

Tabela 3.2 Principais classes de enzimas segundo a Nomenclatura da Comissão de Enzimas, União Internacional de Bioquímica. Na classificação completa, cada classe deste quadro é subdividida

Classe	Nome	Catalisam	Exemplos
1	Oxidoredutases	Reações nas quais um composto é reduzido e outro oxidado	Desidrogenases, oxidases, peroxidases
2	Transferases	Transferência de grupamentos químicos de uma molécula para outra	Transaminases, transmetilases
3	Hidrolases	Rompimento de moléculas com adição de água	Peptidases, fosfatases, esterases
4	Liasas	Remoção de um grupo químico, originando uma dupla ligação no substrato; ou adição de um grupo a uma dupla ligação, que é assim desfeita	Descarboxilases, desaminases
5	Isomerases	Rearranjos intramoleculares que modificam a estrutura tridimensional do substrato	Racemases, epimerases
6	Ligases	União de duas moléculas, com hidrólise de ATP ou outro composto rico em energia	Acetilcoenzima A sintetase, carboxilase do piruvato

recebem designações muito longas, em comparação com seus nomes corriqueiros.

### *A atividade enzimática é muito sensível à ação de diversos fatores*

A atividade das enzimas, muito sensível a diversos agentes químicos e físicos, é capaz de ser inibida de várias maneiras. A inibição pode ser **competitiva** ou **não-competitiva**.

Entre os fatores que afetam a atividade enzimática, chamam a atenção a temperatura, concentração do substrato e presença de ativadores ou inibidores que alteram a velocidade de atuação das enzimas.

O efeito da temperatura tem grande importância prática, uma vez que o frio deprime a atividade enzimática, retardando os processos de lise celular e a deterioração de amostras de tecidos, sangue, urina etc. utilizadas em exames de laboratório. No transplante de órgãos, é comum o uso de temperaturas baixas para melhor preservação dos tecidos a serem transplantados.

Temperaturas muito baixas obtidas geralmente com o uso de nitrogênio líquido (ponto de ebulição  $-195,8^{\circ}\text{C}$ ) são utilizadas de rotina na preservação de culturas de tecidos, amostras de tecidos para posterior análise bioquímica, sementes de plantas, espermatozoides para inseminação artificial e embriões para transplante.

**1. Inibição competitiva.** Quando uma substância resistente à ação enzimática, porém de molécula muito parecida com a do substrato da enzima, se fixa nos centros ativos da molécula enzimática, diz-se que a inibição é **competitiva**. Nesse caso, o inibidor compete com o substrato para se localizar no centro ativo, e o grau de inibição é influenciado pela concentração do substrato. Quanto maior a concentração do substrato, menor será a probabilidade de o inibidor chocar-se com as moléculas da enzima e ocupar seus centros ativos.

**2. Inibição não-competitiva.** Esse tipo de inibição não é afetado pela concentração do substrato, dependendo exclusivamente da concentração do inibidor. O caso mais freqüente de inibição não-competitiva é representado pela combinação reversível de metais pesados com os grupos  $-\text{SH}$  da molécula enzimática.

Isso altera a forma tridimensional da molécula da enzima e impede sua atividade. Ocorre também inibição não-competitiva quando a enzima precisa de certos íons e estes são removidos da solução. Por exemplo, as enzimas que necessitam de  $\text{Mg}^{2+}$  são inibidas pelo EDTA (etilenodiaminotetracetato de sódio), pois esse composto forma um complexo com cátions divalentes e, desse modo, remove o  $\text{Mg}^{2+}$  da solução. A inibição é reversível pela adição de cátions  $\text{Mg}^{2+}$ .

### *Para aumentar sua eficiência, as enzimas se agrupam em complexos ou se prendem a membranas*

Na célula viva, a maioria das enzimas funciona em sequência, de modo que o produto resultante da ação de uma enzima é o substrato para a enzima seguinte. Esse conjunto de enzimas trabalhando em cooperação é denominado **cadeia enzimática**.

Um sistema muito eficiente e freqüente nas células é o representado pelos **complexos de moléculas enzimáticas**. Aqui, todas as enzimas da cadeia se associam para formar um conjunto de moléculas que se mantêm unidas por forças químicas fracas (estrutura protéica quaternária). Na célula da levedura, por exemplo, as enzimas que sintetizam ácidos graxos a partir de pequenas moléculas formam uma cadeia que consiste em sete enzimas que se associam para formar um complexo multienzimático. As reações processam-se em sequência e as moléculas intermediárias mantêm-se presas ao complexo até a formação da molécula do ácido graxo. Isso torna o sistema mais rápido, pois os substratos não precisam deslocar-se muito de uma enzima para outra.

Outro complexo enzimático bem estudado é o da desidrogenase do piruvato. No microscópio eletrônico, o complexo enzimático da desidrogenase do piruvato mostra aspecto poliédrico, e foi sugerido um modelo segundo o qual suas enzimas devem estar organizadas (Fig. 3.12).

As cadeias enzimáticas mais bem organizadas e, portanto, mais eficientes são as que estão ligadas a membranas, como, por exemplo, a cadeia das enzimas respiratórias (transportadoras de elétrons) que estão presas à membrana interna das mitocôndrias. Nesses casos não há separação entre molécula enzimática e molé-

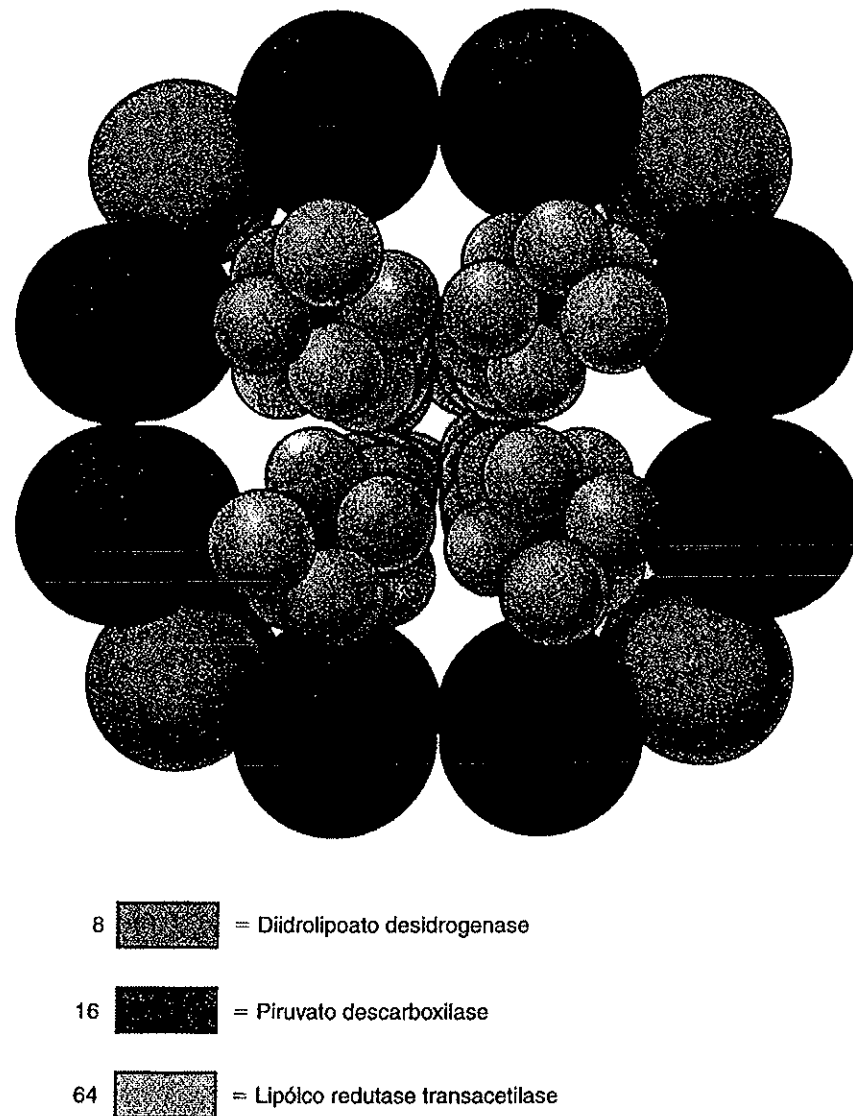


Fig. 3.12 Modelo do complexo enzimático da desidrogenase do piruvato. Cada esfera colorida representa uma molécula enzimática.

cula estrutural, pois as diferentes proteínas são, ao mesmo tempo, parte da membrana e também dotadas de atividade enzimática.

### *As cadeias enzimáticas funcionam sob regulação*

A maioria das enzimas não apresentam constância em suas atividades, podendo facilmente ser moduladas. Isso representa uma importante propriedade biológica porque possibilita às células modificar seletivamente a atividade de determinadas enzimas, para adequá-las às necessidades momentâneas que vão surgindo durante a vida da célula.

Muitas cadeias enzimáticas são moduladas por auto-regulação, sobretudo pelo efeito do produto final da cadeia sobre a primeira enzima da sequência. Por exemplo, a L-treonina é transformada em L-isoleucina através de uma cadeia de cinco enzimas (Fig. 3.13). A primeira enzima dessa cadeia (E1) é a L-treonina-desaminase, cuja atividade é diminuída ou suprimida

pela L-isoleucina. Desse modo, a falta de L-isoleucina provoca o funcionamento da cadeia em toda a sua intensidade, enquanto o excesso de L-isoleucina faz a cadeia diminuir de ritmo, ou mesmo parar a produção de mais L-isoleucina. Assim sendo, a concentração desse aminoácido na célula permanece dentro dos limites normais. No caso, trata-se de uma **regulação alostérica**. A enzima sensível a esse tipo de controle — no exemplo dado, a L-treonina-desaminase — chama-se **enzima reguladora**, e a substância inibidora — no caso a L-isoleucina — é conhecida como **efetor** ou **modulador**.

