

# *As Estruturas da Vida*



US DEPARTMENT OF  
HEALTH AND HUMAN SERVICES  
National Institutes of Health  
National Institutes of General Medical Sciences



[www.casadasciencias.org](http://www.casadasciencias.org)  
Setembro de 2013



*Traduzido e adaptado para a Casa das Ciências em setembro de 2013.*

*Tradução conjunta de Diana Barbosa e da equipa coordenada por José Pissarra (Maria Susana Jorge Pereira, Luís Gustavo de Carvalho Pereira, Maria Fernanda Fidalgo Ferro de Beça, Armando Jorge Gomes Teixeira, Armando Jorge Gomes Teixeira e Fernando Manuel dos Santos Tavares).*

*Revisão científica de Maria João Guimarães Fonseca.*



# *As Estruturas da Vida*

*U.S. DEPARTMENT OF  
HEALTH AND HUMAN SERVICES  
National Institutes of Health  
National Institute of General Medical Sciences*

Publicação dos *NIH* No. 07-2778  
Reimpresso em julho de 2007  
<http://www.nigms.nih.gov>



# Conteúdo

<b>PREFÁCIO: PORQUÊ ESTRUTURA?</b>	<b>iv</b>
<b>CAPÍTULO 1: AS PROTEÍNAS SÃO AS MOLÉCULAS TRABALHADORAS DO CORPO</b>	<b>2</b>
As proteínas são feitas de pequenas unidades estruturais	3
<i>Proteínas de Todos os Tamanhos e Feitios</i>	4
<i>A Computação Gráfica no Avanço da Investigação</i>	4
<i>Pequenos Erros nas Proteínas Podem Causar Doenças</i>	6
Partes de Algumas Proteínas Enrolam-se numa Hélice	7
<i>Montanhismo e Modelação Computacional</i>	8
O Problema do Enrolamento das Proteínas	8
<i>Proteínas Provocadoras</i>	9
Genómica Estrutural: Do Gene à Estrutura e Talvez à Função	10
<i>O Código Genético</i>	12
<b>CAPÍTULO 2: CRISTALOGRAFIA DE RAIOS-X: UNIÃO DA ARTE COM A CIÊNCIA</b>	<b>14</b>
<i>Viagens Virais</i>	15
Cozinha de Cristais	16
<i>Cristais à Chamada</i>	17
<i>Perfil de um Estudante: A Ciência Trouxe Um Estudante da Costa da Venezuela ao Coração do Texas</i>	18
Porquê Raios-X?	20
Radiação Sincrotrónica — Uma das Luzes Mais Brilhantes da Terra	21
<i>Espreitar as Fábricas de Proteínas</i>	23
Cientistas Sintonizados no Sincrotrão	24

<b>CAPÍTULO 3: O MUNDO DA RMN:</b>	
<b>ÍMANES, ONDAS RÁDIO E TRABALHO DE DETETIVE</b>	<b>26</b>
<i>Um Afundação por Enzimas</i>	27
<i>Espetroscopistas RMN Usam Proteínas Feitas à Medida</i>	28
<i>A Magia da RMN Está nos Ímanes</i>	29
As Múltiplas Dimensões da RMN	30
<i>A RMN Sintoniza as Ondas Rádio</i>	31
Os Espetroscopistas e o Puzzle das Estruturas	32
O Mundo Agitado das Proteínas	32
<i>A Desemaranhar o Enrolamento Proteico</i>	33
<i>Perfil de um Estudante: O Puzzle Mais Doce</i>	34
<b>CAPÍTULO 4: DESIGN DE MEDICAMENTOS BASEADO NA ESTRUTURA:</b>	
<b>DO COMPUTADOR AO HOSPITAL</b>	<b>36</b>
<i>A Vida de um Vírus do SIDA</i>	36
Revelando o Alvo	38
<i>Design de Medicamentos Baseado na Estrutura: Bloquear a Fechadura</i>	42
Uma Esperança para o Futuro	44
<i>Como Surge a Resistência do VIH</i>	44
<i>Cercando a Resistência</i>	45
<i>Perfil de um Estudante: O Fascínio pela Infecção</i>	46
Controlar a Dor da Artrite	48
<b>CAPÍTULO 5: PARA ALÉM DO DESIGN DE MEDICAMENTOS</b>	<b>52</b>
Contração Muscular	52
Transcrição e Tradução	53
Fotossíntese	54
Transdução de Sinal	54
<b>GLOSSÁRIO</b>	<b>56</b>

## Porquê Estrutura?

Imagina que és um cientista que investiga os segredos dos sistemas vivos, não com um bisturi ou microscópio, mas de um modo mais profundo – ao nível das moléculas, as unidades estruturais da vida. Vais dirigir a tua atenção à estrutura detalhada e tridimensional das moléculas biológicas. Vais criar modelos intrincados dessas moléculas, recorrendo a sofisticada computação gráfica. Poderás ser a primeira pessoa a observar a forma de uma molécula envolvida em estados de saúde ou de doença. Serás então parte do crescente mundo da Biologia Estrutural.

As proteínas são as moléculas cujas formas mais atormentam os biólogos, uma vez que estas são as moléculas que fazem a maior parte do trabalho no corpo.

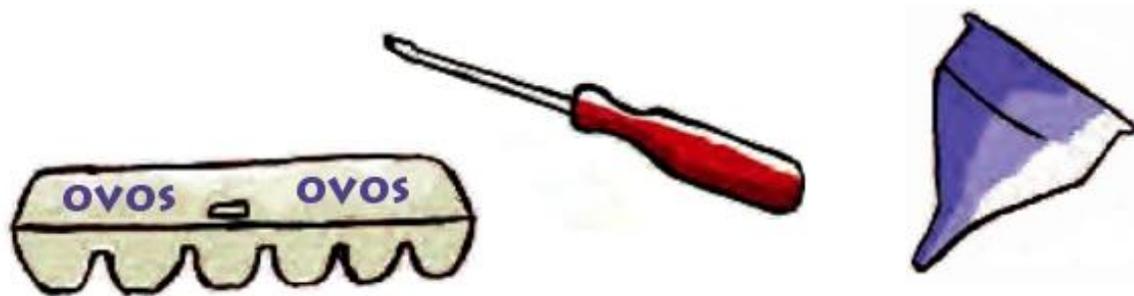
Tal como muitos objetos do nosso dia-a-dia, as proteínas têm a forma ideal para conseguirem fazer o seu trabalho. A forma ou estrutura de uma proteína dá pistas

sobre o seu papel no corpo. Pode também ser a chave para o desenvolvimento de novos medicamentos, materiais ou métodos de diagnóstico.

No Capítulo 1, vais aprender mais sobre estas “estruturas da vida” e o seu papel na estrutura e função de todos os seres vivos. Nos Capítulos 2 e 3, vais aprender sobre as ferramentas – cristalografia de raios-X e espectroscopia de ressonância magnéti-

*Para além nos darem a conhecer mais sobre o nosso corpo, estas “estruturas da vida” podem conter a chave para o desenvolvimento de novos medicamentos, materiais e métodos de diagnóstico.*

ca nuclear – que os biólogos estruturais usam para estudar as formas detalhadas das proteínas e outras moléculas biológicas.



▲ As proteínas, tal como muitos objetos do nosso dia-a-dia, têm a forma adequada para desempenhar a sua função. O longo braço de uma chave de fendas permite apertar parafusos em orifícios ou forçar a abertura de uma tampa. As depressões numa embalagem para ovos foram desenhadas para transportar os ovos sem que se partam. O grande bordo do

funil e o seu estreito tubo permitem a transferência de líquidos para recipientes com pequenas aberturas. A forma de uma proteína – embora muito mais complicada que a forma de um objeto comum – dá-nos pistas acerca do seu papel no nosso corpo.

No Capítulo 4, explica-se como é que a forma das proteínas pode ajudar no design de novos medicamentos – neste caso, medicamentos para tratar SIDA e a artrite. Finalmente, no Capítulo 5, serão fornecidos mais exemplos de como a Biologia Estrutural nos permite aprender mais acerca de todos os processos vitais, incluindo os do ser humano.

Muita da investigação descrita nesta publicação foi financiada pelo Governo dos Estados Unidos da América, especificamente aqueles projetos que receberam financiamento do *National Institute of General Medical Sciences* (NIGMS). O NIGMS é uma das principais entidades a financiar estudos de Biologia Estrutural, a nível mundial.

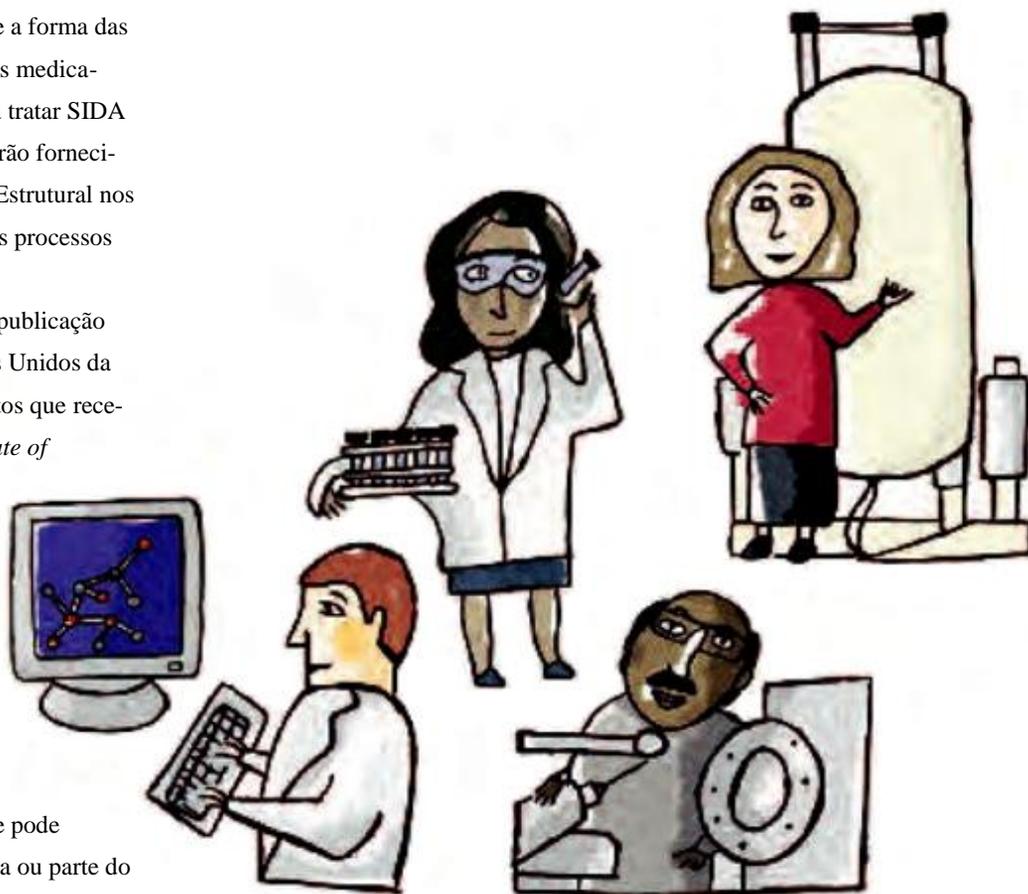
O NIGMS é também um instituto único entre os que compõem os *National Institutes of Health* (NIH), já que o seu objetivo principal é apoiar a investigação básica em biomedicina, que pode parecer não estar associada a uma doença ou parte do corpo específicas. No entanto, estes estudos aumentam a nossa compreensão sobre os processos vitais fundamentais – o que se passa ao nível celular e molecular – e as doenças que resultam do mau funcionamento desses mesmos processos.

Os avanços ao nível da investigação básica levam por vezes a importantes aplicações práticas, incluindo novas ferramentas e técnicas de pesquisa e novas aproximações ao diagnóstico, tratamento e prevenção de doenças.

Alisa Zapp Machalek

Comunicadora de Ciência e Editora, NIGMS

Julho de 2007



▲ A Biologia Estrutural requer a cooperação de muitos cientistas de diferentes áreas, incluindo bioquímicos, biólogos moleculares, cristalógrafos de raios-X e espetroscopistas de RMN. Embora estes investigadores usem diferentes

técnicas e se foquem em diferentes moléculas, estão unidos pelo desejo de perceber melhor a Biologia através do estudo da estrutura detalhada das moléculas biológicas.

## As Proteínas São as Moléculas Trabalhadoras do Corpo

Provavelmente já ouviste dizer que as proteínas são nutrientes importantes que ajudam a construir os nossos músculos. Mas elas são muito mais do que isso. As proteínas são moléculas trabalhadoras que são necessárias para praticamente todas as atividades do nosso corpo. Circulam no sangue, penetram nos tecidos

e crescem em longos fios a partir da nossa cabeça. As proteínas são também os componentes chave dos materiais biológicos, desde a seda até às hastes dos veados.

*As proteínas são moléculas trabalhadoras necessárias para praticamente todas as atividades do nosso corpo.*



▲ As proteínas desempenham várias funções diferentes no nosso corpo. Pelo estudo das estruturas proteicas, percebemos melhor como é que elas normalmente funcionam e como é que algumas proteínas com formas anormais podem causar doenças.

### As proteínas são feitas de pequenas unidades estruturais

As proteínas assemelham-se a longos “colares” com contas de diferentes formas. Cada “conta” é uma pequena molécula designada por aminoácido. Existem 20 aminoácidos padrão, cada um com a sua forma, tamanho e propriedades específicas.

Tipicamente, as proteínas contêm 50 a 2000 aminoácidos ligados pelas extremidades em muitas combinações. Cada proteína tem a sua própria sequência de aminoácidos.

Estas cadeias de aminoácidos não se mantêm lineares e ordenadas. Elas enrolam e deformam-se, dobrando-se sobre si mesmas (*fold*ing), ficando as saliências de uns aminoácidos encaixadas nos entalhes de outros.

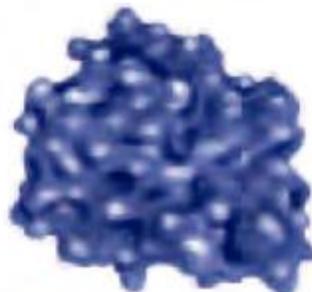
Este processo completa-se imediatamente após o fabrico das proteínas. A maioria das proteínas dobra-se em menos de um segundo, embora as maiores e mais complexas possam demorar vários segundos. A maioria das proteínas necessita da ajuda de outras proteínas, designadas por chaperoninas, para se dobrarem de forma eficiente.



▲ As proteínas são sequências de aminoácidos ligados pelas extremidades, tal como contas de um colar.



◀ Para se tornarem ativas, as proteínas devem-se enrolar e dobrar até chegar à sua conformação final ou “nativa”.



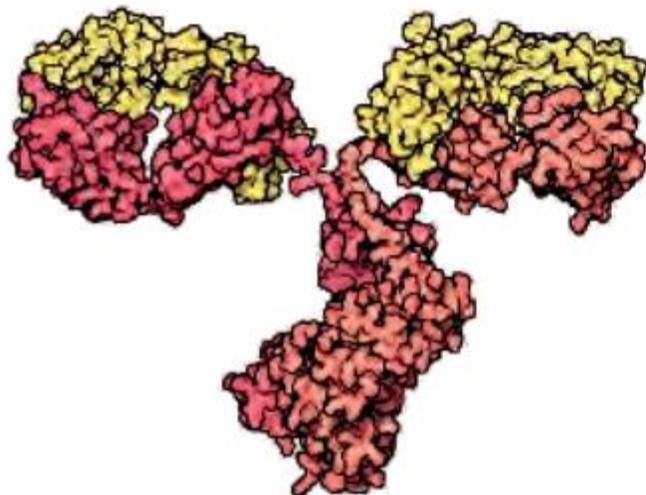
◀ É esta forma final que permite que a proteína desempenhe a sua função no corpo.

## Proteínas de Todos os Tamanhos e Feitios

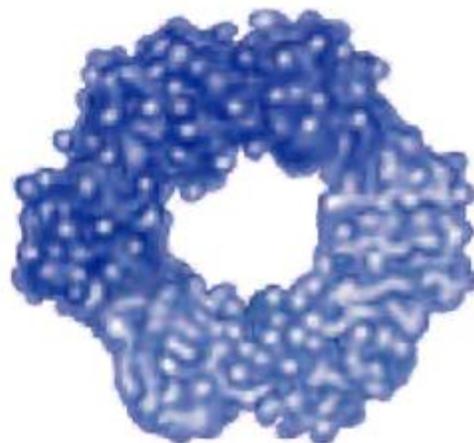
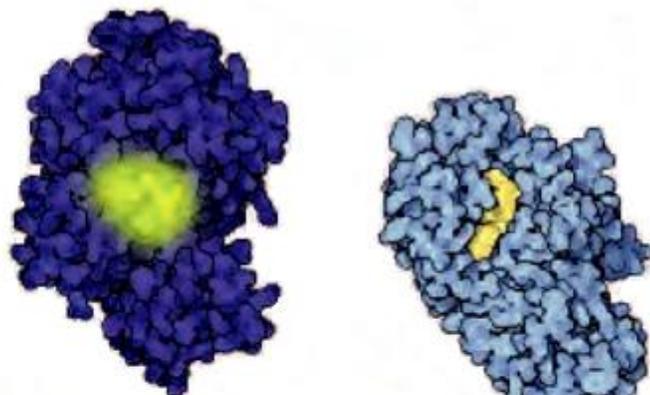
Uma vez que as proteínas têm papéis diversos no corpo, as formas e tamanhos que apresentam são também muito diversificados. O estudo destas formas ensina-nos como é que as proteínas funcionam no corpo e ajuda-nos a perceber as doenças que são causadas por proteínas anormais.

Para aprenderes mais sobre as proteínas aqui referidas e muitas outras, visita a secção “Molécula do Mês” no sítio *RCSB Protein Data Bank* (<http://www.pdb.org> – sítio em inglês).

Imagens da Molécula do Mês por David S. Goodsell, *The Scripps Research Institute*



- ▲ Os anticorpos são proteínas do sistema imunitário que libertam o nosso corpo de material estranho, incluindo bactérias e vírus. Os dois braços do anticorpo em forma de Y ligam-se à molécula estranha. A parte restante do anticorpo (o “pé”) envia sinais para recrutamento de outros elementos do sistema imunitário.



- ▲ Algumas proteínas fixam-se em torno do material genético, o DNA, e regulam a sua atividade. Algumas destas proteínas têm a forma de uma argola, permitindo-lhes formar um anel completo em volta do DNA. Neste esquema está ilustrada a polimerase III, que se fixa em torno do DNA e se move ao longo da cadeia à medida que copia o material genético.

## A Computação Gráfica no Avanço da Investigação

- As enzimas, que são proteínas que facilitam reações químicas, contêm por vezes uma reentrância ou re-cetáculo que permite fixar a molécula alvo. Na página ao lado, pode ver-se (no sentido dos ponteiros do relógio, a partir do topo): a luciferase, que gera a luz amarelada dos pirilampos; a amilase, que nos ajuda a digerir o amido; e a transcriptase reversa, que permite ao VIH e a outros vírus relacionados escravizar as células infetadas.

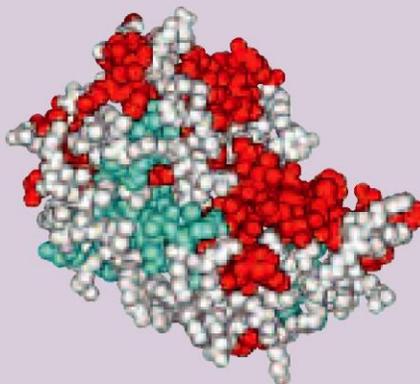


- O colagénio presente na cartilagem e tendões deve a sua força à estrutura que apresenta, com três cadeias, entrelaçadas como numa corda.

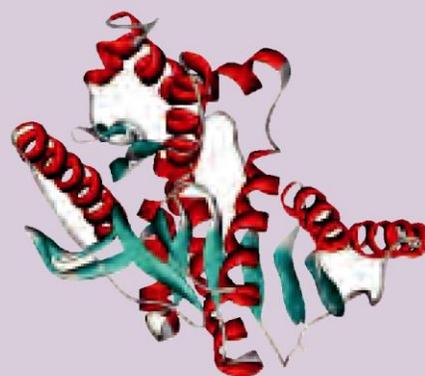
Há algumas décadas, os cientistas que pretendiam estudar estruturas moleculares tridimensionais passavam dias, semanas ou mais a construir modelos com varetas, bolas e suportes de arame.

Hoje, usam imagens geradas computacionalmente. Em segundos, os cientistas podem mostrar uma molécula de diferentes formas (como as três representações desta proteína), manipulá-la no ecrã do computador, simular como poderá interagir com outras moléculas e estudar de que modo os defeitos na sua estrutura poderão causar doenças.

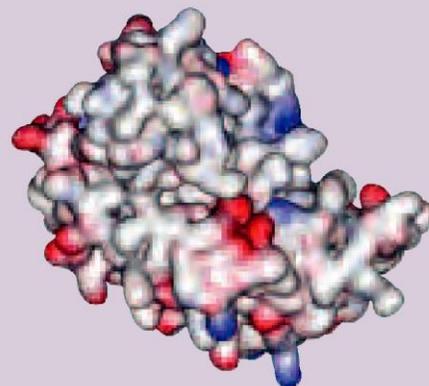
Para experimentar um desses programas de computador, vai a <http://www.proteinexplorer.org> ou a <http://www.pdb.org> (sítios em inglês).



- O modelo molecular compacto tenta mostrar os átomos como esferas cujo tamanho está correlacionado com o espaço que os átomos ocupam. Os átomos de cor vermelha e azul claro são os mesmos neste modelo e na representação em fita.



- A representação em fita (*ribbon diagram*) dá destaque às regiões organizadas da proteína (vermelho e azul claro).

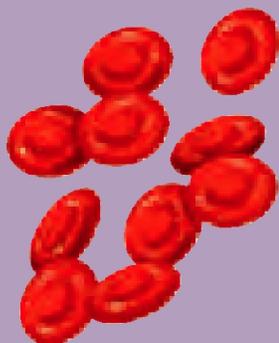


- A representação da superfície da mesma proteína mostra a sua forma global e as propriedades dessa mesma superfície. A coloração vermelha e azul indica a carga elétrica dos átomos na superfície da proteína.

## Pequenos Erros nas Proteínas Podem Causar Doenças

Por vezes, um erro num só aminoácido pode causar uma doença. A anemia falciforme, que afeta frequentemente as pessoas de descendência africana, é causada por um único erro no gene da hemoglobina, a proteína transportadora do oxigénio nos glóbulos vermelhos.

Este erro, ou mutação, resulta num aminoácido incorreto numa posição da molécula. As moléculas de hemoglobina com o aminoácido errado aderem umas às outras e distorcem a forma dos glóbulos vermelhos, que ficam a parecer foices (normalmente são lisos e côncavos), daí a designação de falciforme.



