeito estabilizador das ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila ou entre o oxigênio da carbonila do açúcar e as moléculas polares da água. **P1** Álcoois, aldeídos, cetonas e compostos contendo ligações N–H formam ligações de hidrogênio com moléculas de água (**Fig. 2-4**) e tendem a ser solúveis em água.

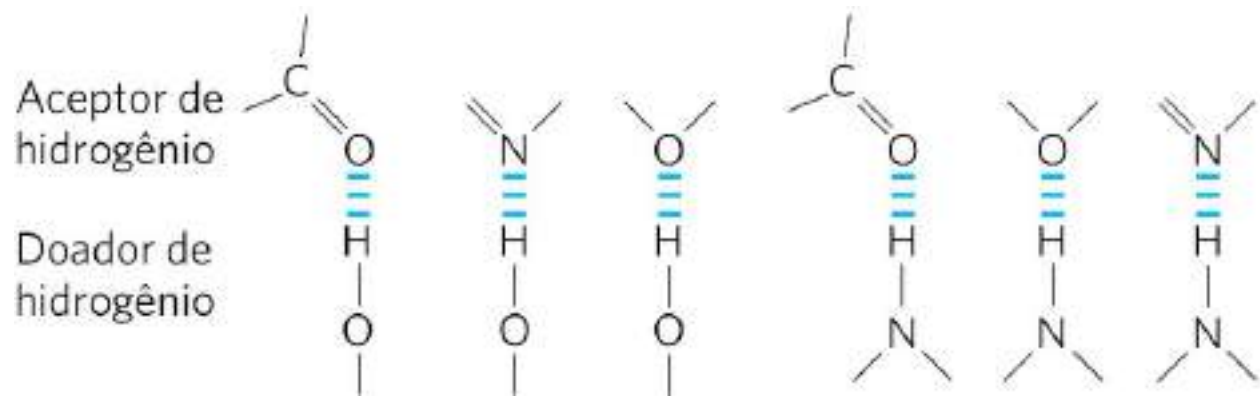
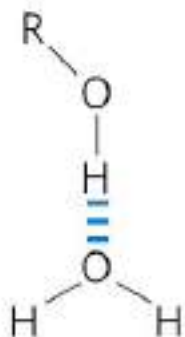
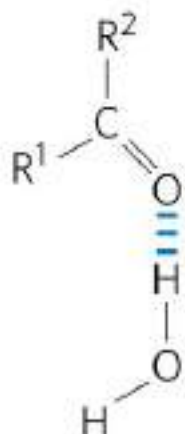


FIGURA 2-3 Ligações de hidrogênio comuns em sistemas biológicos. O aceptor de hidrogênio geralmente é oxigênio ou nitrogênio; o doador de hidrogênio é outro átomo eletronegativo.

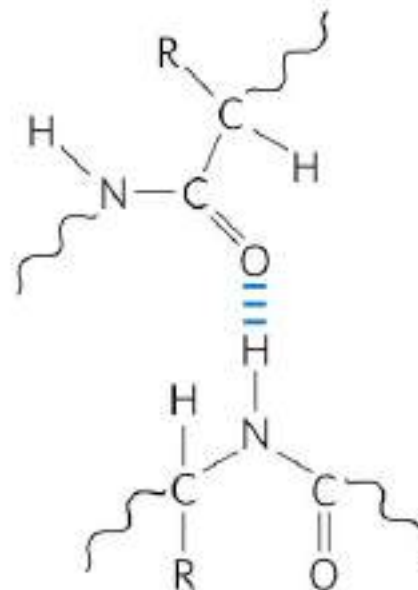
Entre o grupo hidroxila de um álcool e a água



Entre o grupo carbonila de uma cetona e a água



Entre grupos peptídicos em polipeptídeos



Entre bases complementares no DNA

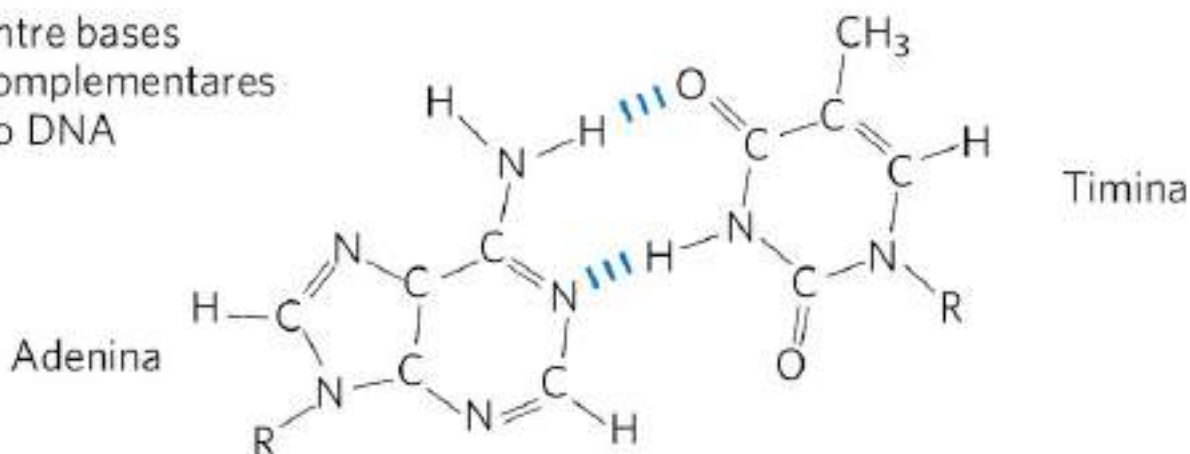


FIGURA 2-4 Algumas ligações de hidrogênio com relevância biológica.

As ligações de hidrogênio são mais fortes quando as moléculas ligadas estão orientadas de forma a maximizar as interações eletrostáticas. Isso ocorre quando o átomo de hidrogênio e os dois átomos que o compartilham estão em linha reta – isto é, quando o átomo aceptor está alinhado com a ligação covalente entre o átomo doador e o hidrogênio (**Fig. 2-5**). Esse arranjo coloca as cargas positivas do íon hidrogênio diretamente entre as duas cargas parciais negativas.

A ligação de hidrogênio é, portanto, altamente direcional e capaz de manter duas moléculas ou grupos unidos por ligação de hidrogênio em um arranjo com geometria específica. Como será visto posteriormente, essa propriedade das ligações de hidrogênio confere estruturas tridimensionais muito precisas a moléculas de proteínas e de ácidos nucleicos, as quais possuem muitas ligações de hidrogênio intramoleculares.

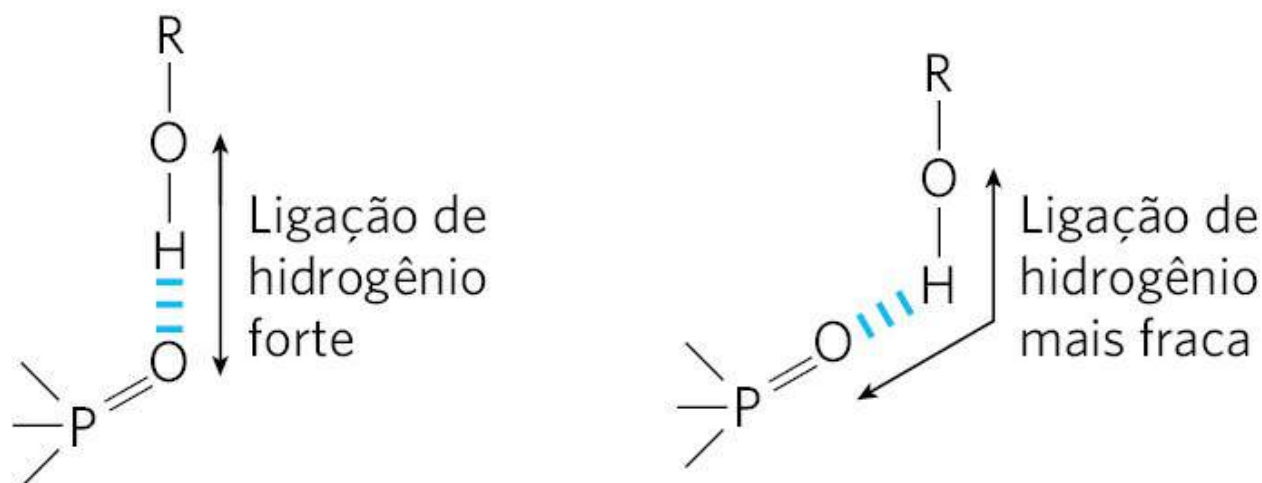
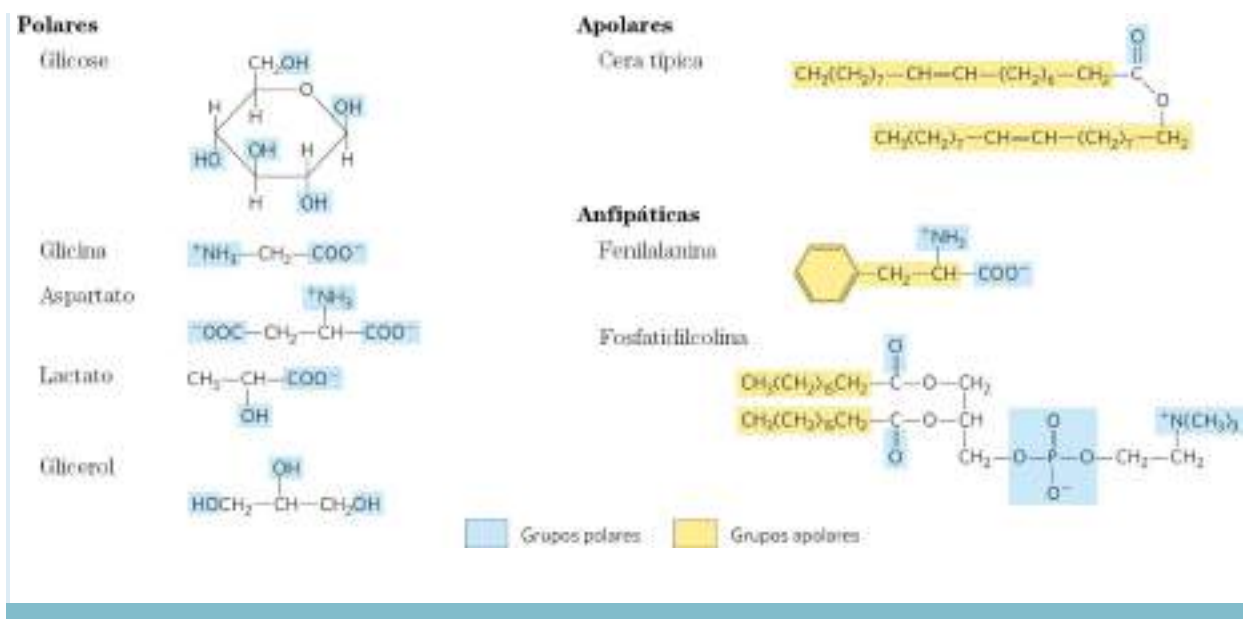


FIGURA 2-5 Orientação das ligações de hidrogênio. A atração entre as cargas elétricas parciais é máxima quando os três átomos envolvidos na ligação (nesse caso, O, H e O) estão dispostos em linha reta. Quando as partes da molécula que fazem ligações de hidrogênio estão submetidas a restrições estruturais (p. ex., quando são parte de uma molécula de proteína), essa geometria ideal pode não ser mais possível, o que faz essas ligações de hidrogênio serem mais fracas.

A água interage eletrostaticamente com solutos carregados

A água é um solvente polar. Ela dissolve prontamente a maioria das biomoléculas, que, em geral, são compostos carregados ou polares (**Tabela 2-1**); compostos que se dissolvem facilmente em água são **hidrofílicos** (do grego para “que ama a água”). Em contrapartida, solventes apolares, como clorofórmio e benzeno, são péssimos solventes para biomoléculas polares, mas dissolvem prontamente moléculas **hidrofóbicas** – moléculas apolares, como lipídeos e ceras. Compostos **anfipáticos** contêm regiões polares (ou carregadas) e regiões apolares. Esse comportamento das moléculas em soluções aquosas é discutido posteriormente.

TABELA 2-1	Exemplos de algumas moléculas biológicas polares, apolares e anfipáticas (mostradas nas formas iônicas em pH 7)



A água dissolve sais como o NaCl pela hidratação e estabilização dos íons Na^+ e Cl^- , enfraquecendo as interações eletrostáticas entre eles e, portanto, neutralizando a tendência de se associarem em uma rede cristalina (**Fig. 2-6**). A água também dissolve prontamente biomoléculas carregadas, incluindo compostos com grupos funcionais, como ácidos carboxílicos ionizados ($-\text{COO}^-$), aminas protonadas ($-\text{NH}_3^+$) e ésteres de fosfato ou anidridos. A água substitui as ligações de hidrogênio soluto-soluto, conectando essas biomoléculas umas às outras através de ligações de hidrogênio soluto-água; assim, as interações eletrostáticas que as moléculas de soluto fazem entre si são blindadas por moléculas de água, ou seja, são substituídas por ligações de hidrogênio entre moléculas de água e de soluto.

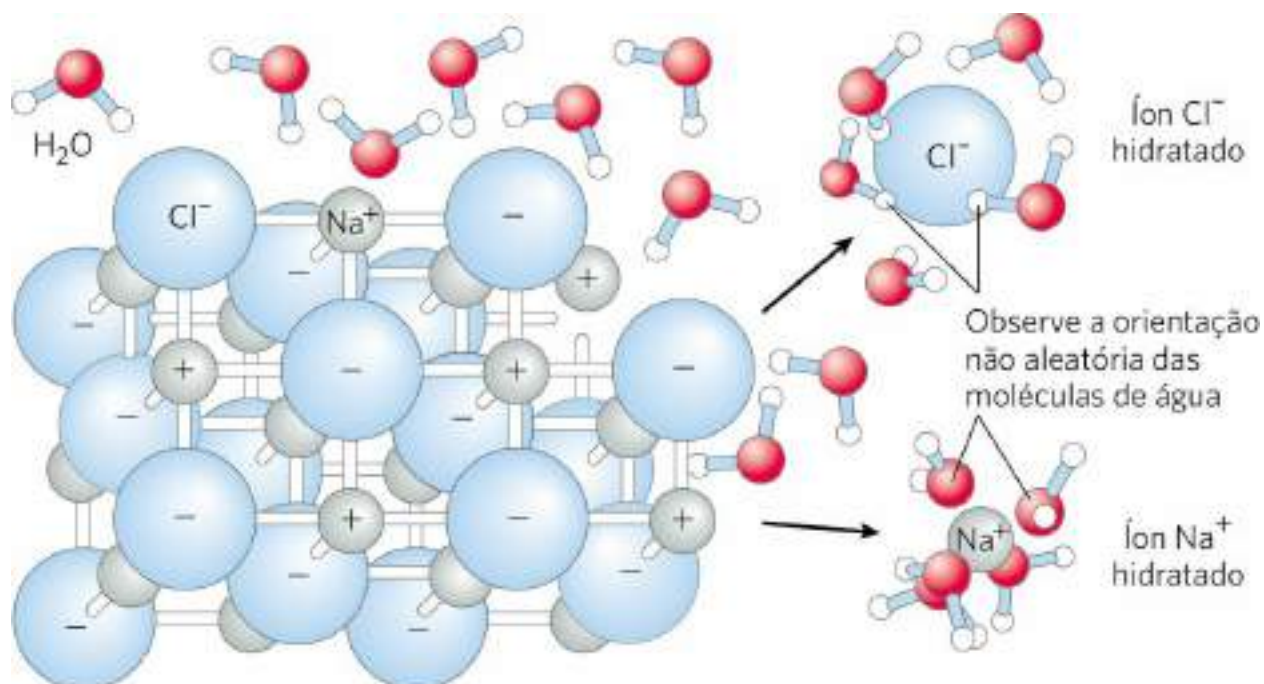


FIGURA 2-6 Água como solvente. A água dissolve muitos sais cristalinos pela hidratação de seus íons. A rede cristalina do NaCl se desfaz quando moléculas de água se aglomeram ao redor dos íons Cl^- e Na^+ . As cargas iônicas são parcialmente neutralizadas, e as atrações eletrostáticas necessárias para a formação da rede são enfraquecidas.

Interações iônicas entre íons dissolvidos são muito mais fortes quando o ambiente for muito menos polar, uma vez que há menos blindagem de cargas entre as moléculas do solvente apolar. A água é efetiva na blindagem de interações eletrostáticas entre íons dissolvidos devido à sua alta constante dielétrica, uma propriedade física que reflete o número de dipolos de um solvente. A intensidade, ou força (F), das interações iônicas, que depende da magnitude das cargas (Q), da distância entre os grupos carregados (r) e da constante dielétrica (ϵ , que é adimensional) do solvente no qual as interações ocorrem, é expressa como:

$$F = \frac{Q_1 Q_2}{\epsilon r^2}$$

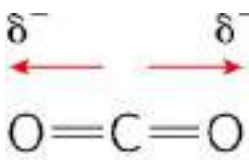
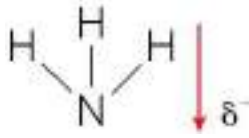
Para a água a 25 °C, ϵ é 78,5, e para o solvente muito apolar benzeno, ϵ é 4,6. A dependência por r^2 faz a atração ou repulsão iônica operar somente a pequenas distâncias – na faixa de 10 a 40 nm (dependendo da concentração do eletrólito) quando o solvente é água. O que determina a interação de duas regiões polares de biomoléculas não é a constante dielétrica do solvente, mas sim constantes dielétricas altamente localizadas, como no caso dos bolsões hidrofóbicos das proteínas.

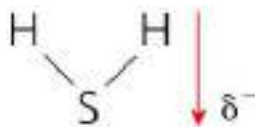
Logo que um sal como o NaCl se dissolve, os íons Na^+ e Cl^- abandonam a rede cristalina e adquirem uma liberdade muito maior de movimento (Fig. 2-6). O aumento resultante na entropia

(grau de desordem) do sistema é, em grande parte, responsável pela facilidade da dissolução de sais como NaCl em água. Em termos termodinâmicos, a solubilização ocorre com uma variação favorável de energia livre: $\Delta G = \Delta H - T \Delta S$, em que ΔH tem um valor positivo pequeno e $T \Delta S$, um valor positivo grande; então, ΔG é negativo.

Gases apolares são fracamente solúveis em água

Os gases de importância biológica CO_2 , O_2 e N_2 são moléculas apolares. No caso do O_2 e do N_2 , os elétrons são compartilhados igualmente por ambos os átomos que participam da ligação. No CO_2 , cada ligação $\text{C}=\text{O}$ é polar, mas os dois dipolos estão em direções exatamente opostas e anulam um ao outro (**Tabela 2-2**). O movimento de moléculas da fase gasosa desordenada de uma solução aquosa restringe tanto o movimento das moléculas do gás como o movimento das moléculas de água e, portanto, leva a um decréscimo de entropia. Essa combinação entre a natureza apolar desses gases e o decréscimo de entropia quando eles entram na solução faz eles serem pouco solúveis em água. Alguns organismos têm “proteínas transportadoras” solúveis em água (p. ex., hemoglobina e mioglobina) que facilitam o transporte de O_2 . O dióxido de carbono forma o ácido carbônico (H_2CO_3) em solução aquosa e é transportado como íon HCO_3^- (bicarbonato) livre – bicarbonato é muito solúvel em água ($\sim 100 \text{ g/L}$ a 25°C) – ou ligado à hemoglobina. Três outros gases, NH_3 , NO e H_2S , também têm papéis biológicos em alguns organismos; esses gases são polares e dissolvem-se facilmente em água.

TABELA 2-2		Solubilidade de alguns gases na água	
Gás	Estrutura^a	Polaridade	Solubilidade em água (g/L)^b
Nitrogênio	$\text{N}=\text{N}$	Apolar	0,018 (40°C)
Oxigênio	$\text{O}=\text{O}$	Apolar	0,035 (50°C)
Dióxido de carbono		Apolar	0,97 (45°C)
Amônia		Polar	900 (10°C)
Sulfeto de hidrogênio		Polar	1.860 (40°C)



^aAs setas representam dipolos elétricos; há uma carga negativa parcial (δ^-) na ponta da seta e uma carga positiva parcial (δ^+ ; não mostrada) na cauda da seta.

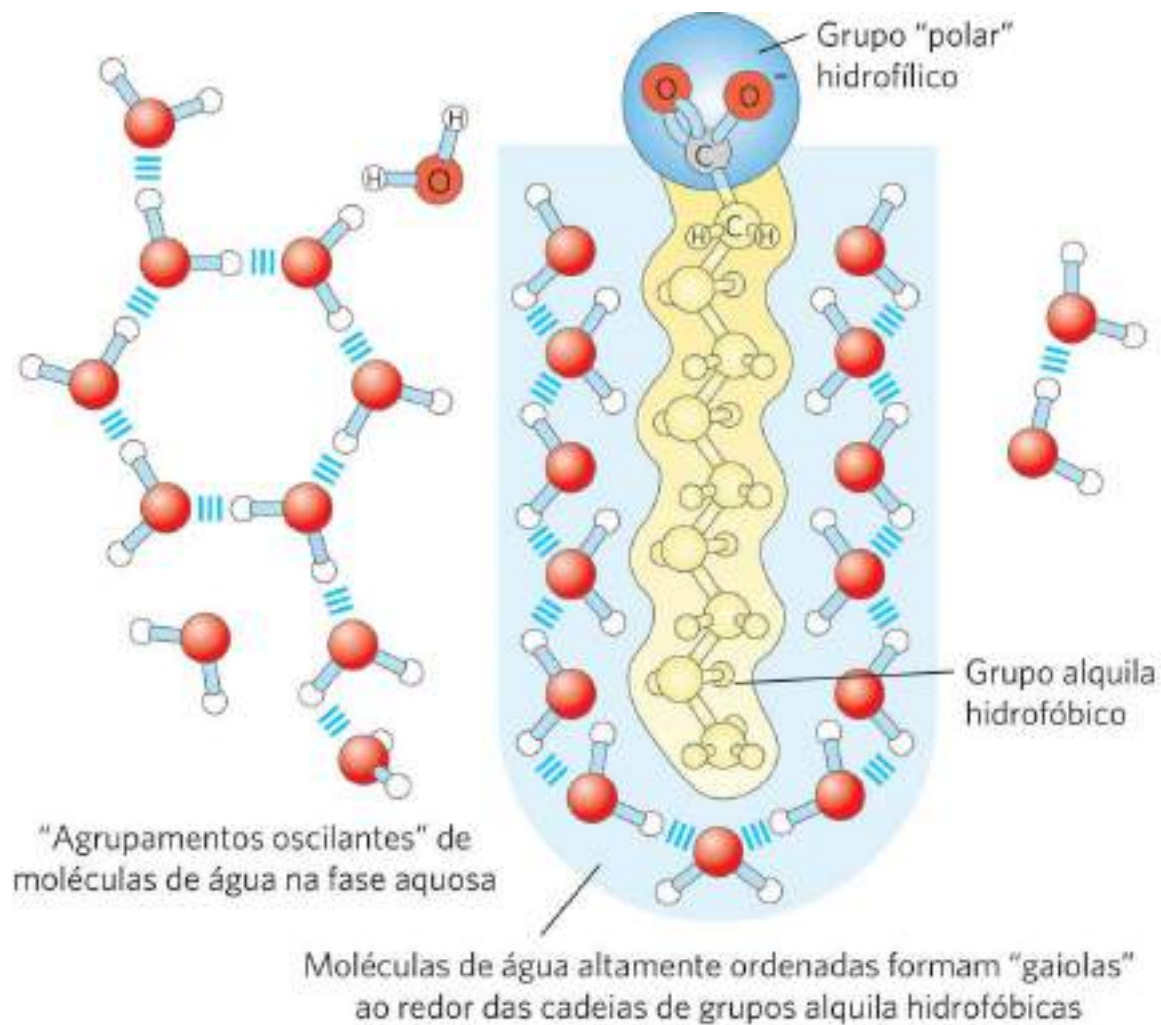
^bObserve que moléculas polares se dissolvem muito melhor, mesmo em temperaturas baixas, do que moléculas apolares em temperaturas relativamente altas.

Compostos apolares forçam mudanças energeticamente desfavoráveis na estrutura da água

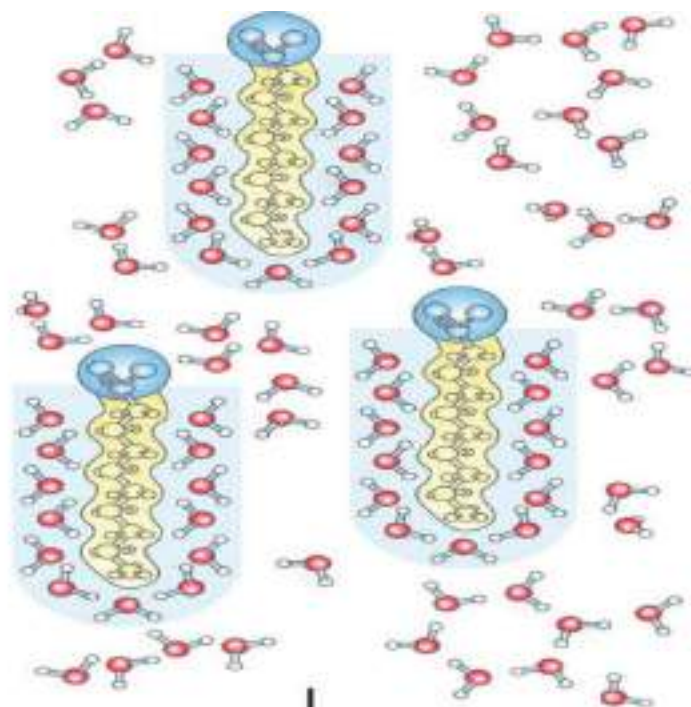
Quando a água é misturada com benzeno ou hexano, formam-se duas fases; nenhum desses líquidos é solúvel no outro. Compostos apolares como benzeno e hexano são hidrofóbicos – eles são incapazes de fazer interações energeticamente favoráveis com moléculas de água e interferem nas ligações de hidrogênio entre as moléculas de água. Todas as moléculas ou íons em solução aquosa interferem com as ligações de hidrogênio de algumas das moléculas de água das suas vizinhanças, mas solutos polares ou carregados (como NaCl) compensam as ligações de hidrogênio água-água perdidas pela formação de novas interações água-soluto. A variação líquida na entalpia (ΔH) da dissolução desses solutos geralmente é pequena. Solutos hidrofóbicos, entretanto, não oferecem essa compensação e, quando adicionados à água, levam a um pequeno ganho de entalpia; a quebra das ligações de hidrogênio entre as moléculas de água retira energia do sistema, o que requer obter energia das vizinhanças. Além da entrada da energia necessária, a dissolução dos compostos hidrofóbicos em água produz um decréscimo mensurável na entropia. As moléculas de água na vizinhança imediata de um soluto apolar são restringidas no que se refere às orientações possíveis que podem tomar, já que formam um envoltório altamente ordenado ao redor de cada molécula do soluto para maximizar as ligações de hidrogênio solvente-solvente. Essas moléculas de água não estão altamente orientadas como aquelas presentes em **clatratos**, compostos cristalinos de solutos apolares e água, mas o efeito é o mesmo em ambos os casos: o ordenamento das moléculas de água reduz a entropia. O número de moléculas de água ordenadas e, portanto, a magnitude da redução da entropia são proporcionais à área da superfície do soluto hidrofóbico retido dentro da camada de moléculas de água que o envolve. A variação de energia livre para a dissolução de um soluto apolar em água é, portanto, desfavorável: $\Delta G = \Delta H - T \Delta S$, em que ΔH tem um valor positivo, ΔS , um valor negativo, e ΔG é positivo.

Quando um composto anfipático (Tabela 2-1) é misturado com água, a região polar hidrofílica interage favoravelmente com a água e tende a se dissolver, mas a região apolar hidrofóbica tende a evitar contato com a água (**Fig. 2-7a**). As regiões apolares das moléculas aglomeram-se para

expor a menor área hidrofóbica possível ao solvente aquoso, e as regiões polares são arranjadas de forma a maximizar as interações umas com as outras e com o solvente (Fig. 2-7b), um fenômeno chamado de **efeito hidrofóbico**. Essas estruturas estáveis de compostos anfipáticos em água, chamadas de **micelas**, podem conter centenas ou milhares de moléculas. Ao se agruparem, as regiões apolares das moléculas atingem um máximo de estabilidade termodinâmica por minimizarem o número de moléculas de água ordenadas necessárias para envolver as porções hidrofóbicas dos solutos, aumentando a entropia do sistema. Um caso especial desse efeito hidrofóbico é a formação da bicamada lipídica nas membranas biológicas (ver Fig. 11-1).

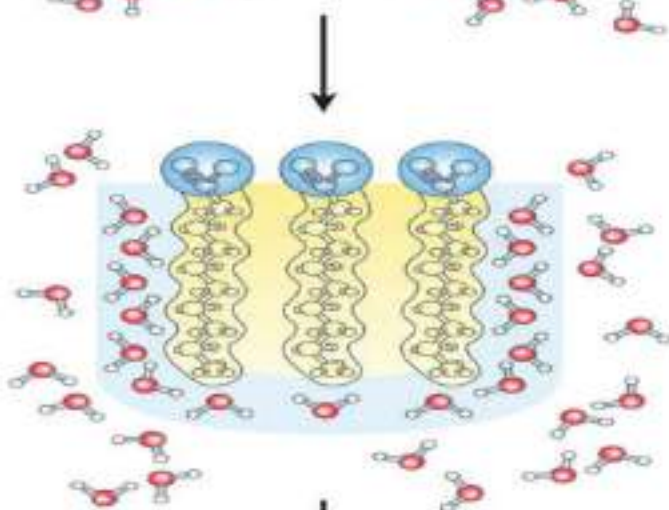


(a)



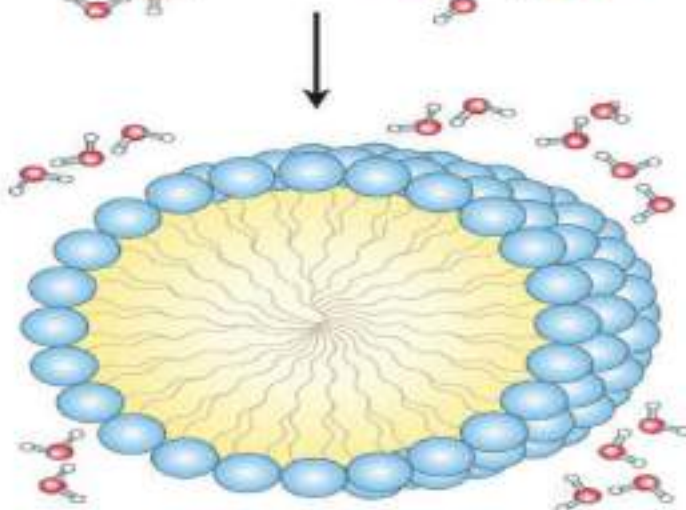
Dispersão de lipídeos em água

As moléculas de lipídeo forçam as moléculas de água circundantes a se tornarem altamente ordenadas.



Aglomerados de moléculas lipídicas

Somente as porções lipídicas das extremidades do aglomerado forçam o ordenamento das moléculas de água. Menos moléculas de água são ordenadas, e a entropia aumenta.



Micelas

Todos os grupos hidrofóbicos são afastados da água; a superfície ordenada de moléculas de água é minimizada, e a entropia aumenta ainda mais.

(b)

FIGURA 2-7 Compostos anfipáticos quando em soluções aquosas formam estruturas que aumentam a entropia. (a) Ácidos graxos de cadeia longa têm cadeias de grupos alquila muito hidrofóbicas, e cada cadeia é envolta por uma camada de moléculas de água altamente ordenadas. (b) Ao se aglomerarem em micelas, as moléculas de ácidos graxos expõem para a água uma superfície com a menor área possível, de modo que menos moléculas de água são necessárias para formar a camada de água ordenada. A entropia obtida pela liberação das moléculas de água até então imobilizadas estabiliza a micela.

Muitas biomoléculas são anfipáticas; proteínas, pigmentos, certas vitaminas e os esteróis e fosfolípídeos de membranas. Todas elas apresentam regiões de superfície polares e apolares. As estruturas formadas por essas moléculas são estabilizadas pelo efeito hidrofóbico, que favorece a agregação das regiões apolares. **P1** O efeito hidrofóbico nas interações entre lipídeos, e entre lipídeos e proteínas, é o mais importante determinante da estrutura de membranas biológicas. A agregação de aminoácidos apolares no interior de proteínas, impulsionada pelo efeito hidrofóbico, também participa na estabilização da estrutura tridimensional das proteínas.

As ligações de hidrogênio entre a água e solutos polares também provocam um ordenamento das moléculas de água, mas o efeito energético é menos significativo que com solutos apolares. A ruptura do ordenamento das moléculas de água faz parte da força motriz da ligação de um substrato polar (reagente) a uma superfície polar complementar de uma enzima: a entropia aumenta quando a enzima desloca moléculas de água ordenadas do substrato, e o substrato desloca moléculas de água ordenadas para fora da superfície da enzima (**Fig. 2-8**). Esse assunto é discutido com mais detalhes no Capítulo 6.

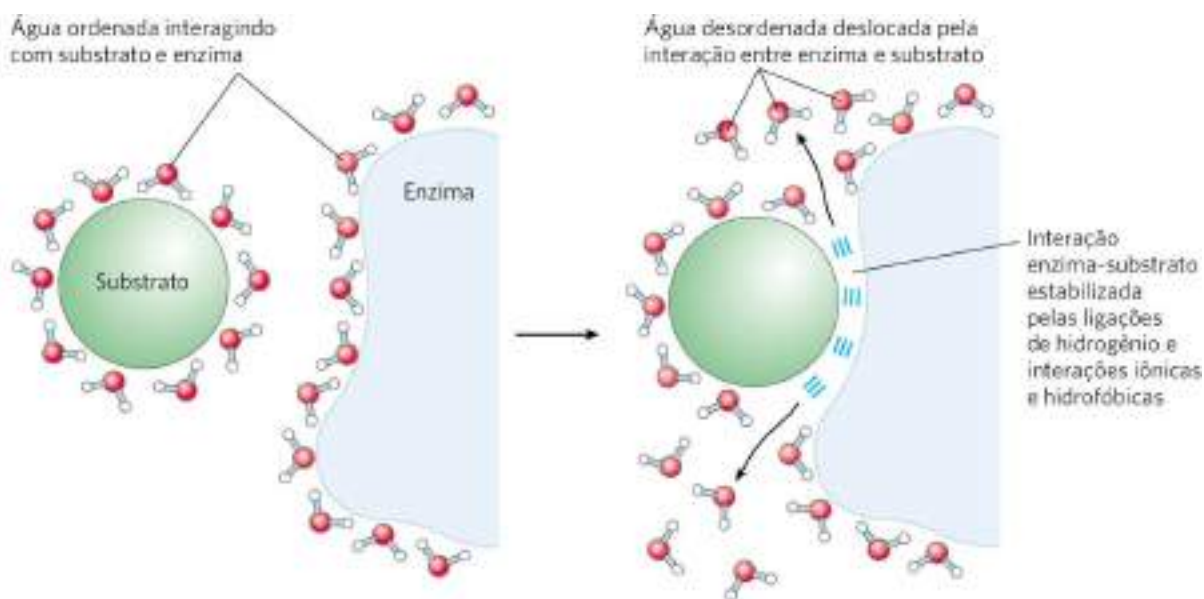


FIGURA 2-8 A liberação de moléculas de água ordenadas favorece a formação de complexos enzima-substrato. A enzima e o substrato, quando separados, forçam moléculas de água das vizinhanças a formarem uma camada ordenada. A ligação do substrato com a enzima libera algumas dessas águas ordenadas, e o aumento na entropia que resulta disso favorece termodinamicamente a formação do complexo enzima-substrato.

Interações de van der Waals são atrações interatômicas fracas

Quando dois átomos não carregados são colocados bem próximos um do outro, as suas nuvens de elétrons influenciam uma à outra. Variações aleatórias nas posições dos elétrons ao redor do núcleo podem criar um dipolo elétrico transitório, que induz a formação de um dipolo transitório de carga oposta no átomo que está mais próximo. Os dois dipolos atraem-se fracamente, aproximando os dois núcleos. Essas atrações fracas são chamadas de **interações de van der Waals** (também conhecidas como forças de dispersão de London). À medida que os dois núcleos se aproximam, as nuvens de elétrons começam a se repelir mutuamente. Nesse ponto, no qual a atração líquida é máxima, diz-se que os núcleos estão em contato de van der Waals. Cada átomo tem um **raio de van der Waals** característico, uma medida do quão próximo um átomo permite que outro se aproxime (**Tabela 2-3**). No caso dos modelos moleculares de volume atômico mostrados neste livro, os átomos estão representados em tamanhos proporcionais aos respectivos raios de van der Waals.

TABELA 2-3 Raios de van der Waals e raios covalentes (ligação simples) de alguns elementos		
Elementos	Raio de van der Waals (nm)	Raio covalente para ligações simples (nm)
H	0,11	0,030
O	0,15	0,066
N	0,15	0,070
C	0,17	0,077
S	0,18	0,104
P	0,19	0,110
I	0,21	0,133

Fontes: Para os raios de van der Waal, R. Chauvin, *J. Phys. Chem.* 96:9194, 1992. Para os raios covalentes, L. Pauling, *Nature of the Chemical Bond*, 3rd edn, Cornell University Press, 1960.

Nota: os raios de van der Waals descrevem as dimensões dos átomos no espaço. Quando dois átomos estão ligados covalentemente, os raios atômicos no ponto da ligação são menores que os raios de van der Waals, uma vez que os átomos ficam unidos porque o par de elétrons compartilhado os aproxima. A distância entre os núcleos em uma interação de van der Waals ou em uma ligação covalente é aproximadamente igual à soma dos raios de van der Waals ou dos raios covalentes dos dois átomos, respectivamente. Portanto, o comprimento de uma ligação carbono-carbono simples é de cerca de 0,077 nm + 0,077 nm = 0,154 nm.

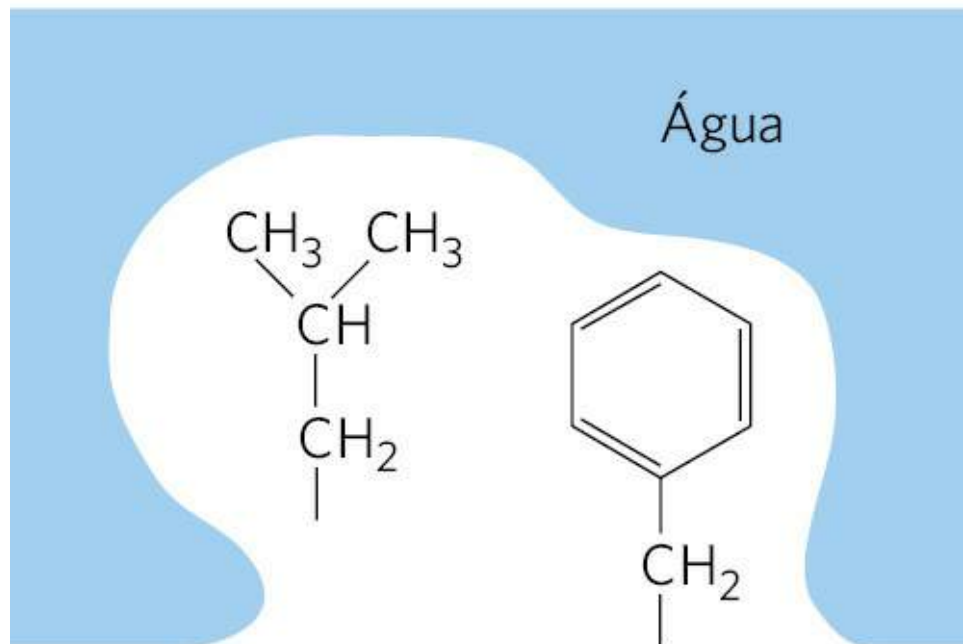
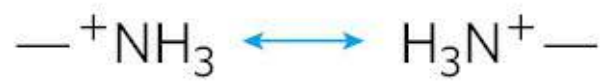
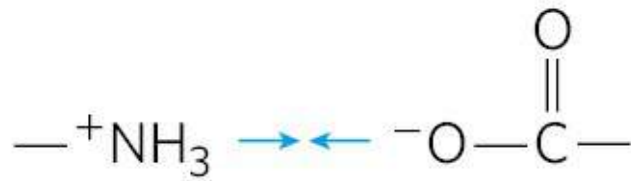
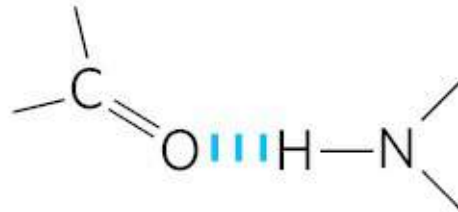
Interações fracas são cruciais para a estrutura e a função das macromoléculas

Penso que, à medida que os métodos da química estrutural forem aplicados a problemas fisiológicos, será descoberto que a importância das ligações de hidrogênio para a fisiologia é maior do que qualquer outra característica estrutural.

—Linus Pauling,
The Nature of the Chemical Bond, 1939

As interações não covalentes que descrevemos – ligações de hidrogênio e interações iônicas, hidrofóbicas e de van der Waals (**Tabela 2-4**) – são muito mais fracas do que as ligações covalentes. É necessário o fornecimento de 350 kJ de energia para quebrar um mol (6×10^{23}) de ligações simples do tipo C–C, e cerca de 410 kJ de energia para quebrar um mol de ligações C–H, porém uma quantidade tão pequena como 4 kJ já é suficiente para romper um mol de interações típicas de van der Waals. As interações orientadas pelo efeito hidrofóbico são também muito mais fracas que as ligações covalentes, embora elas sejam substancialmente fortalecidas por um solvente altamente polar (p. ex., solução salina concentrada). Interações iônicas e ligações de hidrogênio variam em intensidade, dependendo da polaridade do solvente e do alinhamento dos átomos ligados ao hidrogênio, mas são sempre muito mais fracas que as ligações covalentes. Em um solvente aquoso a 25 °C, a energia térmica disponível pode ser da mesma ordem de grandeza que a força dessas interações fracas, e as interações entre as moléculas do soluto e do solvente (água) são quase tão favoráveis quanto aquelas das interações soluto-soluto. Consequentemente, ligações de hidrogênio e interações iônicas, hidrofóbicas e interações de van der Waals estão continuamente se formando e se desfazendo.

TABELA 2-4	Os quatro tipos de interações não covalentes (“fracas”) entre biomoléculas em solventes aquosos
Ligações de hidrogênio	
Entre grupos neutros	
Entre ligações peptídicas	
Interações iônicas	
Atração	
Repulsão	
Efeito hidrofóbico	



Interações de van der Waals Dois átomos quaisquer bem próximos um do outro

P1 Apesar de as interações desses quatro tipos serem individualmente fracas, em comparação com as ligações covalentes, o efeito cumulativo de um grande número de interações desse tipo pode ser muito significativo. Por exemplo, a ligação não covalente de uma enzima ao seu substrato pode envolver muitas ligações de hidrogênio e uma ou mais interações iônicas, assim como efeito hidrofóbico e interações de van der Waals. A formação de cada uma dessas associações contribui para um decréscimo na energia livre do sistema. Pode-se calcular a estabilidade de uma interação não covalente, como a da ligação de hidrogênio entre uma molécula pequena e uma macromolécula, a partir da energia de ligação, o que corresponde à redução na energia do sistema quando a ligação ocorre. A estabilidade, medida pela constante de equilíbrio (discutido na Seção 2.2) da reação da ligação, varia *exponencialmente* em função da energia de ligação. Para dissociar duas biomoléculas (como uma enzima e seu substrato ligado) que estejam associadas de forma não covalente por meio de muitas interações fracas, todas as interações devem ser rompidas ao mesmo tempo. A ocorrência de rupturas simultâneas é muito improvável, uma vez que essas interações flutuam aleatoriamente. Portanto, um grande número de interações fracas dá uma estabilidade molecular muito maior em relação ao que seria de esperar intuitivamente a partir de uma simples soma de todas as pequenas energias de ligação.

Macromoléculas como proteínas, DNA e RNA contêm tantos sítios com potencial para formarem ligações de hidrogênio, interações iônicas, interações de van der Waals ou agregação hidrofóbica que os efeitos cumulativos dessas pequenas forças de ligação podem ser enormes. **P1**

No caso das macromoléculas, a estrutura mais estável (i.e., a estrutura nativa) em geral é aquela na qual as interações fracas estão maximizadas. O enovelamento de um único polipeptídeo ou de uma cadeia polinucleotídica em sua forma tridimensional é determinado por esse princípio. A ligação de um antígeno a um anticorpo específico depende dos efeitos cumulativos de muitas interações fracas. A energia liberada quando uma enzima se liga não covalentemente ao seu substrato é a principal fonte do poder catalítico da enzima. A ligação de um hormônio ou um neurotransmissor ao seu receptor proteico celular é o resultado de múltiplas interações fracas. Uma consequência do grande tamanho das enzimas e dos receptores (em relação aos substratos e ligantes) é que suas superfícies grandes geram muitas possibilidades para a formação de interações fracas. No nível molecular, a complementaridade entre as biomoléculas em interação é um reflexo da complementaridade e das interações fracas entre grupos polares e carregados e da proximidade a porções hidrofóbicas presentes na superfície das moléculas.

Quando a estrutura de uma proteína como a hemoglobina é determinada por cristalografia de raios X (ver Fig. 4-30), frequentemente são encontradas moléculas de água ligadas tão fortemente que fazem parte da estrutura do cristal (**Fig. 2-9**); o mesmo ocorre para a água presente em cristais de RNA ou DNA. Essas moléculas de água ligadas, que também podem ser detectadas em soluções aquosas por ressonância magnética nuclear (ver Fig. 4-31), têm propriedades bem diferentes das propriedades das moléculas de água presentes no seio do solvente. Por exemplo, as moléculas de água ligadas não têm atividade osmótica (ver abaixo). Para muitas proteínas, a presença de moléculas de água fortemente ligadas é essencial para a função. Em uma reação crítica da fotossíntese, por exemplo, há um fluxo de prótons através de uma membrana biológica à medida que a luz impulsiona um fluxo de elétrons por uma série de proteínas transportadoras de elétrons (ver Fig. 20-17). Uma dessas proteínas, o citocromo *f*, tem uma cadeia com cinco moléculas de água ligadas (**Fig. 2-10**) que pode fornecer um caminho para os prótons se moverem através da membrana em um processo chamado de “salto de prótons” (descrito mais adiante neste capítulo).

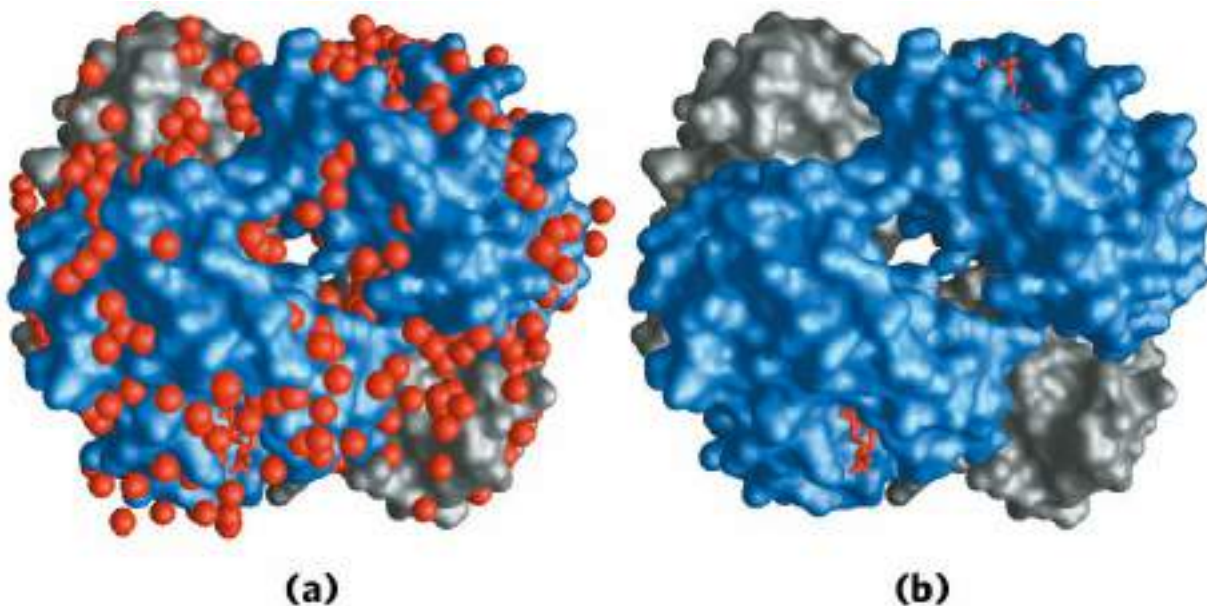


FIGURA 2-9 Água ligada à hemoglobina. Estrutura cristalina da hemoglobina, mostrada (a) com moléculas de água ligadas (esferas vermelhas) e (b) sem moléculas de água. As moléculas de água estão ligadas tão firmemente que afetam o padrão de difração de raios X como se fossem partes fixas da proteína. As duas subunidades α da hemoglobina estão mostradas em cinza, e as duas subunidades β , em azul. Cada subunidade tem ligado um grupo heme (estrutura em bastão vermelho), visível somente nas subunidades β nesta figura. A estrutura e a função da hemoglobina estão discutidas em detalhes no Capítulo 5. [Dados de PDB ID 1A3N, J. R. H. Tame e B. Vallone, *Acta Crystallogr. D* 56:805, 2000.]