Na **regulação alostérica**, que é um tipo muito freqüente de regulação enzimática, o efetor combina-se com a enzima em um local diferente do centro ativo e denominado **centro alostérico**. Em consequência, ocorre uma modificação na conformação tridimensional da molécula enzimática, com alteração do centro ativo da enzima, cuja atividade catalítica é inibida (Fig. 3.14).

Outras vezes, a atividade da enzima é modulada pela interação com outras proteínas ou então pela adição covalente de radicais fosfato aos aminoácidos serina, treonina ou tirosina presentes na molécula enzimática. A fosforilação de proteínas desempenha

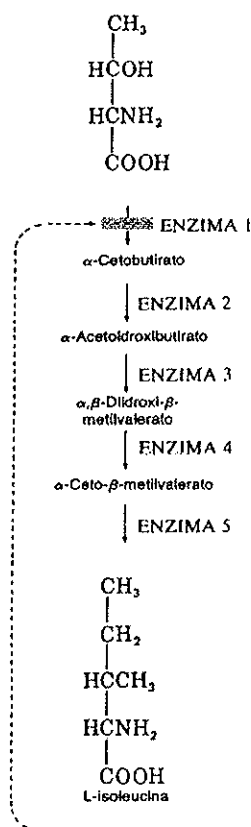


Fig. 3.13 Regulação (inibição) alostérica. A L-treonina é transformada em L-isoleucina através de uma cadeia de cinco enzimas. Mas a primeira enzima dessa cadeia é uma proteína alostérica que é inibida pela L-isoleucina. Assim, o excesso de L-isoleucina bloqueia e sua falta estimula a síntese desse aminoácido.

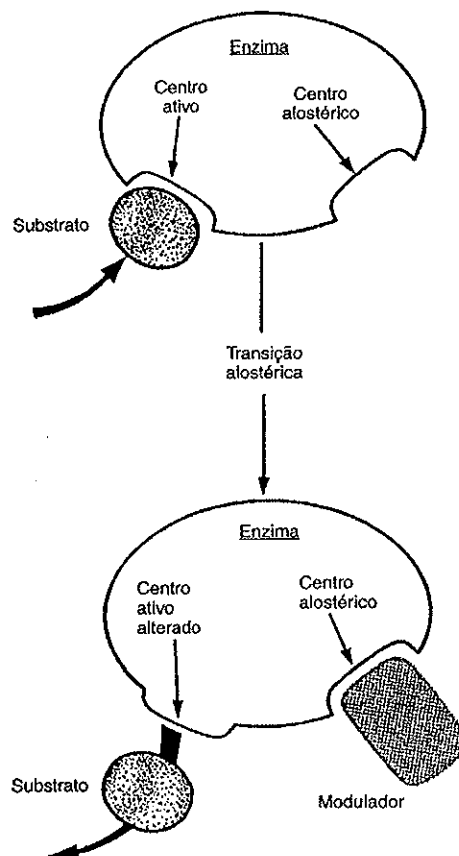


Fig. 3.14 Esquema didático de regulação alostérica. A fixação do modulador no centro alostérico da proteína (enzima) modifica o centro ativo, impede a fixação do substrato e inibe a ação enzimática.

importante papel regulador não apenas em reações metabólicas, mas também em muitos outros processos celulares como crescimento, diferenciação celular, desmontagem do envoltório nuclear na prófase e sua reorganização na telófase.

### *Isoenzimas são moléculas ligeiramente diferentes da mesma enzima*

Certas enzimas existem sob formas moleculares ligeiramente distintas nos diversos tecidos, ou na mesma célula de determinada espécie animal. Nesses casos, a molécula da enzima é constituída por cadeias polipeptídicas (monômeros) diferentes, agrupadas em proporções variáveis. As diferenças de atividade entre as enzimas são consequência das diversas proporções dos monômeros em suas moléculas. As enzimas de uma mesma espécie animal que atacam o mesmo substrato mas que exibem diferenças na atividade, no pH ótimo de ação, na mobilidade eletroforética ou outras, são chamadas **isoenzimas**. As diferenças de atividade das isoenzimas é utilizada pelas células para modular os efeitos dessas enzimas, de acordo com suas necessidades.

Um exemplo bem estudado é a isoenzima **desidrogenase do ácido láctico**. No rato, a molécula é constituída por quatro

cadeias polipeptídicas (monômeros), de dois tipos diferentes, chamados M e H. Conforme a proporção desses dois monômeros, existem cinco desidrogenases do ácido láctico, cujas moléculas podem ser assim representadas:

1.º,	4 cadeias M	(M <sub>4</sub> H <sub>0</sub> )
2.º,	3 cadeias M + 1 cadeia H	(M <sub>3</sub> H <sub>1</sub> )
3.º,	2 cadeias M + 2 cadeias H	(M <sub>2</sub> H <sub>2</sub> )
4.º,	1 cadeia M + 3 cadeias H	(M <sub>1</sub> H <sub>3</sub> )
5.º,	4 cadeias H	(M <sub>0</sub> H <sub>4</sub> )

Essas cinco desidrogenases lácticas foram isoladas em forma pura. Todas atacam o mesmo substrato (ácido láctico), porém o fazem em velocidades diferentes. Portanto, do ponto de vista biológico, a principal distinção entre as isoenzimas é o grau de atividade de cada uma.

Está demonstrado que existe um gene que determina a sequência de aminoácidos do monômero M e outro que determina a do monômero H. Conforme a maior ou menor atividade de cada um desses genes, haverá maior produção do mRNA para M ou para H e os polirribossomos produzirão diferentes quantidades de M e H. Como esses monômeros se unem espontaneamente, ao acaso, para constituir as enzimas, as proporções de M e de H vão depender da atividade daqueles genes. Trata-se de um

controle gênico, pelo qual, alterando as proporções dos monômeros produzidos (cadeias polipeptídicas), os genes influem na estrutura quaternária das proteínas e podem modular a sua atividade enzimática.

*Os 20 aminoácidos possibilitam a construção de enorme variedade de moléculas protéicas, com funções diversificadas*

As proteínas são os componentes químicos mais diversificados da célula, devido ao fato de serem constituídas de 20 aminoácidos diferentes. Essa diversificação estrutural se reflete nas suas múltiplas funções biológicas (Tabela 3.4), pois, dos componentes macromoleculares das células, são os mais polifuncionais. Além da atividade enzimática, as proteínas têm importante função estrutural (nos filamentos intermediários, microfilamentos e microtúbulos), informacional (nos hormônios protéicos) no movimento das células (exemplificado pela atividade motora do complexo actina-miosina) e, finalmente, uma pequena importância como fonte energética. A quase totalidade da energia consumida pelas células é fornecida pelas moléculas de lipídios e hidratos de carbono.

*Ácidos nucleicos são polímeros de nucleotídeos*

Os ácidos nucleicos são constituídos pela polimerização de unidades chamadas **nucleotídeos**.

Cada nucleotídeo contém resíduos de uma molécula de ácido fosfórico, uma de pentose e uma de base púrica ou pirimídica (Fig. 3.15).

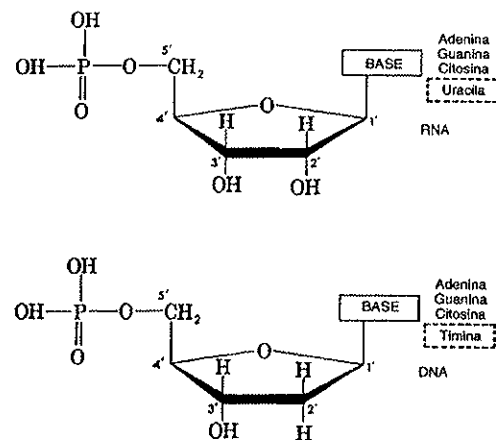


Fig. 3.15 Nucleotídeos do RNA e do DNA. As bases diferentes (uracila e timina) estão assinaladas. No carbono 2', a desoxirribose possui um átomo de oxigênio a menos (observar os retângulos azuis).

As bases púricas mais encontradas nos ácidos nucleicos são a **adenina** e a **guanina** (Figs. 3.15 e 3.16), em geral designadas pelas iniciais A e G, respectivamente. As principais bases pirimídicas são a **timina**, a **citosina** e a **uracila** (Fig. 3.16), designadas pelas letras T, C e U.

Além dos polímeros de nucleotídeos, que constituem as moléculas dos ácidos nucleicos, as células contêm quantidades relativamente grandes de nucleotídeos livres, desempenhando sobretudo as funções de coenzimas.

Por hidrólise parcial é possível retirar o radical fosfato dos nucleotídeos. Aparecem então compostos denominados **nucleosídeos**, constituídos por uma pentose e uma base púrica ou pirimídica (Fig. 3.17).

Os ácidos nucleicos são moléculas informacionais que controlam os processos básicos do metabolismo celular, a síntese de macromoléculas, a diferenciação celular e a transmissão

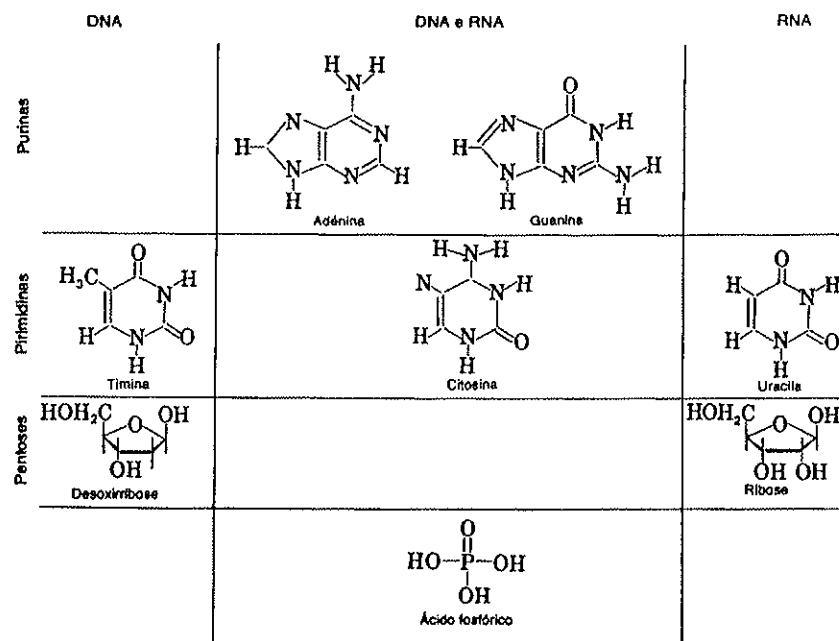


Fig. 3.16 Componentes dos ácidos nucleicos (RNA e DNA).