Glóbulos Vermelhos Normais



Glóbulos Vermelhos Falciformes

O sintoma mais comum da doença são dores imprevisíveis em qualquer órgão ou articulação do corpo, provocadas pela aglomeração das células distorcidas, incapazes de passar pelos pequenos vasos sanguíneos. Estas obstruções impedem que o sangue carregado de oxigénio chegue aos órgãos e tecidos. A frequência, duração e severidade da dor varia muito entre indivíduos.

A doença afeta cerca de 1 em cada 500 norte-americanos de origem africana e 1 em cada 12 são portadores, o que significa que, embora não sofram da doença, a podem passar aos seus filhos.

Outra doença causada por um defeito num aminoácido é a fibrose quística. Esta doença é muito comum nos norte-americanos descendentes de norte-europeus, afetando 1 em cada 2500 nos Estados Unidos da América (EUA). Um em cada 25 ou 30 indivíduos são portadores da doença.

A doença ocorre quando a proteína CFTR é enrolada de forma incorreta. Este erro no enrolamento é geralmente causado pela deleção de um único aminoácido da CFTR. A função da CFTR (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* – regulador da condutância transmembranar de fibrose quística) é permitir a passagem de iões cloreto (componente do sal de mesa) através das membranas celulares.

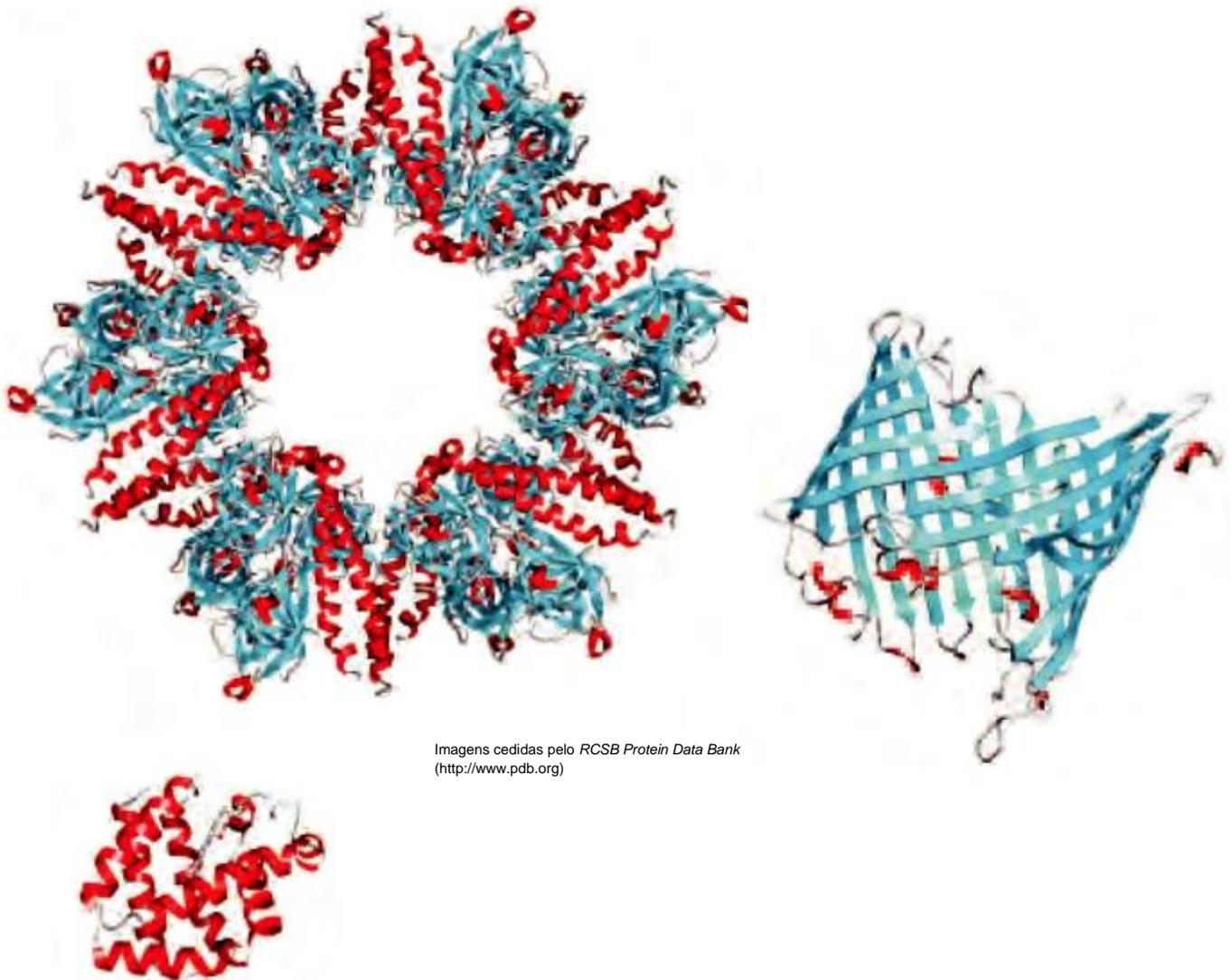
Quando esta função é alterada na fibrose quística, as glândulas produtoras de suor e muco são as mais afetadas. Um muco espesso e pegajoso acumula-se nos pulmões e nos órgãos digestivos, provocando desnutrição, atrasos no crescimento, infeções respiratórias frequentes e dificuldades em respirar. Os doentes geralmente morrem de doença pulmonar com cerca de 35 anos de idade.

### Partes de Algumas Proteínas Enrolam-se numa Hélice

Quando as proteínas se enrolam, elas não formam uma massa amorfa ao acaso. Frequentemente, pequenas secções da proteína originam formas reconhecíveis. Quando a cadeia proteica se enrola em espiral, essa secção é chamada de hélice alfa.

Quando forma uma tira plana, é uma folha beta.

Estas secções organizadas da proteína aglomeram-se entre si – ou com outras secções menos organizadas – para formar a proteína final enrolada. Algumas proteínas têm maioritariamente hélices alfa (a vermelho nas representações abaixo). Outras contêm maioritariamente folhas beta (a azul claro) ou uma mistura de hélices alfa e folhas beta.



Imagens cedidas pelo *RCSB Protein Data Bank* (<http://www.pdb.org>)



### Montanhismo e Modelação Computacional

*Muitos cientistas usam os computadores para tentar resolver o problema do enrolamento das proteínas. David Baker, montanhista e biólogo computacional na University of Washington, é um exemplo. Ele desenvolve software para prever a estrutura das proteínas – e, para o fazer, aproveita o poder computacional que fica por usar nas residências universitárias. Lê mais em <http://publications.nigms.nih.gov/findings/sept05/business.html> (sítio em inglês).*

### O Problema do Enrolamento das Proteínas

Uma dada sequência de aminoácidos quase sempre se enrola numa estrutura tridimensional característica. Por isso, os cientistas argumentam que as instruções para esse enrolamento devem estar codificadas na própria sequência de aminoácidos. Os investigadores podem facilmente determinar a sequência de aminoácidos de uma proteína. Mas há mais de 50 anos que tentam – sem conseguir – decifrar o código que governa o enrolamento.

Os cientistas chamam a isto o “mistério do enrolamento das proteínas” e este continua a ser um dos grandes desafios da biologia estrutural. Embora os investigadores tenham proposto algumas das regras gerais e, em alguns casos, possam fazer previsões aproximadas da forma da proteína, não podem prever a posição de todos os átomos da molécula com rigor, tendo como base apenas a sequência de aminoácidos.

Os incentivos médicos para decifrar o código de enrolamento são muitos. Pensa-se que várias doenças, incluindo a de Alzheimer, a fibrose quística e a das “vacas loucas”, possam resultar de proteínas mal enroladas. Muitos cientistas acreditam que, se pudessem decifrar as estruturas das proteínas a partir das suas sequências, poderiam compreender melhor o modo de funcionamento das proteínas, para depois usar esse conhecimento na melhoria do tratamento destas doenças.

## Proteínas Provocadoras

- Cada um de nós tem várias centenas de milhar de proteínas diferentes no corpo.

- As teias de aranha e fibras de seda são feitas de fibroína, uma proteína forte e maleável. A seda da aranha é mais forte do que um fio de aço do mesmo diâmetro, mas é muito mais elástica e, portanto, os cientistas esperam poder usá-la para produtos tão diversos como coletes à prova de bala e articulações artificiais. A dificuldade reside na colheita da seda, uma vez que as aranhas são muito menos cooperantes que os bichos-da-seda!



- A luz dos pirilampos (também chamados vagalume) é possibilitada pela proteína chamada luciferase. Embora a maioria dos predadores evitem estes insetos amargos, algumas rãs comem tantos pirilampos que também elas brilham!



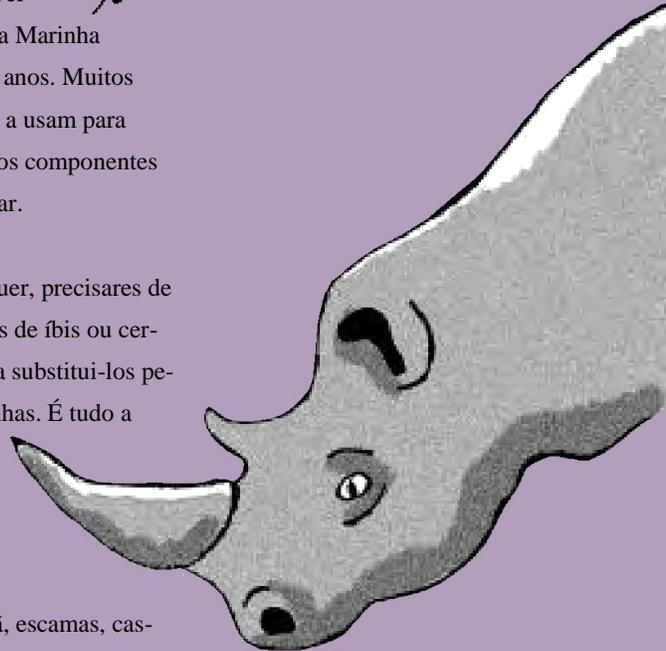
- Os venenos mortais das cobras, escorpiões e peixes-balão contêm pequenas proteínas que atuam como neurotoxinas. Alguns caracóis marinhos paralisam a sua presa (e, por vezes, humanos azarados) com até 50 destas toxinas. Uma destas toxinas foi transformada num medicamento chamado Prialt®, que é usado no tratamento de dores tão fortes que não diminuem nem com morfina.



- Por vezes, os navios no noroeste do Oceano Pacífico deixam um rasto de uma misteriosa luz verde. A luz é produzida por uma proteína das medusas quando estas são “atropeladas” pelos navios. Dado que as pistas fazem o traçado do curso dos navios durante a noite, esta proteína verde fluorescente interessou a Marinha Americana durante muitos anos. Muitos biólogos celulares também a usam para marcar com fluorescência os componentes celulares que estão a estudar.



- Se, para uma receita qualquer, precisares de corno de rinoceronte, penas de íbis ou cerdas de porco-espinho, tenta substituí-los pelo teu próprio cabelo ou unhas. É tudo a mesma matéria-prima: alfa queratina, uma proteína robusta, resistente à água, que é também o principal componente da lã, escamas, cascos, conchas das tartarugas e da camada exterior da tua pele.



## Genômica Estrutural: Do Gene à Estrutura e Talvez à Função

O valor potencial de decifrar o código de enrolamento das proteínas subiu em flecha após o lançamento, na década de 1990, dos projetos de sequenciação genômica. Estes projetos, ainda a decorrer, dão aos cientistas acesso direto à sequência genética completa de centenas de organismos, incluindo os humanos.

A partir destas sequências genéticas, os cientistas podem facilmente obter os aminoácidos correspondentes usando o “código genético” (ver a pág. 12).

A disponibilidade de sequências genômicas (e de aminoácidos) completas tem aberto novas vias de investigação, tais como o estudo da estrutura de todas as proteínas de um organismo ou a comparação de proteínas que têm um papel biológico específico em muitas espécies diferentes.



► Como parte da *Protein Structure Initiative*, grupos de investigação dos EUA têm determinado milhares de estruturas moleculares, incluindo a estrutura desta proteína do organismo que causa a tuberculose.

Imagem cedida pelo *TB Structural Genomics Consortium*

O maior sonho dos biólogos estruturais de todo o mundo é determinarem diretamente, a partir das sequências genéticas, não só a estrutura tridimensional, mas também alguns aspetos da função de todas as proteínas.

Estão a caminho: já identificaram as sequências de aminoácidos que codificam certas características estruturais, como um cilindro “trançado” a partir de folhas beta.

Os investigadores também já catalogaram características que têm um papel biológico específico. Por exemplo, um aglomerado característico de hélices alfa sugere fortemente que a proteína se liga ao DNA.

Mas há ainda um longo caminho a percorrer para determinarem com rigor a estrutura de uma proteína com base apenas na sequência genética ou de aminoácidos. Os cientistas reconhecem que, para chegar a este objetivo de longo prazo, será necessário um grande esforço de colaboração. E assim nasceu um novo campo de estudo chamado Genômica Estrutural.

Em 2000, o NIGMS lançou um projeto de Genômica Estrutural chamado “Iniciativa da Estrutura Proteica” (*Protein Structure Initiative*) ou PSI (<http://www.nigms.nih.gov/Initiatives/PSI>). Este projeto de milhões de dólares envolve centenas de cientistas de todo o país [EUA].

Os cientistas PSI estão a usar um atalho cauteloso. A sua estratégia baseia-se em dois factos.

Primeiro, as proteínas podem ser agrupadas em famílias, com base na sua sequência de aminoácidos. Os membros da mesma família de proteínas têm frequentemente características estruturais semelhantes, tal como os membros de uma família humana podem ter todos os membros longos ou maçãs do rosto salientes.

Segundo, programas de computador sofisticados podem usar estruturas previamente decifradas como guia para prever outras estruturas proteicas.

A equipa PSI espera que, ao decifrar alguns milhares de estruturas proteicas cuidadosamente selecionadas, seja possível usar a modelação computacional para prever as estruturas de centenas de milhares de proteínas relacionadas.

Até ao momento, a equipa PSI decifrou um total de mais de 2400 estruturas. Destas, mais de 1600 parecem não estar relacionadas entre si, o que sugere que possam vir a servir como guias para modelar as estruturas de outras proteínas da sua família.

Talvez ainda mais importante, os investigadores PSI já desenvolveram novas tecnologias que permitem aumentar a velocidade e facilidade de determinação das estruturas moleculares. Muitas destas novas tecnologias são robots que automatizaram alguns passos do laborioso processo de determinação da estrutura. Graças a estes robots, é possível decifrar as estru-

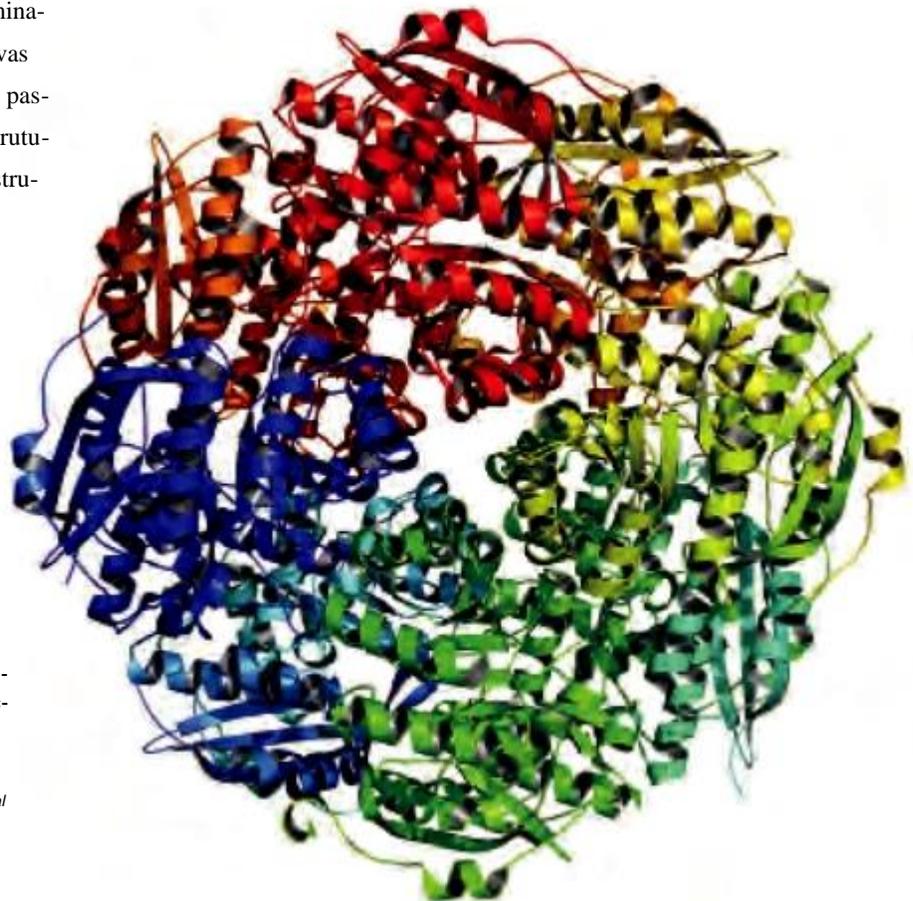
turas mais rápido que nunca. Para além dos benefícios para a equipa PSI, estas tecnologias também aceleraram a investigação noutros campos.

Os cientistas PSI (e biólogos estruturais em todo o mundo) enviam os seus resultados para a Base de Dados de Proteínas (*Protein Data Bank*) em <http://www.pdb.org>. Aí, a informação fica livremente disponível para o avanço da investigação por toda a comunidade científica.

Para ver outras estruturas decifradas pela equipa PSI, vai a <http://publications.nigms.nih.gov/psi/gallery/psi.htm>.

- ▶ Membros da *Protein Structure Initiative* determinaram a estrutura desta enzima de uma bactéria comum no solo.

Imagem cedida pelo *New York Structural GenomiX Consortium*



# O Código Genético

Para além do código de enrolamento das proteínas, que permanece por decifrar, há um outro código, um código genético, que os cientistas descobriram a meados da década de 1960. O código genético revela o modo como os organismos vivos usam os genes como manuais de instruções para fazer proteínas.

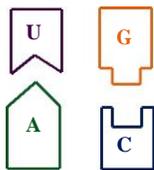
U	
U	UUU fenilalanina
	UUC fenilalanina
	UUA leucina
	UUG leucina
C	CUU leucina
	CUC leucina
	CUA leucina
	CUG leucina
A	AUU isoleucina
	AUC isoleucina
	AUA isoleucina
	<b>AUG metionina</b>
G	GUU valina
	GUC valina
	<b>GUA valina</b>
	GUG valina

Nucleótidos de DNA



- ▶ O DNA (ácido desoxirribonucleico) é composto por pequenas moléculas chamadas nucleótidos, que são designados de acordo com a principal unidade que contêm: adenina (A), timina (T), citosina (C) e guanina (G).

Nucleótidos de RNA



- ▶ O RNA (ácido ribonucleico) é quimicamente muito semelhante ao DNA, mas usa o uracilo (U) onde o DNA usa a timina (T).

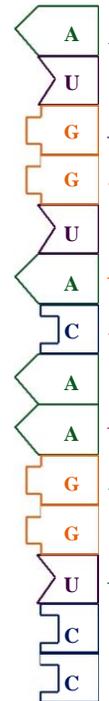
Gene



Transcrição

- ▶ Os genes são transcritos em cadeias complementares de RNA mensageiro.

mRNA



Tradução

- ▶ Os ribossomas (ver pág. 23) processam as proteínas usando as instruções do mRNA e o código genético para unir aminoácidos na ordem correta. Três nucleótidos adjacentes de mRNA (um tripleto) codificam um aminoácido.

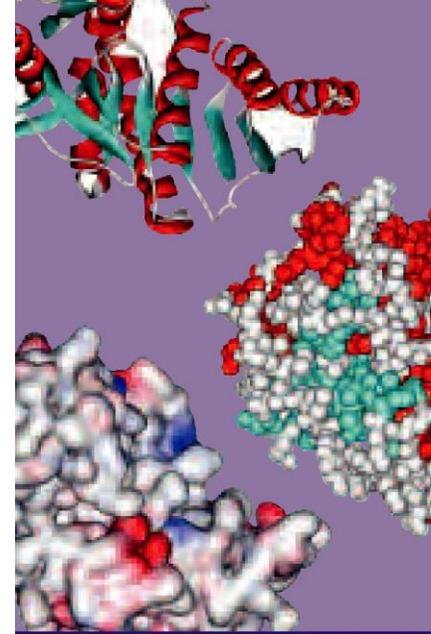
- ▶ Os genes são longas cadeias de DNA.

## Código Genético

2ª letra do mRNA

C	A	G
UCU serina UCC serina UCA serina UCG serina	UAU tirosina UAC tirosina UAA stop UAG stop	UGU cisteína UGC cisteína UGA stop UGG triptofano
CCU prolina CCC prolina CCA prolina CCG prolina	CAU histidina CAC histidina <b>CAA glutamina</b> CAG glutamina	CGU arginina CGC arginina CGA arginina CGG arginina
ACU treonina ACC treonina ACA treonina ACG treonina	AAU asparagina AAC asparagina AAA lisina AAG lisina	AGU serina AGC serina AGA arginina AGG arginina
GCU alanina GCC alanina GCA alanina GCG alanina	GAU ácido aspártico GAC ácido aspártico GAA ácido glutâmico GAG ácido glutâmico	<b>GGU glicina</b> GGC glicina GGA glicina GGG glicina

Esta tabela mostra todos os tripletos possíveis de mRNA e os aminoácidos que eles codificam. Note que a maioria dos aminoácidos pode ser codificado por mais que um triplete de mRNA. As entradas a negrito são mostradas na ilustração abaixo.



### Compreendeste?

O que é uma proteína?

Indica três proteínas do teu corpo e descreve o que fazem.

O que aprendemos ao estudar as estruturas das proteínas?

Descreve o problema do enrolamento das proteínas.

Aminoácidos

Metionina

Valina

Glutamina

Glicina

Enrolamento Proteico

Proteína Enrolada

- ▲ Tipicamente, as proteínas contêm entre 50 e 2000 aminoácidos. Muitas proteínas incluem duas ou mais cadeias de aminoácidos.
- ▲ Muitas partes de uma proteína (tipicamente, as hélices alfa) enrolam-se espontaneamente à medida que a proteína é processada. Para terminar o enrolamento, a maioria das proteínas necessita da assistência das proteínas chaperoninas.
- ▲ Praticamente todas as proteínas enrolam-se completamente numa fração de segundo. Na sua forma final, algumas proteínas contêm átomos metálicos ou outros pequenos grupos funcionais.

## *Cristalografia de Raios-X: União da Arte com a Ciência*

Como examinar a forma de algo demasiado pequeno para poder ser visto até no mais poderoso microscópio? Os cientistas que tentam visualizar os complexos arranjos de átomos dentro das moléculas têm exatamente esse problema, que resolveram de forma indireta. Usando uma ampla coleção de moléculas idênticas – por vezes proteínas – em conjunto com equipamento especializado e técnicas de modelação computacional, os cientistas são capazes de calcular a aparência de uma molécula isolada.

