

Espectrometria de Massa e RMN Multidimensional e Multinuclear: Revolução no Estudo de Macromoléculas Biológicas

Luiz Alberto Colnago, Fábio C.L. Almeida e Ana Paula Valente

O Prêmio Nobel de Química de 2002 foi outorgado ao químico John B. Fenn e ao engenheiro Koichi Tanaka pelo desenvolvimento da espectrometria de massa para análise de macromoléculas biológicas e ao químico Kurt Wüthrich pelo desenvolvimento de aplicações da ressonância magnética nuclear (RMN) multinuclear e multidimensional para determinação da estrutura tridimensional de proteínas. As contribuições desses pesquisadores tornaram a Bioquímica a "grande ciência" do nosso tempo, permitindo a rápida identificação das proteínas presentes em uma amostra em solução, bem como das suas estruturas tridimensionais.

► Prêmio Nobel, ressonância magnética nuclear, espectrometria de massa, proteínas, macromoléculas biológicas ◀

Recebido em 31/10/02, aceito em 16/11/02

Todos os seres vivos, desde vírus e bactérias até seres superiores como plantas e animais, são constituídos de macromoléculas responsáveis pela grande maioria das suas funções vitais. A hereditariedade, uma das principais características dos seres vivos, é transmitida de geração em geração por intermédio de polímeros de ácidos nucleicos, denominados ácido ribonucleico (RNA) e ácido desoxirribonucleico (DNA). As informações contidas nos ácidos nucleicos são operacionalizadas por meio da expressão de proteínas (polímeros de aminoácidos), que têm funções de catalisar as mais variadas reações nos sistemas biológicos, como as operações de digestão dos alimentos, divisão celular, leitura e cópia dos ácidos nucleicos, entre milhares de outras reações. As proteínas também têm função de transporte de substâncias e elétrons (por exemplo, a hemoglobina que transporta oxigênio e gás carbônico), função de sustentação (por exemplo, o colágeno dos tendões), função motora nos músculos, função protetora do organismo (por exemplo, os anticorpos), entre muitas outras funções vitais.

Outras macromoléculas presentes nos seres vivos são os polímeros de açúcares, como a celulose que dá sustentação às plantas, o amido que é fonte de reserva para as sementes e largamente usado na alimentação humana, entre muitos outros polissacarídeos.

Os estudos dos genomas têm levado ao conhecimento da composição dos ácidos nucleicos e dos genes que eles codificam. Cada gene pode gerar uma proteína. Esses estudos estão bem avançados e vários seres vivos já têm seus genes conhecidos ou seqüenciados. O assinalamento dos genes se dá por intermédio da leitura do DNA, procurando os sinais de iniciação e terminação. Dessa forma delimita-se os quadros abertos de leitura (sigla ORF, do inglês, *open reading frames*). Os ORF não necessariamente são expressos como proteínas. Pode ocorrer que ORF não sejam expressos ou que muitos ORF juntos formem uma proteína, por meio de jun-

ções alternativas. Muitos genes também só são expressos durante certa fase da vida ou quando o ser vivo está sujeito a estresse. Isto significa que a presença de um gene não necessariamente leva à produção da respectiva proteína. Assim, para conhecer todos os mecanismos celulares torna-se necessária a análise global de todas

as proteínas expressas em uma célula. Esse estudo é conhecido como proteoma (em analogia ao genoma).

Uma outra importante área de estudo de proteínas é a determinação de sua estrutura tridimensional, para que seja possível a correlação

entre a estrutura e sua função biológica. As proteínas têm uma estrutura tridimensional única e pequenas mudanças estruturais podem levar à perda ou redução de sua atividade biológica.

Pela breve introdução acima pode-se ver que os estudos dos proteomas das várias espécies e de como as proteínas funcionam são o grande desafio do nosso tempo. Esses estudos estão tornando-se viáveis e cada vez mais rápidos graças aos métodos analíticos

As informações contidas nos ácidos nucleicos são operacionalizadas por meio da expressão de proteínas (polímeros de aminoácidos), que têm funções de catalisar as mais variadas reações nos sistemas biológicos

A seção "Atualidades em Química" procura apresentar assuntos que mostrem como a Química é uma ciência viva, seja com relação a novas descobertas, seja no que diz respeito à sempre necessária revisão de conceitos.

desenvolvidos pelos pesquisadores laureados com o Prêmio Nobel de Química de 2002. A seguir é apresentada uma rápida revisão sobre proteínas para ajudar a entender a importância do trabalho desses laureados.