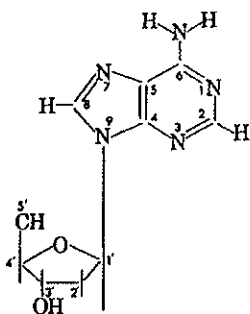


Fig. 3.17 Estrutura molecular dos nucleosídeos. No exemplo, o nucleosídeo constituído pela adenina combinada à desoxirribose.

do patrimônio genético de uma célula para as suas descendentes.

Cada molécula de ácido nucleico contém pelo menos uma cadeia de nucleotídeos (polinucleotídeo), formada por ligações diéster-fosfato entre os carbonos 3' e 5' da pentose, de acordo com o que mostra a Fig. 3.18.

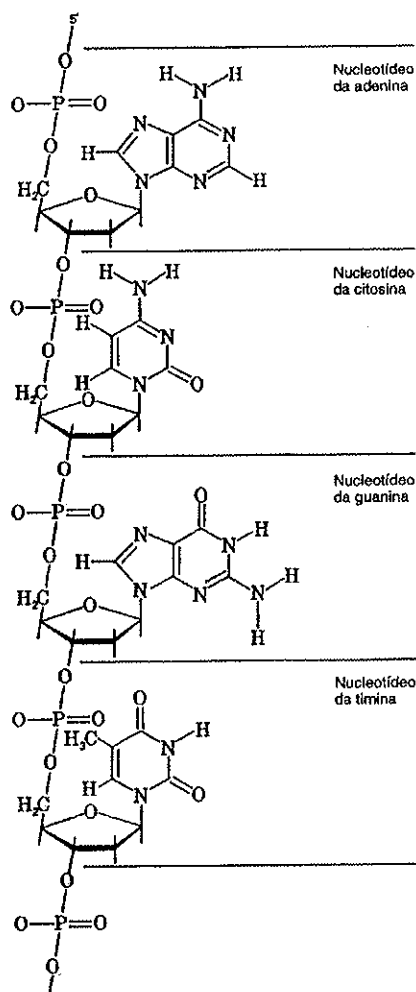


Fig. 3.18 Polinucleotídeo do DNA.

Distinguem-se dois tipos de ácidos nucleicos: o **desoxirribonucleico** ou DNA e o **ribonucleico** ou RNA. No DNA, a pentose encontrada é a desoxirribose, e as bases são adenina, guanina, citosina e timina. No RNA, a pentose é a ribose, e existe uridina em substituição à timina; as outras bases são comuns aos dois tipos de ácidos nucleicos (Tabela 3.3).

### *O DNA é o repositório da informação genética e a transmite para as células-filhas*

O ácido desoxirribonucleico ou DNA é o responsável pelo armazenamento e transmissão da informação genética. É encontrado principalmente nos cromossomos e, em pequenas quantidades, nas mitocôndrias e nos cloroplastos. Nos cromossomos das células eucariontes, o DNA está associado a proteínas básicas, principalmente **histonas**.

A molécula de DNA consiste em duas cadeias de nucleotídeos dispostas em hélice em torno de um eixo. O passo dessas hélices é dirigido no sentido da esquerda para a direita (Figs. 3.19 e 3.20). A direção das ligações 3' e 5' diéster-fosfato de uma cadeia é inversa em relação à da outra cadeia, como mostra a Fig. 3.19. Diz-se que essas cadeias são antiparalelas. Em função desse fato, em cada extremidade da molécula uma das cadeias polinucleotídicas termina em 3' e a outra em 5' (Fig. 3.19).

As bases púricas e pirimídicas de cada cadeia polinucleotídica situam-se dentro da hélice dupla, em planos paralelos entre si e perpendiculares ao eixo da hélice, como se fossem degraus de uma escada. Em cada plano ou degrau da escada, a base de uma cadeia forma par com a base da cadeia complementar. Devido às dimensões das moléculas das bases, o pareamento só tem lugar entre a timina e a adenina, ou entre a guanina e a citosina, das cadeias complementares. Portanto, considerando-se os dois polinucleotídeos que constituem a molécula de DNA, as bases estão sempre pareadas na sequência T-A ou G-C. Isso explica a existência, no DNA, de número igual de moléculas de T e A, e de G e C.



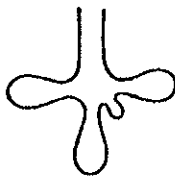


Na hélice dupla, as bases unem-se através de pontes de hidrogênio (Fig. 3.19), principais responsáveis pela estabilidade da hélice. Quando as pontes de hidrogênio são rompidas — por exemplo, pelo aquecimento do DNA em solução —, os dois filamentos polinucleotídicos da hélice sofrem desnaturação, separando-se; quando baixa a temperatura, eles se unem novamente.

A desnaturação pelo rompimento das pontes de hidrogênio pode ser completa ou parcial (Fig. 3.21). Essa desnaturação ocorre mais cedo nas ligações AT, que têm duas pontes de hidrogênio, sendo as ligações CG mais resistentes, pois têm três pontes de hidrogênio (Fig. 3.19). A desnaturação parcial permite a identificação das zonas ricas em AT e das zonas ricas em CG, sendo estes últimos segmentos mais resistentes à desnaturação. Em moléculas simples de DNA, como as dos bacteriófagos, essa técnica possibilita a localização de zonas com diferentes frequências de nucleotídeos ao longo do filamento de DNA.

Ao longo da molécula de DNA, a distância entre as bases é de 0,34 nm e cada volta completa da hélice contém 10 nucleotídeos (Fig. 3.20). A hélice dupla tem um diâmetro de 2 nm e sua superfície mostra dois sulcos, um dos quais mais acentuado que o outro.

As bases (hidrofóbicas) situam-se dentro da hélice, e os resíduos de desoxirribose (hidrofílicos) e de ácido fosfórico (ionizado e hidrofílico) localizam-se na periferia, em contato com a

Tabela 3.3 Características dos principais tipos de ácidos nucleicos

	DNA	tRNA	mRNA	rRNA
COMPONENTES	ácido fosfórico, desoxirribose, adenina, guanina, citosina e timina	ácido fosfórico, ribose, adenina, guanina, citosina, uracila, timina, ácido pseudo-uridílico, metilcitosina, dimetil-guanina	ácido fosfórico, ribose, adenina, guanina, citosina e uracila	ácido fosfórico, ribose, adenina, guanina, citosina e uracila
FUNÇÕES	comanda todo o funcionamento da célula; transmite a informação genética para as outras células	transporta os aminoácidos unindo o seu anticódon ao códon do mRNA; determina a posição dos aminoácidos nas proteínas	através da sequência de suas bases, determina a posição dos aminoácidos nas proteínas	combina-se com o mensageiro, para formar os polirribossomos
LOCALIZAÇÃO	núcleo das células eucariontes; nucleóide das procariontes; mitocôndrias e cloroplastos; alguns vírus	principalmente no citoplasma; menor quantidade no núcleo	principalmente no citoplasma; menor quantidade no núcleo	principalmente no citoplasma; menor quantidade no núcleo
TAMANHO DA MOLÉCULA	muito grande; difícil de determinar	25 a 30 kD (quilodáltons)	depende do tamanho da proteína que codifica; variável entre $5 \times 10^4$ a $5 \times 10^6$ dáltons	5 S a 28 S (S = Svedberg)
FORMA	<div> <div>hélice dupla</div>  </div> <div> <div>filamento simples, em certos vírus</div>  </div>	<div>“folha de trevo”</div> 	<div>filamento simples</div> 	<div>ribossomo; tamanho: células eucariontes 2,3 nm (80 S) células procariontes 1,8 nm (70 S)</div> 

água intracelular. Ao lado das pontes de hidrogênio que representam o elemento principal de união entre os dois filamentos polinucleotídicos da hélice dupla, a interação hidrofóbica das bases pareadas contribui para manter a estabilidade da hélice de DNA. Os grupos fosfóricos, ionizados negativamente, permitem ao ácido desoxirribonucleico combinar-se com proteínas básicas, isto é, carregadas positivamente, ou com outras moléculas eletricamente positivas.

Devido à sua fragilidade e enorme comprimento, tem sido difícil determinar o tamanho exato das moléculas de DNA. Sabe-se, por exemplo, que a molécula de DNA do bacteriófago lambda, que infecta a bactéria *Escherichia coli*, tem um peso de 32 milhões de dáltons e comprimento de 17,2  $\mu\text{m}$ . Na *Escherichia coli*, o cromossomo é uma molécula de DNA, com comprimento de 1,2 mm e peso molecular de 2.800.000.000 dáltons.

### O RNA transfere a informação genética do DNA para as proteínas

Ao contrário do DNA, cuja molécula quase sempre é formada por duas cadeias polinucleotídicas, a molécula de RNA é um filamento único, e só existe excepcionalmente, sob a forma de

filamentos duplos complementares. Nos dois casos, as exceções são encontradas nos vírus: alguns têm DNA em filamento único, enquanto outros têm RNA em cadeia dupla complementar.