Os dois métodos mais comumente usados na investigação de estruturas moleculares são a cristalografia de raios-X (também chamada difração de raios-X) e a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN). Os investigadores que usam a cristalografia de raios-X têm que obter cristais sólidos das moléculas que estudam. Os que usam a RMN estudam as proteínas em solução. Cada técnica tem as suas vantagens e desvantagens. Juntas, oferecem um precioso vislumbre das estruturas da vida.

Mais de 85% das estruturas proteicas que conhecemos foram determinadas usando a cristalografia de raios-X. Essencialmente, os cristalógrafos lançam um feixe potente de raios-X a um pequeno cristal que contém bilhões de moléculas idênticas. O cristal desvia os raios-X para um detetor, como uma bola de espelhos que reflete a luz numa pista de dança. O detetor eletrónico é do mesmo tipo dos que são usados para captar imagens nas câmaras digitais.

Após cada descarga de raios-X, que dura desde poucos segundos até várias horas, os investigadores rodam o cristal com muita precisão, inserindo a orientação desejada no computador que controla o aparelho de raios-X. Isto permite que os cientistas capturem, a três dimensões, o modo como o cristal dispersa, ou difrata, os raios-X.



A intensidade de cada raio difratado é registrada num computador, que usa uma equação matemática, designada transformada de Fourier, para calcular a posição de cada átomo na molécula cristalizada.

O resultado – a obra de arte do investigador – é uma imagem digital da molécula a três dimensões. Esta imagem representa as propriedades físicas e químicas da substância e pode ser estudada com detalhe, átomo a átomo, usando um sofisticado software de computação gráfica.

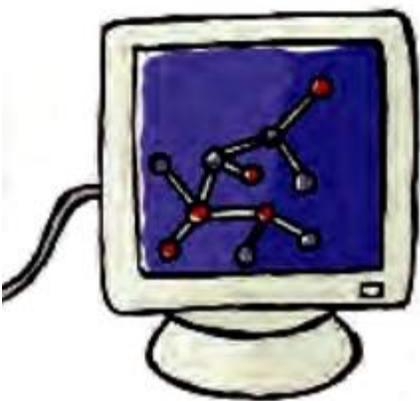
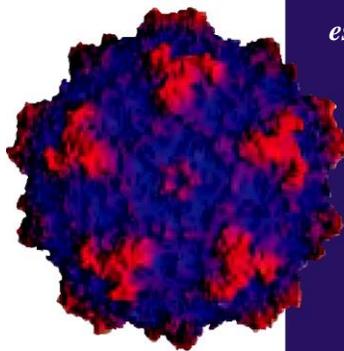


Imagem computadorizada dos átomos no cristal



▲ A estrutura tridimensional de um vírus de ratinho obtida por Agbandje-McKenna mostra que este se assemelha a uma bola de futebol com 20 faces.



## Viagens Virais

*Usando a cristalografia de raios-X, os cientistas podem estudar vírus enormes que contêm várias centenas de proteínas. Mavis Agbandje-McKenna utiliza esta técnica para investigar de que modo os vírus infetam as células.*

*Podes ler sobre o seu invulgar percurso pessoal e científico, desde uma vila rural na Nigéria até à*

**University of Florida em**

*Gainesville, no sítio de internet em*

*<http://publications.nigms.nih.gov/>*

*[findings/mar06/voyages.html](http://publications.nigms.nih.gov/finding/mar06/voyages.html)*

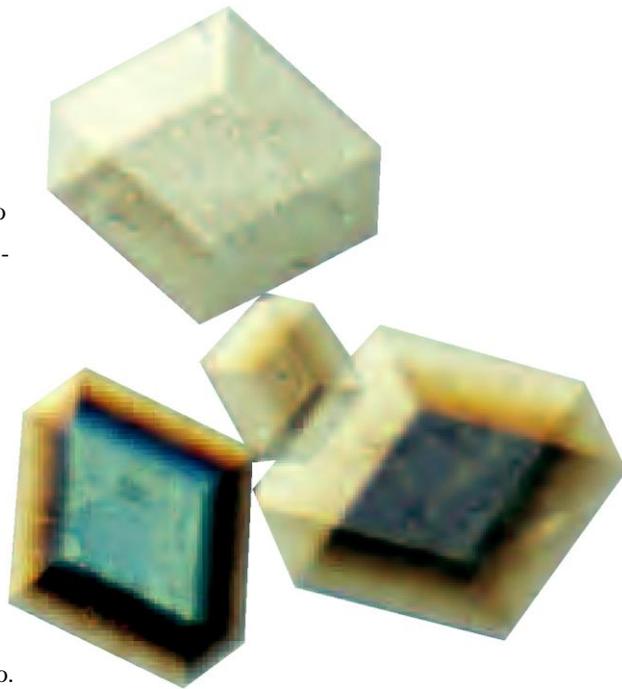
*(sítio em inglês).*

### Cozinha de Cristais

Um aspeto essencial da cristalografia de raios-X é a obtenção de cristais de alta qualidade. Os melhores cristais são puros, perfeitamente simétricos, reunindo moléculas numa estrutura tridimensional bem organizada. Podem ter diferentes formas, desde cubos perfeitos até agulhas alongadas. A maioria dos cristais usados nestes estudos são quase invisíveis (com menos de um milímetro de lado). Mas, quanto maior for o cristal, mais precisos são os dados e mais facilmente se desvenda a estrutura.

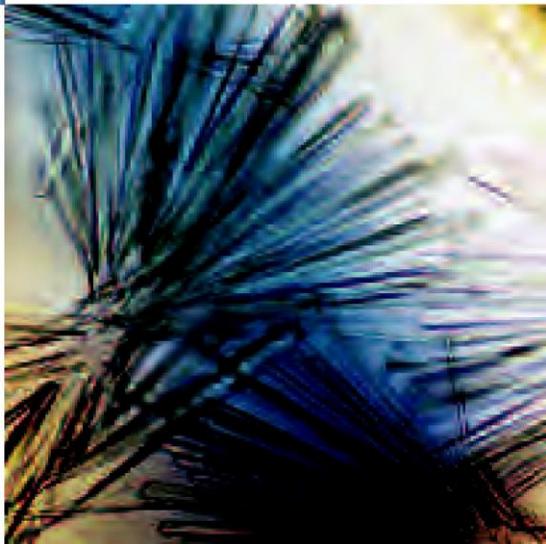
Os cristalógrafos “fazem crescer” os seus minúsculos cristais em placas de plástico. Geralmente começam com uma solução muito concentrada da molécula. Depois, misturam essa solução com uma série de líquidos cuidadosamente preparados para formar pequenas gotículas (1-10 microlitros). Cada gotícula é mantida numa

placa ou poço separados. À medida que o líquido se vai evaporando, as moléculas em solução ficam progressivamente mais concentradas. Durante este processo, as moléculas distribuem-se num padrão tridimensional preciso e eventualmente cristalizam – se o investigador tiver sorte.



Por vezes, são necessários meses ou até mesmo anos para obter os cristais. As condições – temperatura, pH (acidez ou alcalinidade) e concentração – devem ser perfeitas. E como cada tipo de molécula é diferente, é necessário que os cientistas testem novas condições de cristalização para cada nova amostra.

Mesmo assim, algumas moléculas não colaboram. Podem ter secções mais frouxas que vibram demasiado para se poderem organizar num cristal. Ou, particularmente no caso das proteínas que normalmente estão embebidas em membranas celulares lipídicas, a molécula pode ser incapaz de se dissolver completamente na solução.



## *Cristais à Chamada*

Embora os cristais usados em cristalografia de raios-X sejam quase invisíveis a olho nú, contêm um vasto número de moléculas idênticas e ordenadas com precisão. Um cristal de 0,5 milímetros de lado contém cerca de 1 000 000 000 000 000 (ou  $10^{15}$ ) moléculas proteicas de tamanho médio.

Quando os cristais estão completamente formados, são colocados num pequeno tubo de vidro ou “pescados” com um laço feito de nylon, fibra de vidro ou outro material, dependendo da preferência do investigador. O tubo ou laço é depois montado no aparelho de raios-X, diretamente no trajeto do feixe de raios-X.

A força abrasiva dos poderosos feixes de raios-X pode perfurar os cristais que ficarem demasiado tempo à sua frente. Para minimizar os danos causados pela radiação, os investigadores congelam os seus cristais em azoto líquido.

Alguns cristalógrafos mantêm os seus cristais em formação em câmaras seladas para evitar que qualquer deslocação de ar acidental os perturbe. Outros insistem num ambiente livre de vibrações – pelo menos num caso, de música rock. Outros ainda brincam com as fases da Lua e fenómenos sobrenaturais. Tal como a brincadeira sugere, obter cristais continua a ser uma das partes mais difíceis e imprevisíveis da cristalografia de raios-X. É o que mistura a arte com a ciência.

## PERFIL DE UM ESTUDANTE

### *A Ciência Trouxe Um Estudante da Costa da Venezuela ao Coração do Texas*

“A ciência é como uma montanha russa. Começas muito entusiasmado com o que estás a fazer. Mas, se as experiências não correm bem, ficas desanimado. Depois, do nada, consegues bons dados e estás de novo nas nuvens.”

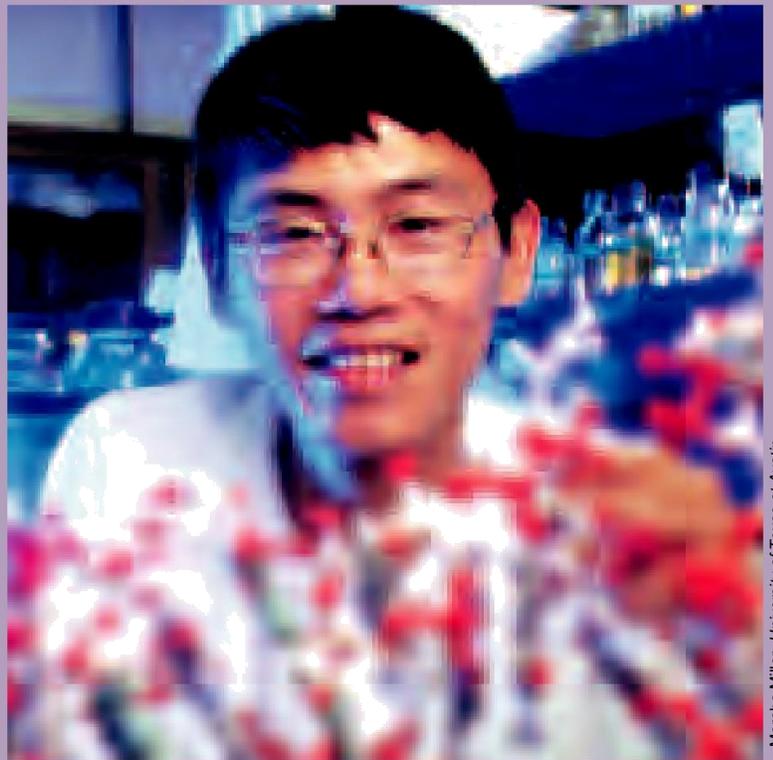
É assim que Juan Chang descreve a natureza da ciência. Ele licenciou-se em Bioquímica e Ciência dos Computadores na *University of Texas at Austin*. Também trabalhou no laboratório de cristalografia de raios-X de Jon Robertus na *UT-Austin*.

Chang estudou a proteína que evita que as células cometam suicídio. Tal como um escultor retira lascas da mármore, também o corpo, durante o desenvolvimento normal, usa o suicídio celular, também chamado de apoptose, para moldar feições como as dos dedos. Para proteger as células saudáveis, o corpo também desencadeia a apoptose para matar as células que têm problemas genéticos ou que estão infetadas por vírus.

Ao conhecer melhor as proteínas envolvidas na causa ou prevenção da apoptose, os cientistas esperam poder controlar o processo em situações particulares:

para tratar tumores e infeções virais pela promoção da morte das células afetadas e para tratar doenças nervosas pela prevenção da apoptose em células nervosas. Uma melhor compreensão da apoptose pode até permitir aos investigadores fazer crescer tecidos para transplante de órgãos mais facilmente.

Chang fez parte deste processo ao ajudar a determinar a estrutura cristalográfica de raios-X de uma proteína a que os cientistas chamam ch-IAP1.



Marsha Miller, University of Texas at Austin

*“A ciência é como uma montanha russa. Começas muito entusiasmado com o que estás a fazer. Mas, se as experiências não correm bem, ficas desanimado. Depois, do nada, consegues bons dados e estás de novo nas nuvens.”*

Juan Chang  
Estudante de Doutoramento  
*Baylor College of Medicine*

Utilizou técnicas bioquímicas para obter grandes quantidades desta proteína purificada. O passo seguinte será cristalizar a proteína e depois usar a difração de raios-X para obter a sua estrutura detalhada a três dimensões.

Chang chegou ao Texas vindo de uma cidade à beira lago na ponta noroeste da Venezuela. Interessou-se pelas Ciências Biológicas ainda no Ensino Secundário. A sua turma fez uma visita de estudo a uma ilha na costa da Venezuela para observar o complexo balanço ecológico das praias e barreiras de coral. Ficou impressionado com o modo como cada planta e animal – caranguejos, insetos, aves, roedores e algas – se adaptaram ao vento, ondas e sal costeiros.

Na mesma época, a sua escola participou numa angariação de fundos para ajudar vítimas da doença de Huntington, uma doença genética incurável que lentamente vai provocando uma degeneração progressiva das capacidades de mobilidade e capacidades in-

telectuais das pessoas afetadas. Maracaibo, a cidade onde Chang cresceu, é também a cidade de onde é originária a mais numerosa família com a doença de Huntington. Através do impulso dado por essa angariação de fundos, Chang interessou-se pela base genética das doenças hereditárias.

O seu conselho para quem queira enveredar por uma carreira científica é “meter as mãos na massa” e experimentar trabalhar em diferentes campos. Ele interessou-se inicialmente pela Genética, fez investigação em Bioquímica e agora está num programa de Doutoramento na *Baylor College of Medicine*. O programa combina a Biologia Estrutural e Computacional com a Biofísica Molecular. Depois de terminar o Doutoramento, espera tornar-se professor universitário.

### Porquê Raios-X?

Para se poder medir algo com precisão, é necessária uma escala adequada. Para medir a distância entre cidades, usam-se quilómetros ou milhas. Para medir uma mão, usam-se centímetros ou polegadas.

Os cristalógrafos medem distâncias entre átomos em angströms. Um angström é igual a  $10^{-10}$  metros. É mais de 10 milhões de vezes mais pequeno que o diâ-

metro do ponto no final desta frase.

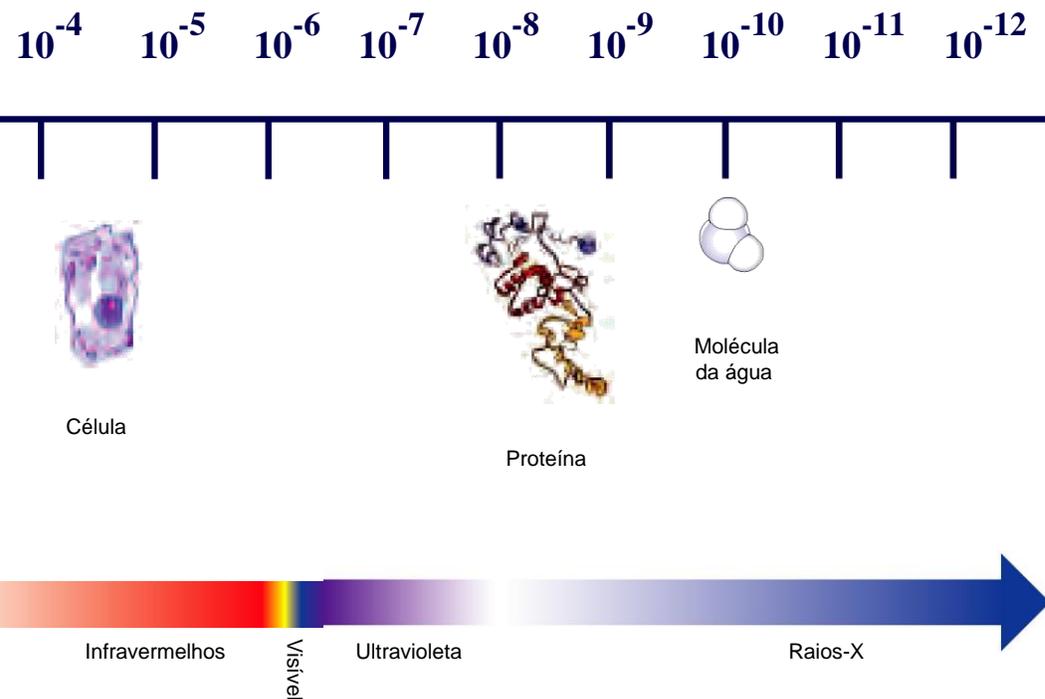
As melhores “réguas” para medir distâncias em angströms são os raios-X. Os raios-X usados pelos cristalógrafos têm aproximadamente entre 0,5 e 1,5 angströms – o tamanho adequado para medir a distância entre átomos numa molécula. E não há melhor local para gerar estes raios-X do que um sincrotrão.



## Radiação Sincrotrônica — Uma das Luzes Mais Brilhantes da Terra

Imagina um feixe de luz 30 vezes mais potente do que o Sol, concentrado num ponto mais pequeno do que a cabeça de um alfinete. Este feixe tem um poder equivalente ao de um meteoro a atravessar a atmosfera. E é a ferramenta mais poderosa ao dispor dos cristalógrafos de raios-X.

Esta luz, uma das mais brilhantes da Terra, não é visível para os nossos olhos. É feita de feixes de raios-X gerados em grandes máquinas chamadas sincrotrões. Estas máquinas aceleram partículas com carga elétrica, muitas vezes eletrões, até velocidades próximas às da luz e depois fazem-nas girar num enorme anel metálico oco.



◀ Quando se usa a luz para medir um objeto, o comprimento de onda deve ser semelhante ao tamanho do objeto. Os raios-X, com um comprimento de onda de 0,5 a 1,5 angströms, permitem medir a distância entre átomos. A luz visível, com um comprimento de onda de 4000 a 7000 angströms, é usada em microscópios óticos comuns porque pode medir objetos do tamanho dos componentes celulares.



- ▲ O *Advanced Photon Source (APS)* no *Argonne National Laboratory*, próximo de Chicago, é um sincrotrão de “terceira geração”. Os biólogos eram considerados utilizadores parasitas dos sincrotrões de “primeira geração”, que foram construídos para os físicos que estudam partículas subatômicas. Atualmente, muitos sincrotrões, tais como o APS, são concebidos especificamente para otimizar a produção de raios-X e para dar apoio à investigação dos cientistas numa grande variedade de áreas, incluindo a Biologia.

Os sincrotrões foram originalmente concebidos para serem usados por físicos que estudam partículas subatômicas e fenómenos cósmicos. Outros cientistas rapidamente se uniram às instalações para procurar aproveitar o que os físicos consideravam um subproduto indesejável – as brilhantes “explosões” de raios-X.

O maior componente de cada sincrotrão é o seu anel de armazenamento de eletrões. Na verdade, este anel não é um círculo perfeito, mas um polígono de muitos lados. Em cada vértice do polígono, ímãs perfeitamente alinhados curvam o feixe de eletrões, forçando-o a manter-se dentro do anel (sem isso, as partículas viajariam em linha reta e colidiriam com a parede do anel). Cada vez que o percurso dos eletrões é desviado, eles emitem pulsos de energia sob a forma de radiação eletromagnética.

Este fenómeno não é exclusivo dos eletrões ou das partículas nos sincrotrões. Sempre que uma partícula carregada muda de velocidade ou direção, emite energia. O tipo de energia, ou radiação, que a partícula emite depende da sua velocidade e do grau em que são desviadas. Uma vez que num sincrotrão as partículas viajam próximo da velocidade da luz, a radiação que emitem é intensa, incluindo raios-X de elevada energia.

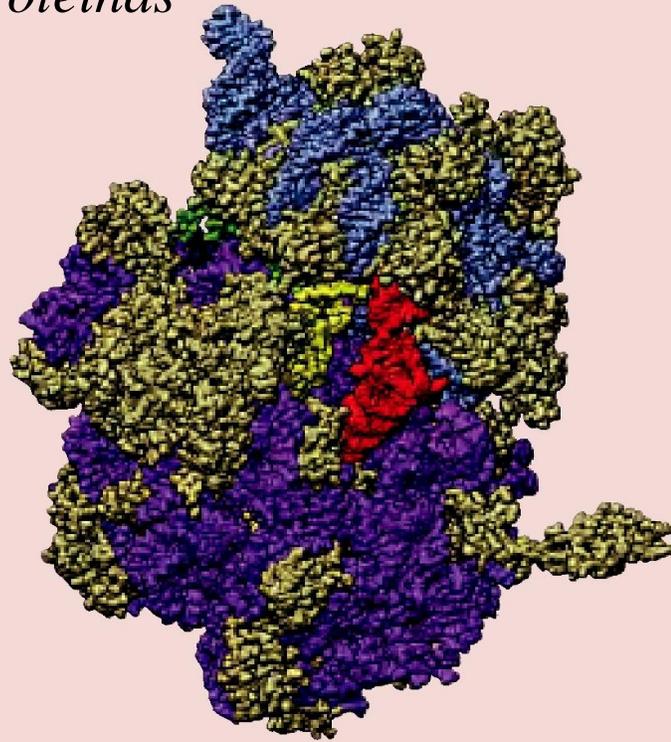
## Espreitar as Fábricas de Proteínas

Os ribossomas fazem a matéria-prima da vida: são as fábricas de proteínas de todos os seres vivos, produzindo desde as toxinas bacterianas até às enzimas digestivas.

Para a maioria das pessoas, os ribossomas são extremamente pequenos: dezenas de milhares de ribossomas caberiam na ponta afiada de um lápis. Mas, para um biólogo estrutural, os ribossomas são enormes. Contêm três ou quatro cadeias de RNA e mais de 50 pequenas proteínas. Todos estes componentes trabalham em conjunto como partes móveis de uma máquina complexa – uma máquina tão grande que foi impossível estudá-la com detalhe estrutural até recentemente.

Em 1999, os investigadores determinaram a estrutura cristalina de um ribossoma completo pela primeira vez. O trabalho foi um triunfo técnico para a cristalografia. Mesmo hoje, o ribossoma continua a ser a maior estrutura complexa obtida por cristalografia. (Foram determinadas algumas estruturas virais maiores, mas a simetria destas estruturas simplificou muito o processo.)

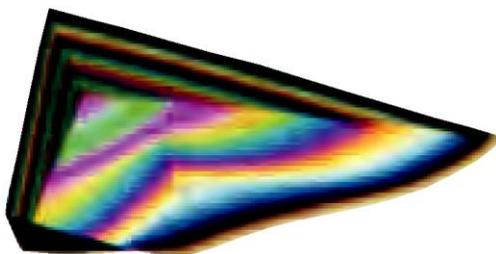
Esta imagem inicial foi como um esboço que mostrou como é que as várias partes do ribossoma encaixam e onde é que as novas proteínas são feitas. Hoje em dia, os cientistas possuem imagens extremamente detalhadas dos ribossomas nas quais podem localizar, com precisão, a posição real de cada átomo.



