

## PROPRIEDADES ÁCIDO-BASE DE AMINOÁCIDOS, POLIPEPTÍDEOS E PROTEÍNAS

1.1. Responda às seguintes questões com “verdadeiro” ou “falso”.

- Só a pH muito baixo ou muito alto é que a forma não ionizada de um dado aminoácido predomina.
- A um valor de pH superior ao valor de  $pK_a$  de um grupo ionizável mais de 50% desses grupos estão ionizados.

1.2. O grupo  $\epsilon$ -carboxilo do ácido glutâmico tem um  $pK_a = 4.3$ .

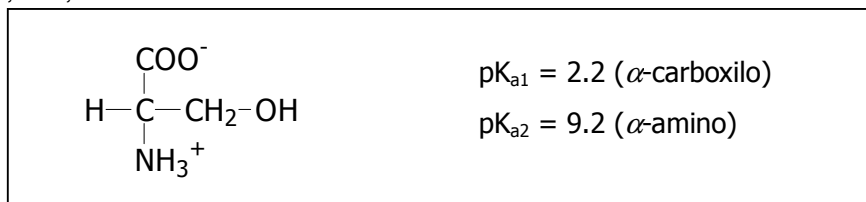
- Que fracção destes grupos estão desprotonados (i.e. na forma  $-\text{COO}^-$ ) em solução diluída de ácido glutâmico a pH = 5.0?
- E a pH = 3.6?
- Calcule as cargas formais do ácido glutâmico para os valores de pH das alíneas anteriores.

1.3. O grupo  $\gamma$ -amino da lisina tem  $pK_a = 10.5$ .

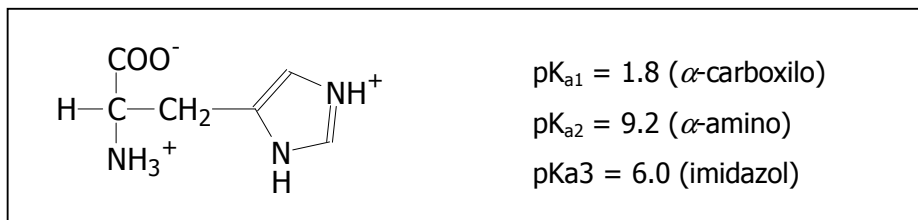
- Que fracção deste grupo está protonada (i.e. na forma  $-\text{NH}_3^+$ ) em solução diluída de lisina a pH = 9.5?
- E a pH = 11.0?
- Calcule as cargas formais da lisina para valores os de pH das alíneas anteriores.

1.4 - Cada grupo ionizável de um aminoácido tem dois estados possíveis de ionização, carregado e não carregado (ex:  $-\text{COO}^-$  e  $-\text{COOH}$ ).

- Represente os estados possíveis de ionização do resíduo **SERINA**.
- Indique qual a forma predominante e a carga formal aos valores de pH iguais a 1.0; 2.2; 4.0; 7.0; 9.2 e 10.4.

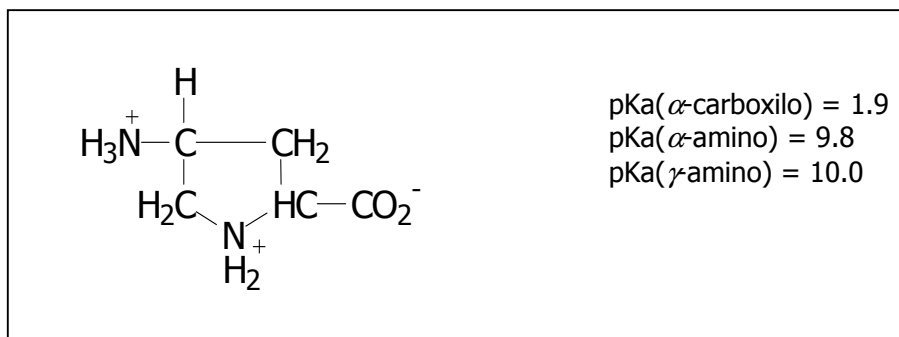


1.5 - O aminoácido **HISTIDINA** apresenta três grupos ionizáveis:



