

# ONDAS, CRISTAIS E ESTRUTURA BIOMOLECULAR

## UMA PERSPECTIVA HISTÓRICA

Raquel Gonçalves-Maia\*

Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa  
rmcgonc@gmail.com

**Waves, Crystals and Biomolecular Structure - a historical perspective** – *Crystallographic analysis by X rays, a transversal and interdisciplinary technique, has been supplying us with new information about structure at the atomic-molecular level of certain atom groups in the molecules of life and its relationship with biological function. Structural Biology presents expansion and creativity. Today, it is possible to study not only structures at the steady state, but also dynamic events with crystals.*

*The scientific progress, both theoretical and applied, attained in Physics, in Chemistry, in Biochemistry and in Biology, in connection with a parallel progress in Mathematics and Computer Science, was crucial for the full exploitation of the potential offered by von Laue's and Braggs' old methods. The knowledge of bio-molecular structures and mechanisms that support living cells establish new disciplines that are connected to Pharmacology and Medicine.*

*It is one hundred years in 2014 that the Nobel Prize for Physics was awarded to Max von Laue "for his discovery of the diffraction of X-rays by crystals"; 2014 was elected International Year of Crystallography. The historical component of this extraordinary adventure deserves being told.*

A análise cristalográfica por raios-X, interdisciplinar e transversal, tem vindo a oferecer-nos novas informações sobre a estrutura a nível atómico-molecular e a relação existente entre certos agrupamentos de átomos e a sua funcionalidade biológica. A Biologia Estrutural apresenta expansão e criatividade. Hoje, é possível estudar, não só estruturas em estado de equilíbrio, mas também acontecimentos dinâmicos com cristais.

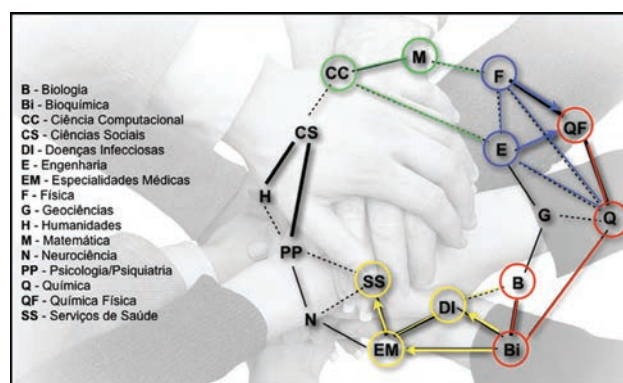
Os desenvolvimentos científicos, teóricos e aplicados, na Física, na Química, na Bioquímica e na Biologia, associados aos progressos de carácter matemático e computacional, foram fundamentais para a total exploração do potencial dos velhos métodos de von Laue e dos Bragg. O conhecimento das estruturas biomoleculares e dos mecanismos que mantêm as células vivas fundamentam novas disciplinas, disciplinas interligadas com a Farmacologia e a Medicina. Em 2014 faz cem anos que foi entregue o Prémio Nobel da Física a Max von Laue “pela descoberta da difracção dos raios-X pelos cristais”; 2014 foi eleito o Ano Internacional da Cristalografia. A componente histórica desta extraordinária aventura merece ser contada.

### 1. INTRODUÇÃO

A Química é uma ciência muito diversificada. No entanto, creio que todos concordamos que o conhecimento das estruturas moleculares ocupa uma posição central que é o verdadeiro apoio da síntese e do estudo da actividade de química – sejam eles dirigidos à criação de moléculas de aplicação prática ou um “simples” desafio intelectual [1–3]. Compreender as estruturas moleculares e as transformações ocorridas nessas mesmas estruturas tem sido, porventura, o maior desafio da ciência química ao longo do século XX, propagando-se pelo século XXI; e, utilizando palavras de Roald Hoffmann, é ainda mais a “criação” do que a “descoberta” o grande objectivo da comunidade dos químicos [4].

Estrutura molecular? Estrutura tridimensional...

