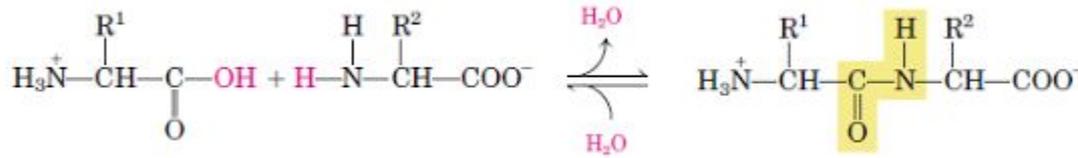

Estrutura Primária de Proteínas: Sequenciamento de Aminoácidos

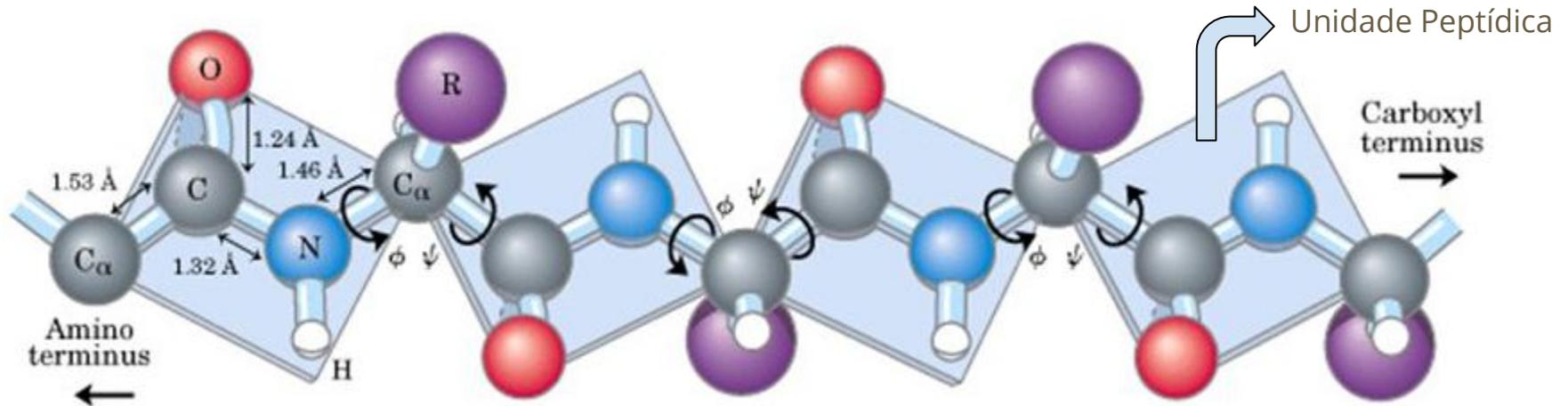
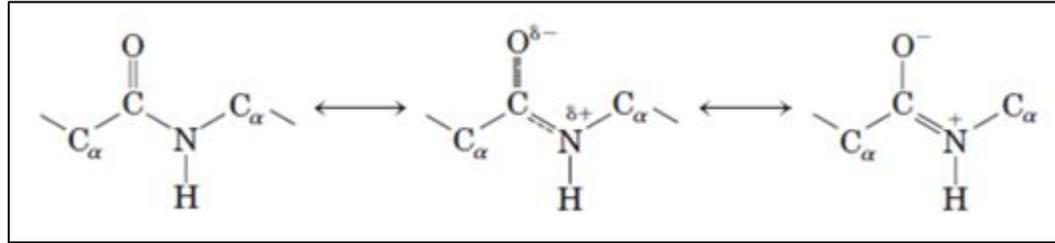
- Os peptídeos são cadeias de aminoácidos

Duas moléculas de aminoácidos podem ser unidas covalentemente por meio de uma **ligação peptídica**:



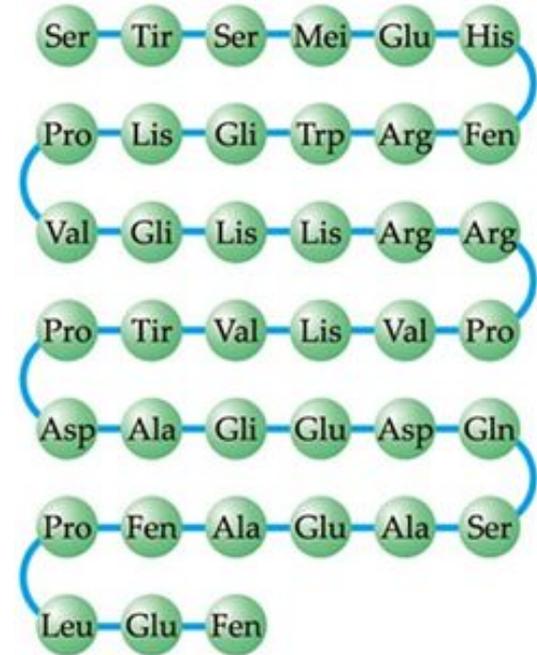
Nos seres vivos, a ligação não é feita pela reação direta entre os aminoácidos, mas através de um grande aparato de síntese proteica, que inclui ribossomos, ácidos ribonucleicos, várias proteínas e enzimas.

- A ligação peptídica possui um caráter parcial de dupla ligação



- Determinação da estrutura primária de proteínas: Sequenciamento de aminoácidos

A estrutura primária de uma proteína é definida pela sequência de aminoácidos, unidos por ligações peptídicas. É o nível estrutural mais simples e importante, pois o arranjo espacial da molécula deriva desse sequenciamento. A estrutura primária pode variar em três aspectos: número, sequência e natureza dos aminoácidos.



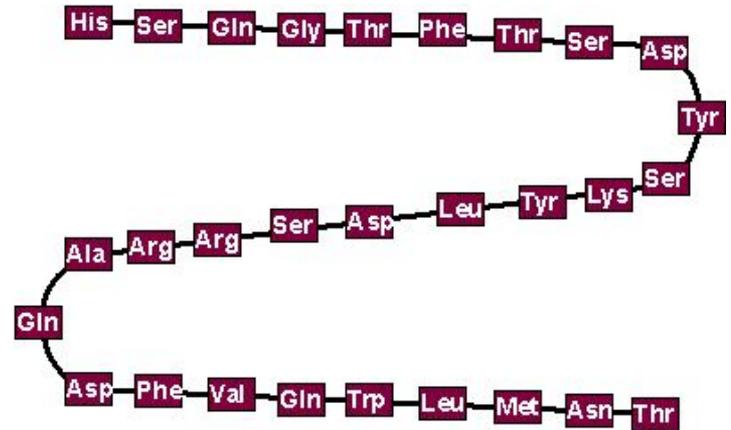
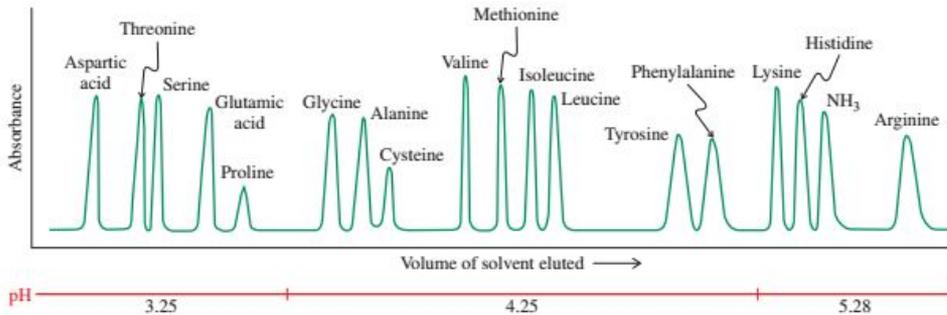
- Os polipeptídeos e proteínas possuem composições de aminoácidos características

Composição em aminoácidos de três proteínas			
Aminoácido	Número de aminoácidos por molécula de proteína		
	Quimotripsinogênio (bovino)	Lisozima (clara de ovo)	Citocromo <i>c</i> (humano)
Glicina	23	12	13
Alanina	22	12	6
Valina	23	6	3
Leucina	19	8	6
Isoleucina	10	6	8
Metionina	2	2	3
Prolina	9	2	4
Fenilalanina	6	3	3
Triptofano	8	6	1
Serina	28	10	2
Treonina	23	7	7
Asparagina	15	13	5
Glutamina	10	3	2
Tirosina	4	3	5
Cisteína	10	8	2
Lisina	14	6	18
Arginina	4	11	2
Histidina	2	1	3
Aspartato	8	8	3
Glutamato	5	2	8
Total	245	129	104