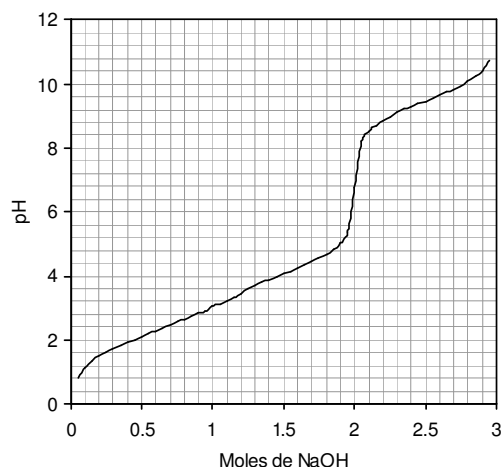
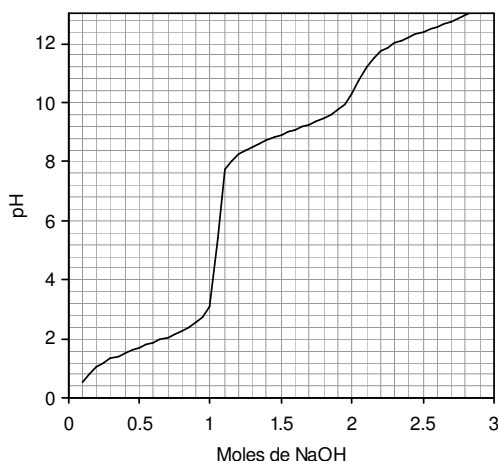
Esquematize uma curva de titulação (pH / equiv. de base adicionada) a partir da forma totalmente protonada indicando as espécies presentes.

1.6 - A partir do colagénio isolado da cauda do canguru obteve-se uma prolina substituída (aminoprolina) ainda não caracterizada. Os valores de  $\text{pK}_a$  dos grupos ionizáveis foram obtidos a partir de curvas de titulação ácido-base.



Indique todas as formas ionizadas deste aminoácido. Calcule o ponto isoelétrico deste aminoácido.

1.7 - Usando os valores de  $\text{pK}_a$  indicados na tabela em anexo identificar os aminoácidos cujas curvas de titulação são mostradas nas figuras abaixo.



**1.8.** - Os aminoácidos podem ser usados como tampões. Uma solução tampão é uma solução que não varia apreciavelmente de pH quando se lhe adiciona ácido ou base. A zona na qual uma dada solução é um tampão efectivo é designada por “zona tampão” e é geralmente definida por  $pK_a \pm 1$ .

- Indique a “zona tampão” da glicina, histidina, aspártico e lisina (sugestão: esboce as curvas de titulação e observe).
- Escolha um aminoácido para tamponizar a pH = 4.0, 6.0, 9.0 e 12.0.

**1.9.** - Um polipeptídeo isolado do cérebro tem a sequência:

**Glu-His-Trp-Ser-Tir-Gli-Leu-Arg-Gli**

- Escreva a estrutura primária do polipeptídeo; represente por **R<sub>i</sub>** as cadeias laterais (ex.: R<sub>Ser</sub>, R<sub>His</sub>) indicando os grupos ionizáveis que existem.
- Representando por  $LH_n^{z+}$  a forma completamente protonada do peptídeo, indique o valor de ‘n’ e de ‘z’ desta forma.
- Indique todas as formas ionizáveis possíveis do polipeptídeo e indique os  $pK_a$  de cada equilíbrio.
- Calcule a carga formal do peptídeo a pH= 3, 5.5, 8 e 11.
- Calcule o pH correspondente ao ponto isoeléctrico deste polipeptídeo.

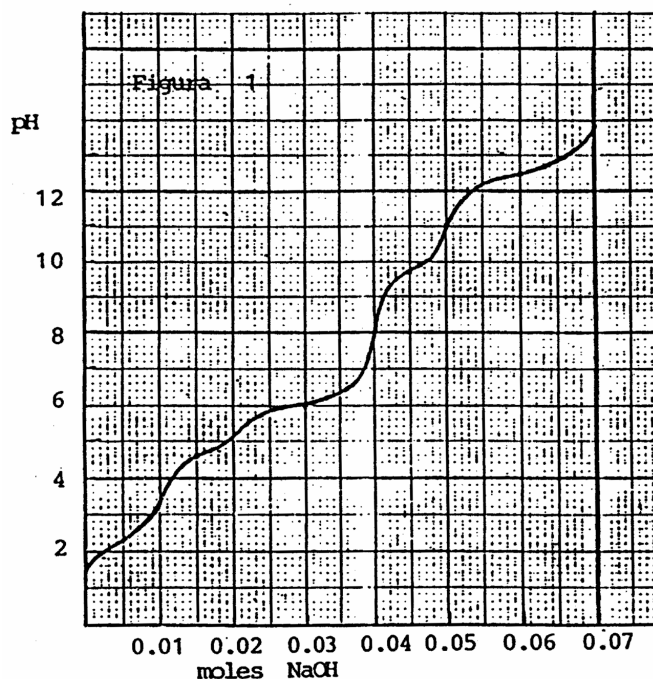
**1.10** - Considere o seguinte peptídeo:

