

# Proteômica e espectrometria de massas MALDI-TOF para a caracterização estrutural de proteínas recombinantes

*Primeiro autor: Renata Kuninari do Nascimento*

*Demais autores: Kuninari-Nascimento, R.<sup>1\*</sup>; Souza, I. I. F.<sup>2</sup>; Ramos, C. A. N.<sup>3</sup>; Verbisck, N. V.<sup>4</sup>*

## Resumo

A proteômica é uma ciência que permite estudar a estrutura e função de proteínas com auxílio de métodos analíticos de alta resolução tais como a espectrometria de massas MALDI-TOF. Nesta técnica, proteínas e peptídeos são ionizados e separados conforme a massa, possibilitando sua análise e identificação. Proteínas recombinantes são moléculas produzidas por engenharia genética pela clonagem do gene de interesse e expressão deste em uma célula hospedeira. Com essa tecnologia é possível atualmente produzir em grande escala proteínas cujas fontes originais são escassas ou podem estar contaminadas com vírus ou príons. O objetivo deste estudo foi empregar proteômica e espectrometria de massas visando à caracterização estrutural de proteínas recombinantes que estão sendo produzidas para diagnóstico e tratamento em saúde. As proteínas recombinantes foram expressas e purificadas por diálise e ultrafiltração, conforme o tamanho molecular. A análise proteômica foi feita pela digestão com diferentes enzimas, enquanto que

---

(1) Estudante do curso de Química da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS, bolsista PIBIC Embrapa/CNPq, renata.kuninari@hotmail.com. (2) Bióloga, Mestre em Ciência Animal pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, bolsista DTI-C/CNPq. (3) Médico Veterinário, Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, bolsista DTI-B/FUNAPE. (4) Biomédico, Doutor em Ciências pela Universidade Federal de São Paulo, Pesquisador da Embrapa Gado de Corte. \* Autor correspondente.

a interpretação dos resultados foi feita por espectrometria de massas MALDI-TOF utilizando-se o equipamento Autoflex III (Bruker Daltonics). Inicialmente empregou-se digestão com tripsina, uma protease específica que, em função da sequência primária de cada proteína, permite sua identificação através da interpretação de espectros de massas denominados “mapas trópticos”. Para a análise de modificações pós-traducionais do tipo glicosilação foi feita digestão com a glicosidase PNGaseF e posterior análise em gel de poliacrilamida. As sequências de peptídeos obtidas a partir dos mapas trópticos permitiu a identificação de proteínas conhecidas. A digestão enzimática para verificar a presença de porção açúcar ligada às proteínas permitiu a caracterização preliminar do padrão de glicosilação dessas moléculas, confirmando os dados esperados. Estes resultados nos permitem concluir que o uso destas metodologias possibilita confirmar a identidade e caracterizar a estrutura de proteínas recombinantes, o que é fundamental para a obtenção de moléculas confiáveis enquanto novos insumos para diagnóstico e produção de biofármacos.

### **Parceria / Apoio financeiro**

Embrapa Gado de Corte, Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul – Fundect, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.