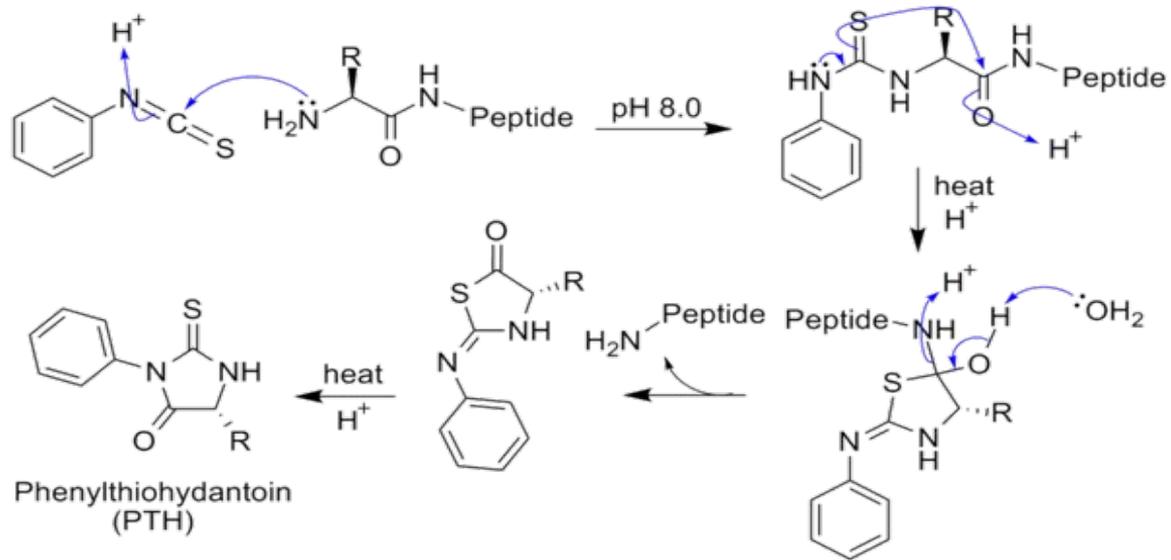
● Purificação do polipeptídeo

Muitas técnicas permitem a separação de polipeptídeos de acordo com o tamanho, solubilidade em determinado solvente, carga ou capacidade de ligar-se a um suporte, são elas:

- Diálise
- Cromatografia por permeação em gel
- Cromatografia por troca iônica
- Cromatografia por afinidade
- Eletroforese