**Glu-Leu-Arg-Met-Glu-Trp-Arg-Ala-Trp-Glu**

- Suponha que vai titular na forma  $L^{n-}$  indique todos os equilíbrios desde a forma totalmente desprotonada até à forma totalmente protonada referindo quais os grupos envolvidos em cada passo e os respectivos valores de  $pK_a$ .
- Desenhe a curva de titulação. Justifique.
- Calcule o pH do ponto isoeléctrico.

**1.11-** Na titulação de 0.01 moles de um peptídeo na sua forma completamente protonada foram gastos 0.07 moles de NaOH. Na figura 1 apresenta-se a curva de titulação realizada.

A composição de aminoácidos revelou somente a presença de três tipos de aminoácidos (Glu, His, Arg).



- Através da curva de titulação observada determine a composição de aminoácidos deste peptídeo. Justifique.
- Escreva os equilíbrios postos em jogo ao longo da titulação e respectivos valores de  $pK_a$ .
- Calcule a carga total do peptídeo a pH 4.0 e a pH 6.0.
- Determine o pH do ponto isoelétrico deste peptídeo.

**1.12.** Duas proteínas, A e B, contêm os seguintes números de resíduos de aminoácidos ionizáveis (resíduos por mole) cujos  $pK_a$  medidos na proteína são:

|  | $pK_a$ | Proteína A | Proteína B |
|--|--------|------------|------------|
| Ácido aspártico ou glutâmico           | 4.5    | 16         | 11         |
| Histidina                              | 6.5    | 2          | 9          |
| Cisteína                               | 8.0    | 2          | ---        |
| Tirosina                               | 9.9    | 4          | 8          |
| Lisina                                 | 10.2   | 14         | 12         |
| Arginina                               | >12    | 10         | 8          |
| $\alpha$ -COOH (C-terminal)            | 3.8    | 2          | 1          |
| $\alpha$ -NH <sub>2</sub> (N-terminal) | 8.0    | 2          | 1          |

Indique a carga aproximada de cada um destes resíduos a pH=5.5 e pH=8.0 (suponha que tem 100% de uma forma se pH estiver a mais que uma unidade de diferença do  $pK_a$ ). Calcule depois a carga total de cada proteína a estes dois valores de pH.

## Apêndice

### OS AMINOÁCIDOS COMUNS: ESTRUTURAS E VALORES DE $pK_A$ .

| Name,<br>Three-letter Symbol,<br>and One-letter Symbol | Structural<br>Formula <sup>a</sup> | Residue<br>Mass<br>(D) <sup>b</sup> | Average<br>Occurrence<br>in Proteins (%) <sup>c</sup> | $pK_1$<br>$\alpha$ -COOH <sup>d</sup> | $pK_2$<br>$\alpha$ -NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> <sup>d</sup> | $pK_R$<br>Side chain <sup>d</sup> |
|--|------------------------------------|-------------------------------------|---|---------------------------------------|---|-----------------------------------|
| <b>Amino acids with nonpolar side chains</b>           |                                    |                                     |   |                                       |   |                                   |
| Glycine<br>Gly<br>G                                    |                                    | 57.0                                | 7.2   | 2.35                                  | 9.78  |                                   |
| Alanine<br>Ala<br>A                                    |                                    | 71.1                                | 7.8   | 2.35                                  | 9.87  |                                   |
| Valine<br>Val<br>V                                     |                                    | 99.1                                | 6.6   | 2.29                                  | 9.74  |                                   |
| Leucine<br>Leu<br>L                                    |                                    | 113.2                               | 9.1   | 2.33                                  | 9.74  |                                   |
| Isoleucine<br>Ile<br>I                                 |                                    | 113.2                               | 5.3   | 2.32                                  | 9.76  |                                   |
| Methionine<br>Met<br>M                                 |                                    | 131.2                               | 2.2   | 2.13                                  | 9.28  |                                   |
| Proline<br>Pro<br>P                                    |                                    | 97.1                                | 5.2   | 1.95                                  | 10.64   |                                   |
| Phenylalanine<br>Phe<br>F                              |                                    | 147.2                               | 3.9   | 2.20                                  | 9.31  |                                   |
| Tryptophan<br>Trp<br>W                                 |                                    | 186.2                               | 1.4   | 2.46                                  | 9.41  |                                   |