Proteínas: da seqüência de aminoácidos à estrutura quaternária

As proteínas são compostas de unidades estruturais básicas de moléculas orgânicas denominadas aminoácidos. Os 20 aminoácidos mais comuns encontrados na natureza e codificados pelo DNA são: glicina (gly), alanina (ala), valina (val), leucina (leu), isoleucina (ile), metionina (met), prolina (pro), fenilalanina (phe), triptofano (trp), serina (ser), treonina (thr), asparagina (asp) glutamina (gln), tirosina (tyr) cisteína (cis), lisina (lys), arginina (arg), histidina (his) ácido aspártico (asp) e ácido glutâmico (glu). Na Figura 1 está a fórmula estrutural básica de um aminoácido, que é constituído de um grupo amino, em preto, um grupo carboxila, em azul, um átomo de hidrogênio, em verde, e uma cadeia lateral (R), que diferencia os vinte aminoácidos, em roxo. Esses grupos são ligados a um carbono assimétrico (menos para glicina, na qual a cadeia lateral também é um átomo de hidrogênio), conhecido como carbono- α (C_{α}), em vermelho.

Os aminoácidos ligam-se entre si para formar peptídeos ou proteínas por

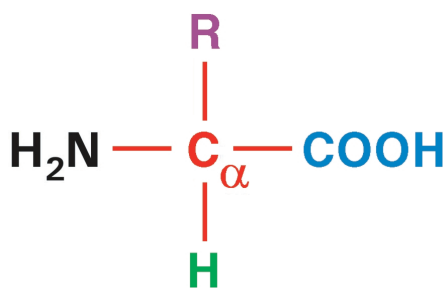


Figura 1: Fórmula estrutural básica de um aminoácido, destacando os diferentes componentes: em preto, grupo amino; em azul, grupo carboxila; em verde, átomo de hidrogênio; em roxo, cadeia lateral (R), que diferencia os vinte diferentes aminoácidos; em vermelho, carbono assimétrico (menos para glicina, na qual a cadeia lateral também é um átomo de hidrogênio), conhecido como carbono- α (C_{α}).

meio dos grupos amino e carboxila, formando uma ligação peptídica pela eliminação de moléculas de água, conforme mostrado na Figura 2.

Uma proteína é composta de dezenas a centenas de aminoácidos e a seqüência de ligação é determinada pelos ácidos nucleicos (ácido desoxirribonucléico-DNA ou ácido ribonucléico-RNA) responsáveis pela hereditariedade.

A estrutura das proteínas é descrita em quatro níveis de organização (Figura 3):

1- *Estrutura primária* - seqüência de aminoácidos da cadeia polipeptídica.

2- *Estrutura secundária* - arranjo espacial básico de parte de uma cadeia

polipeptídica na forma de hélices, folhas, voltas etc.

3- *Estrutura terciária* - estrutura tridimensional de uma proteína, com a disposição espacial das unidades de estruturas secundárias e das cadeias laterais.

4- *Estrutura quaternária* - algumas proteínas são compostas de mais de uma cadeia polipeptídica (subunidade). O arranjo espacial dessas subunidades é conhecido como estrutura quaternária de uma proteína. Uma proteína pode consistir de cadeias polipeptídicas idênticas e não idênticas. A hemoglobina, por exemplo, é constituída de cadeias polipeptídicas não idênticas.

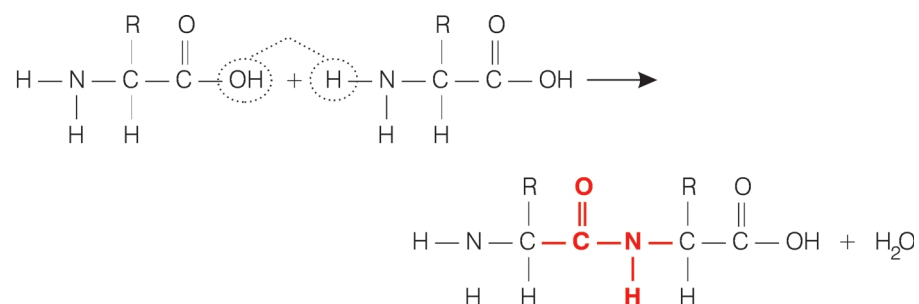


Figura 2: Reação de formação de um dipeptídeo a partir de dois aminoácidos, destacando-se a ligação peptídica em vermelho. Note que em uma das pontas do dipeptídeo há um grupo amino livre e na outra um grupo carboxila. Portanto esse dipeptídeo pode se combinar com outros aminoácidos, formando cadeias mais longas chamadas polipeptídeos; proteínas são polipeptídeos.