A Física ajuda. Ajuda teoricamente através da determinação das energias envolvidas nas ligações. Ajuda tecnicamente, conjugando-se com a Engenharia, a fim de elaborar



**Figura 1** – Mapa de Consenso de Klavans e Boyack, mostrando vertentes privilegiadas de interação

aparelhagem apropriada. A evolução matemática e computacional, altamente sofisticada, coopera [5]. Sem umas e sem outras nunca se poderia ter obtido a demonstração tão rigorosa de previsões estruturais moleculares; nem nunca as Ciências Médicas e Farmacológicas, a par com os Serviços de Saúde, delas teriam usufruído.

Neste contexto, o experimentalista químico é essencial – o uso da observação empírica, da interpretação química

\* Professora Catedrática aposentada

apoiada em conceitos químicos ligados às propriedades manifestadas pela matéria, faz toda a diferença. É a compreensão em termos humanos, ainda que sempre com a pretensão de objectividade...

Em geral, as hipóteses são muitas e as soluções de uma correlação, de uma aproximação estatística ou de uma série de cálculo dir-se-iam “infinitas”. A opção final segue o princípio de Occam, favorece o mecanismo mais simples, sem nunca esquecer que outros existem.

Um químico olha para o lauegrama de uma molécula e, tal como Miguel Ângelo enfrentando o seu “Moisés” [6], grita-lhe: *FALA!*

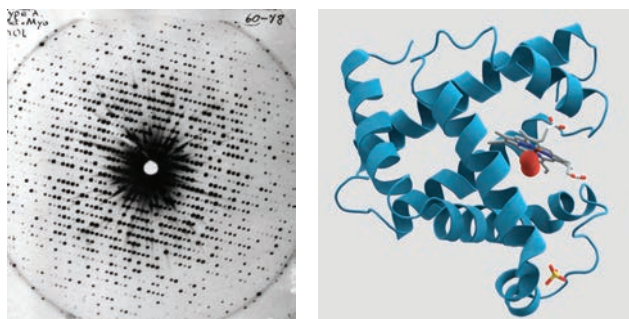


Figura 2 – Lauegrama da mioglobina e correspondente estrutura

## 2. RAIOS-X E REDE CRISTALINA

Tudo começou como muitas vezes começa... *Uma obra de acaso para espíritos preparados*, assim disse Louis Pasteur.

Foi na Alemanha, em 1895, e teve como protagonista um “velho” professor – Wilhelm Röntgen tinha então 50 anos; ao estudar o comportamento dos raios catódicos num tubo de vácuo, foi confrontado com um fenómeno inédito. Avisitou outros raios. Chamou-lhes raios-X, por x ser a incógnita favorita dos matemáticos [7].

Os raios-X eram muito penetrantes, atravessavam a carne, expunham os ossos. Com raios-X, fotografou a mão da sua mulher, Anna Bertha Ludwig. Em Dezembro de 1895, após um trabalho *non-stop* outonal, apresentou a sua famosa “Primeira Comunicação” na Sociedade Científica de Wurtzburgo e o artigo foi imediatamente publicado – a tempo de Röntgen o enviar aos amigos juntamente com os ossos da mão de Bertha, como prenda de Natal.



Figura 3 – Raios-X por Wilhelm Röntgen da mão esquerda de sua mulher

Röntgen tinha conhecido a sua futura mulher num café de estudantes. Os cafés – quem diria! – são fundamentais na nossa história.

Era no Café Lutz, em Munique, que Debye, Sommerfeld e jovens investigadores debatiam ideias, rabiscavam as mesas com diagramas e cálculos, enfim, davam à luz... Por volta de 1910, Max von Laue tem 30 anos e discute com Paul Ewald a dispersão dos raios-X e as redes cristalinas [8]. Walter Friedrich e Paul Knipping escolhem uma primeira “vítima” para ser submetida aos ditos raios: um cristal de sulfato de cobre; depois, foi a vez de cristais de sulfureto de zinco, de sulfureto de chumbo e de cloreto de sódio. Assim nasceu a difracção dos raios-X pelos cristais e os poderosos efeitos de interferência ilustrados nos, tão admiráveis quanto confusos, “diagramas de von Laue”.