- ▲ O estudo detalhado das estruturas dos ribossomas vai ajudar os cientistas a compreender melhor o processo fundamental da produção de proteínas. Pode também contribuir para a conceção de novos antibióticos ou otimizar os que já existem.

Imagem de Catherine Lawson, Rutgers University e  
RCSB Protein Data Bank

Para além de oferecerem uma valiosa perspetiva deste componente e processo celular crucial, os estudos estruturais dos ribossomas podem levar a aplicações clínicas. Muitos dos antibióticos atuais interferem com a função dos ribossomas das bactérias prejudiciais, deixando intactos os ribossomas humanos. Um conhecimento mais detalhado das diferenças estruturais entre ribossomas bacterianos e humanos pode ajudar os cientistas a desenvolver novos antibióticos ou a melhorar os já existentes.



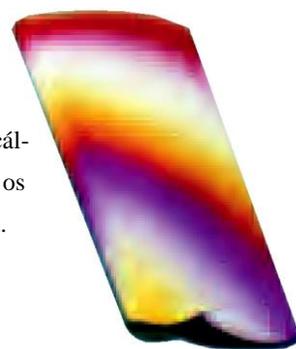
- A Berkeley, CA
- B Menlo Park, CA
- C Baton Rouge, LA
- D Argonne, IL
- E Upton, NY
- F Ithaca, NY

### Cientistas Sintonizados no Sincrotrão

Os sincrotrões são apreciados, não só pela sua capacidade em produzir raios-X brilhantes, mas também pela possibilidade de “sintonização” desses raios. Os cientistas podem selecionar os raios com o comprimento de onda mais adequado às suas experiências.

Para determinar a estrutura de uma molécula, os cristalógrafos geralmente têm que comparar várias versões de um cristal – um cristal puro e vários outros em que a molécula cristalizada está “ensopada” em diferentes metais pesados, como mercúrio, platina ou urânio.

Como estes metais pesados têm muitos elétrons, dispersam mais os raios-X do que os átomos mais leves e pequenos das moléculas biológicas. Comparando os padrões de difração do cristal puro com os dos vários cristais com metais, os investigadores podem determinar a localização dos metais no cristal. Estes átomos metálicos servem de referencial para o cálculo das posições de todos os outros átomos da molécula.



▲ Nos EUA, existem seis grandes sincrotrões que são usados para cristalografia de raios-X.

Mas, quando os investigadores usam a radiação de raios-X do sincrotrão, não têm que obter várias versões da mesma molécula cristalizada, o que representa uma grande poupança de tempo e dinheiro. Em alternativa, constroem um só tipo de cristal, que contém selénio, em vez de enxofre, em todos os aminoácidos metionina. Depois “sintonizam” o comprimento de onda do feixe do sincrotrão para corresponder a certas propriedades do selénio. Desta forma, um único cristal substitui vários cristais com metais. Esta técnica é chamada de MAD, de *Multiwavelength Anomalous Diffraction* (Difração Anómala de Múltiplos Comprimentos de Onda).

Com a MAD, os investigadores bombardeiam os cristais contendo selénio três ou quatro vezes, com raios-X de diferentes comprimentos de onda – incluindo uma sessão com raios-X do comprimento de onda exatamente igual ao que é absorvido pelos átomos de selénio. A comparação dos padrões de difração resultantes, permite aos investigadores localizar os átomos de selénio que, de novo, servem como pontos de referência a partir dos quais toda a restante estrutura é calculada.

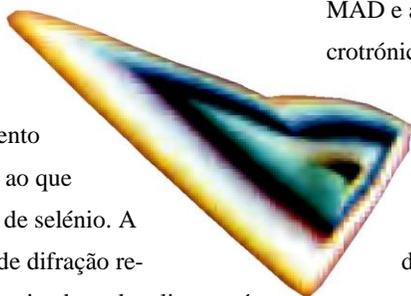
Os brilhantes raios-X dos sincrotrões permitem aos investigadores a recolha dos dados brutos muito mais rapidamente do que com as fontes tradicionais,

que são pequenas o suficiente para caber numa grande mesa de laboratório, mas produzem raios-X mais fracos do que os dos sincrotrões. O que costumava demorar semanas ou até meses no laboratório, pode agora ser feito em minutos num sincrotrão. Mas, depois os dados têm ainda que ser analisados, refinados e corrigidos antes de se poder visualizar a proteína no seu esplendor estrutural tridimensional.

O número e a qualidade das estruturas moleculares determinadas por difração de raios-X aumentou acentuadamente nos últimos anos, bem como a percentagem destas estruturas obtidas em sincrotrões. Esta tendência promete continuar devido, em grande parte, a novas técnicas como a MAD e ao poder incomparável da radiação sincrotrónica.

Para além do seu papel na revelação de estruturas moleculares, os sincrotrões são usados numa variedade de aplicações, incluindo o design de chips de computadores, a testagem de medicamentos em células vivas, o fabrico de plásticos, a análise da composição de materiais geológicos e o estudo de técnicas de imagiologia médica e radioterapia.

Fotos dos cristais cedidas por Alex McPherson, University of California, Irvine



## Comprendeste?

O que significa a estrutura tridimensional detalhada de proteínas?

O que é a cristalografia de raios-X?

Refere duas razões que expliquem porque é que os sincrotrões são tão importantes para os cristalógrafos de raios-X.

O que é um ribossoma e porque é que é importante estudá-lo?

## O Mundo da RMN: Ímanes, Ondas Rádio e Trabalho de Detetive

Alguma vez brincaste com ímanes em criança? Isso é, em grande parte, o que os cientistas fazem quando usam uma técnica chamada espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).

Uma máquina de RMN é essencialmente um enorme íman. Muitos átomos são essencialmente pequenos ímanes. Quando são colocados dentro de uma máquina de RMN, todos esses pequenos ímanes orientam-se para se alinharem com o íman gigante.

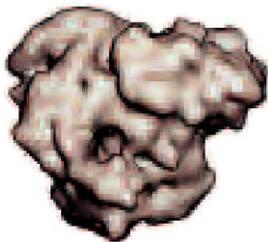
Ao explorar esta lei da Física, os espetroscopistas de RMN podem descobrir informações sobre as características físicas, químicas, eletrónicas e estruturais das moléculas.

Para além da difracção por raios-X, a RMN é a técnica mais frequentemente usada para determinar estruturas moleculares detalhadas. Esta técnica, que não tem nada a ver com reatores ou bombas nucleares, é baseada no mesmo princípio das máquinas de ressonância magnética, que permitem aos médicos ver tecidos e órgãos como o cérebro, coração ou rins.

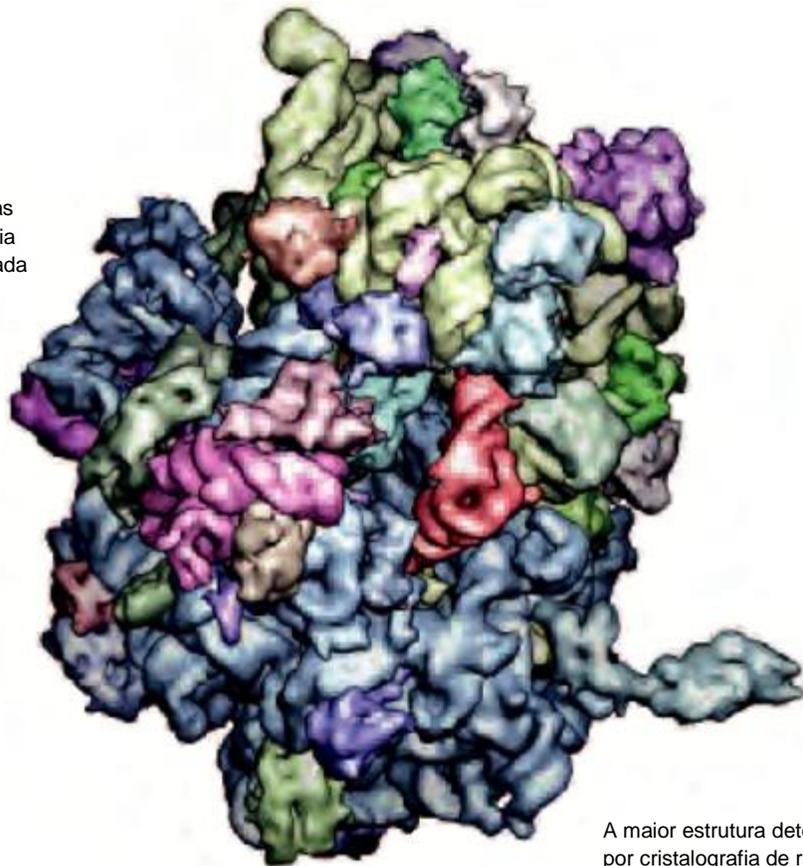
Embora a RMN seja usada para uma variedade de fins médicos e científicos – incluindo a determinação da estrutura de material genético (DNA e RNA), hidratos de carbono e outras moléculas – nesta publicação iremos focar-nos no uso da RMN na determinação da estrutura de proteínas.

- ▶ Atualmente, a espectroscopia RMN só permite determinar estruturas de proteínas de pequeno e médio tamanho. Mostra-se aqui, à escala, uma das maiores estruturas determinadas por espectroscopia RMN comparada com a maior estrutura determinada por cristalografia de raios-X (o ribossoma).

Imagens cedidas por Catherine Lawson,  
Rutgers University e RCSB Protein Data Bank



Uma das maiores estruturas determinada por RMN é a malato sintase G, com uma massa de 82 quilodaltons (kDa).



A maior estrutura determinada por cristalografia de raios-X é o ribossoma. O Protein Data Bank inclui muitas estruturas de ribossomas, a maior com mais de 2000 quilodaltons.

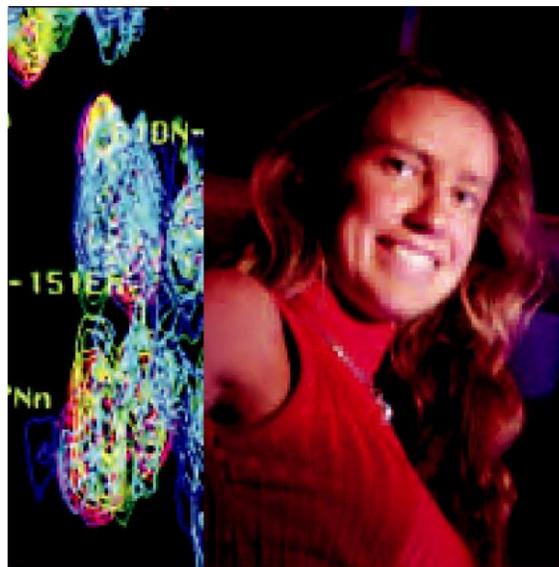
Os métodos utilizados para determinar as estruturas biológicas por espectroscopia RMN são bem mais recentes do que aqueles usados na cristalografia de raios-X. É por causa disso que estes se encontram constantemente a ser refinados e melhorados.

A área em que, de forma mais óbvia, a RMN fica atrás da cristalografia de raios-X, é no tamanho das estruturas que pode processar. A maioria dos espectroscopistas de RMN foca-se em moléculas não muito maiores do que 60 quilodaltons (cerca de 180 aminoácidos). Os cristalógrafos de raios-X conseguiram determinar estruturas de até 2500 quilodaltons – 40 vezes maiores.

No entanto, a RMN também possui vantagens em relação à cristalografia. Por um lado, faz uso de moléculas que estão em solução e, por isso, não fica limitada apenas àquelas moléculas que cristalizam bem. (Recorda que o passo da cristalização é muito incerto e demorado na técnica de cristalografia por raios-X.)

A RMN também facilita o estudo das propriedades das moléculas, para além da sua estrutura, tais como a flexibilidade da molécula e o modo como ela interage com outras moléculas. Com a cristalografia, é muitas vezes impossível estudar estes aspetos ou é necessário produzir um cristal novo para esse efeito. O uso combinado da RMN e da cristalografia dá aos investigadores uma imagem mais completa da molécula e da sua função do que cada uma destas técnicas em separado.

A RMN baseia-se nas interações que se estabelecem entre o campo magnético aplicado e os “pequenos ímanes” naturais existentes em certos núcleos atômicos. Para determinar a estrutura proteica, os espectroscopistas concentram-se nos átomos que são mais comuns nas proteínas, nomeadamente o hidrogénio, o carbono e o azoto.



### Um Afundação por Enzimas

*A espectroscopia RMN é ideal para estudar como as enzimas mudam de forma quando estão a desempenhar a sua função. Assim o diz Dorothee Kern, antiga jogadora profissional de basquetebol, que é hoje uma investigadora de RMN na Brandeis University. Lê acerca do seu trabalho em <http://publications.nigms.nih.gov/findings/feb03/enzymes.html> (sítio em inglês).*

Antes de começarem a determinar a estrutura de uma proteína, os investigadores já sabem a sequência de aminoácidos que a compõe (isto é, os nomes e a ordem de todos os aminoácidos constituintes). O que procuram saber com a RMN é como é que esta cadeia de aminoácidos se dobra e enrola para criar a proteína tridimensional ativa.

Determinar a estrutura de uma proteína recorrendo ao uso da RMN é como um bom trabalho de detetive. Os investigadores fazem uma série de experiências, cada uma das quais irá providenciar pistas parciais acerca da natureza dos átomos que compõem as moléculas da amostra, tais como: quão perto estão os átomos uns dos outros, se estão fisicamente ligados ou não ou onde se localizam dentro

do mesmo aminoácido. Outras experiências mostram as ligações entre aminoácidos adjacentes ou revelam as regiões flexíveis da proteína.

O desafio da RMN é usar várias séries destas experiências para descobrir propriedades únicas a cada átomo da amostra. Recorrendo a programas de computador, os espectroscopistas de RMN conseguem ter uma ideia da forma geral da proteína e conseguem ver possíveis arranjos dos átomos em diferentes partes da mesma. Cada nova série de experiências refina ainda mais estas estruturas possíveis. Por fim, os cientistas selecionam cuidadosamente 10 a 20 soluções que melhor representam os dados experimentais e apresentam a média destas soluções como estrutura final.

### *Espetroscopistas RMN Usam Proteínas Feitas à Medida*

Só certos isótopos de cada elemento químico possuem as propriedades magnéticas úteis à RMN. Possivelmente o isótopo mais familiar será o  $^{14}\text{C}$ , que também é usado em datações arqueológicas e geológicas.

Podes também já ter ouvido falar em isótopos no contexto da radioatividade. Nenhum dos isótopos habitualmente usados em RMN, nomeadamente o  $^{13}\text{C}$  e o  $^{15}\text{N}$ , é radioativo.

À semelhança de muitos outros cientistas na área da Biologia, os espectroscopistas de RMN (e os cristalógrafos de raios-X) usam bactérias inofensivas para produzir as proteínas necessárias para os seus estudos. Eles inserem o gene que codifica a proteína em estudo nessas bactérias. Como consequência, as bactérias que crescem e se dividem em balões de vidro são forçadas a produzir grandes quantidades



dessas proteínas feitas à medida.

Para obter proteínas que estejam marcadas com os isótopos corretos, os espectroscopistas de RMN colocam as bactérias sob uma dieta especial. Se, por exemplo, querem proteínas marcadas com  $^{13}\text{C}$ , as bactérias são alimentadas com alimentos com  $^{13}\text{C}$ . Assim, o isótopo é incorporado em todas as proteínas que sejam produzidas pelas bactérias.

## *A Magia da RMN Está nos Ímanes*

Os ímanes usados na RMN são incrivelmente fortes. Os que são utilizados para a determinação de estruturas proteicas com alta resolução têm uma frequência de operação que vai de 500 a 900 megahertz e geram campos magnéticos milhares de vezes mais fortes que o da Terra.

Embora a amostra seja exposta a um forte campo magnético, muito pouca força magnética sai da máquina. Se uma pessoa se posicionar ao lado de um poderoso íman de RMN, o máximo que poderá sentir é um ligeiro puxão num gancho de cabelo ou fecho. Mas não nos devemos aproximar demasiado se estivermos a usar um relógio caro ou levarmos a carteira no bolso. Os ímanes de RMN são conhecidos por parar relógios analógicos e estragar as bandas magnéticas dos cartões de crédito.

Os ímanes de RMN são supercondutores e, por isso, têm de estar arrefecidos com hélio líquido, que é mantido a 4 Kelvin (-269 graus Celsius). O azoto líquido, que é mantido a 77 Kelvin (- 196 graus Celsius), auxilia na manutenção do hélio em estado líquido.



Varian NMR Systems

▲ A maioria dos espectroscopistas de RMN recorrem a ímanes com uma frequência de operação de 500 a 900 megahertz. Este íman é de 900 megahertz.

## As Múltiplas Dimensões da RMN

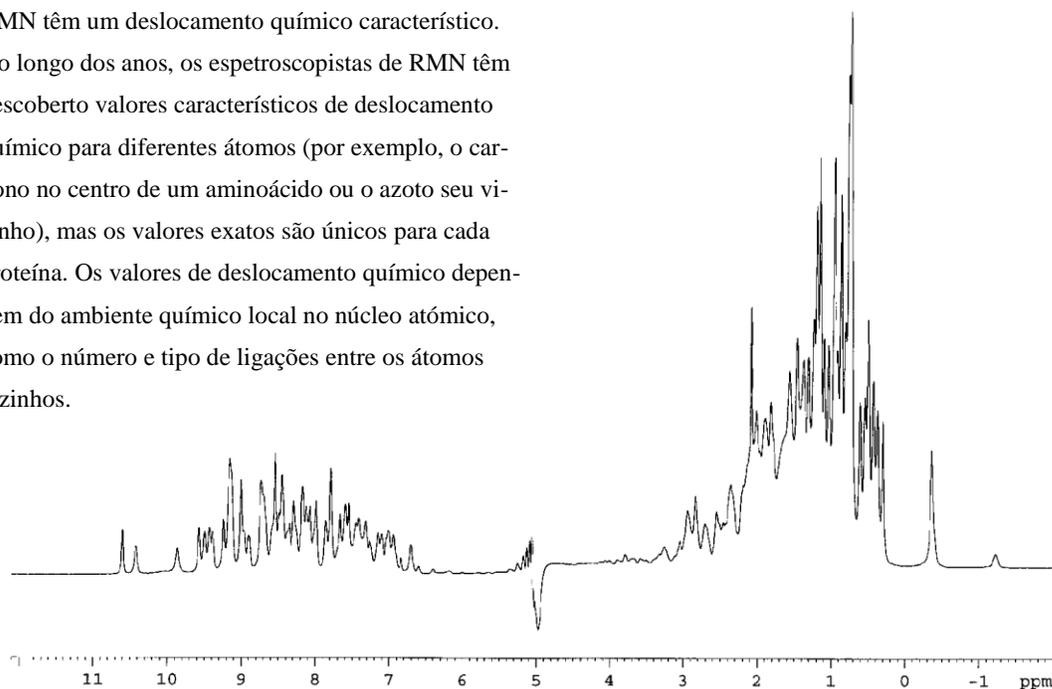
Para começar uma série de experiências de RMN, os investigadores inserem um estreito tubo de vidro, com cerca de meio mililitro de amostra, num íman poderoso e especialmente concebido para este fim. Os ímanes naturais dos átomos da amostra alinham-se com o íman da RMN de um modo semelhante às limalhas de ferro quando se alinham com um pequeno íman. Depois, os investigadores irradiam a amostra com uma série de pulsos de ondas rádio de frações de segundo que perturbam este equilíbrio magnético no núcleo dos átomos selecionados.

Ao observar como é que estes núcleos reagem às ondas rádio, os investigadores podem determinar a sua natureza química. Mais especificamente, medem uma propriedade dos átomos chamada deslocamento químico.

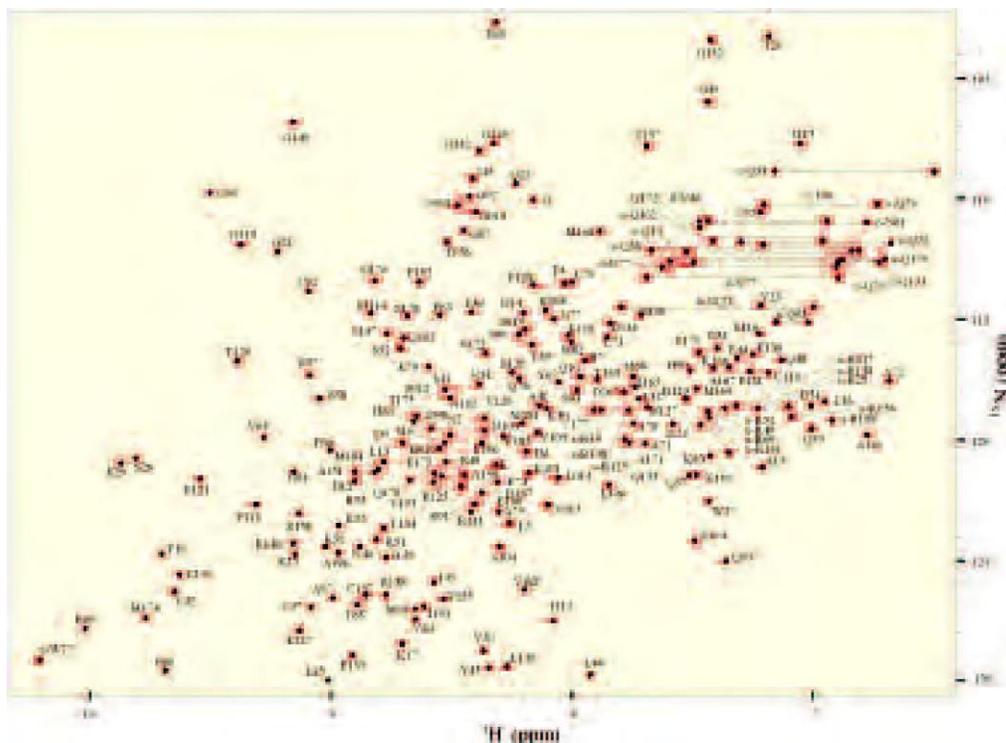
Todos os átomos da proteína que são ativos na RMN têm um deslocamento químico característico. Ao longo dos anos, os espetroscopistas de RMN têm descoberto valores característicos de deslocamento químico para diferentes átomos (por exemplo, o carbono no centro de um aminoácido ou o azoto seu vizinho), mas os valores exatos são únicos para cada proteína. Os valores de deslocamento químico dependem do ambiente químico local no núcleo atómico, como o número e tipo de ligações entre os átomos vizinhos.

O padrão destes deslocamentos químicos é representado como uma série de picos no chamado espetro de RMN unidimensional. Cada pico corresponde a um ou mais átomos de hidrogénio na molécula. Quanto maior for o pico, maior é o número de átomos de hidrogénio que representa. A posição dos picos ao longo do eixo horizontal indica a identidade química.