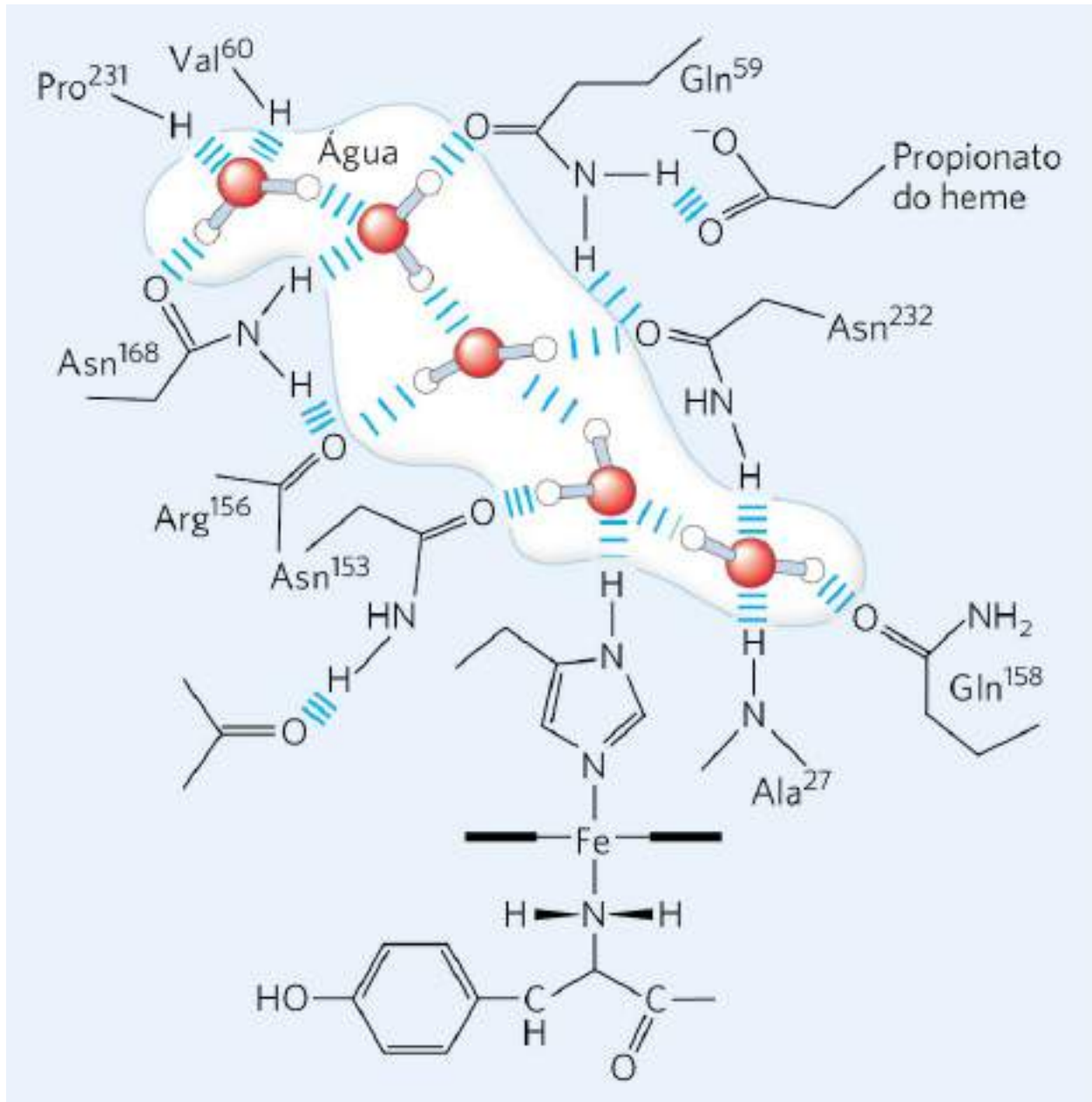


FIGURA 2-10 Cadeia de água no citocromo *f*. Moléculas de água estão ligadas ao canal de prótons do citocromo *f*, uma proteína de membrana que faz parte da maquinaria de fixação de energia da fotossíntese nos cloroplastos. Cinco moléculas de água estão unidas por ligações de hidrogênio umas às outras e a grupos funcionais da proteína: átomos da cadeia peptídica pertencentes a resíduos de valina, prolina, arginina e alanina e cadeias laterais de três resíduos de asparagina e de dois resíduos de glutamina. A proteína tem ligado um grupo heme, sendo que o íon ferro desse grupo facilita o fluxo de elétrons durante a fotossíntese. O fluxo de elétrons é acoplado ao movimento de prótons através da membrana, o que provavelmente envolve um “salto de prótons” através dessa cadeia de moléculas de água ligada à proteína. [Informações de P. Nicholls, *Cell. Mol. Life Sci.* 57:987, 2000, Fig. 6a (redesenhada a partir de PDB ID 1HCZ, S. E. Martinez et al., *Prot. Sci.* 5:1081, 1996).]

Solutos concentrados produzem pressão osmótica

Solutos de todos os tipos modificam algumas propriedades físicas do solvente, a água: a pressão de vapor, o ponto de ebulição e de fusão (ponto de congelamento) e a pressão osmótica. Essas propriedades são chamadas de **propriedades coligativas** (*coligativo* significa “manter junto”), pois o efeito de solutos sobre essas quatro propriedades tem como base o mesmo princípio: a concentração de água é mais baixa nas soluções do que na água pura. O efeito da concentração do soluto nas propriedades coligativas da água é independente das propriedades químicas do soluto; ele depende somente do *número* de partículas de soluto (moléculas ou íons) para uma dada quantidade de água. Por exemplo, um composto como o NaCl, que se dissocia em solução, tem efeito na pressão osmótica duas vezes maior que um número igual de mols de um soluto que não se dissocia, como a glicose.

As moléculas de água tendem a se mover da região de maior concentração de água para a de menor concentração, seguindo a tendência natural de um sistema de se tornar cada vez mais desordenado. Quando duas soluções aquosas diferentes são separadas por uma membrana semipermeável (que permite a passagem de água, mas não das moléculas do soluto), a difusão das moléculas de água da região de maior concentração para a região de menor concentração de água produz pressão osmótica (**Fig. 2-11**). A pressão osmótica, Π , medida como a força necessária para resistir ao movimento da água, é estimada pela equação de van't Hoff:

$$\Pi = icRT$$

em que R é a constante dos gases e T é a temperatura absoluta. O símbolo i é o fator de van't Hoff, uma medida de quanto de soluto se dissocia em duas ou mais espécies iônicas. O termo c é a concentração molar do soluto, e ic é a **osmolaridade** da solução, que é o produto do fator de van't Hoff i e c . Em soluções diluídas de NaCl, o soluto se dissocia completamente em Na^+ e Cl^- , dobrando o número de partículas de soluto, portanto $i = 2$. Para todos solutos não ionizáveis, $i = 1$. Para soluções com vários (n) solutos, Π é a soma da contribuição de cada uma das espécies presentes:

$$\Pi = RT (i_1c_1 + i_2c_2 + i_3c_3 + \dots + i_nc_n)$$

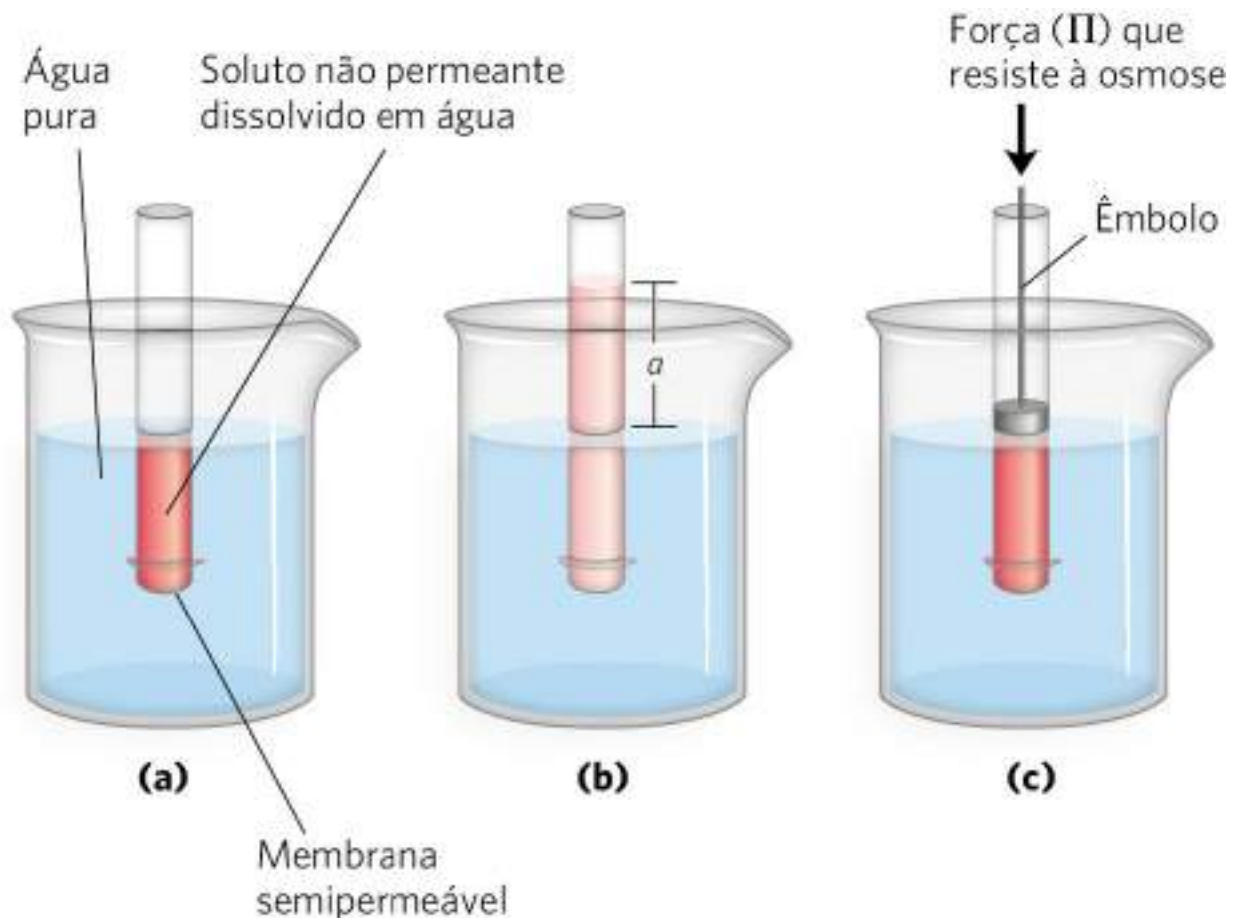


FIGURA 2-11 Osmose e determinação da pressão osmótica. (a) Estado inicial. O tubo contém uma solução aquosa, o béquer contém água pura, e a membrana semipermeável permite a passagem de água, mas não de soluto. A água flui a partir do béquer para dentro do tubo para que a sua concentração dos dois lados da membrana fique igualada. (b) Estado final. Houve movimento de água para a solução do composto que não permeia através da membrana, diluindo-o e aumentando o nível de água na coluna dentro do tubo. No equilíbrio, a força da gravidade que atua sobre a solução do tubo equilibra a tendência da água de se mover para dentro do tubo, onde sua concentração é menor. (c) A pressão osmótica (Π) é medida como a força que deve ser aplicada para que a solução no tubo volte a ficar no mesmo nível que estava no béquer. Essa força é proporcional à altura, a , da coluna em (b).

A **osmose**, o movimento da água através de uma membrana semipermeável dirigido por diferenças na pressão osmótica, é um fator importante na vida da maioria das células. As membranas plasmáticas são mais permeáveis à água do que à maioria das outras moléculas pequenas, íons e macromoléculas, uma vez que canais proteicos (aquaporinas; ver Tabela 11-3) na membrana permitem seletivamente a passagem de água. Soluções com osmolaridade igual à do citosol de uma célula são ditas **isotônicas** em relação à célula. Circundada por uma solução isotônica, uma célula nunca ganha ou perde água (**Fig. 2-12**). Em soluções **hipertônicas** (com maior osmolaridade que o citosol), a água movimenta-se para fora, e a célula encolhe. Em soluções **hipotônicas** (com menor osmolaridade que o citosol), a célula incha à medida que a água entra. Nos seus ambientes naturais, as células geralmente têm maior concentração de

biomoléculas e íons do que as vizinhanças, logo a pressão osmótica tende a trazer água para dentro das células. Se não for contrabalançado de alguma maneira, esse movimento de água para dentro das células pode distender a membrana plasmática e, por fim, causar o rompimento da célula (osmólise).

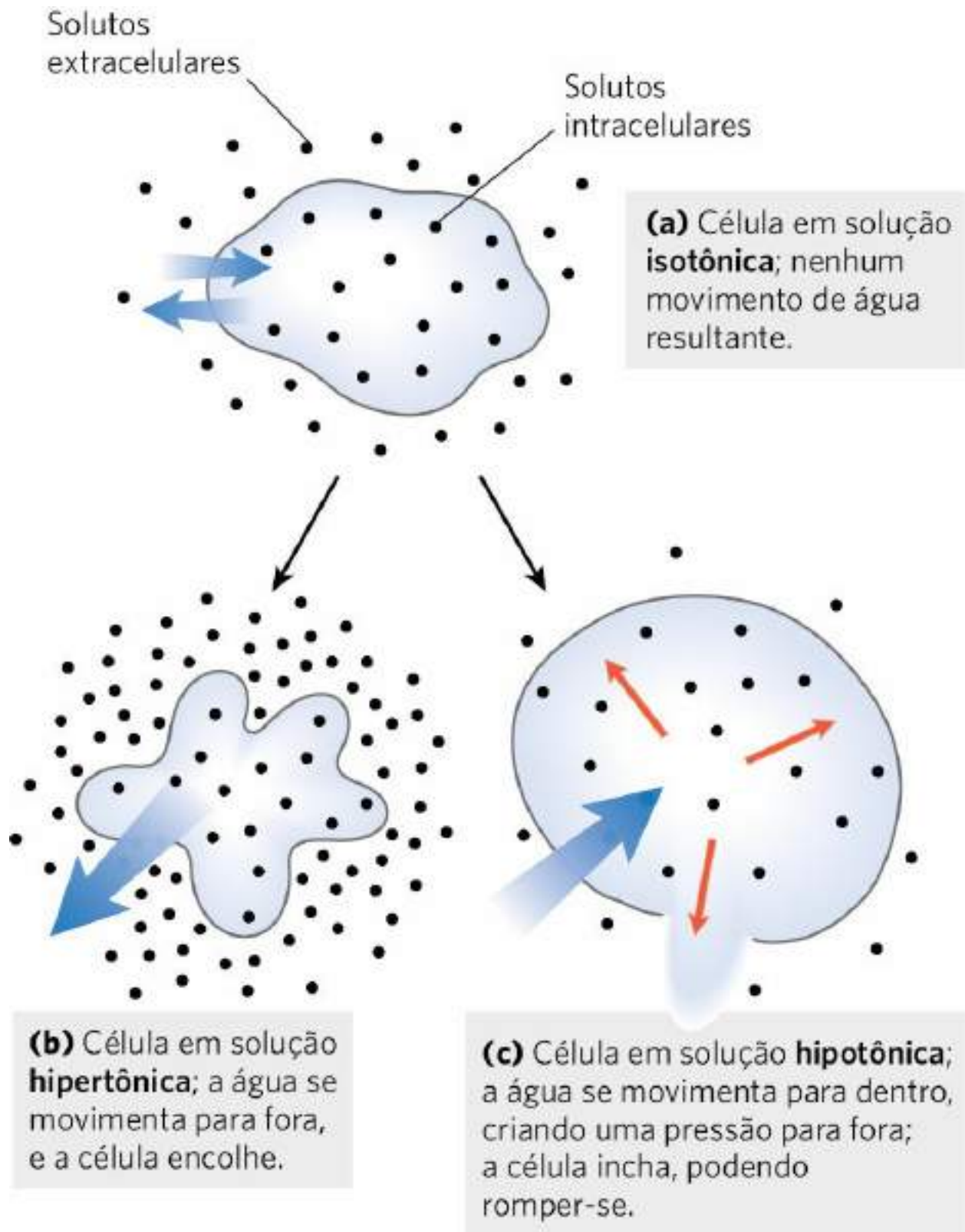


FIGURA 2-12 Efeito da osmolaridade extracelular no movimento da água através da membrana plasmática. Quando uma célula que esteja em equilíbrio osmótico com o meio circundante – isto é, uma célula em (a) um meio isotônico – é

transferida para (b) uma solução hipertônica ou (c) uma solução hipotônica, a água tende a se mover através da membrana na direção que tende a igualar a osmolaridade nos lados externo e interno da célula.

Muitos mecanismos evoluíram para evitar essa catástrofe. Em bactérias e plantas, a membrana plasmática está envolvida por uma parede celular não expansível com rigidez e força suficientes para resistir à pressão osmótica e impedir a osmólise. Alguns protistas de água doce que vivem em meio altamente hipotônico têm uma organela (vacúolo contrátil) que bombeia água para fora da célula. Nos animais multicelulares, o plasma sanguíneo e o líquido intersticial (o líquido extracelular dos tecidos) são mantidos em osmolaridade semelhante à do citosol. A alta concentração de albumina e outras proteínas no plasma sanguíneo contribui para a sua osmolaridade. As células também bombeiam ativamente Na^+ e outros íons para o líquido intersticial para que o equilíbrio osmótico com o meio circundante seja mantido.

Como o efeito dos solutos na osmolaridade depende do *número* de partículas dissolvidas, e não das suas *massas*, as macromoléculas (proteínas, ácidos nucleicos, polissacarídeos) têm efeito muito menor na osmolaridade de uma solução do que seus respectivos componentes na forma de monômeros em uma quantidade equivalente à massa do polímero. Por exemplo, um *grama* de um polissacarídeo composto de 1.000 unidades de glicose tem o mesmo efeito na osmolaridade que um *miligrama* de glicose. O armazenamento de energia na forma de polissacarídeos (amido ou glicogênio), em vez de glicose ou outros açúcares simples, evita um grande aumento na pressão osmótica nas células que os armazenam.

As plantas usam a pressão osmótica para ter rigidez mecânica. A alta concentração de soluto nos vacúolos das células vegetais arrasta água para dentro das células, mas a parede celular não é expansível, evitando, assim, o inchamento; em vez de inchar, a pressão exercida contra a parede celular (pressão de turgor) aumenta, enrijecendo a célula, o tecido e o corpo da planta. A alface da salada murcha devido à perda de água que reduziu a pressão de turgor. A osmose também traz consequências para os protocolos de laboratórios. Mitocôndrias, cloroplastos e lisossomos, por exemplo, são revestidos por membranas semipermeáveis. Ao isolar essas organelas a partir de células rompidas, os bioquímicos devem fazer os fracionamentos em soluções isotônicas (ver Fig. 1-7) para evitar a entrada excessiva de água para dentro das organelas, o que levaria ao inchaço e, por conseguinte, ao rompimento. Os tampões usados para fracionamento celular geralmente contêm concentrações suficientes de sacarose ou algum outro soluto inerte para proteger as organelas da osmólise.

EXEMPLO 2-1 *Força osmótica de uma organela*

Pressuponha que os principais solutos presentes nos lisossomos sejam KCl ($\sim 0,1 \text{ M}$) e NaCl ($\sim 0,03 \text{ M}$). Ao isolar lisossomos, qual concentração de sacarose deve estar presente

na solução de preparo do extrato, em temperatura ambiente (25 °C), para evitar o inchamento e a lise das organelas?

SOLUÇÃO: É preciso achar a concentração de sacarose que produz uma força osmótica igual à produzida pelos sais KCl e NaCl presentes dentro dos lisossomos. A equação para calcular a força osmótica (a equação de van't Hoff) é

$$\Pi = RT (i_1 c_1 + i_2 c_2 + i_3 c_3 + \dots + i_n c_n)$$

em que R é a constante dos gases 8,315 J/mol · K; T é a temperatura absoluta (em Kelvin); c_1 , c_2 e c_3 são as concentrações molares de cada soluto; e i_1 , i_2 e i_3 são o número de partículas de cada soluto presente na solução ($i = 2$ para KCl e NaCl).

A pressão osmótica do conteúdo do lisossomo é

$$\begin{aligned}\Pi_{\text{lisossomo}} &= RT (i_{\text{KCl}} c_{\text{KCl}} + i_{\text{NaCl}} c_{\text{NaCl}}) \\ &= RT [(2)(0,1 \text{ mol/L}) + (2)(0,03 \text{ mol/L})] \\ &= RT (0,26 \text{ mol/L})\end{aligned}$$

A pressão osmótica de uma solução de sacarose é dada por

$$\Pi_{\text{sacarose}} = RT(i_{\text{sacarose}} c_{\text{sacarose}})$$

Nesse caso, $i_{\text{sacarose}} = 1$, porque a sacarose não se ioniza. Portanto,

$$\Pi_{\text{sacarose}} = RT(c_{\text{sacarose}})$$

A força osmótica do conteúdo do lisossomo é igual à força osmótica da solução de sacarose quando

$$\Pi_{\text{sacarose}} = \Pi_{\text{lisossomo}}$$

$$RT (c_{\text{sacarose}}) = RT (0,26 \text{ mol/L})$$

$$c_{\text{sacarose}} = 0,26 \text{ mol/L}$$

A sacarose tem uma massa molecular de M_r 342, de modo que a concentração de sacarose necessária é $(0,26 \text{ mol/L})(342 \text{ g/mol}) = 88,92 \text{ g/L}$. Uma vez que concentrações de solutos têm uma precisão de apenas um número significativo, $c_{\text{sacarose}} = 0,09 \text{ g/L}$.

Como será visto mais adiante, células do fígado e do músculo armazenam carboidratos não na forma de açúcares de baixa massa molecular, como glicose ou sacarose, mas na forma de glicogênio, polímero de alta massa molecular. Isso permite que a célula tenha uma grande quantidade de glicogênio com um efeito mínimo na osmolaridade do citosol.

RESUMO 2.1 *Interações fracas em sistemas aquosos*

- As eletronegatividades muito diferentes do H e do O tornam a água uma molécula muito polar, capaz de formar ligações de hidrogênio entre moléculas de água e entre moléculas de água e solutos. As ligações de hidrogênio são fugazes, basicamente eletrostáticas e mais fracas que as ligações covalentes.
- Álcoois, aldeídos, cetonas e compostos contendo ligações N–H formam ligações de hidrogênio com moléculas de água e, portanto, são solúveis em água.
- Em virtude de blindar as cargas elétricas negativas dos íons e aumentar a entropia do sistema, a água dissolve cristais de solutos ionizáveis.
- N₂, O₂ e CO₂ são apolares e fracamente solúveis em água. NH₃ e H₂S são ionizáveis e, portanto, muito solúveis em água.
- Compostos apolares (hidrofóbicos) dissolvem-se fracamente em água; eles não são capazes de formar ligações de hidrogênio com o solvente, e a sua presença força um ordenamento energeticamente desfavorável de moléculas de água em torno das suas superfícies hidrofóbicas. Para minimizar a superfície exposta à água, os compostos apolares como os lipídeos formam agregados (micelas e vesículas formadas por bicamadas), nos quais as porções hidrofóbicas são sequestradas no interior (uma associação impulsionada pelo efeito hidrofóbico) e apenas as partes mais polares da molécula interagem com a água.
- Há formação de interações de van der Waals quando dois núcleos próximos induzem a formação de dipolo um no outro. A menor distância que dois átomos podem se aproximar define os respectivos raios de van der Waals.
- Interações fracas e não covalentes em grande número influenciam decisivamente o enovelamento das macromoléculas, como as proteínas e os ácidos nucleicos. As conformações mais estáveis são aquelas nas quais as ligações de hidrogênio são maximizadas dentro da molécula e entre a molécula e o solvente, e nas quais as partes hidrofóbicas se agregam no interior das moléculas, ficando afastadas do solvente aquoso.
- Quando dois compartimentos aquosos são separados por uma membrana semipermeável (como a membrana plasmática que separa uma célula do meio circundante), a água move-se através da membrana para igualar a osmolaridade nos dois compartimentos. Essa tendência da água em se mover através de uma membrana semipermeável produz pressão osmótica.

2.2 Ionização da água e de ácidos e bases fracas

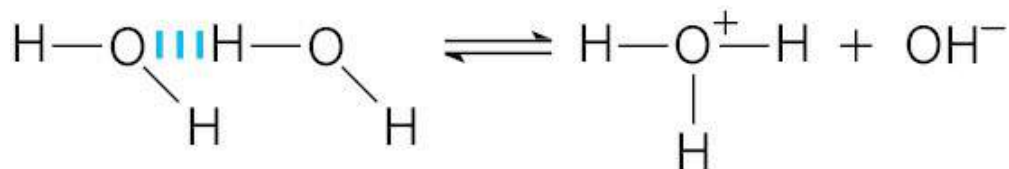
Embora muitas das propriedades da água como solvente possam ser explicadas pelo fato de a molécula de H_2O não ser carregada, o pequeno grau de ionização da água em íons hidrogênio (H^+) e hidróxido (OH^-) também deve ser levado em consideração. Como todas as reações reversíveis, a ionização da água pode ser descrita por uma constante de equilíbrio. Quando os ácidos fracos são dissolvidos na água, eles contribuem com um H^+ por ionizarem-se; bases fracas consomem um H^+ , tornando-se protonadas. Esses processos também são governados por constantes de equilíbrio. A concentração total dos íons hidrogênio a partir de todas as fontes é mensurável experimentalmente, sendo expressa como o pH da solução. Para prever o estado de ionização de solutos na água, deve-se considerar as constantes de equilíbrio relevantes para cada reação de ionização. Por isso, será feita uma breve discussão sobre a ionização da água e de ácidos e bases fracas dissolvidos em água.

A água pura é levemente ionizada

As moléculas de água têm uma leve tendência a sofrer uma ionização reversível, produzindo um íon hidrogênio (um próton) e um íon hidróxido, gerando o equilíbrio



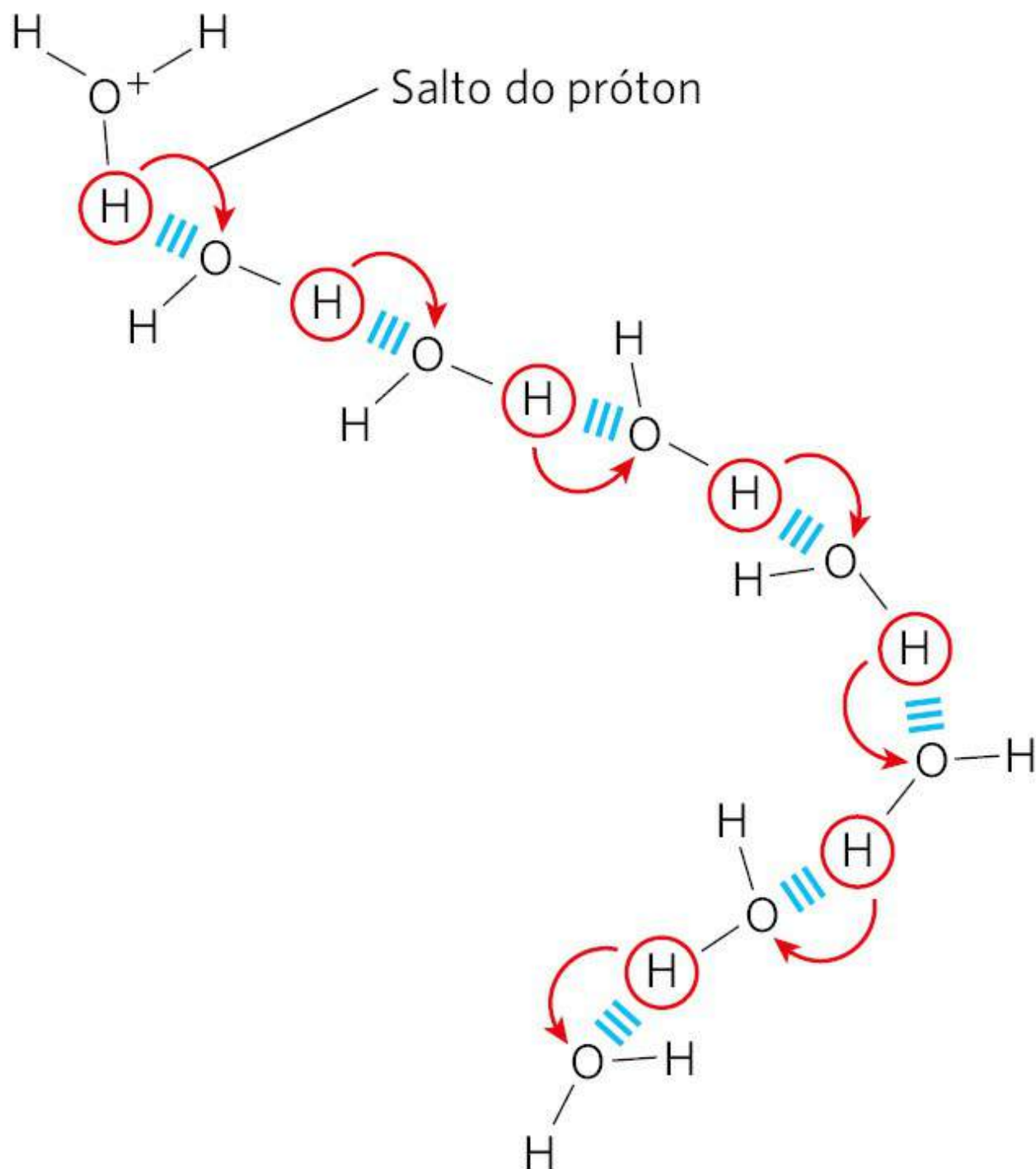
Embora geralmente seja indicado o produto de dissociação da água como H^+ , não existem prótons livres na solução; os íons hidrogênio formados em água são imediatamente hidratados e formam **íons hidrônio** (H_3O^+). As ligações de hidrogênio entre as moléculas de água fazem a hidratação dos prótons dissociados ser praticamente instantânea:



A ionização da água pode ser medida pela sua condutividade elétrica; a água pura conduz corrente elétrica à medida que H_3O^+ migra para o cátodo e OH^- , para o ânodo. O movimento dos íons hidrônio e hidróxido no campo elétrico é extremamente rápido quando comparado com o movimento de outros íons, como Na^+ , K^+ e Cl^- . Essa alta mobilidade iônica resulta do chamado “salto de prótons”, mostrado na **Figura 2-13**. Os prótons individuais não se movem para muito longe na solução, mas uma série de prótons salta entre as moléculas de água ligadas por ligações

de hidrogênio, gerando um movimento líquido de prótons por uma longa distância em um tempo extremamente curto. (OH^- também se move rapidamente por saltos, mas na direção oposta.) Como resultado da alta mobilidade iônica do H^+ , reações acidobásicas em soluções aquosas são excepcionalmente rápidas. Como observado anteriormente, o salto de prótons muito provavelmente exerce uma função nas reações biológicas de transferência de prótons (Fig. 2-10).

Íon hidrônio entrega um próton.



Água aceita um próton e se torna um íon hidrônio.

FIGURA 2-13 Salto de prótons. Pequenos “saltos” de prótons entre uma série de moléculas de água ligadas por ligações de hidrogênio resultam em um movimento líquido extremamente rápido de um próton por uma distância grande. Como o íon hidrônio (parte superior, à esquerda) doa um próton, uma molécula de água a certa distância (parte inferior, à direita) adquire um próton, tornando-se um íon hidrônio. O salto de prótons é muito mais rápido que a difusão verdadeira e explica a mobilidade iônica incrivelmente alta dos íons H^+ comparados com outros cátions monovalentes, como Na^+ e K^+ .

Uma vez que a ionização reversível é crucial para o papel da água nas funções da célula, deve haver meios de expressar o grau de ionização da água em termos quantitativos. Uma breve revisão de algumas propriedades das reações químicas reversíveis mostra como isso pode ser feito.

A posição de equilíbrio de qualquer reação química é dada por sua **constante de equilíbrio**, K_{eq} (algumas vezes expressa simplesmente por K). Para a reação geral



a constante de equilíbrio K_{eq} pode ser definida em termos da concentração dos reagentes (A e B) e dos produtos (C e D) em equilíbrio:

$$K_{eq} = \frac{[C]_{eq}[D]_{eq}}{[A]_{eq}[B]_{eq}}$$

Estritamente falando, os termos de concentração devem ser expressos como *atividades*, ou concentrações efetivas em soluções não ideais, de cada espécie. Exceto em trabalhos muito precisos, a constante de equilíbrio pode ser medida aproximadamente pelas *concentrações* no equilíbrio. Em virtude de envolver razões que vão além do escopo dessa discussão, não será discutido por que as constantes de equilíbrio são adimensionais. Apesar disso, o texto continuará a utilizar as unidades de concentração (M) nas expressões de equilíbrio ao longo deste livro para lembrar que molaridade é a unidade de concentração usada para o cálculo de K_{eq} .

A constante de equilíbrio é constante e característica de cada reação química em uma temperatura específica. Ela define a composição final da mistura no equilíbrio, independentemente das concentrações iniciais dos reagentes e dos produtos. Inversamente, é possível calcular a constante de equilíbrio para uma dada reação em uma dada temperatura, se forem conhecidas as concentrações de todos os reagentes e produtos quando a reação estiver no equilíbrio. Como mostrado no Capítulo 1, a variação de energia livre padrão (ΔG°) é diretamente relacionada com $\ln K_{eq}$.

A ionização da água é expressa pela constante de equilíbrio

O grau de ionização da água no equilíbrio (Equação 2-1) é baixo; a 25 °C, somente duas entre 10^9 moléculas na água pura são ionizadas a cada momento. A constante de equilíbrio para a ionização reversível da água é:

$$K_{eq} = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} \quad (2-3)$$

Na água pura a 25 °C, a concentração de água é 55,5 M – gramas de H₂O em 1 L divididos pelo seu peso molecular em grama: (1.000 g/L)/(18,015 g/mol) –, praticamente constante em relação à concentração muito baixa de H⁺ e OH⁻, especificamente 1 × 10⁻⁷ M. Assim, substituindo 55,5 M na equação da constante de equilíbrio (Equação 2-3), tem-se

$$K_{eq} = \frac{[H^+][OH^-]}{[55,5 \text{ M}]}$$

Rearranjando, isso se torna

$$(55,5 \text{ M})(K_{eq}) = [H^+][OH^-] = K_w \quad (2-4)$$

em que K_w designa o produto de (55,5 M)(K_{eq}), que é o **produto iônico da água** a 25 °C.

O valor para K_{eq} , determinado por medições da condutividade elétrica da água pura, é 1,8 × 10⁻¹⁶ M a 25 °C. Substituindo esse valor na Equação 2-4, obtém-se o valor do produto iônico da água:

$$\begin{aligned} K_w &= [H^+][OH^-] = (55,5 \text{ M})(1,8 \times 10^{-16} \text{ M}) \\ &= 1,0 \times 10^{-14} \text{ M}^2 \end{aligned}$$

Assim, o produto $[H^+][OH^-]$ em solução aquosa a 25 °C é sempre igual a 1 × 10⁻¹⁴ M². Quando existem concentrações exatamente iguais de H⁺ e de OH⁻, como na água pura, diz-se que a solução está em **pH neutro**. Nesse pH, a concentração de H⁺ e de OH⁻ pode ser calculada a partir do produto iônico da água como segue:

$$K_w = [H^+][OH^-] = [H^+]^2 = [OH^-]^2$$

Resolvendo para $[H^+]$, tem-se:

$$[H^+] = \sqrt{K_w} = \sqrt{1 \times 10^{-14} \text{ M}^2}$$

$$[H^+] = [OH^-] = 10^{-7} \text{ M}$$

P3 Como o produto iônico da água é constante, quando $[H^+]$ é maior que $1 \times 10^{-7} \text{ M}$, a concentração de $[OH^-]$ deve ser menor que $1 \times 10^{-7} \text{ M}$, e vice-versa. Quando a concentração de $[H^+]$ é muito alta, como na solução de ácido clorídrico, a concentração de $[OH^-]$ deve ser bem baixa. A partir do produto iônico da água, pode-se calcular $[H^+]$ se a concentração de $[OH^-]$ for conhecida, e vice-versa.

EXEMPLO 2-2 *Cálculo de $[H^+]$*

Qual é a concentração de H^+ em uma solução de 0,1 M de NaOH? Como NaOH é uma base forte, ele se dissocia completamente em Na^+ e OH^- .

SOLUÇÃO: Iniciamos com a equação do produto iônico da água:

$$K_w = [H^+][OH^-]$$

Para $[OH^-] = 0,1 \text{ M}$, resolvendo para $[H^+]$, tem-se

$$\begin{aligned} [H^+] &= \frac{K_w}{[OH^-]} = \frac{1 \times 10^{-14} \text{ M}^2}{0,1 \text{ M}} = \frac{10^{-14} \text{ M}^2}{10^{-1} \text{ M}} \\ &= 10^{-13} \text{ M} \end{aligned}$$

EXEMPLO 2-3 *Cálculo de $[OH^-]$*

Qual é a concentração de OH^- em uma solução contendo H^+ na concentração de $1,3 \times 10^{-4} \text{ M}$?

SOLUÇÃO: Iniciamos com a equação do produto iônico da água:

$$K_w = [H^+][OH^-]$$

Para $[H^+] = 1,3 \times 10^{-4} \text{ M}$, resolvendo para $[OH^-]$, tem-se

$$[\text{OH}^-] = \frac{K_w}{[\text{H}^+]} = \frac{1 \times 10^{-14} \text{ M}^2}{1,3 \times 10^{-4} \text{ M}} = 7,7 \times 10^{-11} \text{ M}$$

Em todos os cálculos, deve-se ter o cuidado de arredondar a resposta para o número correto de algarismos significativos, como acima.

A escala de pH indica as concentrações de H^+ e OH^-

O produto iônico da água, K_w , é base da **escala de pH** (Tabela 2-5). É um meio conveniente de designar a concentração de H^+ (e, portanto, de OH^-) em qualquer solução aquosa no intervalo entre $1,0 \text{ M H}^+$ e $1,0 \text{ M OH}^-$. O símbolo p denota “logaritmo negativo de”. O termo **pH** é definido pela expressão

$$\text{pH} = \log \frac{1}{[\text{H}^+]} = -\log [\text{H}^+]$$

Para uma solução neutra a 25°C , na qual a concentração de íons hidrogênio é de $1,0 \times 10^{-7} \text{ M}$, o pH pode ser calculado como segue:

$$\text{pH} = \log \frac{1}{1,0 \times 10^{-7}} = 7,0$$

Observe que a concentração de H^+ deve ser expressa em termos molares (M).

TABELA 2-5		Escala de pH	
$[\text{H}^+]$ (M)	pH	$[\text{OH}^-]$ (M)	pOH ^a
10^0 (1)	0	10^{-14}	14
10^{-1}	1	10^{-13}	13
10^{-2}	2	10^{-12}	12
10^{-3}	3	10^{-11}	11
10^{-4}	4	10^{-10}	10

10^{-5}	5	10^{-9}	9
10^{-6}	6	10^{-8}	8
10^{-7}	7	10^{-7}	7
10^{-8}	8	10^{-6}	6
10^{-9}	9	10^{-5}	5
10^{-10}	10	10^{-4}	4
10^{-11}	11	10^{-3}	3
10^{-12}	12	10^{-2}	2
10^{-13}	13	10^{-1}	1
10^{-14}	14	$10^0 (1)$	0
^a A expressão pOH às vezes é utilizada para descrever a alcalinidade, ou concentração, de OH^- de uma solução; o pOH é definido pela expressão $\text{pOH} = -\log [\text{OH}^-]$, que é análoga à expressão para o pH. Observe que, em todos os casos, $\text{pH} + \text{pOH} = 14$.			

O valor de 7 para o pH de uma solução neutra não é um número escolhido arbitrariamente; é derivado do valor absoluto do produto iônico da água a 25 °C, que, por uma coincidência conveniente, é um valor inteiro. Soluções com pH maior que 7 são alcalinas ou básicas; a concentração de OH^- é maior que a de H^+ . Inversamente, soluções com pH menor que 7 são ácidas.

Deve-se sempre ter em mente que a escala de pH é logarítmica, e não aritmética. Então, dizer que duas soluções diferem em 1 unidade de pH significa que a concentração de H^+ em uma das soluções é dez vezes maior do que na outra, mas não indica a magnitude absoluta da diferença. A **Figura 2-14** mostra os valores de pH de alguns fluidos aquosos comuns. Um refrigerante de sabor cola (pH 3,0) ou um vinho tinto (pH 3,7) têm uma concentração de íons H^+ de aproximadamente 10 mil vezes a do sangue (pH 7,4).

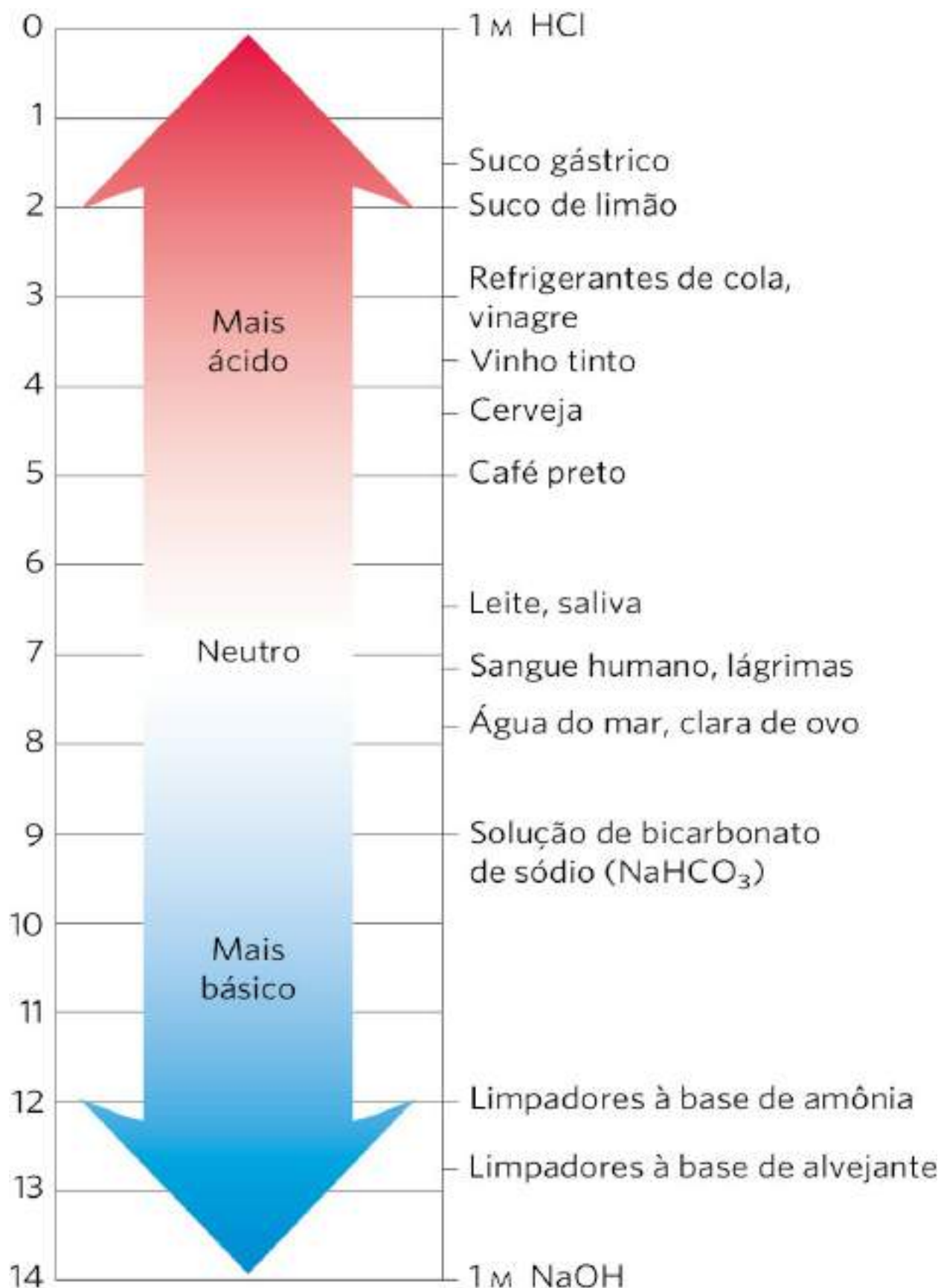


FIGURA 2-14 O pH de alguns fluidos aquosos.

Determinações precisas do pH em laboratórios de química ou de análises clínicas são feitas com eletrodos de vidro que são sensíveis a concentrações de H^+ , mas insensíveis a Na^+ , K^+ e outros cátions. Nos medidores de pH, o sinal do eletrodo de vidro vindo da solução-teste é amplificado e comparado com o sinal gerado por uma solução cujo pH seja conhecido com exatidão.



A medição do pH é um dos mais importantes e frequentes procedimentos realizados na bioquímica. O pH afeta a estrutura e a atividade das macromoléculas biológicas, de modo que uma pequena mudança no pH pode causar uma grande mudança na estrutura e na função de uma proteína. Medir o pH no sangue e na urina é muito comum para o diagnóstico clínico. O pH do plasma sanguíneo de pessoas com diabetes grave não controlado, por exemplo, está geralmente abaixo do valor normal de 7,4; essa condição é denominada **acidose** (detalhadamente discutida a seguir). Em outras doenças, o pH do sangue pode ser mais elevado do que o normal, uma condição conhecida como **alcalose**. Acidose ou alcalose extremas colocam a pessoa em risco de vida (ver **Quadro 2-1**).

QUADRO 2-1 MEDICINA

Sendo sua própria cobaia (não tente fazer isso em casa!)

Eu queria descobrir o que aconteceria com um homem se ele fosse mais ácido ou mais alcalino [...] Pode-se, é claro, fazer experimentos com uma cobaia inicialmente, e algum trabalho já foi feito nesse sentido, mas é difícil ter certeza de como uma cobaia se sente em um dado momento. Na verdade, algumas cobaias não fazem questão nenhuma de cooperar.

—J. B. S. Haldane, *Possible Worlds*, 1928

Um século atrás, o fisiologista e geneticista J. B. S. Haldane e seu colega H. W. Davies decidiram fazer um experimento neles mesmos para estudar como o organismo controla o pH sanguíneo. Eles se alcalinizaram por meio de hiperventilação e ingestão de bicarbonato de sódio, o que os deixou com dificuldade respiratória e uma cefaleia muito forte. Eles tentaram se acidificar ingerindo ácido clorídrico, mas calcularam que teriam de tomar quatro litros de ácido clorídrico diluído para chegar ao efeito desejado, e meio litro já seria suficiente para dissolver os dentes e queimar a garganta. Por fim, Haldane se deu conta de que, se comesse cloreto de amônio, ele seria degradado no organismo, liberando ácido clorídrico e amônia. A amônia seria convertida em ureia, menos

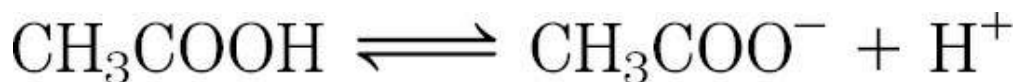
prejudicial, no fígado (esse processo está descrito detalhadamente na Fig. 18-10). O ácido clorídrico se combinaria com o bicarbonato de sódio, que existe em todos os tecidos, produzindo cloreto de sódio e dióxido de carbono. Esse experimento levaria a uma respiração ofegante, que simularia a acidose diabética e a doença renal em estágio final.

Simultaneamente, Ernst Freudenberg e Paul György, pediatras em Heidelberg, estavam estudando a tetania – contrações musculares que ocorrem nas mãos, nos braços, nos pés e na laringe – em crianças. Eles sabiam que algumas vezes ocorria tetania em pacientes que perderam grandes quantidades de ácido clorídrico por vômito constante, e chegaram à conclusão de que, se a alcalinização dos tecidos produz tetania, a acidificação poderia curá-la. Quando leram a publicação de Haldane sobre os efeitos do cloreto de amônio, eles tentaram administrá-lo a bebês com tetania e ficaram maravilhados ao ver que a tetania passava em poucas horas. Esse tratamento não removeu a causa primária da tetania, mas forneceu tempo para crianças e para o médico investigar e tratar as causas.

Ácidos fracos e bases fracas têm constantes de dissociação ácida características

Os ácidos clorídrico, sulfúrico e nítrico normalmente são considerados ácidos fortes, pois são completamente ionizados em soluções aquosas diluídas. As bases fortes NaOH e KOH também se ionizam completamente. O que mais interessa aos bioquímicos é o comportamento de ácidos e bases fracos – aqueles não são completamente ionizados quando dissolvidos em água. Eles estão sempre presentes nos sistemas biológicos e desempenham papéis importantes no metabolismo e na sua regulação. O comportamento de soluções aquosas de ácidos e bases fracos é melhor entendido definindo-se primeiramente alguns termos.

Ácidos (na definição de Brønsted-Lowry) são doadores de prótons, e bases são aceptores de prótons. Quando um doador de prótons como o ácido acético (CH_3COOH) perde um próton, ele se torna o aceptor de prótons correspondente, nesse caso, o ânion acetato (CH_3COO^-). Um doador de prótons e seu aceptor de prótons correspondente constituem um **par conjugado ácido-base** (Fig. 2-15), relacionado com a reação reversível



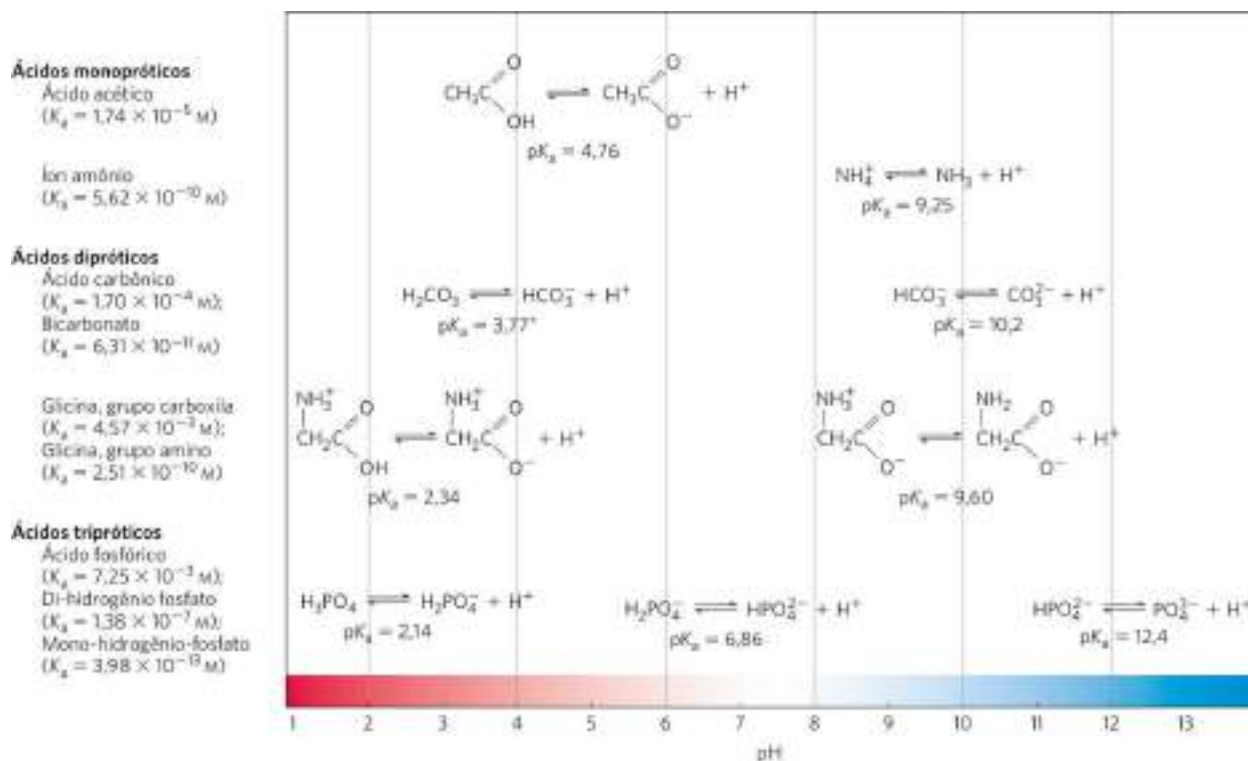
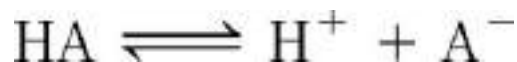


FIGURA 2-15 Pares conjugados ácido-base são constituídos por um doador de prótons e um receptor de prótons.

Alguns compostos, como o ácido acético e o íon amônio, são monoprotônicos, isto é, eles só podem doar um próton. Outros são diprotônicos (ácido carbônico e glicina) ou triprotônicos (ácido fosfórico). As reações de dissociação de cada par estão mostradas nos pontos onde elas ocorrem ao longo de um gradiente de pH. A constante de equilíbrio ou dissociação (K) e o seu logaritmo negativo, o pK_a , de cada reação estão indicadas. *Consulte as próximas seções para uma explicação sobre as aparentes discrepâncias dos valores de pK_a do ácido carbônico (H_2CO_3); para o di-hidrogênio fosfato ($H_2PO_4^-$), consulte o texto a seguir.

Cada ácido tem uma tendência característica de perder o seu próton em soluções aquosas. Quanto mais forte for o ácido, maior será a tendência de perder seu próton. [P2](#) A tendência de qualquer ácido (HA) a perder um próton e formar sua base conjugada (A^-) é definida pela constante de equilíbrio (K_{eq}) para a reação reversível



para a qual

$$K_{eq} = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} = K_a$$

As constantes de equilíbrio para as reações de ionização são comumente chamadas de **constantes de ionização** ou **constantes de dissociação ácida**, com frequência designadas por K_a . As constantes de dissociação de alguns ácidos estão apresentadas na Figura 2-15. Ácidos

mais fortes, como os ácidos fosfórico e carbônico, têm constantes de ionização maiores; ácidos mais fracos, como o fosfato mono-hidrogenado (HPO_4^{2-}), têm constantes de ionização menores.

