

Análise do mecanismo de desnaturação da albumina utilizando a resolução de curvas multivariadas (MCR)

Wagner C. Silva (IC)*, Marcos V. Guterres (PG), Márcia M. C. Ferreira (PQ), Pedro L. O. Volpe (PQ)

Instituto de Química - Universidade Estadual de Campinas. * wclaudio@iqm.unicamp.br

Palavras Chave: quimiometria, proteína, desnaturação.

Introdução

Uma das principais funções das proteínas no corpo humano é o transporte de substâncias, entre elas as macromoléculas. Para ser biologicamente ativa as proteínas tem que se assumir uma conformação tridimensional específica. As estruturas das proteínas podem ser descritas como: primária, secundária, terciária e quaternária.

O processo de desnaturação protéica envolve a perda da estrutura terciária (estado nativo) atingindo a estrutura secundária (estado desenrolado), passando por um intermediário (estado fundido). Entretanto, a caracterização e detecção destas espécies não é uma tarefa fácil, pois o tempo de vida, em particular o da espécie intermediária é freqüentemente muito curto para ser detectado e impossível de ser separado ou isolado das outras conformações protéicas presentes.

A espectroscopia é uma das técnicas utilizadas para o monitoramento das conformações de proteínas¹, mas geralmente somente as formas nativa e desenrolada podem ser analisadas com os métodos matemáticos normalmente utilizados para este objetivo. Neste trabalho uma nova metodologia, de análise baseada no método matemático de resolução de curvas multivariadas (MCR), é proposta para o estudo da conformação da albumina de soro bovino em soluções monitoradas por espectroscopia.

Preparou-se uma solução $2,1 \times 10^{-5}$ mol/L da proteína na forma cristalizada em tampão 7.0. A solução contendo a proteína é submetida a um gradiente de temperatura e monitorada com um espectrofotômetro com arranjo de diodos, na região do UV-Vis.

Resultados e Discussão

Os espectros geram uma matriz com dados de absorbância $X_{I \times J}$ (onde I é o número de intervalos de temperatura e J é o número de comprimentos de onda). Assumindo que a relação de Beer é satisfeita para o sistema então se pode decompor a matriz $X_{I \times J}$ no seguinte modelo:

$$X_{I \times J} = CS^T + E \quad (1)$$

A matriz C de dimensões $I \times R$ (R é o número de componentes do modelo), é formada pelos parâmetros do modelo que descrevem a variação da concentração em função da temperatura. A matriz S

de dimensões $J \times R$ é formada pelos parâmetros do modelo que descrevem o espectro de absorção molecular de cada espécie (N, D e intermediários) presente em equilíbrio na solução. E é a matriz contendo os resíduos do modelo empírico. Os resultados do modelo obtido com o método multivariado de resolução de curvas MCR-ALS² (descrito pela equação 1) está na Figura 1. É visível a formação de uma espécie intermediária (Fig. 1 A).

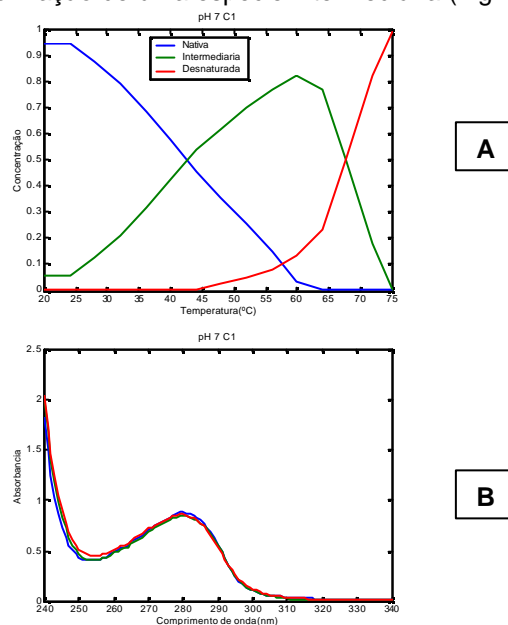


Figura 1. Parâmetros do modelo MCR-ALS resolvidos no sentido do monitoramento da variação de temperatura. (A) matriz C ; (B) matriz S .

Conclusões

A metodologia MCR mostrou ser eficiente, pois é capaz de descrever a espécie nativa, intermediária e desnaturada durante o processo de desnaturação, além de fornecer o espectro puro resolvido para cada uma das espécies, as quais são impossíveis de ser quimicamente e fisicamente separadas ou isoladas.

Agradecimentos

À FAPESP pelas bolsas concedidas

¹Guterres M. V.; Volpe P. O. L.; Ferreira M. M. C., *Applied Spectroscopy*, **2004**, 58, 54.

²Tauler, R.; Smilde, A. and Kowalski, B., *Journal of Chemometrics*, **1995**, 9, 31.