(a) - Ala - Gly - Met - Val - Ala - Gly - Leu

Estrutura primária (seqüência de aminoácidos na cadeia polipeptídica)

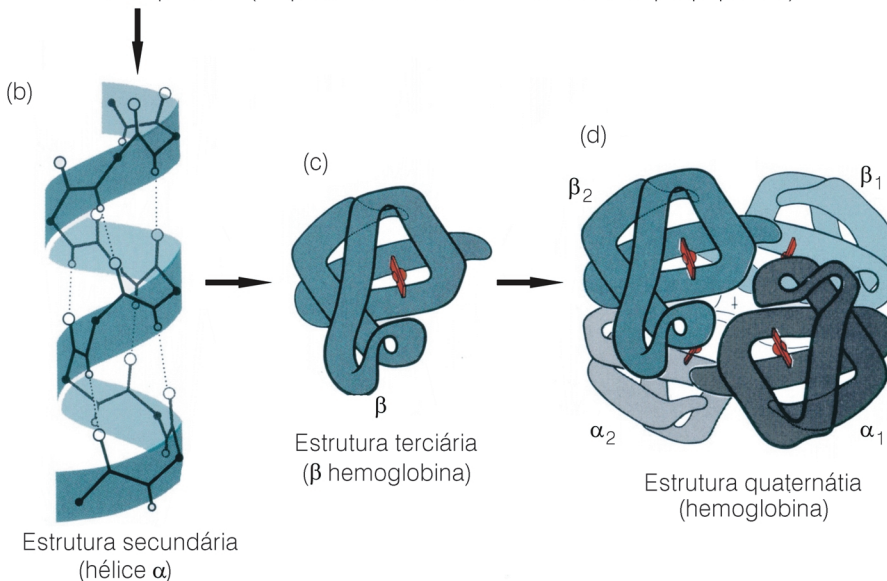


Figura 3: Níveis de organização das estruturas das proteínas: a) estrutura primária; b) estrutura secundária (hélice α); c) estrutura terciária da β -hemoglobina e d) estrutura quaternária da hemoglobina.

Como mostrado a seguir, os trabalhos de Fenn e Tanaka estão relacionados à determinação da massa molecular de proteínas e os de Wüthrich à determinação das estruturas tridimensionais de proteínas em solução.

Espectrometria de massa de macromoléculas biológicas

Em 1912, J. J. Thompson demonstrou que era possível separar moléculas na fase gasosa por diferenças de massa e carga, que é o princípio de funcionamento dos espectrômetros de massa. Há vários tipos de espectrômetros de massa, mas todos eles requerem a gaseificação e ionização da amostra, aceleração da molécula carregada por um campo elétrico, dispersão dos íons de acordo com a razão massa/carga (razão m/z) e a detecção dos íons e registro do sinal.

A espectrometria de massa (EM) é uma técnica largamente utilizada pelos químicos na análise de moléculas pequenas ou de tamanho médio. O método é tão sensível que hoje é usado rotineiramente na análise de substâncias em baixa concentração, como no caso de *doping*, controle de alimentos, contaminação ambiental, entre muitas outras áreas de aplicação.

A aplicação da EM na análise de macromoléculas só começou a ter sucesso na década de 70, quando se conseguiu levar macromoléculas à forma de gás ionizado. O grande avanço nessa área ocorreu com o desenvolvimento da técnica de ionização por *spray* eletrostático (ESI - do inglês *electrospray ionization*), por Fenn, e da técnica de dessorção suave por laser (SLD - do inglês *soft laser desorption*), por Tanaka. Com esses desenvolvimentos, a EM passou a ser largamente usada no estudo de macromoléculas biológicas, principalmente no estudo de proteínas.

Contribuição de John B. Fenn

O grande desafio de ionizar macromoléculas foi tema de estudo de muitos pesquisadores, mas muitas das técnicas desenvolvidas produziram íons muito grandes ou íons difíceis de serem vaporizados sem decomposição substancial. Fenn trabalhou com uma dessas técnicas, a ESI. A Figura 4 apresenta o diagrama de um espec-