Dos pontos de vista funcional e estrutural, distinguem-se três variedades principais de ácido ribonucleico:

1. RNA de transferência ou tRNA;
2. RNA mensageiro, abreviadamente mRNA; e
3. RNA ribossômico ou rRNA.

### RNA de transferência

Dos três tipos de ácidos ribonucleicos, o tRNA é o que possui moléculas menores. Estas são constituídas de 75 a 90 nucleotídeos e têm peso molecular compreendido entre 23.000 (23 kDa) e 30.000 dáltons (30 kDa). Sua função é transferir os aminoácidos para as posições corretas nas cadeias polipeptídicas em formação nos complexos de ribossomos e RNA mensageiro (polirribossomos). Para isso, o tRNA possui a propriedade de se combinar com aminoácidos e é capaz de reconhecer determinados locais da molécula do mRNA constituídos por uma sequência de três bases. Essas sequências, típicas para cada aminoácido, são denominadas códon (ver Cap. 9). A sequência de três bases na molécula do tRNA e que reconhece o códon chama-se anticódon (Fig. 3.22). Para cada aminoácido existe pelo menos um tRNA.

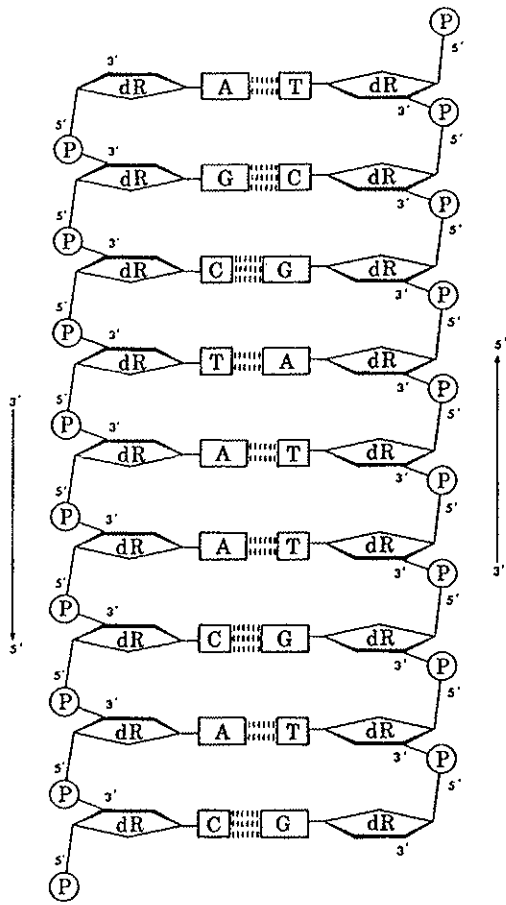


Fig. 3.19 Pequena parte de uma molécula de DNA mostrando o arranjo antiparalelo dos polinucleotídeos. Entre T e A existem duas pontes de hidrogênio e, entre G e C, três.

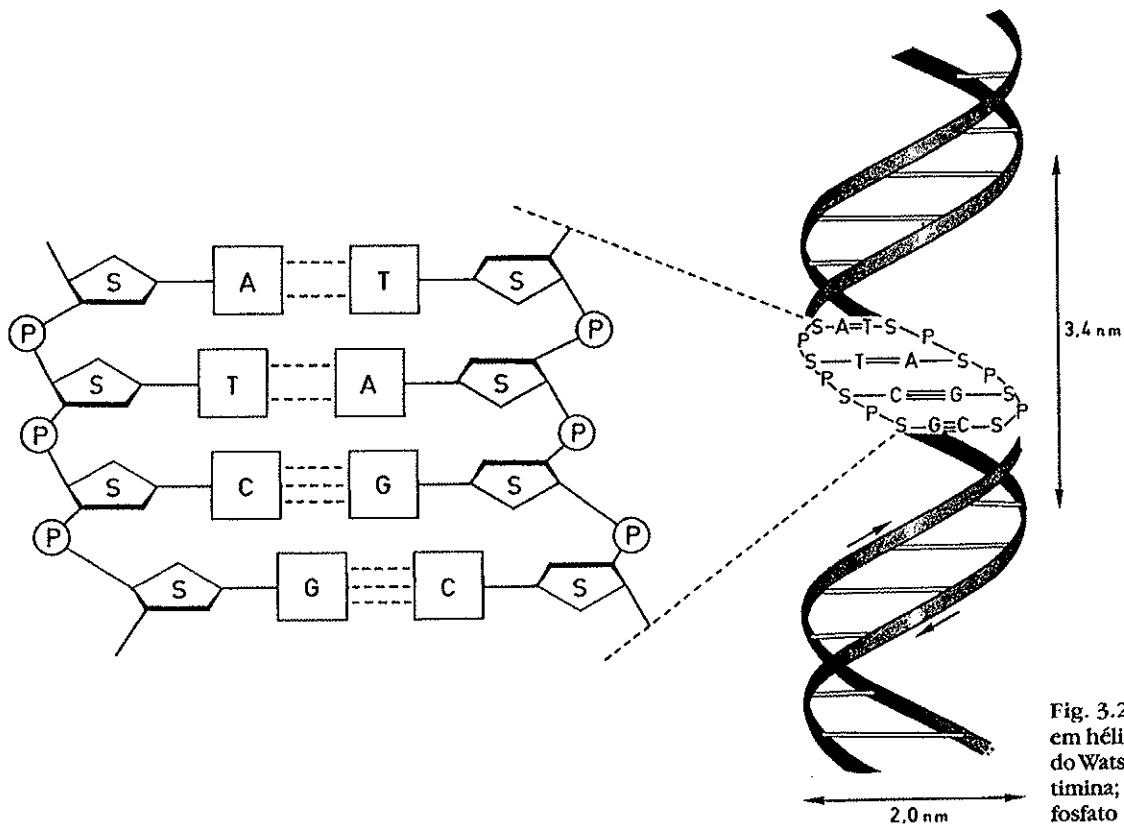


Fig. 3.20 Esquema da estrutura em hélice dupla do DNA, segundo Watson e Crick. A, adenina; T, timina; C, citosina; G, guanina; P, fosfato e S, desossirribose.

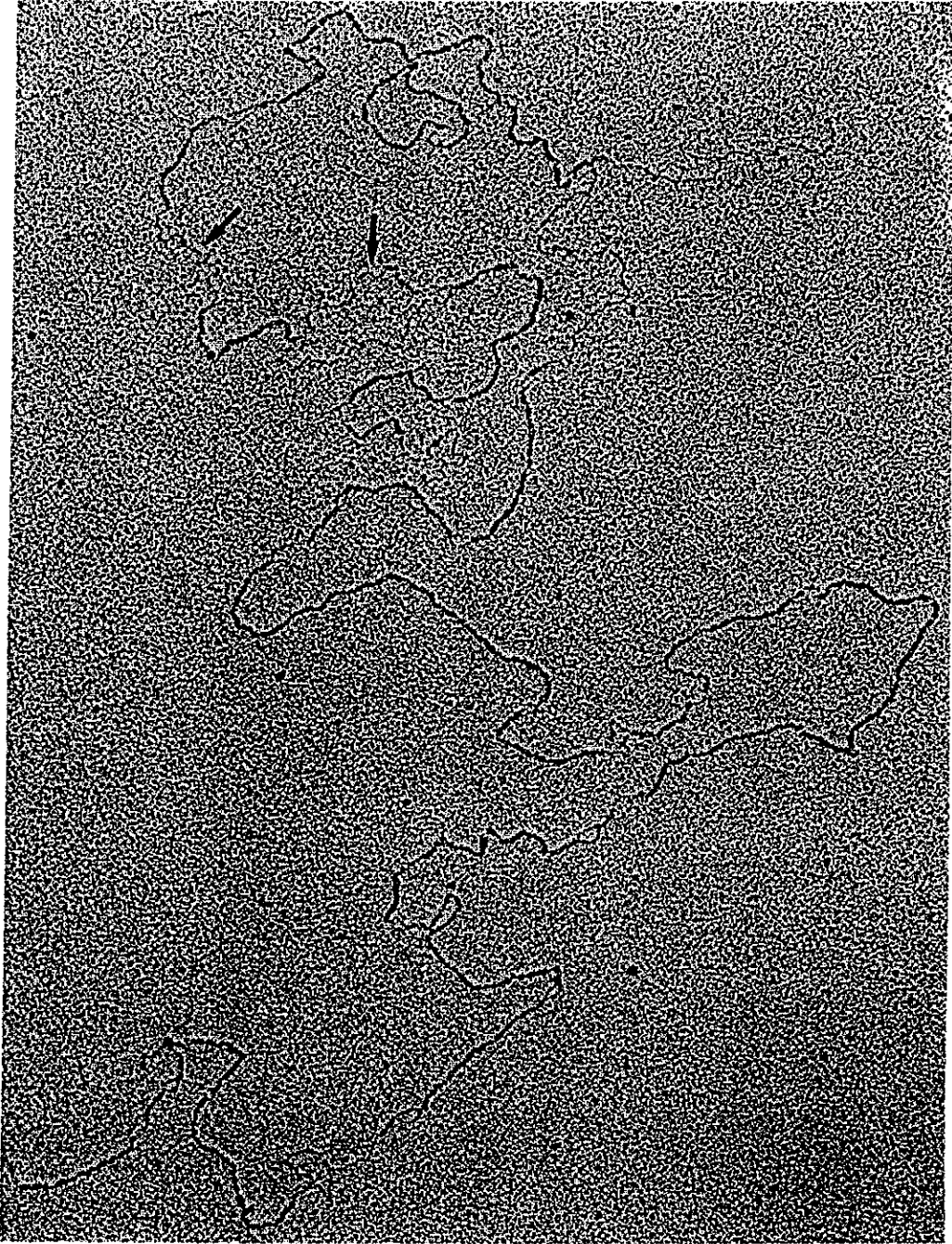


Fig. 3.21 Desnaturação parcial da molécula de DNA do bacteriófago T7. A separação dos segmentos polinucleotídicos é mais precoce nos segmentos com abundância de ligações AT (setas) porque entre A e T existem apenas duas pontes de hidrogênio. Micrografia eletrônica (H.J. Vollenweider, J.M. Sogo and T. Koller. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 72:83, 1975. Reproduzido com permissão.)

