

- Bioenergéticas

27.001

ADSORÇÃO E DESSORÇÃO DE ORTOFOSFATO EM PIRITA SUSPensa EM MEIOS QUE SIMULAM CENÁRIOS AQUOSOS PREBIÓTICOS: POSSÍVEL RELEVÂNCIA EM REAÇÕES DE FOSFORILAÇÃO. ¹Montezano, V.; ¹Kellington, E.; ¹Berk, W.; ¹Chin-San, Y.; ¹Levigard, R. B.; ¹Costa, C. S.; ²Monte, M. B. M.; ³Bonapace, J. A. P.; ⁴Souza-Barros, F.; ¹Vieyra, A. R. ¹IBCCF-UFRJ; ²CETEM, UFRJ; ³Química UFRJ; ⁴Física UFRJ

Objetivo:

Em trabalhos recentes (para revisões ver Vieyra et al. e Souza-Barros et al. *In Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology*, Vol 7, 2004) nossos laboratórios formularam a hipótese de que minerais de Fe/S e, especialmente a pirita (FeS₂), teriam participado da catálise de transfosforilações durante a evolução química na Terra primitiva em torno de 4 bilhões de anos atrás. E, ainda, que estes mecanismos de catálise pela pirita teriam sido capturados (taking over) pelas enzimas transdutoras de energia contemporâneas. Todavia, é aceito que ambientes aquáticos prebióticos continham baixas concentrações de ortofosfato solúvel (Pi), necessário para essas reações de fosforilação. Os objetivos do presente trabalho foram de investigar a modulação da captura e liberação de Pi solúvel por FeS₂.

Métodos e Resultados:

A incubação de pirita com água do mar artificial primitiva (Snyder & Fox, 1975) contendo 0,6 mM Pi leva à remoção completa deste último da solução. A adsorção do Pi na superfície da pirita ($A_{max} = 0,6 \text{ nmol/mL}$) é rápida ($k > 0,04 \text{ min}^{-1}$) e completa, sendo posteriormente seguida de lenta dessorção ($k = 0,00016 \text{ min}^{-1}$ a pH 5.5). A velocidade de dessorção se acentua a pH 6.6 ($k = 0,0011 \text{ min}^{-1}$) e se torna praticamente nula com a acidificação do meio para pH 4.0. A dessorção não ocorre sob agitação que simula ondas e vibrações marinhas. Quando o sobrenadante da suspensão de pirita é removido imediatamente após completada a adsorção do Pi (20 min) e substituído por uma nova solução de idêntica composição, o fenômeno de dessorção não se observa. A análise do sobrenadante obtido aos 20 min revela a existência de Fe livre (desprendido da pirita) que seria responsável por mudanças na superfície do próprio mineral: quando este sobrenadante se utiliza para ressuspender pirita, ele promove a dessorção de Pi previamente adsorvido no mineral.

Conclusões:

A partir dos resultados apresentados conclui-se que fragmentos de pirita poderiam ter transportado Pi adsorvido em ambientes ácidos, disponibilizando-o em forma solúvel para reações de fosforilação em meios aquosos fracamente alcalinos durante a evolução química. Postula-se ainda que este Pi poderia ser utilizado em reações primitivas de fosforilação.

27.002

TERMOESTABILIDADE DA XILANASE PRODUZIDA PELO FUNGO *THERMOMYCES LANUGINOSUS*: UM ESTUDO POR SIMULAÇÃO MOLECULAR. Vieira, D. S. Química, USP

Objetivo:

O objetivo é investigar o comportamento (diferenças estruturais) da xilanase, enzima termoestável que hidrolisa as ligações β -1,4 da cadeia principal da xilana (principal polissacarídeo constituinte do complexo hemicelulósico das plantas), em diferentes temperaturas.