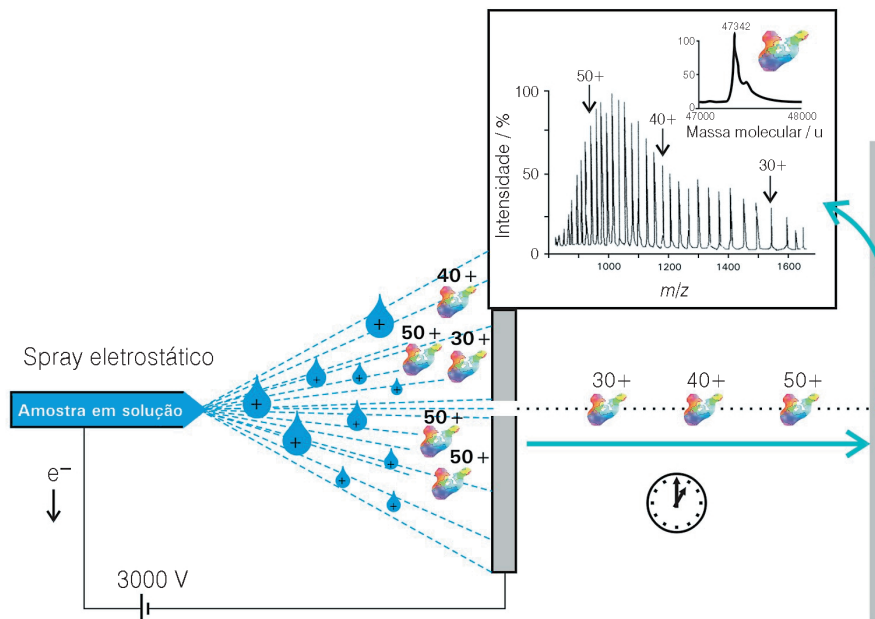


Figura 4: Diagrama de um espectrômetro de massa com ionização por *spray* eletrostático (ESI).

trômetro de massa com ESI, que consiste em submeter a amostra a um fluxo em uma pequena agulha em um compartimento contendo nitrogênio seco. A diferença de potencial entre a agulha e as paredes do compartimento é de quilovolts; assim, entre a saída da agulha e o compartimento há um enorme campo elétrico. Conseqüentemente, a gotícula de solução de amostra que sai dessa agulha é dispersa no compartimento como um *spray* de microgotas eletricamente carregadas, que, direcionadas pelo campo, seguem em direção à parede do compartimento. Devido à geometria desse compartimento, essas microgotas se dirigem a um compartimento a vácuo, o espectrômetro de massa em si. O campo elétrico é forte o suficiente para extrair íons isolados das microgotas. O tempo (indicado pelo cronômetro na Figura 4) que cada íon leva para atingir o detetor depende das suas massa molecular (m) e carga (z), sendo proporcional à razão m/z ; portanto, é possível determinar a massa molecular do composto.

O uso da ESI permite a ionização de macromoléculas que têm papel destacado nos processos biológicos, como peptídeos, proteínas, polissacarídeos e ácidos nucleicos. A presença de uma grande quantidade de cargas em diferentes moléculas de um mesmo tipo gera diversos picos (ver Figura 4).

Os diversos sinais do espectro inicialmente confundiram os pesquisadores, mas Fenn usou essa complexidade para melhorar a precisão das determinações de massa e desenvolveu a teoria de cargas múltiplas. Hoje existem programas de computador baseados nessa teoria que ajudam na análise desses gráficos e, assim, permitem que se determine a massa molecular com grande precisão.

Contribuição de Koichi Tanaka

Durante a década de 80 vários grupos tentaram resolver o problema da volatilização/ionização de macromoléculas usando laser. Achava-se que era possível vaporizar com laser uma pequena parte de uma amostra sólida ou líquida sem sua degradação. Em Moscou, V.S. Letokov demonstrou que o método poderia ser usado em pequenas moléculas polares como os aminoácidos. Em 1985, essa metodologia foi aperfeiçoada por M. Karas e F. Hillenkamp, que demonstraram que se poderia volatilizar moléculas pequenas usando uma matriz capaz de absorver a energia do laser.

Em 1987, em um simpósio de EM, em Osaka (Japão), Tanaka apresentou os primeiros resultados da aplicação da técnica de dessorção suave por laser (SLD) na análise de proteínas intactas, o que foi um grande avanço