A sobreposição de picos, típica dos espetros da RMN unidimensional, oculta informação que é necessária para determinar a estrutura das proteínas. Para superar este problema, os cientistas recorrem a uma técnica chamada RMN multidimensional (RMN nD). Esta técnica combina vários conjuntos de experiências e separa os dados em pontos discretos. A localização de cada ponto indica propriedades únicas de



- ▲ Este espetro de RMN unidimensional mostra os deslocamentos químicos dos átomos de hidrogénio numa proteína de bactérias estreptocócicas.



▲ Espectro RMN bidimensional de uma proteína com os pontos já “etiquetados”.

Laboratório de Xiaolian Gao,  
University of Houston

um determinado átomo na amostra. Os investigadores devem depois “etiquetar” cada ponto com a identidade do átomo a que corresponde.

Para uma proteína pequena e simples, os programas de computador precisam apenas de alguns dias para atribuir a cada ponto um átomo em particular, com rigor. No caso de uma proteína maior e mais complexa, esta tarefa pode levar meses.

De modo a compreender melhor a RMNnD, podes imaginar uma enciclopédia. Se todas as palavras da enciclopédia fossem condensadas numa só dimensão,

o resultado seria uma única linha de texto ilegível, enegrecida pelo acumular de incontáveis letras.

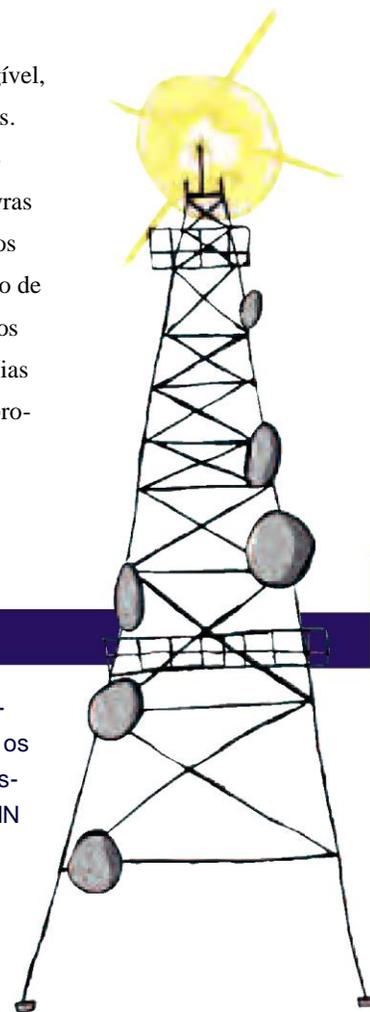
Ao expandir esta linha para duas dimensões – uma página – há ainda uma confusão de palavras sobrepostas. Só fazendo uma expansão a vários volumes é que é possível ler toda a informação de uma enciclopédia. Da mesma forma, os estudos de RMN mais complexos requerem experiências em três ou quatro dimensões para resolver o problema com clareza.

## A RMN Sintoniza as Ondas Rádio

Cada experiência de RMN é composta por centenas de pulsos de ondas rádio, cada um separado por poucos milissegundos. Os cientistas introduzem a experiência que gostariam de conduzir num computador, que depois envia com precisão estes pulsos temporizados à amostra e recolhe os dados resultantes.

Este processo de recolha de dados requer cerca de 20 minutos para uma experiência simples. No caso de moléculas mais complexas, pode demorar semanas ou meses.

Os pulsos de ondas rádio na RMN são bastante inofensivos quando comparados com os raios-X de elevada energia utilizados na cristalografia. De facto, se uma amostra de RMN for bem preparada, deveria durar muitos anos, permitindo aos investigadores fazer mais estudos com a mesma amostra no futuro.



### Os Espetoscopistas e o Puzzle das Estruturas

Para que possam determinar a disposição dos átomos numa molécula, os cientistas usam uma técnica de RMNnD designada de NOESY (pronuncia-se *nosy*, em inglês, o que significa intrometido) – Espetroscopia Nuclear de Efeito Overhauser (*Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy*). Esta técnica funciona melhor com átomos de hidrogénio, que possuem o sinal de RMN mais forte e que também são os átomos mais abundantes nos sistemas biológicos. São também os mais simples, uma vez que cada núcleo de hidrogénio contém apenas um protão.

Uma experiência com NOESY revela quão próximos no espaço estão os diferentes protões uns dos outros. Um par de protões que esteja muito próximo (tipicamente a menos de 3 angströms) irá gerar um sinal NOESY muito forte. Os pares de protões que estejam mais separados originarão sinais mais fracos, no limite de deteção da técnica, que é de cerca de 6 angströms.

Para estes casos, os cientistas (com os seus computadores) têm que determinar como é que os átomos estão dispostos no espaço. É como resolver um complexo puzzle tridimensional com milhares de peças.

### O Mundo Agitado das Proteínas

Embora a estrutura tridimensional detalhada de uma proteína seja muito valiosa para mostrar aos cientistas o aspeto da molécula, é apenas uma imagem estática da proteína congelada numa posição. As proteínas não são rígidas ou estáticas – são moléculas dinâmicas, em constante mudança, que se podem mover, dobrar, expandir e contrair. Os investigadores que usam a RMN podem explorar alguns destes movimentos moleculares internos alterando o solvente utilizado na dissolução da proteína em estudo.

Uma estrutura tridimensional de RMN por vezes apenas proporciona o contexto para estudos mais aprofundados. Depois de obter a estrutura, pode-se facilmente testar características que revelem o papel e comportamento da molécula no corpo, incluindo a sua flexibilidade, as suas interações com outras moléculas e o modo como reage a alterações de temperatura, acidez e a outras condições.



## A Desemaranhar o Enrolamento Proteico

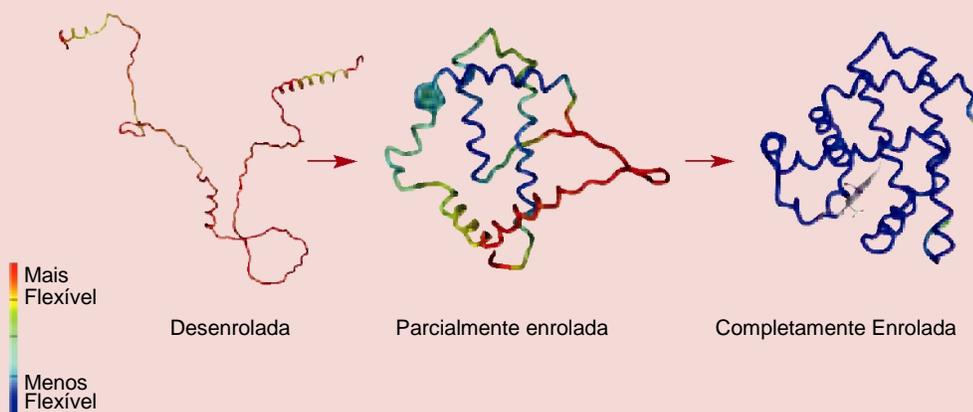
Cem mil milhões de anos. Esse é o tempo que os cientistas estimam que uma pequena proteína demora a enrolar-se naturalmente na sua forma ativa de modo aleatório. Mas, de alguma forma, a natureza fá-lo num décimo de segundo.

A maioria das proteínas começa como uma fita à deriva num lago, possivelmente com pequenas secções helicoidais. A molécula contorce-se rapidamente em vários estados parcialmente enrolados antes de “congelar” na sua forma final. Como o processo é tão rápido, os cientistas não o podem estudar diretamente. Mas a RMN serve para alguns estudos de enrolamento de proteínas.

Os espectroscopistas podem reverter ou interromper o enrolamento proteico alterando a temperatura, acidez ou composição química do ambiente líquido da proteína. Ao observar a proteína em diferentes estados de desemaranhamento, os investigadores esperam perceber como é que as proteínas se enrolam normalmente.

H. Jane Dyson e Peter Wright, um casal de espectroscopistas de NMR no *Scripps Research Institute* em La Jolla, California, usaram esta técnica para estudar a mioglobina em vários estados de enrolamento.

A mioglobina, uma pequena proteína que armazena oxigénio no tecido muscular, é ideal para o estudo da estrutura e dinâmica do enrolamento. Enrola-se rapidamente numa estrutura compacta de hélices alfa. Dyson e Wright usaram mudanças na acidez para revelar que regiões são mais flexíveis em diferentes estados de enrolamento. As duas primeiras estruturas mostradas abaixo representam, cada uma, uma das muitas conformações possíveis de uma molécula parcialmente enrolada.



Adaptado com autorização da revista *Nature Structural Biology* 1998, 5:499–503

Compreender como é que as proteínas se enrolam tão rápida e corretamente (a maior parte das vezes) vai permitir clarificar dezenas de doenças que se suspeita serem causadas por proteínas mal enroladas. Para além disso, um dos grandes desafios da indústria biotecnológica é persuadir as bactérias a produzirem grandes quantidades de proteínas humanas perfeitamente enroladas.

## PERFIL DE UM ESTUDANTE

### *O Puzzle Mais Doce*

“Obter a estrutura de uma proteína recorrendo à RMN é muito divertido”, diz Chele DeRider, uma aluna de Doutoramento na *University of Wisconsin-Madison*. “São-nos fornecidas todas estas peças de um puzzle e temos de utilizar uma série de regras, senso comum e pensamento intuitivo para colocar as peças nas posições certas. Quando se consegue fazê-lo, temos a estrutura de uma proteína.”

DeRider trabalha nas instalações de RMN da *UWMadison*. Ela está a refinar a estrutura da brazeína, uma pequena proteína doce que tem também outras propriedades dignas de nota, que a tornam interessante como substituto do açúcar. É 2000 vezes mais doce que o açúcar, com muito menos calorias. E, ao contrário do aspartame, mantém as sua propriedades adoçantes mesmo depois de exposta durante duas horas a temperaturas próximas às de ebulição.

Para além do seu potencial impacto no mercado multimilionário dos substitutos do açúcar, a brazeína pode ajudar a perceber como é que apreendemos

algumas substâncias como sendo doces. Os investigadores sabem quais são os aminoácidos da brazeína responsáveis pelo seu sabor – mudando um só deles pode aumentar ou eliminar este sabor – mas ainda estão a investigar como é que esses aminoácidos reagem com as células da língua para desencadear a sensação de doçura.



Jeff Miller, University of Wisconsin-Madison

*“Obter a estrutura de uma proteína recorrendo à RMN é muito divertido. . .  
Começa-se com uma série de pontos numa página  
e termina-se com a estrutura de uma proteína.”*

Chele DeRider  
Estudante de Doutoramento  
University of Wisconsin-Madison

DeRider interessou-se pela RMN enquanto estudante de licenciatura na *Macalester College* em St. Paul, Minnesota. Estava a estudar Química Orgânica, mas percebeu que passava a maior parte do tempo a fazer espectros de RMN dos seus compostos. “Percebi que isso era o que eu mais gostava na minha investigação”, diz ela.

Depois de acabar o Doutoramento, planeia conseguir uma bolsa de pós-Doutoramento para continuar a usar a RMN no estudo de proteínas e depois ensinar numa pequena universidade, como foi a sua.



- ▲ As bagas desta planta africana, de tamanho semelhante ao de uma ameixa, contêm brazeína, uma proteína pequena e doce.



## Comprendeste?

Indica uma vantagem e uma desvantagem da RMN quando comparada com a cristalografia de raios-X.

O que é que os espetroscopistas de RMN aprendem com uma experiência NOESY?

Porque é que é importante estudar o enrolamento das proteínas?

## Design de Medicamentos Baseado na Estrutura: Do Computador ao Hospital

**E**m 1981, os médicos reconheceram uma nova e estranha doença nos EUA. Os primeiros pacientes sofriam de tipos raros de cancro e pneumonia. À medida que a doença se espalhou, os cientistas descobriram a sua causa: um vírus que ataca as células imunitárias humanas. Hoje uma das principais causas de morte a nível global, a doença é mais conhecida pelo seu acrónimo, SIDA.

O SIDA, ou Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, é causado pelo vírus da imunodeficiência humana, ou VIH.

Embora os investigadores não tenham encontrado uma cura para o SIDA, a Biologia Estrutural aumentou em muito a compreensão do VIH e tem tido um papel determinante no desenvolvimento de medicamentos para tratar esta doença mortal.

### A Vida de um Vírus do SIDA

O VIH foi rapidamente reconhecido como sendo um retrovírus, um tipo de vírus que transporta o seu material genético não como DNA, como a maioria dos outros organismos do planeta, mas como RNA. Depois de entrar numa célula, os retrovírus “transcrevem de forma reversa” o seu RNA para DNA.

Muito antes de se ouvir falar do VIH, já investigadores em laboratórios de todo o mundo estudavam retrovírus, alguns dos quais causadores de cancros nos animais. Estes cientistas determinaram o ciclo de vida dos retrovírus e identificaram as proteínas chave que estes vírus usam para infetar as células.

Quando o VIH foi identificado como um retrovírus, estes estudos deram uma vantagem aos investigadores do SIDA. As proteínas virais previamente identificadas tornaram-se os primeiros alvos dos medicamentos.

Ilustração de Louis E. Henderson, Investigador Principal (emérito, reformado)  
AIDS Vaccine Program, National Cancer Institute (Frederick, MD)

**1** As proteínas na superfície do VIH ligam-se a recetores proteicos numa célula imunitária humana. Isto desencadeia a fusão das membranas viral e celular, permitindo que o conteúdo do vírus entre na célula.

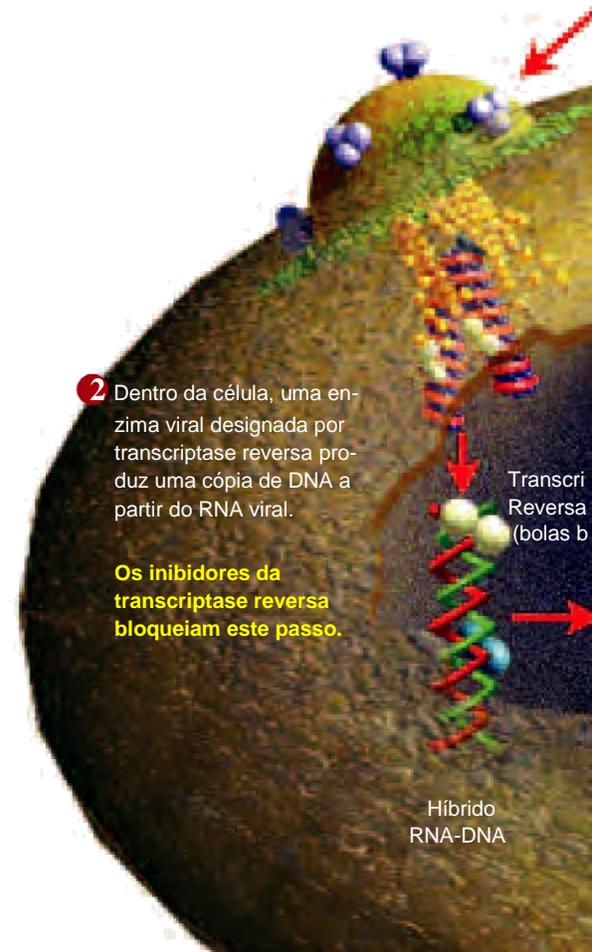
**Foi aprovado um novo medicamento que inibe este processo e previne a infeção.**

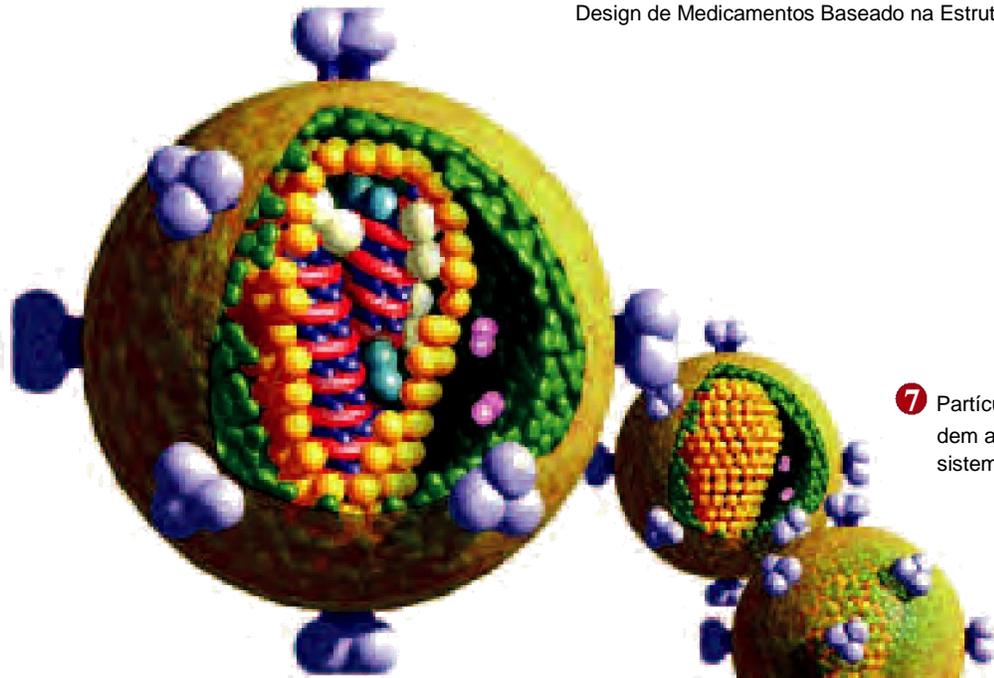
**2** Dentro da célula, uma enzima viral designada por transcriptase reversa produz uma cópia de DNA a partir do RNA viral.

**Os inibidores da transcriptase reversa bloqueiam este passo.**

Transcri  
Reversa  
(bolas b

Híbrido  
RNA-DNA





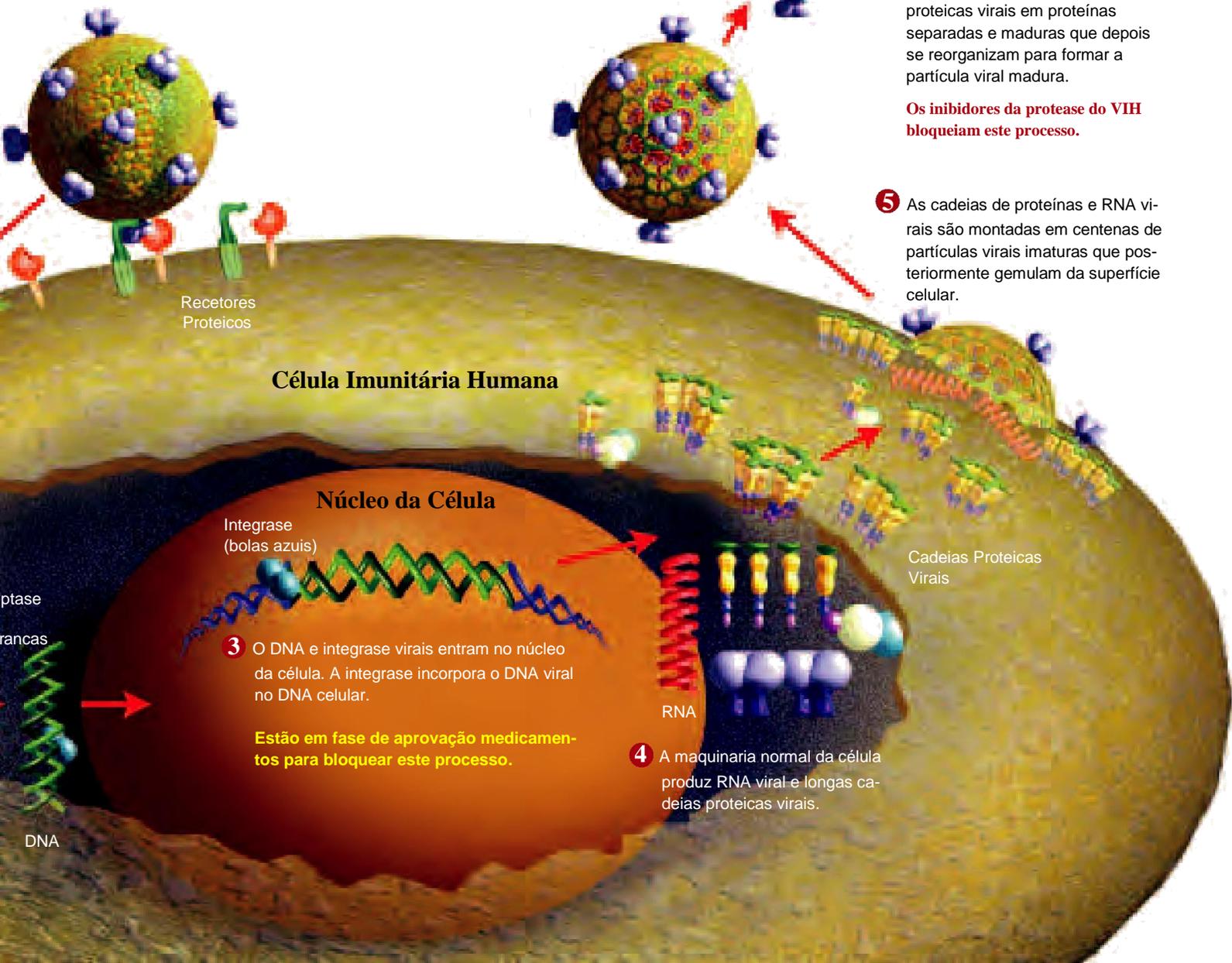
**Partícula de VIH**  
(corte para mostrar o interior)

**7** Partículas virais maduras podem atacar outras células do sistema imunitário humano.

**6** A protease do VIH corta as cadeias proteicas virais em proteínas separadas e maduras que depois se reorganizam para formar a partícula viral madura.

**Os inibidores da protease do VIH bloqueiam este processo.**

**5** As cadeias de proteínas e RNA virais são montadas em centenas de partículas virais imaturas que posteriormente gemulam da superfície celular.



Recetores Proteicos

**Célula Imunitária Humana**

**Núcleo da Célula**

Integrase (bolas azuis)

**3** O DNA e integrase virais entram no núcleo da célula. A integrase incorpora o DNA viral no DNA celular.

**Estão em fase de aprovação medicamentos para bloquear este processo.**

RNA

**4** A maquinaria normal da célula produz RNA viral e longas cadeias proteicas virais.

Cadeias Proteicas Virais

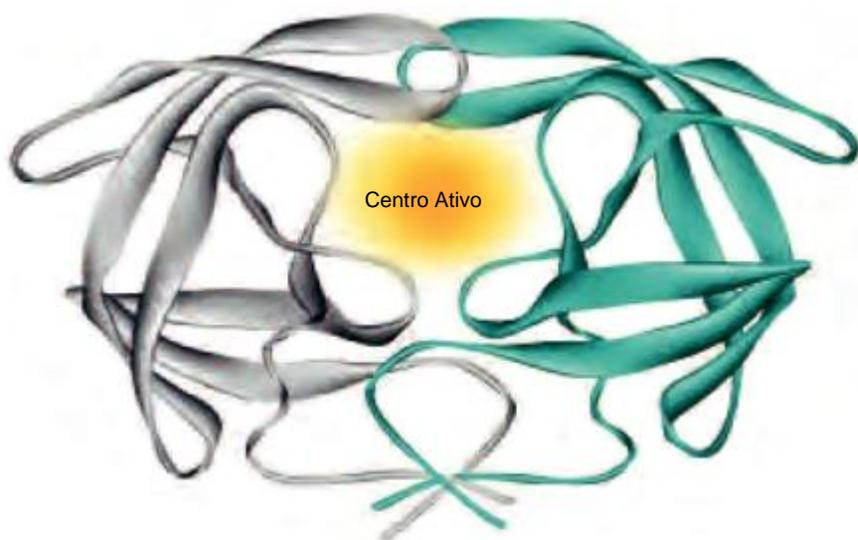
ptase

ranças

DNA

### Revelando o Alvo

A nossa história começa em 1989, quando os cientistas determinaram a estrutura cristalográfica de raios-X da protease do VIH, uma enzima essencial no ciclo de vida do VIH. Os cientistas farmacêuticos esperavam que, ao bloquear esta enzima, poderiam prevenir a disseminação do vírus pelo corpo.