Métodos e Resultados:

As simulações foram realizadas no ensemble isotérmico-isobárico (NpT) em pH fisiológico nas temperaturas de 25, 35 e 45C. As equações de movimento foram integradas usando o algoritmo leap-frog com um tempo de integração de 2.0fs e tempo total de 4ns. A estabilidade das estruturas geradas nas simulações e a evolução das modificações estruturais em função da temperatura foram avaliadas pelo desvio quadrático médio (RMSD's). Os baixos valores (médias temporais) apresentados pelo RMSD são característicos de proteínas que exibem uma alta conservação estrutural; $0.137 \pm 0.019\text{nm}$ (25C), $0.145 \pm 0.022\text{nm}$ (35C) e $0.173 \pm 0.024\text{nm}$ (45C). A alta conservação estrutural é consequência da existência de uma rede de ligações de hidrogênio (LH) intramoleculares capaz de restringir a movimentação da cadeia principal. Em média 160 LH's foram detectadas. A presença de pontes salinas e agregados iônicos também foram detectados. A área molecular acessível ao solvente mostra uma tendência geral de exposição dos resíduos com o

aumento da temperatura. Dentre os resíduos que apresentaram menor exposição 70% são apolares.

Conclusões:

Os resultados mostram claramente a alta estabilidade exibida pela enzima em condições ambientes assim como em temperaturas de 10 à 20C mais elevadas. Fatores tais como, as LH's intramoleculares e o empacotamento (baixo grau de exposição ao solvente) de resíduos hidrofóbicos são requisitos fundamentais dentro do processo de termoestabilização de proteínas.

27.003

EFEITO DO HORMÔNIO TIREOIDEANO NA Ca^{2+} -ATPASE DE MÚSCULO CARDÍACO. ¹ Ketzer, L. A.; ²Carvalho, D. P.; ³de Meis, L. ¹Bioquímica CCS-UFRJ; ²IBCCF-UFRJ; ³Bioquímica Médica UFRJ

Objetivo:

O hormônio tireoideano provoca graves alterações no sistema cardiovascular, como, por exemplo, alterações na frequência cardíaca, consumo de oxigênio e velocidade de relaxamento. Sugere-se que estas alterações sejam devido a mudanças na expressão e/ ou atividade de várias proteínas. A Ca^{2+} -ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA) é uma proteína de membrana, responsável pelo transporte de cálcio do citoplasma para o lúmen do retículo, usando a hidrólise de ATP como fonte de energia. A isoforma cardíaca (SERCA2a) controla o relaxamento do miocárdio e é regulada pela fosfolambam (PLB). No presente trabalho, estudou-se os parâmetros cinéticos da Ca^{2+} -ATPase de músculo cardíaco de coelhos hiper e hipotireoideanos e a expressão da SERCA2a e PLB.

Métodos e Resultados:

As vesículas do retículo sarcoplasmático foram obtidas de coelhos normais, hipotireoideanos (PTU 0,08% por 21 dias) e hipertireoideanos (100 μ g T4/kg, diariamente por 8 dias) e foram incubadas no meio de reação a 35°C. As expressões de SERCA2 e PLB foram determinadas por Western Blot. O hipertireoidismo provocou um aumento de $37,5 \pm 6$ % (n = 10) no transporte de Ca^{2+} , enquanto que o hipotireoidismo diminuiu 40 ± 8 % (n = 10) o transporte de Ca^{2+} em comparação com o grupo controle. Entretanto, a atividade Ca^{2+} -ATPásica não apresentou alterações significativas. A expressão de SERCA2 estava aumentada em coelhos hipertireoideanos e nenhuma mudança foi observada em coelhos hipotireoideanos. Todavia, observou-se que o hipotireoidismo aumenta a expressão da PLB.

Conclusões:

O aumento na atividade de transporte de Ca^{2+} em coelhos hipertireoideanos se deve principalmente ao aumento na expressão de SERCA2. No hipotireoidismo, a diminuição na atividade de transporte de Ca^{2+} é provavelmente devido ao aumento da expressão de PLB, a qual interage com a SERCA2, inibindo-a e reduzindo a afinidade pelo Ca^{2+} .