A Figura 2-15 também inclui os valores de $\text{p}K_a$, que é análogo ao pH e definido pela equação

$$\text{p}K_a = \log \frac{1}{K_a} = -\log K_a$$

Quanto mais forte for a tendência de dissociar um próton, mais forte será o ácido e mais baixo será o seu $\text{p}K_a$. Como veremos agora, o $\text{p}K_a$ de qualquer ácido fraco pode ser determinado experimentalmente.

A determinação do $\text{p}K_a$ de ácidos fracos é feita por curvas de titulação

A titulação é usada para determinar a quantidade de um ácido em determinada solução. Um dado volume do ácido é titulado com uma solução de base forte, geralmente hidróxido de sódio (NaOH), de concentração conhecida. A adição de NaOH é feita aos poucos até o ácido ser consumido (neutralizado), o que é determinado com um indicador que desenvolve cor ou um medidor de pH. A concentração do ácido na solução original pode ser calculada a partir do volume e da concentração de NaOH que foi adicionado. A quantidade de ácido e base na titulação é comumente expressa em termos de equivalentes, em que um equivalente é a quantidade de substância que reage com, ou fornece, 1 mol de íons de hidrogênio em uma reação ácido-base. Lembre-se de que para os ácidos monopróticos, como o HCl, 1 mol = 1 equivalente, e para os ácidos dipróticos, como o H_2SO_4 , 1 mol = 2 equivalentes.

Um gráfico de pH contra a quantidade de NaOH adicionada (uma **curva de titulação**) revela o $\text{p}K_a$ do ácido fraco. Considere a titulação de 0,1 M de solução de ácido acético com 0,1 M de NaOH em 25 °C (**Fig. 2-16**). Duas reações reversíveis de equilíbrio estão envolvidas no processo (aqui, por simplicidade, o ácido acético será designado por HAc):



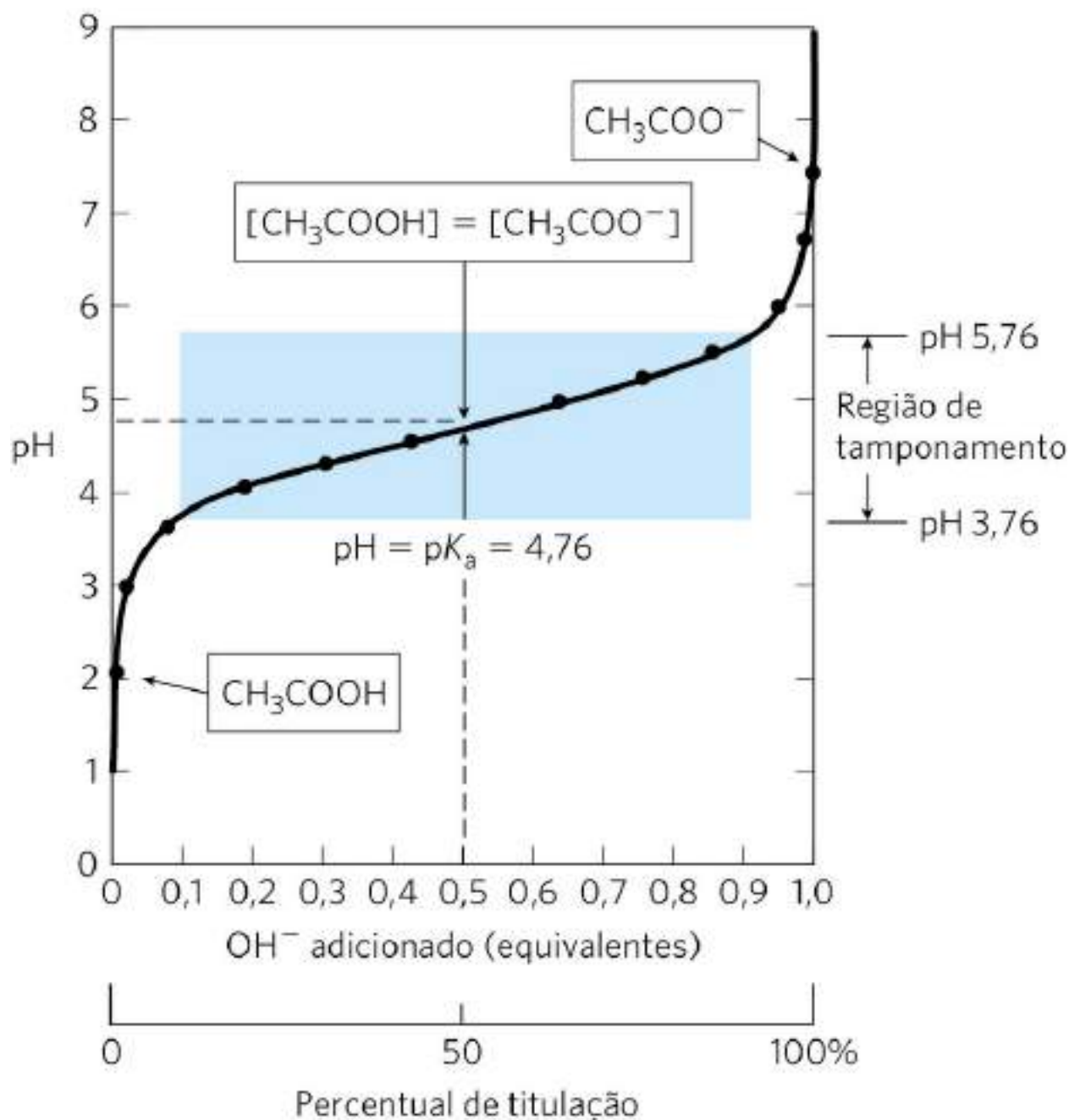


FIGURA 2-16 Curva de titulação do ácido acético. O pH da mistura é medido após cada adição de NaOH à solução de ácido acético. Esse valor é colocado em um gráfico em função da quantidade de NaOH adicionada, expressa como a fração da concentração total necessária para converter todo o ácido acético (CH_3COOH) na sua forma desprotonada, acetato (CH_3COO^-). Os pontos obtidos geram a curva de titulação. Nos retângulos, estão mostradas as formas iônicas predominantes nos pontos indicados. No ponto central da titulação, as concentrações de doadores de prótons e aceptores de prótons são iguais, e o pH é numericamente igual ao pK_a . A zona sombreada é a região útil com poder tamponante, geralmente entre 10 e 90% da titulação de um ácido fraco.

Os equilíbrios devem ocorrer simultaneamente, de acordo com as suas constantes de equilíbrio características, que são, respectivamente,

$$K_w = [H^+][OH^-] = 1 \times 10^{-14} M^2 \quad (2-7)$$

$$K_a = \frac{[H^+][Ac^-]}{[HAc]} = 1,74 \times 10^{-5} M \quad (2-8)$$

No início da titulação, antes da adição de NaOH, o ácido acético já se encontra parcialmente ionizado, em um valor que pode ser calculado a partir da sua constante de ionização (Equação 2-8).

À medida que NaOH for gradualmente adicionado, o OH^- adicionado combina-se com os íons livres H^+ na solução para formar H_2O , em uma quantidade que satisfaz a relação de equilíbrio da Equação 2-7. À medida que íons H^+ são removidos, o HAc dissocia-se um pouco mais para satisfazer à sua própria constante de equilíbrio (Equação 2-8). O resultado líquido da titulação prossegue, de forma que mais HAc se ioniza, formando Ac^- , à medida que o NaOH é adicionado. No ponto central da titulação, no qual exato 0,5 equivalente de NaOH foi adicionado por equivalente do ácido, metade do ácido acético original se dissociou, de forma que a concentração do doador de prótons, [HAc], agora é igual à do receptor de prótons, [Ac^-]. **P2** Nesse ponto central, uma relação muito importante é estabelecida: o pH no qual a solução equimolar de ácido acético e de acetato é exatamente igual ao pK_a do ácido acético ($pK_a = 4,76$; Figs. 2-15 e 2-16). A base dessa relação, que é válida para todos os ácidos fracos, ficará clara em breve.

À medida que a titulação continua pela adição de mais NaOH, o ácido acético não dissociado remanescente é convertido em acetato. O ponto final da titulação ocorre em pH próximo de 7,0: todo o ácido acético perdeu seus prótons para os íons OH^- , formando H_2O e acetato. Por meio da titulação, os dois equilíbrios (Equações 2-5, 2-6) coexistem, cada um obedecendo à sua constante de equilíbrio.

A **Figura 2-17** compara as curvas de titulação de três ácidos fracos com constantes de ionização bem diferentes: ácido acético ($pK_a = 4,76$); ácido fosfórico, $H_2PO_4^-$ ($pK_a = 6,86$); e íon amônio, NH_4^+ ($pK_a = 9,25$). Embora as curvas de titulação desses ácidos tenham a mesma forma, elas estão deslocadas ao longo do eixo do pH devido ao fato de os três ácidos terem diferentes forças. O ácido acético, com o maior K_a (menor pK_a) dos três, é o mais forte entre esses ácidos fracos (perde seu próton mais prontamente); ele já se encontra dissociado pela metade no pH 4,76. O ácido fosfórico perde um próton menos prontamente, estando metade dissociado e metade não dissociado no pH 6,86. O íon amônio é o ácido mais fraco dos três, e só se encontra dissociado em 50% em pH 9,25. A curva de titulação de um ácido fraco mostra graficamente que um ácido fraco e seu ânion – um par conjugado ácido-base – podem agir como um tampão, conforme será descrito na próxima seção.

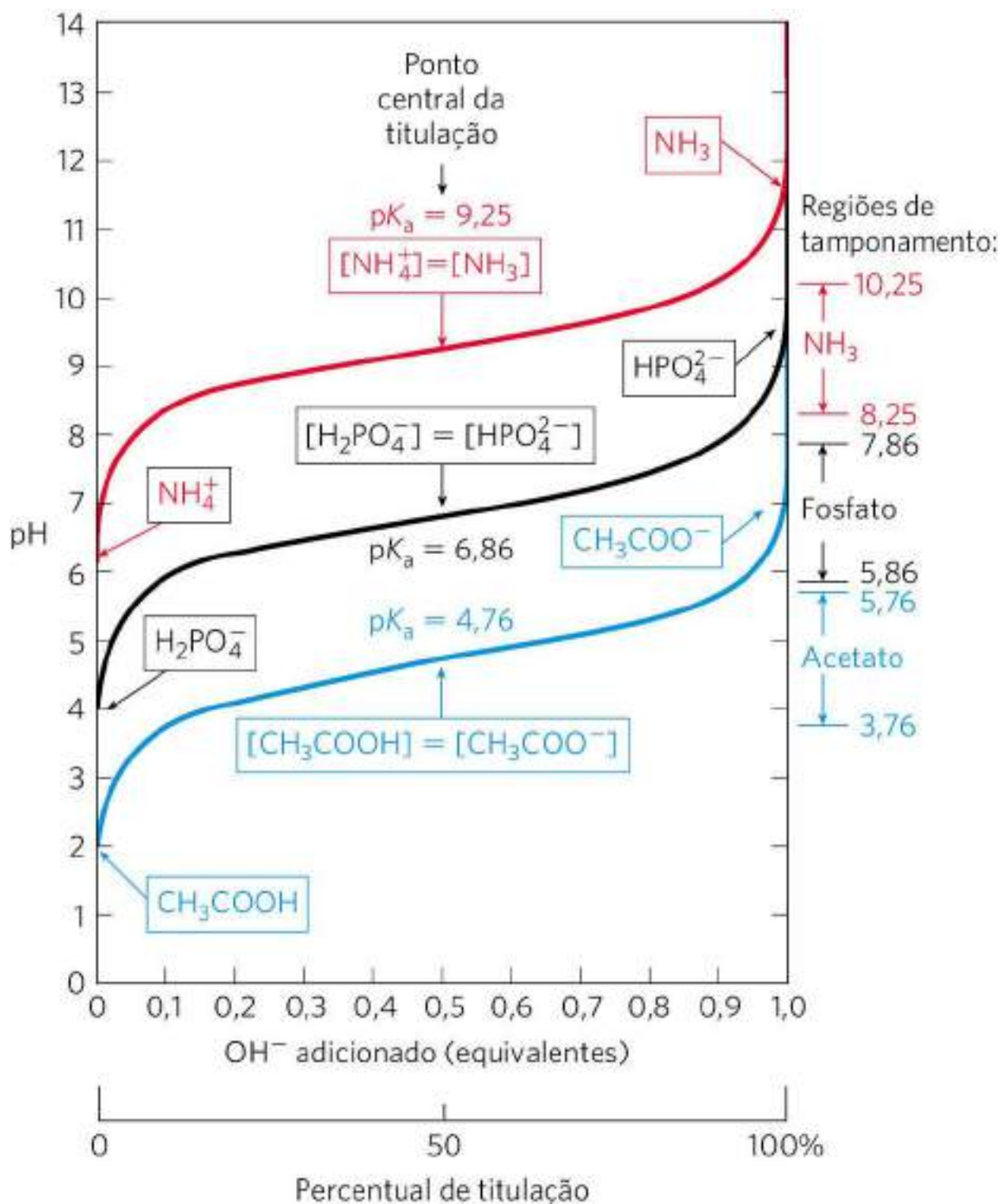


FIGURA 2-17 Comparação das curvas de titulação de três ácidos fracos. Aqui estão mostradas as curvas de titulação de CH_3COOH , H_2PO_4^- e NH_4^+ . As formas iônicas predominantes nos pontos indicados da titulação estão destacadas nos retângulos. As regiões com capacidade tamponante estão indicadas à direita. Os pares conjugados ácido-base são tampões efetivos entre aproximadamente 10 e 90% da neutralização das espécies doadoras de prótons.

Assim como todas as demais constantes de equilíbrio, K_a e pK_a são definidas para condições específicas de concentração (componentes em 1 M) e temperatura (25 °C). Soluções concentradas de tampões não apresentam o comportamento ideal. Por exemplo, o pK_a do ácido fosfórico algumas vezes é dado como 7,2, e outras vezes, como 6,86. O valor maior (pK_a aparente) não está corrigido para os efeitos da concentração do tampão, e foi definido como a temperatura de 25 °C. O valor de 6,86 foi corrigido para a concentração do tampão e medido em temperatura fisiológica (37 °C), e provavelmente é uma aproximação do valor mais relevante para os animais de sangue quente. Ao longo deste livro, será utilizado o valor de $pK_a = 6,8$ para o ácido fosfórico.

RESUMO 2.2 *Ionização da água e de ácidos e bases fracas*

■ A água pura se ioniza levemente, formando um número igual de íons hidrogênio (íons hidrônio, H_3O^+) e íons hidróxido.

■ A extensão da ionização é descrita pela constante de equilíbrio, $K_{eq} =$

$$K_{eq} = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]}, \text{ da qual resulta o produto iônico da água, } K_w. \text{ A } 25\text{ °C,}$$

$$K_w = [H^+][OH^-] = (55,5\text{ M})(K_{eq}) = 10^{-14}\text{ M}^2$$

■ O pH de uma solução aquosa reflete, em escala logarítmica, a concentração de íons hidrogênio:

$$pH = \log \frac{1}{[H^+]} = -\log [H^+]$$

■ Ácidos fracos se ionizam parcialmente, liberando um íon hidrogênio, baixando, assim, o pH de uma solução aquosa. Bases fracas aceitam um íon hidrogênio, aumentando o pH. A extensão desses processos é característica de cada ácido ou base fraca e é expressa como a constante de dissociação ácida:

$$K_{eq} = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} = K_a$$

■ pK_a expressa, em uma escala logarítmica, a força relativa de um ácido fraco ou base fraca:

$$\text{p}K_{\text{a}} = \log \frac{1}{K_{\text{a}}} = -\log K_{\text{a}}$$

■ Quanto mais forte for o ácido, menor será o valor do seu $\text{p}K_{\text{a}}$, e quanto mais forte for a base, maior será o valor do $\text{p}K_{\text{a}}$. O $\text{p}K_{\text{a}}$ pode ser determinado experimentalmente; é o pH no ponto central da curva de titulação.

2.3 Tamponamento *versus* mudanças no pH em sistemas biológicos

Quase todos os processos biológicos dependem do pH; uma pequena mudança no pH leva a uma grande mudança na velocidade do processo. Isso é válido não somente para as muitas reações nas quais os íons H^+ participam diretamente, mas também para aquelas reações nas quais aparentemente não há participação de íons H^+ . **P4** As enzimas que catalisam reações celulares e muitas das moléculas sobre as quais elas agem contêm grupos ionizáveis que têm valores de pK_a característicos. Os grupos amino e carboxila protonados dos aminoácidos e os grupos fosfato dos nucleotídeos, por exemplo, agem como ácidos fracos; seus estados iônicos são determinados pelo pH do meio onde se encontram. (Quando um grupo ionizável é sequestrado no meio de uma proteína, longe do solvente aquoso, o seu pK_a , ou o pK_a aparente, pode ser significativamente diferente do seu pK_a quando em água.) Como observado anteriormente, as interações iônicas estão entre as forças que estabilizam as moléculas de proteína e permitem que uma enzima reconheça e se ligue ao seu respectivo substrato.

Células e organismos mantêm um pH citosólico específico e constante, em geral nas proximidades de pH 7, mantendo as biomoléculas em seu estado iônico ideal. Em organismos multicelulares, o pH dos líquidos extracelulares também é rigorosamente regulado. A manutenção do pH é feita principalmente por tampões biológicos: misturas de ácidos fracos e suas bases conjugadas.

Tampões são misturas de ácidos fracos e suas bases conjugadas

Os **tampões** são sistemas aquosos que tendem a resistir a mudanças de pH quando são adicionadas pequenas quantidades de ácido (H^+) ou base (OH^-). Um sistema tampão consiste em um ácido fraco (o doador de prótons) e a sua base conjugada (o acceptor de prótons). Por exemplo, uma mistura de concentrações iguais de ácido acético e íons acetato, situada no ponto central da curva de titulação na Figura 2-16, é um sistema tampão. Observe que a curva de titulação do ácido acético tem uma zona relativamente plana que se estende por cerca de 1 unidade de pH em ambos os lados do pH de ponto central de 4,76. Nessa zona, uma dada quantidade de H^+ ou OH^- adicionada ao sistema tem muito menos efeito sobre o pH do que a mesma quantidade adicionada fora dessa zona. Essa zona relativamente plana é a **região de tamponamento** do par tampão ácido acético/acetato. No ponto central da região de tamponamento, no qual a concentração do doador de prótons (ácido acético) é exatamente igual à do acceptor de prótons (acetato), a força de tamponamento do sistema é máxima; isto é, o pH muda menos pela adição de H^+ ou OH^- . O pH nesse ponto na curva de titulação do ácido acético

é igual ao seu pK_a aparente. O pH do sistema tampão do acetato muda levemente quando uma pequena quantidade de H^+ ou OH^- é adicionada, mas essa mudança é muito pequena quando comparada com a mudança de pH que resultaria se a mesma quantidade de H^+ ou OH^- fosse adicionada à água pura ou a uma solução de um sal de um ácido forte e de uma base forte, como o NaCl, que não tem poder tamponante.

O tamponamento resulta do equilíbrio entre duas reações reversíveis ocorrendo em uma solução na qual as concentrações de doador de prótons e de seu acceptor de prótons conjugado são quase iguais. A **Figura 2-18** explica como um sistema tampão funciona. Sempre que H^+ ou OH^- é adicionado a um tampão, o resultado é uma pequena mudança na relação entre as concentrações relativas dos ácidos fracos e seus ânions e, portanto, uma pequena mudança no pH. Um decréscimo na concentração de um componente do sistema é equilibrado exatamente pelo aumento do outro. A soma dos componentes do tampão não muda, somente a razão entre eles.

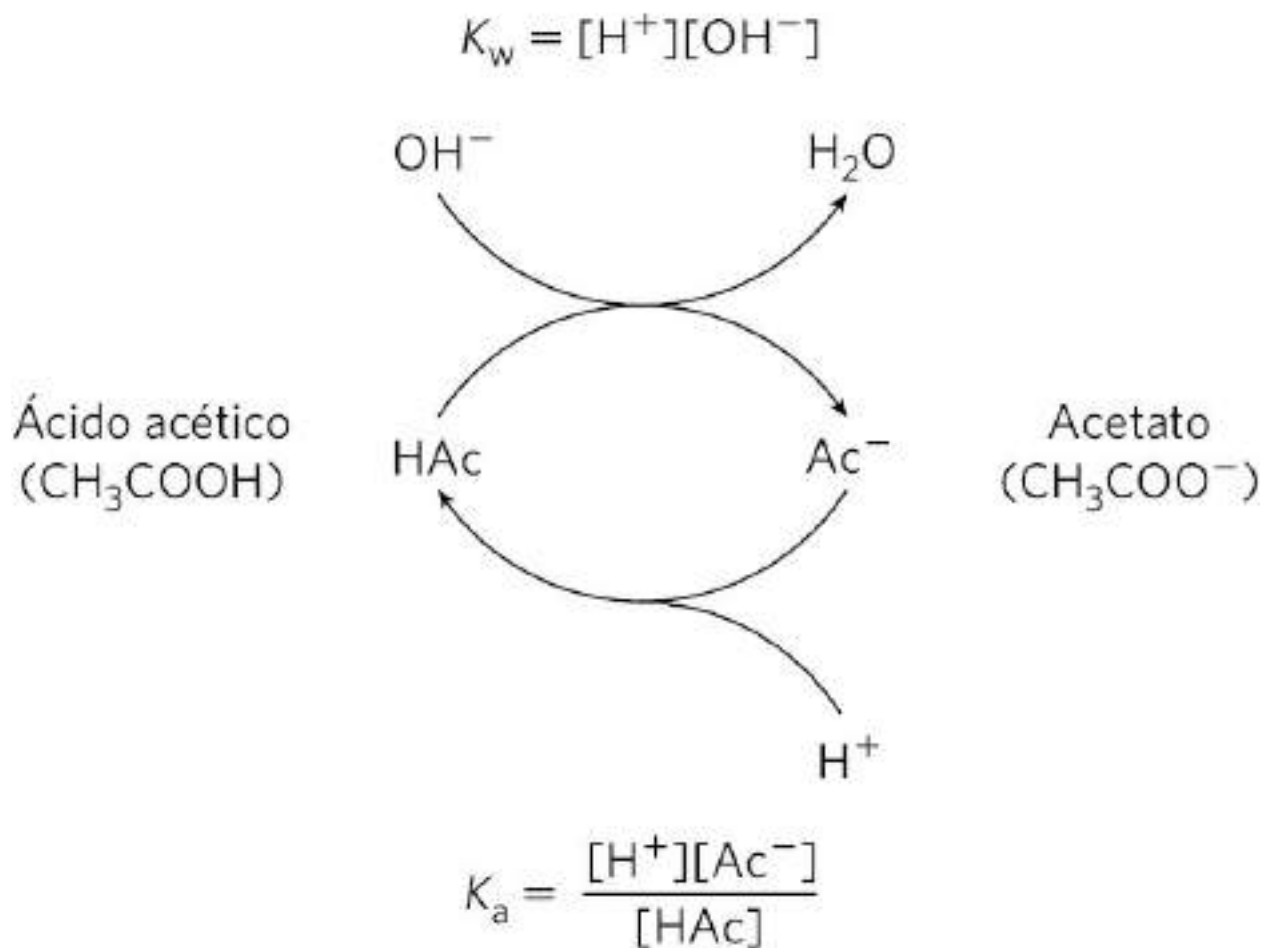


FIGURA 2-18 O par ácido acético/acetato constitui um sistema tampão. O sistema é capaz de absorver tanto H^+ quanto OH^- por meio da reversibilidade da reação de dissociação do ácido acético. O doador de prótons, ácido acético (HAc), contém uma reserva de H^+ que pode ser liberada para neutralizar uma adição de OH^- ao sistema, formando H_2O . Isso acontece porque o

produto $[H^+][OH^-]$ transitoriamente ultrapassa o K_w ($1 \times 10^{-14} M^2$). O equilíbrio rapidamente se ajusta para restaurar o produto em $1 \times 10^{-14} M^2$ (a $25^\circ C$), reduzindo temporariamente a concentração de H^+ . Agora, o quociente $[H^+][Ac^-]/[HAc]$ é menor que K_a , então HAc se dissocia ainda mais para restaurar o equilíbrio. De maneira similar, a base conjugada Ac^- pode reagir com íons H^+ adicionados ao sistema; novamente, as duas reações de ionização simultaneamente chegam ao equilíbrio. Portanto, um par conjugado ácido-base, como o ácido acético e o íon acetato, tende a resistir a mudanças no pH quando pequenas quantidades de ácido ou base são adicionadas. A ação tamponante é simplesmente a consequência de duas reações reversíveis acontecendo simultaneamente e atingindo os seus pontos de equilíbrio determinados pelas constantes de equilíbrio, K_w e K_a .

Cada par conjugado ácido-base tem uma zona de pH característica na qual é um tampão efetivo (Fig. 2-17). O par $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$ tem pK_a de 6,86 e, portanto, pode servir como um sistema tampão efetivo entre os pHs 5,9 e 7,9; o par NH_4^+/NH_3 , com um pK_a de 9,25, pode agir como um tampão em um intervalo de pH aproximado entre 8,3 e 10,3.

A equação de Henderson-Hasselbalch relaciona o pH, o pK_a e a concentração do tampão

As curvas de titulação do ácido acético, $H_2PO_4^{2-}$ e NH_4^+ (Fig. 2-17) têm formas quase idênticas, o que sugere que elas refletem uma lei ou relação fundamental. De fato, esse é o caso. **P3** A forma da curva de titulação de qualquer ácido fraco é descrita pela equação de Henderson-Hasselbalch, que é importante para entender a ação dos tampões e do equilíbrio acidobásico no sangue e nos tecidos dos vertebrados. Essa equação é simplesmente uma forma útil de reescrever a expressão da constante de ionização de um ácido. Para a ionização de um ácido fraco HA, a equação de Henderson-Hasselbalch pode ser derivada da seguinte maneira:

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

Primeiro, resolve-se para $[H^+]$:

$$[H^+] = K_a \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Então, usa-se o logaritmo negativo em ambos os lados da equação:

$$-\log [H^+] = -\log K_a - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Substituindo pH por $-\log [H^+]$ e pK_a por $-\log K_a$, tem-se:

$$pH = pK_a - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Agora, invertendo $-\log [HA]/[A^-]$, o que envolve a mudança do sinal, chega-se à **equação de Henderson-Hasselbalch**:

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} \quad (2-9)$$

Essa equação é válida para as curvas de titulação de todos os ácidos fracos e permite deduzir algumas relações quantitativas importantes. Por exemplo, ela mostra por que o pK_a de um ácido fraco é igual ao pH de uma solução no ponto central da titulação. Nesse ponto, $[HA] = [A^-]$, e

$$pH = pK_a + \log 1 = pK_a + 0 = pK_a$$

A equação de Henderson-Hasselbalch também permite: (1) calcular o pK_a , dado o pH e a razão molar do doador e do aceptor de prótons; (2) calcular o pH, dado o pK_a e a razão molar entre o doador e o aceptor de prótons; e (3) calcular a razão molar entre doador e aceptor de prótons, dados o pH e o pK_a .

Ácidos ou bases fracas tamponam células e tecidos contra mudanças no pH

P3 Os líquidos intracelular e extracelular dos organismos multicelulares têm como característica um pH praticamente constante. A primeira linha de defesa dos organismos contra mudanças internas no pH é feita por sistemas tampão. O citoplasma da grande maioria das células contém altas concentrações de proteínas, que, por sua vez, contêm muitos aminoácidos com grupos funcionais que são ácidos fracos ou bases fracas. Por exemplo, a cadeia lateral da histidina (**Fig. 2-19**) tem pK_a de 6,0 e, por isso, pode existir tanto nas formas protonadas quanto nas formas desprotonadas próximo ao pH neutro. Proteínas contendo resíduos de histidina, portanto, são tampões efetivos próximos ao pH neutro.

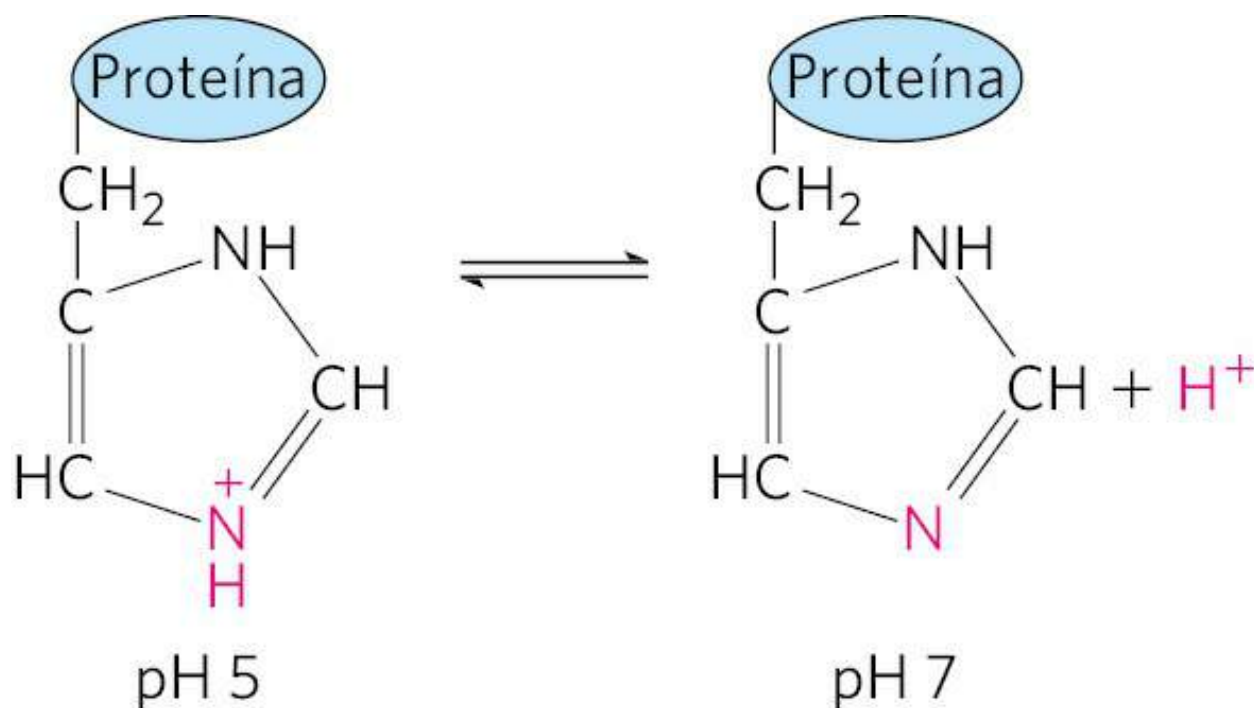


FIGURA 2-19 Ionização da histidina. O aminoácido histidina, um componente das proteínas, é um ácido fraco. O pK_a do nitrogênio protonado da cadeia lateral é 6,0.

EXEMPLO 2-4 Ionização da histidina

Calcule a proporção de histidina da cadeia lateral imidazólica protonada em pH 7,3. Os valores pK_a da histidina são $pK_1 = 1,8$, pK_2 (imidazol) = 6,0 e $pK_3 = 9,2$ (ver Fig. 3-12b).

SOLUÇÃO: Os três grupos ionizáveis na histidina têm valores de pK_a suficientemente diferentes (diferentes em pelo menos 2 unidades de pH), de forma que o primeiro ácido ($-\text{COOH}$) fica completamente ionizado antes de o segundo (imidazol protonado) começar a dissociar um próton, e o segundo se ioniza quase completamente antes que o próton do terceiro ($-\text{NH}_3^+$) comece a dissociar seu próton. (Com a equação de Henderson-Hasselbalch, é possível mostrar facilmente que um ácido fraco passa de 1% ionizado em 2 unidades de pH abaixo do seu pK_a para 99% ionizado em 2 unidades de pH acima de seu pK_a ; ver também Fig. 3-12b.) Em pH 7,3, o grupo carboxila da histidina está inteiramente desprotonado ($-\text{COO}^-$) e o grupo α -amino está completamente protonado ($-\text{NH}_3^+$). Assim, pode-se pressupor que, em pH 7,3, o único grupo que está parcialmente dissociado é o grupo imidazólico, que pode estar protonado (abreviado como HisH^+) ou não protonado (His).

Aplicando-se a equação de Henderson-Hasselbalch:

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

Substituindo pK_2 por 6,0 e pH por 7,3, tem-se:

$$7,3 = 6,0 + \log \frac{[\text{His}]}{[\text{HisH}^+]}$$

$$1,3 = +\log \frac{[\text{His}]}{[\text{HisH}^+]}$$

$$\text{antilog } 1,3 = \frac{[\text{His}]}{[\text{HisH}^+]} = 2,0 \times 10^1$$

Obtém-se a *razão* de [His] para [HisH⁺] (nesse caso, de 20 para 1). É necessário converter essa razão para a *fração* da histidina total que está na forma desprotonada His em pH 7,3. Essa fração é 20/21 (20 partes de His para cada 1 parte de HisH⁺ *em um total de 21 partes de histidina* na soma das duas formas), ou cerca de 95,2%; o restante (100% menos 95,2%) está protonado – aproximadamente 5%.

Nucleotídeos como ATP, assim como muitos metabólitos de baixa massa molecular, contêm grupos ionizáveis que podem contribuir para o poder tamponante do citoplasma. Algumas organelas altamente especializadas e compartimentos extracelulares apresentam altas concentrações de compostos que colaboram com a capacidade de tamponamento: ácidos orgânicos tamponam os vacúolos das células das plantas; amônia tampona a urina.

Dois tampões biológicos especialmente importantes são o sistema fosfato e o sistema bicarbonato. O sistema tampão fosfato, que atua no citoplasma de todas as células, consiste em H_2PO_4^- como doador de prótons e HPO_4^{2-} comoceptor de prótons:



O sistema tampão fosfato é mais efetivo em pH próximo ao seu pK_a de 6,86 (Figs. 2-15, 2-17) e, portanto, tende a resistir a mudanças de pH em um intervalo entre 5,9 e 7,9. Ele é, então, um tampão efetivo em fluidos biológicos; nos mamíferos, por exemplo, os líquidos extracelulares e a maioria dos compartimentos citoplasmáticos têm pH no intervalo de 6,9 a 7,4.

EXEMPLO 2-5 *Tampões fosfato*

(a) Qual é o pH de uma mistura de 0,042 M de NaH_2PO_4 e 0,058 M de Na_2HPO_4 ?

SOLUÇÃO: Usamos a equação de Handerson-Hasselbalch, expressa como

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{base conjugada}]}{[\text{ácido}]}$$

Nesse caso, o ácido (a espécie que doa um próton) é H_2PO_4^- , e a base conjugada (a espécie que ganha um próton) é HPO_4^{2-} . Substituindo a concentração dada de ácido e base conjugados e o valor de pK_a (6,86), obtém-se

$$\text{pH} = 6,86 + \log \frac{[0,058]}{[0,042]} = 6,86 + 0,14 = 7,0$$

É possível conferir aproximadamente esse resultado. Quando houver mais base conjugada do que ácido, o ácido está mais que 50% titulado, e, portanto, o pH está acima do pK_a (6,86), quando o ácido está exatamente 50% titulado.

(b) De quanto será a alteração no pH provocada pela adição de 1,0 mL de solução de NaOH 10,0 M a 1 litro de tampão preparado como em (a)?

SOLUÇÃO: Um litro do tampão contém 0,042 mol de NaH_2PO_4 . A adição de 1,0 mL de solução NaOH 10 M (0,010 mol) poderia titular uma quantidade equivalente (0,010 mol) de NaH_2PO_4 para Na_2HPO_4 , resultando em 0,032 mol de NaH_2PO_4 e 0,068 mol de Na_2HPO_4 . O novo pH será:

$$\begin{aligned}\text{pH} &= \text{p}K_a + \log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} \\ &= 6,86 + \log \frac{0,068}{0,032} = 6,86 + 0,33 = 7,2\end{aligned}$$

(c) Qual será o pH final caso 1,0 mL de solução de NaOH 10 M for adicionado a 1 litro de água pura em pH 7,0? Compare esse resultado com a resposta encontrada em (b).

SOLUÇÃO: NaOH se dissocia completamente em Na^+ e OH^- , dando $[\text{OH}^-] = 0,010 \text{ mol/L} = 1,0 \times 10^{-2} \text{ M}$. Pode-se definir o termo pOH como sendo análogo a pH para expressar a $[\text{OH}^-]$ de uma solução. O pOH é o logaritmo negativo da $[\text{OH}^-]$, então, no nosso exemplo, $\text{pOH} = 2,0$. Dado que em todas as soluções $\text{pH} + \text{pOH} = 14$ (ver Tabela 2-5), o pH da solução é 12. Assim, uma quantidade de NaOH que aumente o pH da água de 7 para 12 aumentará o pH de uma solução tamponada, como em (b), de 7,0 para apenas 7,2. O poder do tamponamento é enorme.

Por que $\text{pH} + \text{pOH} = 14$?

$$K_w = 10^{-14} = [\text{H}^+][\text{OH}^-]$$

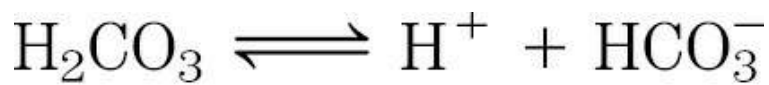
Tomando os logaritmos negativos de ambos os lados da reação, tem-se

$$-\log(10^{-14}) = -\log[\text{H}^+] + -\log[\text{OH}^-]$$

$$14 = -\log[\text{H}^+] + -\log[\text{OH}^-]$$

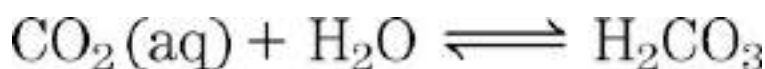
$$14 = \text{pH} + \text{pOH}$$

P3 O plasma sanguíneo é tamponado em parte pelo sistema tampão do bicarbonato, consistindo em ácido carbônico (H_2CO_3) como doador de prótons e bicarbonato (HCO_3^-) comoceptor de prótons (K_1 é a primeira das várias constantes de equilíbrio no sistema tampão do bicarbonato):



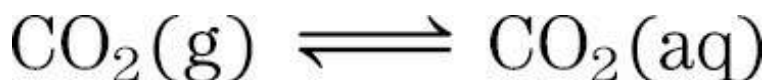
$$K_1 = \frac{[\text{H}^+][\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

Esse sistema tampão é mais complexo que outros pares ácido-base conjugados, uma vez que um de seus componentes, o ácido carbônico (H_2CO_3), é formado a partir de dióxido de carbono dissolvido (aq) e água, em uma reação reversível:



$$K_2 = \frac{[\text{H}_2\text{CO}_3]}{[\text{CO}_2(\text{aq})][\text{H}_2\text{O}]}$$

O dióxido de carbono é um gás sob condições normais, e o CO_2 dissolvido em uma solução aquosa está em equilíbrio com o CO_2 na fase gasosa (g):



$$K_a = \frac{[\text{CO}_2(\text{aq})]}{[\text{CO}_2(\text{g})]}$$

O pH de uma solução tampão de bicarbonato depende da concentração de H_2CO_3 e HCO_3^- , os componentes doador e receptor de prótons. A concentração de H_2CO_3 , por sua vez, depende da concentração de CO_2 na fase gasosa, ou da **pressão parcial** de CO_2 , designada por pCO_2 . Portanto, o pH de um tampão bicarbonato exposto a uma fase gasosa é determinado pela concentração de HCO_3^- na fase aquosa e pela pCO_2 na fase gasosa.



A solução tampão de bicarbonato é um tampão fisiológico efetivo em pH próximo de 7,4, uma vez que o H_2CO_3 do plasma sanguíneo está em equilíbrio com a grande capacidade de reserva de CO_2 (g) existente no ar contido nos pulmões. Como discutido anteriormente, esse

sistema tampão envolve três equilíbrios reversíveis, nesse caso, entre o CO_2 gasoso nos pulmões e o bicarbonato (HCO_3^-) no plasma sanguíneo (**Fig. 2-20**).

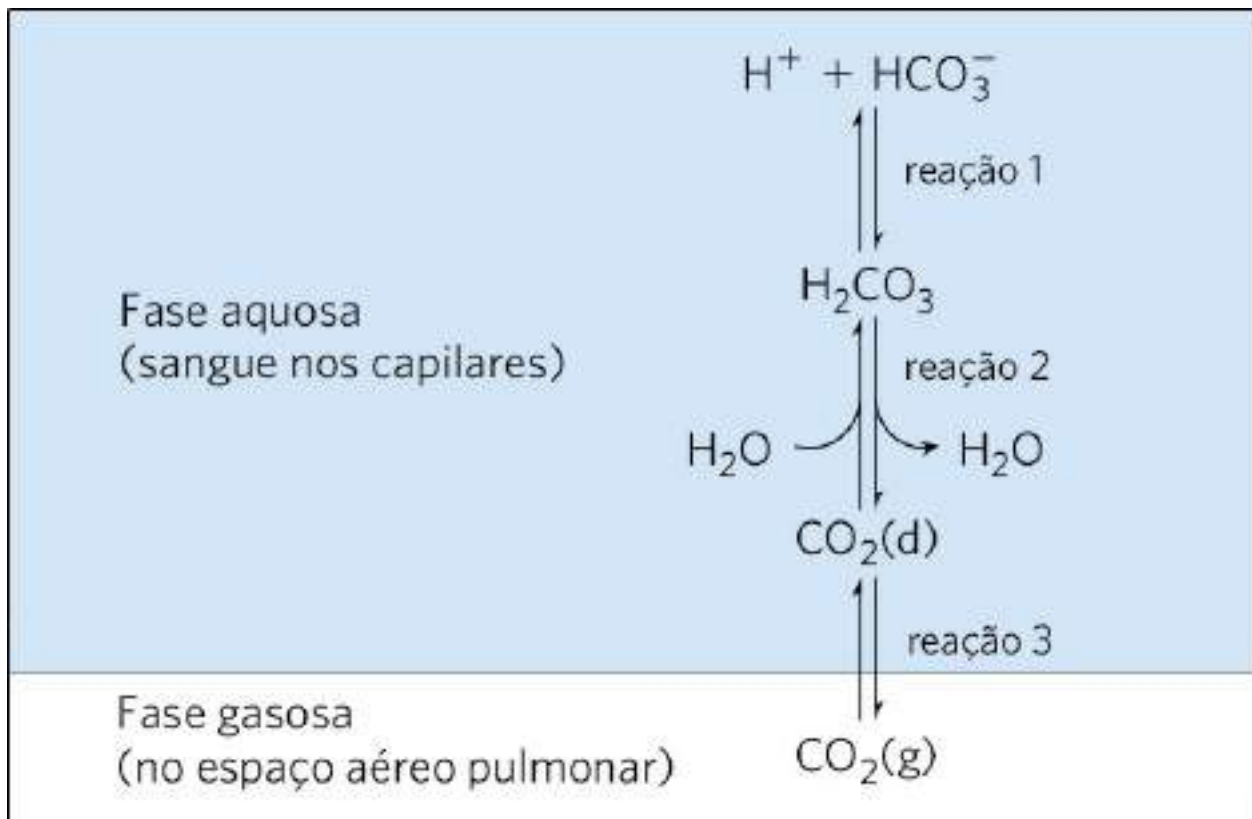


FIGURA 2-20 Sistema tampão do bicarbonato. No espaço aéreo pulmonar, o CO_2 está em equilíbrio com o tampão bicarbonato no plasma sanguíneo que circula pelos capilares pulmonares. Como a concentração de CO_2 dissolvido pode ser ajustada rapidamente por mudanças na frequência respiratória, o sistema tampão bicarbonato do sangue está próximo do equilíbrio com um grande reservatório potencial de CO_2 .

O sangue pode captar H^+ , como, por exemplo, do ácido láctico produzido no tecido muscular durante um exercício vigoroso. De outra forma, ele pode perder H^+ , como pela protonação da NH_3 produzida durante o catabolismo das proteínas. Quando H^+ é adicionado ao sangue à medida que ele passa pelos tecidos, a reação 1 da Figura 2-20 se desloca para um novo equilíbrio, no qual a $[\text{H}_2\text{CO}_3]$ aumenta. Isso, por sua vez, aumenta a $[\text{CO}_2(\text{aq})]$ no sangue (reação 2), aumentando, assim, a pressão parcial de $\text{CO}_2(\text{g})$ no espaço aéreo dos pulmões (reação 3); o CO_2 excedente é exalado. Inversamente, quando H^+ é perdido do sangue, a situação se inverte e mais H_2CO_3 é dissociado em H^+ e HCO_3^- e, portanto, mais $\text{CO}_2(\text{g})$ dos pulmões se dissolve dentro do plasma sanguíneo. A frequência respiratória – que é a taxa de inalação e exalação – pode ajustar rapidamente esses equilíbrios para manter o pH sanguíneo relativamente constante. A frequência respiratória é controlada pelo tronco encefálico, onde a detecção de um aumento de pCO_2 no sangue ou uma diminuição do pH sanguíneo desencadeia uma respiração mais profunda e com maior frequência.

A hiperventilação, respiração acelerada às vezes provocada por estresse ou ansiedade, inverte o balanço normal entre o O_2 inspirado e o CO_2 expirado, favorecendo que mais CO_2 seja expirado, elevando, assim, o pH do sangue para 7,45 ou mais e causando alcalose. Essa alcalose pode levar a tontura, dor de cabeça, fraqueza e perda de consciência. Um remédio caseiro para a alcalose leve é respirar brevemente em um saco de papel. O ar dentro do saco fica enriquecido em CO_2 , e a inalação desse ar aumenta a concentração de CO_2 no sangue e no organismo, levando à diminuição do pH sanguíneo.

No pH normal do plasma sanguíneo (7,4), muito pouco H_2CO_3 está presente em comparação com HCO_3^- , e a adição de uma pequena quantidade de base (NH_3 ou OH^-) poderia titular esse H_2CO_3 , exaurindo a capacidade tamponante. A importância do papel do H_2CO_3 ($pK_a = 3,57$ a $37^\circ C$) no tamponamento do plasma sanguíneo (pH $\sim 7,4$) parece contradizer a afirmação anterior de que um tampão é mais efetivo na escala de 1 unidade de pH acima e abaixo do valor de pK_a . A explicação para esse paradoxo aparente é a grande reserva de CO_2 dissolvida no sangue, referida como $CO_2(aq)$. O rápido equilíbrio com H_2CO_3 leva à formação de mais H_2CO_3 :



Na clínica médica, é útil ter uma maneira simples de expressar o pH do sangue em termos de $CO_2(aq)$, o qual geralmente é monitorado com outros gases sanguíneos. Pode-se definir uma constante, K_h , que é a constante de equilíbrio para a hidratação de CO_2 , formando H_2CO_3 :

$$K_h = \frac{[H_2CO_3]}{[CO_2(aq)]}$$

(A concentração de água é tão grande (55,5 M) que a dissolução de CO_2 não muda a $[H_2O]$ significativamente de modo que a $[H_2O]$ se torna parte da constante K_h .) Então, considerando-se o estoque de $CO_2(aq)$, é possível expressar $[H_2CO_3]$ como $K_h[CO_2(aq)]$, e substituir $[H_2CO_3]$ na equação da dissociação ácida do H_2CO_3 :

$$K_a = \frac{[H^+][HCO_3^-]}{[H_2CO_3]} = \frac{[H^+][HCO_3^-]}{K_h[CO_2(aq)]}$$

Agora, o equilíbrio total para a dissociação do H_2CO_3 pode ser expresso como:

$$K_h K_a = K_{\text{combinada}} = \frac{[\text{H}^+][\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2(\text{aq})]}$$

É possível calcular o valor da nova constante, $K_{\text{combinada}}$, e o correspondente $\text{p}K$ aparente, ou $\text{p}K_{\text{combinada}}$, a partir dos valores determinados experimentalmente de K_h ($3,0 \times 10^{-3} \text{ M}$) e K_a ($2,7 \times 10^{-4} \text{ M}$) a 37°C :

$$K_{\text{combinada}} = (3,0 \times 10^{-3} \text{ M})(2,7 \times 10^{-4} \text{ M})$$

$$= 8,1 \times 10^{-7} \text{ M}^2$$

$$\text{p}K_{\text{combinada}} = 6,1$$

Na clínica médica, é comum se referir ao $\text{CO}_2(\text{aq})$ como o ácido conjugado e usar o valor de 6,1 do $\text{p}K_a$ aparente, ou combinado, para simplificar os cálculos de pH a partir da $[\text{CO}_2(\text{aq})]$. A concentração de CO_2 dissolvido é função de pCO_2 , que, nos pulmões, é cerca de 4,8 kilopascals (kPa), correspondendo a $[\text{H}_2\text{CO}_3] \approx 1,2 \text{ mM}$. No plasma, $[\text{HCO}_3^-]$ é cerca de 24 mM, de modo que $[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$ é cerca de 20, e o pH do sangue é $6,1 + \log 20 \approx 7,4$.

O diabetes não controlado produz uma acidose que traz risco de vida



P4 A evolução de muitas das enzimas que agem no sangue foi no sentido de ter atividade máxima entre pH 7,35 e 7,45, a faixa de pH normal do plasma sanguíneo humano. As enzimas geralmente apresentam atividade catalítica máxima em um pH característico, chamado de **pH ótimo** (**Fig. 2-21**). Em geral, a atividade catalítica diminui rapidamente quando o pH muda para qualquer um dos lados desse pH ótimo. Portanto, uma pequena mudança no pH pode fazer uma grande diferença na velocidade de algumas reações cruciais catalisadas por enzimas. O controle biológico do pH das células e dos fluidos biológicos é de importância central em todos os aspectos do metabolismo e das atividades celulares. Mudanças no pH sanguíneo têm consequências fisiológicas marcantes, como pode ser visto nos experimentos perigosos descritos no Quadro 2-1.

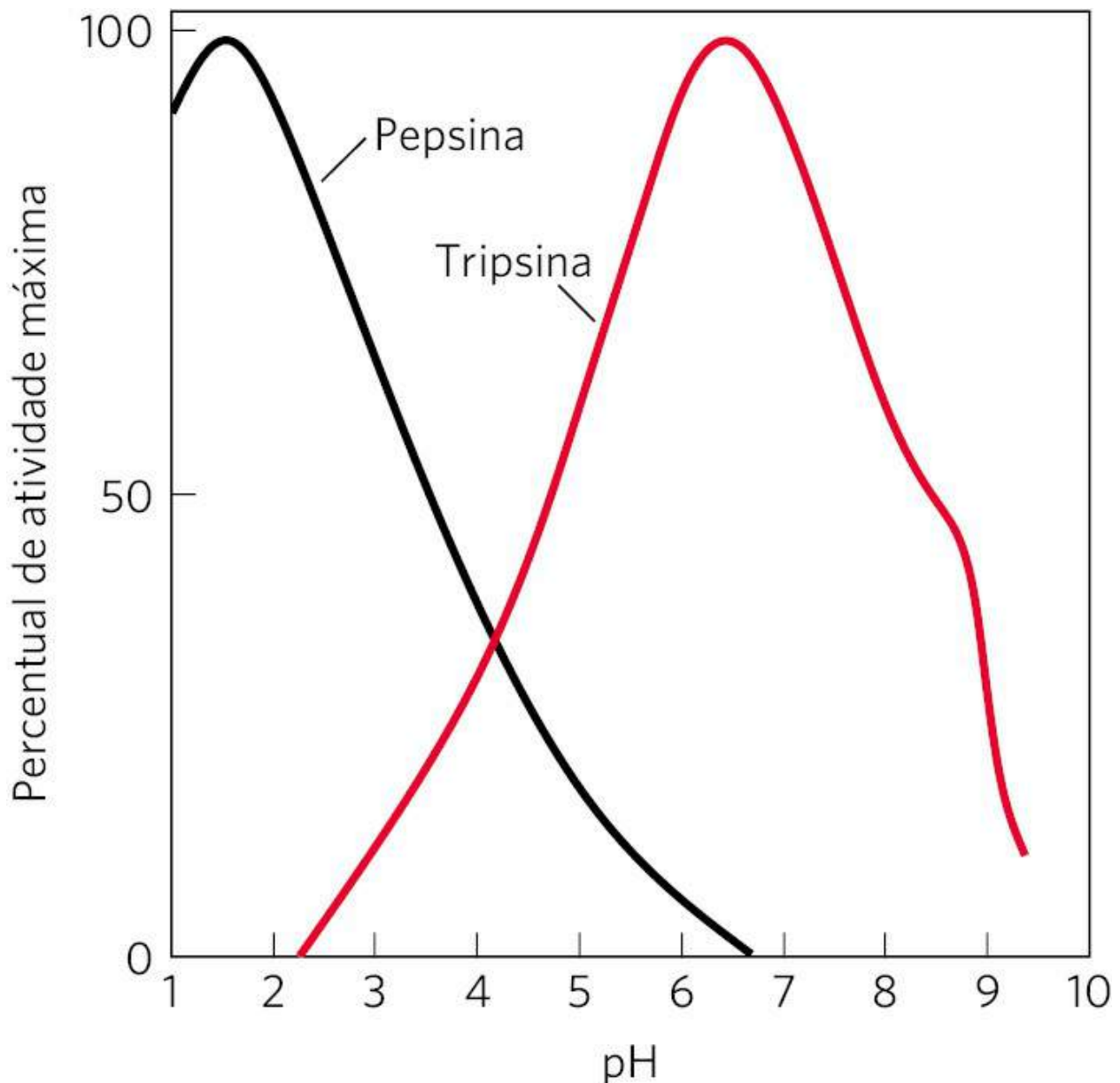


FIGURA 2-21 O pH ótimo de algumas enzimas. A pepsina é uma enzima digestiva secretada no suco gástrico cujo pH próximo de 1,5 possibilita que ela funcione de forma ótima. A tripsina, uma enzima digestiva que age no intestino delgado, tem um pH ótimo que se assemelha ao pH neutro do lúmen do intestino delgado.