- ▲ A protease do VIH é uma molécula simétrica (com duas metades iguais) e cujo centro ativo está perto do seu centro.

Os modelos moleculares da protease do VIH neste capítulo foram gerados por Alisa Zapp Machalek

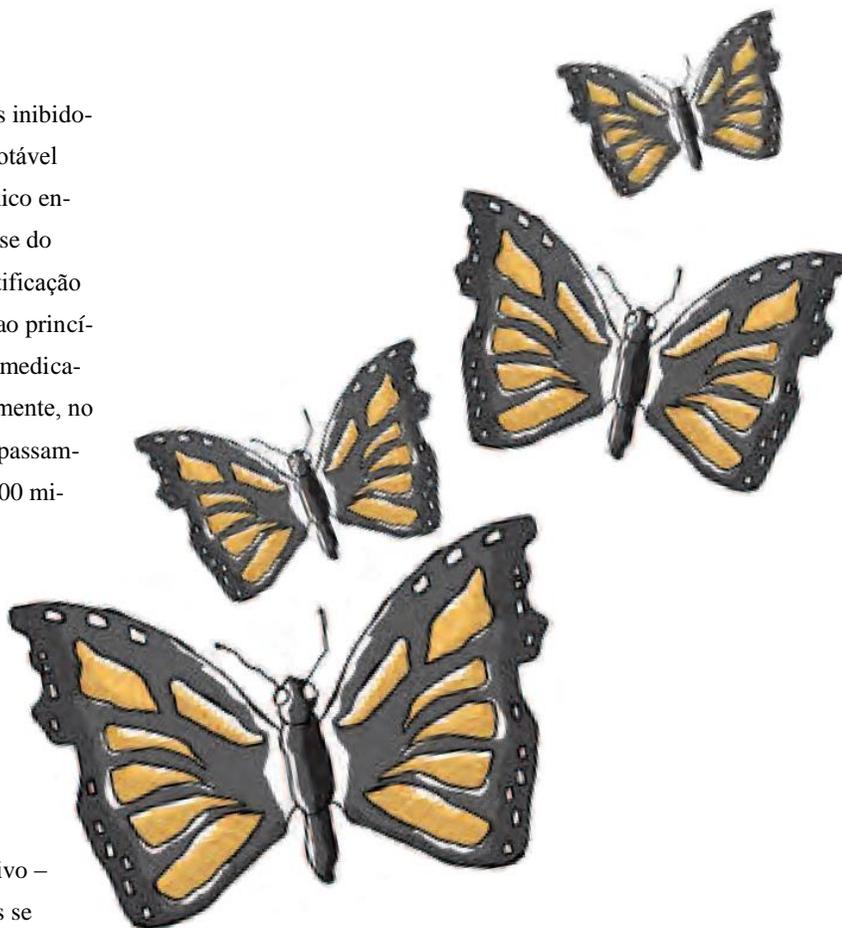
Com a estrutura da protease do VIH ao alcance, os investigadores deixaram de trabalhar às escuras. Puderam finalmente ver a enzima alvo – com emocionantes detalhes coloridos. Ao inserir a informação estrutural num programa de modelação computacional, foi-lhes possível rodar o modelo da enzima nas três dimensões, ampliar a mesma focando átomos específicos, analisar as suas propriedades químicas e até mesmo remover ou alterar certas partes da proteína.

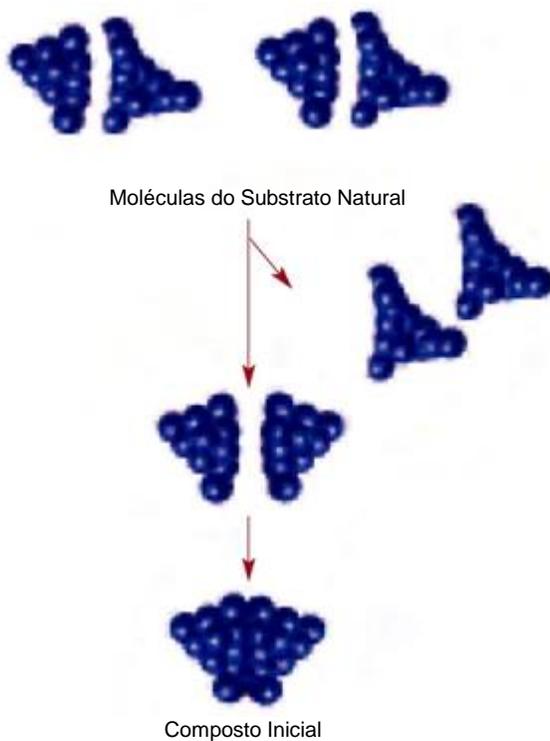
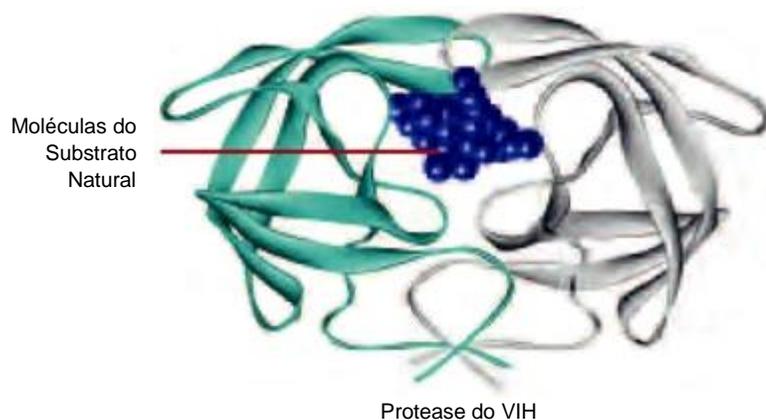
Mais importante ainda, podiam usar a estrutura computadorizada como referência para determinar o tipo de moléculas que poderiam bloquear a enzima. Estas moléculas podem ser encontradas em bases de dados de químicos ou desenhadas num ecrã de computador e depois sintetizadas num laboratório. Estas estratégias de design de medicamentos baseadas na estrutura têm o potencial de poupar anos e milhões de dólares quando comparadas com o processo tradicional de desenvolvimento de medicamentos baseado na prática de tentativa-erro.

Estas estratégias funcionaram no caso dos inibidores da protease do VIH. “Penso que é uma notável história de êxito”, diz Dale Kempf, um químico envolvido no programa de inibidores da protease do VIH nos laboratórios Abbott. “Desde a identificação da protease do VIH como alvo em 1988 até ao princípio de 1996, a colocação no mercado destes medicamentos demorou menos de 8 anos.” Normalmente, no desenvolvimento de um novo medicamento passam-se entre 10 a 15 anos e gastam-se mais de 800 milhões de dólares.

A estrutura da protease do VIH revelou um facto crucial – tal como as borboletas, a enzima é composta por duas metades iguais. Na maioria das moléculas simétricas como estas, as duas metades possuem uma “área de ação”, ou centro ativo, que desempenha a função da enzima. Mas a protease do VIH possui apenas um centro ativo – no centro da molécula, onde as duas metades se encontram.

Os cientistas farmacêuticos sabiam que podiam aproveitar esta característica. Se pudessem inserir uma pequena molécula neste centro ativo, conseguiriam inativar toda a enzima – e, teoricamente, interromper a proliferação do vírus no corpo.



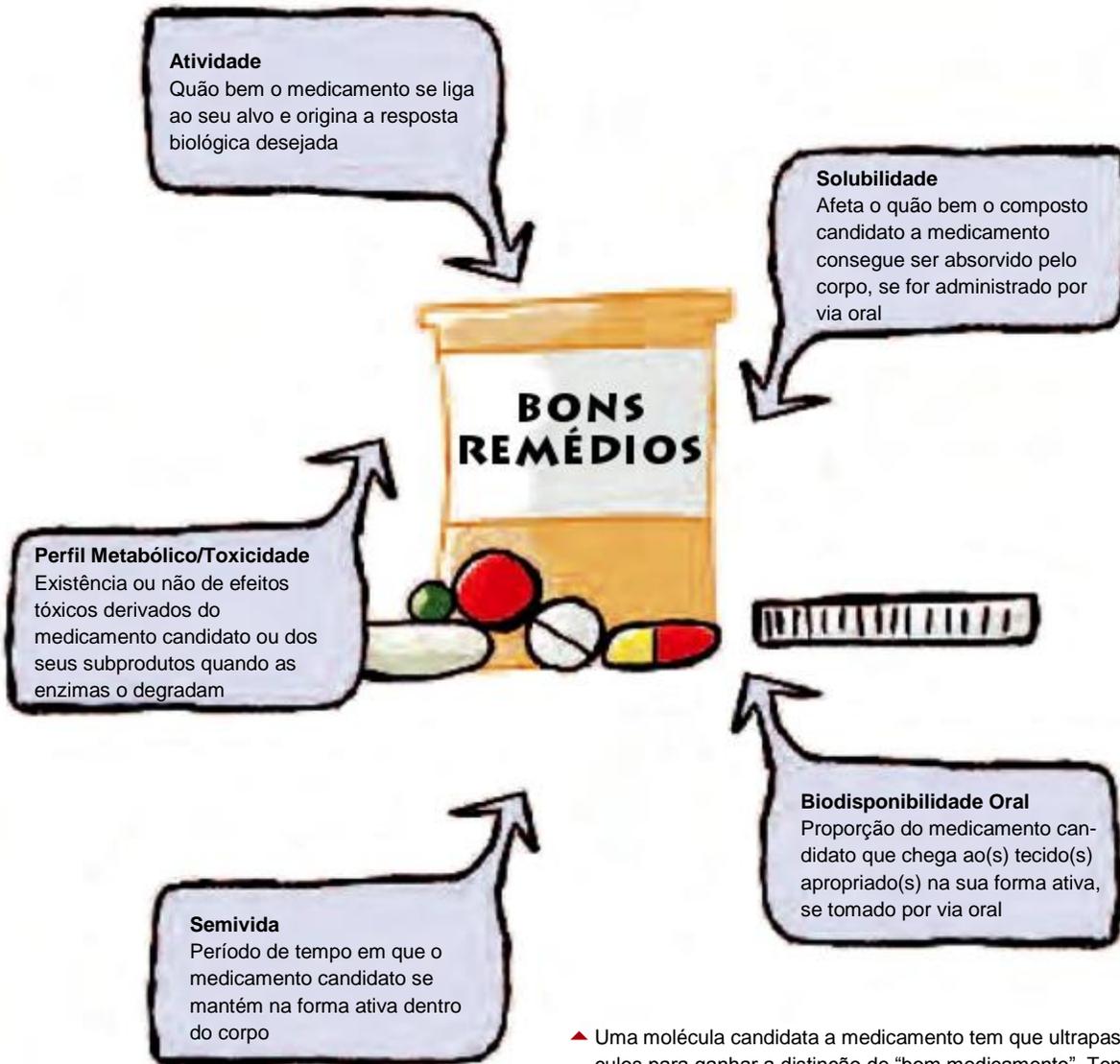


- ▲ Sabendo que a protease do VIH possui duas metades simétricas, os investigadores farmacêuticos inicialmente tentaram bloquear a enzima com pequenas moléculas simétricas. Isto foi feito cortando pela metade as moléculas do substrato natural e depois construindo a nova molécula, fundindo as duas metades idênticas desse substrato natural.

Várias companhias farmacêuticas começaram por usar a forma da enzima como guia. “Desenhámos moléculas candidatas a medicamento que tinham a mesma simetria bilateral da protease do VIH”, diz Kempf. “Conceptualmente, pegámos no substrato natural da enzima [as moléculas sobre as quais atua], cortámos essas moléculas ao meio, girámos os fragmentos 180° e colámos as duas partes de novo.”

Para deleite dos investigadores, a primeira molécula que sintetizaram encaixava perfeitamente no centro ativo da enzima. Era também um excelente inibidor – prevenia o funcionamento normal da protease do VIH. Mas não era solúvel em água, o que queria dizer que não podia ser absorvida pelo corpo e não podia ser efetiva como medicamento.

Os cientistas da Abbott continuaram a modificar a estrutura desta molécula para melhorar as suas propriedades. Eventualmente conseguiram obter uma molécula não simétrica à qual deram o nome de ritonavir (Norvir®).



- ▲ Uma molécula candidata a medicamento tem que ultrapassar muitos obstáculos para ganhar a distinção de “bom medicamento”. Tem que ter a melhor atividade, solubilidade, bioatividade, semivida e perfil metabólico possíveis. Ao tentar melhorar um destes fatores, muitas vezes afetam-se os outros. Por exemplo, se se alterar a molécula estruturalmente para melhorar a sua atividade, pode-se também diminuir a sua solubilidade ou semivida. Por esta razão, o resultado final deve ser sempre o melhor compromisso possível.

## *Design de Medicamentos Baseado na Estrutura: Bloquear a Fechadura*

Tradicionalmente, os cientistas identificam novos medicamentos manipulando os já existentes ou testando milhares de compostos em laboratório. Se pensarmos que a molécula alvo – a protease do VIH, neste caso – possui uma fechadura, esta abordagem assemelhar-se-á a uma tentativa de desenhar uma chave que encaixe na perfeição nessa fechadura a partir de uma enorme quantidade de pequenos pedaços de metal, cola e alicates.

Ao usar uma estratégia baseada na estrutura, os investigadores têm uma vantagem inicial. Começam com um modelo computadorizado da estrutura tridimensional detalhada da fechadura e da sua chave (a molécula natural, chamada substrato, que encaixa na fechadura e desencadeia a replicação viral). Depois, os cientistas tentam desenhar uma molécula que vá bloquear a fechadura e impedir a ligação do substrato chave.

Conhecendo a forma tridimensional exata da fechadura, os cientistas podem descartar todos os restos de metal (pequenas moléculas) que não tenham o tamanho ou forma adequados a ela. Podem até desenhar uma pequena molécula que encaixe precisamente na fechadura. Tal molécula pode ser o ponto de partida para aqueles investidores farmacêuticos que estão a desenhar medicamentos para o tratamento da infeção por VIH.

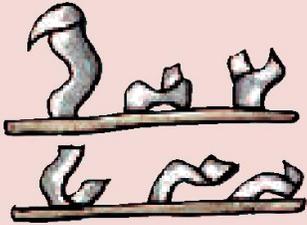
Claro que as moléculas biológicas são muito mais complexas do que chaves e fechaduras e o corpo humano pode reagir de forma imprevisível a novos medicamentos. Portanto, o caminho desde o ecrã do computador até à prateleira da farmácia é longo e acidentado.

- ▶ O design tradicional de medicamentos muitas vezes requer testagem aleatória de milhares, senão mesmo centenas de milhares, de compostos (aqui representados como restos de metal).



- ▶ Conhecendo a forma e propriedades químicas da molécula alvo, os cientistas que usam estratégias de design baseadas na estrutura podem abordar o problema com maior "racionalidade". Podem descartar as moléculas candidatas a medicamento que tenham a forma ou propriedades inadequadas.





Ensaio Clínico: A testagem em humanos é ainda uma das partes do desenvolvimento de medicamentos que demora mais tempo e que não é acelerada pelas abordagens baseadas na estrutura



### Uma Esperança para o Futuro

Entre dezembro de 1995 e março de 1996, a FDA (*Food and Drug Administration*) aprovou os três primeiros inibidores da protease do VIH: o Invirase™ (saquinavir) da Hoffman-La Roche, o Norvir™ (ritonavir) da Abbott e o Crixivan® (indinavir) da Merck & Co. Inicialmente, estes medicamentos foram aclamados como a primeira esperança real para os pacientes de SIDA em 15 anos. As manchetes dos jornais previam que o SIDA até poderia ter cura.

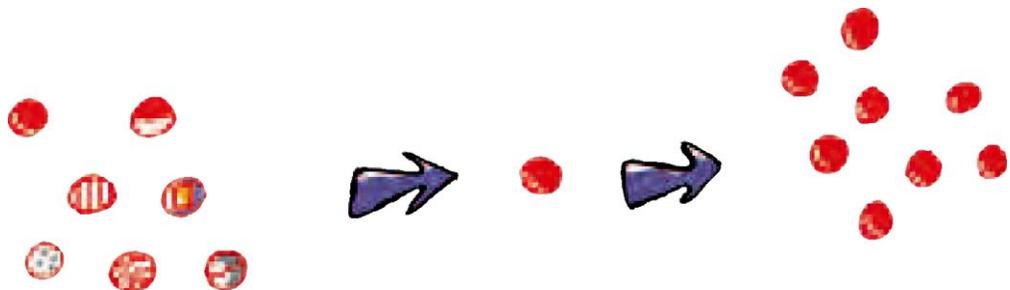
Apesar de os inibidores da protease do VIH não se terem tornado a cura milagrosa que muitos esperavam, eles representam um triunfo na terapia antiviral. Os antibióticos que são usados no tratamento de doenças causadas *por bactérias* são muito abundantes (apesar de estarem a ficar cada vez menos eficientes à medida que as bactérias vão desenvolvendo resistência), mas os médicos possuem muito poucos medicamentos para tratar infeções de *origem vírica*.

Os inibidores das proteases são também notáveis porque são um exemplo clássico de como a Biologia Estrutural pode aumentar e melhorar os métodos tradicionais de desenvolvimento de medicamentos.

“Eles mostram que, com apenas algumas noções acerca da estrutura e o desenho racional de medicamentos, combinados com a química médica tradicional, se podem obter medicamentos potentes que funcionam da maneira prevista”, diz Kempf.

“Isso não quer dizer que todos os problemas já estejam resolvidos”, continua. “Mas claramente estes compostos tiveram um impacto profundo na sociedade”. A taxa de mortalidade por SIDA diminuiu dramaticamente após a disponibilização destes medicamentos. Hoje em dia, os inibidores da protease são receitados em conjunto com outros medicamentos anti-VIH, de modo a criar um “cocktail combinado”, que é mais eficiente na repressão do vírus do que cada medicamento individualmente.

### Como Surge a Resistência do VIH



O VIH produz muitas versões diferentes dele próprio quando na corrente sanguínea do paciente (embora a maioria das versões corresponda à forma normal).

Os medicamentos matam todas estas as partículas virais, exceto aquelas que são resistentes aos medicamentos.

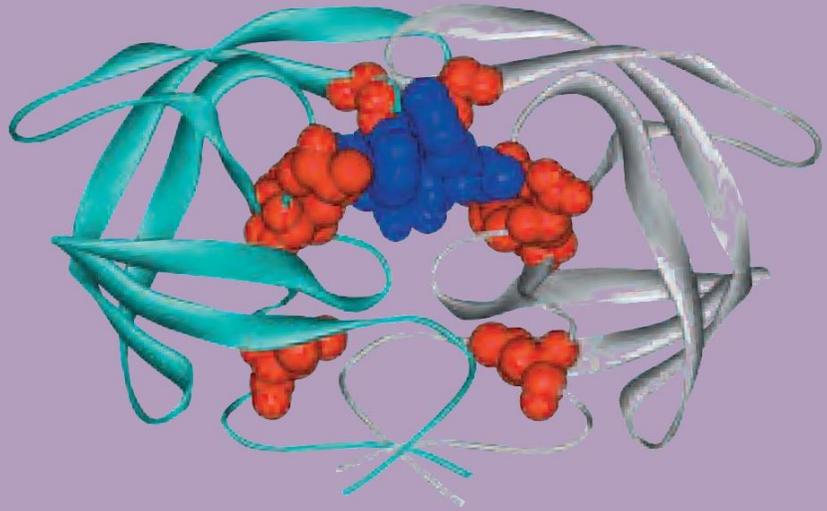
As partículas virais resistentes continuam a reproduzir-se. Em pouco tempo este medicamento já não é eficiente neste paciente.

## *Cercando a Resistência*

O VIH é um alvo em movimento. Quando se reproduz dentro de um organismo, em vez de gerar réplicas exatas de si mesmo, produz uma variedade de partículas virais ligeiramente alteradas. Alguns destes mutantes são capazes de escapar, ou “resistir”, aos efeitos dos medicamentos e podem transmitir essa resistência à sua descendência. Embora a maioria das partículas virais sucumba inicialmente ao medicamento, estes mutantes resistentes sobrevivem e multiplicam-se. O medicamento eventualmente perde a sua atividade anti-VIH porque a maioria das partículas virais da pessoa infetada lhe são resistentes.

Alguns investigadores estão a trabalhar numa nova geração de inibidores da protease do VIH desenhados para combater estirpes específicas resistentes aos medicamentos.

Imagens computadorizadas detalhadas da protease do VIH destas estirpes, revelaram que mesmo algumas substituições de aminoácidos longe do centro ativo da enzima podem gerar resistência. Alguns grupos de investigação estão a tentar combater a enzima no seu próprio jogo, desenhando medicamentos que se liguem a estas formas mutantes de protease do VIH. Outros estão a tentar desenhar moléculas que se li-



▲ Os cientistas já identificaram dezenas de mutações (a vermelho) que permitem à protease do VIH escapar aos medicamentos. Nalgumas estirpes resistentes de VIH, as moléculas de protease têm duas ou três destas mutações. Para superar a mestria de mutação da enzima, os investigadores estão a desenhar medicamentos que interajam com aminoácidos essenciais para a função da enzima. Esta abordagem corta as vias de fuga da enzima. Como resultado, a enzima (e, portanto, todo o vírus) é forçada a sucumbir ao medicamento.

guem ao calcanhar de Aquiles da molécula – os ácidos aspárticos do centro ativo e outros aminoácidos que, se alterados, inutilizam a enzima. Outros ainda, estão a tentar descobrir inibidores que sejam mais potentes e convenientes de tomar, que tenham menos efeitos secundários ou que combatam melhor as estirpes mutantes do vírus.

## PERFIL DE UM ESTUDANTE

### *O Fascínio pela Infecção*

“**E**u gosto mesmo de estudar retrovírus”, diz Kristi Pullen, que se licenciou em Bioquímica pela *University of Maryland, Baltimore County* (UMBC). “Também gosto de agentes altamente infecciosos, como o Ébola. Quanto mais virulento, menos conhecido e, portanto, mais sujeito a todo o tipo de questões fascinantes. Não poderia deixar de me interessar.”