A molécula do tRNA é um filamento com uma extremidade terminando sempre pela sequência CCA, isto é, pelo ácido adenílico (A) precedido de duas moléculas de ácido citidílico (C).

Graças a um processo enzimático que consome energia liberada por hidrólise de ATP (ver Cap. 4), uma hidroxila do ácido adenílico da extremidade CCA é esterificada por um L-aminoácido, formando-se assim uma molécula de Acil-tRNA. A enzima catalisadora dessa esterificação é específica para cada aminoácido. A molécula do tRNA possui uma região que é reconhecida pela enzima, e, desse modo, cada aminoácido é ligado ao seu tRNA.

Devido às pontes de hidrogênio que se estabelecem entre as suas bases, todos os tRNAs apresentam segmentos das moléculas formados por uma hélice dupla. A representação plana esquemática, da molécula do tRNA (Fig. 3.22) tem o aspecto de uma folha de trevo, a qual mostra o anticódon em um de seus lados.

Além das bases adenina, guanina, citosina e uracila, comumente encontradas no RNA, o tRNA contém outras bases que não aparecem nos outros tipos de ácido ribonucleico (Tabela 3.3). Entre essas bases típicas do tRNA, estão, por exemplo, a hipoxantina e a metilcitosina. O tRNA possui ainda ácido



**ribotimidílico**, que é um nucleotídeo constituído por ácido fosfórico, ribose e timina, base geralmente encontrada no DNA. Além disso, o tRNA apresenta em sua molécula o **ácido pseudo-uridílico**, que difere do ácido uridílico comum por apresentar a ribose ligada ao carbono 5 da uracila, e não ao nitrogênio 3, como é habitual (Fig. 3.23). Em conclusão, vê-se que o tRNA possui características que o diferenciam dos outros tipos de RNA, facilitando a sua identificação.

As regiões do tRNA que contêm as bases não-habituais talvez sejam importantes para determinar o formato da molécula, pois nessas regiões não se formam pontes de hidrogênio entre as bases (Fig. 3.22).

Os tRNAs são inicialmente sintetizados sobre os filamentos de DNA, como moléculas maiores que passam por um processamento (*splicing*) tornando-se menores, antes de migrarem para o citoplasma. Esse processamento do tRNA consiste na remoção de determinados pedaços da molécula maior e soldagem dos fragmentos que vão constituir a molécula final do tRNA. É um processo semelhante ao que será descrito adiante neste capítulo ao se examinar o mRNA, onde o assunto tem sido mais estudado.

### RNA mensageiro

O mRNA é sintetizado nos cromossomos, como os demais RNAs da célula, e representa a transcrição de um segmento de uma das cadeias da hélice de DNA. Note-se que, durante a síntese do mRNA, os filamentos de um segmento da molécula de DNA separam-se temporariamente. O peso molecular do mRNA varia de acordo com o tamanho da molécula protéica que ele vai codificar no citoplasma. Evidentemente, a molécula de mRNA é bem maior do que a de proteína por ele formada, porque são necessários três nucleotídeos para codificar um aminoácido. Além disso, muitas proteínas são sintetizadas com um segmento extra, formado por vários aminoácidos que são removidos no acabamento final da proteína. Por isso, o peso molecular dos mRNAs é da ordem de centenas e até milhares de dáltons. Nas células procariotas, as moléculas de mRNA podem ser ainda maiores, porque nas bactérias uma longa molécula de mRNA pode ser traduzida a partir de locais diferentes, originando mais de uma proteína, conforme o local do mRNA onde a tradução teve início.

Cada molécula de mRNA tem um prolongamento (*tail*) de poli-A que é adicionado ainda no interior do núcleo celular, assim

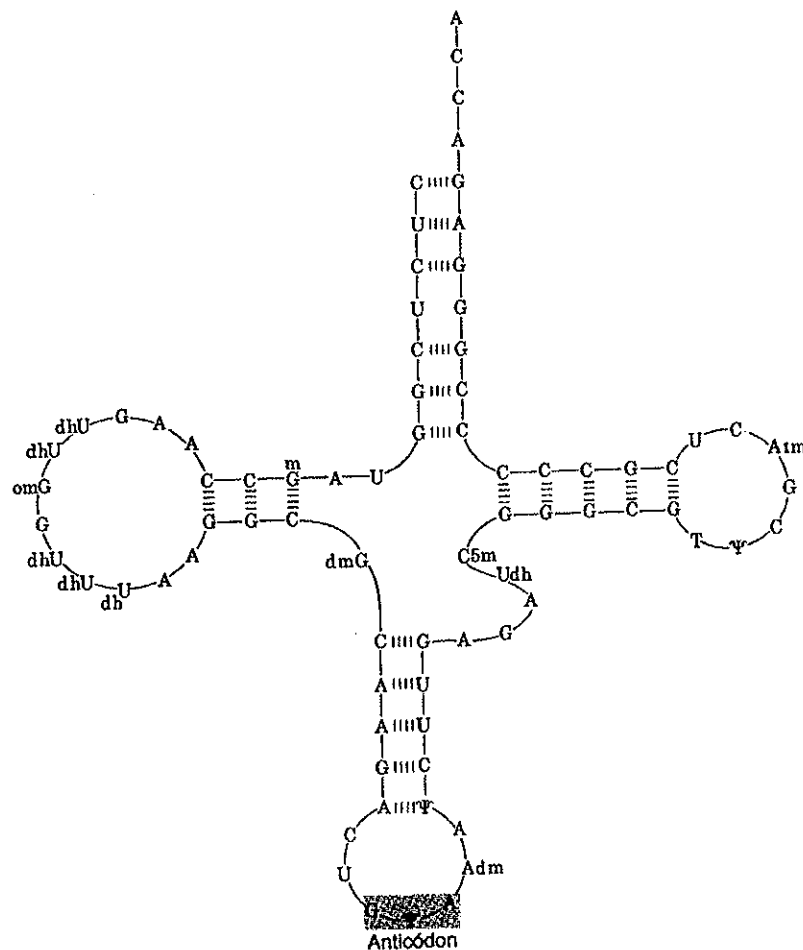


Fig. 3.22 Estrutura do RNA de transferência para o aminoácido tirosina. Além das bases habituais, esse tRNA contém as seguintes bases: **mG** = N-2-metilguanosina; **dhU** = N-6-diidrouridina; **omG** = 2'-O-metilguanosina; **dmG** = 2'-dimetilguanosina; **dmA** = N-6-dimetiladenosina; **5mC** = 5-metilcitosina. A letra grega psi ( $\Psi$ ) representa o ácido pseudo-uridílico.

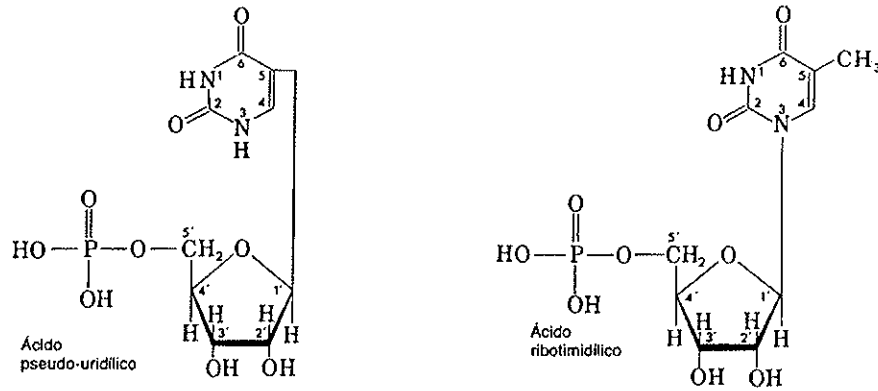


Fig. 3.23 Dois nucleotídeos encontrados no tRNA: no ácido pseudo-uridílico, a ribose liga-se ao carbono 5 da uridina, e não ao carbono 3, como ocorre no ácido uridílico. O ácido ribotimidílico contém timina, uma base que, usualmente, é encontrada no DNA.

que a molécula de mRNA é transcrita, por uma enzima que não requer molde (*template*) de DNA. Portanto, esse segmento do mRNA não está codificado no DNA. Na outra extremidade do mRNA (extremidade 5'), um pequeno capuz (*cap*) nucleotídico é adicionado por outras enzimas.

Os mRNAs citoplasmáticos derivam de precursores nucleares conhecidos como hnRNAs (*heterogenous RNAs*), assim chamados por apresentarem grande heterogeneidade nos pesos moleculares e na composição de nucleotídeos. A maioria dos hnRNAs tem moléculas enormes, com até 50.000 nucleotídeos. Essas moléculas são partidas no núcleo, de modo ordenado. Certos pedaços são removidos e as extremidades dos segmentos que codificam proteínas se soldam (*splicing*), formando-se a molécula acabada de mRNA, que migra para o citoplasma.

Fica claro do exposto que, nas células eucariontes, o DNA que transcreve os mRNAs é constituído por partes que vão ser traduzidas em proteínas, denominadas éxons, e em partes que apenas separam os éxons. Essas partes "silenciosas" são denominadas íntrons (Cap. 9).

Portanto, o DNA inicialmente transcreve uma molécula enorme de hnRNA da qual os segmentos sem significado para a síntese protéica são removidos, ocorrendo então a soldagem precisa dos segmentos que levam a codificação para um tipo de molécula protéica e, assim, fica formada uma molécula de mRNA. Todavia, alguns genes não possuem íntrons e as moléculas de mRNA se formam diretamente do DNA, sem passar pela fase de hnRNA.