Para o nosso afamado cloreto de sódio subsistia a dúvida. Existiria a molécula isolada, composta por dois iões, ou tratava-se de uma rede cristalina? Competiu aos Bragg resolver o seu corpo tridimensional.

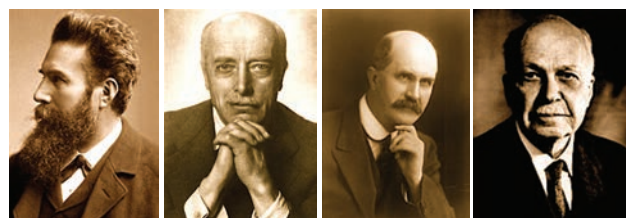


Figura 4 – Wilhelm Röntgen, Max von Laue, William Bragg e Lawrence Bragg

O pai, o britânico William Henry Bragg, professor de Matemática e Física em Adelaide, na Austrália, era casado e pai de dois rapazes e uma rapariga. Em 1908 tinha aceitado a cátedra de Física na Universidade de Leeds. Entretanto, o seu filho mais velho, William Lawrence Bragg graduara-se em Matemática e em Física e investigava na Universidade de Cambridge [9]. O pai experimentalista, o filho teórico: uma dupla de respeito!

A Grande Guerra estava em curso. Quando em Novembro de 1915 souberam que lhes tinha sido atribuído o Prémio Nobel foi magra a consolação face à morte de Robert, o irmão mais novo de Lawrence, na batalha de Gallipoli. Lawrence Bragg, 25 anos, o mais jovem até aos dias de hoje galardoado com o Nobel. Nada demais! Se é certo que o dispositivo experimental foi obra do pai, a célebre fórmula que relaciona comprimento de onda da radiação ( $\lambda$ ) com distância entre planos do cristal ( $d$ ) foi obra do filho:

$$n\lambda = 2d \sin\theta$$

## 3. BIOLOGIA ESTRUTURAL

“What counts in science is to be not so much the first but the last...”, escreveu Erwin Chargaff em consequência do esquecimento a que fora votado a propósito da decifração estrutural do ADN.

Mas nós, a propósito do surgimento da “Biologia Molecular”, melhor diríamos Biologia Estrutural, não vamos esquecer o trabalho pioneiro de William Astbury, desenvolvido primeiro no Laboratório Davy-Faraday da *Royal Institution* (tendo então William Bragg como director) e, depois, na Universidade de Leeds [10]. Os estudos estruturais de fibras biológicas foram o seu maior contributo. Nascia a “Biologia Molecular”, designação que, se não foi invenção sua, foi por ele muito apoiada. Da estrutura para a função...

Os diagramas obtidos por difracção de raios-X, porém, eram difusos, imprecisos – fraca aparelhagem e cálculos difíceis, se não impossíveis. A análise cristalográfica por raios-X teria necessariamente de evoluir – tecnicamente, experimentalmente e teoricamente; e de se expandir – dos cristais simples para o material microcristalino, das pequenas moléculas para as grandes moléculas, dos sais inorgânicos para as moléculas da vida.

John Desmond Bernal, o tão controverso “*Sage*”, colega de Astbury na *Royal Institution* e, depois, professor investigador nas Universidades de Cambridge e de Londres, desenvolveu e optimizou, nos anos 1920-30, o equipamento de cristalografia de cristal único [11]. Um fotogoniómetro de raios-X de Bernal foi mesmo comercializado. Estudou a estrutura da grafite primeiro e, em correspondência com Astbury, a estrutura de vários aminoácidos. Os “diagramas de von Laue”, finalmente, tornam-se nítidos, decifráveis, transpiram conhecimento... mas como decodificá-los?