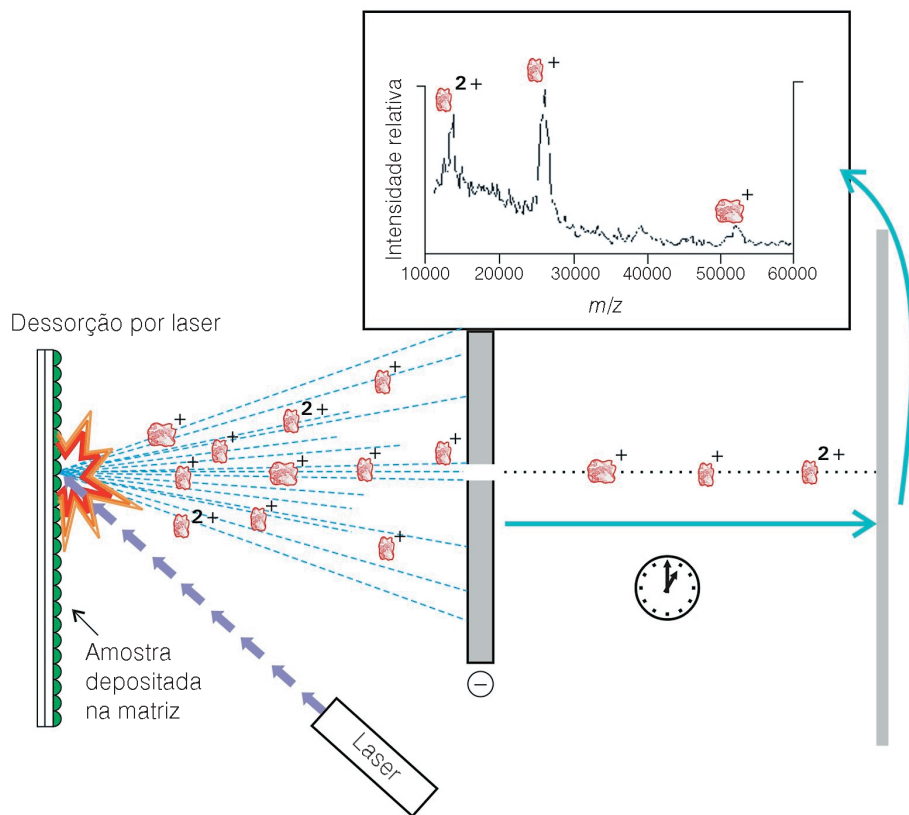


Figura 5: Diagrama de um espectrômetro de massa com dessorção/ionização por laser.

para a área. A descoberta de Tanaka, que fez que a dessorção suave por laser funcionasse para macromoléculas, foi uma combinação adequada da energia e do comprimento de onda do laser com as propriedades de absorção/transferência de calor de uma matriz e a estrutura molecular do analito depositado nessa matriz. A matriz usada por Tanaka foi glicerol contendo partículas coloidais.

Tanaka demonstrou que, ao se usar um laser de baixa energia (laser de nitrogênio - 330 nm), íons de macromoléculas biológicas são formados, fato que não era esperado na época. O princípio da técnica de SLD é apresentado na Figura 5, na qual, no gráfico intensidade em função de m/z , é mostrada a separação de íons de uma molécula de proteína com uma e duas cargas e de um agregado da mesma proteína com uma carga. Nessa figura, também são destacados o sistema de aceleração por campo elétrico (placa negativa), a dispersão dos íons em função da razão m/z (resultando nos seus diferentes tempos de voo, TOF - do inglês *time of flight*, indicados pelo cronômetro) e o detector.

O tipo de espectrometria de massa mais usado hoje em dia para análise de macromoléculas biológicas é o com dessorção/ionização por laser assistida por matriz - tempo de voo, conhecido pela sigla MALDI-TOF/MS (do inglês, *matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry*) e é a ferramenta básica para a análise de proteomas.

Aplicações da espectrometria de massa

Os espectrômetros de massa revolucionaram o campo das ciências conhecido como Química de Proteínas, pois permitem a identificação de proteínas com relativa facilidade. Mas como se faz isto? Ao se conhecer uma massa molecular com grande precisão ($1/40000$), torna-se possível compará-la com as seqüências das ORF conhecidas do genoma e, assim, identificar qual ORF geraria proteína com aquela massa molecular. Esse procedimento é bastante preciso, mas nem sempre suficiente. Os equipamentos com ESI geram fragmentos das moléculas; assim, com o auxílio de softwares adequados, compara-se não somente

a massa da proteína inteira, mas também a dos fragmentos gerados.

Hoje tem-se genomas completamente seqüenciados. A pergunta a ser então respondida é quando e em que condições as células expressam certas proteínas. Sabe-se que as células apresentam mecanismos intrincados de controle. Esse controle é normalmente feito por proteínas que se expressam nos diferentes estágios do desenvolvimento de um organismo. Com a espectrometria de massa é possível identificar as proteínas em baixa concentração e em poucos dias. Com os métodos bioquímicos tradicionais pode-se levar meses ou anos.

Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

O fenômeno da RMN foi observado experimentalmente pela primeira vez em 1946, por F. Bloch e E. Purcell (Prêmio Nobel de Física de 1952). A RMN é observada quando se incide ondas de rádio-freqüência em uma amostra que tem isótopos com spin nuclear maior que zero (por exemplo, ^1H) na presença de um campo magnético. A RMN passou a ser de grande importância para análises químicas já na década de 50, com a descoberta de que seu sinal reflete o ambiente químico em que o núcleo se encontra em uma molécula. Esse fenômeno, denominado deslocamento químico, permitiu um grande avanço na área de determinação estrutural de moléculas pequenas e/ou de média massa molecular. Até o final da década de 60, a RMN se restringia praticamente às análises baseadas no ^1H , devido à baixa sensibilidade da técnica. Esse problema foi superado com a introdução da técnica de pulsos e o uso da transformada de Fourier (TF), iniciado por Ernst e Andrew, em 1966. O uso da técnica de pulso e da TF também permitiu a R. Ernst o desenvolvimento das técnicas de RMN multidimensional, pelo que recebeu o Prêmio Nobel de Química de 1991. Na RMN multidimensional, além de se obter um aumento da resolução espectral, foram automatizadas as medidas de vários parâmetros de RMN, como o efeito Overhauser nuclear (NOE), o acoplamento spin-spin etc. Esses desenvolvimentos e o uso de ímãs supercondutores de alto campo

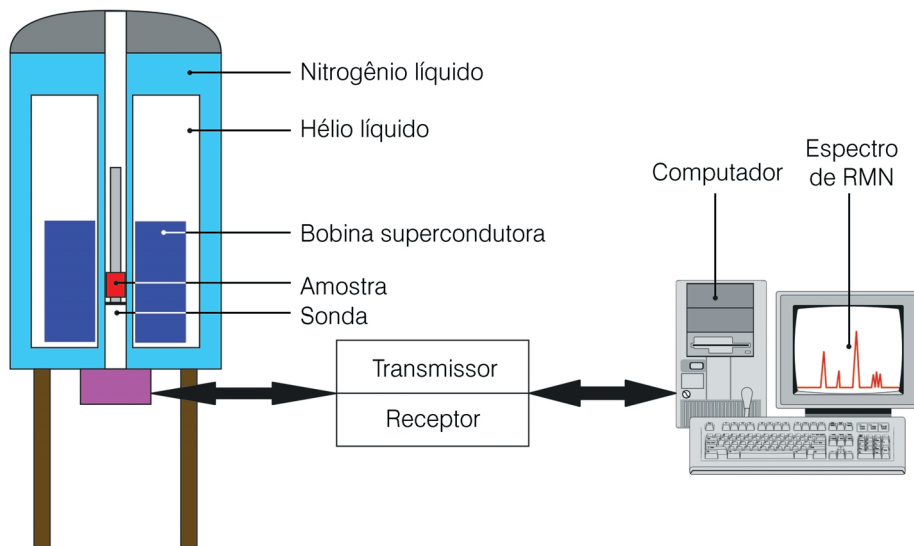


Figura 6: Diagrama de um espectrômetro de RMN.

permitiram a aplicação da RMN na determinação das estruturas de macromoléculas biológicas, principalmente proteínas, que foi a principal contribuição de Wüthrich. Na Figura 6 é apresentada um diagrama de um espectrômetro de RMN com ímã supercondutor. A amostra é colocada dentro da sonda de RMN que fica no centro de uma bobina supercondutora, resfriada por nitrogênio e hélio líquidos. Um computador central comanda o equipamento, enviando, captando e processando os sinais de RMN.

Contribuições de Kurt Wüthrich

A primeira estrutura tridimensional de uma proteína (a mioglobina) com

resolução atômica foi determinada por difração de raios X, em 1957, por M. Perutz, que dividiu com J. Kendrew o Prêmio Nobel de Química de 1962. Para essas análises, as proteínas eram cristalizadas. Embora houvesse evidências de que o meio cristalino tinha muita água e algumas enzimas eram até ativas nesse meio, alguns pesquisadores consideravam-no muito distante do meio onde a proteína exerce sua função (células).

Em 1986, Wüthrich e colaboradores demonstraram que a RMN multidimensional poderia determinar a estrutura tridimensional, com resolução atômica, de uma proteína em solução, que é um

meio similar ao de uma proteína na célula. A primeira a ser estudada foi uma pequena proteína chamada BPTI (“inibidor de tripsina pancreática bovina”), de massa molecular aproximadamente 5000 u (5 ku)¹. Junto com a primeira estrutura, no laboratório de Wüthrich foram desenvolvidas as bases de toda a metodologia usada até hoje para a determinação da estrutura de proteínas. Essa metodologia se baseia na atribuição dos sinais de RMN aos átomos de hidrogênio na macromolécula, na medida de grande número de parâmetros espectrais relacionados à estrutura, como o efeito Overhauser nuclear, e no uso de métodos computacionais que transformam os dados estruturais em uma estrutura tridimensional. O efeito Overhauser nuclear é um parâmetro que permite determinar distâncias interatômicas de até cerca de 5 ångstrons. Hoje mais de 2500 proteínas (cerca de 20% do total) tiveram suas estruturas determinadas por esse método.