Íntrons e hnRNA só foram encontrados em células eucariontes, sendo muito pouco provável que existam nas procariontes.

### RNA ribossômico

O RNA ribossômico é muito mais abundante do que os outros dois tipos de RNA, constituindo 80% do RNA celular. Existe combinado com proteínas, formando partículas facilmente visíveis ao microscópio eletrônico e denominadas **ribossomos**. Quando presos a filamentos de RNA mensageiro, os ribossomos formam os **polirribossomos** (Fig. 3.24), onde tem lugar a síntese de proteínas.

Existem nas células dois tipos de ribossomos que se distinguem por seus coeficientes de sedimentação determinados na ultracentrífuga e expressos em unidades S ou Svedberg. Os ribossomos das células procariontes têm coeficiente de sedimentação de 70 S e são menores do que os ribossomos das células eucariontes,

cujo coeficiente de sedimentação é de 80 S. Ambos os tipos de ribossomos são formados por duas subunidades, uma maior e outra menor, com características funcionais e estruturais diferentes.

As subunidades se prendem de modo reversível no início da síntese da molécula protéica, separando-se quando a proteína está terminada. A subunidade maior dos ribossomos das células eucariontes contém três tipos de RNA, com sedimentação de 28 S, 5,8 S e 5 S, e a dos ribossomos das procariontes possui dois tipos de RNA: um de 23 S e outro de 5 S. A subunidade menor apresenta apenas um tipo de RNA: 18 S nas células eucariontes e 16 S nas procariontes.

Os ribossomos das mitocôndrias e dos cloroplastos são iguais aos das células procariontes, dado que apóia a interpretação de que essas duas organelas transdutoras de energia se originaram de bactérias que se tornaram simbiotes das células eucariontes.

Cerca de 50 variedades de proteínas foram identificadas nos ribossomos e constituem aproximadamente a metade da massa desses corpúsculos.

A basofilia citoplasmática demonstrável pelos corantes básicos e removível pela ribonuclease deve-se aos ribossomos. Estes são particularmente abundantes nas células que sintetizam grandes quantidades de proteínas, as quais têm o citoplasma fortemente basófilo.

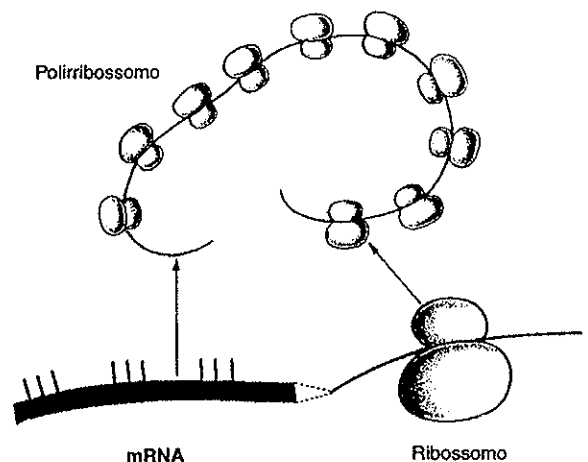


Fig. 3.24 Combinação do RNA mensageiro com ribossomos para formar polirribossomos.

### O RNA pode ter ação enzimática

Em alguns casos, o RNA tem ação catalítica, atuando como uma enzima. A atividade catalítica do RNA foi descoberta ao se estudar a síntese dos RNAs de *Tetrahymena*, um protozoário ciliado. Descobriu-se que esses RNAs são inicialmente moléculas muito grandes das quais certos segmentos são removidos e as partes restantes são soldadas (*splicing*), formando-se assim a molécula final do mRNA. Todo o processo se realiza, como foi comprovado *in vitro*, sem a participação de proteínas enzimáticas. O segmento de RNA que vai ser removido (intron) catalisa sua própria remoção e a união das extremidades da molécula partida. Esse segmento de RNA, *in vitro*, é capaz de catalisar a polimerização de polinucleotídeos pequenos em polinucleotídeos com mais de 30 nucleotídeos, tendo sido chamado de **ribozima**.

Outros RNAs com atividade catalítica foram descobertos logo depois, como, por exemplo, os tRNAs, que, quase sempre, também são sintetizados em tamanho maior. Nesse caso foi observado que a clivagem para produzir a molécula de tRNA final, de tamanho menor, é catalisada por um complexo RNA-proteína (**ribonuclease P**). Mas a especificidade e atividade enzimática desse complexo depende mais do RNA do que da proteína. Separando-se o complexo RNA-proteína em suas duas partes, somente o RNA tem atividade catalítica, embora o complexo inteiro seja mais ativo. Portanto, nesse caso o RNA é essencial para a atividade enzimática e a proteína exerce um papel auxiliar, secundário.

A descoberta de que o RNA pode ter atividade enzimática teve grande repercussão sobre as hipóteses quanto à origem da vida na Terra. É possível que a molécula inicial das futuras células tenha sido um RNA capaz de auto-replicação. Esse RNA primordial teria servido de molde (*template*) para o DNA, começando em seguida a síntese dirigida das proteínas.

### Pela técnica de hibridização se podem caracterizar as moléculas de ácidos nucleicos

Existem no citoplasma muitos RNAs diferentes, necessários para a síntese das numerosas proteínas celulares. A caracterização dos RNAs mensageiros não é fácil. Uma técnica que se tem mostrado muito útil para o seu estudo é a **hibridização** com DNA. A hélice dupla de DNA é formada por duas cadeias

unidas por pontes de hidrogênio que são forças fracas. Essas duas cadeias podem ser separadas facilmente pelo aquecimento brando e podem se recombinar pelo resfriamento lento. Mas as cadeias de DNA separadas podem combinar-se com moléculas de RNA, processo muito seguro para caracterizar uma molécula de RNA, pois ela se combina exclusivamente com o segmento de DNA do qual foi transcrita.

### Os lipídios formam reservas nutritivas e têm papel estrutural nas membranas celulares

Os compostos de carbono extraídos de células e tecidos por solventes orgânicos não-polares — como éter, clorofórmio e benzeno — são chamados **lipídios**. Em virtude de serem definidos por sua solubilidade nesses solventes e não pela estrutura química, o grupo dos lipídios compreende substâncias com moléculas muito diferentes.

De acordo com suas funções principais, os lipídios celulares podem ser divididos em duas categorias: **lipídios de reserva nutritiva** e **lipídios estruturais**. Estes têm papel relevante na manutenção da estrutura das membranas celulares (ver Cap. 5).

As vitaminas A, E e K são lipídios dotados de importantes atividades fisiológicas. Os hormônios esteróides, entre os quais os da adrenal, ovário e testículo, e o 1,25-diidroxicolecalciferol (substância ativa formada no organismo dos mamíferos a partir da "vitamina" D) são lipídios informacionais (transportam informações). Todavia, como exercem funções especializadas e não são constituintes gerais das células, não serão estudados neste capítulo.

**Lipídios de reserva nutritiva.** As reservas nutritivas de natureza lipídica compõem-se de **gorduras neutras**. Estas são ésteres de ácidos graxos com o triálcool **glicerol** ou **glicerina**. A molécula da gordura neutra pode apresentar um, dois ou, mais comumente, três resíduos de ácidos graxos (Fig. 3.25). Quando existe mais de um ácido graxo, eles podem ser iguais ou diferentes.

O número de átomos de carbono nos ácidos graxos é quase sempre par, porque suas moléculas são sintetizadas a partir de resíduos com dois átomos de carbono. Os ácidos graxos mais frequentes nas gorduras neutras são os de 16 e 18 átomos de carbono.

Os depósitos intracelulares de lipídios constituem-se quase exclusivamente por gorduras neutras, nas quais o glicerol está esterificado por três ácidos graxos. São, portanto, depósitos de

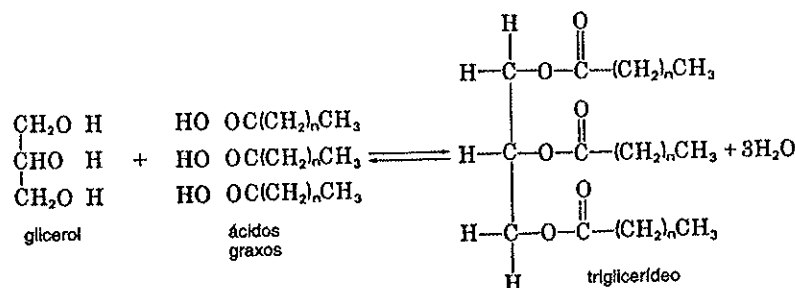


Fig. 3.25 Substituição das hidroxilas da glicerina por ácidos graxos, para formar uma molécula de triacilglicerol ou triglicerídeo (gordura neutra).

**triacilgliceróis** ou **triglicerídeos**, com pequena quantidade de diacilgliceróis e monoacilgliceróis. Esses depósitos ocorrem em quase todos os tipos celulares, havendo, porém, células especializadas para o acúmulo de gorduras neutras, as **células adiposas**.

**Lipídios estruturais.** Esses lipídios são componentes estruturais de todas as membranas celulares: membrana plasmática, envoltório nuclear, retículo endoplasmático, aparelho de Golgi, endossomos, mitocôndrias, cloroplastos, lisossomos etc. Muitas propriedades dessas membranas decorrem das características químicas e físicas de seus lipídios. Os lipídios estruturais são mais complexos que os de reserva. Suas moléculas são longas e dotadas de uma **extremidade polar** — isto é, com carga elétrica — e uma longa **cadeia apolar**, não-ionizada. A extremidade polar é **hidrofílica**, enquanto a porção apolar, constituída geralmente por duas cadeias alifáticas, é **hidrofóbica** e, portanto, solúvel em lipídios.