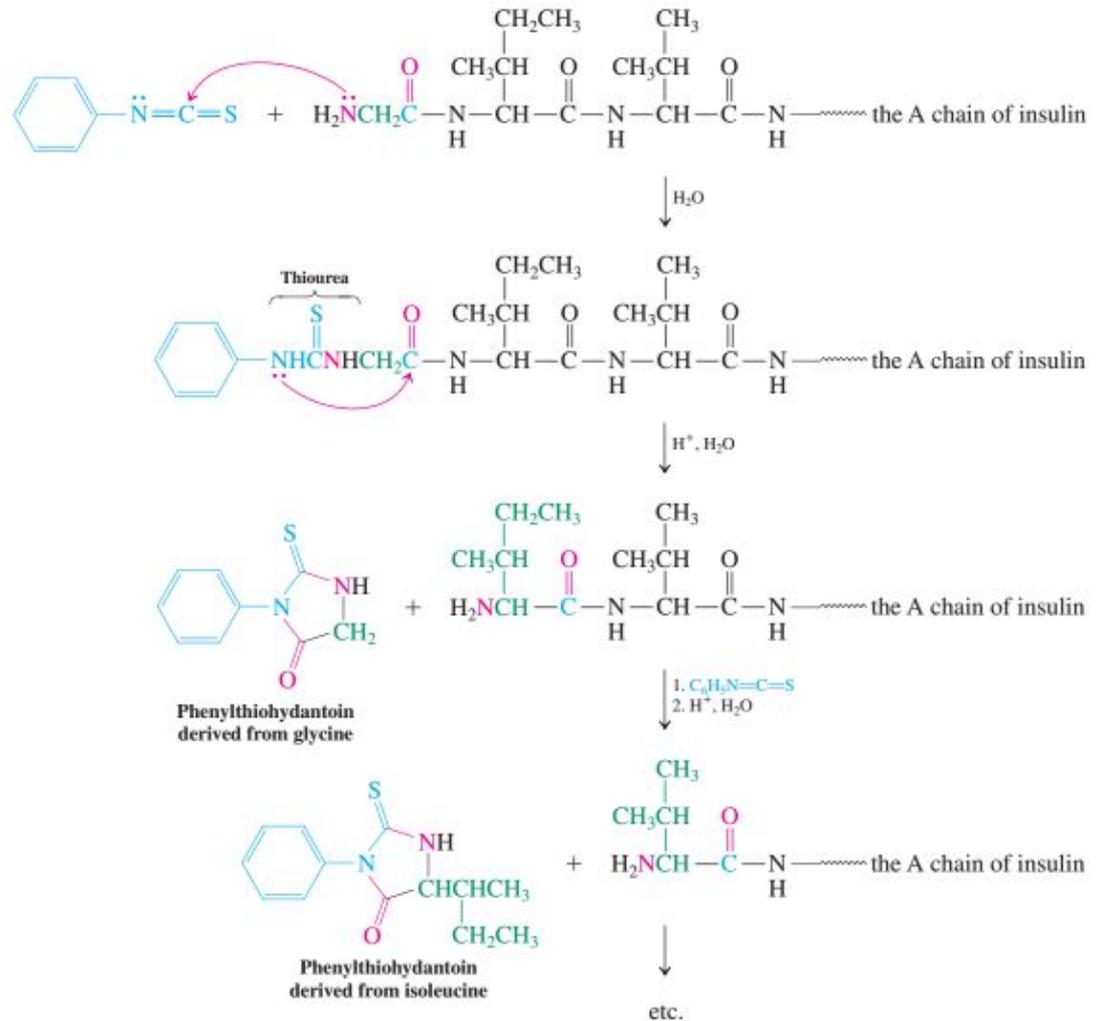


- Sequenciamento do peptídeo a partir da terminação amino: **Degradação de Edman**



O grupo amino N-terminal liberado adiciona-se ao isotiocianato, formando um derivado da tiouréia. Ácidos fracos transformam o aminoácido livre em uma feniltio-hidantoína, deixando inalterado o resto do polipeptídeo.

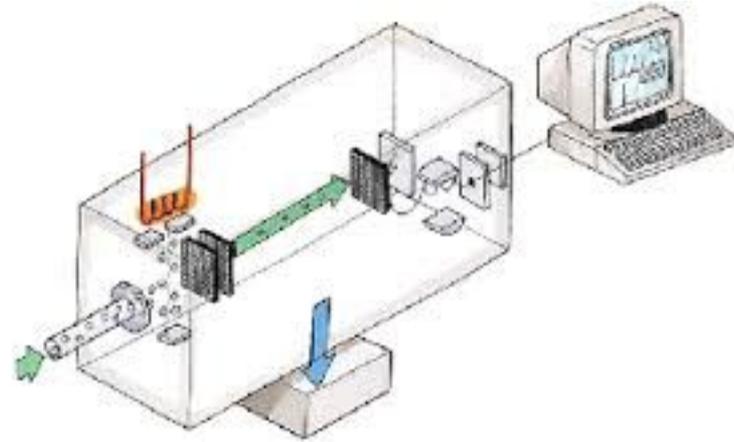
- Degradação de Edman de uma cadeia de insulina



- O fracionamento de cadeias mais longas é feito com enzimas

A degradação de Edman só permite o seqüenciamento de polipeptídeos pequenos (com até 50 aminoácidos). No caso de peptídeos maiores, quebra-se as cadeias longas em fragmentos menores, utilizando enzimas hidrolíticas.

- Espectrometria de massas



Um espectrômetro de massa produz íons a partir da amostra que separados de acordo com sua massa/carga (m/z), gerando um registro (espectro) de suas abundâncias. As proteínas são fragmentadas predominantemente na ligação peptídica. Os fragmentos de peptídeos gerados diferem sequencialmente da massa de um resíduo de aminoácido e, deste modo, a sua sequência pode ser deduzida.

Referências Bibliográficas

1. Nelson, David L.; M. Cox, Michael. "Lehninger's Principles of Biochemistry" 6rd Edition, 2014.
2. Marzzoco, Anita; Torres, Bayardo Baptista. "Bioquímica Básica" 3ª edição, 2007.
3. Vollhardt, K.P.C.; Schore, N.E. "Organic Chemistry" 3rd Edition, 2000.

Beatriz In Soon Chang (9328183)
João Gabriel Evangelista (9370730)
Mariana Cyrino Nunes (9328116)
Sarah Gueiros da Silva (9328565)
Tayane Silva Braga (9327884)
Victória Cacita Teixeira (9380529)

Grupo 08