Com o passar dos anos, o tamanho máximo das estruturas de proteínas determinadas por RMN aumentou bastante, passando-se de massas moleculares de 5 ku para 20-30 ku. Para isso foi preciso incorporar medidas de ¹⁵N e ¹³C e, em alguns casos, ²H (deutério). No entanto, há um limite físico no tamanho de proteínas para a RMN multidimensional, difícil de ser superado, pois o tempo de relaxação dos

Os laureados de 2002

O Prêmio Nobel de Química de 2002 foi outorgado pela Academia Real Sueca de Ciências “para o desenvolvimento de métodos para identificação e análise estrutural de macromoléculas biológicas”. Metade foi outorgada conjuntamente a John B. Fenn e Koichi Tanaka “pelo desenvolvimento de métodos de ionização por dessorção suave para análise de macromoléculas biológicas por espectrometria de massa” e a outra metade para Kurt Wüthrich “pelo desenvolvimento de espectroscopia de ressonância magnética nuclear para determinação da estrutura tridimensional de macromoléculas biológicas em solução”.

John B. Fenn nasceu em 1917, na cidade de Nova Iorque, nos Estados Unidos da América. Obteve seu doutorado em 1940, na Universidade Yale, da qual foi



professor titular de 1967 a 1987, quando se aposentou como professor emérito. Desde 1994, é professor titular de Química Analítica na Universidade Comunidade das Nações de Virgínia, em Richmond (EUA).

Koichi Tanaka nasceu em 1959, na cidade de Toyama, no Japão. Formou-se em Engenharia na Universidade Tohoku, em 1983. Desde abril de 1983 trabalha na Shimadzu Corp., sendo que atualmente é engenheiro



de pesquisa e desenvolvimento na Unidade de Negócios em Ciências da Vida, da Divisão de Instrumentos Analíticos e de Medida, da Shimadzu, em Quioto (Japão).

Kurt Wüthrich nasceu em 1938, em Aarberg, na Suíça. Doutorou-se em Química Inorgânica na Universidade de Basel, em 1964. Desde 1980, é professor titular de Biofísica Molecular no Instituto de Biologia e Biofísica Molecular, do Instituto Federal Suíço de Tecnologia (ETH), em Zurique (Suíça). Também é professor visitante de Biologia Estrutural no Instituto de Pesquisas Scripps, em La Jolla, Califórnia (EUA).



spins nucleares vai diminuindo com o aumento do tamanho da proteína, o que dificulta a observação e a resolução espectral. Proteínas grandes passam a não gerar nenhum sinal nas medidas de RMN. Esse foi um outro desafio enfrentado por Wüthrich e colaboradores. Em 1998, eles publicaram um trabalho usando um efeito chamado de correlação cruzada entre a anisotropia do deslocamento químico e o acoplamento dipolar. Esse efeito faz que cada hidrogênio amídico da proteína apareça em duas frequências diferentes (dubleto), sendo que cada um dos componentes do duplete tem relaxação diferente: um deles relaxa rapidamente, enquanto o outro mais lentamente. A nova técnica, conhecida como espectroscopia otimizada de relaxação transversa (sigla inglesa TROSY, de *transverse relaxation optimized spectroscopy*), faz uso desse sinal de RMN que relaxa mais lentamente. Essa outra grande contribuição do laboratório de Wüthrich possibilitou que fosse possível se trabalhar com proteínas com massa superior a 40 ku, já tendo sido determinadas estruturas de proteínas de até 100 ku.

Aplicações de RMN

Trabalhar na determinação de estruturas de proteínas não é tarefa fácil, pois resolver a estrutura de uma proteína em solução pode levar de um a quatro anos, dependendo de como esta se comporta em solução. Porém esse trabalho é recompensado. A partir da estrutura de uma proteína pode-se entender mecanismos das reações biológicas e, assim, desenvolver novas drogas que bloqueiem processos biológicos indesejáveis. Diversas drogas estão sendo desenvolvidas usando-se essa metodologia, sendo que indústrias farmacêuticas têm investido milhões de dólares montando centros de RMN para essa finalidade.