Os lipídios que exercem papel essencialmente estrutural, fazendo parte do sistema de membranas das células, são os **fosfolipídios** (**fosfoglicerídeos** e **esfingolipídios**), os **glicolipídios** e o **colesterol**.

**Fosfoglicerídeos.** Nesses fosfolipídios, uma das hidroxilas primárias, isto é, a do carbono 1 ou a do 3 do glicerol, é esterificada pelo ácido fosfórico. As outras duas hidroxilas são esterificadas por ácidos graxos, sendo o ácido graxo do carbono 2 em geral insaturado (Fig. 3.26).

O fosfoglicerídeo mais simples é o **ácido fosfatídico**, constituído apenas por um resíduo de glicerol, um de ácido fosfórico e dois de ácidos graxos. O ácido fosfatídico existe em pequena quantidade nas membranas celulares. Os fosfoglicerídeos mais encontrados nessas membranas são **fosfatidilcolina**, **fosfatidiletanolamina**, **fosfatidilserina** e **fosfatidilinositol**.

**Esfingolipídios.** Um exemplo de esfingolipídio é a **esfingomielina**, muito abundante nas bainhas de mielina do tecido nervoso. A bainha de mielina funciona como isolante elétrico de prolongamentos das células nervosas, sendo formada por dobras concêntricas da membrana plasmática de células especializadas.

A esfingomielina é constituída por uma molécula de colina, uma de ácido fosfórico, uma de esfingosina e uma de ácido graxo (Fig. 3.27).

A principal característica estrutural dos **esfingolipídios** é a presença da longa cadeia de **esfingosina**, ao lado de uma cadeia de ácido graxo, que se prende à esfingosina por uma ligação éster (Fig. 3.27). Tal como os fosfoglicerídeos, os esfingolipídios possuem uma extremidade polar e duas caudas apolares.

**Os glicolipídios** têm extremidades polares formadas por glicídios, principalmente D-galactose (Fig. 3.28). Suas moléculas são, em geral, constituídas por moléculas glicídicas, uma molécula de glicerol e duas de ácidos graxos. Os glicolipídios não contêm ácido fosfórico. Entre os glicolipídios importantes, encontram-se os **gangliosídeos**, que possuem glicídios muito complexos. Por exemplo, do tecido nervoso isolou-se o gangliosídeo  $G_{M2}$  constituído pelas seguintes moléculas: um ácido graxo, esfingosina, D-glicose, D-galactose, N-acetil-D-galactosamina e ácido N-acetilneuramínico.

**Os cerebrosídeos** (Fig. 3.29) são **glicoesfingolipídios**, pois suas moléculas contêm esfingosina e glicídios. Os cerebrosídeos são abundantes nas membranas das células do tecido nervoso, sobretudo nas bainhas de mielina.

**Colesterol.** O colesterol é um esterol, isto é, um composto que contém o núcleo peridroiclopentanofenantreno, com uma hidro-

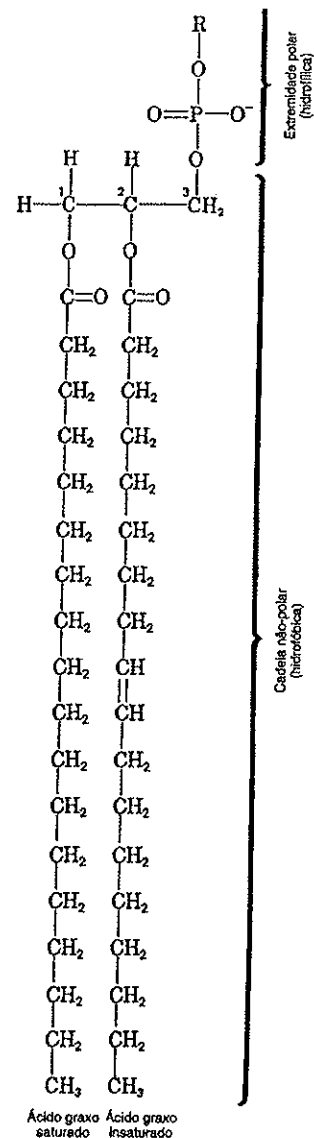


Fig. 3.26 Fórmula dos fosfoglicerídeos. O radical R pode ser a colina, a etanolamina, a serina ou a treonina. Esses fosfolipídios são denominados fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina e fosfatidiltreonina, respectivamente.

xila no carbono 3 e uma cadeia alifática, com oito ou mais átomos de carbono, ligada ao carbono 17 do núcleo (Fig. 3.30).

O colesterol está presente na membrana plasmática das células animais, ocorrendo, porém, em quantidade muito menor nas membranas das mitocôndrias e do retículo endoplasmático. O colesterol reduz a fluidez das membranas (Cap. 5).

As células dos vegetais não possuem colesterol, que é então substituído por outros esteróis, denominados coletivamente de **fitoesteróis**.

A presença de longas cadeias hidrofóbicas nos lipídios é de grande importância biológica, pois são elas que possibilitam a **interação hidrofóbica** responsável pela associação de lipídios para formar a bicamada lipídica das membranas celulares. A fixação das proteínas integrais das membranas é devida à interação das porções hidrofóbicas das moléculas dessas proteínas com os lipídios das membranas. A interação hidrofóbica também é importante no transporte de lipídios no plasma. Por exemplo, os

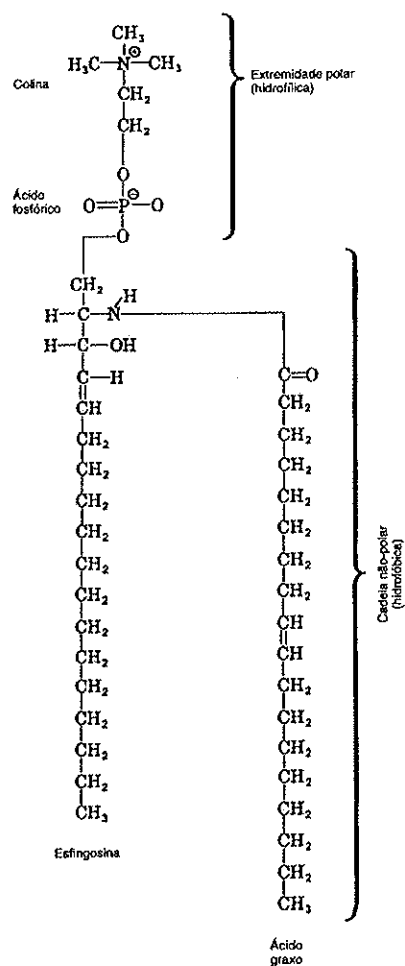


Fig. 3.27 Fórmula da molécula de esfingomielina.

esteróides circulam presos a uma região hidrofóbica da superfície da molécula de albumina, que é solúvel em água.

Os lipídios têm menor diversidade funcional do que as proteínas e polissacarídeos. Têm principalmente função energética e estrutural. Sua atividade informacional é restrita a alguns hormônios esteróides.

*Os polissacarídeos formam reservas nutritivas e unem-se a proteínas para formar glicoproteínas (função enzimática e estrutural) e proteoglicanas (função estrutural)*

Os polissacarídeos são polímeros de monossacarídeos. Há polissacarídeos com moléculas lineares, enquanto outros têm moléculas ramificadas. A molécula de alguns polissacarídeos é constituída pela repetição de um único tipo de monossacarídeo. São os polissacarídeos simples ou homopolímeros. Por exemplo, o amido e o glicogênio são polímeros simples de D-glicose e não contêm outro tipo de molécula. Os polissacarídeos complexos

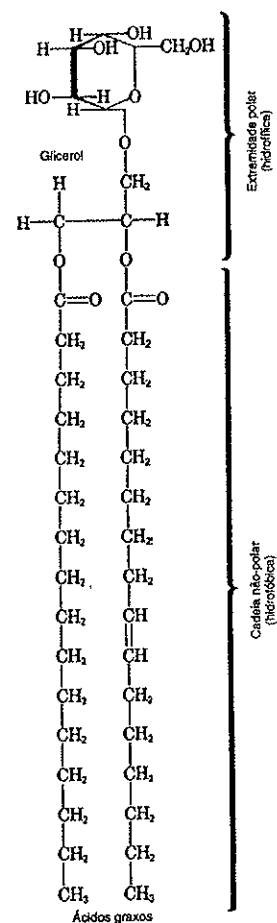


Fig. 3.28 Fórmula da molécula de um glicolípido.

(heteropolímeros), constituídos por mais de um tipo de monossacarídeo, são menos frequentes nas células, porém alguns são biologicamente muito importantes.

Os polissacarídeos associados à superfície externa da membrana celular desempenham papel estrutural e informacional,

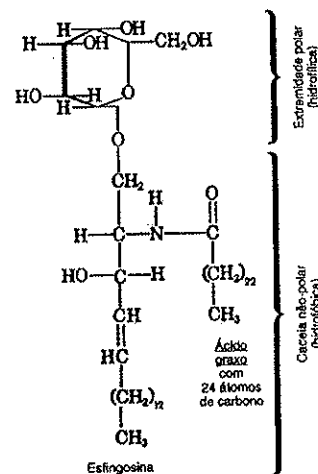


Fig. 3.29 Fórmula da molécula de um cerebrosideo.

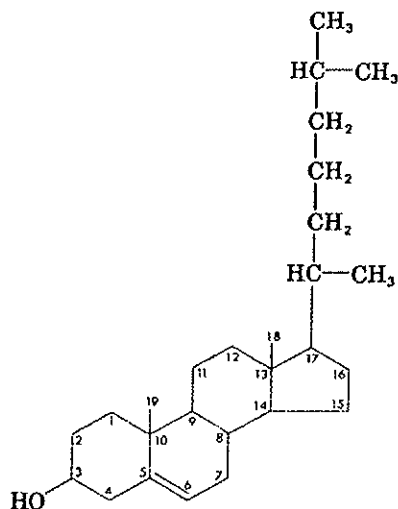


Fig. 3.30 Fórmula da molécula do colesterol. A parte cíclica da molécula é comum a todos os esteróis.

muitas vezes fazendo parte das moléculas dos receptores. São encontrados também como reserva nutritiva, que a célula utiliza quando há necessidade metabólica.