Os diagramas são imagens bidimensionais que se querem transformados em estruturas tridimensionais de moléculas. É crítico saber o valor de ângulos e distâncias de disposição de conjuntos singulares de átomos uns em relação aos outros. As propriedades físicas, químicas e biológicas das moléculas – a sua “função” – deles dependem.



**Figura 5** – William Astbury, John Bernal e Dorothy Hodgkin

É imperativo, todavia, que o investigador possua uma forte dose de imaginação (não confundir com imaginário) e de percepção espacial para entender a forma tridimensional a partir de dados bidimensionais. “*Yes, I can see it!*”, dizia Dorothy Crowfoot Hodgkin, visionando em contra luz o seu “*donut*” de insulina [12]. A linguagem da química é altamente pictórica, “arte abstracta” diríamos, não livre de ambiguidades, mas algo hermética – só mesmo para “iniciados”...

## CÁLCULOS E MAIS CÁLCULOS

O primeiro recurso urgente adveio das chamadas “funções de Patterson”, cuja metodologia fazia uso das velhas “séries de Fourier”. Cálculos infundáveis... As “tiras Beevers-Lipson”, com valores pré-determinados para algumas funções trigonométricas, foram uma boa ajuda. Num resumo simplista diríamos que, desde que se dispusesse de bons diagramas de difracção de raios-X, era possível construir, com certo grau de aproximação, mapas de densidade electrónica de um cristal – juntar o quantitativo ao qualitativo, agregar valores de distâncias e de ângulos entre os átomos da molécula, anexar orientações no espaço.



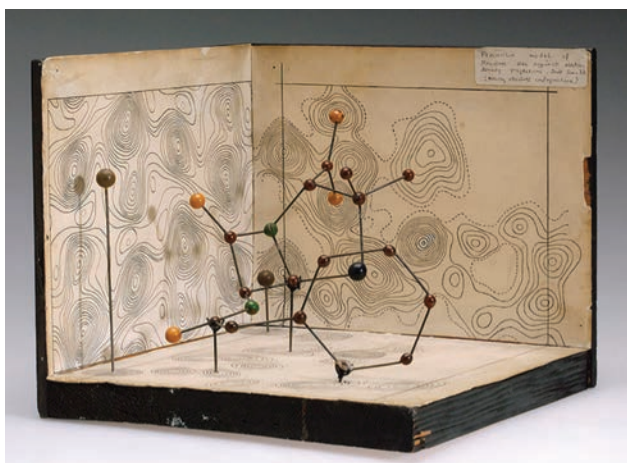
**Figura 6** – “Computing Methods and the Phase Problem in X-ray Analysis”, Pennsylvania State College, PA, USA (1950). Da esquerda para a direita: J. M. Bijvoet, J. F. Schouten, H. Lipson, E. G. Cox, C. H. MacGillivray, M. F. Perutz, C. W. Bunn, C. A. Beevers, R. Pepinsky, J. M. Robertson and E. Grison

Um segundo recurso, que veio a mostrar-se fundamental, foi o uso de isomorfos, a substituição controlada de um ou mais átomos pesados na molécula em estudo; a comparação dos mapas de densidade electrónica, com e sem substituintes, tornou-se um poderoso auxiliar de interpretação estrutural. Pelo menos no que respeita aos cristais de proteínas a primeira sugestão deve-se a John Desmond Bernal. Regressemos, pois, a Desmond Bernal [11,13]. Excepcional, na total acepção da palavra! Comunista no Reino Unido dos anos 1930, amante do amor livre, várias mulheres e vários filhos, um “*Sage*” com todos os condimentos, incluindo uma obra gigantesca no âmbito da História sociológica da Ciência, a figura do protagonista “*Constantine*” da novela “*The Search*” de C. P. Snow...

## BARREIRAS DE SOM E LUZ

Tantas moléculas decifradas, tantos os que por Bernal foram estimulados! Dorothy Hodgkin e Max Perutz foram dois dos contaminados. Quando, em 1936, Perutz trocou Viena de Áustria por Cambridge perguntou: “Como posso solucionar o problema da vida?” Bernal respondeu-lhe: “O segredo da vida está na estrutura das proteínas. Resolve o problema por cristalografia de raios-X”. Estava parcialmente enganado, mas só parcialmente...