Em pessoas com diabetes *mellitus* não controlado, a falta de insulina, ou a insensibilidade à insulina, perturba a captação de glicose do sangue para dentro dos tecidos e os força a utilizar como principal combustível a reserva de ácidos graxos. Devido a razões que serão descritas em detalhes posteriormente (ver Capítulo 23), essa dependência de ácidos graxos leva ao acúmulo de altas concentrações de dois ácidos carboxílicos, o ácido β -hidroxibutírico e o ácido acetoacético (um nível combinado de 90 mg/100 mL no plasma sanguíneo, comparado com < 3 mg/100 mL nos indivíduos saudáveis; excreção urinária de 5 g/24 h, comparada com < 125 mg/24 h nos

indivíduos saudáveis). A dissociação desses ácidos diminui o pH do plasma sanguíneo para valores inferiores a 7,35. **P3** A acidose grave (caracterizada por baixo pH sanguíneo) leva a sintomas como cefaleia, tontura, vômitos e diarreia, seguidos de estupor, convulsões e coma, provavelmente porque, em pH mais baixos, algumas enzimas já não funcionam otimamente. Quando um paciente apresenta glicose alta no sangue, baixo pH plasmático e altos níveis de ácido β -hidroxibutírico e ácido acetoacético na urina e no sangue, o diagnóstico mais provável é diabetes *mellitus*.

Outras condições também podem produzir acidose. Jejum e inanição, por exemplo, forçam o uso dos estoques de ácidos graxos como combustível, com as mesmas consequências geradas pelo diabetes. Esforço físico intenso, como corrida de atletismo ou ciclistas, leva a um acúmulo temporário de ácido láctico no sangue. A insuficiência renal leva a uma diminuição da capacidade de regular os níveis de bicarbonato. Doenças pulmonares (como enfisema, pneumonia e asma) reduzem a capacidade de eliminar o CO_2 produzido por oxidação dos combustíveis nos tecidos, com o resultante acúmulo de H_2CO_3 .

O tratamento da acidose é feito de acordo com a condição apresentada – administração de insulina para pessoas com diabetes e esteroides ou antibióticos para pessoas com doenças pulmonares. A acidose grave pode ser revertida pela administração intravenosa de solução de bicarbonato.

EXEMPLO 2-6 Tratamento da acidose com bicarbonato

Por que a administração intravenosa de uma solução de bicarbonato aumenta o pH do plasma sanguíneo?

SOLUÇÃO: A relação entre $[\text{HCO}_3^-]$ e $[\text{CO}_2(\text{aq})]$ determina o pH do tampão de bicarbonato, de acordo com a equação

$$\text{pH} = 6,1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{\text{H}_2\text{CO}_3}$$

em que $[\text{H}_2\text{CO}_3]$ está diretamente relacionada com pCO_2 , a pressão parcial de CO_2 . Então, se $[\text{HCO}_3^-]$ aumentar sem que o pCO_2 mude, o pH do sangue aumentará.

RESUMO 2.3 Tamponamento versus mudanças no pH em sistemas biológicos

- Uma mistura de um ácido fraco (ou base fraca) e seu sal resiste a mudanças de pH causadas pela adição de H^+ ou OH^- . A mistura, portanto, funciona como um tampão.
- O pH de uma solução de um ácido ou base fraca e seus sais é dado pela equação de Henderson-Hasselbalch:

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}.$$

- Em células e tecidos, tampões de fosfato e bicarbonato mantêm os líquidos intracelular e extracelular em pH próximo de 7,4. As enzimas geralmente têm atividade ótima próximo desse pH fisiológico.
- Condições de saúde (p. ex., diabetes não controlado), que diminuem o pH sanguíneo, causando acidose, ou aumentam o pH, causando alcalose, podem levar à morte.

TERMOS-CHAVE

Os termos em negrito estão definidos no glossário.

ligação de hidrogênio

energia da ligação

hidrofílico

hidrofóbico

anfipático

efeito hidrofóbico

micelas

interações de van der Waals

osmolaridade

osmose

isotônico

hipertônico

hipotônico

constante de equilíbrio (K_{eq})

produto iônico da água (K_w)
pH
acidose
alcalose
par conjugado ácido-base
constante de dissociação ácida (K_a)
 pK_a
curva de titulação
tampão
região de tamponamento
equação de Henderson-Hasselbalch
pH ótimo

QUESTÕES

- 1. Efeito do ambiente local na intensidade das ligações iônicas** O sítio de ligação ao ATP de uma enzima está localizado no interior da enzima, em um ambiente hidrofóbico. Suponha que a interação iônica entre uma enzima e o ATP ocorra na superfície da enzima, exposta à água. A interação dessa enzima com o substrato passa a ser mais forte ou mais fraca? Por quê?
- 2. Vantagens biológicas das interações fracas** As associações entre moléculas biológicas geralmente são estabilizadas por ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas, efeito hidrofóbico e interações de van der Waals. Como interações fracas como essas trazem vantagens para os organismos?
- 3. Solubilidade do etanol em água** O etano (CH_3CH_3) e o etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) diferem nas suas estruturas moleculares por apenas um átomo; ainda assim, o etanol é muito mais solúvel em água que o etano. Descreva as características do etanol que o fazem ser mais solúvel em água do que o etano.
- 4. Cálculo do pH a partir da concentração de íons hidrogênio** Qual é o pH de uma solução na qual a concentração de H^+ é **(a)** $1,75 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$; **(b)** $6,50 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$; **(c)** $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$; **(d)** $1,50 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$?

5. Cálculo da concentração de íons hidrogênio a partir do pH Qual é a concentração de H^+ em uma solução com pH (a) 3,82; (b) 6,52; (c) 11,11?



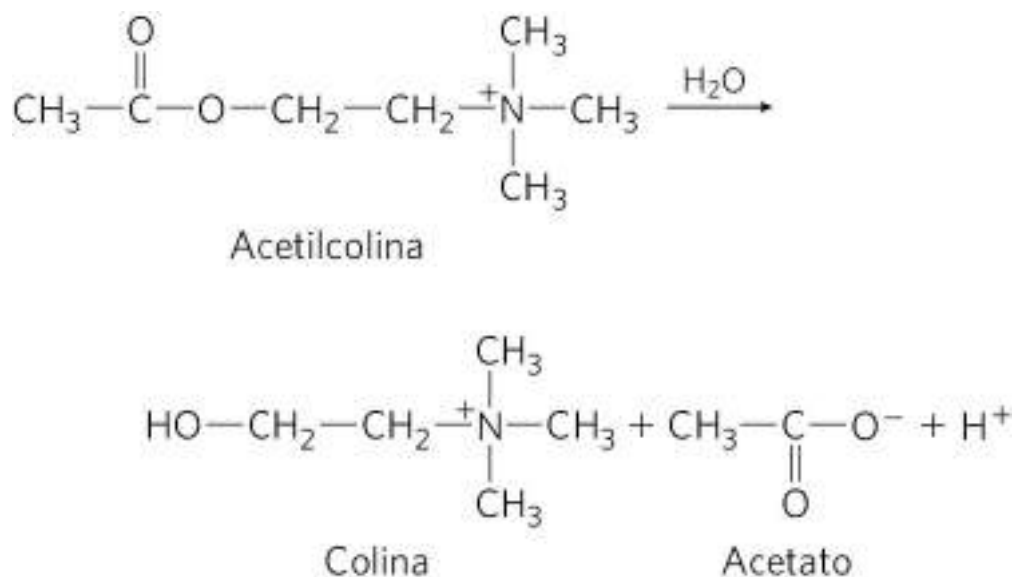
6. Acidez do HCl do suco gástrico O técnico de um laboratório hospitalar obteve uma amostra de 10,0 mL do suco gástrico de um paciente várias horas depois de uma refeição e titulou a amostra com NaOH 0,1 M até a neutralidade. A neutralização do HCl necessitou de 7,2 mL de NaOH. O estômago do paciente não continha nenhuma comida ou bebida no momento da coleta. Portanto, se supõe que não havia nenhum tampão no material coletado. Qual era o pH do suco gástrico?

7. Cálculo do pH de um ácido forte ou base forte

- (a) Escreva a reação de dissociação ácida para o ácido clorídrico.
- (b) Calcule o pH de uma solução de $5,0 \times 10^{-4}$ M de ácido clorídrico.
- (c) Escreva a reação de dissociação ácida para o hidróxido de sódio.
- (d) Calcule o pH de uma solução de 7×10^{-5} M de hidróxido de sódio a 25 °C.

8. Cálculo do pH da concentração de um ácido forte Calcule o pH de uma solução preparada pela diluição de 3,0 mL de HCl 2,5 M em um volume final de 100 mL com H_2O .

9. Determinação dos níveis de acetilcolina por mudança de pH Tem-se uma amostra de 15 mL de acetilcolina (um neurotransmissor) de concentração desconhecida com pH 7,65. Essa amostra foi incubada com a enzima acetilcolinesterase para converter toda a acetilcolina em colina e ácido acético. O ácido acético se dissocia, produzindo acetato e íons hidrogênio.



A determinação do pH após a incubação mostrou que ele baixou para 6,87. Supondo que não há tampão na mistura de reação, determine o número de nanomols de acetilcolina na amostra original de 15 mL.

10. Relação entre pK_a e pH Qual das soluções tem pH mais baixo: ácido fluorídrico 0,1 M ($pK_a = 3,20$); ácido acético 0,1 M ($pK_a = 4,86$); ácido fórmico 0,1 M ($pK_a = 3,75$); ácido láctico 0,1 M ($pK_a = 7,86$)?

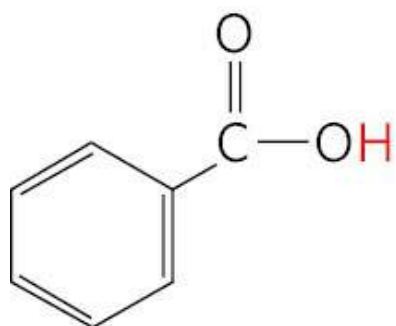
11. Propriedades dos ácidos fortes e fracos Classifique cada ácido ou propriedade que represente um ácido forte ou um ácido fraco: **(a)** ácido clorídrico; **(b)** ácido acético; **(c)** forte tendência a dissociar prótons; **(d)** K_a maior; **(e)** dissocia-se parcialmente em íons; **(f)** pK_a maior.

12. Vinagre artificial Uma maneira de fabricar vinagre é preparar uma solução de ácido acético, o único componente ácido do vinagre, no pH adequado (ver Fig. 2-14) e adicionar agentes aromatizantes. O ácido acético é líquido a 25 °C, tem massa molecular (M_r) de 60, densidade de 1,049 g/mL e constante de dissociação ácida (K_a) de $1,7 \times 10^{-5}$ M. Calcule o volume de ácido acético necessário para produzir 1 L de vinagre artificial usando água destilada (ver Fig. 2-15).

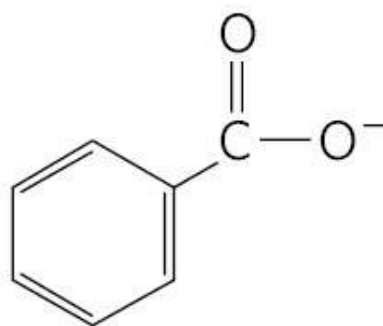
13. Identificação de bases conjugadas Escreva a base conjugada dos seguintes ácidos: **(a)** H_3PO_4 ; **(b)** H_2CO_3 ; **(c)** CH_3COOH ; **(d)** $CH_3NH_3^+$.

14. Cálculo do pH de uma mistura de um ácido fraco e sua base conjugada Calcule o pH de uma solução diluída que contém acetato de potássio e ácido acético ($pK_a = 4,76$) nas seguintes relações molares: **(a)** 2:1; **(b)** (1:3); **(c)** 5:1; **(d)** 1:1; **(e)** 1:10.

15. Efeito do pH na solubilidade As propriedades altamente polares das ligações de hidrogênio da água a tornam um excelente solvente para espécies iônicas (carregadas). Em contrapartida, moléculas orgânicas não ionizadas e apolares, como o benzeno, são relativamente insolúveis em água. Em princípio, a solubilidade em água de qualquer ácido ou base orgânica pode ser aumentada pela conversão das moléculas em suas respectivas espécies iônicas. Por exemplo, a solubilidade do ácido benzoico em água é baixa. A adição de bicarbonato de sódio a uma mistura de água e ácido benzoico aumenta o pH e desprotona o ácido benzoico, formando um íon benzoato, que é bastante solúvel em água.

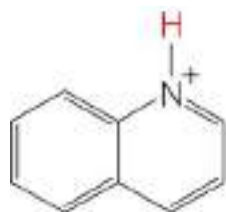


Ácido benzoico
 $pK_a \approx 5$



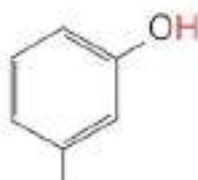
Íon benzoato

Categorize os compostos a seguir com base em quais são os mais solúveis em solução aquosa de NaOH 0,1 M ou solução aquosa de HCl 0,1 M. (Os prótons dissociados estão mostrados em vermelho.)



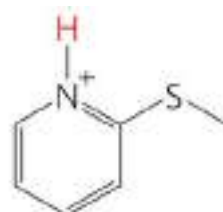
Íon quinolina
 $pK_a = 4,9$

(a)



m-Cresol
 $pK_a = 10,1$

(b)

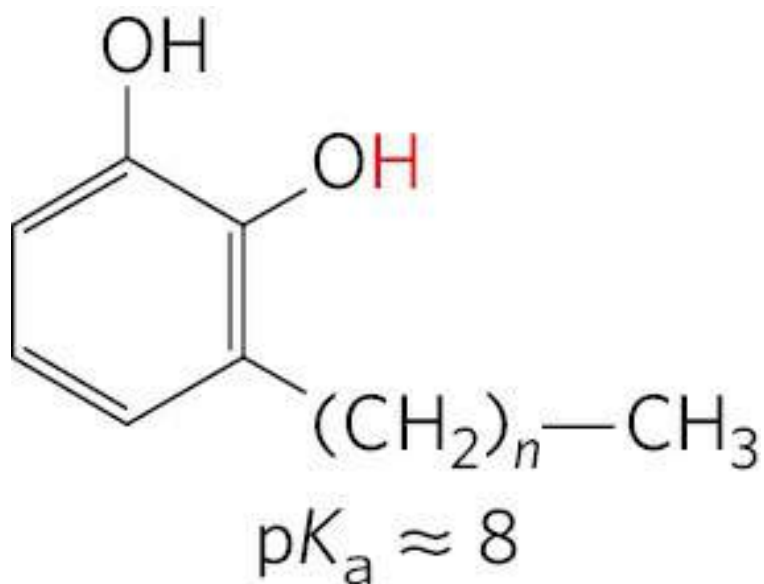


Íon 2-(metiltio)piridina
 $pK_a = 3,6$

(c)



16. Tratamento da erupção cutânea por hera venenosa O urushiol, componente de uma planta que causa ardência na pele característica, é uma mistura de catecóis substituídos com várias cadeias longas de grupos alquila.

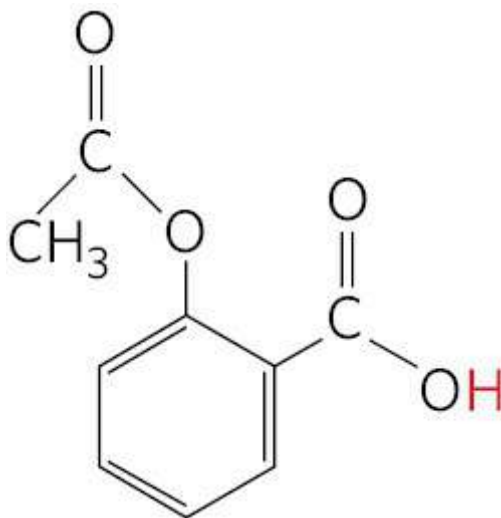


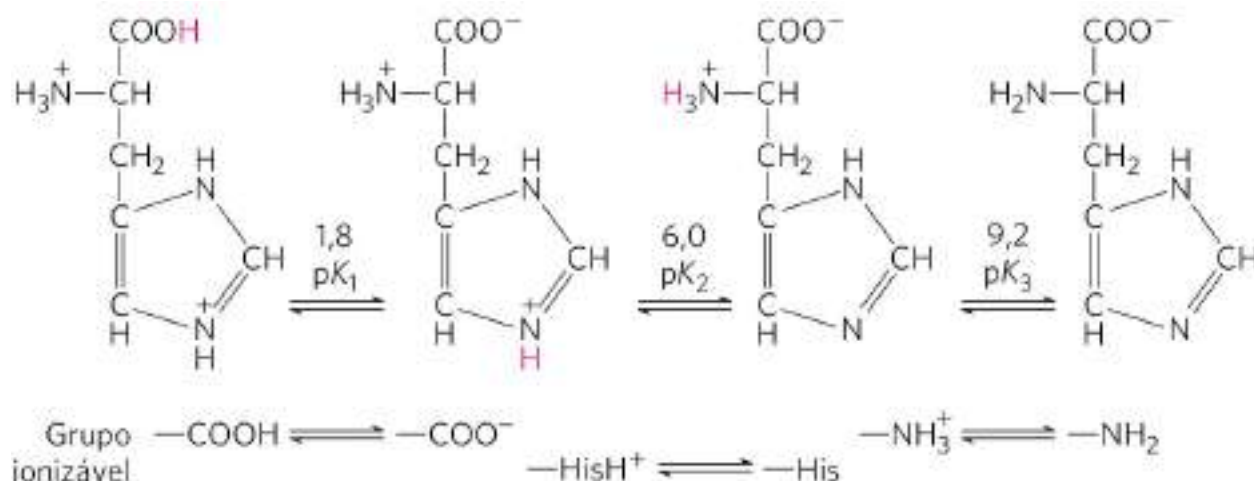
Qual dos seguintes tratamentos seria mais eficaz para remover os catecóis da superfície da pele depois do contato com a planta? Justifique sua resposta.

- (a) Lavar a área com água fria.
- (b) Lavar a área com vinagre diluído ou suco de limão.
- (c) Lavar a área com sabão e água.
- (d) Lavar a área com sabão, água e bicarbonato de sódio.



17. pH e absorção de medicamentos O ácido acetilsalicílico é um ácido fraco com pK_a de 3,5 (o H ionizável está mostrado em vermelho):



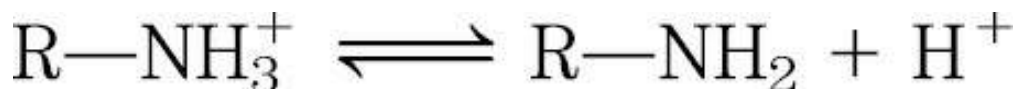


O ácido acetilsalicílico é absorvido para o sangue pelas células que revestem o estômago e o intestino delgado. A absorção necessita que ele atravessasse a membrana plasmática. A polaridade da molécula determina a velocidade de absorção; moléculas carregadas e altamente polares atravessam lentamente enquanto que moléculas hidrofóbicas neutras atravessam rapidamente. O pH do conteúdo estomacal é de cerca de 1,5, e o pH do conteúdo do intestino delgado é de aproximadamente 6. Com base nessas informações, o ácido acetilsalicílico é absorvido em maior quantidade para a corrente sanguínea a partir do estômago ou do intestino delgado? Justifique claramente a sua resposta.

18. Cálculo do pH a partir das concentrações molares O pK_a de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ é 9,25. Calcule o pH de uma solução contendo 0,12 M de NH_4Cl e 0,03 M de NaOH .

19. Cálculo do pH após a titulação com um ácido fraco Determinado composto tem um pK_a de 7,4. São acrescentados 100 mL de uma solução 1,0 M desse composto em pH 8,0 a 30 mL de uma solução de HCl 1,0 M. Qual é o pH da solução resultante?

20. Propriedades dos tampões O aminoácido glicina é muito usado como o ingrediente principal de um tampão em experimentos de bioquímica. O grupo amino da glicina, que tem pK_a de 9,6, pode existir tanto na forma protonada ($-\text{NH}_3^+$) quanto como base livre ($-\text{NH}_2$), devido ao equilíbrio reversível



- (a) Qual é o intervalo de pH no qual a glicina pode ser usada como tampão efetivo devido ao seu grupo amino?
- (b) Em uma solução de 0,1 M de glicina em pH 9, qual é a proporção de glicina que tem os seus grupos amino na forma $-\text{NH}_3^+$?

(c) Quanto KOH 5 M deve ser adicionado a 1 L de uma solução de glicina 0,1 M a pH 9,0 para mudar o pH para exatamente 10,0?

(d) Qual é a relação numérica entre o pH da solução e o pK_a do grupo amino quando 99% da glicina estiver na sua forma $-NH_3^+$?

21. Determinação do pK_a de um grupo ionizável por titulação Supondo que uma bioquímica tem 10 mL de solução 1,0 M de um composto que tem dois grupos ionizáveis em pH 8,0. Ela adiciona 10,0 mL de HCl 1,00 M, o que muda o pH para 3,20. O valor do pK_a de um dos grupos (pK_1) é 3,8, e sabe-se que o pK_2 fica entre 7 e 10. Qual é o valor exato do pK_2 ?

22. Cálculo do pH de uma solução de ácido poliprótico O aminoácido histidina tem grupos com pK_a 1,8, 6,0 e 9,2, como mostrado a seguir (His = grupo imidazol). Uma bioquímica prepara 100 mL de uma solução 0,10 M de histidina com pH 5,40. Então, ela adiciona 40 mL de HCl 0,1 M. Qual é o pH da solução resultante?

23. Cálculo do pH original a partir do pH final após titulação Um bioquímico tem 100 mL de uma solução a 0,100 M de um ácido fraco com pK_a de 6,3. Ele adiciona 6,0 mL de HCl 1,0 M, o que muda o pH para 5,7. Qual era o pH da solução original?

24. Preparo de um tampão fosfato O ácido fosfórico (H_3PO_4), um ácido triprótico, tem três pK_a (2,14, 6,86 e 12,4). Qual é a relação molar de HPO_4^{2-} para $H_2PO_4^-$ quando em solução que produza pH 7,0? Dica: somente um dos valores de pK_a é relevante nesse caso.

25. Preparação de um tampão padrão para calibração de um pH-metro O eletrodo de vidro usado em pH-metros comerciais responde proporcionalmente à concentração dos íons de hidrogênio presentes. Para converter essas respostas para uma leitura do valor de pH, é necessário calibrar o eletrodo com soluções padrão cujas concentrações de H^+ sejam conhecidas. O preparo de um tampão padrão com pH 7,0 usa di-hidrogênio fosfato ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, FW 138) e mono-hidrogênio fosfato dissódico (Na_2HPO_4 ; FW 142). O ácido fosfórico (H_3PO_4), um ácido triprótico, tem três valores de pK_a : 2,14, 6,86 e 12,4. Calcule o peso, em gramas, de di-hidrogênio fosfato sódico e hidrogênio fosfato dissódico para preparar 1,0 L de um tampão padrão com concentração total de fosfato de 0,10 M (ver Figura 2-15).

26. Cálculo das relações molares de conjugados base e ácido fraco a partir do pH Calcule a relação entre a base conjugada e o ácido existente em pH 5,0 para um ácido com $pK_a = 6,0$.

27. Preparo de um tampão com pH e força conhecidos Têm-se à disposição soluções de ácido acético ($pK_a = 4,76$) e acetato de sódio, ambas a 0,10 M. Quantos mililitros da solução de ácido acético e da solução de acetato de sódio precisam ser misturados para preparar 1,0 L de tampão acetato 0,10 M a pH 4,0?

28. Escolha do ácido fraco para preparar um tampão Determine qual dos seguintes ácidos fracos é o mais indicado para preparar tampões com pH 3,0, pH 5,0 ou pH 9,0: **(a)** ácido fórmico ($pK_a = 3,8$); **(b)** ácido acético ($pK_a = 4,76$); **(c)** amônio ($pK_a = 9,25$); **(d)** ácido bórico ($pK_a = 9,24$); **(e)** ácido cloracético ($pK_a = 2,87$); **(f)** ácido hidrazoico ($pK_a = 4,6$). Justifique brevemente sua resposta.

29. Trabalhando com tampões Um tampão contém 0,010 mol de ácido láctico ($pK_a = 3,86$) e 0,050 mol de lactato de sódio por litro.

(a) Calcule o pH do tampão.

(b) Calcule a mudança no pH causada pela adição de 5,0 mL de HCl 0,5 M a 1 L de tampão.

(c) Que mudança de pH se espera caso essa mesma quantidade de HCl fosse adicionada a 1 L de água pura?

30. Uso das concentrações molares no cálculo do pH Qual é o pH de uma solução que contém 0,20 M de acetato de sódio e 0,60 M de ácido acético ($pK_a = 4,76$)?

31. Preparação de tampão acetato Calcule as concentrações de ácido acético ($pK_a = 4,76$) e acetato de sódio necessárias para preparar tampão acetato 0,2 M com pH 5,0.

32. pH da secreção de defesa de insetos Você está observando um inseto que se defende dos inimigos secretando um líquido cáustico. Uma análise do líquido revelou uma concentração total de formato mais ácido fórmico ($K_a = 1,8 \times 10^{-4}$) de 1,45 M. Análises complementares mostraram concentração do íon formato de 0,015 M. Qual é o pH da secreção?

33. Cálculo do pK_a Um composto desconhecido, X, tem um grupo carboxila com pK_a de 2,0 e outro grupo ionizável com pK_a entre 5 e 8. Quando 75 mL de NaOH 0,1 M são adicionados a 100 mL de uma solução de 0,1 M de X em pH 2,0, o pH aumenta para 6,72. Calcule o pK_a do segundo grupo ionizável de X.

34. Formas ionizadas dos aminoácidos em diferentes níveis de pH A glicina é um ácido diprótico que sofre duas reações de dissociação, uma para o grupo α -amino ($-\text{NH}_3^+$) e outra para o grupo carboxila ($-\text{COOH}$); portanto, tem dois valores de pK_a . O grupo carboxila tem um pK_1 de 2,34 e o grupo α -amino tem um pK_2 de 9,60. A glicina pode existir totalmente desprotonada ($\text{NH}_2\text{--CH}_2\text{--COO}^-$), totalmente protonada ($^+\text{NH}_3\text{--CH}_2\text{--COOH}$) ou na forma zwitteriônica ($^+\text{NH}_3\text{--CH}_2\text{--COO}^-$). Determine qual forma da glicina está presente em maior concentração em soluções com: **(a)** pH 1,0; **(b)** pH 6,0; **(c)** pH 7,0; **(d)** pH 8,0; e **(e)** pH 11,9. Explique sua resposta relacionando o pH com os dois valores de pK_a .

35. Controle do pH sanguíneo pela respiração

(a) A pressão parcial de CO_2 ($p\text{CO}_2$) nos pulmões pode variar rapidamente conforme a frequência e a profundidade da respiração. Por exemplo, uma providência comum para aliviar soluços é aumentar a concentração de CO_2 nos pulmões. Isso pode ser atingido prendendo-se a respiração, respirando lenta e superficialmente (hipoventilação) ou respirando dentro de um saco de papel. Sob essas condições, a $p\text{CO}_2$ no espaço aéreo dos pulmões sobe acima do normal. (a) Como o aumento da $p\text{CO}_2$ nos pulmões pode afetar o pH do sangue?

(b) Uma prática comum entre atletas de corridas de curta distância é a respiração rápida e profunda (hiperventilação) por cerca de meio minuto para remover o excesso de CO_2 de seus pulmões um pouco antes da corrida começar. Nessas condições, o pH do sangue sobe para 7,6. Explique como a hiperventilação leva ao aumento do pH do sangue.

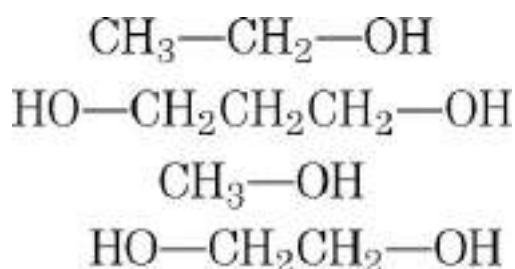
(c) Durante uma corrida de curta distância, os músculos produzem uma grande quantidade de ácido láctico ($\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$; $K_a = 1,38 \times 10^{-4} \text{ M}$) a partir da glicose armazenada. Tendo-se em vista esse fato, por que a hiperventilação antes de uma corrida pode ser vantajosa?

36. Cálculo do pH do sangue a partir dos níveis de CO_2 e bicarbonato Calcule o pH de uma amostra de plasma com uma concentração total de CO_2 de 26,9 mM e uma concentração de bicarbonato de 25,6 mM. Lembre-se da importância do pK_a do ácido carbônico ser 6,1.

37. Efeito de prender a respiração sobre o pH do sangue O pH do líquido extracelular é tamponado pelo sistema bicarbonato/ácido carbônico. Prender a respiração pode aumentar os níveis de CO_2 no sangue. Que efeito isso pode ter no pH do líquido extracelular? Explique mostrando as equações de equilíbrio relevantes para esse sistema tampão.

38. Ponto de ebulição de álcoois e dióis

(a) Ordene os compostos conforme os pontos de ebulição esperados.



(b) Quais são os fatores importante para prever os pontos de ebulição desses compostos?

39. Duração das ligações de hidrogênio A PCR é uma técnica de laboratório na qual sequências específicas de DNA são copiadas e amplificadas várias vezes. As duas fitas de DNA, que são mantidas unidas em parte devido às ligações de hidrogênio entre elas, são aquecidas em uma solução tampão para separar uma fita da outra e, então, são resfriadas para permitir que voltem a

se associar. O que se pode prever sobre a duração média das ligações de hidrogênio em uma temperatura mais alta em relação a uma temperatura mais baixa?

40. Eletronegatividade e ligação de hidrogênio A eletronegatividade de Pauling mede a afinidade de um átomo pelo elétron em uma ligação covalente. Quanto maior for o valor da eletronegatividade, maior será a afinidade do átomo pelo elétron que ele compartilha com o outro átomo.

Átomo	Eletronegatividade
H	2,1
C	2,55
S	2,58
N	3,04
O	3,44

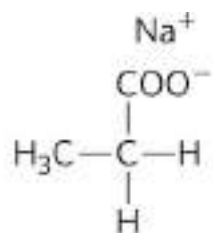
Observe que, na tabela periódica, o S vem logo abaixo do O.

(a) Você espera que H_2S forme ligações de hidrogênio entre si mesmo? E com H_2O ?

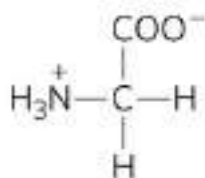
(b) A água entra em ebulição a 100 °C. O ponto de ebulição do H_2S é maior ou menor do que o ponto de ebulição da H_2O ?

(c) O H_2S é um solvente mais polar do que a H_2O ?

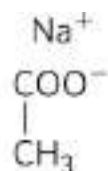
41. Solubilidade de compostos de baixo peso molecular Muitos dos compostos de baixo peso molecular encontrados nas células estão na forma iônica que eles têm quando em água em pH 7,0.



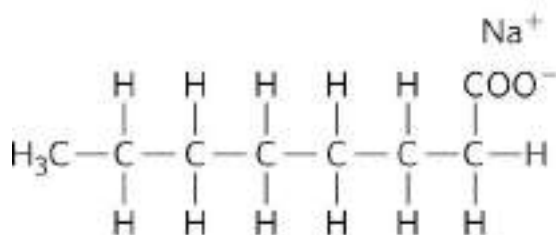
Propionato
de sódio



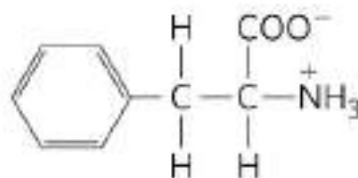
Glicina



Acetato
de sódio



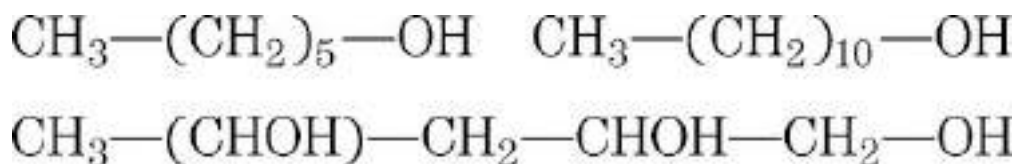
Octanoato de sódio



L-Fenilalanina

Liste os cinco compostos na ordem do mais para o menos solúvel em água.

42. Solubilidade relativa dos álcoois Liste os álcoois na ordem do mais solúvel para o menos solúvel em água.



43. Determinação da carga e da solubilidade de ácidos orgânicos Suponha que o pK_a de compostos contendo carboxila seja de aproximadamente 3. Suponha que $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_4-\text{COOH}$, $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{COOH}$ e $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_2-\text{COOH}$ sejam adicionados à água em pH 7,0.

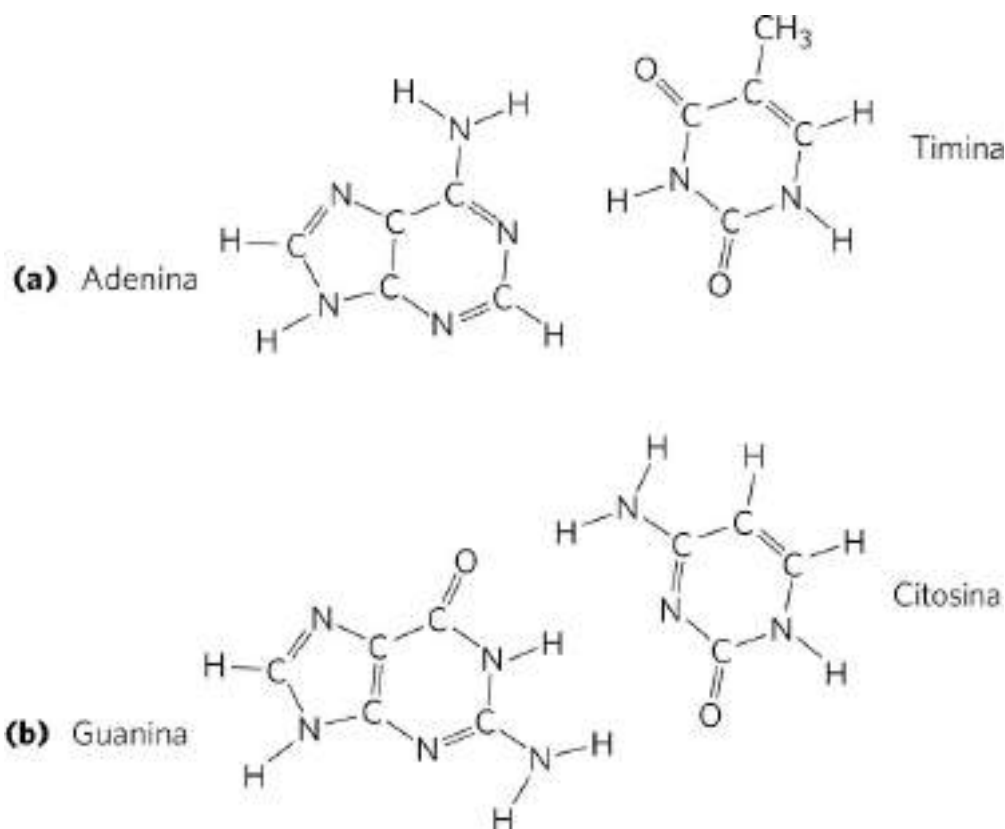
- (a) Qual é a carga líquida de cada um dos compostos quando em solução?
(b) Liste os compostos em ordem do mais solúvel para o menos solúvel.

44. Efeitos ecológicos do pH O réu de um processo sobre poluição industrial foi acusado de liberar efluentes com pH 10 em um riacho onde vivem trutas. O autor da ação solicitou que o réu reduzisse o pH do efluente para um valor que não fosse superior a 7. O advogado do réu, querendo agradar ao juiz, prometeu que o seu cliente faria ainda mais: diminuiria o pH para 1!

- (a) O advogado do autor da ação poderia aceitar a sugestão do advogado do réu? Por quê?
(b) Quais fatos sobre pH esse advogado deveria conhecer?

45. pH e osmolaridade do tampão fosfato-salina O tampão fosfato-salina (PBS) é uma solução normalmente usada em estudos envolvendo tecidos e células animais. Ele é formado por NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM, Na_2HPO_4 ($\text{pK}_a = 2,14$) 10 mM e KH_2PO_4 ($\text{pK}_a = 6,86$) 1,8 mM. Calcule o pH e a osmolaridade do PBS. Forneça a osmolaridade na unidade de osmol por litro (osm/L).

46. Ligações de hidrogênio nos pares de base de Watson e Crick Em 1953, James Watson e Francis Crick descobriram que a base de purina da adenina forma um par com a base de pirimidina timina (ou a base uracila). De maneira semelhante, a base de purina guanina forma um par com a base de pirimidina citosina. Essas bases pareiam devido à formação de ligações de hidrogênio entre purinas e pirimidinas. Mostre as ligações de hidrogênio que se formam **(a)** quando adenina pareia com timina e **(b)** quando guanina pareia com citosina.



QUESTÃO DE ANÁLISE DE DADOS

47. Surfactantes “reversíveis” Moléculas hidrofóbicas não se dissolvem bem em água. Isso torna determinados processos muito difíceis: retirar o resíduo oleoso de alimentos dos pratos, limpar óleo derramado, manter as fases oleosa e aquosa dos molhos de salada bem misturadas e fazer reações químicas que envolvem componentes hidrofílicos e hidrofóbicos.

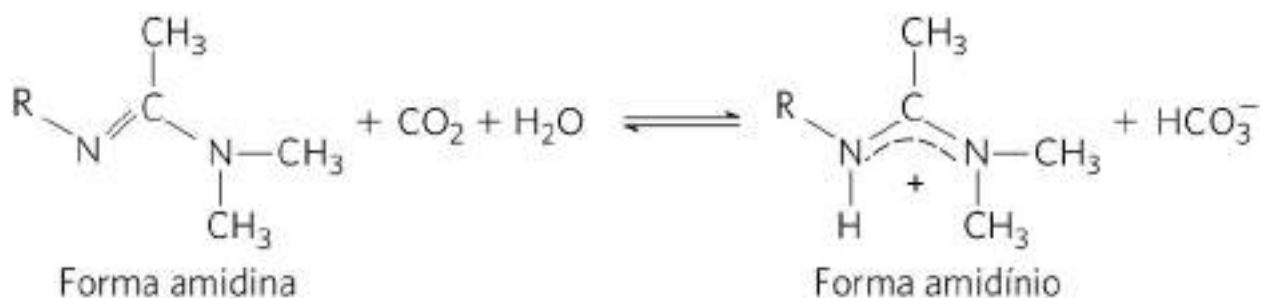
Surfactantes são uma classe de compostos anfipáticos que incluem sabões, detergentes e emulsificantes. O uso de surfactantes permite que compostos hidrofóbicos sejam suspensos em soluções aquosas pela formação de micelas (ver Fig. 2-7). Uma micela tem um núcleo hidrofóbico, que consiste em compostos hidrofóbicos e “caudas” hidrofóbicas do surfactante, sendo que a superfície das micelas fica recoberta pelas “cabeças” hidrofílicas do surfactante. Uma suspensão de micelas é chamada de emulsão. Quanto mais hidrofílico for o grupo que compõe a cabeça do surfactante, mais potente ele será e maior será a sua capacidade de emulsificar material hidrofóbico.

Quando se utiliza sabão para remover a gordura da louça suja, o sabão forma uma emulsão com a gordura, facilmente removida pela água por meio das interações das moléculas de água com a cabeça hidrofílica das moléculas de sabão. Da mesma maneira, pode-se usar um detergente para emulsificar óleo derramado para a remoção com água. E emulsificantes em molhos industrializados de saladas mantêm o azeite suspenso na mistura à base de água.

Existem algumas situações, como na remoção de derramamentos de óleo, nas quais seria muito útil ter um surfactante “reversível”: uma molécula que poderia ser reversivelmente convertida nas formas surfactante e não surfactante.

(a) Imagine que esse surfactante reversível exista. Como esse produto poderia ser usado para limpar um derramamento de óleo e depois recuperar o óleo?

Liu e colaboradores descreveram um protótipo de surfactante reversível no artigo de 2006 “*Surfactantes reversíveis*”. A reversibilidade é baseada na seguinte reação:



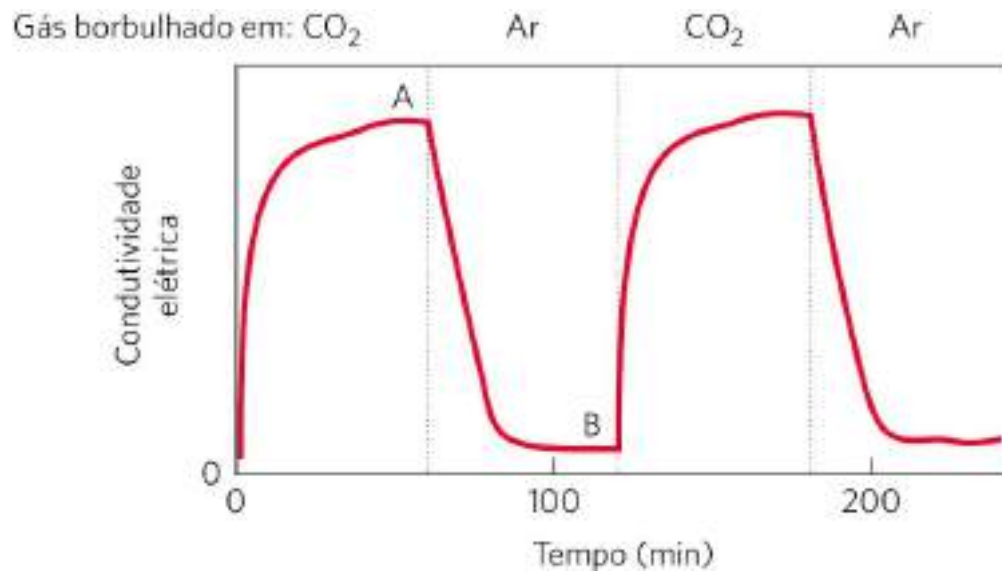
(b) Dado que o pK_a de um íon amidínio típico é 12,4, em qual direção (para a esquerda ou para a direita) se espera que o equilíbrio da reação acima se desloque? (Ver na Fig. 2-15 os valores de pK_a relevantes.) Justifique sua resposta. Dica: lembre-se da reação $\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3$.

Liu e colaboradores produziram um surfactante reversível no qual $\text{R} = \text{C}_{16}\text{H}_{33}$. Essa molécula será denominada s-surf.

(c) A forma amidínio do s-surf é um surfactante poderoso; a forma amidina, não. Explique esse fato.

Liu e colaboradores descobriram que poderiam fazer um revezamento entre as duas formas do s-surf por mudanças no gás que eles borbulharam através da solução do surfactante. Eles demonstraram essa mudança pela medida da condutividade elétrica da solução de s-surf com

base no fato de que soluções aquosas de compostos iônicos apresentam maior condutividade que soluções de compostos não iônicos. Eles começaram com uma solução contendo a forma amidina do s-surf em água. Os resultados que obtiveram estão demonstrados a seguir; as linhas tracejadas indicam mudanças no gás usado.



- (d) Em qual forma a maior parte do s-surf se encontra no ponto A? E no ponto B?
- (e) Por que a condutividade elétrica aumenta do tempo 0 ao ponto A?
- (f) Por que a condutividade elétrica decresceu do ponto A para o ponto B?
- (g) Explique como o s-surf poderia ser usado para limpar e recuperar óleo de um derramamento de óleo.

Referência

Liu, Y., P.G. Jessop, M. Cunningham, C.A. Eckert e C.L. Liotta. 2006. Switchable surfactants. *Science* 313(5789):958-960. <https://doi.org/10.1126/science.11288142>.

Capítulo 3

AMINOÁCIDOS, PEPTÍDEOS E PROTEÍNAS

As proteínas controlam praticamente todos os processos que ocorrem em uma célula e apresentam uma variedade quase infinita de funções. Para explorar os mecanismos moleculares dos processos biológicos, os bioquímicos estudam quase que inevitavelmente uma ou mais proteínas. As proteínas são as macromoléculas biológicas mais abundantes, uma vez que estão presentes em todas as células e em todas as partes das células. Além disso, há uma grande diversidade de proteínas; milhares de tipos diferentes podem ser encontrados em uma única célula. As proteínas são os instrumentos moleculares pelos quais a informação genética é expressa – os produtos finais mais importantes das vias de informação são discutidos na Parte III deste livro.

As células, ao juntarem os 20 aminoácidos comuns em diferentes combinações e sequências, produzem proteínas com propriedades e atividades surpreendentemente distintas. A partir desses módulos de construção, os diferentes organismos podem gerar uma ampla diversidade de produtos, como enzimas, hormônios, anticorpos, transportadores, componentes que captam luz nas plantas, flagelos de bactérias, fibras musculares, penas, teias de aranha, chifres de rinoceronte, antibióticos e uma infinidade de outras substâncias com funções biológicas variadas (**Fig. 3-1**). Entre as proteínas, as enzimas são as que têm maior variedade e especializações. Como catalisadoras de quase todas as reações celulares, as enzimas são uma das chaves para compreender a química da vida, tornando-se, assim, um dos pontos centrais em todo curso de bioquímica.



FIGURA 3-1 Algumas funções das proteínas. (a) A luz produzida por vaga-lumes é o resultado de uma reação envolvendo a proteína luciferina e o ATP, catalisada pela enzima luciferase (ver Quadro 13-1). (b) Os eritrócitos contêm grandes quantidades da proteína transportadora de oxigênio, a hemoglobina. (c) A proteína queratina, produzida por todos os vertebrados, é o principal componente estrutural de pelos, escamas, chifres, lã, unhas e penas. O rinoceronte-negro está muito próximo de ser extinto no seu ambiente natural devido à crença que há em algumas partes do mundo de que o pó do seu chifre tem propriedades afrodisíacas. Na verdade, as propriedades químicas do pó de chifre de rinoceronte não são diferentes daquelas do pó dos cascos de bovinos ou das unhas das pessoas. [(a) Jeff J. Daly/Alamy. (b) Bill Longcore/Science Source. (c) Mary Cooke/Animals Animals.]

A estrutura e a função das proteínas são os assuntos deste e dos próximos três capítulos. Inicialmente, será apresentada uma descrição das propriedades químicas fundamentais dos aminoácidos, dos peptídeos e das proteínas. Também será abordado como os bioquímicos trabalham com proteínas. O assunto está dividido em quatro princípios:

- P1 Em todos os seres vivos, as proteínas são formadas a partir de um conjunto comum de 20 aminoácidos.** Cada aminoácido tem uma cadeia lateral com propriedades químicas próprias. Os aminoácidos podem ser vistos como o alfabeto no qual a linguagem da estrutura das proteínas é escrita.
- P2 Nas proteínas, os aminoácidos estão ligados em uma sequência linear característica por meio de uma ligação amida, a ligação peptídica.** A sequência de aminoácidos de uma proteína constitui a sua estrutura primária, o primeiro nível discutido dentro da alta complexidade da estrutura das proteínas.
- P3 Para serem estudadas, cada proteína deve ser separada das outras milhares de proteínas presentes nas células. Esse isolamento se baseia nas diferenças de suas propriedades químicas e funcionais, decorrentes de suas distintas sequências de aminoácidos.** As proteínas são um ponto central na bioquímica, e a purificação de proteínas individuais para estudo é a essência do esforço bioquímico.
- P4 Moldadas pela evolução, as sequências de aminoácidos são a ferramenta-chave para entender a função de determinada proteína e estabelecer relações funcionais e evolutivas.**

3.1 Aminoácidos

Proteínas são polímeros de aminoácidos, com cada **resíduo** de **aminoácido** unido ao seu vizinho por um tipo específico de ligação covalente (o termo “resíduo” indica a perda de elementos de água quando um aminoácido é unido a outro). As proteínas podem ser degradadas (hidrolisadas) em seus aminoácidos constituintes por vários métodos. Os primeiros estudos das proteínas naturalmente se concentraram nos aminoácidos livres que fazem parte das proteínas. Vinte aminoácidos diferentes são comumente encontrados nas proteínas. O primeiro a ser descoberto foi a asparagina, em 1806. O último dos 20 a ser descoberto (treonina) só foi identificado em 1938. Todos os aminoácidos têm nomes comuns ou triviais, em alguns casos derivados da fonte da qual foram isolados pela primeira vez. A asparagina foi descoberta pela primeira vez no aspargo, e o glutamato, no glúten do trigo; a tirosina foi isolada pela primeira vez a partir do queijo (seu nome é derivado do grego *tyros*, “queijo”); e a glicina (do grego *glykos*, “doce”) recebeu esse nome devido ao seu sabor adocicado.

Aprender os nomes, as estruturas e as propriedades químicas dos 20 aminoácidos comuns encontrados nas proteínas é um dos pontos-chave para qualquer estudante que se inicia na bioquímica. Essa necessidade logo fica evidente no suceder dos capítulos. É impossível discutir estrutura, função, sítios de ligação a ligantes, sítios ativos de enzimas e quase todos os outros pontos da bioquímica sem ter essa base. Os aminoácidos são parte do vocabulário da bioquímica.

Os aminoácidos têm algumas características estruturais em comum

P1 Todos os 20 aminoácidos comuns são α -aminoácidos. Eles têm um grupo carboxila e um grupo amino ligados ao mesmo átomo de carbono (o carbono α) (**Fig. 3-2**). Eles diferem-se uns dos outros em suas cadeias laterais, ou **grupos R**, que variam em estrutura, tamanho e carga elétrica e afetam a solubilidade dos aminoácidos em água. Além desses 20 aminoácidos, há muitos outros menos comuns. Alguns têm a cadeia lateral modificada após a proteína ser sintetizada; outros estão presentes nos seres vivos, mas não como constituintes de proteínas; e dois são casos especiais encontrados apenas em algumas proteínas. Aos aminoácidos comuns das proteínas foram atribuídos abreviações de três letras e símbolos de uma letra (ver Tabela 3-1), que são usados para indicar a composição e a sequência de aminoácidos polimerizados nas proteínas.