**Polissacarídeos de reserva.** Os polissacarídeos de reserva são o **glicogênio**, nas células animais, e o **amido**, nas células das plantas; ambos são polímeros da D-glicose.

**Glicogênio.** O glicogênio ocorre no citoplasma das células animais sob a forma de grânulos, com diâmetro de 15 a 30 nm, geralmente dispostos em aglomerados (Fig. 1.7). Os grânulos de glicogênio, além do polissacarídeo, contêm proteínas, como as enzimas responsáveis pela síntese e despolimerização do glicogênio.

A D-glicose recebida em excesso pela célula é adicionada, por processo enzimático, às extremidades da molécula de glicogênio. Nos momentos de necessidade, também por atividade enzimática, libertam-se moléculas de D-glicose, que serão utilizadas para os processos metabólicos da célula. Algumas células, como as do fígado, lançam glicose no sangue, para manter estável a concentração desse açúcar no plasma sanguíneo, o que é de grande importância para as funções dos diversos tecidos do corpo.

A molécula de glicogênio tem dimensões variáveis e é muito ramificada em todas as direções do espaço. A Fig. 3.31 é a sua representação esquemática, em duas dimensões.

**Amido.** Ao contrário da célula animal, que armazena glicogênio, a célula vegetal tem amido como reserva energética. O amido é composto de dois tipos de moléculas: a **amilose**, um polímero linear, e a **amilopectina**, um polímero ramificado, ambos constituídos por unidades de glicose.

**Polissacarídeos estruturais e informacionais.** Além dos polissacarídeos de reserva nutritiva (glicogênio e amido), as células sintetizam outros polissacarídeos que fazem parte da superfície celular, onde participam do reconhecimento entre as células para constituir os tecidos, da constituição dos receptores celulares e das ligações estruturais entre o citoplasma e a matriz extracelular (Cap. 12).

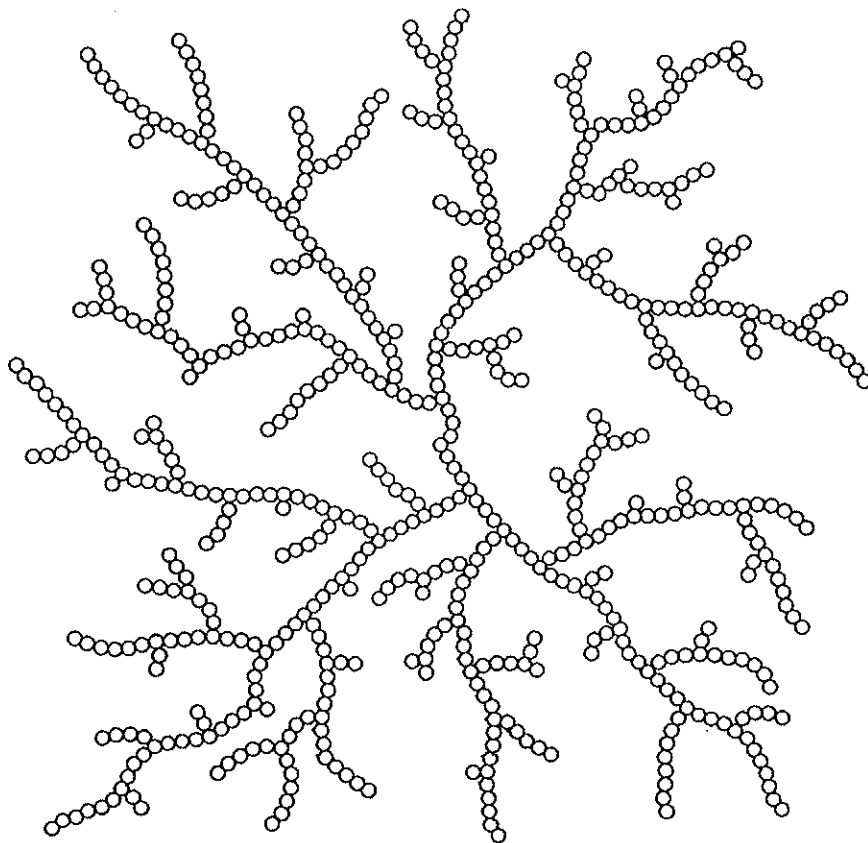


Fig. 3.31 Esquema plano da molécula de glicogênio que, na realidade, ramifica-se em todas as direções do espaço, como os galhos de uma árvore. Cada círculo representa um resíduo de glicose.

Tabela 3.4 Principais funções celulares das moléculas — estas aparecem na ordem crescente de sua diversidade funcional

Tipo de molécula	Ácido nucléico (DNA e RNA)	Lipídio	Polissacarídeo	Proteína
Grau de diversidade funcional	1	2	3	4
	informacional	energética estrutural informacional	energética estrutural informacional	enzimática estrutural informacional movimentação celular energética
FUNÇÕES				

Combinados com proteínas, os polissacarídeos estruturais fazem parte do glicocálice das células animais, da parede das células bacterianas e da parede das células das plantas. A maioria dos polissacarídeos estruturais e informacionais são **heteropolímeros**. Devido à sua complexidade, a estrutura de muitos deles não foi ainda elucidada. Eles constituem as **glicosaminoglicanas**, que se ligam a proteínas para formar as **proteoglicanas**, e a porção glicídica das **glicoproteínas**, cuja estrutura geral será explicada no Cap. 12. A Tabela 3.4 dá uma visão geral da diversidade funcional e estrutural dos principais componentes macromoleculares das células. Os polissacarídeos têm funções energéticas, estruturais e informacionais (glicocálice, hormônios glicoprotéicos).

*As proteínas têm papel enzimático e participam da estrutura e dos movimentos celulares. O papel dos ácidos nucléicos é principalmente informacional: constituem os genes e são responsáveis pela expressão da informação neles contida. Excepcionalmente, o RNA pode ter atividade enzimática. Os lipídios estão presentes em todas as membranas celulares, onde têm papel estrutural, e, como depósitos citoplasmáticos, representam também reserva nutritiva que é metabolizada para fornecer energia para a célula. Os polissacarídeos em combinação com proteínas têm papel estrutural. Isoladamente, são encontrados sob a forma de amido, nas células vegetais, e de glicogênio, nas células animais, representando importante material energético.*

### Resumo

Existe, nas células, *preponderância absoluta dos compostos de carbono, embora eles sejam extremamente raros na litosfera (crosta terrestre). Isso sugere que as primeiras células foram constituídas com esses compostos e que essa seleção foi transmitida às células seguintes, durante o processo evolutivo. As funções vitais dependem da presença de macromoléculas poliméricas de compostos de carbono. Esses polímeros são constituídos pela associação, em número variável, de unidades ou monômeros, que podem ser iguais, nos homopolímeros, como o glicogênio, ou diferentes, nos heteropolímeros, como os ácidos nucléicos. Os biopolímeros mais importantes são as proteínas, formadas por aminoácidos, os polissacarídeos constituídos de monossacarídeos e os ácidos nucléicos formados por nucleotídeos. É muito comum a associação de macromoléculas para formar complexos como lipoproteínas, glicoproteínas, proteoglicanas e nucleoproteínas (ácidos nucléicos e proteínas).*

*A associação entre água e vida é bem conhecida, e toda célula é obviamente rica em água. A molécula de água é um dipolo, com uma extremidade eletricamente mais negativa (mais rica em elétrons) do que a outra. Por suas propriedades, as moléculas de água influem poderosamente nos processos metabólicos, tendo papel também na configuração espacial das macromoléculas e, portanto, na atividade funcional destas.*

### Bibliografia

- Armstrong, F.B.: *Biochemistry*, 3rd ed. Oxford Univ. Press, 1989.  
 Bolsover, S.R.: *Cell Biology. A Short Course*, 2nd ed. Wiley-Liss, 2003.  
 Doolittle, R.F.: Proteins. *Sci. Amer.*, **253** (4):88, 1985.  
 Gilbert, W.: The RNA world. *Nature*, **319**:618, 1986.  
 Guerrier-Takada, C. and Altman, S.: Catalytic activity of an RNA molecule prepared by transcription in vitro. *Science*, **223**:285, 1985.  
 Lehninger, A.L.: *Biochemistry. The Molecular Basis of Cell Structure and Function*, 2nd ed. Worth Pub., 1982.  
 Lehninger, A.L., Nelson, D.L. and Cox, M.M.: *Principles of Biochemistry*, 2nd ed. Worth Pub., 1993.  
 Mildvan, A.S.: Mechanism of enzyme action. *Ann. Rev. Biochem.*, **43**:357, 1974.  
 Murray, R.K. et al.: *Harper's Biochemistry*, 24th ed. Appleton & Lange, 1996.  
 Perutz, M.: *Protein Structure: New Approaches to Disease and Therapy*. Freeman, 1992.  
 Schweigert, H.G. (ed.): *International Cell Biology*. Springer-Verlag, 1981.  
 Sigman, D.S. and Mooser, G.: Chemical studies of enzyme active sites. *Ann. Rev. Biochem.*, **44**:889, 1975.  
 Stryer, L.: *Bioquímica*, 4.ª ed. Guanabara Koogan, 1996.  
 Tanford, C.: The hydrophobic effect and the organization of living matter. *Science*, **200**:1012, 1978.  
 Voet, D. and Voet, J.G.: *Biochemistry*, 2nd ed. John Wiley, 1995.  
 Zaug, A.J. and Cech, T.R.: The intervening sequence RNA of *Tetrahymena* is an enzyme. *Science*, **231**:470, 1986.