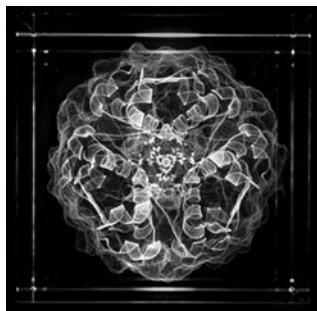




**Figura 7** – Modelo da penicilina por Dorothy Hodgkin (1945)

Dorothy Crowfoot Hodgkin foi exemplar. Nem a sua artrite reumatóide alguma vez lhe quebrou o ânimo. Não quebrou o ânimo, mas quebrou ela “a barreira do som” – pelo menos assim o afirmou Lawrence Bragg quando ela decifrou a poderosa molécula da vitamina B<sub>12</sub> [12,14]. Foi o culminar de uma era espacial! A partir daí tudo se diria possível... E foi. Dorothy Crowfoot Hodgkin recebeu o Prémio Nobel da Química em 1964, “*A Mother of Three*”, como elucidou “muito a propósito” o *Daily Telegraph*.

Serão 35 anos tempo demais para esclarecer a estrutura tridimensional de uma pequena proteína, a insulina, pouco mais de 50 aminoácidos, com sub-unidades, pontes, monómero, dímero e hexâmero? Inimaginável o trabalho por detrás de tal empreendimento. E, para mais, foi preciso esperar que as ciências computacionais adquirissem a necessária maturidade.



**Figura 8** – Modelo do hexâmero de insulina humana e “Insulin”, escultura a laser sobre cristal por Bathsheba Grossmann (Cortesia da autora)

Foram muitos os colaboradores de Dorothy Hodgkin em tal empreendimento. Realçarei aqui, a título de homenagem, dois deles: Guy Dodson, o amigo de todas as virtudes, falecido em 2012; e Tom Blundell, o jovem cientista que pela primeira vez apresentou em público o modelo da insulina.

Max Perutz começou o estudo da hemoglobina do sangue – milhares de átomos para localizar no espaço – no Laboratório Cavendish, então sob a direcção de Lawrence Bragg, por volta de 1937. Em 1960, a revista *Nature* publicava a sua resolução estrutural. Dois anos antes, porém, o seu colega de grupo John Kendrew desvendara a estrutura da



**Figura 9** – Guy Dodson e Tom Blundell

mioglobina: o grupo heme bem detalhado, a cadeia polipeptídica, as cadeias laterais, uma hélice alfa [15].

Uma certeza emergiu destas resoluções: a semelhança configuracional entre a mioglobina e a hemoglobina, ainda que a primeira seja muito mais pequena do que a segunda, correspondia-se com a semelhança das funções que desempenham nos organismos.

Em 1962, Max Perutz e John Kendrew receberam o Prémio Nobel da Química pelo desvendar da estrutura molecular das proteínas globulares. Nesse mesmo ano, foi outorgado a James Watson, Francis Crick e Maurice Wilkins o Prémio Nobel da Fisiologia ou Medicina pelas “descobertas relativas à estrutura molecular de ácidos nucleicos”. Neste enredo, seria um profundo desrespeito não referir o contributo de Rosalind Franklin, então já falecida, para a construção do modelo estrutural do ADN [16]. A “Fotografia 51”, com um X perfeito e sem incógnita, sempre ficará na história da Cristalografia de Raios-X!



**Figura 10** – Rosalind Franklin e o logótipo da Universidade de Medicina e Ciência no Illinois (EUA), baseado na “Fotografia 51” do DNA

#### EM PORTUGAL

A análise cristalográfica por aplicação de raios-X com o fim de decifrar estruturas moleculares de compostos inorgânicos e orgânicos e, depois, bioorgânicos, disseminou-se um pouco por todo o mundo, por centros e escolas de investigação a maioria alocada em universidades.

