

USO DA CROMATOGRAFIA DE TROCA CATIÔNICA PARA SEPARAÇÃO DE PROTEÍNAS

Josiany da Silva Daudt¹
João Antônio Figueiredo Breguez¹
Elcio Ferreira Santana¹
Fernanda Cristina Ferrari²
Adriano Carlos Soares³

nandacrisferrari@gmail.com

ÁREA DO CONHECIMENTO: Ciências da Saúde

PALAVRAS-CHAVE: Análise de proteínas; Cromatografia de troca catiônica; Separação de proteínas.

1 INTRODUÇÃO

A carga elétrica de uma proteína depende dos átomos envolvidos em sua estrutura, essa propriedade define se sua carga final será negativa ou positiva de acordo com seus átomos (Lehninger; Nelson e Cox, 2018). Para que se identifique as proteínas (formadas por polipeptídios), as suas cargas finais formam cátions ou ânions que podem ser exploradas para separação dessas proteínas (Watford e Wu, 2018). Um dos métodos para identificação de proteínas é a cromatografia de troca iônica, essa técnica utiliza as propriedades de carga elétrica das proteínas para separação a partir de uma matriz onde elas irão percorrer (Li *et al.*, 2020). Para realização dessa técnica de troca catiônica, uma matriz carregada negativamente é adicionada, uma amostra proteica no topo do tubo, um suporte na borda inferior e um detector que afunila a passagem das proteínas no final. Vale ressaltar que a matriz pode ser de diferentes tipos, sendo ela uma fase estacionária (ou pouco móvel), tudo isso a um determinado pH (Koch *et al.*, 2022). Dessa forma, é visto que a partir das cargas das proteínas é possível fazer a separação delas explorando suas propriedades elétricas afunilando sua passagem de acordo com sua carga e separando-as em um detector. (Zhang *et al.*, 2020). Este estudo tem o objetivo de avaliar o método de cromatografia de troca catiônica para separação de proteínas com diferentes cargas elétricas.

2 METODOLOGIA

Trata-se de um estudo de revisão bibliográfica realizado em junho de 2022 onde foram utilizados artigos pesquisados nas plataformas de busca *Scientific Eletronic*

¹ Acadêmico (a) do curso de Farmácia do Centro Universitário Vértice - Univértix.

² Farmacêutica, Mestre e Doutora em Ciências Farmacêuticas (UFOP). Professora dos cursos de Farmácia, Enfermagem, Medicina, Medicina Veterinária e Odontologia da Faculdade Vértice - UNIVÉRTIX - Matipó.

³ Farmacêutico Bioquímico (UFOP); Cirurgião Dentista (UNIVÉRTIX); Doutor em Bioquímica Aplicada (Biotecnologia) (UFV); Professor dos cursos de Farmácia, Psicologia, Enfermagem, Biomedicina, Medicina e Odontologia do Centro Universitário Vértice – UNIVÉRTIX.

Library Online (SCIELO), PubMed, *Cell Press* e Google Acadêmico. Os descritores utilizados foram: análise de proteínas, cromatografia de troca catiônica e separação de proteínas. Como critérios de inclusão foram considerados artigos, teses e dissertações dos últimos cinco anos. Esse trabalho foi realizado em junho de 2024.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A grande maioria das proteínas possuem carga elétrica, seja ela positiva (cátions) ou negativa (ânions). Essas proteínas formadas por cadeias polipeptídicas são muito pequenas e fica impossível para o ser humano identificar e separa todas elas a olho nu (Lehninger; Nelson e Cox, 2018). Com o avanço da ciência e tecnologia foram feitos métodos mais robustos para essa questão; a cromatografia de troca catiônica é uma técnica que permitiu aos estudiosos separarem as proteínas explorando suas cargas elétricas (Nardin *et al.*, 2017). Para se fazer a separação é utilizado um material poroso (a matriz sólida quase imóvel) que pode variar na escolha, uma solução com proteínas é adicionada ao topo de um recipiente escolhido (devendo ser ele transparente) (Jeong *et al.*, 2020). Nesse processo é necessário um grau de pH que coloque em evidência as cargas das proteínas, então para isso é necessário saber a natureza ácido-base dessas proteínas para elucidar seu estado de protonação (adição de hidrogênios) ou desprotonação (retirada de hidrogênios) para que a proteína faça as interações desejadas. (Barišić *et al.*, 2021). Com um pH adequado as cargas da proteína estarão evidentes; logo a solução proteica é adicionada na parte superior do tubo onde irá percorrer todo o espaço, sendo que cada tipo de proteína percorre em uma velocidade diferente da outra, até chegar à parte inferior onde existe um detector e novos tubos para coleta das amostras, este é um dos pontos chave da técnica (Suzuki *et al.*, 2019). Com esses métodos, à medida que as proteínas passam pelo tubo a matriz que contém carga negativa vai interagindo com esses polipeptídeos de carga positiva e então vão fluindo mais lentamente na matriz (Nardin *et al.*, 2017). As proteínas vão formando bandas de acordo com sua progressão na matriz, na parte inferior elas passam pelo detector e sendo coletadas em diferentes tubos e assim separadas de acordo com aquelas bandas formadas, são então separadas para posterior análise (Habberger *et al.*, 2021). Por fim, é válido ressaltar que é necessário saber das propriedades da proteína pois uma escala de pH fora do nível da proteína pode danificá-la irreversivelmente. Sendo assim, este método se faz satisfatório para separação das proteínas por ser de fácil manuseio e de grande aplicabilidade nas práticas laboratoriais de e ensino (Xu; Wang e Xu, 2021).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio desta pesquisa foi verificado que a cromatografia de troca catiônica é de suma importância para separação de proteínas por meio de uma matriz sólida carregada. Seu principal destaque é por permitir a exploração da propriedade da proteína que é a carga elétrica, o que permite que ela interaja com a matriz. Isso permite que a cada fase obtida nos tubos após os detectores se obtenha diferentes proteínas separadas. Logo, a cromatografia de troca catiônica demonstra a capacidade de permitir aos estudiosos a separação de proteínas, o que pode ajudar muito no diagnóstico de doenças, pesquisas laboratoriais e diversas outras finalidades.