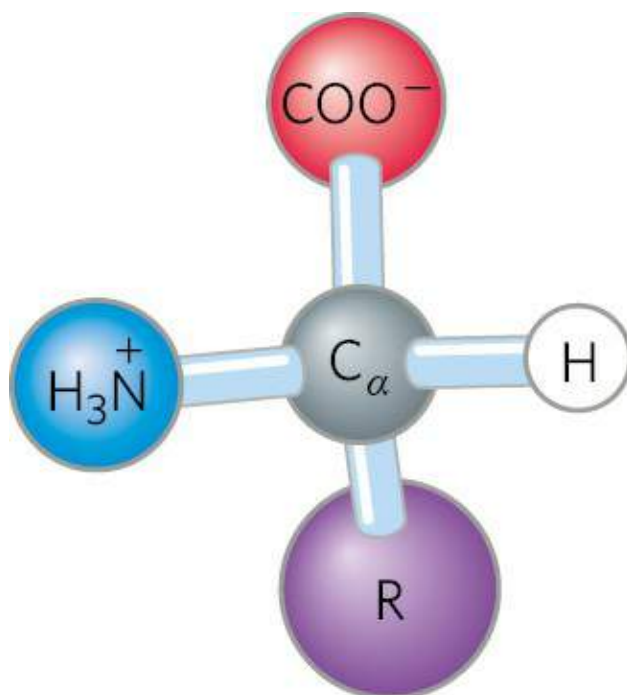


FIGURA 3-2 Estrutura geral de um aminoácido. Essa é a estrutura comum de todos os α -aminoácidos, com exceção de um (a prolina, um aminoácido cíclico). Cada aminoácido tem um grupo R, ou cadeia lateral (em roxo), diferente ligado ao carbono α (em cinza).

CONVENÇÃO

O código de três letras é bastante evidente. Em geral, as abreviações consistem nas três primeiras letras do nome do aminoácido. O código de uma letra foi concebido por Margaret Oakley Dayhoff, considerada por muitos a fundadora do campo da bioinformática. O código de uma letra é o resultado de uma tentativa de reduzir o tamanho dos arquivos de dados (na época da computação com cartões perfurados) utilizados para descrever as sequências de aminoácidos. Esse código foi desenvolvido para ser facilmente memorizado, e saber como foi originado ajuda os estudantes a se lembrarem dele. No caso de seis aminoácidos (CHIMSV), a primeira letra do nome do aminoácido é única e, portanto, utilizada como o símbolo. Para cinco outros (AGLPT), a primeira letra não é única, mas é dada ao aminoácido mais comum nas proteínas (p. ex., leucina é mais comum do que lisina). Para outros quatro, a letra utilizada é foneticamente sugestiva (RFYW: aRginina, Fenilalanina, tirosina [do inglês *tYrosine*], triptofano [do inglês *tWiptophan*]). Os outros foram mais difíceis de abreviar. Para quatro aminoácidos (DNEQ), foram atribuídas letras encontradas em seus nomes ou sugeridas pelos nomes (aspartato [do inglês *asparDic*], asparagiNa, glutamato [do inglês *glutamEke*], glutamina

[do inglês *Q-tamine*]). A única restante é a lisina. Sobravam poucas letras no alfabeto, e a letra K foi escolhida porque era a mais próxima de L. ■



Margaret Oakley Dayhoff, 1925-1983 [Fotografia por Dr. Ruth Dayhoff, cortesia de Vincent Brannigan.]

Em todos os aminoácidos comuns, exceto na glicina, o carbono α está ligado a quatro grupos diferentes: um grupo carboxila, um grupo amino, um grupo R e um átomo de hidrogênio (Fig. 3-2; na glicina, o grupo R é outro átomo de hidrogênio). O átomo de carbono α é, portanto, um **centro quiral**. Em decorrência do arranjo tetraédrico dos orbitais de ligação em volta do átomo de carbono α , os quatro grupos diferentes podem ocupar dois arranjos espaciais únicos, de modo que os aminoácidos têm dois estereoisômeros possíveis. Uma vez que elas são imagens especulares não sobreponíveis uma na outra (**Fig. 3-3**), as duas formas representam uma classe de estereoisômeros denominada **enantiômeros** (ver Fig. 1-21). Todas as moléculas com um centro quiral também são **opticamente ativas** – isto é, elas giram o plano da luz polarizada (ver Quadro 1-2).

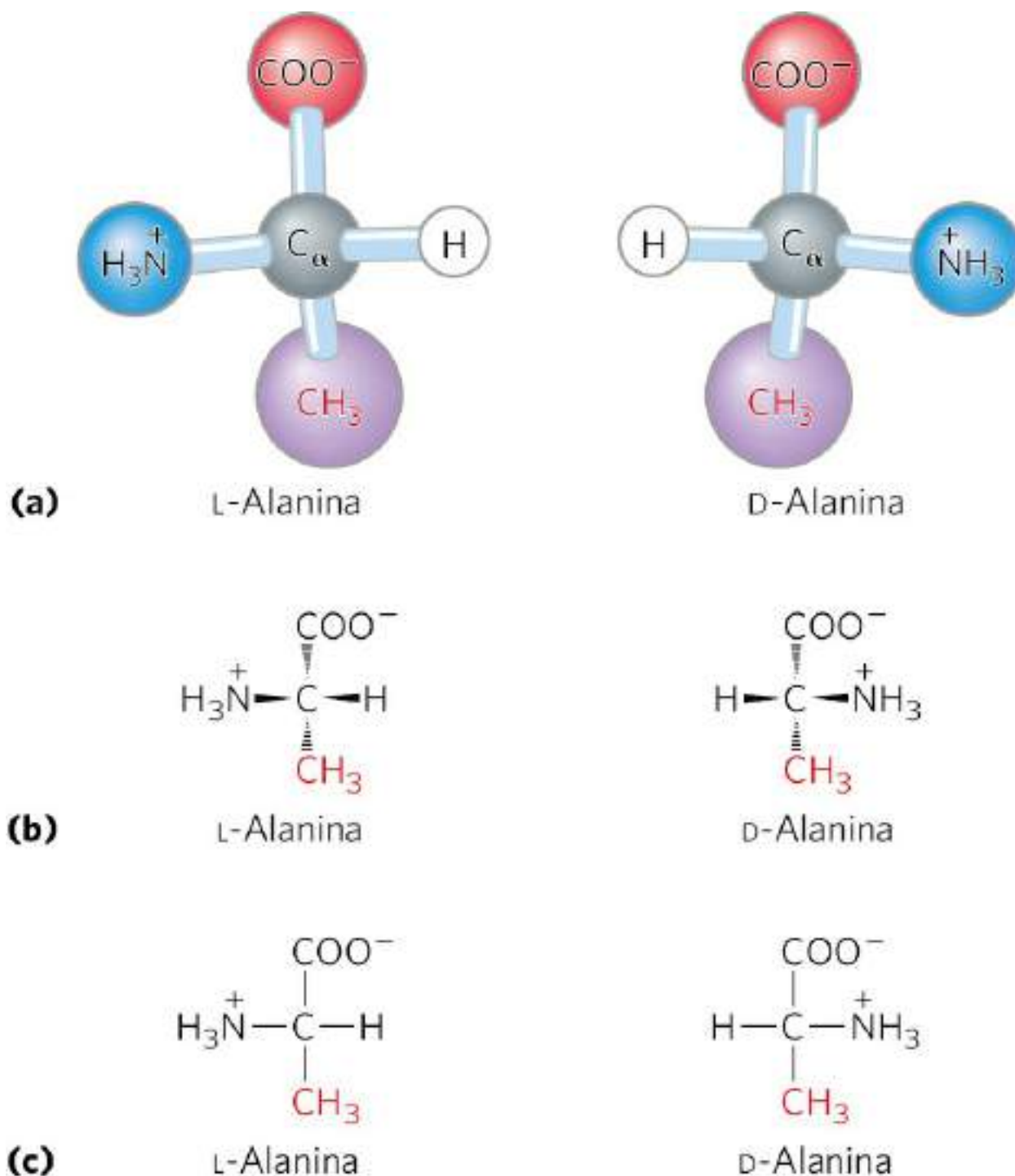
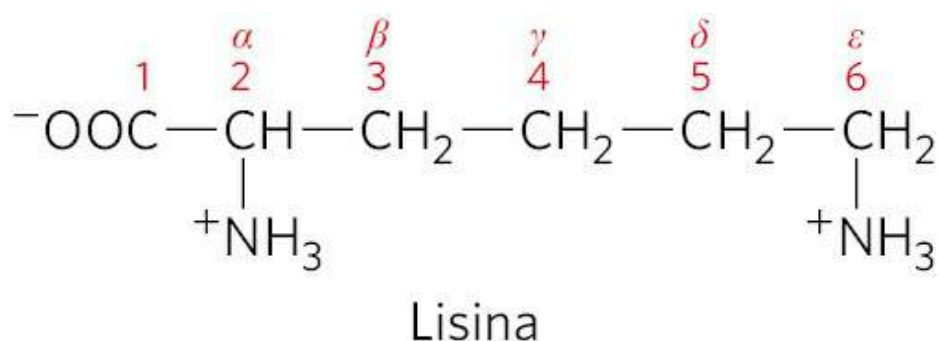


FIGURA 3-3 **Estereoisomeria em α -aminoácidos.** (a) Os dois estereoisômeros da alanina, L e D-alanina, são imagens especulares não sobreponíveis uma à outra (enantiômeros). (b, c) Duas convenções diferentes para representar as configurações espaciais dos estereoisômeros. Em fórmulas de perspectiva (b), as ligações sólidas em forma de cunha projetam-se para fora do plano do papel, e as ligações tracejadas, para trás do plano. Em fórmulas de projeção (c), supõe-se que as ligações horizontais se projetam para a frente do plano do papel, e as ligações verticais, para trás. Entretanto, fórmulas de projeção muitas vezes são usadas casualmente e nem sempre pretendem representar uma configuração estereoquímica específica. Ver a Figura 3-4 para uma explicação sobre o sistema D, L de especificação da configuração absoluta.

CONVENÇÃO

Duas convenções são utilizadas para identificar os carbonos de um aminoácido – prática que pode causar confusão. Os carbonos adicionais em um grupo R são comumente denominados β , γ , δ , ϵ , e assim por diante, a partir do carbono α . Para a maioria das outras moléculas orgânicas, os átomos de carbono são simplesmente numerados a partir de uma das extremidades, dando preferência (C-1) ao carbono com o substituinte que contém o átomo de maior número atômico. Nesta última convenção, o carbono carboxílico de um aminoácido seria o C-1, e o carbono α seria o C-2.



No caso dos aminoácidos com um grupo R heterocíclico (p. ex., histidina), o sistema de letras gregas é ambíguo, motivo pelo qual se utiliza o sistema de números. Para os aminoácidos de cadeia ramificada, os carbonos correspondentes são numerados depois da letra grega. A leucina, portanto, tem carbonos $\delta 1$ e $\delta 2$ (ver estrutura na Fig. 3-5). ■

Foi desenvolvida uma nomenclatura especial para a **configuração absoluta** dos quatro substituintes dos átomos de carbono assimétricos. As configurações absolutas de açúcares simples e aminoácidos são indicadas usando-se o **sistema D-L** (Fig. 3-4), com base na configuração absoluta do açúcar de três carbonos, o gliceraldeído. Essa convenção foi proposta por Emil Fischer em 1891. (Fischer sabia quais grupos circundavam o carbono assimétrico do gliceraldeído, mas teve de supor a configuração absoluta; e ele supôs corretamente, como foi confirmado posteriormente por análises de difração de raios X.) Em todos os compostos quirais, os estereoisômeros que têm uma configuração relacionada com a configuração do L-gliceraldeído são denominados L, e os estereoisômeros relacionados com o D-gliceraldeído são denominados D. Os grupos funcionais da L-alanina correspondem aos do L-gliceraldeído, uma vez que, para alinhá-los, eles devem ser interconvertidos por meio de uma reação simples de apenas uma etapa. Portanto, o grupo carboxila da L-alanina ocupa a mesma posição ao redor do carbono quiral que o grupo aldeído do L-gliceraldeído, visto que um aldeído é prontamente convertido em um grupo

carboxila por meio de uma oxidação de etapa única. Historicamente, as designações *l* e *d* semelhantes eram utilizadas para levorrotatória (rotação da luz polarizada à esquerda) e dextrorrotatória (rotação da luz polarizada à direita). Entretanto, nem todos os L-aminoácidos são levorrotatórios, e a convenção mostrada na Figura 3-4 é necessária para evitar possíveis ambiguidades sobre a configuração absoluta. Pela convenção de Fischer, L e D referem-se *apenas* à configuração absoluta dos quatro substituintes em torno do carbono quiral, e não às propriedades ópticas da molécula.

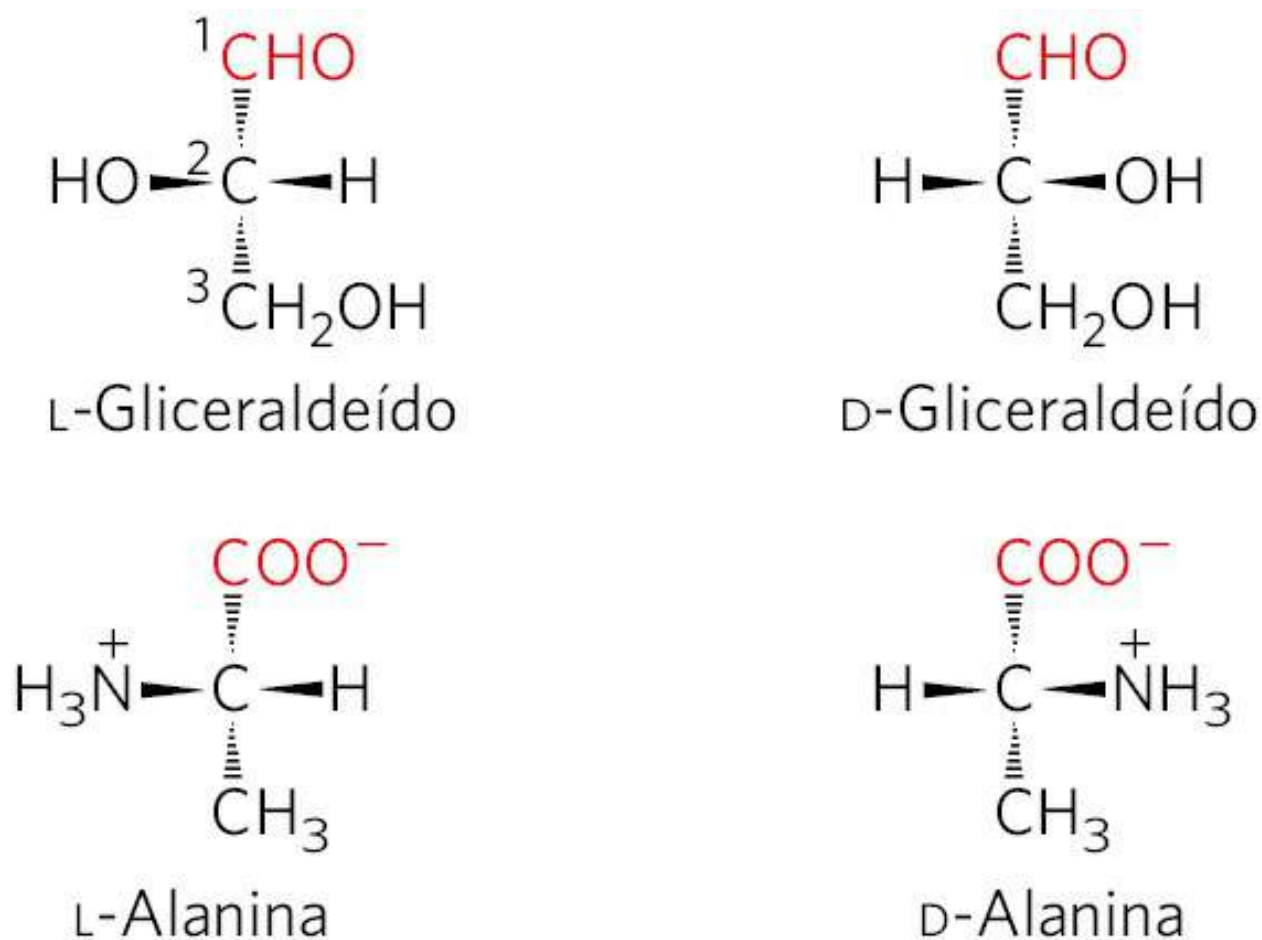


FIGURA 3-4 Relação espacial entre os estereoisômeros da alanina e a configuração absoluta do L-gliceraldeído e do D-gliceraldeído. Nestas fórmulas em perspectiva, os carbonos estão alinhados verticalmente, com o átomo quiral no centro. Os carbonos nessas moléculas são numerados de 1 a 3, de cima para baixo, começando com o carbono do aldeído ou carboxiterminal (em vermelho), como mostrado. Quando representado dessa maneira, o grupo R do aminoácido (nesse caso, o grupo metila da alanina) está sempre abaixo do carbono α . L-Aminoácidos são aqueles que têm o grupo α -amino no lado esquerdo, ao passo que os D-aminoácidos têm o grupo α -amino no lado direito.

Outro sistema para especificar a configuração ao redor de um centro quiral é o **sistema RS**, utilizado na nomenclatura sistemática da química orgânica para descrever com mais exatidão a configuração das moléculas com mais de um centro quiral.

Todos os resíduos de aminoácidos nas proteínas são estereoisômeros L

Quase todos os compostos biológicos com centro quiral ocorrem naturalmente em apenas uma forma estereoisomérica: D ou L. Os resíduos de aminoácidos presentes nas moléculas de proteínas são quase exclusivamente isômeros L, com menos de 1% sendo encontrado na configuração D. Os raros resíduos de D-aminoácidos têm um propósito estrutural bem preciso e são introduzidos nas proteínas por reações catalisadas por enzimas que ocorrem após a proteína ser sintetizada no ribossomo.

É impressionante que praticamente todos os resíduos de aminoácidos nas proteínas sejam isômeros L. Quando compostos quirais são formados em reações químicas comuns, o resultado é uma mistura racêmica de isômeros D e L, que, para os químicos, são difíceis de distinguir e separar. No entanto, para os sistemas vivos, os isômeros D e L são tão diferentes entre si quanto a mão direita é diferente da esquerda. A formação de subestruturas repetidas estáveis nas proteínas (Capítulo 4) exige que os aminoácidos constituintes sejam de uma mesma série estereoquímica. As células são capazes de sintetizar especificamente os isômeros L dos aminoácidos, pois os sítios ativos das enzimas são assimétricos, tornando estereoespecíficas as reações por elas catalisadas.

Os aminoácidos podem ser classificados de acordo com o grupo R

O conhecimento das propriedades químicas dos aminoácidos comuns é fundamental para compreender a bioquímica. Isso pode ser simplificado agrupando-se os aminoácidos em cinco classes principais com base nas propriedades dos grupos R (**Tabela 3-1**), particularmente a sua **polaridade**, ou tendência para interagir com a água em pH biológico (próximo do pH 7,0). A polaridade dos grupos R varia amplamente, de apolar e hidrofóbico (não hidrossolúvel) a altamente polar e hidrofílico (hidrossolúvel). É um pouco difícil caracterizar alguns aminoácidos, especialmente a glicina, a histidina e a cisteína, porque eles não se encaixam perfeitamente em qualquer dos grupos. Eles são colocados em determinado grupo com base em alguns critérios minoritários, em vez de um absoluto.

TABELA 3-1 Propriedades e convenções associadas aos aminoácidos comumente presentes nas proteínas							
Aminoácido	Abreviação/ símbolo	Valores de pK _a			pI	Índice de hidropatia ^b	Ocorrência nas proteínas (%) ^c
		M _r ^a	pK ₁ (– COOH)	pK ₂ (– NH ₃ ⁺)			

Grupos R alifáticos apolares										
Glicina	Gly G	75	2,34	9,60		5,97	– 0,4	7,2	7,3	7,3
Alanina	Ala A	89	2,34	9,69		6,01	1,8	7,8	9,4	7,2
Prolina	Pro P	115	1,99	10,96		6,48	– 1,6 ^d	5,2	4,4	4,2
Valina	Val V	117	2,32	9,62		5,97	4,2	6,6	7,1	8,2
Leucina	Leu L	131	2,36	9,60		5,98	3,8	9,1	10,6	9,9
Isoleucina	Ile I	131	2,36	9,68		6,02	4,5	5,3	6,0	7,6
Metionina	Met M	149	2,28	9,21		5,74	1,9	2,3	2,2	2,2
Grupos R aromáticos										
Fenilalanina	Phe F	165	1,83	9,13		5,48	2,8	3,9	4,0	4,5
Tirosina	Tyr Y	181	2,20	9,11	10,07	5,66	– 1,3	3,2	3,0	3,9
Triptofano	Trp W	204	2,38	9,39		5,89	– 0,9	1,4	1,3	1,1
Grupos R não carregados polares										
Serina	Ser S	105	2,21	9,15		5,68	– 0,8	6,8	6,1	5,7
Treonina	Thr T	119	2,11	9,62		5,87	– 0,7	5,9	5,4	4,5
Cisteína ^e	Cys C	121	1,96	10,28	8,18	5,07	2,5	1,9	1,2	0,8
Asparagina	Asn N	132	2,02	8,80		5,41	– 3,5	4,3	3,7	3,4
Glutamina	Gln Q	146	2,17	9,13		5,65	– 3,5	4,2	4,5	2,0
Grupos R carregados positivamente										
Lisina	Lys K	146	2,18	8,95	10,53	9,74	– 3,9	5,9	4,7	6,8
Histidina	His H	155	1,82	9,17	6,00	7,59	– 3,2	2,3	2,4	1,6
Arginina	Arg R	174	2,17	9,04	12,48	10,76	– 4,5	5,1	5,6	5,9
Grupos R carregados negativamente										
Aspartato	Asp D	133	1,88	9,60	3,65	2,77	– 3,5	5,3	5,1	5,0
Glutamato	Glu E	147	2,19	9,67	4,25	3,22	– 3,5	6,3	6,0	8,2

^aOs valores de M_r refletem as estruturas como mostradas na Figura 3-5. Os elementos da água (M_r 18) são removidos quando o aminoácido é incorporado a um polipeptídeo.

^bEscala combinando hidrofobicidade e hidrofilicidade de grupos R. Os valores refletem a energia livre (ΔG) da transferência da cadeia lateral do aminoácido de um solvente hidrofóbico para a água. Essa transferência é favorável ($\Delta G < 0$; índice com valor

negativo) para aminoácidos de cadeia carregada ou polar, e desfavorável ($\Delta G > 0$; índice com valor positivo) para aminoácidos com cadeias laterais apolares ou mais hidrofóbicas. Ver Capítulo 11. Fonte: dados de J. Kyte e R. F. Doolittle, *J. Mol. Biol.* 157:105, 1982.

^cO primeiro valor em cada linha é a ocorrência média em mais de 1.150 proteínas. Fonte: dados de R. F. Doolittle, in *Prediction of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation* (G. D. Fasman, ed.), p. 599, Plenum Press, 1989. O segundo e o terceiro valores são, respectivamente, dos proteomas completos de nove espécies de bactérias mesofílicas e de sete espécies de bactérias termofílicas. Os mesófilos crescem nas temperaturas normalmente encontradas, enquanto que os termófilos crescem em temperaturas elevadas (aproximadas ou superiores à temperatura de ebulição da água). A menor ocorrência de glutamina nos termófilos pode ser reflexo da tendência desse aminoácido em desaminar nas altas temperaturas. Fonte: dados de A. C. Singer e D. A. Hickey, *Gene* 317:39, 2003.

^dOriginalmente o índice de hidropatia foi proposto levando-se em consideração a frequência na qual cada resíduo de aminoácido aparece na superfície das proteínas. Como a prolina geralmente aparece na superfície em voltas β , ela tem uma pontuação menor do que os seus grupos metileno da cadeia lateral sugerem.

^eA cisteína é geralmente classificada como polar, embora tenha um índice de hidropatia positivo. Isso reflete a capacidade que o grupo sulfidril tem de atuar como um ácido fraco e formar uma ligação de hidrogênio fraca com o oxigênio ou com o nitrogênio.

P1 As estruturas dos 20 aminoácidos comuns estão mostradas na **Figura 3-5**, e algumas das suas propriedades estão listadas na Tabela 3-1. Em cada classe, há graduações de polaridade, tamanho e forma dos grupos R.

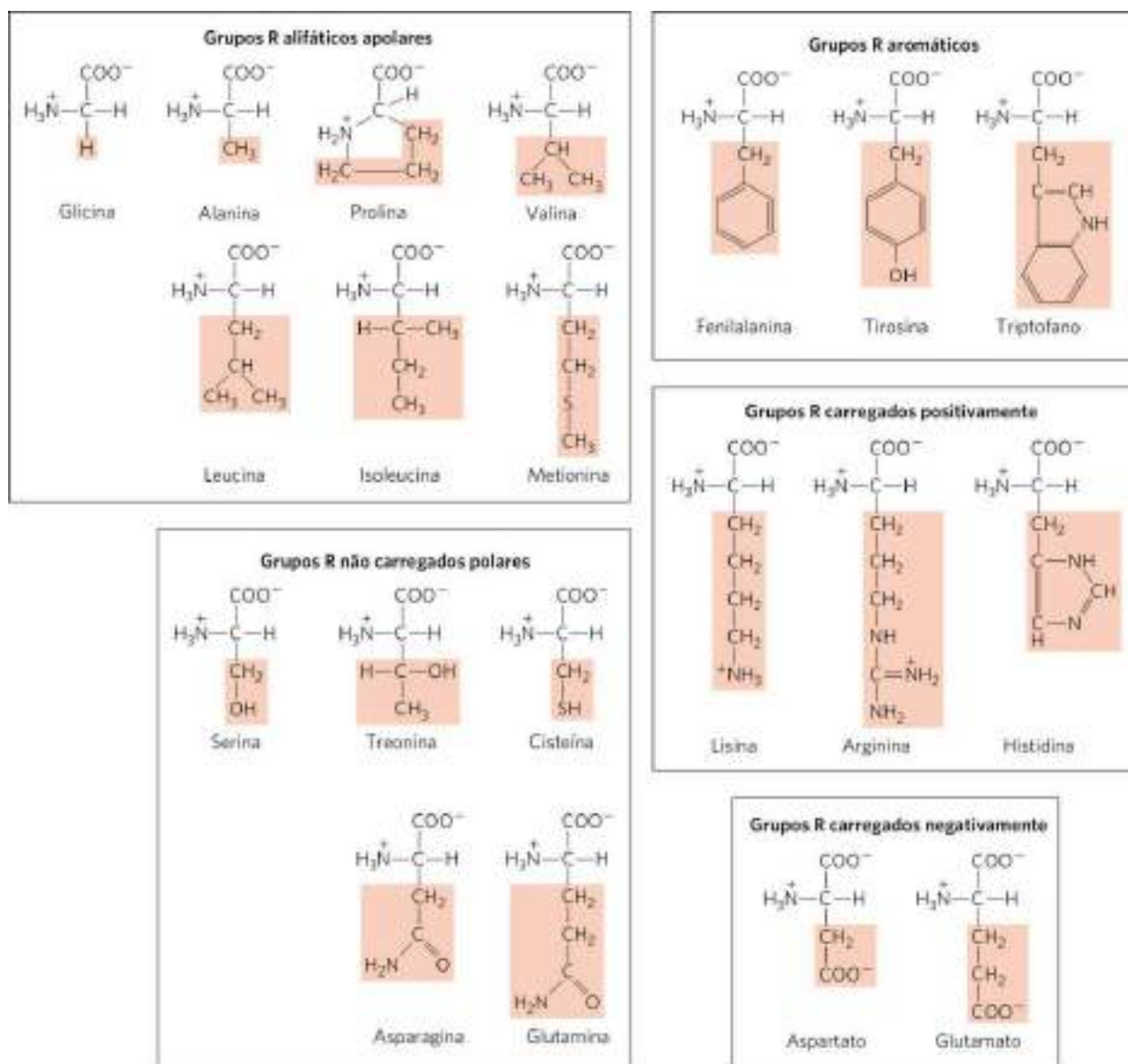


FIGURA 3-5 Os 20 aminoácidos comuns das proteínas. As fórmulas estruturais mostram o estado de ionização que predomina em pH 7,0. A parte não sombreada é a parte comum a todos os aminoácidos, e a parte sombreada corresponde aos grupos R. Embora o grupo R da histidina seja mostrado sem carga, o seu pK_a (ver Tabela 3-1) é tal que uma proporção pequena, mas importante, desses grupos está carregada com uma carga positiva em pH 7,0. A forma protonada da histidina é mostrada na parte superior do gráfico da Figura 3-12b.

Grupos R alifáticos apolares Os grupos R nesta classe de aminoácidos são apolares e hidrofóbicos. As cadeias laterais de **alanina**, **valina**, **leucina** e **isoleucina** tendem a se agrupar no interior das proteínas, estabilizando a estrutura proteica por meio de interações hidrofóbicas. A **glicina** tem a estrutura mais simples. Embora seja mais facilmente agrupada com os aminoácidos apolares, a sua cadeia lateral muito pequena não contribui efetivamente para interações hidrofóbicas. A **metionina**, um dos dois aminoácidos que contêm enxofre, tem um grupo tioéter ligeiramente apolar em sua cadeia lateral. A **prolina** tem cadeia lateral alifática, com uma

estrutura cíclica característica. O grupo amino secundário (imino) do resíduo de prolina é mantido em uma configuração rígida que reduz a flexibilidade estrutural das regiões polipeptídicas que contêm prolina.

Grupos R aromáticos A **fenilalanina**, a **tirosina** e o **triptofano**, com suas cadeias laterais aromáticas, são relativamente apolares (hidrofóbicos). Todos eles podem contribuir para o efeito hidrofóbico. O grupo hidroxila da tirosina pode formar ligações de hidrogênio e é um grupo funcional importante em algumas enzimas. A tirosina e o triptofano são significativamente mais polares do que a fenilalanina, devido ao grupo hidroxila da tirosina e ao nitrogênio do anel indol do triptofano.

O triptofano, a tirosina e, em um grau muito menor, a fenilalanina absorvem luz ultravioleta (**Fig. 3-6**; ver **Quadro 3-1**). Isso é responsável pela forte absorção de luz de algumas proteínas no comprimento de onda de 280 nm, uma propriedade que tem sido aproveitada por pesquisadores na caracterização de proteínas.

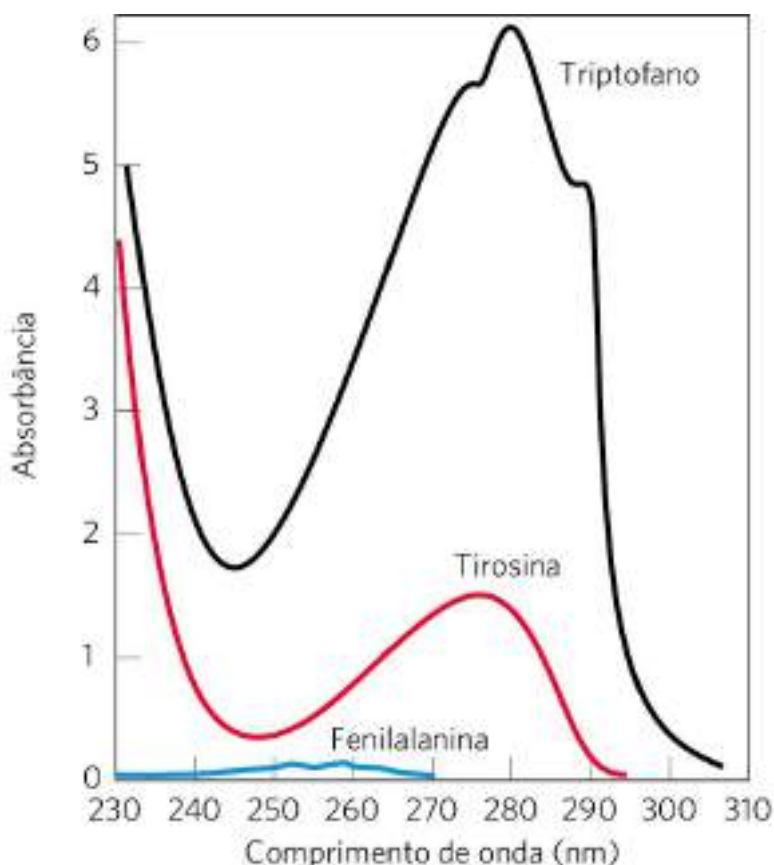


FIGURA 3-6 Absorção de luz ultravioleta por aminoácidos aromáticos. Comparação dos espectros de absorção de luz dos aminoácidos aromáticos triptofano, tirosina e fenilalanina em pH 6,0. Os aminoácidos estão presentes em quantidades equimolares (10^{-3} M) e sob condições idênticas. A absorbância medida do triptofano é mais de quatro vezes maior do que a da tirosina no comprimento de onda 280 nm. Observe que, para o triptofano e a tirosina, a absorção máxima de luz ocorre próxima de 280 nm. A absorção de luz pela fenilalanina geralmente contribui pouco para as propriedades espectroscópicas das proteínas.

QUADRO 3-1 MÉTODOS

Absorção de luz pelas moléculas: a lei de Lambert-Beer

Muitas biomoléculas absorvem luz em comprimentos de onda característicos, como é o caso do triptofano, que absorve a luz em 280 nm (ver Fig. 3-6). Medir a absorção da luz usando um espectrofotômetro é útil para detectar e identificar as moléculas, além de determinar as suas respectivas concentrações em soluções. A fração da luz incidente absorvida por uma solução em um determinado comprimento de onda está relacionada com a espessura da camada de absorção (comprimento do caminho óptico) e a concentração da substância que ela absorve (Fig. 1). Essas duas relações foram combinadas na lei de Lambert-Beer,

$$\log \frac{I_0}{I} = \epsilon c l$$

em que I_0 é a intensidade da luz incidente, I é a intensidade da luz transmitida, a relação I/I_0 (o inverso da razão na equação) é a transmitância, ϵ é o coeficiente de extinção molar (em unidades de litros por mol-centímetro), c é a concentração do espécime que absorve (em mol por litro) e l é o comprimento do caminho que a luz percorre na amostra (em centímetros). A lei de Lambert-Beer pressupõe que a luz incidente é paralela e monocromática (de um único comprimento de onda) e que as orientações das moléculas de solvente e soluto são aleatórias. A expressão $\log (I_0/I)$ é denominada **absorbância** e representada por A .

É importante observar que cada milímetro sucessivo do comprimento do caminho da luz na solução absorvente em uma célula de 1,0 cm não absorve uma quantidade constante, mas sim uma fração constante da luz que incide sobre ela. Entretanto, mantendo-se fixo o comprimento do caminho óptico, *a absorbância, A , é diretamente proporcional à concentração do soluto absorvente.*

O coeficiente de extinção molar varia de acordo com a natureza do composto absorvente, do solvente e do comprimento de onda, bem como com o pH, caso a substância que absorve a luz esteja em equilíbrio com um estado de ionização que tenha propriedades de absorção diferentes.

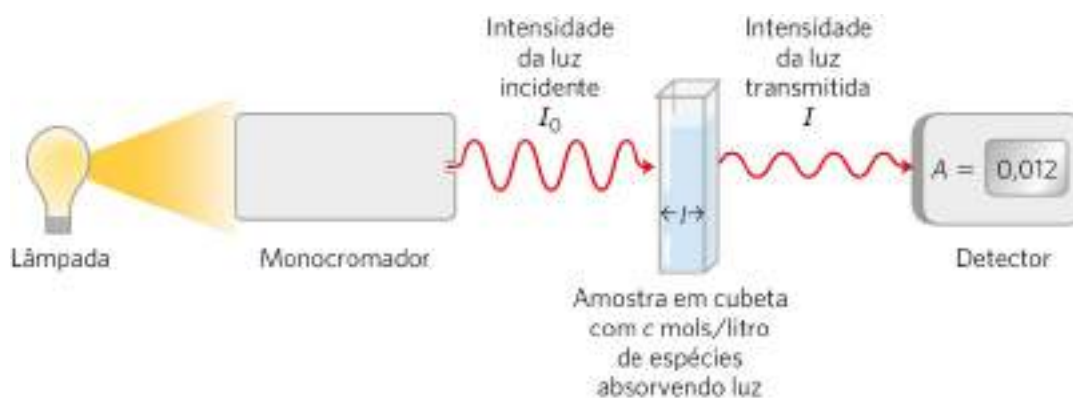


FIGURA 1 Os principais componentes de um espectrofotômetro. Uma fonte de luz emite luz em um amplo espectro e o monocromador seleciona e transmite apenas luz de um comprimento de onda específico. A luz monocromática passa através da amostra em uma cubeta com um comprimento l . A absorbância da amostra, $\log(I_0/I)$, é proporcional à concentração da espécie que absorve luz. A luz transmitida é medida em um detector.

Grupos R não carregados polares Os grupos R desses aminoácidos são mais solúveis em água, ou mais hidrofílicos, do que os grupos R dos aminoácidos apolares, uma vez que contêm grupos funcionais que formam ligações de hidrogênio com a água. Essa classe de aminoácidos inclui **serina, treonina, cisteína, asparagina e glutamina**. Os grupos hidroxila da serina e da treonina e os grupos amida da asparagina e da glutamina contribuem para a polaridade. A cisteína é um caso isolado, uma vez que a sua polaridade, devido ao grupo sulfidril, é relativamente pequena. A cisteína é um ácido fraco e pode fazer ligações de hidrogênio fracas com oxigênio ou nitrogênio.

A asparagina e a glutamina são as amidas de outros dois aminoácidos também encontrados em proteínas, aspartato e glutamato, respectivamente, e elas são facilmente hidrolisadas por ácido ou base. A cisteína é facilmente oxidada para formar um aminoácido dimérico ligado de modo covalente, chamado de **cistina**. A cistina é formada por duas moléculas ou resíduos de cisteína ligados por uma ligação dissulfeto (**Fig. 3-7**). Resíduos ligados por ligação dissulfeto são fortemente hidrofóbicos (apolares). As ligações dissulfeto desempenham um papel especial nas estruturas de muitas proteínas por meio da formação de ligações covalentes entre partes de uma molécula polipeptídica ou entre duas cadeias polipeptídicas diferentes.

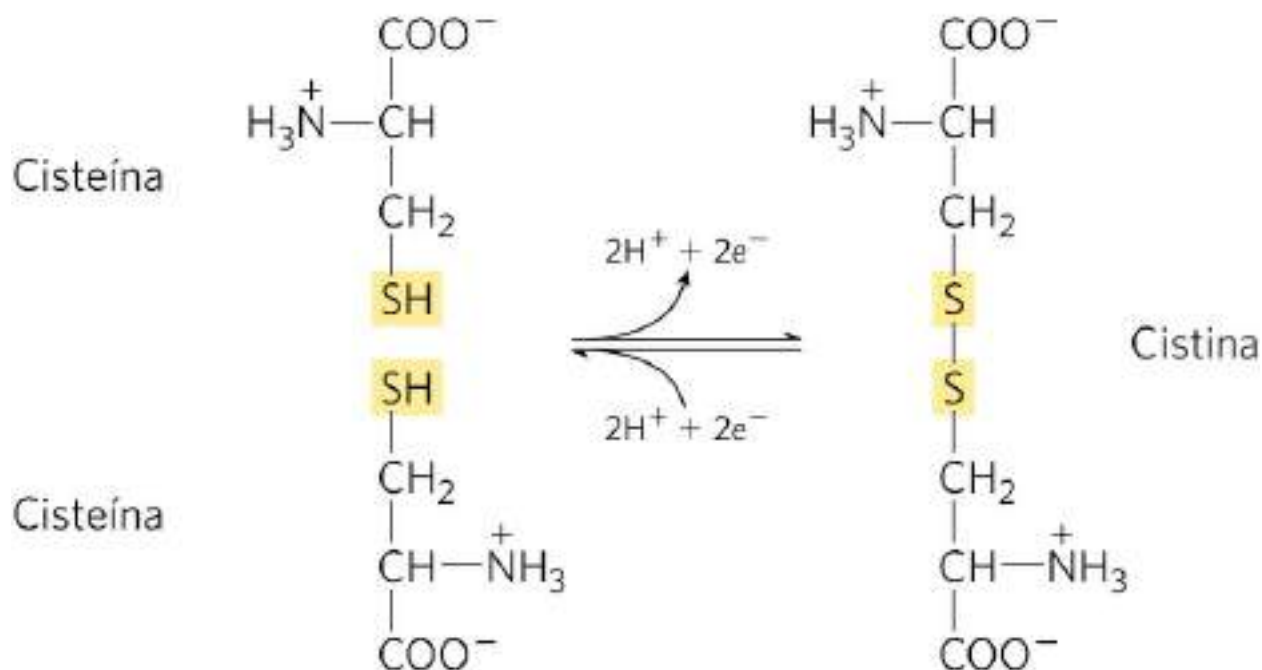


FIGURA 3-7 Formação reversível de uma ligação dissulfeto pela oxidação de duas moléculas de cisteína. As ligações dissulfeto entre resíduos Cys estabilizam as estruturas de muitas proteínas.

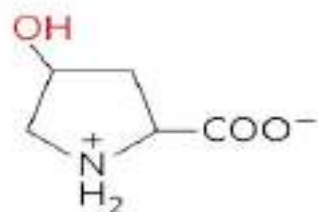
Grupos R carregados positivamente (básicos) Os grupos R mais hidrofílicos são aqueles carregados positiva ou negativamente. Os aminoácidos que têm grupos R com uma carga positiva significativa em pH 7,0 são a **lisina**, com um segundo grupo amino primário na posição ϵ na sua cadeia alifática; a **arginina**, com um grupo guanidínio positivamente carregado; e a **histidina**, com um grupo aromático imidazol. Como o único aminoácido comum que tem uma cadeia lateral ionizável com pK_a próximo da neutralidade, o resíduo de histidina pode estar positivamente carregado (forma protonada) ou não carregado em pH 7,0. Resíduos de His facilitam muitas reações catalisadas por enzimas, funcionando como doadores/aceptores de prótons.

Grupos R carregados negativamente (ácidos) Os dois aminoácidos que apresentam grupos R com carga negativa líquida em pH 7,0 são o **aspartato** e o **glutamato**, cada um dos quais tem um segundo grupo carboxila.

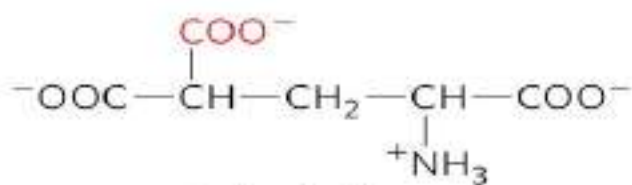
Aminoácidos incomuns também têm funções importantes

Além dos 20 aminoácidos comuns, as proteínas podem conter resíduos criados por modificações de resíduos de aminoácidos após já terem sido incorporados a um polipeptídeo (**Fig. 3-8a**). Entre esses aminoácidos incomuns, estão a **4-hidroxiprolina**, um derivado da prolina encontrado no colágeno (uma proteína fibrosa), e o **γ -carboxiglutamato**, encontrado na protrombina

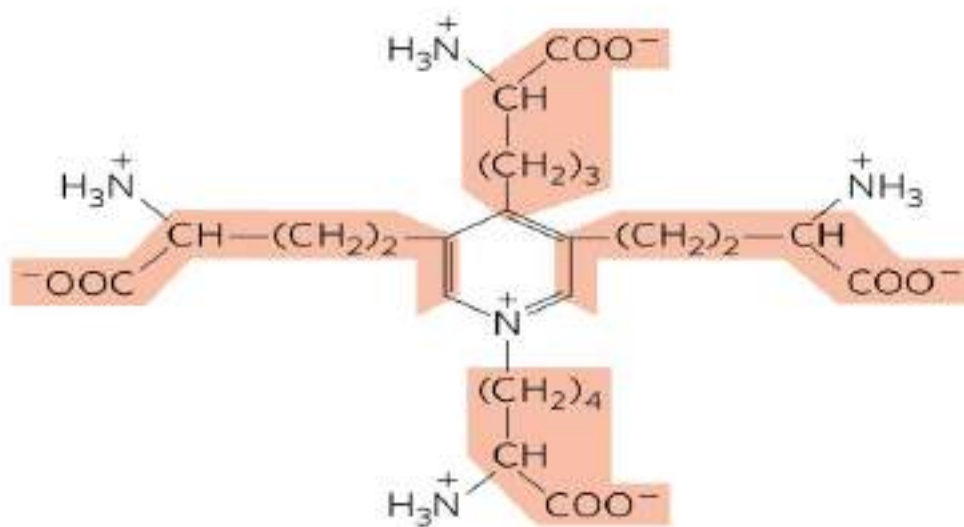
(proteína da coagulação sanguínea) e em determinadas proteínas que ligam Ca^{2+} como parte da sua função biológica. Mais complexa é a **desmosina**, derivada de quatro resíduos Lys, encontrada na elastina (uma proteína fibrosa).



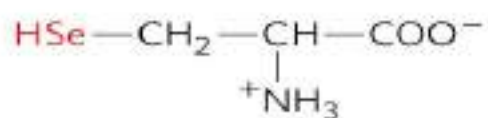
4-Hidroxirolina



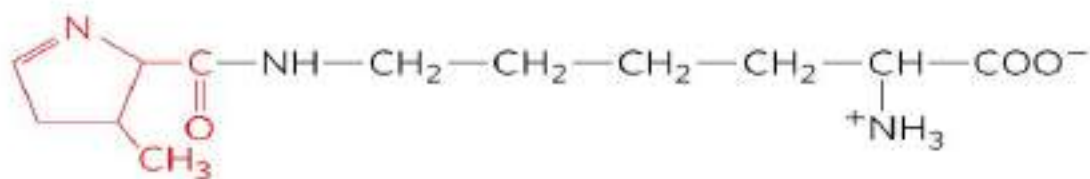
γ -Carboxiglutamato



Desmosina

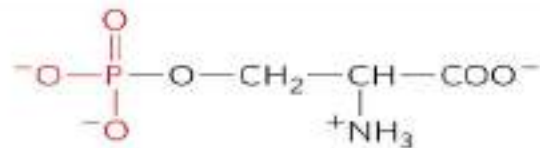


Selenocisteína

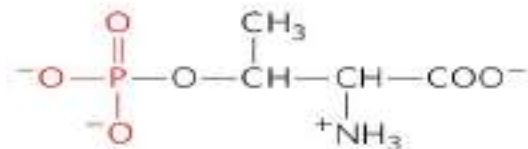


Pirrolisina

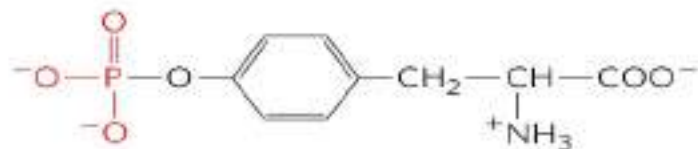
(a)



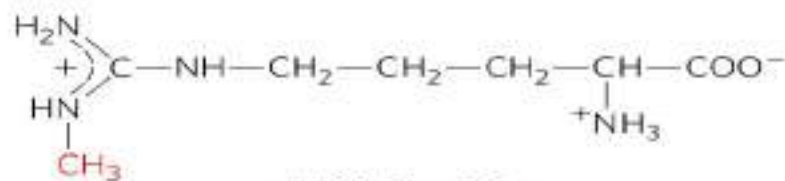
Fosfosserina



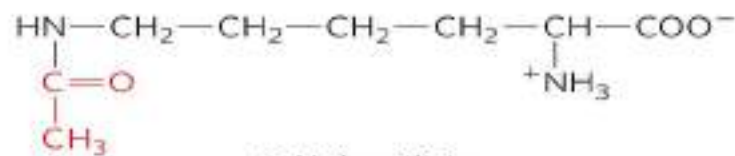
Fosfotreonina



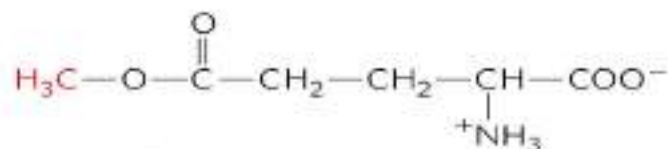
Fosfotirosina



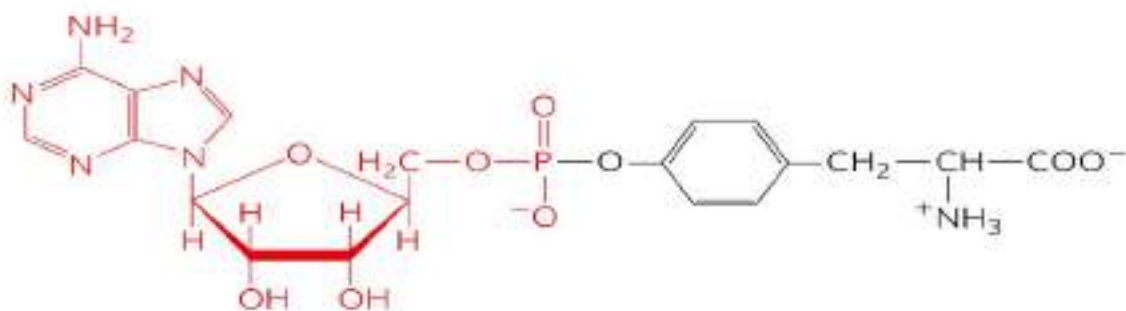
ω -N-Metilarginina



6-N-Acetilisina



Éster de γ -metilglutamato



Adenilil tirosina

(b)

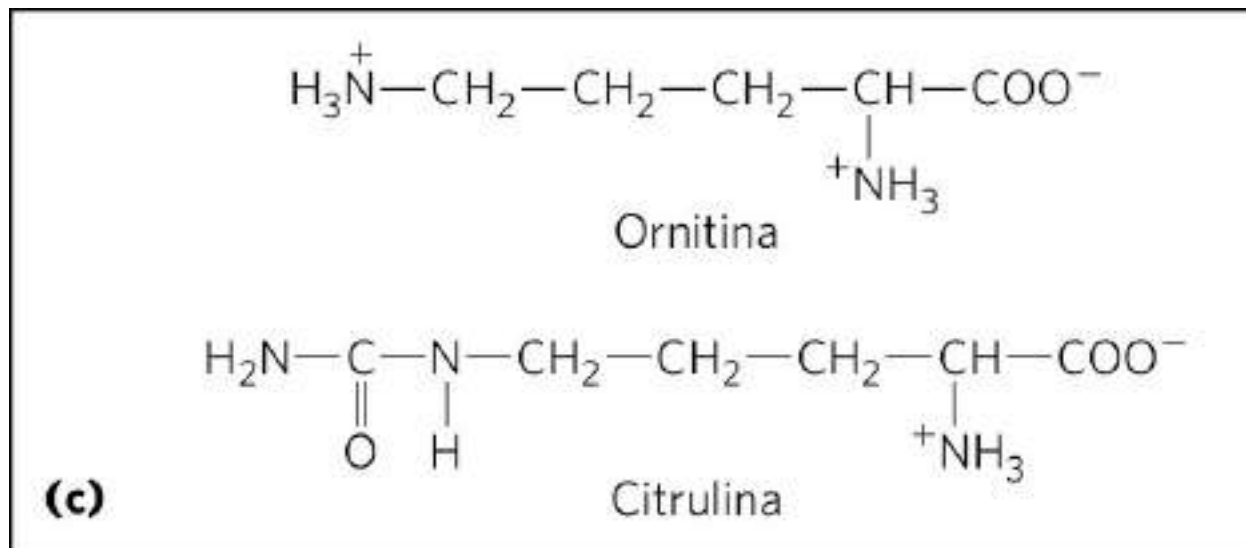


FIGURA 3-8 Aminoácidos raros. (a) Alguns aminoácidos raros encontrados em proteínas. A maioria é constituída por derivados de aminoácidos comuns. (Observe o uso de números ou de letras gregas nos nomes das estruturas para identificar os átomos de carbono alterados.) Grupos funcionais extras adicionados por reações de modificação estão mostrados em vermelho. A desmosina é formada a partir de quatro resíduos Lys (os esqueletos de carbono estão sombreados). A selenocisteína e a pirrolisina são exceções. Esses aminoácidos são adicionados durante a síntese proteica normal por meio de uma expansão especializada do código genético padrão. Eles são encontrados em um número muito pequeno de proteínas. (b) Modificações reversíveis de aminoácidos envolvidas na regulação da atividade proteica. A fosforilação é o tipo mais comum de modificação regulatória. (c) A ornitina e a citrulina, não encontradas em proteínas, são intermediárias na biossíntese de arginina e no ciclo da ureia.