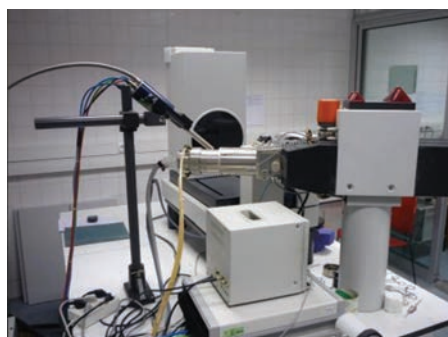
Em Portugal, em 1930, João Rodrigues de Almeida Santos, assistente do Departamento de Física da Universidade de Coimbra, voa até Manchester, ao encontro de Lawrence Bragg. Aí obtém o PhD com uma tese versando a decifração de estruturas do cloreto de cobalto e de sais de cloreto de cério, rubídio e tálio de alguns heteropoliácidos, sem-

pre obtidas por difracção de raios-X. De regresso, adquiriu uma aparelhagem de raios-X com a qual efectuou novos estudos. Em 1947 publicou um artigo de revisão e divulgação da aplicação dos raios-X à determinação de estruturas no Boletim da Sociedade de Radiologia Médica [17].



**Figura 11** – João Rodrigues de Almeida Santos (Cortesia de Maria Susana Newton de Almeida Santos)

A partir dos anos 60 emergiram no nosso país novas áreas de investigação estrutural por cristalografia de raios-X, em particular estudos de macromoléculas de interesse biológico. Em 2006, a *Newsletter* da *International Union of Crystallography* publicou um artigo intitulado “*Portugal, past and present*”, onde as autoras nos dão conta da excelente evolução havida neste domínio [18].



**Figura 12** – Difractómetro de raios-X de ângulo rotativo de cobre, para difracção de cristal único, acoplado a um detector de área (tipo *image plate*) e a um sistema de refrigeração por corrente de azoto gasoso arrefecido (~100K). (Cortesia do Grupo de Cristalografia de Macromoléculas, XTAL, da FCT-NOVA)

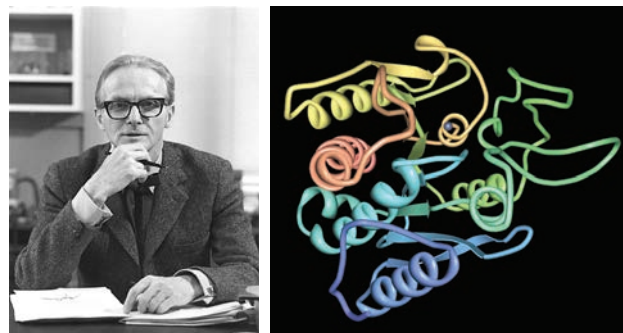
#### 4. RENOVAÇÃO E INOVAÇÃO

Em 1965, David Phillips, ao tempo no Laboratório Davy-Faraday da *Royal Institution*, decifrou com a resolução de 2,0 Å a proteína enzimática lisozima. David Phillips conseguiu explicar a actividade antibacteriana da lisozima, enzima que faz parte do sistema imunitário, e propor mesmo um mecanismo de actuação. Estudo importante, que permitiu generalizações sobre a procedimento dos enzimas.

Depois, em 1967, foi a vez da decifração estrutural da carboxipeptidase (CPA) por William Lipscomb, o “Coronel”, na Universidade de Harvard, da Ribonuclease A (RNase A) por David Harker, então no *Roswell Park Memorial Insti-*

*tute* da Universidade de Nova Iorque, da ribonuclease S (RNase S) por Frederic Richards, na Universidade de Yale, e da quimotripsina por David Blow, em Cambridge, na unidade de Max Perutz [1,19].

Impossível enumerar todos os feitos, um a um, a partir daqui.