Para além do seu trabalho relacionado com as aulas na UMBC, Pullen ajudou na determinação da estrutura de retrovírus no laboratório de espectroscopia de RMN de Michael Summers. Esta investigação consiste em saber como os retrovírus fazem o empacotamento de “ogivas de RNA”, que é o que lhes permite espalharem-se pelo corpo. O trabalho poderá eventualmente levar a um novo alvo para medicamentos para doenças retrovirais, incluindo o SIDA.



Kelly Burns Photography, Columbia, Maryland

*“Trabalhar no laboratório do Dr. Summers e noutros laboratórios ensina-nos que a investigação pode ser divertida. Não se trata apenas de um grupo de pessoas de bata branca. Fomos andar de bicicleta e esquiar juntos.*

*Todos eram bons companheiros de trabalho.”*

Kristi Pullen  
Estudante de Doutorado  
*University of California, Berkeley*

Até ao seu último ano do Ensino Secundário, Pullen queria ser uma cirurgiã de Ortopedia. Mas, após a sua primeira experiência de trabalho num laboratório, reconheceu que “existe mais em ciência do que em Medicina”. Depois de ter feito algumas disciplinas de ciências, apercebeu-se de que tinha uma necessidade interior de aprender ciência e trabalhar num laboratório.

Pullen é agora uma estudante de Doutorado na *University of California, Berkeley* no Departamento de Biologia Celular e Molecular. Planeia continuar a estudar Biologia Estrutural, terminar o

Doutorado e, quem sabe, até fazer depois Medicina.

Tem também alguns objetivos a longo prazo. “Em última análise, o que gostaria de fazer bem bem bem lá para a frente, seria liderar os NIH [*National Institutes of Health*, Institutos Nacionais de Saúde] ou os CDC [*Centers for Disease Control and Prevention*, Centros de Controlo e Prevenção de Doenças] e, dessa forma, ter influência na saúde de um grande número de pessoas – de todo o país.”

### Controlar a Dor da Artrite

Embora os inibidores da protease do VIH sejam exemplos clássicos do design de medicamentos baseado na estrutura, são também pouco comuns (pelo menos por enquanto). Apesar de muitas companhias farmacêuticas possuírem divisões inteiras devotadas à Biologia Estrutural, a maioria recorre a uma abordagem complementar, aliada a outros métodos mais



National Institutes of Health

▲ A artrite reumatoide é uma doença do sistema imunitário que afeta mais de 2 milhões de norte-americanos, causando dor, rigidez e inchaço nas articulações. Pode deformar mãos, pulsos, joelhos, tornozelos, ombros e cotovelos. Provoca in-

flamações em órgãos internos e pode levar a invalidez permanente. A osteoartrite apresenta alguns dos mesmos sintomas, mas desenvolve-se mais lentamente e apenas afecta algumas articulações.

tradicionais de descoberta de medicamentos. Em muitos casos, a estrutura de uma molécula alvo é determinada depois de uma triagem tradicional ou mesmo depois do medicamento estar no mercado.

Este foi o caso do Celebrex®. Inicialmente desenvolvido para o tratamento da artrose e da artrite reumatoide adulta, o Celebrex® tornou-se o primeiro medicamento a ser aprovado para o tratamento de uma doença chamada FAP ou polipose adenomatosa familiar, que leva a cancro do cólon.

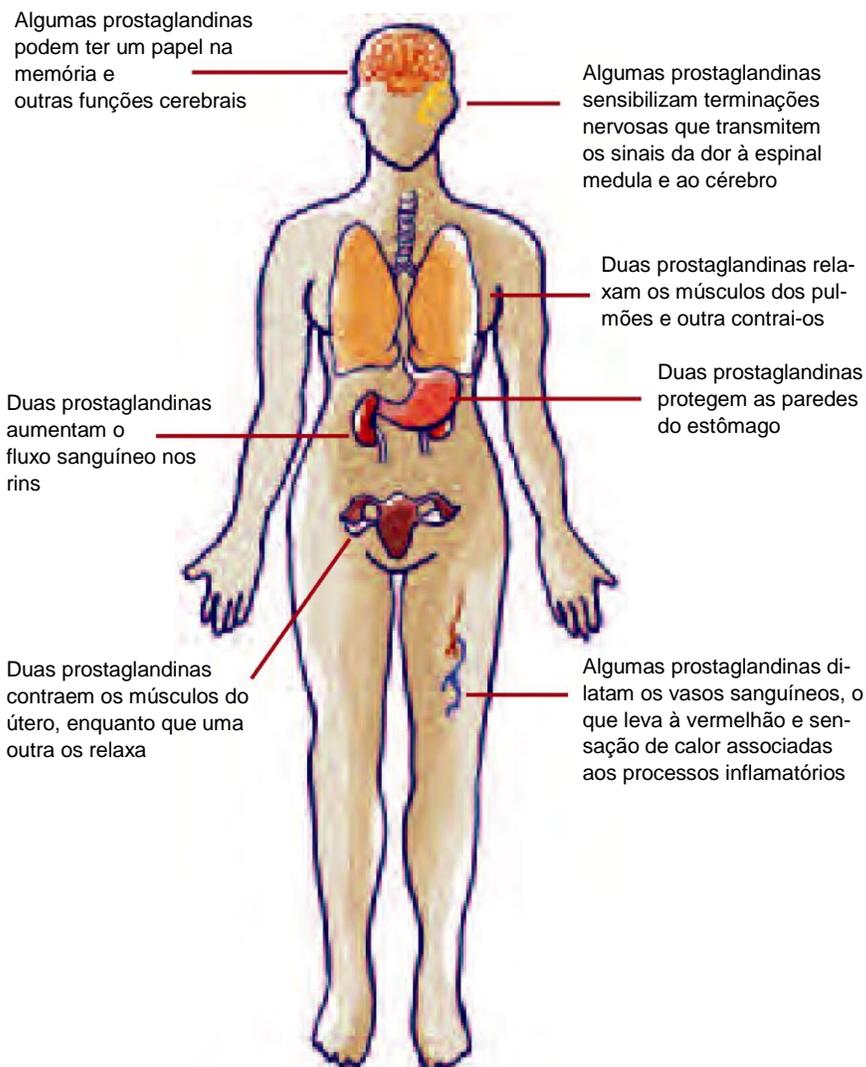
Normalmente, a dor e inchaço da artrite são tratados com medicamentos como a aspirina ou o ibuprofeno, os chamados anti-inflamatórios não esteroides (AINEs). Mas este tipo de medicação pode danificar o sistema gastrointestinal, incluindo úlceras hemorrágicas. De facto, num estudo recente descobriu-se que esses efeitos secundários levam a mais de 100 000 hospitalizações e 16 500 mortes anuais. De acordo com este estudo, se estes efeitos secundários fossem incluídos nas tabelas de mortalidade, seriam a 15ª causa de morte nos EUA.

Uma descoberta afortunada permitiu aos cientistas desenvolverem medicamentos que retêm as propriedades anti-inflamatórias dos AINEs, sem os efeitos secundários causadores de úlceras.

Ao estudar estes medicamentos a nível molecular, os AINEs bloqueiam a ação de duas enzimas relacionadas designadas ciclo-oxigenases. A designação abreviada destas enzimas é COX-1 e COX-2.

Embora estas enzimas partilhem algumas funções, também diferem em alguns aspetos importantes. A COX-2 é produzida em resposta a uma lesão ou infeção e ativa moléculas que iniciam as respostas inflamatórias e imunitárias. Ao bloquear a COX-2, os AINEs reduzem a inflamação e a dor causadas pela artrite, dores de cabeça e entorses.

Em contraste, a COX-1 produz moléculas, designadas por prostaglandinas, que protegem o revestimento estomacal dos ácidos digestivos. Quando os AINEs bloqueiam esta função, provocam a formação de úlceras.

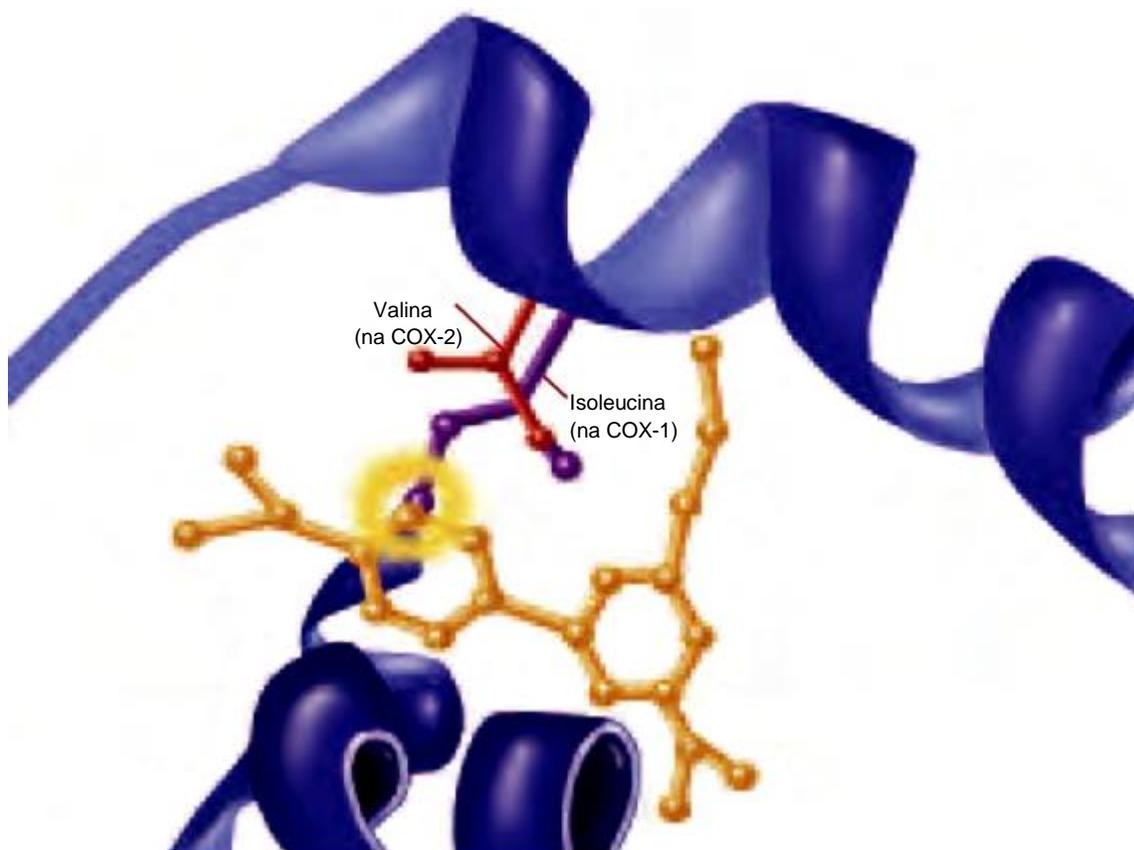


▲ Tanto a COX-1 como a COX-2 produzem prostaglandinas, que têm uma série de papéis no corpo – por vezes de efeito oposto. Alguns desses papéis são mostrados aqui.

Para poderem criar um analgésico que não provoque o aparecimento de úlceras, os cientistas perceberam que havia a necessidade de desenvolver novos medicamentos que bloqueassem a COX-2, mas que não interferissem com a função da COX-1. Tal composto foi descoberto utilizando a química medicinal corrente, tendo sido comercializado sob o nome de Celebrex®. Rapidamente se tornou o fármaco mais

vendido na história dos EUA, gerando mais receitas médicas no seu primeiro ano de mercado do que os dois medicamentos líderes nessa altura combinados.

Simultaneamente, os cientistas estavam a estudar a estrutura molecular das enzimas COX. Através da Biologia Estrutural puderam verificar exactamente como é que o Celebrex® se liga à COX-2, mas não à COX-1.

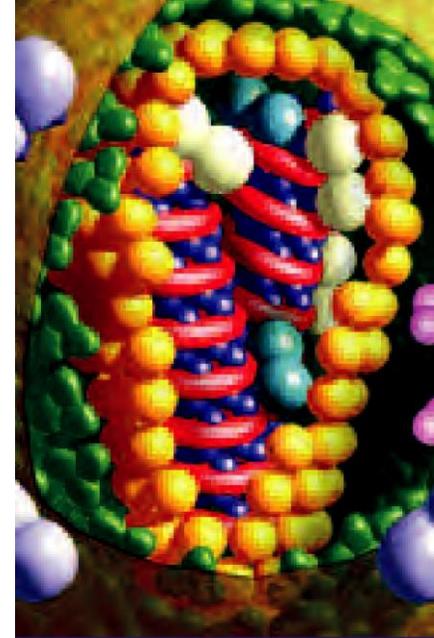


▲ Esta ampliação dos centros ativos da COX-1 e COX-2 (fitas azuis) mostra porque é que o Celebrex® se pode ligar a uma das enzimas COX, mas não à outra. A substituição de um único aminoácido faz toda a diferença. Num local crítico da proteína, a COX-2 contém uma va-

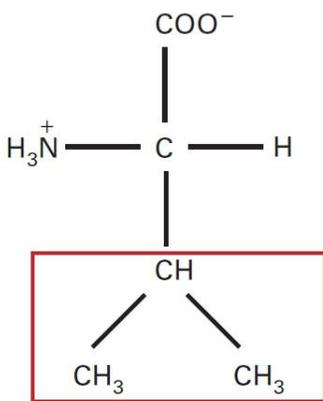
lina (a vermelho), um pequeno aminoácido que cria uma reentrância à qual o medicamento (a amarelo) se liga. Na mesma posição, a COX-1 contém a isoleucina (a roxo), que provoca uma protuberância que impede que o medicamento se ligue à enzima.

As estruturas tridimensionais da COX-2 e da COX-1 são quase idênticas. Mas, existe uma alteração num aminoácido no centro ativo da COX-2 que cria uma reentrância extra que permite ligações. É a este local que o Celebrex® se liga.

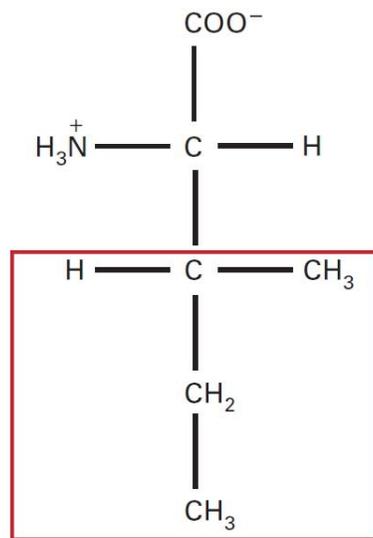
Para além de mostrar aos investigadores, com detalhe átomo a átomo, como é que o medicamento se liga ao seu alvo, as estruturas das enzimas COX vão continuar a servir de modelo para perceber como é que estas moléculas funcionam no corpo.



### Comprendeste?



Valina



Isoleucina

O que é o design de medicamentos baseado na estrutura?

Como é que o design de medicamentos baseado na estrutura foi utilizado no desenvolvimento de um inibidor da protease do VIH?

De que modo é que a diferença estrutural entre a COX-1 e a COX-2 é responsável pela eficácia do Celebrex®?

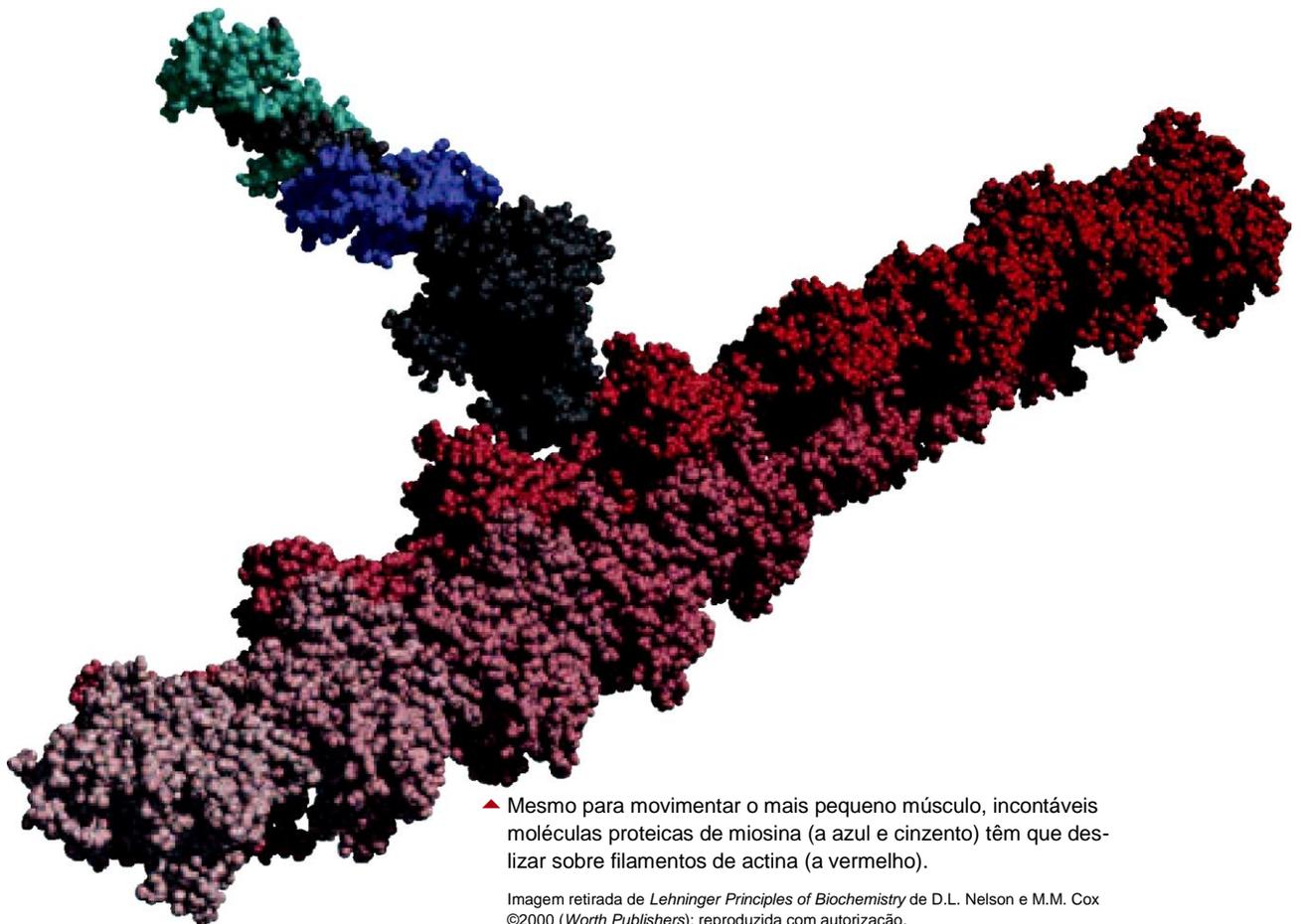
Como é que os vírus se tornam resistentes aos medicamentos?

## *Para Além do Design de Medicamentos*

Esta publicação tem-se centrado nas aplicações médicas mais imediatas da Biologia Estrutural. No entanto, os estudos detalhados das estruturas proteicas têm valor e potencial que vão muito além dos limites da indústria farmacêutica. Na sua base, esta investigação ensina-nos sobre a natureza fundamental das moléculas biológicas. Os exemplos mencionados de seguida dão um pequeno vislumbre das áreas e problemas que a Biologia Estrutural tem ajudado a esclarecer.

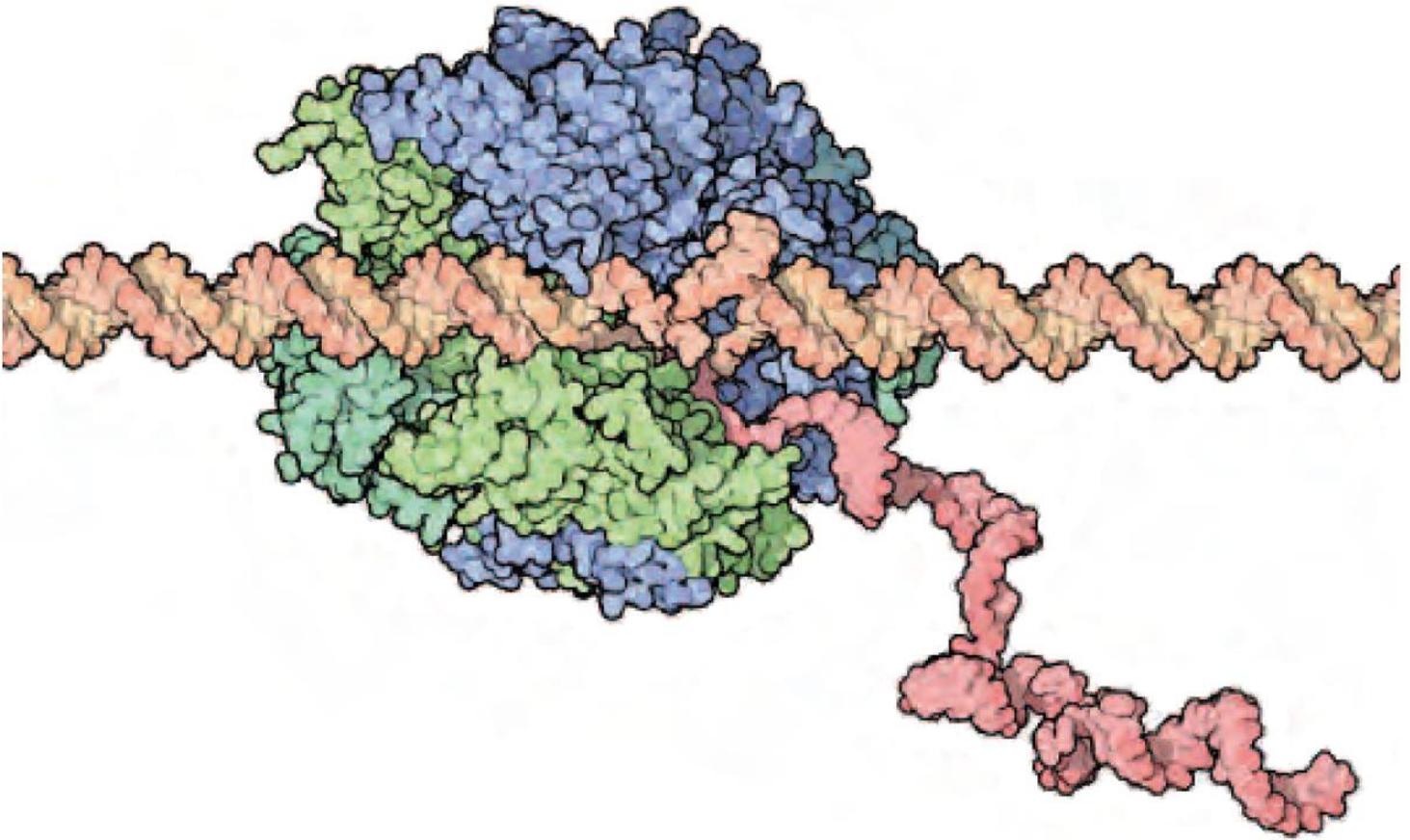
### **Contração Muscular**

A cada movimento que fazemos, desde um suspiro a uma corrida, espessos filamentos da proteína muscular miosina deslizam sobre finos filamentos da proteína actina nas nossas células. Estas proteínas também ajudam à divisão das células e permitem o seu movimento e mudança de forma – um processo essencial, quer para a formação de diferentes tecidos durante o desenvolvimento embrionário, quer para a disseminação de cânceros. Já são conhecidas as estruturas detalhadas da miosina e da actina.