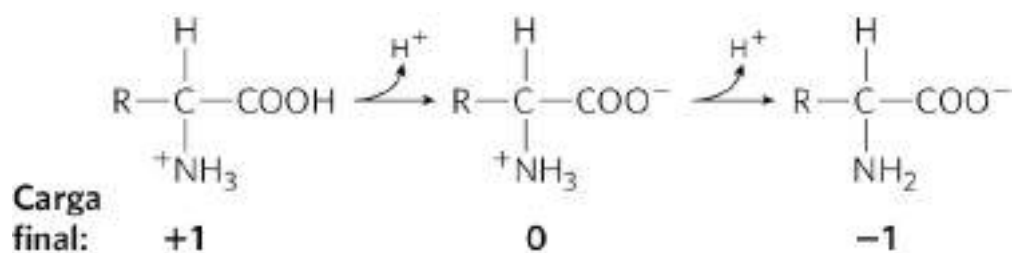
A **selenocisteína** e a **pirrolisina** são casos especiais. Esses aminoácidos raros não são formados por um processo de modificação após a síntese peptídica. Em vez disso, eles são introduzidos durante a síntese proteica por meio de uma adaptação incomum do código genético, descrita no Capítulo 27. A selenocisteína contém selênio, em vez do enxofre da cisteína. Um derivado da serina, a selenocisteína é constituinte de apenas algumas poucas proteínas conhecidas. A pirrolisina é encontrada em poucas proteínas de algumas arqueias metalogênicas (produtoras de metano) e em apenas uma bactéria conhecida. Ela tem participação na biossíntese de metano.

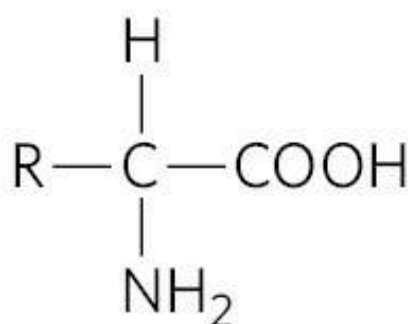
Alguns resíduos de aminoácidos em uma proteína podem ser modificados transitoriamente para alterar as funções da proteína. A adição de grupos fosforila, metila, acetila, adenilila, ADP-ribosila ou outros grupos a resíduos de aminoácidos específicos pode aumentar ou diminuir a atividade de uma proteína (Fig. 3-8b). A fosforilação é uma modificação especialmente comum envolvida em mecanismos de regulação. A estratégia de regular a atividade das proteínas por meio de modificações covalentes será discutida com mais detalhes no Capítulo 6.

Outros 300 aminoácidos, aproximadamente, foram encontrados em células. Eles têm várias funções, mas nem todos fazem parte de proteínas. A **ornitina** e a **citrulina** (Fig. 3-8c) merecem atenção especial, visto que são intermediários-chave (metabólitos) na biossíntese de arginina (Capítulo 22) e no ciclo da ureia (Capítulo 18).

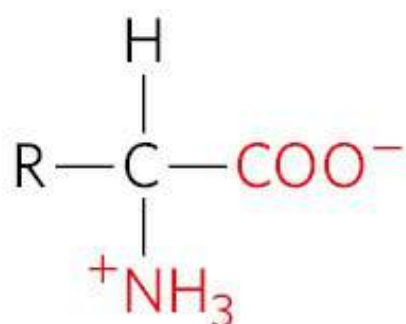
Aminoácidos podem agir como ácidos e bases

Os grupos amino e carboxila dos aminoácidos, junto aos grupos R ionizáveis de alguns aminoácidos, funcionam como ácidos e bases fracos. Quando um aminoácido sem um grupo R ionizável é dissolvido em água em pH neutro, os grupos α -amino e carboxila criam um íon dipolar, ou **zwitterion** (do alemão para “íon híbrido”), que pode agir como ácido ou base (**Fig. 3-9**). Substâncias com essa natureza dupla (ácido-base) são **anfóteros** e são frequentemente chamadas de **anfólitos** (derivado de “eletrólitos anfóteros”). Um α -aminoácido monoamino e monocarboxílico, como a alanina, é um ácido diprótico quando completamente protonado; ele tem dois grupos (o grupo -COOH e o grupo -NH_3^+) e pode produzir prótons:

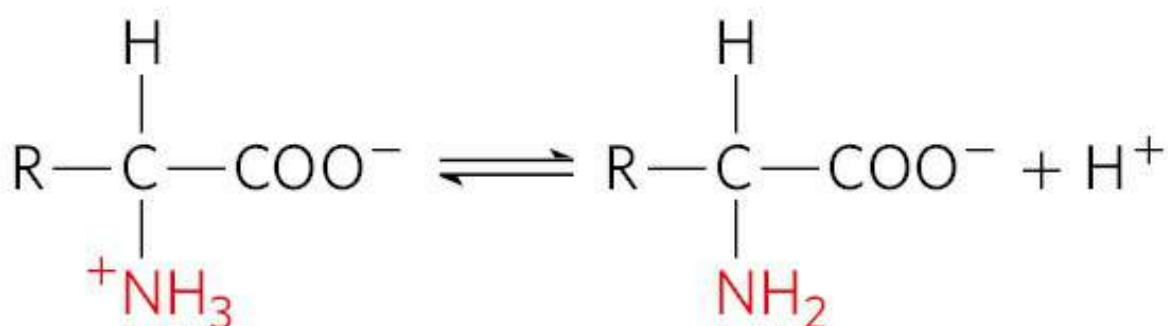




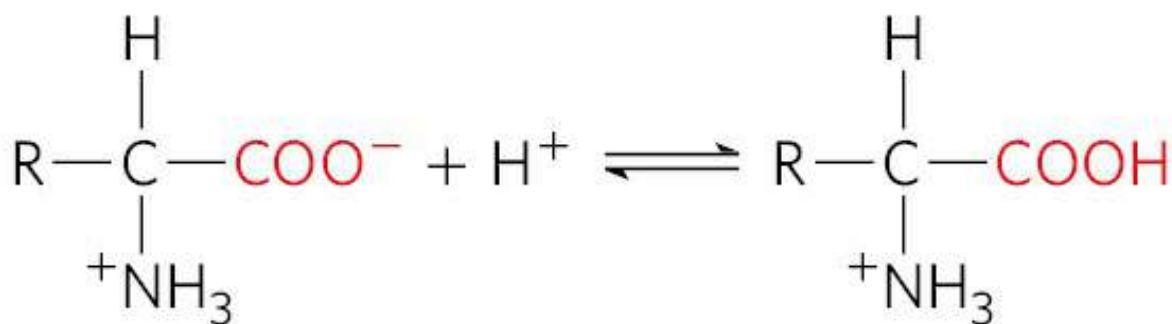
Forma não iônica



Forma zwitteriônica



Zwitterion
como ácido



Zwitterion
como base

FIGURA 3-9 Formas não iônica e zwitteriônica de aminoácidos. A forma não iônica não ocorre em quantidades significativas em soluções aquosas. O zwitterion predomina em pH neutro. Um zwitterion pode atuar tanto como ácido (doador de prótons) quanto como base (aceptor de prótons).

A titulação ácido-base envolve a adição ou remoção gradual de prótons (Capítulo 2). A **Figura 3-10** mostra a curva de titulação da forma diprótica da glicina. Os dois grupos ionizáveis da glicina, o grupo carboxila e o grupo amino, são titulados com uma base forte, NaOH, por exemplo. O gráfico tem duas fases distintas, correspondendo à desprotonação de dois grupos diferentes da glicina. Cada uma das duas fases se assemelha ao formato da curva de titulação de um ácido monoprótico, como o ácido acético (ver Fig. 2-16), e pode ser analisada da mesma maneira. Em pH muito baixo, a forma predominante da glicina é a forma totalmente protonada, $^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}$.

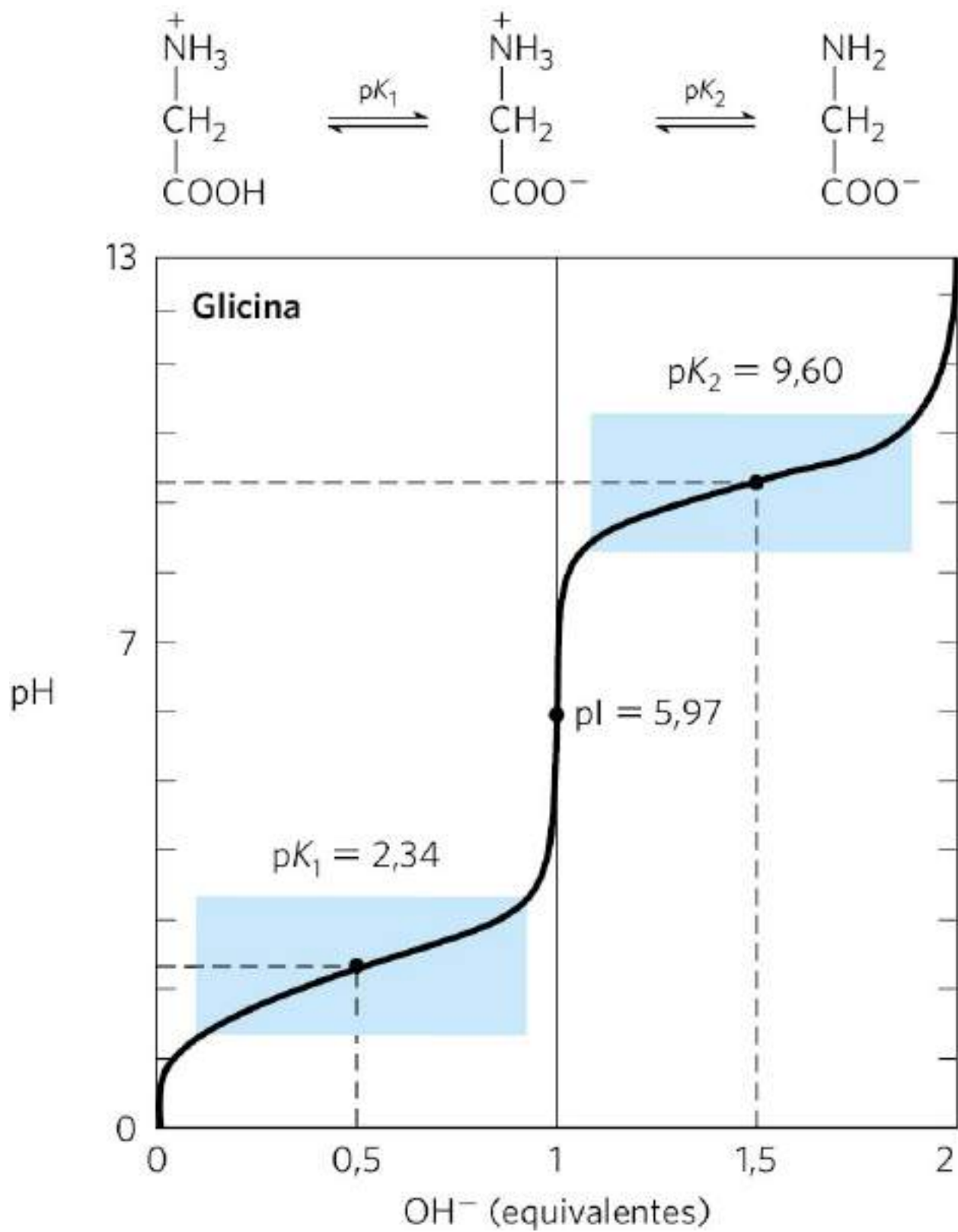


FIGURA 3-10 Titulação de aminoácidos. Curva de titulação de glicina 0,1 M a 25 °C. As espécies iônicas predominantes em pontos-chave da titulação estão mostradas acima do gráfico. Os retângulos sombreados, centrados em torno de $\text{p}K_1 = 2,3$ e

$pK_2 = 9,60$, indicam as regiões de maior poder tamponante. Observe que 1 equivalente de $OH^- = 0,1$ M de NaOH adicionado. O pI ocorre na média aritmética entre os dois valores de pK_a e corresponde ao ponto de inflexão na curva de titulação.

No primeiro estágio da titulação, o grupo $-COOH$ da glicina perde o próton. No ponto médio desse estágio, estão presentes concentrações equimoleculares do doador de próton ($^+H_3N-CH_2-COOH$) e do aceptor de próton ($^+H_3N-CH_2-COO^-$). Como na titulação de qualquer ácido fraco, nesse ponto médio, há uma inflexão quando o pH é igual ao pK_a do grupo protonado que está sendo titulado (ver Fig. 2-17). No caso da glicina, o pH no ponto médio é 2,34, portanto o seu grupo $-COOH$ tem um pK_a (designado pK_1 na Fig. 3-10) de 2,34. (Lembre-se, do Capítulo 2, que pH e pK_a são simplesmente notações convenientes para a concentração de prótons e para a constante de equilíbrio da ionização, respectivamente. pK_a é a medida da tendência de um grupo a doar um próton, e essa tendência diminui dez vezes cada vez que o pK_a aumenta em uma unidade.) À medida que a titulação da glicina avança, outro ponto de inflexão é atingido em pH 5,97. Nesse ponto, a remoção do primeiro próton praticamente se completou, e o segundo próton apenas começa a ser removido. Nesse pH, a maior parte da glicina está presente como um íon dipolar (zwitterion) $^+H_3N-CH_2-COO^-$. O significado desse ponto de inflexão na curva de titulação (denominado pI na Fig. 3-10) será analisado mais adiante.

O segundo estágio da titulação corresponde à remoção de um próton do grupo $-NH_3^+$ da glicina. O pH no ponto médio dessa fase é 9,60, igual ao pK_a (denominado pK_2 na Fig. 3-10) para o grupo $-NH_3^+$. A titulação fica completa em um pH de cerca de 12, ponto em que a forma predominante da glicina é $H_2N-CH_2-COO^-$.

A partir da curva de titulação da glicina, é possível obter várias informações importantes. Em primeiro lugar, ela fornece uma maneira de quantificar o pK_a dos dois grupos ionizáveis: 2,34 para o grupo $-COOH$ e 9,60 para o grupo $-NH_3^+$. Observe que o grupo carboxila da glicina é mais de cem vezes mais ácido (ioniza com mais facilidade) do que o grupo carboxila do ácido acético, que, como visto no Capítulo 2, tem um pK_a de 4,76, que é próximo da média para grupos carboxila ligados a hidrocarbonetos alifáticos não substituídos. Essa perturbação que ocorre na glicina é causada principalmente pela proximidade da carga positiva do grupo amino do carbono α , um grupo eletronegativo que tende a atrair elétrons em sua direção (processo denominado retirada de elétrons), descrito na **Figura 3-11**. As cargas opostas no zwitterion resultante também contribuem para a estabilização. De modo similar, o pK_a do grupo amino da glicina diminui em relação ao pK_a médio de um grupo amino. Esse efeito se deve, em grande parte, à retirada de elétrons exercida pelos átomos de oxigênio altamente eletronegativos do grupo carboxila, o que aumenta a tendência do grupo amino em doar um próton. Assim, o grupo α -amino tem um pK_a menor do que o de uma amina alifática, como a metilamina (Fig. 3-11). Em resumo, o pK_a de qualquer grupo funcional é muito afetado pelo ambiente químico em que se encontra. Esse fenômeno é explorado nos sítios ativos de algumas enzimas para proporcionar mecanismos de reação requintados. Esses mecanismos dependem de alterações nos valores de pK_a de grupos doadores/aceptores de prótons presentes em resíduos específicos.

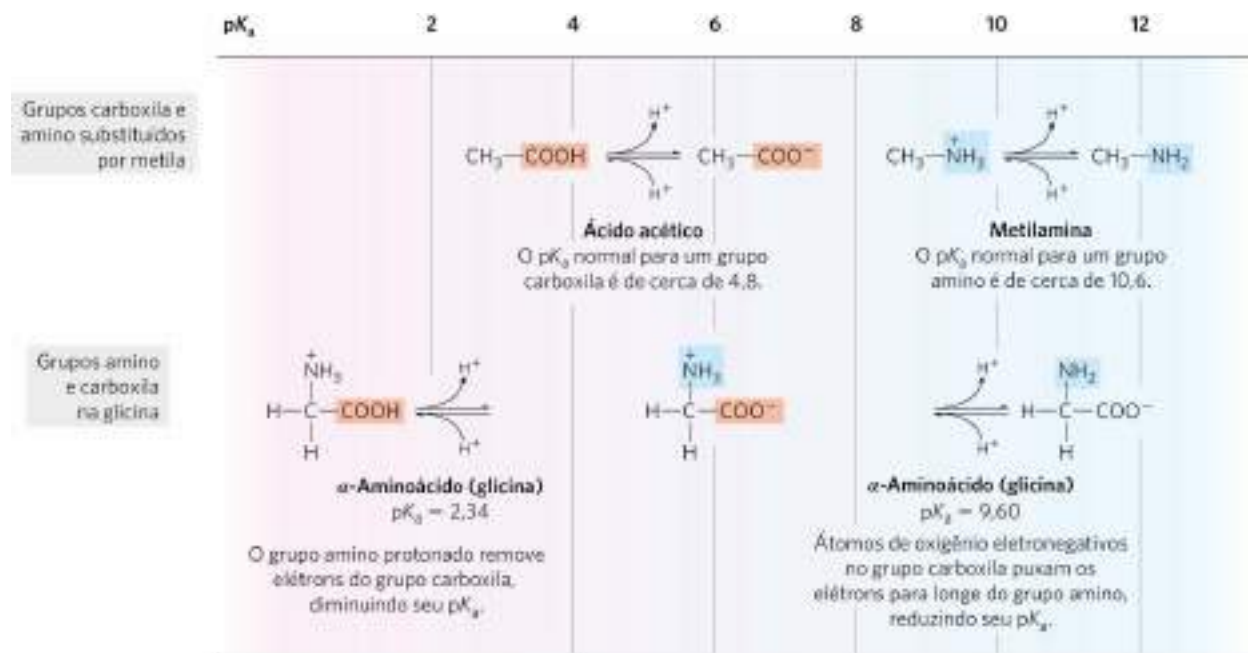


FIGURA 3-11 Efeito do ambiente químico sobre o pK_a . Os valores de pK_a para os grupos ionizáveis da glicina são mais baixos do que aqueles dos grupos presentes em uma molécula derivada pela simples substituição de uma metila em um grupo carboxila ou amino. Essas alterações no valor de pK_a se devem a interações intramoleculares. Efeitos semelhantes podem ser causados por grupos químicos que estejam posicionados próximos (p. ex., no sítio ativo de uma enzima).

A segunda informação dada pela curva de titulação da glicina é que esse aminoácido tem duas regiões com poder de tamponamento. Uma delas está na parte relativamente achatada da curva, estendendo-se por aproximadamente 1 unidade de pH de cada lado do primeiro pK_a de 2,34, indicando que a glicina é um bom tampão próximo desse pH. A outra zona de tamponamento está centrada próximo do pH 9,60. (Observe que a glicina não é um bom tampão no pH do líquido intracelular ou do sangue, em torno de 7,4.) Dentro das faixas de tamponamento da glicina, a equação de Henderson-Hasselbalch pode ser utilizada para calcular as proporções entre as espécies de glicina doadora e receptora de prótons, necessárias para preparar um tampão em um determinado pH.

Outra informação importante que se obtém da curva de titulação de um aminoácido é a relação entre a respectiva carga líquida e o pH da solução. Em 5,97, o ponto de inflexão entre os dois estágios da curva de titulação, a glicina está presente predominantemente na forma dipolar, totalmente ionizada, mas sem carga elétrica líquida (Fig. 3-10). O pH característico em que a carga elétrica líquida é zero é denominado **ponto isoelétrico** ou **pH isoelétrico**, representado por **pI**. Para a glicina, que não tem grupo ionizável na cadeia lateral, o ponto isoelétrico é simplesmente a média aritmética dos dois valores de pK_a :

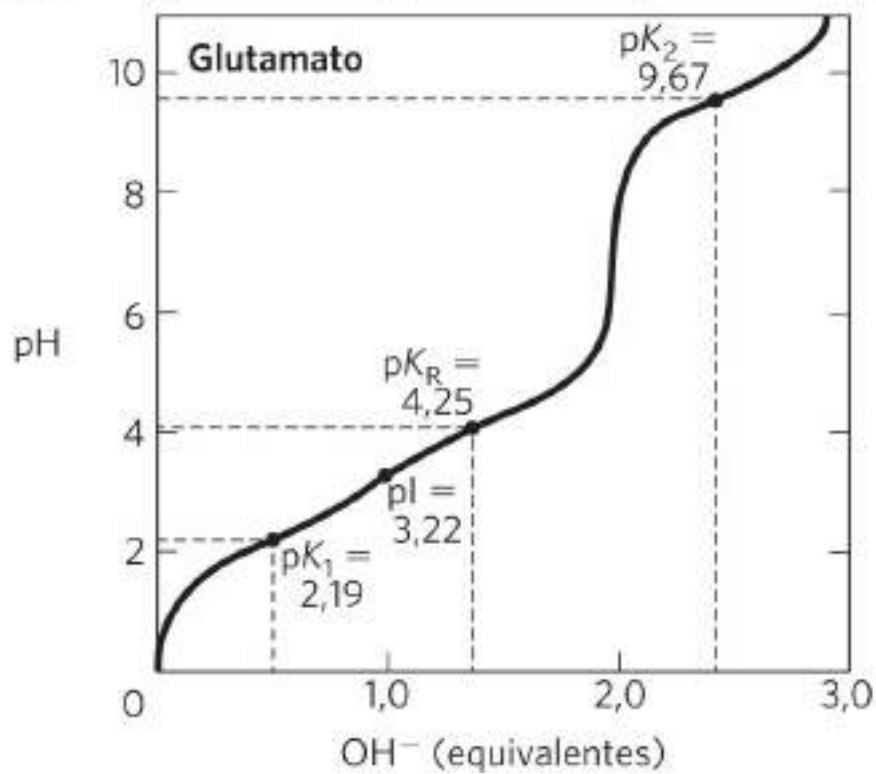
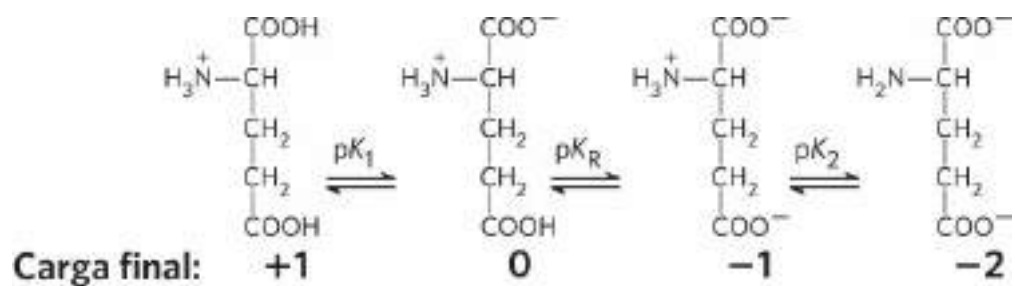
$$pI = \frac{1}{2}(pK_1 + pK_2) = \frac{1}{2}(2,34 + 9,60) = 5,97$$

A Figura 3-10 deixa evidente que a glicina tem uma carga líquida negativa em qualquer pH acima do seu pI, portanto, quando colocada em um campo elétrico, ela irá se deslocar em direção ao eletrodo positivo (o ânodo). Em qualquer pH abaixo do pI, a glicina tem uma carga final positiva e irá se deslocar em direção ao eletrodo negativo (o cátodo). Quanto mais distante o pH de uma solução de glicina estiver do ponto isoelétrico, maior será a carga elétrica líquida da população de moléculas de glicina. Em pH 1,0, por exemplo, a glicina está quase que exclusivamente na forma $^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}$, uma carga líquida positiva de 1,0. Em pH 2,34, em que há uma mistura de partes iguais de $^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ e $^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}_2-\text{COO}^-$, a carga líquida positiva média é de 0,5. O sinal e a magnitude da carga líquida de qualquer um dos aminoácidos em qualquer pH podem ser previstos de maneira semelhante.

Os aminoácidos diferem entre si quanto às propriedades acidobásicas

As propriedades em comum de muitos aminoácidos permitem fazer algumas generalizações simplificadas dos seus comportamentos acidobásicos. Em primeiro lugar, todos os aminoácidos com apenas um grupo α -amino, apenas um grupo α -carboxila e um grupo R não ionizável têm curvas de titulação semelhantes à da glicina (Fig. 3-10). Esses aminoácidos têm valores de pK_a muito semelhantes, mas não idênticos: o pK_a do grupo $-\text{COOH}$ situa-se na faixa de 1,8 a 2,4, e o pK_a do grupo $-\text{NH}_3^+$, na faixa de 8,8 a 11,0 (Tabela 3-1). Essas diferenças refletem o ambiente químico imposto pelos grupos R.

Em segundo lugar, os aminoácidos com um grupo R ionizável têm curvas de titulação mais complexas, com *três* estágios que correspondem às três etapas possíveis de ionização; assim, eles têm três valores de pK_a . O estágio adicional da titulação do grupo R ionizável se sobrepõe, em algum grau, ao da titulação do grupo α -carboxila, ao da titulação do grupo α -amino, ou a ambos. As curvas de titulação para dois aminoácidos desse grupo, glutamato e histidina, são mostradas na **Figura 3-12**. Os pontos isoelétricos refletem a natureza dos grupos R ionizáveis presentes. Por exemplo, o glutamato tem um pI de 3,22, consideravelmente mais baixo do que o da glicina. Isso se deve à presença de dois grupos carboxila, que, na média dos valores de pK_a (3,22), contribuem para uma carga líquida de -1 , que equilibra a carga $+1$ proveniente do grupo amino. Do mesmo modo, o pI da histidina, com dois grupos positivamente carregados quando protonados, é de 7,59 (a média dos valores de pK_a dos grupos amino e imidazol), muito mais alto do que o da glicina.



(a)

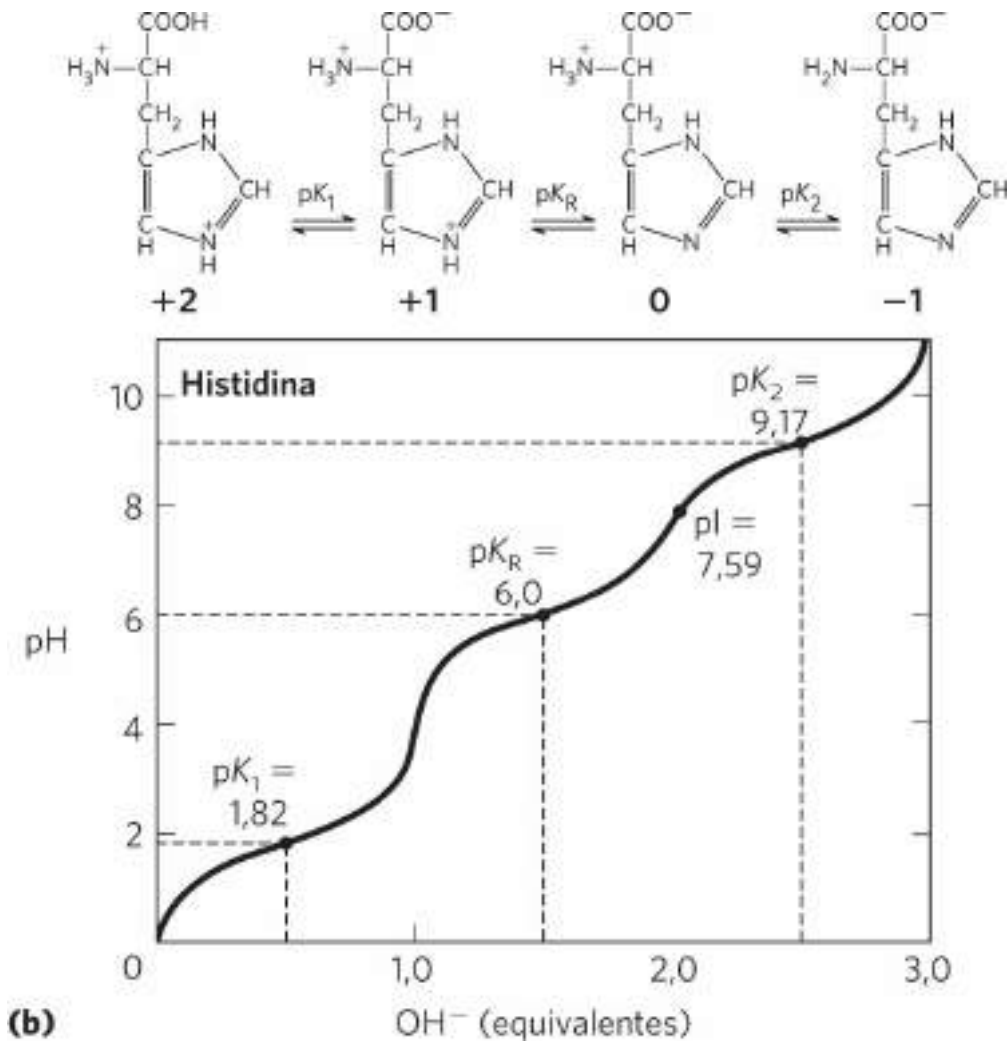


FIGURA 3-12 Curvas de titulação do (a) glutamato e da (b) histidina. O pK_a do grupo R é designado aqui como pK_R . Nesses dois casos, a presença de três grupos ionizáveis torna a curva de titulação mais complexa. Observe que, no glutamato, o pI é aproximadamente a média aritmética do pK_a dos dois grupos que estão carregados negativamente. A carga líquida é 0 (o pI) quando esses dois grupos contribuem com uma carga -1 (um protonado, e o outro não) para contrabalançar perfeitamente a carga $+1$ do grupo α -amino. De maneira semelhante, o pI da histidina é aproximadamente a média aritmética dos pK_a dos dois grupos que estão carregados positivamente quando protonados.

Finalmente, em ambiente aquoso, apenas a histidina tem um grupo R ($pK_a = 6,0$) que fornece um poder tamponante significativo próximo do pH neutro geralmente encontrado nos líquidos intra e extracelulares da maioria dos animais e bactérias (Tabela 3-1).

RESUMO 3.1 Aminoácidos

- Os 20 diferentes aminoácidos encontrados na forma de resíduos nas proteínas contêm um grupo α -carboxila, um grupo α -amino e um grupo substituinte R característico no

átomo do carbono α . O átomo de carbono α de todos os aminoácidos, exceto o da glicina, é assimétrico, e, portanto, os aminoácidos podem existir em pelo menos duas formas estereoisoméricas.

- Apenas os estereoisômeros L (com uma configuração relacionada com a configuração absoluta da molécula de referência L-gliceraldeído) participam de proteínas.
 - Os aminoácidos podem ser classificados em cinco tipos, com base na polaridade e na carga (em pH 7) dos seus grupos R.
 - Também ocorrem outros aminoácidos menos comuns, tanto como constituintes de proteínas (pela modificação de resíduos de aminoácidos comuns após a síntese proteica), quanto como metabólitos livres.
 - Os aminoácidos variam quanto às propriedades ácido-básicas e têm curvas de titulação características. Aminoácidos monoamino monocarboxílicos (com grupos R não ionizáveis) são ácidos dipróticos ($^+\text{H}_3\text{NCH(R)COOH}$) em pH baixo e existem em várias formas iônicas diferentes à medida que o pH aumenta.
 - Aminoácidos com grupos R ionizáveis têm espécies iônicas adicionais, dependendo do pH do meio e do pK_a do grupo R.
-

3.2 Peptídeos e proteínas

Agora, o foco da discussão passa para os polímeros de aminoácidos, os **peptídeos** e as **proteínas**. Os polipeptídeos de importância biológica têm um tamanho que varia dos pequenos, com dois ou três aminoácidos ligados, até os muito grandes, formados por milhares de resíduos.

Peptídeos são cadeias de aminoácidos

P2 Duas moléculas de aminoácidos podem ser ligadas por ligação covalente por meio de uma ligação amida substituída, denominada **ligação peptídica**, produzindo, assim, um dipeptídeo. Essa ligação é formada pela remoção de elementos de água (desidratação): uma porção hidroxila do grupo α -carboxila de um aminoácido e um átomo de hidrogênio do grupo α -amino do outro aminoácido (**Fig. 3-13**). Os aminoácidos agora ligados são denominados resíduos, a parte que sobrou como resultado da eliminação da água. A formação da ligação peptídica é um exemplo de uma reação de **condensação**, uma classe comum de reações nas células vivas. A reação inversa (quebra da ligação envolvendo água) é um exemplo de clivagem hidrolítica, ou **hidrólise**. Em condições bioquímicas padrão, o equilíbrio da reação mostrada na Figura 3-13 favorece a hidrólise do dipeptídeo em aminoácidos. Para tornar a reação mais favorável termodinamicamente, o grupo carboxila deve ser modificado ou ativado quimicamente, de modo que o grupo hidroxila possa ser eliminado de forma mais fácil. Uma abordagem química para esse problema será discutida posteriormente neste capítulo. A abordagem biológica para a formação das ligações peptídicas é o tópico principal do Capítulo 27.

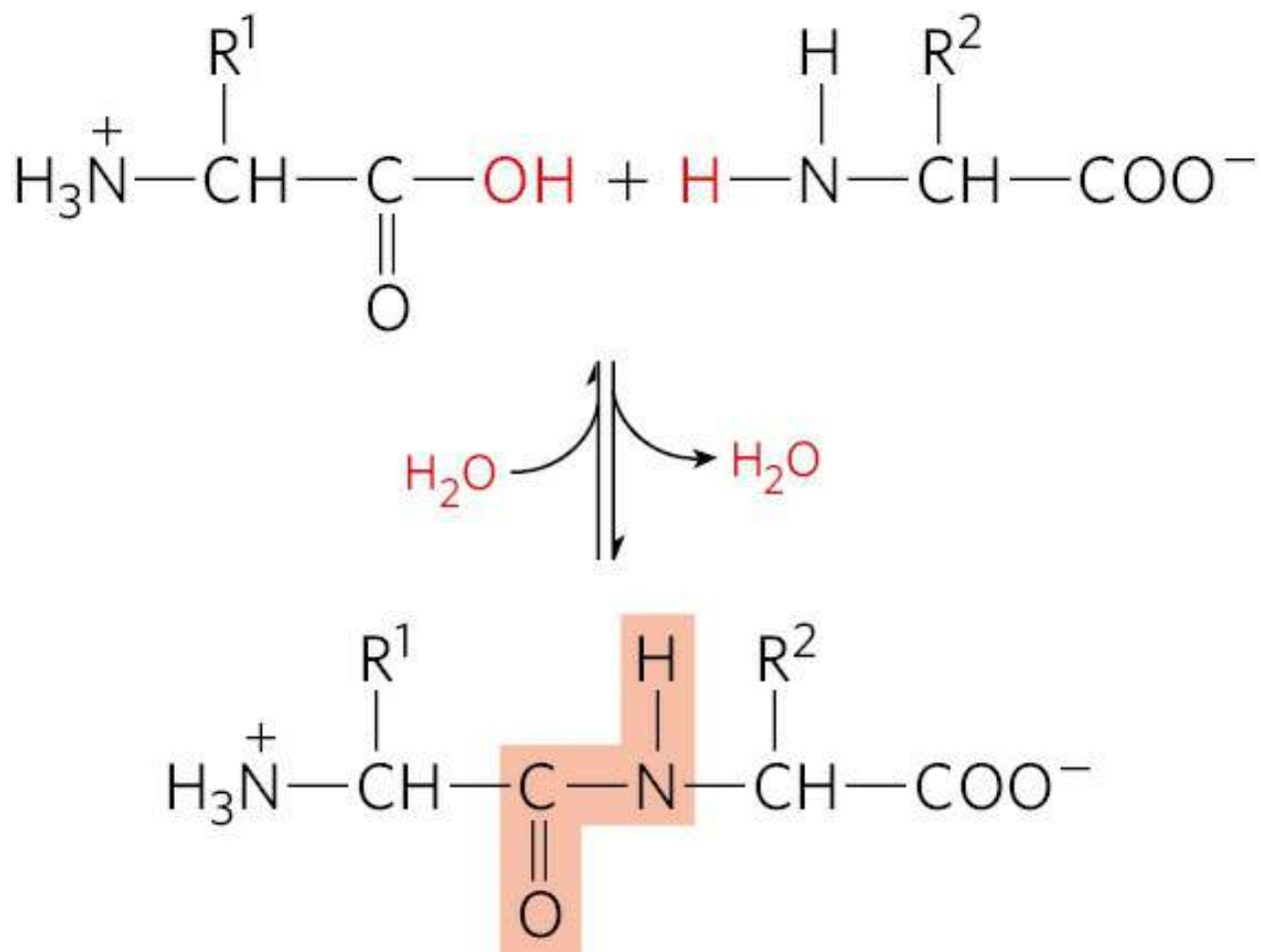


FIGURA 3-13 Formação da ligação peptídica por condensação. O grupo α -amino de um aminoácido (com o grupo R^2) atua como nucleófilo para deslocar o grupo hidroxila do outro aminoácido (com o grupo R^1), formando uma ligação peptídica (sombreada). Os grupos amino são bons nucleófilos, mas o grupo hidroxila é um grupo de saída fraco e não é deslocado com facilidade. No pH fisiológico, a reação mostrada não ocorre em grau apreciável.

Três aminoácidos podem ser unidos por duas ligações peptídicas para formar um tripeptídeo; do mesmo modo, quatro aminoácidos podem ser unidos para formar um tetrapeptídeo, cinco para formar um pentapeptídeo, e assim por diante. Quando o número de aminoácidos que se ligam dessa maneira é pequeno, a estrutura é chamada de **oligopeptídeo**. Quando o número de aminoácidos que se ligam é maior, o produto é chamado de **polipeptídeo**. As proteínas podem ter milhares de resíduos de aminoácidos. Embora algumas vezes os termos “proteína” e “polipeptídeo” sejam usados de maneira intercambiável, as moléculas chamadas de polipeptídeos têm massas moleculares abaixo de 10.000, ao passo que as chamadas de proteínas têm massas moleculares mais elevadas.

A **Figura 3-14** mostra a estrutura de um pentapeptídeo. Em um peptídeo, o resíduo de aminoácido na extremidade com o grupo α -amino livre é chamado de **resíduo aminoterminal**

(ou N-terminal) e o resíduo na outra extremidade, que tem um grupo carboxila livre, é o **resíduo carboxiterminal** (C-terminal).

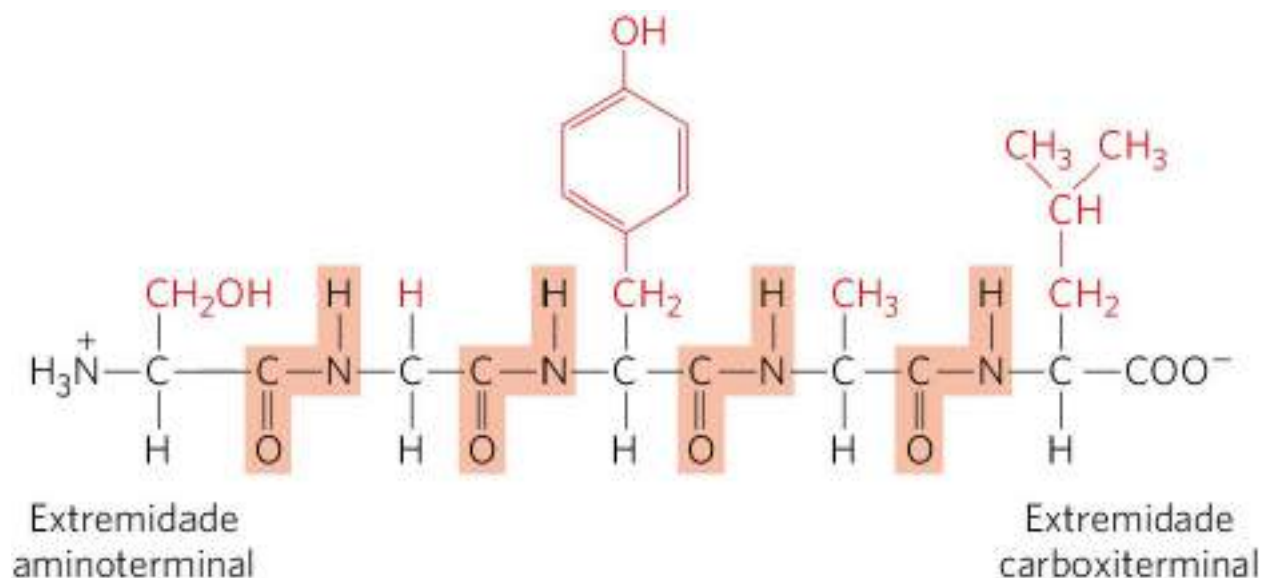


FIGURA 3-14 O pentapeptídeo serilgliciltirosilalanileucina, Ser-Gly-Tyr-Ala-Leu ou SGYAL. Os peptídeos são denominados a partir do resíduo aminoterminal, que, por convenção, é colocado à esquerda. As ligações peptídicas estão sombreadas; os grupos R estão em vermelho.

CONVENÇÃO

Quando se representa uma sequência de aminoácidos de um peptídeo, polipeptídeo ou proteína, a extremidade aminoterminal é colocada à esquerda, e a extremidade carboxiterminal, à direita. A sequência é lida da esquerda para a direita, portanto iniciando com a extremidade aminoterminal. ■

Embora a hidrólise de uma ligação peptídica seja uma reação exergônica, ela só ocorre lentamente, visto que tem uma elevada energia de ativação. Como resultado, as ligações peptídicas nas proteínas são muito estáveis, com meia-vida média ($t_{1/2}$) de cerca de 7 anos na maioria das condições intracelulares.

Pode-se diferenciar peptídeos pelo comportamento de ionização

P2 Os peptídeos contêm apenas um grupo α -amino e um grupo α -carboxila livres, localizados nas extremidades opostas da cadeia (**Fig. 3-15**). Esses grupos se ionizam do mesmo modo que nos aminoácidos livres. Os grupos α -amino e α -carboxila de todos os aminoácidos que não estão

em uma das extremidades são ligados covalentemente em ligações peptídicas. Então, eles já não podem mais se ionizar e, portanto, não contribuem para o comportamento ácido-base total do peptídeo. Os grupos R ionizáveis dos peptídeos (Tabela 3-1) também contribuem para as propriedades ácido-base da molécula (Fig. 3-15).

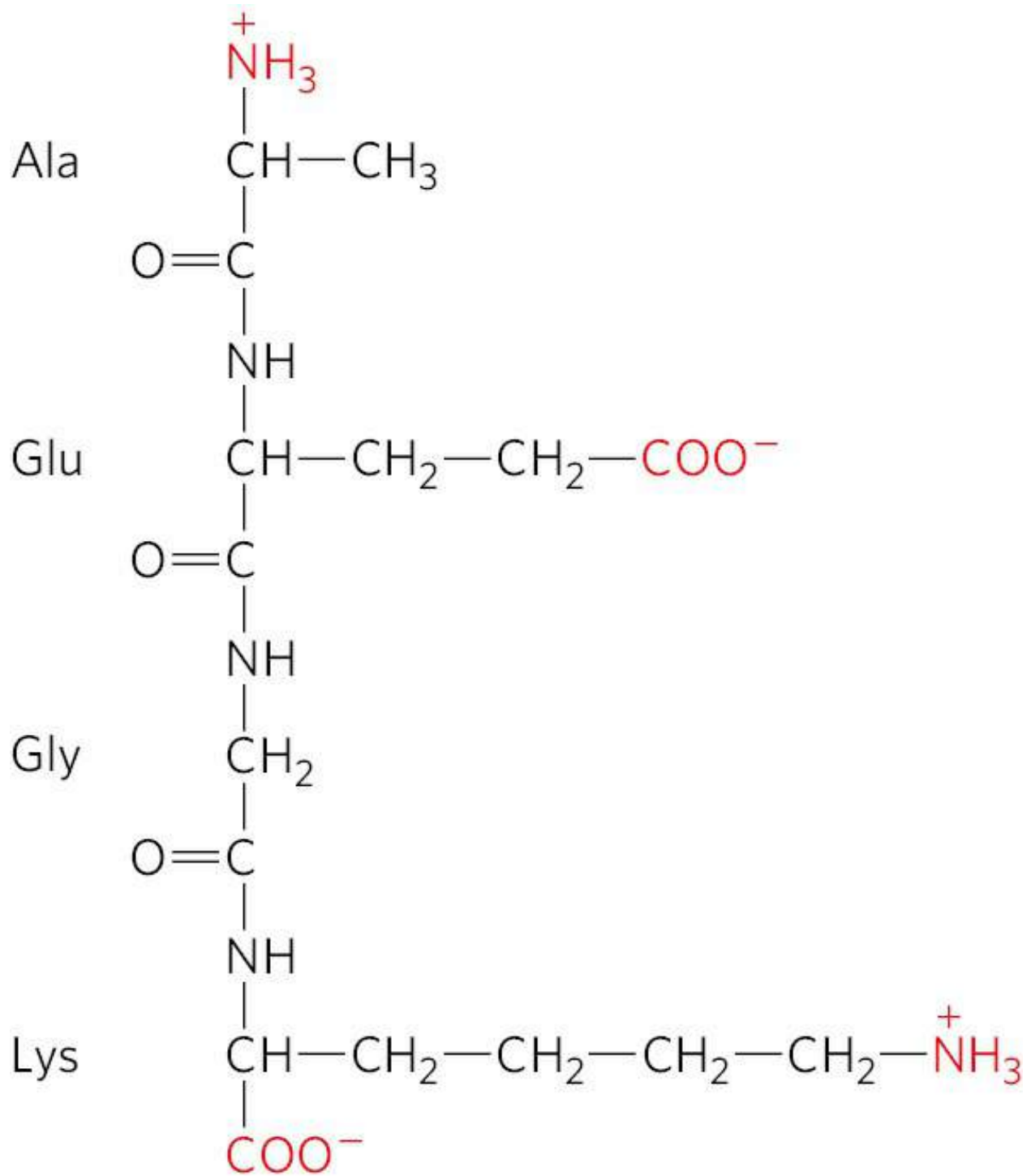
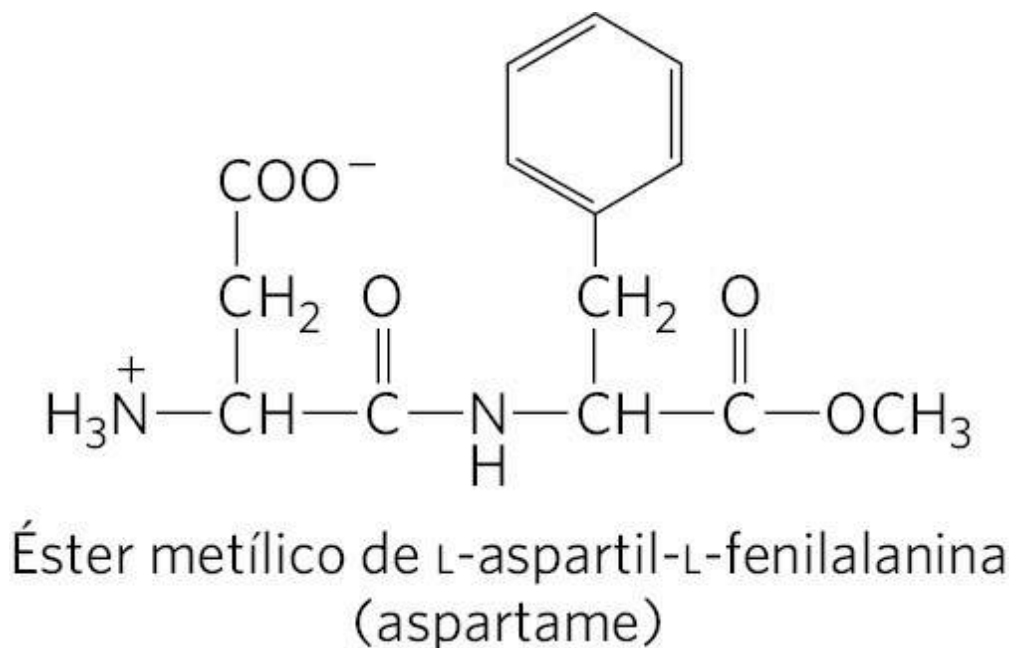


FIGURA 3-15 Alanilglutamilglicilisina. Este tetrapeptídeo tem um grupo α -amino livre, um grupo α -carboxila livre e dois grupos R ionizáveis. Os grupos ionizados em pH 7,0 estão em vermelho.

Assim como os aminoácidos livres, os peptídeos têm curvas de titulação e pH isoelétrico (pI) característicos, pH no qual a carga elétrica é zero, de modo que eles não podem se mover quando submetidos a um campo elétrico. Essas propriedades são exploradas em algumas das técnicas utilizadas para separar peptídeos de proteínas, como será visto mais adiante neste capítulo. Quando um aminoácido passa a ser um resíduo em um peptídeo, o seu ambiente químico fica alterado, e os valores dos pK_a dos grupos R ionizáveis alteram-se um pouco. Os valores de pK_a para os grupos R listados na Tabela 3-1 podem servir como um guia útil para indicar a faixa de pH na qual determinado grupo irá se ionizar, mas esses valores não podem ser estritamente aplicados quando o aminoácido passa a fazer parte de um peptídeo.

Peptídeos e polipeptídeos biologicamente ativos ocorrem em uma ampla variedade de tamanhos e composições

Nenhuma generalização pode ser feita sobre as massas moleculares de peptídeos e proteínas biologicamente ativos tomando por base as suas respectivas funções. Peptídeos que ocorrem naturalmente variam em comprimento de dois a muitos milhares de resíduos de aminoácidos. Mesmo os menores peptídeos podem ter efeitos biologicamente importantes. Considere o dipeptídeo sintetizado comercialmente éster metílico de L-aspartil-L-fenilalanina, o adoçante artificial conhecido como aspartame.



Muitos peptídeos pequenos exercem seus efeitos em concentrações muito baixas. Por exemplo, vários hormônios de vertebrados (Capítulo 23) são peptídeos pequenos. Entre eles, incluem-se a ocitocina (nove resíduos de aminoácidos), que é secretada pela glândula neuro-hipófise e estimula as contrações uterinas; e o fator de liberação de tireotrofina (três resíduos), que é formado no hipotálamo e estimula a liberação de outro hormônio, tireotrofina, pela glândula adeno-hipófise. Alguns venenos extremamente tóxicos de cogumelos, como a amanitina, também são peptídeos pequenos, assim como muitos antibióticos.

Qual é o comprimento das cadeias polipeptídicas nas proteínas? Como a **Tabela 3-2** mostra, os comprimentos variam consideravelmente. O citocromo *c* humano tem 104 resíduos de aminoácidos ligados em uma única cadeia; o quimotripsinogênio bovino tem 245 resíduos. A titina, constituinte dos músculos de vertebrados, com aproximadamente 27 mil resíduos de aminoácidos e massa molecular de cerca de 3 milhões, está no extremo oposto de tamanho. A grande maioria das proteínas que ocorrem naturalmente contém menos de 2 mil resíduos de aminoácidos e é muito menor do que a titina.