**Figura 13** – William Lipscomb e modelo da estrutura da carboxipeptidase-A

Quando o *Protein Data Bank* foi criado, em 1970, o banco apenas continha referência à estrutura de sete proteínas; em 1976 estavam treze depositadas. No final de 2012 podiam ser consultadas 87089 estruturas 3D proteicas! Outras técnicas surgiram, mas o estudo estrutural de proteínas continua a ser maioritariamente feito por difracção de raios-X – cerca de 89% [20].

São vários os padrões de medida do sucesso da área científica da difractometria de raios-X para análise estrutural cristalográfica. Desde logo o número e a qualidade das atribuições de Prémios Nobel em Química que recompensam realizações neste domínio surgidas ao longo do século XX e propagando-se, com enorme vitalidade, pelo século XXI.

Em 1947/48 os cristalógrafos de todo o Mundo passaram a dispor de uma União Internacional – *International Union of Crystallography* (IUCr) – para além de um jornal específico, a *Acta Crystallographica* [21]. Depois, os *Crystallography Journals* multiplicaram-se.

Um outro padrão, muito significativo e, indubitavelmente, muito belo, da medida do sucesso deste domínio científico observa-se no seu impacto sobre a Arte. Logo em 1951, surgiu o *Festival of Britain*, em consequência de um desafio lançado entre cientistas, *designers* e industriais (fabricantes de tecidos, papel de parede e outros). A respectiva exposição chamou-se: “From atoms to patterns”. Diagramas de estruturas atómicas e de estruturas cristalinas foram os grandes inspiradores [22].

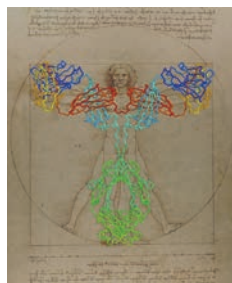
Mas não se ficou por aqui. Elaborações artísticas, como as de Bathsheba Grossmann (escultura a *laser* sobre cristal), de que é exemplo a esplêndida árvore da vida intitulada “*Life’s Code in Action*”, [23] representativa de um fragmento de DNA polimerase I, ou a escultura em aço “*Angel of the West*”, [24] de Julian Voss-Andreae exposta no *Scripps Research Institute* (Júpiter, Florida), onde uma par-



cela da estrutura da imunoglobulina se “confunde” com o Homem Vitruviano de Leonardo da Vinci, são expressivas alianças de Arte e análise estrutural cristalográfica.



**Figura 14** – Estrutura de DNA polimerase I (fragmento; RCSB PDB 1KLN) e “Life’s Code in Action”, escultura a laser sobre cristal por Bathsheba Grossmann (Cortesia da autora)



**Figura 15** – “Angel of the West”, escultura em aço de Julian Voss-Andreae (Cortesia do autor)

A análise estrutural por cristalografia de raios-X tem um século. Os seus fundamentos têm raízes profundas, mas vai longe o tempo em que obter um “belo” diagrama de raios-X significava obter um simples quadro de difracção com manchas ordeiramente distribuídas. Depois, já para moléculas razoavelmente complexas, significava obter revelações nítidas, muitas, apresentando simetria e resolução [1,25].

Hoje, é possível estudar, não só estruturas em estado de equilíbrio, mas também acontecimentos dinâmicos com cristais. Hoje, o conhecimento das estruturas biomoleculares permite entender os mecanismos que mantêm as células vivas. Hoje, um “belo” diagrama é uma porta aberta para a criação de novas biomoléculas com novas funções, em interligação perfeita com a Farmacologia e a Medicina.