REFERÊNCIAS

BARIŠIĆ, D *et al.* Protonation and anion-binding properties of aromatic sulfonylurea derivatives. **RSC Advances**. Zagreb, Croácia, v. 11, n° 39, p. 23992-24000. Jul. 2021. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2021/ra/d1ra04738h>. Acesso em: 23 de jul. de 2024.

HABERGER, M *et al.* Multiattribute Monitoring of Antibody Charge Variants by Cation-Exchange Chromatography Coupled to Native Mass Spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**. Penzberg, Alemanha, v. 32, n° 8, p. 2062-2071. Ago. 2021. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jasms.0c00446>. Acesso em: 23 de jul. de 2024.

JEONG, S *et al.* LC-ESI-MS/MS Simultaneous Analysis Method Coupled with Cation-Exchange Solid-Phase Extraction for Determination of Pyrrolizidine Alkaloids on Five Kinds of Herbal Medicines. **Journal of AOAC International**. Chungbuk, Republic of Korea, v. 104, n° 6, p. 1514-1525. Dez. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34297098/>. Acesso em: 23 de jul. de 2024.

KOCH, J *et al.* Mechanistic modeling and simulation of a complex low and high loading elution behavior of a polypeptide in cation exchange chromatography. **Journal of Separation Science**. Frankfurt am Main, Alemanha, v. 45, n° 12, p. 2008-2023. Jun. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35332679/>. Acesso em: 23 de jul. de 2024.

LEHNINGER, T.; NELSON, D.; COX, M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. 7ª Edição, São Paulo, SP, Artmed, 2018.

LI, Q *et al.* Basic Strong Cation Exchange Chromatography, BaSCX, a Highly Efficient Approach for C-Terminomic Studies Using LysargiNase Digestion. **Analytical Chemistry**. Xangai, China, v. 92, n° 7, p. 4742-4748. Abr. 2020. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.analchem.9b05280>. Acesso em: 23 de jul. de 2024.

NARDIN, T *et al.* Fast analysis of quaternary ammonium pesticides in food and beverages using cation-exchange chromatography coupled with isotope-dilution high-resolution mass spectrometry. **Journal of Separation Science**. Milão, Itália, v. 40, n° 20, p. 3928-3937. Out. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28779575/>. Acesso em: 23 de jul. de 2024.

PATEL, B *et al.* On-Line Ion Exchange Liquid Chromatography as a Process Analytical Technology for Monoclonal Antibody Characterization in Continuous Bioprocessing. **Analytical Chemistry**. Nova Jérsei, Estados Unidos, v. 89, n° 21, p. 11357-11365. Nov. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28981255/>. Acesso em: 23 de jul. de 2024.

SALEH, D *et al.* Modeling the impact of amino acid substitution in a monoclonal antibody on cation exchange chromatography. **Biotechnology and Bioengineering**. Biberach, Alemanha, v. 118, n° 8, p. 2923-2933. Ago. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33871060/>. Acesso em: 23 de jul. de 2024.

SUZUKI, I *et al.* Tandem Cation/Anion Exchange SPE Cartridge Method for Sample Desalting for HPLC Analysis of Soluble Dietary Fiber: Development and Inter-laboratory Validation. **Analytical Sciences**. Itami, Japão, v. 35, n° 11, p. 1269-1274. Nov. 2019. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/analsci/35/11/35_19P202/_article. Acesso em: 23 de jul. de 2024.

WATFORD, M.; WU, G. Protein. **Advances in Nutrition**. Nova Brunswick, Canadá, v. 9, n° 5, p. 651-653. Set. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30060014/>. Acesso em: 23 de jul. de 2024.

XU, M.; WANG, Y.; XU, A. A Comparative Evaluation of Capillary Electrophoresis, Cation-Exchange High-Performance Liquid Chromatography, and Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry for the Screening of Hemoglobin Variants. **American Journal of Clinical Pathology**. Weifang, China, v. 156, n° 3, p. 445-454. Ago. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33791753/>. Acesso em: 23 de jul. de 2024.

ZHANG, K *et al.* Preparation of difunctional polymer-based cation exchangers and their application in ion chromatography. **Se Pu**. Hangzhou, China, v. 38, n° 4, p. 445-451. Abr. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34213227/>. Acesso em: 23 de jul. de 2024.