TABELA 3-2	Dados moleculares de algumas proteínas		
Proteínas	Peso molecular	Número de resíduos	Número de cadeias polipeptídicas
Citocromo <i>c</i> (humano)	12.400	104	1
Mioglobina (coração equino)	16.700	153	1
Quimotripsina (pâncreas bovino)	25.200	241	3
Hemoglobina (humana)	64.500	574	4
Hexocinase (levedura)	107.900	972	2
RNA-polimerase (<i>E. coli</i>)	450.000	4.158	5
Glutamina-sintase (<i>E. coli</i>)	619.000	5.628	12
Titina (humana)	2.993.000	26.926	1

Algumas proteínas são constituídas por apenas uma única cadeia polipeptídica, porém outras, chamadas de proteínas de **várias subunidades**, têm dois ou mais polipeptídeos associados de modo não covalente (Tabela 3-2). As cadeias polipeptídicas individuais em uma proteína de várias subunidades podem ser idênticas ou diferentes. Se pelo menos duas são idênticas, a proteína é chamada de **oligomérica**, e as unidades idênticas (que podem ser uma ou mais cadeias

polipeptídicas) são chamadas de **protômeros**. A hemoglobina, por exemplo, tem quatro subunidades polipeptídicas: duas cadeias α idênticas e duas cadeias β idênticas; as quatro são mantidas unidas por interações não covalentes. Cada subunidade α é pareada de modo idêntico com uma subunidade β dentro da estrutura dessa proteína de várias subunidades; portanto, a hemoglobina pode ser considerada tanto um tetrâmero de quatro subunidades de polipeptídeos quanto um dímero de protômeros $\alpha\beta$.

Algumas proteínas contêm duas ou mais cadeias polipeptídicas ligadas covalentemente. Por exemplo, as duas cadeias polipeptídicas da insulina são unidas por ligações dissulfeto. Nesses casos, os polipeptídeos individuais não são considerados subunidades, mas são comumente chamados simplesmente de cadeias.

A composição dos aminoácidos das proteínas também é altamente variável. Os 20 aminoácidos comuns quase nunca ocorrem em quantidades iguais em uma proteína. Alguns aminoácidos podem ocorrer apenas uma vez ou mesmo estar ausentes em determinados tipos de proteína; outros podem ocorrer em grande número. A **Tabela 3-3** mostra a composição de aminoácidos do citocromo *c* e do quimotripsinogênio bovinos, este último sendo o precursor inativo da enzima digestiva quimotripsina. Essas duas proteínas, com funções muito diferentes, também diferem significativamente quanto ao número relativo de cada tipo de resíduo de aminoácido.

TABELA 3-3 Composição de aminoácidos de duas proteínas				
Aminoácido	Citocromo <i>c</i> bovino		Quimotripsinogênio bovino	
	Número de resíduos por molécula	Porcentagem do total^a	Número de resíduos por molécula	Porcentagem do total^a
Ala	6	6	22	9
Arg	2	2	4	1,6
Asn	5	5	14	5,7
Asp	3	3	9	3,7
Cys	2	2	10	4
Gln	3	3	10	4
Glu	9	9	5	2
Gly	14	13	23	9,4
His	3	3	2	0,8
Ile	6	6	10	4

Leu	6	6	19	7,8
Lys	18	17	14	5,7
Met	2	2	2	0,8
Phe	4	4	6	2,4
Pro	4	4	9	3,7
Ser	1	1	28	11,4
Thr	8	8	23	9,4
Trp	1	1	8	3,3
Tyr	4	4	4	1,6
Val	3	3	23	9,4
Total	104	102 ^a	245	99,7 ^a

Nota: algumas análises usuais, como a hidrólise ácida, não discriminam Asp de Asn, que são designados em conjunto como Asx (ou B). De forma semelhante, quando Glu e Gln não podem ser discriminados, eles são indicados juntos como Glx (ou Z). Além disso, Trp é destruído na hidrólise ácida. Para se obter uma avaliação precisa do conteúdo completo de aminoácidos, é necessário usar outros métodos.

^aAs porcentagens não somam 100% devido aos arredondamentos.

Pode-se fazer uma estimativa do número de resíduos de aminoácidos de uma proteína que não tenha nenhum outro constituinte químico além dos aminoácidos por meio da divisão do seu peso molecular por 110. Embora a média dos pesos moleculares dos 20 aminoácidos comuns seja de cerca de 138, os aminoácidos menores predominam nas proteínas. Levando-se em consideração as proporções nas quais os vários aminoácidos ocorrem em uma proteína típica, a média da massa molecular dos aminoácidos de uma proteína fica próximo de 128 (Tabela 3-1; as médias são determinadas pesquisando-se a composição dos aminoácidos de mais de 1.000 proteínas diferentes). Como uma molécula de água (M_r 18) é removida para criar cada ligação peptídica, a massa molecular média de um resíduo de aminoácido em uma proteína é de cerca de $128 - 18 = 110$.

Algumas proteínas contêm outros grupos químicos além dos aminoácidos

Muitas proteínas, como, por exemplo, as enzimas ribonuclease A e a quimotripsina, contêm apenas resíduos de aminoácidos e nenhum outro constituinte químico; elas são consideradas proteínas simples. Entretanto, algumas proteínas contêm, além dos aminoácidos, componentes

químicos permanentemente associados; elas são chamadas de **proteínas conjugadas**. A parte de uma proteína conjugada que não é aminoácido normalmente é chamada de **grupo prostético**. As proteínas conjugadas são classificadas com base na natureza química de seus grupos prostéticos (**Tabela 3-4**); por exemplo, **lipoproteínas** contêm lipídeos, **glicoproteínas** contêm açúcares e **metaloproteínas** contêm um metal específico. Algumas proteínas contêm mais de um grupo prostético. Normalmente, o grupo prostético desempenha um papel importante na função biológica da proteína.

TABELA 3-4 Proteínas conjugadas		
Classe	Grupo prostético	Exemplo
Lipoproteínas	Lipídeos	β_1 -Lipoproteína do sangue (Fig. 17-2)
Glicoproteínas	Carboidratos	Imunoglobulina G (Fig. 5-20)
Fosfoproteínas	Grupos fosfato	Glicogênio-fosforilase (Fig. 6-39)
Hemoproteínas	Heme (ferro-porfirina)	Hemoglobina (Figs. 5-8 a 5-11)
Flavoproteínas	Nucleotídeos da flavina	Succinato-desidrogenase (Fig. 19-9)
Metaloproteínas	Ferro	Ferritina (Quadro 16-1)
	Zinco	Álcool-desidrogenase (Fig. 14-12)
	Cálcio	Calmodulina (Fig. 12-17)
	Molibdênio	Dinitrogenase (Fig. 22-3)
	Cobre	Complexo IV (Fig. 19-12)

RESUMO 3.2 *Peptídeos e proteínas*

- Os aminoácidos podem ser unidos de modo covalente por meio de ligações peptídicas, formando peptídeos e proteínas. As células geralmente contêm milhares de proteínas diferentes, cada uma com uma atividade biológica diferente.
- O comportamento de ionização dos peptídeos é um reflexo das suas cadeias laterais ionizáveis e dos grupos α -amino e α -carboxílico.
- As proteínas podem ter cadeias peptídicas muito longas, de cem a muitos milhares de resíduos de aminoácidos. No entanto, alguns dos peptídeos que ocorrem naturalmente têm apenas poucos resíduos de aminoácidos. Algumas proteínas são compostas de várias cadeias polipeptídicas associadas de modo não covalente, chamadas de subunidades.

- A hidrólise de proteínas simples produz apenas aminoácidos, e as proteínas conjugadas contêm, além dos aminoácidos, outros componentes, como um metal ou um grupo prostético.
-

3.3 Trabalhando com proteínas

O conhecimento da estrutura e da função das proteínas que os bioquímicos acumularam veio de estudos realizados com muitas proteínas, uma a uma. Para estudar detalhadamente uma proteína, o pesquisador deve ser capaz de separá-la de outras proteínas para obtê-la na forma pura; para isso, ele deve dispor de técnicas adequadas para determinar as propriedades da proteína. Os métodos necessários vêm da química de proteínas, disciplina tão antiga quanto a própria bioquímica e que mantém uma posição central na pesquisa bioquímica.

Proteínas podem ser separadas e purificadas

Para a determinação das propriedades e ações de uma proteína, é essencial ter uma preparação pura. As células contêm milhares de diferentes tipos de proteínas; então, como é que se pode purificar uma proteína? **P3** Os métodos para separação de proteínas tiram proveito das diferenças nas propriedades entre uma proteína e outra, incluindo o tamanho, a carga e as propriedades de ligação a outras moléculas e elementos. O aparecimento de métodos e técnicas da engenharia genética forneceu novas, e mais simples, maneiras para purificar proteínas. Os métodos mais recentes, apresentados no Capítulo 9, geralmente modificam artificialmente a proteína que está sendo purificada, adicionando poucos ou muitos resíduos de aminoácidos a uma ou a ambas as extremidades. Em muitos casos, essas modificações alteram a função da proteína. O isolamento de uma proteína sem que ela sofra qualquer modificação necessita que essas modificações sejam removidas ou depende dos métodos descritos a seguir.

A fonte de determinada proteína é geralmente um tecido ou células de algum microrganismo. A primeira etapa de qualquer procedimento de purificação de proteínas é romper essas células, liberando as proteínas em uma solução chamada de **extrato bruto**. Se necessário, pode-se utilizar centrifugação diferencial para preparar frações subcelulares ou isolar organelas específicas (ver Fig. 1-7).

Uma vez pronto o extrato ou a preparação de organelas, há vários métodos disponíveis para purificar uma ou mais proteínas contidas no extrato. **P3** Em geral, o extrato é submetido a tratamentos para separar as proteínas em diferentes **frações** com base em uma propriedade, como tamanho ou carga; esse processo é chamado de **fracionamento**. As etapas iniciais de fracionamento no processo de purificação utilizam diferenças na solubilidade das proteínas, que são uma função complexa de pH, temperatura, concentração de sais e outros fatores. A solubilidade das proteínas é reduzida na presença de alguns sais, um efeito chamado de “*salting out*”. O sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄) é muito eficaz para precipitar seletivamente algumas proteínas e deixar outras na solução. Então, usa-se centrifugação a baixa velocidade para remover as proteínas que precipitaram das que permaneceram na solução.

A solução contendo a proteína de interesse geralmente precisa ser modificada antes que seja possível passar para as etapas de purificação seguintes. Por exemplo, a **diálise** é um processo que aproveita o tamanho maior das proteínas para separá-las de solutos pequenos. O extrato parcialmente purificado é colocado dentro de um saco ou tubo feito de uma membrana semipermeável, que é suspenso em um volume muito maior de uma solução tampão com força iônica apropriada. A membrana possibilita a troca de sais e tampões, mas não de proteínas. Desse modo, a diálise retém as proteínas grandes no interior do saco ou tubo e permite que as concentrações dos outros solutos presentes na preparação de proteínas se alterem até ficarem em equilíbrio com a solução de fora da membrana. A diálise pode ser utilizada, por exemplo, para remover o sulfato de amônio da preparação proteica.

Os métodos mais eficientes para fracionar proteínas utilizam **cromatografia em coluna**, que se aproveita de diferenças na carga, no tamanho, na afinidade de ligação e em outras propriedades das proteínas (**Fig. 3-16**). Um material sólido poroso com propriedades químicas adequadas (fase estacionária) é colocado em uma coluna, e uma solução tamponada (fase móvel) migra através da coluna. A proteína, dissolvida na mesma solução tampão que foi utilizada para estabelecer a fase móvel, é colocada no topo da coluna. A proteína, então, atravessa a matriz sólida como uma banda que avança cada vez mais através da fase móvel maior. Cada proteína migra com mais rapidez ou mais lentidão através da coluna, dependendo de suas propriedades.

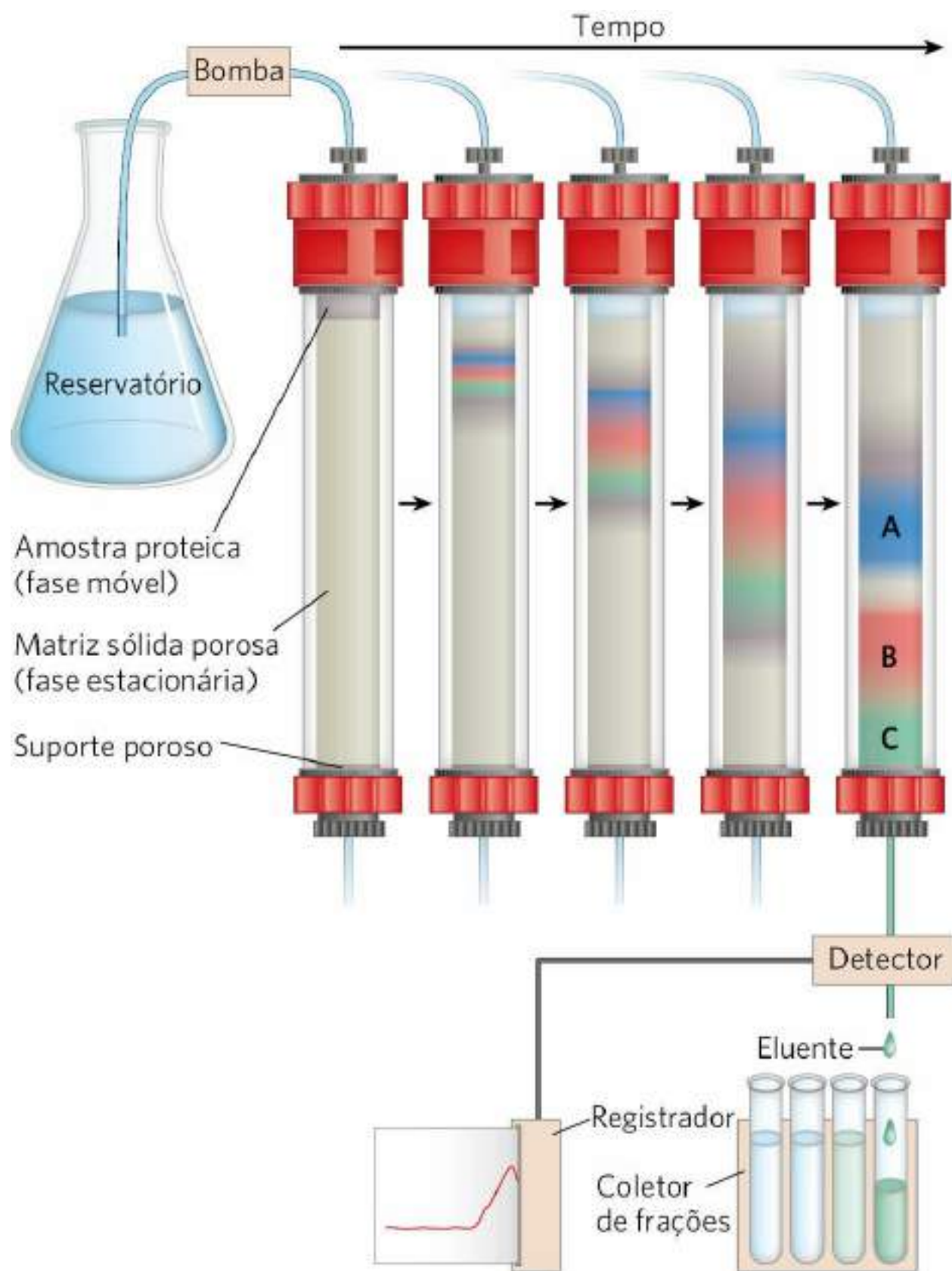
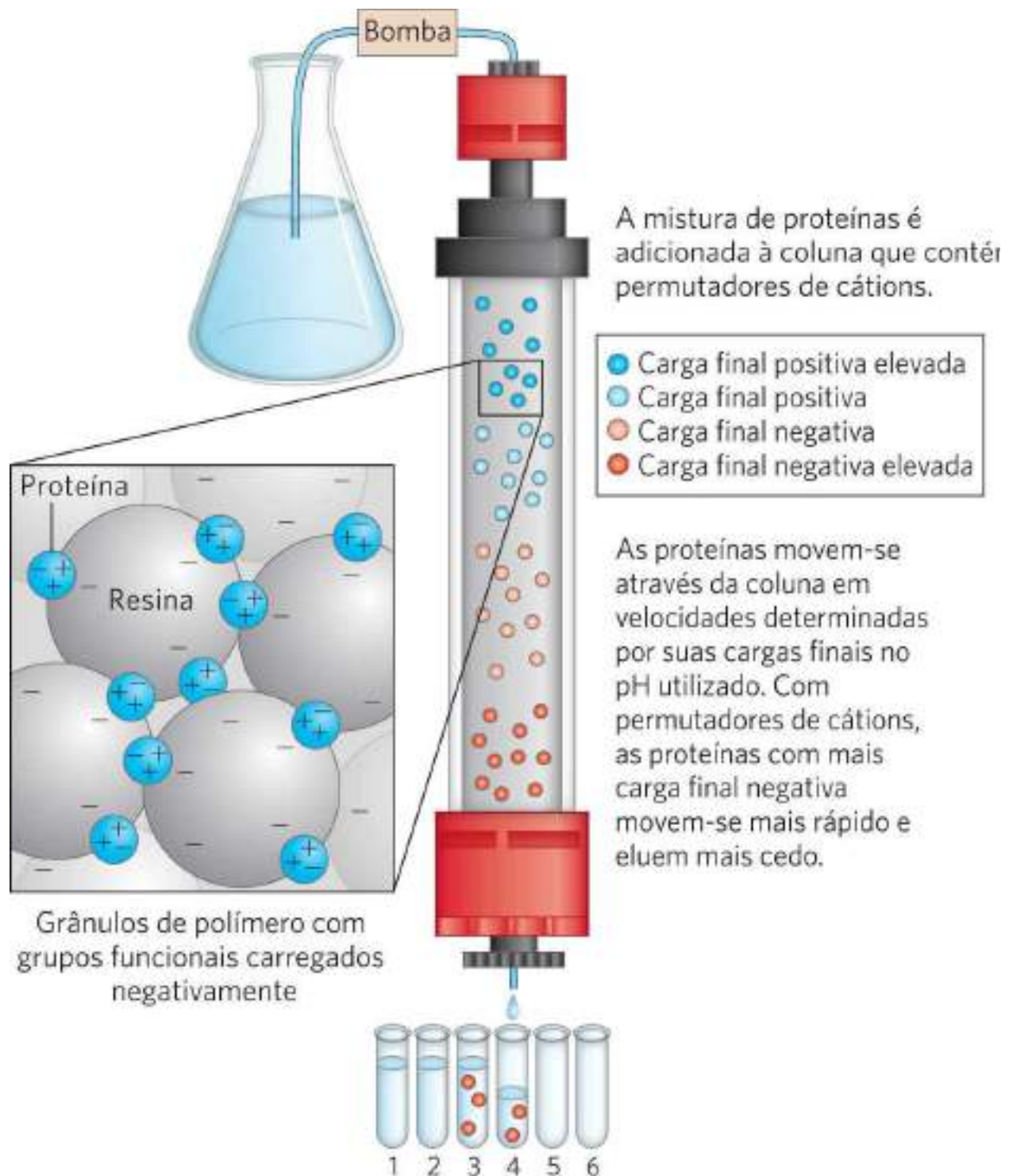
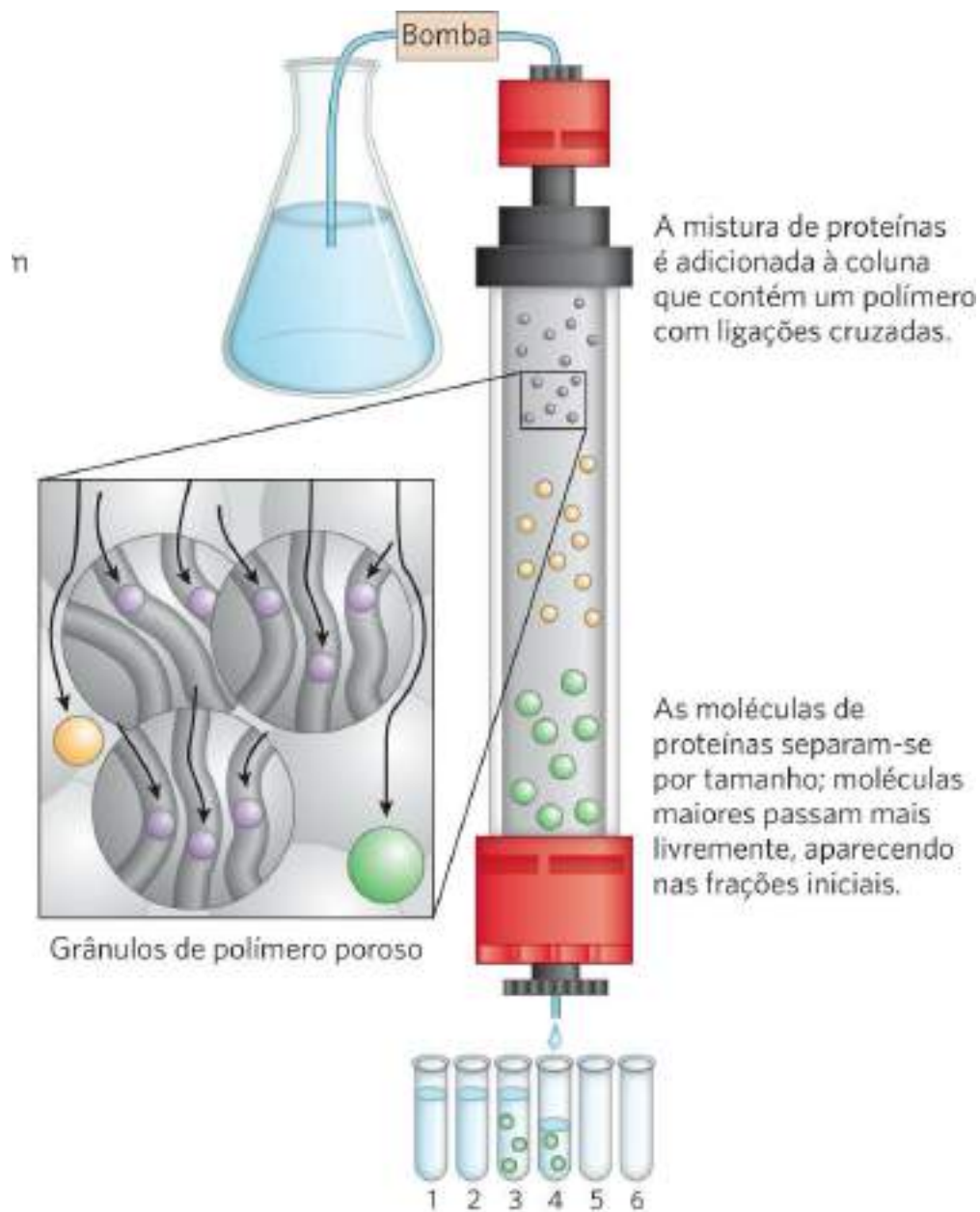


FIGURA 3-16 Cromatografia em coluna. Entre os elementos básicos de uma coluna cromatográfica, está um material poroso sólido (matriz) apoiado no interior de uma coluna, geralmente feita de plástico ou vidro. Uma solução, a fase móvel, flui através da matriz, a fase estacionária. A solução que sai da coluna (o eluente) é constantemente substituída pela solução fornecida por um reservatório ao topo. A solução de proteína a ser separada é colocada no topo da coluna e deixada percolar pela matriz sólida. Mais solução é adicionada no topo. A solução proteica forma uma banda no interior da fase móvel que, inicialmente, tem a altura da solução de proteína aplicada à coluna. À medida que as proteínas migram através da coluna (mostrada aqui em cinco momentos diferentes), elas são retardadas em diferentes graus, devido às diferenças com que interagem com o material da matriz. A banda total de proteína, portanto, amplia-se à medida que se move através da coluna. Tipos individuais de proteínas (como A, B e C, mostradas em azul, vermelho e verde) se separam gradativamente umas das outras, formando bandas no interior da banda proteica mais larga. A separação melhora (i.e., aumenta a resolução) à medida que o comprimento da coluna aumenta. Entretanto, cada banda proteica individual também se alarga com o tempo, devido à dispersão por difusão, processo que diminui a resolução. Nesse exemplo, a proteína A está bem separada de B e C, porém, nas condições usadas, a dispersão por difusão impede a separação completa de B e C. A figura corresponde ao momento em que a proteína C está sendo detectada e a sua presença registrada à medida que ela elui da coluna.

A **cromatografia de troca iônica** explora as diferenças no sinal e na magnitude da carga elétrica das proteínas em um determinado pH (**Fig. 3-17a**). A matriz que preenche a coluna é um polímero sintético (resina) que tem grupos carregados ligados; aqueles com grupos aniônicos são chamados de **trocadores de cátions**, e aqueles com grupos catiônicos, de **trocadores de ânions**. A afinidade de cada proteína pelos grupos carregados presentes na resina da coluna é afetada pelo pH (que determina o estado de ionização da molécula) e pela concentração de íons de sais livres presentes na solução circundante. A separação pode ser otimizada por mudanças graduais no pH e/ou na concentração de sal da fase móvel, de modo a criar um gradiente de pH ou de sal. Na **cromatografia de troca de cátions**, as proteínas com uma carga líquida positiva migram através da matriz mais lentamente do que aquelas com uma carga líquida negativa, uma vez que a migração das que têm carga líquida positiva é mais retardada por sua interação com a fase estacionária.



(a) Cromatografia de troca iônica



(b) Cromatografia de exclusão por tamanho

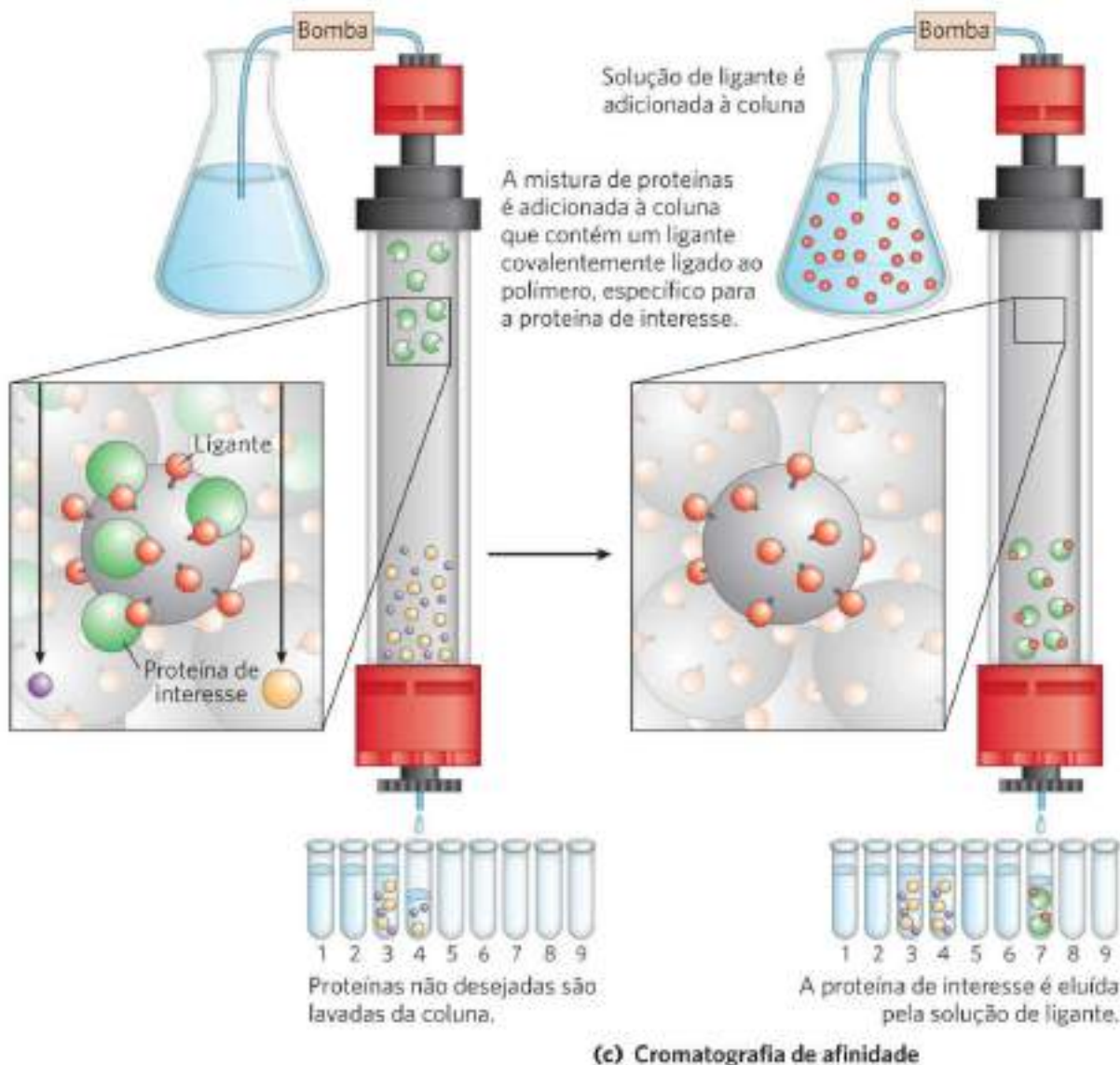


FIGURA 3-17 Três métodos cromatográficos usados na purificação de proteínas. (a) A cromatografia de troca iônica explora diferenças no sinal e na magnitude das cargas elétricas líquidas das proteínas em um determinado pH. (b) A cromatografia de exclusão por tamanho, também chamada de filtração em gel, separa proteínas de acordo com o tamanho. (c) A cromatografia de afinidade separa proteínas de acordo com as suas respectivas especificidades de ligação. Mais detalhes estão apresentados no texto.

À medida que o conteúdo da solução proteica sai de uma coluna, porções sucessivas (frações) desse eluente são coletadas separadamente em tubos de ensaio. Cada fração pode ser testada para verificar a presença da proteína de interesse e para verificar outros parâmetros, como a força iônica ou a concentração total de proteínas. Todas as frações positivas para a proteína de interesse podem ser misturadas, formando uma única fração, que constitui o produto dessa etapa cromatográfica de purificação da proteína.

EXEMPLO 3-1 *Troca iônica de peptídeos*

Um bioquímico deseja separar dois peptídeos por cromatografia por troca iônica. No pH da fase móvel a ser utilizada na coluna, um peptídeo (A) tem um pI de 5,1, devido à presença de mais resíduos de Glu e Asp do que de Arg, Lys e His, e tem carga líquida negativa em pH neutro. O peptídeo B tem pI de 7,8, mostrando um maior número de resíduos de aminoácidos com carga positiva em pH neutro. Qual peptídeo eluirá primeiro de uma resina de troca de cátions? Qual eluirá primeiro a partir da resina de troca de ânions?

SOLUÇÃO: Resinas de troca de cátions têm cargas negativas e ligam moléculas carregadas positivamente, retardando o seu avanço pela coluna. O peptídeo B, com o seu pI mais alto e a sua carga líquida positiva, interagirá mais fortemente com a resina de troca de cátions do que o peptídeo A. Então, o peptídeo A eluirá primeiro. Em uma resina de troca de ânions, o peptídeo B eluirá primeiro. O peptídeo A, tendo um pI mais baixo e uma carga líquida negativa, será retardado, devido à sua interação com as cargas positivas da resina.

A Figura 3-17 mostra duas variações da cromatografia em coluna além da troca iônica. A **cromatografia de exclusão por tamanho**, também denominada filtração em gel (Fig. 3-17b), separa as proteínas de acordo com seus respectivos tamanhos. Nesse método, as proteínas grandes saem da coluna antes do que as proteínas menores, um resultado um tanto contrário ao esperado intuitivamente. Nesse tipo de cromatografia, a fase sólida consiste em grânulos de polímeros reticulados com poros ou cavidades fabricados com um tamanho específico. As proteínas grandes não podem entrar nas cavidades e, assim, percorrem um caminho mais curto (e mais rápido) através da coluna, rodeando os grânulos. As proteínas pequenas penetram nas cavidades e são retardadas, pois percorrem um labirinto através da coluna. A cromatografia de exclusão pelo tamanho também pode ser utilizada para fazer uma estimativa do tamanho da proteína que está sendo purificada, utilizando-se métodos semelhantes aos descritos na Figura 3-19.

A **cromatografia de afinidade** baseia-se na afinidade de ligação (Fig. 3-17c). Os grânulos da coluna têm um grupo químico covalentemente ligado chamado de ligante – um grupo ou uma molécula que se liga a macromoléculas, como as proteínas. Quando uma mistura de proteínas é adicionada à coluna, qualquer proteína com afinidade para esse ligante se liga aos grânulos, e sua migração através da matriz é retardada. Por exemplo, se a função biológica de uma proteína envolve ligação a ATP, então, prendendo-se uma molécula que se assemelhe ao ATP a esses grânulos da coluna, cria-se uma matriz com uma afinidade que pode ajudar a purificar esse tipo de proteína. As proteínas que não se ligam a ATP escoam mais rápido pela coluna. As proteínas

que se ligaram são, então, eluídas utilizando-se uma solução que contenha uma alta concentração de sais ou um ligante livre; nesse caso, o próprio ATP ou um análogo de ATP. O sal enfraquece a ligação da proteína ao ligante imobilizado por interferir nas interações iônicas. O ligante livre compete com o ligante preso aos grânulos, liberando a proteína da matriz. Em geral, a proteína de interesse elui da coluna ligada ao ligante utilizado para eluí-la.

Em geral, os protocolos de purificação de proteínas usam engenharia genética para adicionar outros aminoácidos ou peptídeos (marcadores ou *tags*) à proteína de interesse. A cromatografia de afinidade pode aproveitar a ligação com esses *tags* e, assim, aumentar enormemente a pureza da proteína em apenas uma etapa (ver Fig. 9-11). Em muitos casos, o *tag* pode ser removido posteriormente, restaurando totalmente a função da proteína nativa.

Normalmente, a purificação por métodos cromatográficos é melhorada com a utilização de **HPLC**, ou **cromatografia líquida de alto desempenho**. A HPLC faz uso de bombas de alta pressão, que aceleram o movimento das moléculas de proteína através da coluna; além disso, usa materiais cromatográficos de melhor qualidade, que podem suportar a força de esmagamento produzida pelo fluxo do líquido sob pressão. Reduzindo o tempo de trânsito na coluna, a HPLC pode limitar a dispersão por difusão das bandas proteicas e, assim, melhorar enormemente a resolução.

A escolha da abordagem de purificação de uma proteína que não tenha sido previamente isolada é guiada pelo estudo de como outras proteínas foram purificadas e pelo bom senso. **P3** Na maioria dos casos, deve-se utilizar vários métodos em sequência para conseguir obter uma proteína totalmente purificada, com cada método separando a proteína com base em uma propriedade diferente. A escolha dos métodos é um tanto empírica, e muitas estratégias devem ser tentadas até se encontrar a mais eficaz. Em geral, pode-se minimizar o processo de tentativa e erro baseando o novo procedimento em técnicas de purificação desenvolvidas para proteínas semelhantes. O bom senso determina que procedimentos mais baratos, como, por exemplo, o *salting out*, sejam utilizados primeiro quando o volume total e o número de contaminantes é maior. Ao final de cada etapa de purificação, o tamanho da amostra geralmente diminui (**Tabela 3-5**), permitindo, assim, que procedimentos cromatográficos mais sofisticados (e caros) sejam usados nas fases posteriores. Uma tabela de purificação registra o sucesso de cada uma das etapas do protocolo de purificação. No caso hipotético da purificação mostrada na Tabela 3-5, a relação entre a atividade específica final (15.000 unidades/mg) e o material inicial (10 unidades/mg) dá um fator de purificação de 1.500 vezes. A porcentagem do total de atividade presente na etapa final (45.000 unidades) em relação ao total de atividade do material inicial (100.000 unidades) dá o rendimento do processo (45%).

TABELA 3-5	Tabela hipotética de purificação de uma enzima			
Procedimento ou etapa	Volume da fração (mL)	Proteína total (mg)	Atividade (unidades)	Atividade específica (unidades/mg)

1. Extrato celular bruto	1.400	10.000	100.000	10
2. Precipitação com sulfato de amônio	280	3.000	96.000	32
3. Cromatografia de troca iônica	90	400	80.000	200
4. Cromatografia de exclusão por tamanho	80	100	60.000	600
5. Cromatografia de afinidade	6	3	45.000	15.000

Nota: Todos os dados representam o estado da amostra *após* a realização do procedimento indicado. “Atividade” e “atividade específica” são definidas mais adiante no capítulo.

Proteínas podem ser separadas e caracterizadas por eletroforese

A purificação de proteínas geralmente termina com uma **eletroforese**, um procedimento analítico que possibilita aos pesquisadores visualizarem e caracterizarem as proteínas que acabaram de purificar. Esse método não contribui, por si só, para a purificação, uma vez que a eletroforese com frequência tem efeitos adversos sobre a estrutura e, portanto, a função das proteínas. Entretanto, ela permite que o bioquímico estime rapidamente o número de proteínas diferentes que existe na mistura e o grau de pureza de determinada proteína presente na preparação. A eletroforese também pode ser utilizada para determinar propriedades cruciais de uma proteína, como o ponto isoelétrico, e estimar a massa molecular aproximada.

Em geral, a eletroforese de proteínas é realizada em géis compostos de polímeros reticulados de poliacrilamida (**Fig. 3-18**). O gel de poliacrilamida age como uma peneira molecular, retardando a migração de proteínas aproximadamente em função da relação massa-carga. A migração também pode ser afetada pela forma da proteína. Na eletroforese, a força que move as macromoléculas é o potencial elétrico, E . A mobilidade eletroforética, μ , de uma molécula é a razão entre a velocidade de migração V e o potencial elétrico. A mobilidade eletroforética também é igual à carga líquida, Z , da molécula dividida por seu coeficiente de fricção, f , que reflete, em parte, a forma de uma proteína. Portanto,

$$\mu = \frac{V}{E} = \frac{Z}{f}$$

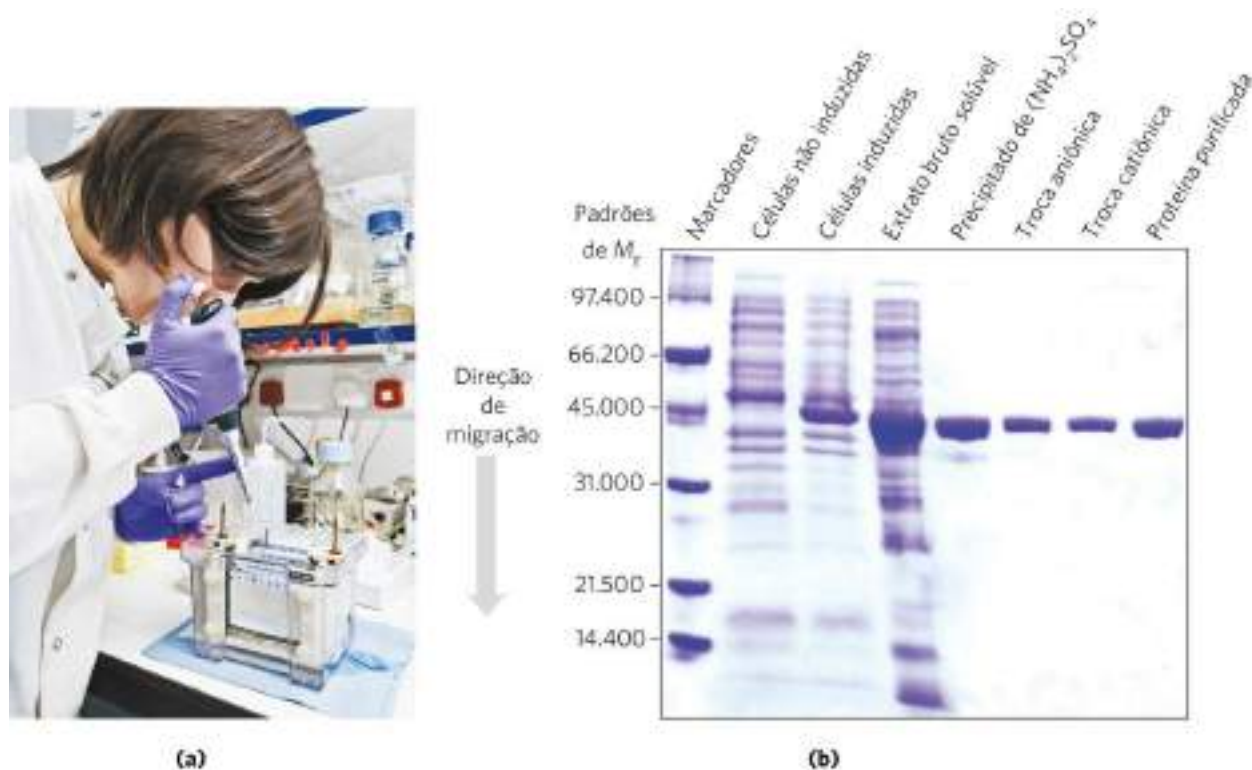
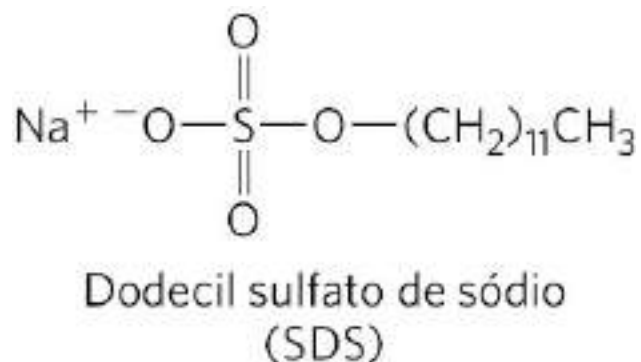


FIGURA 3-18 Eletroforese. (a) As amostras são colocadas em poços ou cavidades no topo do gel de SDS-poliacrilamida. As proteínas se movem através do gel quando é aplicado um campo elétrico. O gel minimiza as correntes de convecção causadas pelos pequenos gradientes de temperatura, bem como os movimentos proteicos que não aqueles induzidos pelo campo elétrico. (b) As proteínas podem ser visualizadas após a eletroforese ao se tratar o gel com um corante, como o azul de Coomassie, que se liga às proteínas, mas não ao gel em si. Cada banda no gel representa uma proteína diferente (ou subunidade de proteína). As proteínas menores movem-se mais rapidamente através do gel do que as maiores e, portanto, acabam ficando mais próximas da base do gel. Esse gel ilustra a purificação da proteína RecA de *Escherichia coli*. O gene para a proteína RecA foi clonado para que ela pudesse ser expressa (síntese proteica) de maneira controlada. A primeira canaleta mostra um conjunto de proteínas padrão (proteínas com M_r conhecidas), que servem de marcadores de massa molecular. As duas canaletas seguintes mostram proteínas de células de *Escherichia coli* antes e depois de a síntese da proteína RecA ser induzida. A quarta canaleta mostra as proteínas presentes no extrato celular bruto. As canaletas seguintes (da esquerda para a direita) mostram as proteínas presentes após cada uma das sucessivas etapas de purificação. Embora a proteína pareça pura na canaleta 6, ainda foram necessárias mais duas etapas para remover pequenas contaminações que não foram evidenciadas no gel. A proteína purificada é uma cadeia polipeptídica única (M_r de aproximadamente 38.000), como mostrado na canaleta mais à direita. [(a) Gustoimages/Science Source; (b) Dra. Julia Cox.]

A migração de uma proteína em um gel durante a eletroforese é, portanto, uma função do tamanho e da forma da proteína.

O método eletroforético comumente empregado para estimar a pureza e a massa molecular utiliza o detergente **dodecil sulfato de sódio (SDS)** (“dodecil” significa uma cadeia de 12 carbonos).



A quantidade de SDS que uma proteína liga é cerca de 1,4 vezes a sua massa, aproximadamente uma molécula de SDS para cada resíduo de aminoácido. A parte sulfato do SDS ligado dá uma grande carga final negativa. Isso faz a carga intrínseca da proteína passar a ser insignificante e confere a todas as proteínas uma relação carga-massa semelhante. Além disso, a ligação com SDS desenovela parcialmente as proteínas, de modo que a maior parte das proteínas ligadas ao SDS passa a ter uma forma semelhante a bastonetes. Portanto, a eletroforese na presença de SDS separa proteínas quase exclusivamente com base nas massas (massa molecular), com os peptídeos menores migrando mais rapidamente. Após a eletroforese, as proteínas são visualizadas pela adição de um corante, como o azul de Coomassie, que se liga às proteínas, mas não ao gel em si (Fig. 3-18b). Assim, um pesquisador pode monitorar o progresso de um procedimento de purificação de proteínas verificando em quanto o número de bandas de proteínas visíveis no gel diminui após cada nova etapa de fracionamento. O peso molecular de uma proteína desconhecida pode ser inferido com boa aproximação comparando-se a posição da sua migração com a migração de proteínas cujos pesos moleculares sejam previamente conhecidos (**Fig. 3-19**). Caso a proteína tenha duas ou mais subunidades diferentes, estas são geralmente separadas pelo tratamento com SDS, e uma nova banda aparece para cada uma das subunidades.

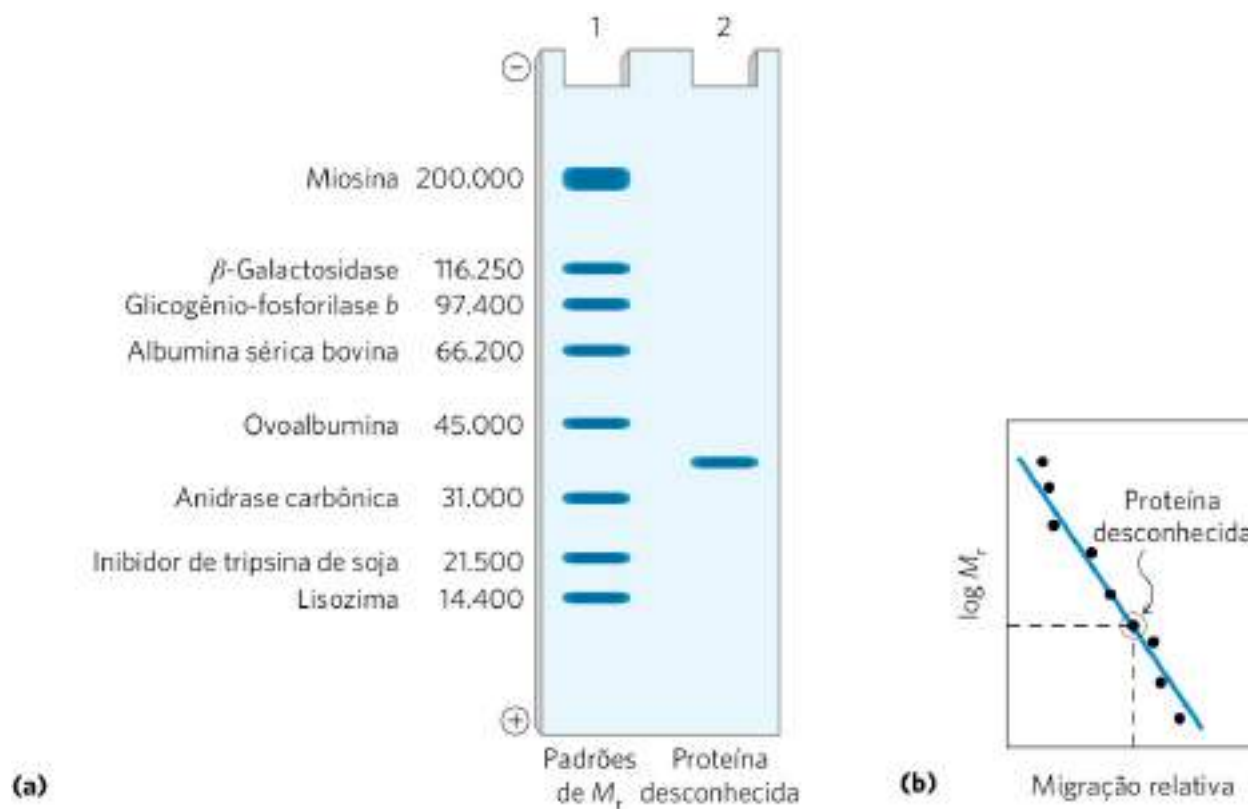


FIGURA 3-19 Estimando a massa molecular de uma proteína. A mobilidade eletroforética de uma proteína em gel de SDS-poliacrilamida está relacionada com a sua massa molecular, M_r . (a) Proteínas-padrão com massas moleculares já conhecidas são submetidas à eletroforese (canaleta 1). Essas proteínas marcadoras podem ser usadas para estimar a massa molecular de uma proteína desconhecida (canaleta 2). (b) Um gráfico $\log M_r$ das proteínas marcadoras *versus* a migração relativa durante a eletroforese é linear, e a massa molecular da proteína desconhecida pode ser inferida a partir desse gráfico. (De maneira semelhante, um conjunto de proteínas-padrão com tempos de retenção reproduzíveis em uma coluna de exclusão por tamanho pode ser usado para criar uma curva padrão de tempo de retenção *versus* $\log M_r$. O tempo de retenção de uma substância desconhecida na coluna pode ser comparado com a curva padrão para obter a M_r aproximada.)

A **focalização isoelétrica** é um procedimento utilizado para determinar o ponto isoelétrico (pI) de uma proteína (**Fig. 3-20**). Prepara-se um gradiente de pH, de modo que uma mistura de ácidos e bases orgânicos de baixo peso molecular (anfólitos) se distribua em um campo elétrico gerado ao longo do gel. Quando se aplica uma mistura de proteínas, cada proteína migra até alcançar o ponto em que o pH correspondente ao pI. Com isso, proteínas com pontos isoelétricos diferentes distribuem-se de modo distinto ao longo do gel.

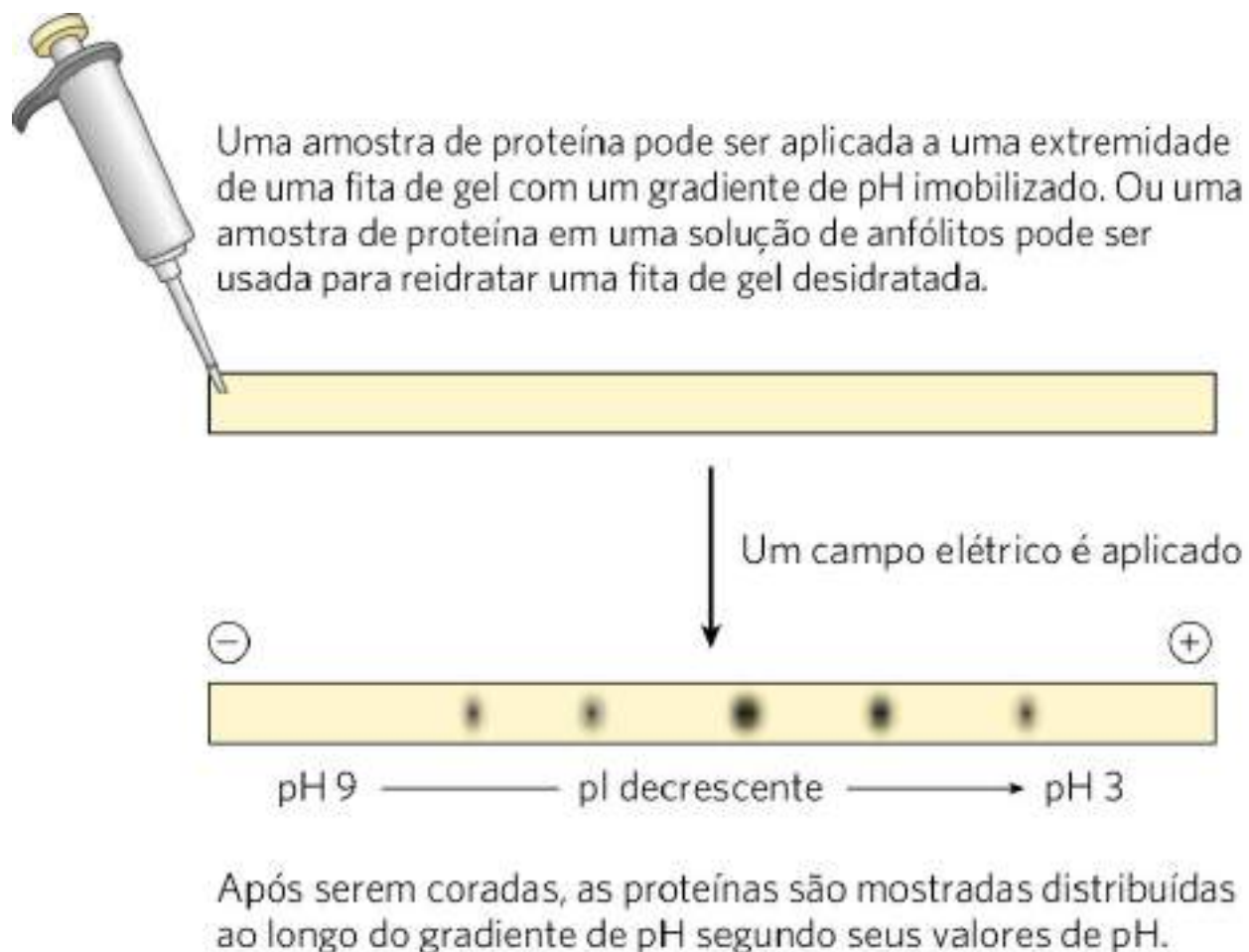


FIGURA 3-20 Focalização isoeétrica. Essa técnica separa as proteínas de acordo com os seus respectivos pontos isoelétricos. Uma mistura de proteínas é colocada em uma fita de gel contendo um gradiente de pH imobilizado. Com a aplicação de um campo elétrico, as proteínas entram no gel e migram até que cada uma atinja a zona com pH equivalente ao seu pI. Lembre-se de que, quando $\text{pH} = \text{pI}$, a carga líquida de uma proteína é zero.