## REFERÊNCIAS

- [1] R. Gonçalves-Maia, “Dos Raios X à Estrutura Biomolecular”, Editora Livraria da Física, São Paulo, 2013
- [2] B. Rupp, “Biomolecular Crystallography: Principles, Practice, and Application to Structural Biology”, Garland Science, Nova Iorque, 2009
- [3] D. Sherwood, e J. Cooper, “Crystals, X-rays and Proteins – Comprehensive Protein Crystallography”, Oxford University Press, Oxford, 2011
- [4] “Roald Hoffmann on the Philosophy, Art, and Science of Chemistry”, ed. J. Kovac e M. Weisberg, Oxford University Press, Nova Iorque, 2012
- [5] R. Klavans, K.W. Boyack, *JASIST* **60** (2009) 455-476
- [6] Conta-nos a História que Miguel Ângelo, em alucinação perante a perfeição da sua obra, ter-lhe-á gritado “*Perché non parli?*”. A estátua encontra-se na Igreja de *San Pietro in Vincoli*, Roma; constitui parte do túmulo esculpido para o Papa Júlio II
- [7] G.F. Barker e W.C. Röntgen, “Röntgen Rays: Memoirs by Röntgen, Stokes, and J. J. Thomson”, Nabu Press, Charleston, 2010
- [8] M. Von Laue, “My Development as a Physicist - An Autobiography”, “In Memoriam: Max von Laue” em “Fifty Years of X-Ray Diffraction”, ed. P.P. Ewald, V (1962); reimpressão para o Congresso IUCr XVIII, Glasgow (1999). <http://www.iucr.org/pub/50yearsofxraydiffraction>
- [9] J. Jenkin, “William and Lawrence Bragg, Father and Son: The Most Extraordinary Collaboration in Science”, Oxford University Press, Nova Iorque, 2008.
- [10] “X-Ray Marks the Spot: William Astbury and the Birth of Molecular Biology at Leeds”, org. K. Hall e E. Winterburn, Universidade de Leeds, Museu de História da Ciência, Tecnologia e Medicina. <http://www.leeds.ac.uk/heritage/Astbury/index.html>
- [11] “J.D. Bernal: A Life in Science and Politics”, ed. B. Swann e F. Aprahamian, Verso, Londres, 1999
- [12] R. Gonçalves-Maia, “Dorothy Crowfoot Hodgkin: Pepsina, Penicilina, Colesterol, Vitamina B<sub>12</sub>, Insulina”, Edições Colibri, Lisboa, 2010
- [13] A. Brown, “J. D. Bernal – The Sage of Science”, Oxford University Press, Nova Iorque, 2005
- [14] G. Ferry, “Dorothy Hodgkin – A Life”, Granta Books, Londres, 1999
- [15] M.F. Perutz, “Molecular Biology in Cambridge” em “Cambridge Scientific Minds”, ed. P. Herman e S. Mitton, Cambridge University Press, Cambridge, 2002
- [16] B. Maddox, “Rosalind Franklin - The Dark Lady of DNA”, HarperCollins, London, 2003
- [17] Homenagem ao Prof. Doutor João R. de Almeida Santos, Universidade de Coimbra, abril 1997. [http://fisica.uc.pt/ax/pessoas/Homenagem\\_Almeida\\_Santos.pdf](http://fisica.uc.pt/ax/pessoas/Homenagem_Almeida_Santos.pdf)
- [18] M.A. Figueiredo, M. Costa, A.M. Damas, M.T. Duarte, e M.A. Carrondo, “Crystallography in Portugal. Portugal, past and present”, *IUCr Newsletter* **14**(2) (2006) 8
- [19] The Nobel Prizes [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/)
- [20] RCSB Protein Data Bank <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>
- [21] (IUCr) International Union of Crystallography <http://www.iucr.org/>
- [22] L. Jackson, “From atoms to patterns: Crystal Structure Designs from the 1951 Festival of Britain”, ed. Richard Dennis, Londres, 2008
- [23] Bathsheba Sculpture – Science Crystals <http://www.bathsheba.com/crystal/dnapolymerase/> (acedido a 13/02/2015)
- [24] Protein Sculptures: ‘Angel of the West’ – Julian Voss-Andreae, <http://julianvossandreae.com/works/protein-sculptures-angel-of-the-west/> (acedido a 13/02/2015)
- [25] R. Gonçalves-Maia, “Dos Raios-X à Estrutura Biomolecular: uma perspectiva histórica”, conferência integrada no programa “2014 Ano Internacional da Cristalografia”, org. FCT-NOVA, 2014.09.17