Uma outra aplicação importante da técnica é na determinação dos chamados proteomas estruturais. Hoje, 40% dos ORF obtidos da análise dos geno-

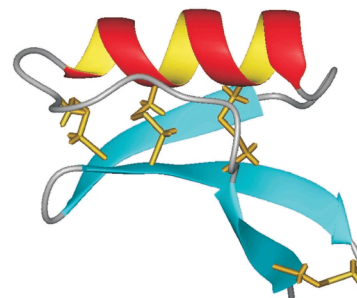
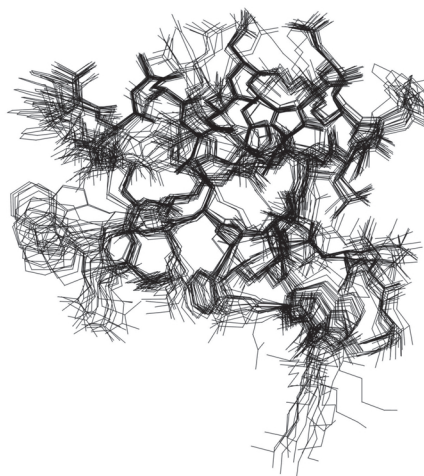


Figura 7: Estrutura da proteína PSD1 obtida em solução por RMN (<http://cnrmn.bioqmed.ufrj.br>). À esquerda, tem-se a sobreposição das diversas possíveis estruturas em solução obtidas por RMN. Observe que em certas regiões a proteína apresenta várias estruturas possíveis. Estas são provavelmente as regiões da proteína com grande flexibilidade. Todas as estruturas determinadas em solução têm regiões flexíveis e regiões rígidas. À direita, há um diagrama onde se observa a hélice α , em vermelho/amarelo, e as folhas β , em azul. As ligações de dissulfeto estão representadas em laranja.

mas são proteínas com função completamente desconhecidas. A resolução da estrutura das proteínas resultantes desses ORF tem possibilitado atribuir função a elas. Assim, pode-se antever um futuro não tão longínquo em que se saberá a função de quase 100% das proteínas codificadas no DNA humano. Conseqüentemente, será muito mais fácil desenvolver a cura para as doenças que atualmente nos afligem.

No Brasil há uma sociedade científica que se dedica somente ao uso da RMN, a Associação de Usuários de RMN - AUREMN (<http://www.auremn.org.br>) - e existem dois centros que trabalham com ressonância magnética nuclear de proteínas em solução: o Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear - CNRMN (<http://cnrmn.bioqmed.ufrj.br>) e o Laboratório Nacional de Luz Síncrotron - LNLS (<http://www.lnls.br>). A Figura 7 mostra a estrutura tridimensional da proteína PSD1, uma proteína com atividade antifúngica, a primeira estrutura de uma proteína totalmente resolvida no Brasil.

Nota

1. Na área de Bioquímica, comu-

mente utiliza-se a unidade dalton (Da) como sinônimo da unidade de massa atômica (u). Entretanto, o dalton e seu símbolo não foram aceitos pela Conferência Geral de Pesos e Medidas.

Luiz Alberto Colnago (colnago@cnpdia.embrapa.br), bacharel em Farmácia pela Faculdade de Farmácia e Bioquímica do Espírito Santo, mestre em Química e doutor em Físico-Química pelo Instituto Militar de Engenharia, é pesquisador da Embrapa Instrumentação Agropecuária, em São Carlos - SP. **Fábio C.L. Almeida** (falmeida@cnrmn.bioqmed.ufrj.br), bacharel em Ciências Farmacêuticas e doutor em Ciências Biológicas (Bioquímica) pela USP, é docente do Departamento de Bioquímica Médica do Instituto de Ciências Biomédicas da UFRJ (DBM/ICB/UFRJ) e pesquisador do Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear, na UFRJ (CNRMN/UFRJ). **Ana Paula Valente** (valente@cnrmn.bioqmed.ufrj.br), bacharel em Farmácia e mestre em Ciências Biológicas (Biofísica) pela UFRJ, doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica) pela USP, é docente do DBM/ICB/UFRJ e pesquisadora do CNRMN/UFRJ.

Para saber mais

CHAPMAN, J.R. (Ed.). *Mass spectrometry of proteins and peptides*. Totowa: Humana Press, 2000.

Fundação Nobel: <http://www.nobel.se>
WÜTHRICH, K. *NMR of proteins and nucleic acids*. Nova Iorque: John Wiley & Sons, 1986.

Abstract: *Mass Spectrometry and Multidimensional and Multinuclear NMR: Revolution in the Study of Biological Macromolecules* - The Nobel Prize in Chemistry 2002 was awarded to chemist John B. Fenn and to engineer Koichi Tanaka for the development of mass spectrometry for the analysis of biological macromolecules and to chemist Kurt Wüthrich for the development of multidimensional and multinuclear nuclear magnetic resonance (NMR) for determining the three-dimensional structure of proteins. The contributions of these researchers made Biochemistry the "great science" of our times, allowing the fast identification of proteins present in a sample in solution, as well as their three-dimensional structures.

Keywords: Nobel Prize, nuclear magnetic resonance, mass spectrometry, proteins, biological macromolecules