

# ***Estrutura Primária de Proteínas: Sequenciamento de Aminoácidos***

Bruna da Rocha Martins e Samira Alves Abou Arabi

Proteína é uma macromolécula composta de uma ou mais cadeias polipeptídicas, cada uma possuindo uma sequência de aminoácidos. Possui estrutura primária, secundária, terciária e quaternária, sendo a primeira a forma mais simples de uma proteína. Os aminoácidos, por sua vez, são unidos pela ligação peptídica que é baseada na reação de um grupo alfa-carboxila de uma molécula e grupo alfa-amino de outra, liberando uma molécula de água. A determinação da estrutura primária é chamada de *sequenciamento de aminoácidos*.

Para sequenciar aminoácidos, primeiramente o **peptídeo é purificado** através de técnicas baseadas no tamanho, solubilidade em determinado solvente e carga do peptídeo. Dentre estas técnicas, podemos citar a diálise, cromatografia de troca iônica e eletroforese. Após a purificação, os **aminoácidos presentes são definidos** através da degradação da cadeia por *hidrólise das ligações de amida*, formando uma mistura de aminoácidos livres, a qual é separada e definida por um analisador de aminoácidos. O resultado é registrado com um cromatograma, onde a área sob cada pico é proporcional à quantidade de um aminoácido na mistura.

Assim, o **sequenciamento do peptídeo** pode finalmente ser feito através da *degradação de Edman*, por exemplo. O reagente desta degradação é o isotiocianato de fenila, altamente reativo para o ataque nucleofílico. Assim, o grupo amino N-terminal liberado adiciona-se ao isotiocianato para formar um derivado da tiouréia. Ácidos fracos transformam o aminoácido livre em uma feniltio-hidantoína, o restante do polipeptídeo fica inalterado. As feniltio-hidantoínas de todos os aminoácidos são bem conhecidas e o aminoácido N-terminal do polipeptídeo original pode ser facilmente identificado. A nova cadeia terá agora um novo aminoácido terminal que sofre outra degradação de Edman para a identificação de um novo resíduo e assim por diante.

Entretanto, para fracionamento de cadeias mais longas é preciso usar enzimas para obter fragmentos menores de maneira seletiva e previsível. As principais enzimas utilizadas são as hidrolíticas. Vale ressaltar que para determinar a sequência dos aminoácidos através deste método, uma segunda hidrólise seletiva com enzima diferente deve ser feita → superposição de peptídeos.

Apesar do êxito dessa técnica, ela ainda é limitada. Porém, com o advento da tecnologia do DNA recombinante, foi observado que as sequências de quatro bases no DNA - adenina, timina, guanina e citosina - estão diretamente relacionadas à sequência de aminoácido das proteínas codificadas nos genes ou no respectivo RNA mensageiro. Assim, progressos recentes permitiram a automação da análise do DNA, possibilitando a tradução imediata em uma estrutura primária de proteína, e, conseqüentemente, o sequenciamento de dezenas de milhares de proteínas em poucos anos.

Atualmente, a espectrometria de massa é a técnica escolhida para sequenciamento de aminoácidos. Os fragmentos peptídicos gerados diferem sequencialmente da massa de um resíduo de aminoácido, podendo a sequência ser deduzida facilmente.

## **Referências**

Vollhardt, K.P.C.; Schore, N.E. "Química Orgânica - Estrutura e Função" 6ª Edição, 2013.  
Wilson & Walker. Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology, 7ed. Página 328.