

Procedimento verde para a separação de metaloproteínas

Maria C. Hespanhol da Silva^{1,*} (PQ), Luis H. Mendes da Silva¹ (PQ), Gabriel M. D. Ferreira¹ (PG), Anna M. Donnel² (PG), Julio A. F. Landero² (PQ), Joseph A. Caruso² (PQ). *mariacarmo@ufv.br

¹Group of Colloidal and Macromolecular Green Chemistry, Chemistry Department, University Federal of Viçosa

²Department of Chemistry, McMicken College of Arts and Sciences, University of Cincinnati

Palavras Chave: sistema aquoso bifásico, extração líquido-líquido, ICP-MS, metaloproteínas, química verde.

Abstract

Green procedure for metalloproteins separation. Efficient separation of cyanocobalamin from myoglobin and carbonic anhydrase using a hydrophobic aqueous two-phase system.

Introdução

Um dos objetivos da proteômica é compreender qual é o papel das metaloproteínas (MP) no organismo.¹ A proteômica envolve três estágios: preparação da amostra (incluindo separação da proteína), análise por espectrometria de massas e identificação da proteína por bioinformática. A identificação de cada proteína em amostras biológicas é muito difícil, por isso é necessário separá-las. Entretanto, separar MP é um dos estágios mais desafiadores.² Procedimentos de separação mais simples, que fazem uso de sistema aquoso bifásico (SAB), são uma alternativa interessante para auxiliar na proteômica. Isto porque no SAB a estrutura nativa da espécie é mantida, quando ela é transferida de uma fase para a outra. O presente trabalho teve como objetivo desenvolver um procedimento de separação das MP cianocobalamina (CIANO), mioglobina (MIO) e anidrase carbônica (ANI C) usando SAB.

Resultados e Discussão

Foi investigado o efeito da hidrofobicidade da macromolécula, natureza do eletrólito e composição do SAB sobre a separação das MP. A quantificação das MP foi realizada por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). A Figura 1 mostra a porcentagem de extração (%E) das MP em função do tipo de SAB.

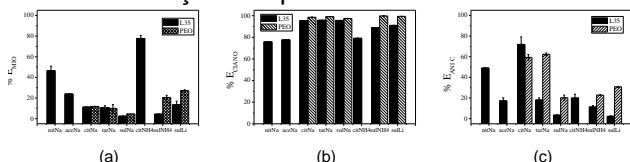


Figura 1. %E de (a): MIO; (b) CIANO e (c) ANI C em diferentes SAB

Observa-se que a menor %E_{MIO} = 2,4 % e a maior %E_{MIO} = 78 % foram obtidas para os SAB L35+Na₂SO₄+H₂O e L35+citrato de amônio+ H₂O, respectivamente. Em adição, a menor %E_{ANI C} = 2,3 % e a maior %E_{ANI C} = 72 % foram obtidas quando os SAB L35+Na₂SO₄+H₂O e L35+citrato de sódio+ H₂O, respectivamente, foram empregados na

39^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química: Criar e Empreender

extração. Finalmente, a %E_{CIANO} variou de 76 a 96 %, quando SAB contendo L35 foi usado, e 97 a 100 %, quando SAB constituído por PEO foi empregado na extração. Os resultados obtidos demonstram que a %E de cada MP é dependente do SAB usado. Esta diferença na %E das metaloproteínas é devido à intensidade relativa das interações destas com o sal presente em maior concentração na fase inferior (FI) ou com o polímero que se encontra concentrado na fase superior (FS). A CIANO, em todos os SABs, concentrou-se na FS, obtendo-se razão de partição (K) da ordem de 1000, isto mostra que a sua interação com o polímero é mais intensa do que a sua interação com o sal formador do SABs A Fig. 2 mostra os fatores de enriquecimento (S_{m1,m2}) em função do tipo de SAB.

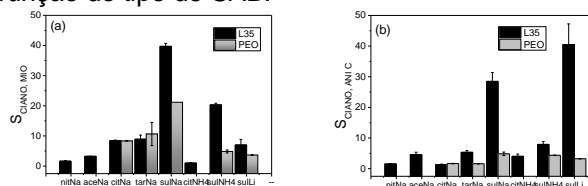


Figura 2. Fator de enriquecimento (S_{m1,m2}): (a) CIANO/MIO; (b) CIANO/ANI C em diferentes SAB.

O maior S_{CIANO,MIO} = 41, foi obtido para o SAB L35+Na₂SO₄+H₂O, enquanto o S_{CIANO, ANI C} = 40 foi obtido para o SAB L35+Li₂SO₄+H₂O. Os altos valores de S obtidos demonstram a capacidade do SAB de separar eficientemente as MP. Porém, o mais interessante nestes resultados foi verificar que um SAB mais hidrofóbico (L35) resultou em uma separação muito mais eficiente (S_{CIANO,MIO} = 40) do que quando se utilizou um SAB mais hidrofílico (PEO), pois o valor máximo de S_{CIANO,MIO} = 21 e do S_{CIANO, ANI C} = 4,8.

Conclusões

Apesar de em todos os casos o SAB contendo PEO ter contribuído mais para a transferência da CIANO para a FS, foi o SAB, mais hidrofóbico, quem favoreceu a separação das MP. Pela primeira vez, foi utilizado um SAB mais hidrofóbico para a separação eficiente de MP.

Agradecimentos

CNPq, CAPES, INCTAA, FAPEMIG

¹ Roberts, E.A.; Sarkarc, B. *Metalloprot.* **2014**, *17*, 425.

² Wolf, C.; Wenda, N.; Richter, A.; Kyriakopoulos, A. *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, *389*, 799.