A combinação da focalização isoeétrica com a eletroforese em SDS em sequência é um processo chamado de **eletroforese bidimensional**, que permite a resolução de misturas complexas de proteínas (**Fig. 3-21**). Esse é um método analítico mais sensível do que qualquer método eletroforético isoladamente. A eletroforese bidimensional separa as proteínas de massa molecular idêntica que diferem quanto ao pI, bem como as proteínas com valores de pI semelhantes, mas com massas moleculares diferentes.

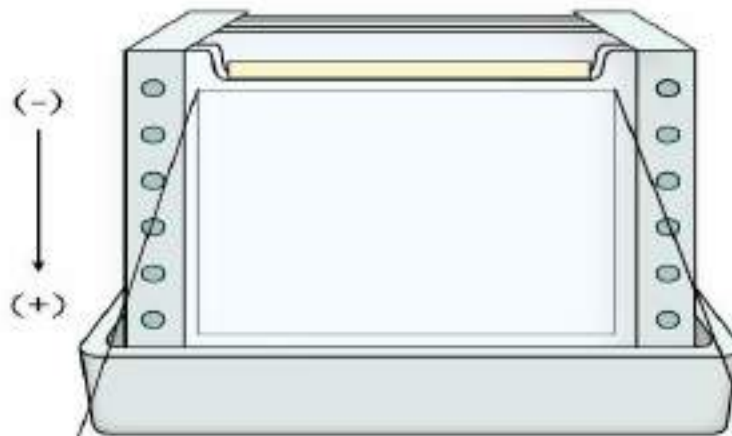
Amostra de proteína



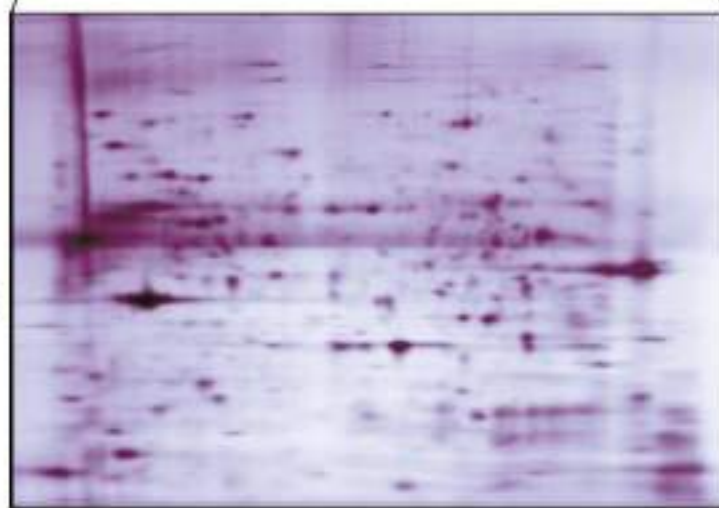
Proteínas separadas em primeira dimensão em fita de gel por focalização isoeletrica

Fita de gel pH 9 → pH 3

Proteínas separadas em segunda dimensão por eletroforese em gel de SDS-poliacrilamida



M_r
decrecente



pI decrescente

FIGURA 3-21 Eletroforese bidimensional. As proteínas são primeiro separadas por focalização isoeletrica em uma fita de gel fina. O gel é colocado, então, horizontalmente em um segundo gel em forma de placa, e as proteínas são separadas por eletroforese em gel de SDS-poliacrilamida. A separação horizontal reflete as diferenças nos valores de pI, e a separação vertical reflete diferenças nas massas moleculares. As proteínas da amostra original ficam, então, espalhadas em duas dimensões. Milhares de proteínas celulares podem ser resolvidas usando essa técnica. Manchas de proteínas individuais podem ser cortadas do gel e identificadas por espectrometria de massas (ver Figs. 3-28 e 3-29). [Wellcome Collection. CC BY.]

As proteínas não separadas são detectadas e quantificadas com base nas suas funções

P3 Para purificar uma proteína, é essencial ter um meio para detectar e quantificar a proteína de interesse na presença de muitas outras proteínas em cada estágio do procedimento. É muito comum querer purificar uma ou outra proteína da classe de proteínas denominadas enzimas (Capítulo 6). Cada enzima catalisa uma reação em particular que converte uma biomolécula (o substrato) em outra (o produto). A quantidade de proteína presente em uma determinada solução ou extrato de tecido pode ser medida, ou ensaiada, em termos do efeito catalítico que a enzima produz, isto é, o *aumento* na velocidade com a qual os substratos são convertidos em produtos da reação quando a enzima está presente. Para isso, o pesquisador deve conhecer: (1) a equação geral da reação catalisada, (2) um procedimento analítico para determinar o desaparecimento de um dos substratos ou o aparecimento de um dos produtos da reação, (3) se a enzima necessita de cofatores, como íons metálicos ou coenzimas, (4) a dependência de atividade enzimática da concentração do substrato, (5) o pH ótimo e (6) uma faixa de temperatura na qual a enzima seja estável e tenha alta atividade. A atividade das enzimas é geralmente ensaiada no seu pH ótimo e a uma temperatura conveniente, na faixa de 25 a 38 °C. Além disso, uma concentração muito alta do substrato é geralmente usada, de modo que a velocidade inicial da reação, medida experimentalmente, seja proporcional à concentração de enzima (Capítulo 6).

Por convenção internacional, a unidade 1,0 de atividade enzimática para a maioria das enzimas é definida como a quantidade de enzima que leva à transformação de 1,0 μmol de substrato em produto por minuto a 25 °C, sob condições ótimas de medição (para algumas enzimas, essa definição não é conveniente, e uma unidade diferente pode ser definida). O termo **atividade** refere-se ao total de unidades da enzima que está presente na solução. A **atividade específica** é o número de unidades de enzimas por miligrama de proteína total (**Fig. 3-22**). A atividade específica é uma medida da pureza da enzima: ela aumenta durante o processo de purificação de uma enzima e torna-se máxima e constante quando a enzima está pura (Tabela 3-5).

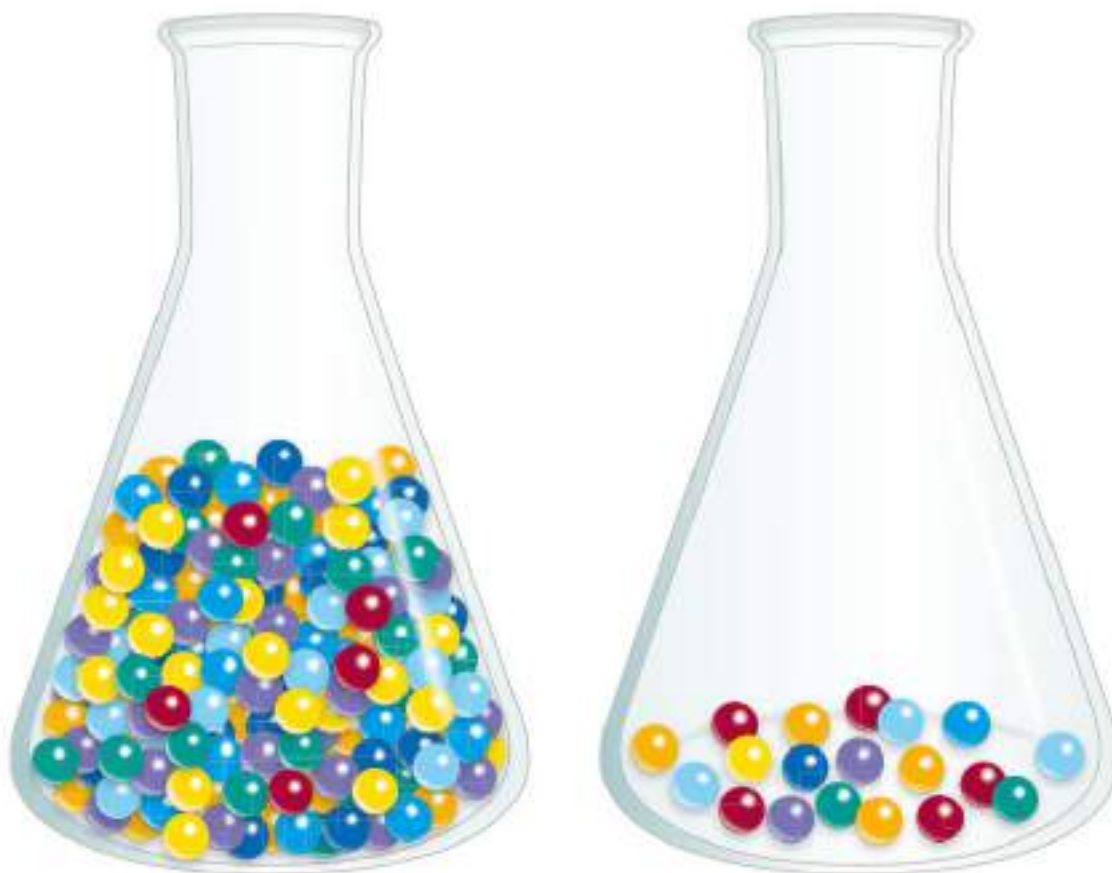


FIGURA 3-22 Atividade versus atividade específica. A diferença entre esses termos pode ser ilustrada considerando-se dois frascos contendo esferas. Os dois frascos contêm o mesmo número de esferas vermelhas, mas números diferentes de esferas de outras cores. Se as esferas representam proteínas, ambos os frascos contêm a mesma *atividade* da proteína representada pelas esferas vermelhas. O segundo frasco, no entanto, apresenta *atividade específica* maior, uma vez que as esferas vermelhas representam uma proporção maior do total de esferas.

Após cada etapa de purificação, a atividade da preparação (em unidades de atividade enzimática) é analisada, a quantidade total de proteína é determinada independentemente e a relação entre as duas fornece a atividade específica. A atividade e a proteína total geralmente diminuem a cada etapa. A atividade diminui porque há sempre alguma perda em consequência da inativação ou de interações não ideais com materiais cromatográficos ou outras moléculas presentes na solução. Já a proteína total diminui porque o objetivo é remover o máximo possível de proteínas inespecíficas e indesejadas. Em uma etapa de purificação bem-sucedida, a perda de proteína inespecífica é muito maior que a perda de atividade; portanto, a atividade específica aumenta mesmo que a atividade total diminua. Os dados são organizados em uma tabela de

purificação semelhante à Tabela 3-5. Em geral, uma proteína é considerada pura quando novas etapas de purificação já não conseguem aumentar a atividade específica e quando apenas uma única espécie de proteína pode ser detectada (p. ex., por eletroforese na presença de SDS).

Para proteínas que não são enzimas, é necessário usar outros métodos de quantificação. Proteínas de transporte podem ser analisadas pela sua ligação à molécula que elas transportam, e hormônios e toxinas, pelo efeito biológico que produzem; por exemplo, hormônios de crescimento estimularão o crescimento de certas células em cultura. Algumas proteínas estruturais representam uma grande proporção da massa de um tecido, de modo que elas podem ser extraídas e purificadas rapidamente sem usar ensaio funcional. Os modos de purificação de proteínas são tão variados quanto as próprias proteínas.

RESUMO 3.3 *Trabalhando com proteínas*

- As proteínas são separadas e purificadas com base nas diferenças entre as suas respectivas propriedades. Elas podem ser seletivamente precipitadas por mudanças no pH ou na temperatura e, sobretudo, pela adição de certos sais. Uma ampla gama de procedimentos cromatográficos faz uso de diferenças no tamanho, nas afinidades de ligação, na carga e em outras propriedades. Isso inclui troca iônica, exclusão por tamanho, afinidade e cromatografia líquida de alto desempenho.
- A eletroforese separa proteínas com base na massa ou na carga para finalidades analíticas. A eletroforese em gel SDS e a focalização isoeletrica podem ser utilizadas separadamente ou em combinação para se obter uma resolução melhor.
- Todos os procedimentos de purificação exigem um método que permita analisar ou quantificar a proteína de interesse na presença de outras proteínas. A purificação pode ser monitorada determinando-se a atividade específica.

3.4 A estrutura das proteínas: estrutura primária

A purificação de uma proteína é geralmente apenas uma etapa preliminar para a dissecção bioquímica detalhada da estrutura e da função. O que torna uma proteína uma enzima; outra, um hormônio; outra, uma proteína estrutural; e, ainda outra, um anticorpo? Como elas diferem quimicamente? As diferenças mais óbvias estão na estrutura, e é a estrutura das proteínas que será discutida a seguir.

Pode-se descrever a estrutura de moléculas grandes, como as proteínas, em vários níveis de complexidade, organizados em um tipo de hierarquia conceitual. Normalmente, define-se quatro níveis de estrutura para as proteínas (**Fig. 3-23**). **P2** A descrição de todas as ligações covalentes (principalmente ligações peptídicas e ligações dissulfeto) ligando os resíduos de aminoácidos em uma cadeia polipeptídica é a **estrutura primária**. O elemento mais importante da estrutura primária é a *sequência* dos resíduos de aminoácidos. A **estrutura secundária** refere-se a arranjos particularmente estáveis de resíduos de aminoácidos, dando origem a padrões estruturais recorrentes. A **estrutura terciária** descreve todos os aspectos do enovelamento tridimensional de um polipeptídeo. Quando uma proteína tem duas ou mais subunidades polipeptídicas, seus arranjos no espaço são chamados de **estrutura quaternária**. Por fim, a discussão sobre as proteínas incluirá máquinas proteicas complexas constituídas por dezenas de milhares de subunidades. A estrutura primária é o foco do restante deste capítulo, e os níveis mais elevados de estrutura serão discutidos no Capítulo 4.

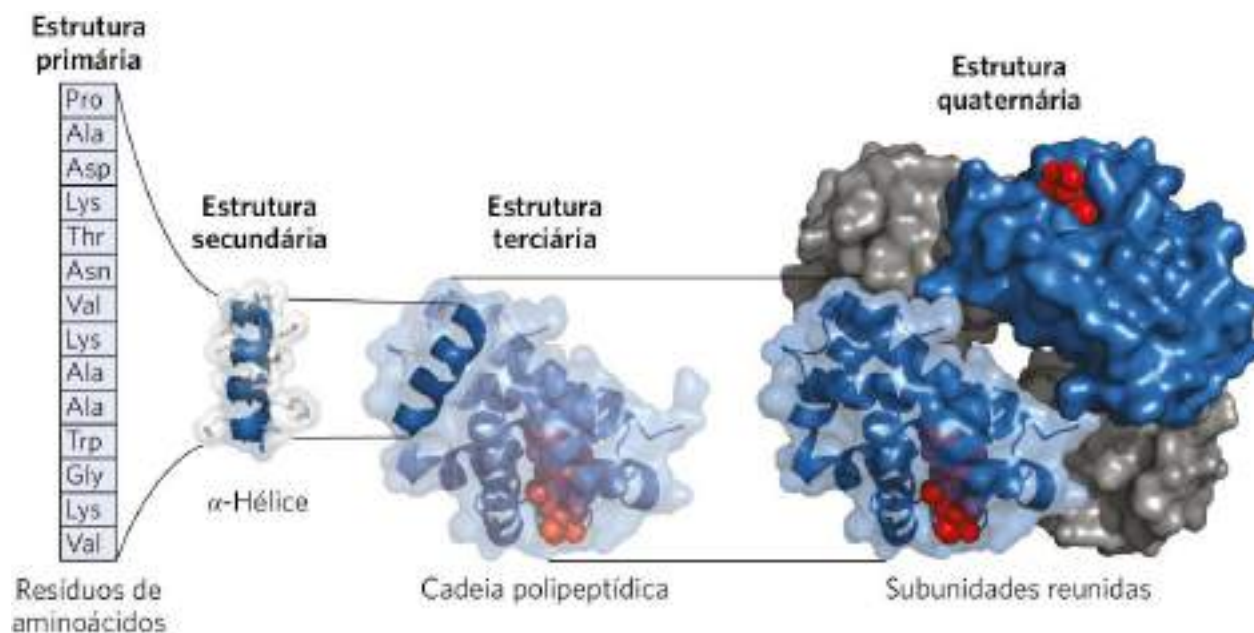


FIGURA 3-23 Níveis de estrutura nas proteínas. A *estrutura primária* consiste em uma sequência de aminoácidos unidos por ligações peptídicas e inclui as ligações dissulfeto. O polipeptídeo resultante pode se organizar em unidades de *estrutura secundária*, como uma α -hélice. A hélice é uma parte da *estrutura terciária* do polipeptídeo enovelado, que, por sua vez é uma das subunidades que compõem a *estrutura quaternária* da proteína com várias subunidades; nesse caso, a hemoglobina. [Dados de PDB ID 1HGA, R. Liddington et al., *J. Mol. Biol.* 228:551, 1992.]

Agora, o foco é a estrutura primária. Primeiro, serão considerados os indícios empíricos de que a sequência de aminoácidos e a função da proteína estão intimamente ligadas; em seguida, será descrito como se determina a sequência de aminoácidos; e, finalmente, serão destacados os vários usos dessas informações.

A função de uma proteína depende da sua sequência de aminoácidos

A bactéria *Escherichia coli* produz mais de 3 mil proteínas diferentes; um ser humano tem cerca de 20 mil genes que codificam mais de 1 milhão de proteínas diferentes (por meio de processos genéticos discutidos na Parte III deste livro). Em ambos os casos, cada tipo de proteína tem uma sequência de aminoácidos única que resulta em uma estrutura tridimensional específica. Essa estrutura, por sua vez, confere uma função específica.

As sequências de aminoácidos são elementos importantes em uma ampla faixa de domínios da informação biológica. Elas são a principal expressão funcional da informação armazenada no DNA sob a forma de genes. As sequências não são aleatórias. Cada proteína tem tanto um número específico de resíduos de aminoácidos como uma sequência específica de resíduos. **P4** Como será visto no Capítulo 4, a estrutura primária de uma proteína determina como ela se enovela em sua estrutura tridimensional própria e única, e isso, por sua vez, determina a função da proteína.

Algumas observações simples ilustram a importância da estrutura primária, ou a sequência de aminoácidos de uma proteína. Em primeiro lugar, como foi observado, as proteínas com funções diferentes sempre têm sequências de aminoácidos distintas. Em segundo lugar, milhares de doenças genéticas humanas foram rastreadas quanto à produção de proteínas defeituosas. O defeito pode variar de uma simples mudança na sequência dos aminoácidos (como na anemia falciforme, descrita no Capítulo 5) até a deleção de uma porção maior da cadeia polipeptídica (como na maioria dos casos da distrofia muscular de Duchenne: uma grande deleção no gene que codifica a proteína distrofina leva à produção de uma proteína encurtada e inativa). Por fim, comparando-se proteínas com funções semelhantes presentes em diferentes espécies, descobriu-se que essas proteínas geralmente têm sequências de aminoácidos similares. Portanto, uma ligação estreita entre a estrutura primária da proteína e a sua função é evidente.

A sequência de aminoácidos de determinada proteína não é absolutamente fixa ou invariável. Quase todas as proteínas humanas são **polimórficas**, ou seja, têm variações nas sequências de aminoácidos dentro das populações humanas. Muitas proteínas humanas são polimórficas

mesmo dentro do mesmo indivíduo, apresentando variações de aminoácidos devido a um processo que será descrito na Parte III deste livro. Algumas dessas variações têm pouco ou nenhum efeito na função da proteína, enquanto que outras podem afetar drasticamente a função. Além disso, proteínas que desempenham funções semelhantes em espécies filogeneticamente distantes podem ser muito diferentes no tamanho geral e na sequência de aminoácidos.

Embora a sequência de aminoácidos em algumas regiões da estrutura primária possa variar consideravelmente sem afetar a função biológica, a maior parte das proteínas contém regiões cruciais que são essenciais para a sua função e, portanto, têm sequências que devem ser conservadas. A parte da sequência que é crucial varia de proteína para proteína, o que complica a tarefa de relacionar a sequência com a estrutura tridimensional e relacionar a estrutura com a função. Antes de considerar esse problema com mais detalhes, é preciso examinar como se obtém informações sobre as sequências.

Em 1953, Frederick Sanger descobriu a sequência de resíduos de aminoácidos nas cadeias polipeptídicas do hormônio insulina (**Fig. 3-24**), surpreendendo muitos pesquisadores que pensavam há muito tempo que a determinação da sequência de aminoácidos de um polipeptídeo seria uma tarefa que, de tão difícil, estava fadada ao fracasso. A elucidação da estrutura do DNA no mesmo ano por Watson e Crick instantaneamente apontou para uma possível relação entre as sequências de DNA e as de proteínas. Quase uma década após essas descobertas, o código genético relacionando a sequência de nucleotídeos do DNA com a sequência de aminoácidos nas moléculas de proteínas foi elucidado (Capítulo 27).

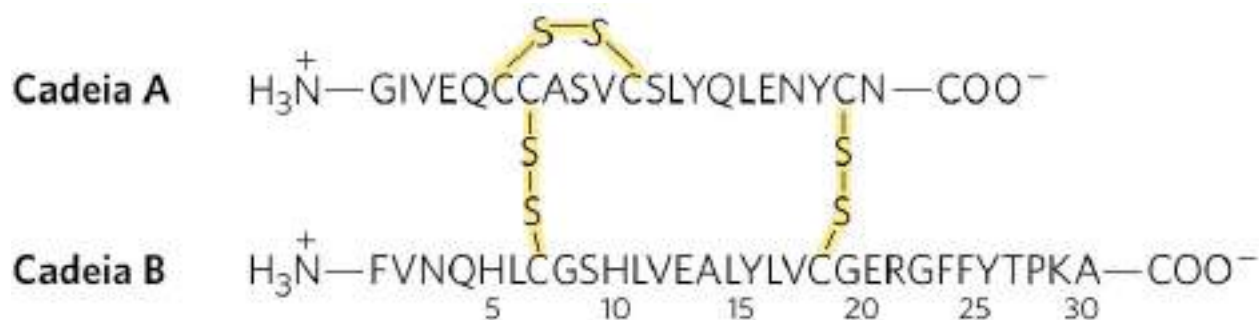
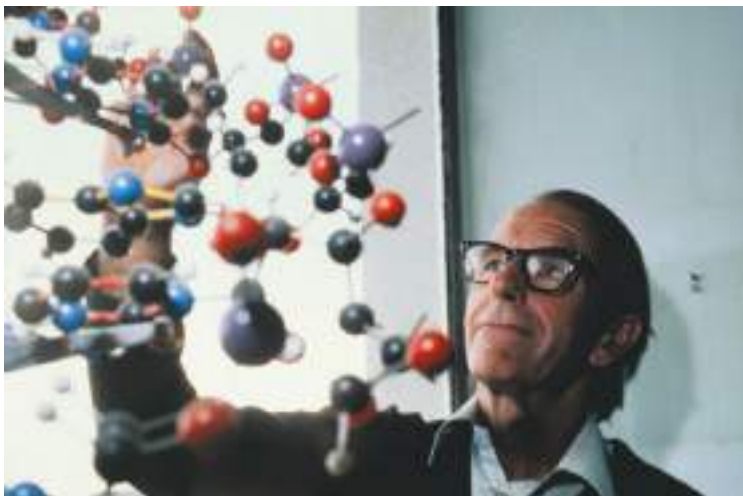


FIGURA 3-24 Sequência de aminoácidos da insulina bovina. As duas cadeias de polipeptídeos estão unidas por ligações cruzadas dissulfeto (em amarelo). A cadeia A da insulina é idêntica no ser humano, no porco, no cão, no coelho e no cachalote. As cadeias B de vaca, porco, cão, bode e cavalo são idênticas.

Atualmente, as sequências de aminoácidos das proteínas são geralmente inferidas indiretamente a partir das sequências de DNA em bancos de dados genômicos. Entretanto, uma série de técnicas derivadas de métodos tradicionais de sequenciamento de polipeptídeos trouxe contribuições importantes para a ampla área da química de proteínas. O método usado por Sanger para sequenciar a insulina tem como base o método clássico de sequenciamento químico

da proteína a partir do aminoterminal: a **degradação de Edman** de duas etapas, desenvolvida por Pehr Edman.

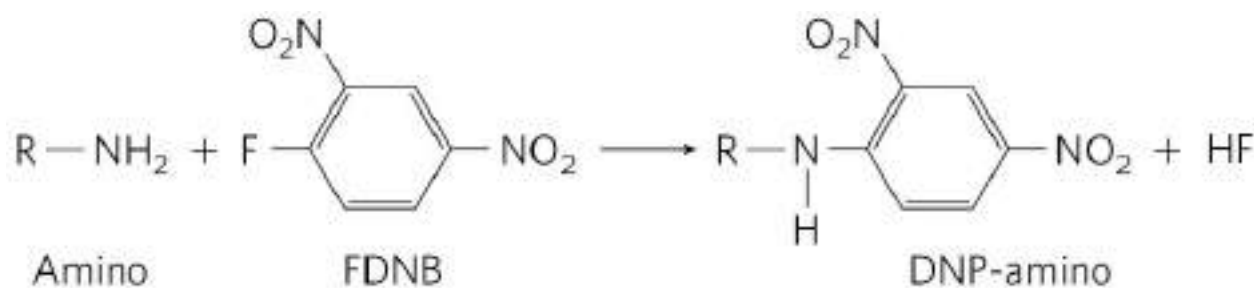


Frederick Sanger, 1918-2013 [Bettmann/Getty Images.]

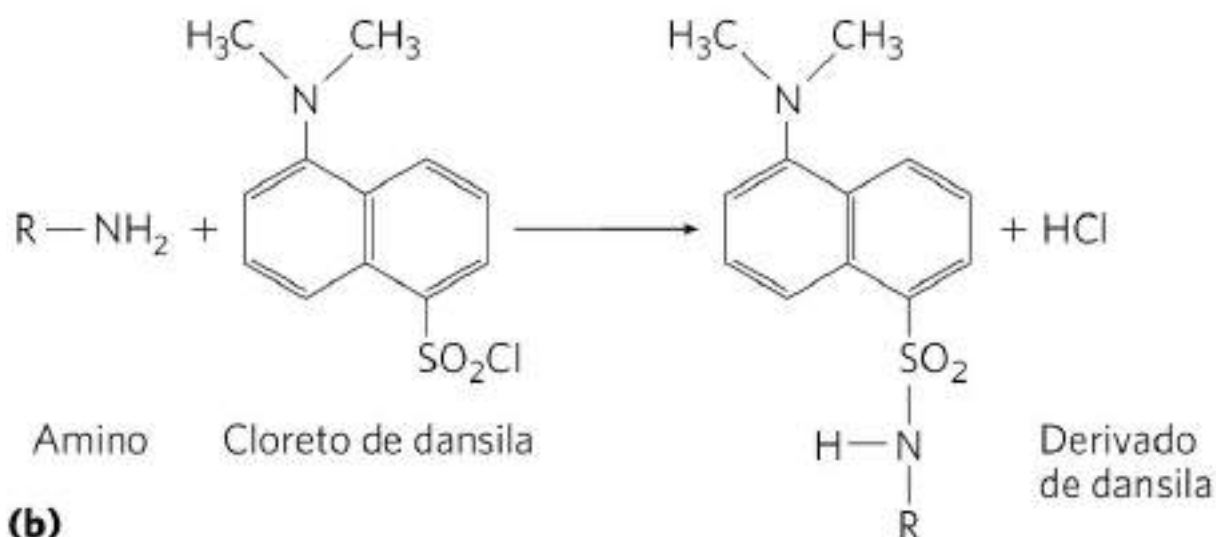
A estrutura das proteínas é estudada com o uso de métodos que exploram a química das proteínas

A sequência de uma proteína pode ser prevista a partir do conhecimento da sequência do gene que a codifica. Essa informação agora está disponível em bancos de dados genômicos. O sequenciamento direto também pode ser feito por espectrometria de massas. Muitos dos métodos que usam protocolos tradicionais de sequenciamento de proteínas continuam valiosos para a marcação de proteínas ou para segmentá-las em partes para análises estruturais e funcionais.

Por exemplo, o grupo α -amino pode ser marcado com 1-flúor-2,4-dinitrobenzeno (FDNB), cloreto de dansila ou cloreto de dabsila (**Fig. 3-25**). Esses reagentes também marcam os grupos ϵ -amino dos resíduos de lisina. Ligações dissulfeto dentro de um mesmo polipeptídeo ou entre subunidades podem ser rompidas irreversivelmente (**Fig. 3-26**).



(a)



(b)



(c)

FIGURA 3-25 Modificações do grupo α -amino do aminoácido aminoterminal. Reação de deslocamento nucleofílico do íon haleto para (a) FDNB e (b) cloreto de dansila. O grupo ϵ -amino da lisina também é marcado. O cloreto de dansila e o (c) cloreto de dabsila, outro reagente usado para marcação, têm propriedades úteis de absorbância e/ou fluorescência em comprimentos de onda de luz visível.

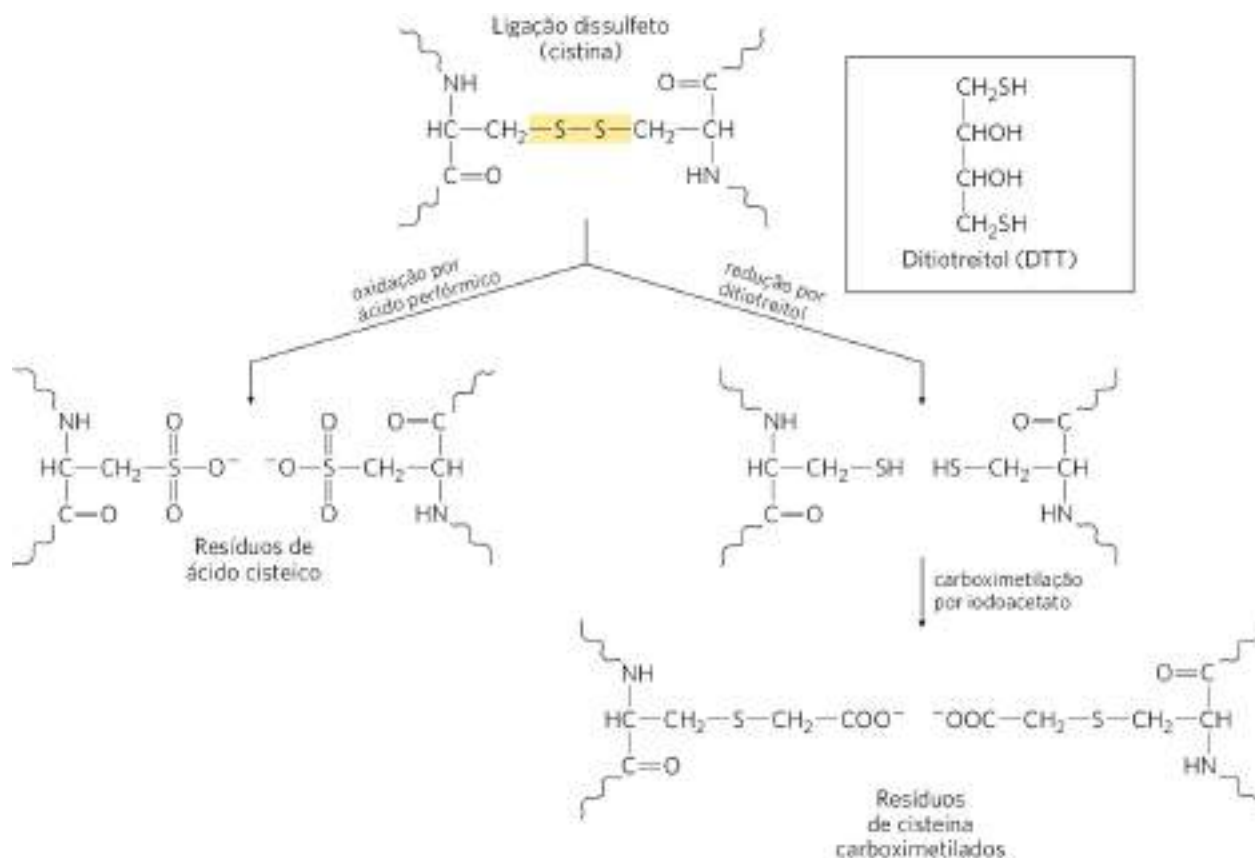


FIGURA 3-26 Quebra das ligações dissulfeto das proteínas. Ilustração de dois métodos comuns. A oxidação de um resíduo de cisteína com ácido perbórico produz dois resíduos do ácido cisteico. A redução por ditioneitol (ou β -mercaptoetanol) para formar resíduos Cys deve ser seguida por modificação adicional dos grupos reativos $-SH$ para impedir que a ligação dissulfeto se forme novamente. A carboximetilação por iodoacetato serve para isso.

Enzimas denominadas **proteases** catalisam a clivagem hidrolítica de ligações peptídicas e são o método mais usado para fragmentar uma proteína em partes. Algumas proteases clivam apenas a ligação peptídica adjacente a determinados resíduos de aminoácidos (**Tabela 3-6**) e, portanto, fragmentam uma cadeia polipeptídica de uma maneira previsível e reproduzível. Alguns reagentes químicos também clivam a ligação peptídica adjacente a resíduos específicos. Entre as proteases, a enzima digestiva tripsina catalisa a hidrólise apenas daquelas ligações peptídicas em que o grupo carbonila é fornecido por um resíduo de Lys ou por um resíduo de Arg, independentemente do comprimento da cadeia ou da sequência de aminoácidos. Um polipeptídeo com três resíduos Lys e/ou Arg normalmente gerará quatro peptídeos menores quando clivados com tripsina. Além disso, todos os peptídeos gerados, exceto um, terão Lys ou Arg como terminal carboxila.

TABELA 3-6

Especificidade de alguns métodos comuns para fragmentação de cadeias polipeptídicas

Reagente (fonte biológica) ^a	Pontos de clivagem ^b
Tripsina (pâncreas bovino)	Lys, Arg (C)
Quimotripsina (pâncreas bovino)	Phe, Trp, Tyr (C)
Protease V8 de <i>Staphylococcus aureus</i> (bactéria <i>S. aureus</i>)	Asp, Glu (C)
Asp-N-protease (bactéria <i>Pseudomonas fragi</i>)	Asp, Glu (N)
Pepsina (estômago porcino)	Leu, Phe, Trp, Tyr (N)
Endopeptidase Lys C (bactéria <i>Lysobacter enzymogenes</i>)	Lys (C)
Brometo de cianogênio	Met (C)
^a Todos os reagentes, com exceção do brometo de cianogênio, são proteases.	
^b Resíduos que fornecem o ponto principal de reconhecimento para a protease ou para o reagente; a quebra da ligação peptídica ocorre ou no lado carbonílico (C) ou no lado amino (N) dos resíduos de aminoácidos indicados.	

A capacidade de modificar proteínas de maneira específica tem muitas aplicações no laboratório. Os métodos utilizados para romper as ligações dissulfeto também podem ser utilizados para desnaturar proteínas, quando necessário. O desenvolvimento de reagentes para marcar o resíduo de aminoácido aminoterminal levaram, por fim, ao desenvolvimento de uma série de reagentes que podem reagir com grupos específicos em muitos locais da proteína. Por exemplo, o grupo sulfidril nos resíduos Cys pode ser modificado com iodoacetamidas, maleimidas, haletos de benzila e bromometil-cetonas (**Fig. 3-27**). Outros resíduos de aminoácidos podem ser modificados por reagentes ligados a corantes ou a outras moléculas, auxiliando a detecção da proteína ou estudos funcionais. A clivagem de proteínas em partes menores com o uso de proteases tem inúmeras aplicações, que serão exploradas nos próximos capítulos deste livro.

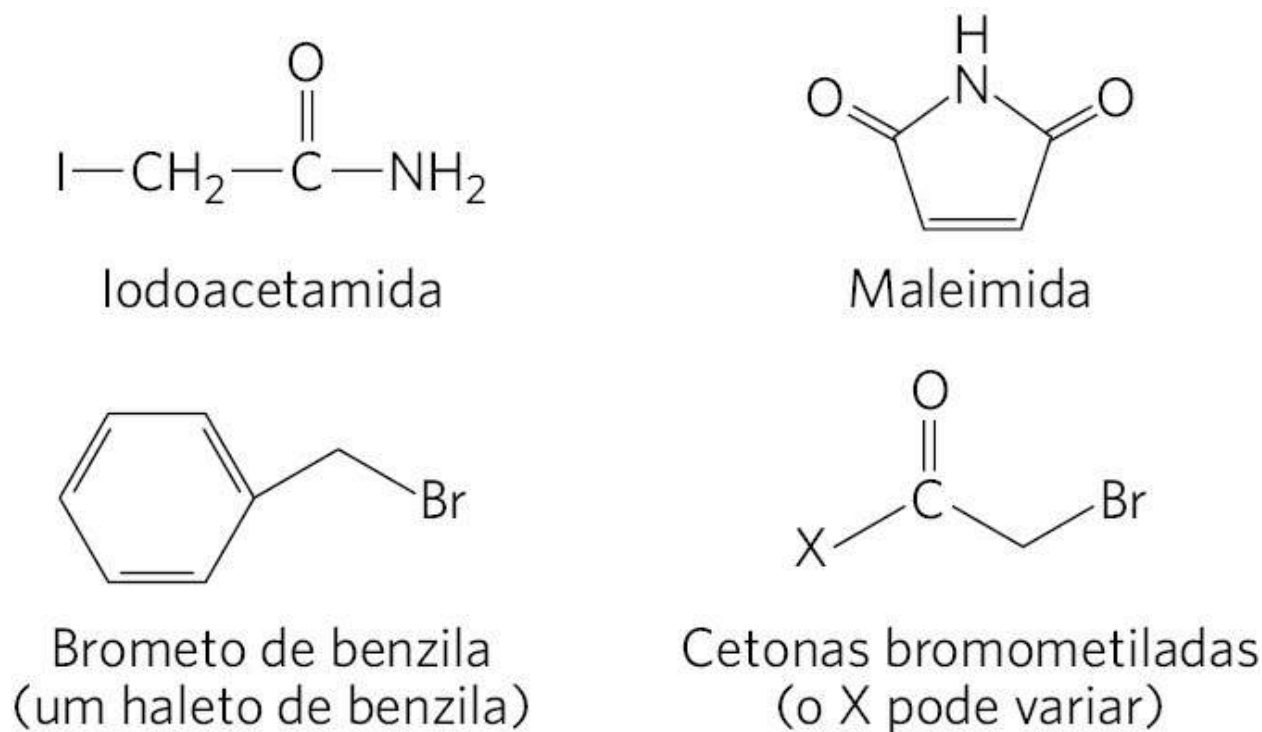


FIGURA 3-27 Reagentes usados para modificar os grupos sulfidríla dos resíduos Cys. (Ver também Fig. 3-26.)

A espectrometria de massas fornece informações sobre massa molecular, sequência de aminoácidos e proteomas inteiros

A **espectrometria de massas** pode determinar a massa molecular de uma proteína com extrema precisão, distinguindo facilmente diferenças de apenas um próton. Contudo, essa tecnologia pode fazer ainda mais. As sequências de muitos segmentos polipeptídicos curtos (20 a 30 resíduos de aminoácidos cada um) de uma amostra de proteína podem ser obtidas em segundos. Proteínas purificadas ainda desconhecidas podem ser identificadas, e as suas massas, determinadas com toda a precisão. A espectrometria de massas, quando acoplada a protocolos poderosos de separação, pode documentar um **proteoma** celular completo em apenas uma hora. Proteoma é definido como o conjunto completo de proteínas de uma célula, incluindo estimativas das abundâncias relativas.

A espectrometria de massas tem sido uma ferramenta indispensável para a química por mais de um século. As moléculas a serem analisadas, chamadas de **analitos**, são inicialmente ionizadas a vácuo. Quando as moléculas, agora carregadas, são introduzidas em um campo elétrico e/ou magnético, os percursos que seguem através do campo são uma função da razão entre a massa e a carga, m/z . A determinação dessa característica das espécies ionizadas permite deduzir a massa (m) do analito com muita precisão.

Por um longo tempo, essas determinações m/z ficaram limitadas a moléculas relativamente pequenas, uma vez que as medições devem ser feitas em fase gasosa. Em 1988, foram introduzidas duas técnicas que permitem a transferência de macromoléculas para uma fase gasosa com decomposição limitada. Esses avanços revolucionaram o sequenciamento de proteínas. Em uma das técnicas, as proteínas são colocadas em uma matriz que absorve luz. Ao receberem um pulso curto de luz *laser* em um sistema sob vácuo, as proteínas são ionizadas e, em seguida, desorvidas da matriz. Esse processo, conhecido como **espectrometria de massas por dessorção/ionização a laser assistida por matriz**, ou **MALDI MS**, tem sido utilizado com sucesso para medir a massa de uma ampla variedade de macromoléculas. No segundo método, as macromoléculas em solução são forçadas diretamente da fase líquida para a gasosa. Uma solução de analitos é passada por meio de uma agulha carregada que é mantida sob um alto potencial elétrico, dispersando a solução em uma névoa fina de microgotas carregadas. Os solventes que circundam as macromoléculas evaporam rapidamente, deixando íons de macromoléculas multicarregadas na fase gasosa. Essa técnica é chamada de **espectrometria de massas por ionização por eletroaspersão**, ou **ESI MS**. Os prótons adicionados durante a passagem pela agulha fornecem carga adicional à macromolécula. A m/z da molécula pode ser analisada na câmara de vácuo. No método de análise denominado **tempo de voo (TOF)**, do inglês *time-of-flight*, os íons são acelerados em um campo elétrico e essa aceleração depende da m/z . Um método mais novo e mais eficiente é o **Orbitrap**, em que os íons são retidos em uma órbita entre um eletrodo externo na forma de barra e um eletrodo interno em agulha. A trajetória dos elétrons, que depende de suas massas e cargas, é detectada e convertida em m/z por meio de uma transformada de Fourier.

O processo para determinar a massa molecular de uma proteína com ESI MS está ilustrado na **Figura 3-28**. À medida que é injetada na fase gasosa, a proteína adquire do solvente um número variável de prótons e, portanto, de cargas positivas. A adição variável dessas cargas cria um espectro de espécies com diferentes relações massa/carga. Cada pico sucessivo corresponde a um espécime que difere do seu pico vizinho por uma diferença de carga de 1 e uma diferença de massa de 1 (um próton). A massa da proteína pode ser determinada a partir de dois picos consecutivos.

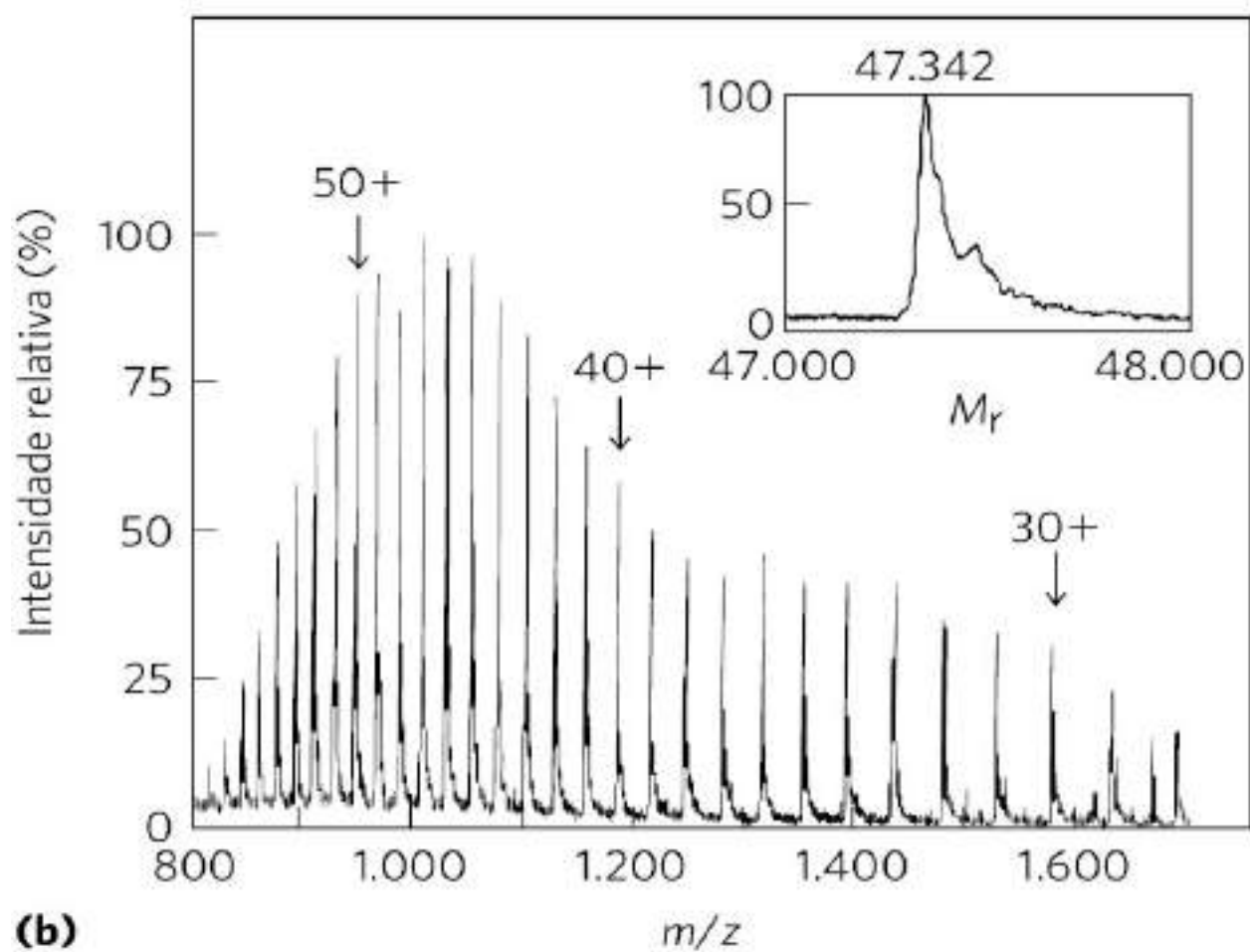
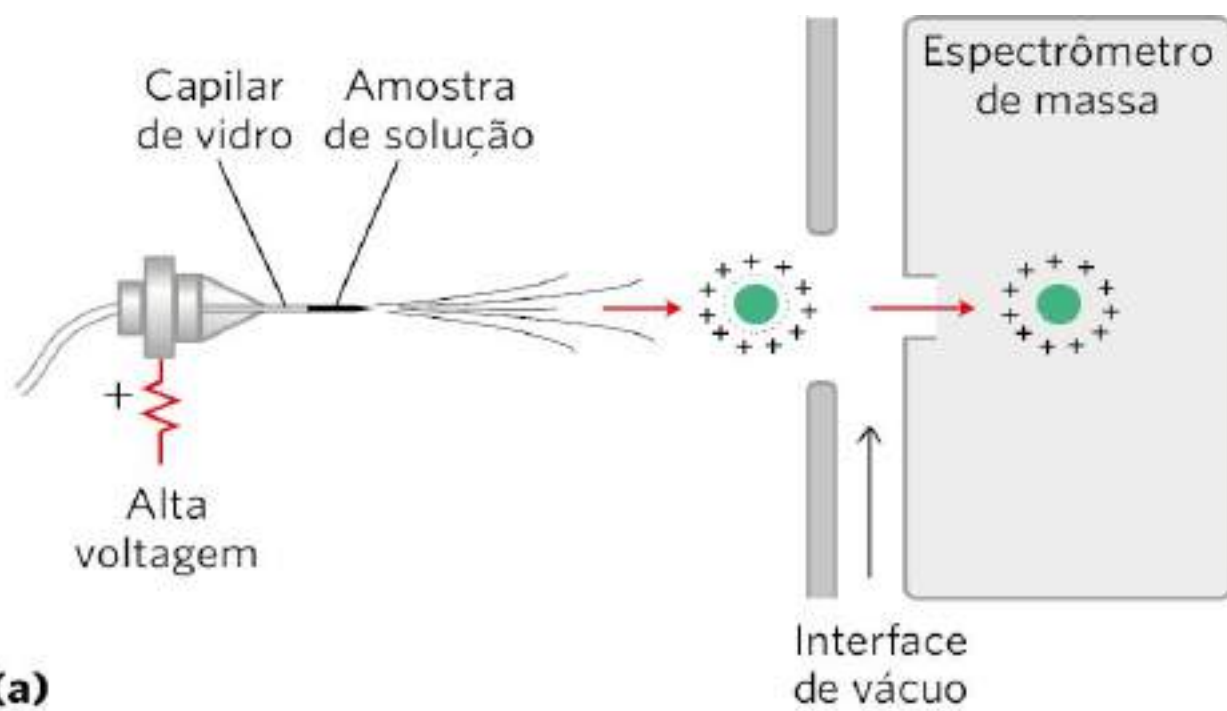


FIGURA 3-28 Espectrometria de massas com ionização por eletroaspersão de uma proteína. (a) Uma solução de proteína é dispersa em gotículas altamente carregadas pela passagem por uma agulha sob a influência de um campo elétrico de alta voltagem. As gotículas evaporam, e os íons (com prótons adicionados, nesse caso) entram no espectrômetro para medição da relação m/z . (b) O espectro gerado é uma família de picos, com cada pico sucessivo (da direita para a esquerda) correspondendo a uma espécie carregada com massa e carga aumentadas em 1. A inserção mostra uma transformação desse espectro gerada por computador. [Informações de M. Mann e M. Wilm, *Trends Biochem. Sci.* 20:219, 1995.]

A informação da sequência é extraída utilizando-se uma técnica chamada de **MS em tandem**, ou **MS/MS**. Uma solução contendo a proteína investigada, ou as muitas proteínas investigadas, é inicialmente tratada com uma protease (geralmente a tripsina, devido à sua alta especificidade) para hidrolisá-la a uma mistura de peptídeos menores. A mistura, em seguida, é injetada em um equipamento que é essencialmente formado por dois espectrômetros de massas colocados em *tandem* (**Fig. 3-29a**, parte superior). No primeiro, a mistura de peptídeos é disposta pelo equipamento de modo que apenas um dos vários tipos de peptídeos produzidos pela clivagem surge na outra extremidade. A amostra do peptídeo selecionado, na qual cada molécula tem uma carga em algum ponto ao longo de seu comprimento, desloca-se, então, através de uma câmara de vácuo entre os dois espectrômetros de massas. Nesse compartimento de colisão, o peptídeo sofre fragmentação pelo impacto de alta energia com um “gás de colisão”, como o hélio ou o argônio, que é colocado na câmara de vácuo. Cada peptídeo individual é quebrado em apenas um local, em média. Embora as quebras não sejam hidrolíticas, a maior parte ocorre nas ligações peptídicas.