▲ Mesmo para movimentar o mais pequeno músculo, incontáveis moléculas proteicas de miosina (a azul e cinzento) têm que deslizar sobre filamentos de actina (a vermelho).

Imagem retirada de *Lehninger Principles of Biochemistry* de D.L. Nelson e M.M. Cox ©2000 (Worth Publishers); reproduzida com autorização.



- ▲ A estrutura da RNA polimerase (a azul e verde) mostra como esta lê o DNA (a laranja) e faz uma cadeia complementar de RNA (a rosa).

Imagem de David S. Goodsell, *The Scripps Research Institute*  
(para a "Molécula do Mês" do *RCSB Protein Data Bank*)

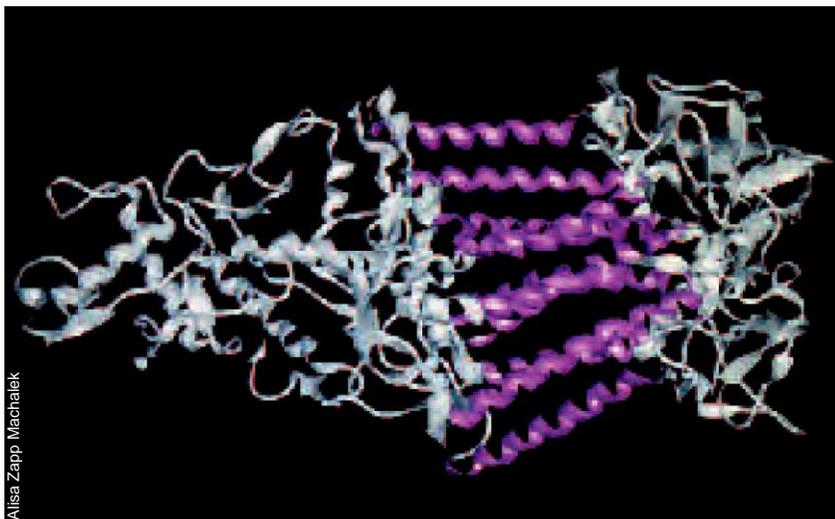
## Transcrição e Tradução

As células usam as instruções contidas no DNA para fazerem proteínas. Para cumprir esta tarefa, dezenas de moléculas (maioritariamente proteínas) aglomeram-se e separam-se em movimentos cuidadosamente cronometrados. As estruturas de muitas destas moléculas são conhecidas e têm permitido uma melhor compreensão da transcrição e da tradução.

Um exemplo chave é a RNA polimerase, uma enzima que lê o DNA e sintetiza uma cadeia complementar de RNA. Esta enzima é uma máquina molecular composta por dezenas de pequenas proteínas diferentes. Em 2001, Roger Kornberg, um cristalógrafo da *Stanford University*, determinou a estrutura da RNA polimerase em funcionamento. Esta estrutura cristalográfica sugeriu um papel distinto para cada uma das proteínas da RNA polimerase. Em 2006, Kornberg recebeu o Prémio Nobel da Química por este trabalho.

## Fotossíntese

“A fotossíntese é a reação química mais importante da biosfera, uma vez que é um pré-requisito para todo o tipo de vida superior na Terra”, de acordo com a Fundação Nobel, que atribuiu o Prémio Nobel em Química em 1988 a três investigadores que determinaram a estrutura de uma proteína crucial para a fotossíntese. Esta proteína, não de uma planta, mas de



Alisa Zapp Machatek

- ▲ Este centro de reação fotossintética bacteriano foi a primeira proteína membrana cuja estrutura foi determinada. As espirais roxas (hélices alfa) mostram onde é que a proteína atravessa a membrana. Na orientação representada acima, a parte esquerda da molécula projeta-se à superfície da célula bacteriana, enquanto que a parte direita está dentro da célula.

uma bactéria fotossintética, foi a primeira estrutura cristalográfica de raios-X de uma proteína embebida numa membrana. O feito foi extraordinário porque é muito difícil dissolver proteínas de membrana na água (um passo essencial para o processo de cristalização). Para aprofundar ainda mais, a Fundação Nobel diz: “[Esta] determinação estrutural... tem uma importância química considerável muito para além do campo da fotossíntese. Muitas funções biológicas essenciais além da fotossíntese... estão associadas a proteínas ligadas a membranas. Exemplos disso são o transporte de substâncias químicas entre células, a ação hormonal e os impulsos nervosos” – por outras palavras, a transdução de sinal.

## Transdução de Sinal

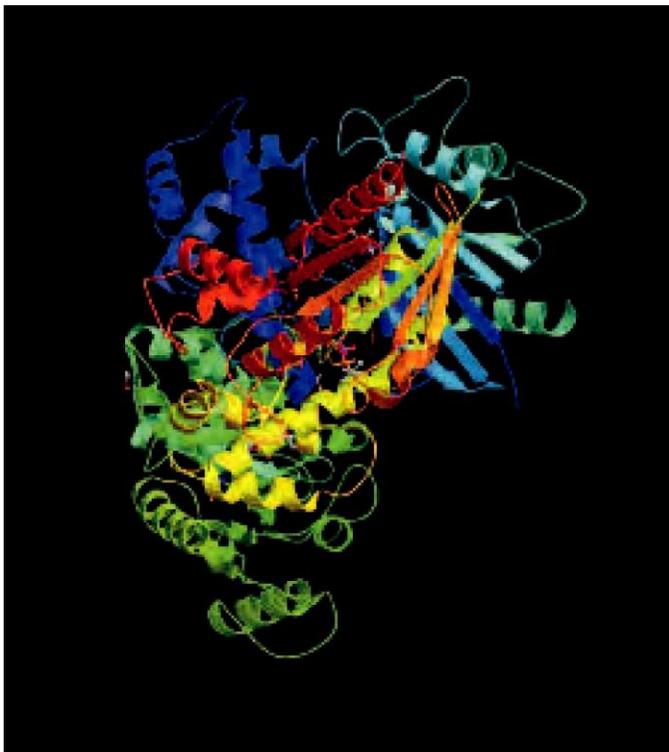
Centenas, senão mesmo milhares, de processos vitais requerem a transmissão de um sinal bioquímico às células. Estes sinais podem ser hormonas, pequenas moléculas ou impulsos elétricos, os quais podem chegar às células através da corrente sanguínea ou de outras células. Quando as moléculas-sinal se ligam aos recetores proteicos na superfície externa da célula, iniciam uma “cascata” de reações que envolvem muitas outras moléculas dentro da célula. Dependendo da natureza da célula alvo e da molécula sinal, esta cadeia de reações pode gerar um impulso nervoso, uma mudança no metabolismo celular ou a libertação de

uma hormona. Os investigadores determinaram a estrutura de algumas destas moléculas envolvidas nas vias de transdução de sinal mais comuns.

Os recetores proteicos que se ligam à molécula sinal original estão por vezes embebidos na membrana celular externa, de modo que, tal como as proteínas envolvidas na fotossíntese, são difíceis de cristalizar. Obter as estruturas de recetores proteicos, não só nos dá a conhecer mais sobre as bases

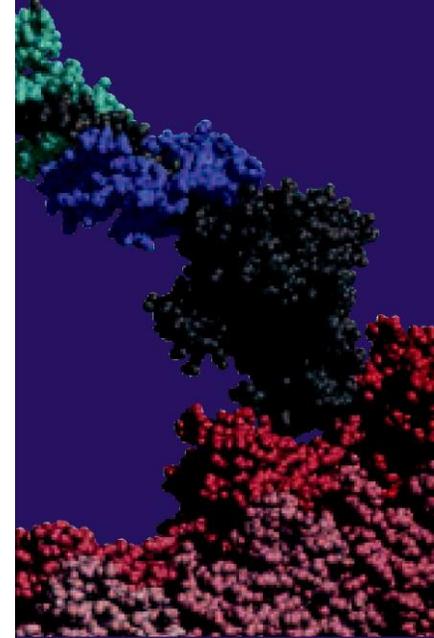
da transdução de sinal, como também nos leva, de novo, à indústria farmacêutica. Pelo menos 50% dos medicamentos existentes no mercado tem como alvo proteínas recetoras – um alvo mais comum do que qualquer outro tipo de molécula.

Como esta publicação demonstra, um poderoso meio de aprender mais sobre a saúde, combater a doença e aprofundar o nosso conhecimento sobre os processos vitais é o estudo dos detalhes das moléculas biológicas – as extraordinárias estruturas da vida.



RCSB Protein Data Bank (<http://www.pdb.org>)

▲ Os membros de uma família de moléculas, chamadas proteínas G, muitas vezes atuam como “condutores” de passagem de mensagens moleculares dos recetores proteicos para outras moléculas no interior da célula.



## Comprendeste?

Considerando o livro como um todo, como definirias a Biologia Estrutural?

Quais são os objetivos científicos dos investigadores que trabalham neste campo do saber?

Se fosses um biólogo estrutural, que proteínas ou sistemas estudarias? Porquê?

## Glossário

**AINEs** | Medicamentos anti-inflamatórios não esteroides, como a aspirina ou o ibuprofeno.

**Alvo do medicamento** | Ver *molécula alvo*.

**Aminoácido** | A unidade estrutural das proteínas. Existem 20 aminoácidos padrão. Uma proteína é constituída por uma sequência específica de aminoácidos.

**Angström** | Unidade de comprimento usada para medir dimensões atómicas. Um angström é equivalente a  $10^{-10}$  metros.

**Átomo** | Unidade fundamental da matéria. Consiste num núcleo e electrões.

**Átomo ativo em RMN** | Um átomo que possui as propriedades magnéticas úteis à RMN. Para alguns átomos, a forma ativa em RMN é um isótopo raro, como o  $^{13}\text{C}$  ou o  $^{15}\text{N}$ .

**AZT (azidotimidina)** | Medicamento usado no tratamento do VIH. Tem como alvo a enzima transcriptase reversa.

**Bactéria** | Microorganismo primitivo, composto por uma célula sem núcleo. As bactérias vivem praticamente em todo lado. Algumas bactérias infetam seres humanos, plantas ou animais. Podem ser inócuas ou causar doenças.

**Bactérias resistentes a antibióticos** | Estirpes bacterianas com certas alterações (mutações) em algumas das suas moléculas que lhes permitem sobreviver aos medicamentos que foram desenhados para as matar.

**Base** | Componente químico (a unidade de informação fundamental) do DNA ou do RNA. O DNA tem quatro bases azotadas: adenina (A), timina (T), citosina (C) e guanina (G). O RNA também contém quatro bases, mas em vez da timina, contém o uracilo (U).

**Biologia estrutural** | Campo de estudo dedicado à determinação da estrutura tridimensional detalhada de moléculas biológicas para melhor compreender a sua função.

**Cadeia lateral** | Parte do aminoácido que lhe confere a identidade. As cadeias laterais variam desde um único átomo de hidrogénio (glicina) a um grupo de 15 ou mais átomos.

**Centro ativo** | Região da enzima à qual se liga o substrato e onde ocorre a reação química.

**Chaperoninas** | Proteínas que ajudam outras proteínas a enrolar (*foldings*) ou que escoltam outras proteínas dentro da célula.

**Ciclo-oxigenases** | Enzimas responsáveis pela produção de prostaglandinas e outras moléculas no corpo.

**Código genético** | Conjunto de tripletos do DNA (ou mRNA) que codificam aminoácidos específicos.

**COX-1 (ciclo-oxigenase-1)** | Enzima produzida continuamente no estômago, vasos sanguíneos, plaquetas sanguíneas e em partes dos rins. Produz prostaglandinas que, entre outras coisas, protegem as paredes do estômago dos ácidos digestivos. Uma vez que os AINEs bloqueiam a COX-1, podem levar ao desenvolvimento de úlceras.

**COX-2 (ciclo-oxigenase-2)** | Enzima que se encontra apenas nalguns locais, como o cérebro e partes dos rins. Só é produzida em resposta a lesões ou infeções. Gera prostaglandinas envolvidas na inflamação e resposta imune. Os AINEs atuam bloqueando a ação da COX-2. Como os níveis elevados de COX-2 no organismo têm sido relacionados com cancro, os cientistas estão a investigar se, através do bloqueio da COX-2 é possível prevenir ou tratar alguns tipos de cancro.

**Cristalografia de raios-X** | Técnica usada na determinação da estrutura tridimensional detalhada de moléculas. É baseada na dispersão de raios-X através de um cristal da molécula em estudo.

**Design de medicamentos baseado na estrutura** | Aproximação ao desenvolvimento de medicamentos que tira partido das estruturas tridimensionais detalhadas das moléculas alvo.

**Deslocamento químico** | Propriedade atômica que varia dependendo das características químicas e magnéticas de um átomo e a sua posição dentro da molécula. Os deslocamentos químicos são medidos por espectroscopia RMN para se poder identificar o tipo de átomos numa determinada amostra.

**Desoxirribose** | O tipo de açúcar que se encontra no DNA.

**Difração anômala de múltiplos comprimentos de onda (MAD)** | Técnica usada em cristalografia de raios-X que acelera a determinação da estrutura proteica. Usa raios-X com diferentes comprimentos de onda, evitando que os cristalógrafos tenham que fazer vários cristais diferentes com metais.

**DNA (ácido desoxirribonucleico)** | A molécula da hereditariedade. De modo geral, é uma longa cadeia de nucleótidos, geralmente dupla, que transporta a informação genética necessária às funções celulares, incluindo a produção de proteínas. O DNA é composto pelo açúcar desoxirribose, grupos fosfato e as bases azotadas adenina, timina, guanina e citosina.

**Enzima** | Uma substância, normalmente de natureza proteica, que acelera, ou catalisa, uma reação química específica, sem ser permanentemente alterada ou gasta. Algumas moléculas de RNA podem agir como enzimas.

**Espectroscopia de efeito Overhauser nuclear (NOESY – Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy)** | Técnica de RMN usada na determinação de estruturas proteicas. Revela a que distância no espaço estão dois prótons diferentes (núcleos de hidrogénio).

**Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)** | Técnica usada na determinação da estrutura tridimensional detalhada de moléculas e, de forma geral, no estudo das propriedades físicas, químicas e biológicas da matéria. Faz uso de ímanes muito fortes que interagem com as propriedades magnéticas naturais dos núcleos dos átomos.

**Folha beta** | Uma secção “plissada” dentro de uma estrutura proteica.

**Fotossíntese** | Processo químico através do qual as plantas verdes, algas e algumas bactérias utilizam a energia solar para sintetizar compostos orgânicos (inicialmente, hidratos de carbono).

**Gene** | Unidade da hereditariedade. É um segmento de DNA que contém o código para uma proteína ou subunidade proteica específica.

**Genômica Estrutural** | Campo de estudo que procura determinar um grande inventário de estruturas proteicas com base nas sequências genéticas. O objetivo é ser capaz de produzir modelos estruturais aproximados de qualquer proteína com base na sua sequência genética. A partir destas estruturas e modelos, os cientistas esperam aprofundar o seu conhecimento sobre as funções biológicas das proteínas.

**Grupo fosfato** | Grupo químico encontrado no DNA e no RNA e também frequentemente ligado a proteínas e outras moléculas biológicas. É formado por um átomo de fósforo que se encontra ligado a quatro átomos de oxigénio.

**Hélice alfa** | É uma secção curta em forma de espiral numa estrutura proteica.

**Inibidor** | Molécula que inibe ou bloqueia a ação biológica de outra molécula.

**Isótopo** | Forma de um elemento químico com o mesmo número de prótons, mas um número diferente de neutrões das outras formas do elemento. Os isótopos são frequentemente utilizados para encontrar átomos ou moléculas numa via metabólica. Na RMN, só um isótopo de cada elemento tem as propriedades magnéticas corretas e que são úteis.

**MAD** | Ver *difração anómala de múltiplos comprimentos de onda*.

**Medicamentos anti-inflamatórios não esteroides** | Classe de medicamentos utilizados para tratar dor e inflamação. São exemplos a aspirina e o ibuprofeno. Atuam bloqueando a ação da enzima COX-2. Como também bloqueiam a enzima COX-1, podem ter como efeito secundário úlceras estomacais.

**Megahertz** | Unidade de medida equivalente a 1 000 000 hertz. O hertz é definido como um evento ou ciclo por segundo e é usado para medir a frequência das ondas rádio e outras formas de radiação eletromagnética. A potência dos ímanes da RMN é frequentemente referida em megahertz, tendo a maioria dos ímanes uma potência que varia entre 500 e 900 megahertz.

**Molécula** | A mais pequena unidade da matéria que retém todas as propriedades físicas e químicas da substância. Consiste num ou mais átomos idênticos ou num grupo de átomos diferentes ligados entre si.

**Molécula alvo (ou proteína alvo)** | Molécula em que os investigadores farmacêuticos se centram para desenvolver um medicamento. Muitas vezes, a molécula alvo pertence a um vírus ou bactéria ou é uma proteína humana anormal. Nestes casos, os investigadores geralmente tentam desenhar uma pequena molécula – um medicamento – que se ligue à molécula alvo e bloqueie a sua ação.

**mRNA** | RNA mensageiro.

**NOESY** | Espetroscopia de efeito Overhauser nuclear.

**Núcleo** | 1. Região central da célula limitada por uma membrana que contém o material genético. 2. Centro de um átomo, composto por prótons e neutrões.

**Nucleótido** | Subunidade do DNA ou do RNA que inclui uma base, uma molécula de fosfato e uma molécula de açúcar (desoxirribose no DNA, ribose no RNA). Milhares de nucleótidos unem-se pelas extremidades para criar uma molécula de DNA ou RNA. Ver *base e grupo fosfato*.

**Partícula viral** | Um único elemento de uma estirpe viral que contém todas as proteínas e material genético necessários.

**Prostaglandinas** | Grupo de moléculas similares a hormonas que estão envolvidas numa variedade de funções no corpo, incluindo a inflamação, a circulação sanguínea nos rins, a proteção das paredes do estômago, a coagulação sanguínea e o relaxamento e contração dos músculos nos pulmões, útero e vasos sanguíneos. A formação de prostaglandinas é bloqueada pelo uso de AINEs.

**Protease do VIH** | Enzima do VIH que é necessária ao ciclo de vida do vírus. É necessária para que as partículas do VIH se transformem em partículas virais maduras e infecciosas.

**Proteína** | Molécula biológica de grandes dimensões composta por aminoácidos organizados numa ordem específica, definida pelo código genético e dobrada sobre si própria numa forma tridimensional bem definida. As proteínas são essenciais para todos os processos vitais.

**Quilodalton** | Unidade de massa que equivale a 1000 daltons. A unidade dalton (Da) é usada para medir a massa de átomos e de moléculas. Um dalton equivale à massa de um átomo de hidrogénio ( $1,66 \times 10^{-24}$  gramas).

**Radiação eletromagnética** | Energia irradiada sob a forma de onda. Inclui todos os tipos de radiação incluindo, por ordem crescente de energia, ondas rádio, micro-ondas, radiação infravermelha (calor), luz visível, radiação ultravioleta, raios-X e radiação gama.

**Recetor proteico** | Proteínas específicas que se encontram à superfície da célula às quais se ligam hormonas ou outras moléculas, desencadeando uma reação dentro da célula. Os recetores proteicos são responsáveis por iniciar reações tão diversas como os impulsos nervosos, as mudanças metabólicas na célula ou a libertação de hormonas.

**Resistência** | Ver *bactérias resistentes a antibióticos*. Os vírus também podem desenvolver resistência aos medicamentos antivirais.

**Retrovírus** | Tipo de vírus que transporta o seu material genético sob a forma de RNA de cadeia simples, em vez de DNA. Após a infecção da célula, o vírus induz a formação de uma cópia de DNA a partir do seu RNA, usando a enzima transcriptase reversa.

**Ribose** | O tipo de açúcar que se encontra no RNA.

**RMN multidimensional (RMNn)** | Técnica usada para solucionar problemas de RMN complexos.

**RMN** | Ressonância magnética nuclear.

**RNA (ácido ribonucleico)** | Longa cadeia de nucleótidos, geralmente simples (não dupla), que desempenha funções genéticas, enzimáticas e estruturais na célula. Existem três tipos principais de RNA e todos estão envolvidos na síntese proteica: RNA mensageiro (mRNA), RNA de transferência (tRNA) e o RNA ribossómico (rRNA). O RNA é constituído pelo açúcar ribose, grupos fosfato e bases azotadas adenina (A), uracilo (U), citosina (C) e guanina (G). Alguns vírus, como material genético, possuem RNA em vez de DNA.

**RNA mensageiro (mRNA)** | Molécula de RNA que serve de intermediário na síntese proteica. O RNA mensageiro é complementar ao DNA e transporta a informação genética deste até ao ribossoma.

**RNA ribossômico** | O RNA que se encontra nos ribossomas.

**SIDA** | Síndrome da Imunodeficiência Adquirida – uma doença infecciosa que é uma importante causa de morte a nível mundial.

**Sincrotrão** | Máquina de grandes dimensões que acelera as partículas carregadas eletricamente até uma velocidade aproximada à da luz e as mantém em órbitas circulares. Os sincrotrões foram originalmente desenhados para serem usados pelos físicos de partículas de altas energias, mas são hoje muito utilizados pelos biólogos estruturais como fonte de raios-X de alta intensidade.

**Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA)** | Doença viral causada pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH).

**Substrato** | Molécula que se liga a uma enzima e que sofre uma alteração química no decurso da reação enzimática.

**Tradução** | O segundo passo principal na síntese proteica, no qual a informação codificada pelo mRNA é decifrada (traduzida) em sequências de aminoácidos. Este processo ocorre nos ribossomas.

**Transcrição** | O primeiro passo principal na síntese proteica, durante o qual a informação codificada no DNA é copiada (transcrita) para o mRNA.

**Transcriptase reversa** | Enzima encontrada nos retrovírus que copia o material genético viral de uma cadeia simples de RNA para uma cadeia dupla de DNA.

**Transdução de sinal** | O processo pelo qual os sinais químicos, elétricos ou biológicos são transmitidos à célula e dentro da mesma.

**Vírus** | Micróbio infeccioso que necessita de uma célula hospedeira (vegetal, animal, humana ou bacteriana) para se reproduzir. É constituído por proteínas e material genético (DNA ou RNA).

**Vírus da imunodeficiência humana (VIH)** | O vírus que causa SIDA.



*US DEPARTMENT OF  
HEALTH AND HUMAN SERVICES  
National Institutes of Health  
National Institutes of General Medical Sciences*

Publicação dos NIH N° 07-2778  
Reimpresso em julho de 2007  
<http://www.nigms.nih.gov>