<sup>a</sup> The ionic forms shown are those predominating at pH 7.0 although residue mass is given for the neutral compound. The C<sub>α</sub> atoms, as well as those atoms marked with an asterisk, are chiral centers with configurations as indicated according to Fischer projection formulas. The standard organic numbering system is provided for heterocycles.

<sup>b</sup> The residue masses are given for the neutral residues. For the molecular masses of the parent amino acids, add 18.0 D, the molecular mass of H<sub>2</sub>O, to the residue masses. For side chain masses, subtract 56.0 D, the formula mass of a peptide group, from the residue masses.

<sup>c</sup> Calculated from a database of nonredundant proteins containing 300,688 residues as compiled by Doolittle, R. F. in Fasman, G. D. (Ed.), *Predictions of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation*, Plenum Press (1989).

<sup>d</sup> Source: Dawson, R.M.C., Elliott, D.C., Elliott, W.H. and Jones, K.M., *Data for Biochemical Research* (3rd ed.), pp. 1–31, Oxford Science Publications (1986).

<sup>e</sup> The three- and one-letter symbols for asparagine or aspartic acid are Asx and B, whereas for glutamine or glutamic acid they are Glx and Z. The one-letter symbol for an undetermined or “nonstandard” amino acid is X.

| Name,<br>Three-letter Symbol,<br>and One-letter Symbol | Structural<br>Formula <sup>a</sup> | Residue<br>Mass<br>(D) <sup>b</sup> | Average<br>Occurrence<br>in Proteins (%) <sup>c</sup> | pK <sub>1</sub><br>α-COOH <sup>d</sup> | pK <sub>2</sub><br>α-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> <sup>d</sup> | pK <sub>R</sub><br>Side chain <sup>d</sup> |
|--|------------------------------------|-------------------------------------|---|--|--|--|
| <b>Amino acids with uncharged polar side chains</b>    |                                    |                                     |   |  |  |  |
| Serine<br>Ser<br>S                                     |                                    | 87.1                                | 6.8   | 2.19                                   | 9.21   |  |
| Threonine<br>Thr<br>T                                  |                                    | 101.1                               | 5.9   | 2.09                                   | 9.10   |  |
| Asparagine <sup>e</sup><br>Asn<br>N                    |                                    | 114.1                               | 4.3   | 2.14                                   | 8.72   |  |
| Glutamine <sup>e</sup><br>Gln<br>Q                     |                                    | 128.1                               | 4.3   | 2.17                                   | 9.13   |  |
| Tyrosine<br>Tyr<br>Y                                   |                                    | 163.2                               | 3.2   | 2.20                                   | 9.21   | 10.46 (phenol)                             |
| Cysteine<br>Cys<br>C                                   |                                    | 103.1                               | 1.9   | 1.92                                   | 10.70  | 8.37 (sulfhydryl)                          |
| <b>Amino acids with charged polar side chains</b>      |                                    |                                     |   |  |  |  |
| Lysine<br>Lys<br>K                                     |                                    | 128.2                               | 5.9   | 2.16                                   | 9.06   | 10.54 (ε-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )    |
| Arginine<br>Arg<br>R                                   |                                    | 156.2                               | 5.1   | 1.82                                   | 8.99   | 12.48 (guanidino)                          |
| Histidine<br>His<br>H                                  |                                    | 137.1                               | 2.3   | 1.80                                   | 9.33   | 6.04 (imidazole)                           |
| Aspartic acid <sup>e</sup><br>Asp<br>D                 |                                    | 115.1                               | 5.3   | 1.99                                   | 9.90   | 3.90 (β-COOH)                              |
| Glutamic acid <sup>e</sup><br>Glu<br>E                 |                                    | 129.1                               | 6.3   | 2.10                                   | 9.47   | 4.07 (γ-COOH)                              |