



IQB-702 – ESTRUTURA E CONFORMAÇÃO DE PROTEÍNAS

Professor

Gilberto Barbosa Domont (IQ-UFRJ) – gilberto@iq.ufrj.br

Carga horária: 30 horas

Disciplina teórica

Créditos: 2

Vagas: 20

Objetivo

A disciplina tem por objetivo principal transmitir aos alunos a compreensão crítica dos aspectos químicos, físico-químicos e conformacionais das proteínas.

Ementa

Os principais tópicos do curso são: (i) Introdução; (ii) Ácidos aminados; (iii) Dosagem de proteínas; (iv) Hidrólise de proteínas; (v) Fracionamento e dosagem de ácidos aminados; (vi) Estrutura primária de proteínas; (vii) Introdução ao estudo da conformação de proteínas; (viii) Fracionamento de peptídeos e proteínas; (ix) Desnaturação de proteínas; (x) Introdução à Proteômica. Temas opcionais adicionais de aulas: Filosofia da Ciência, A Universidade Brasileira, O Projeto do Proteoma Humano.

Programa Analítico

1. Introdução
 - 1.1. Exigências da atividade intelectual
 - 1.2. Leitura de um trabalho científico
2. Ácidos aminados
 - 2.1. Estrutura e configuração
 - 2.2. Propriedades físico-químicas
 - 2.2.1. Equilíbrio químico
 - 2.2.2. Equação de Henderson e Hasselbach
 - 2.2.3. Curvas de titulação: pK, pI
 - 2.2.4. Forma dipolar
 - 2.3. Propriedades químicas dos aminoácidos
 - 2.3.1. Grupo alfa-amino
 - 2.3.2. Grupo carboxila
 - 2.3.3. Cadeias laterais
3. Dosagem de proteínas
 - 3.1. Técnicas colorimétricas
 - 3.2. Técnicas espectrofotométricas

Av. Athos da Silveira Ramos, 149 – Prédio do Centro de Tecnologia, Bloco A, 7º Andar - Cidade Universitária

Rio de Janeiro – RJ – CEP 21941-909

Tel: (21) 3938-7260 e-mail spg@iq.ufrj.br

www.iq.ufrj.br/posgrad

Secretaria de Pós-graduação



- 3.3. Análise em ácidos aminados
- 4. Hidrólise de proteínas
 - 4.1. Hidrólise e grau de complexidade do meio: parcial e total
 - 4.2. Classificação da hidrólise
 - 4.3. Vantagens e desvantagens das diferentes hidrólises
- 5. Fracionamento e dosagem de ácidos aminados
 - 5.1. Derivatização pré-coluna
 - 5.2. Derivatização pós-coluna: ninhidrina (Stein e Moore)
- 6. Estrutura primária de proteínas.
 - 6.1. Determinação das características gerais das proteínas: MM, grau de pureza, ponto isoelétrico, subunidades
 - 6.2. Convenções
 - 6.3. Clivagem enzimática
 - 6.4. Clivagem química
 - 6.5. Clivagem em gel
 - 6.6. Fracionamento de peptídeos
 - 6.7. Determinação de sequências: métodos químicos
 - 6.8. Estrutura covalente: pontes de enxofre
- 7. Introdução ao estudo da conformação de proteínas
 - 7.1. Estruturas secundárias
 - 7.1.1. Unidade peptídica.
 - 7.1.2. Propriedades da ligação peptídica
 - 7.1.3. Topologia da ligação peptídica. Valor numérico dos ângulos
 - 7.1.4. Estruturas helicoidais. Estabilização
 - 7.1.5. Estruturas estendidas: beta paralela e anti-paralela
 - 7.1.6. Desvios
 - 7.1.7. Estruturas “randômicas”
 - 7.2. Estruturas supersecundárias. Motivos.
 - 7.3. Estrutura terciária
 - 7.3.1. Forças de estabilização
 - 7.3.2. Domínios estruturais
 - 7.3.3. Classificação quanto a conformação
 - 7.4. Estrutura quaternária
 - 7.4.1. Subunidades. Oligômeros.
 - 7.4.2. Forças de estabilização
 - 7.5. Proteínas cíclicas – *Cyclotides*
 - 7.6. Proteínas enlaçadas – *Knotted proteins*
- 8. Desnaturação de proteínas
 - 8.1. Conceito: desnaturação, renaturação
 - 8.2. Tipos de desnaturação: pH, calor, metais pesados, agentes caotrópicos
- 9. Fracionamento de peptídeos e proteínas
 - 9.1 Eletroforese em gel de poliacrilamida



- 9.1.1. Introdução à eletroforese: migração, parâmetros, equação fundamental
- 9.1.2. SDS-PAGE e focalização isoeletrica
- 9.1.3. Sistemas bidimensionais: IPG e SDS-Dalt
- 9.1.4. Revelação de proteínas.
- 9.1.5. Digestão de proteínas e extração de peptídeos “in situ”.
- 9.1.6. *Western blotting*
- 9.2. Cromatografia
 - 9.2.1. Tipos
 - 9.2.2. Partição: teoria, prato teórico
 - 9.2.2.1. Desenvolvimento de um cromatograma
 - 9.2.2.2. Tempo e volume de retenção
 - 9.2.2.3. Resolução
 - 9.2.2.4. *Peak capacity*
 - 9.2.3. Exclusão por tamanho: conceitos, mecanismo, parâmetros
 - 9.2.4. Troca iônica
- 10. Introdução à Proteômica
 - 10.1. Proteoma
 - 10.2. Proteômica
 - 10.3. Análise proteômica
 - 10.4. Ciência dirigida por hipótese versus ciência dirigida pela descoberta
 - 10.5. Introdução à espectrometria de massa
 - 10.5.1. Revisão de conceitos
 - 10.5.2. Princípios da espectrometria de massa
 - 10.5.3. Métodos de ionização (ESI e MALDI)
 - 10.5.4. Analisadores de massa
 - 10.5.5. Proteômica *bottom up* e *top-down*
 - 10.5.6. Modos de operação
 - 10.5.7. Fragmentação em baixa energia
 - 10.5.8. Espectro de massa
 - 10.5.9. Espectrometria de massa nativa e desnaturada
 - 10.5.10. Aplicações

Literatura recomendada

- Biochemistry, Donald Voet e Judith G Voet. John Wiley & Son
- Structure in Protein Chemistry, 2nd edition, Jack Kyte, Garland
- Principles of Proteomics, Richard Twyman, 2nd edition, Garland Science
- Protein Analysis by Shotgun/Bottom-up Proteomics, Yaoyang Zhang et al., [dx.doi.org/10.1021/cr3003533](https://doi.org/10.1021/cr3003533), Chem. Rev. 2013, 113, 2343–2394 (Review)
- High-Resolution Native Mass Spectrometry, Sem Tamara et al., <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00212>, Chem. Rev. 2021 (epub) (Review)