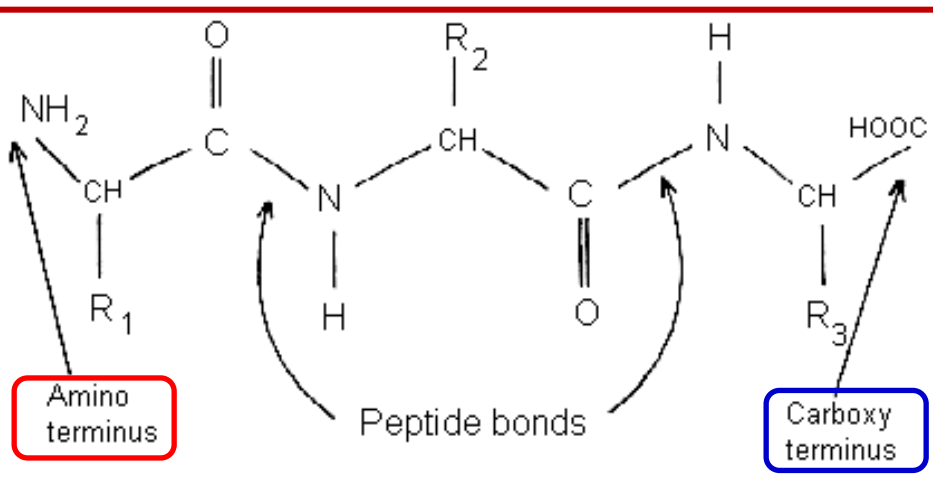


Bioquímica Avançada (QBQ-5751) 2023

M. Terêsa Machini

Laboratório de Química de Peptídeos
Bl 8 Superior, sala 0854, tel. 3091-3855
mtmachini@iq.usp.br



Tripeptídeo → 3 resíduos de aa

Nonapeptídeo → 9 resíduos de aa

Oligopeptídeo → dezenas de resíduos de aa; 1 ou mais cadeias peptídicas; 1 ou mais terminais **N** e **C**

Polipeptídeo → 80 – centena(s) de resíduos de aa

Proteína → centena(s) de resíduos de aa; 1 ou mais cadeias polipeptídicas = 1 ou mais terminais **N** e **C** e função específica

Nome: radical do resíduo C-terminal (esquerda-direita). Ex: glutamil-glicil-arginina

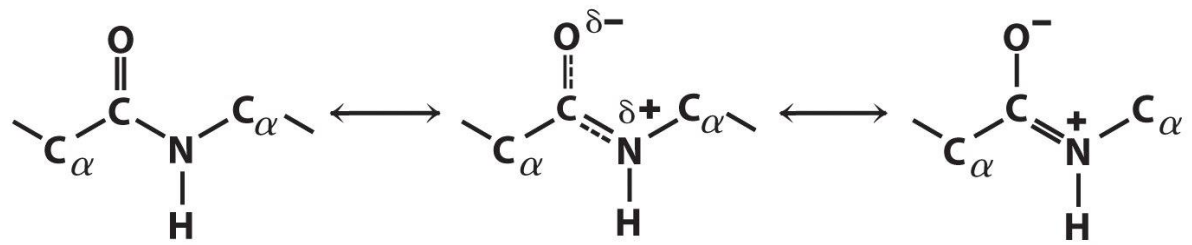
Estrutura covalente (*sequência de aminoácidos*) + **Modificações químicas** (*incluindo restrições conformacionais covalentes*) → determinam a **função** porque estão associadas à **estrutura ativa**

Cap. 7 Voet & Voet, 3rd. edition

https://en.wikibooks.org/wiki/Principles_of_Biochemistry/Amino_acids_and_proteins

Outras: publicações, capítulos de livros (citados no estudo dirigido e exercícios)

Por que isso ocorre?



The carbonyl oxygen has a partial negative charge and the amide nitrogen a partial positive charge, setting up a small electric dipole. Virtually all peptide bonds in proteins occur in this trans configuration; an exception is noted in peptide bond involving Pro.

C-N não são livres para rotação:
Plano da ligação amida (ligação peptídica)

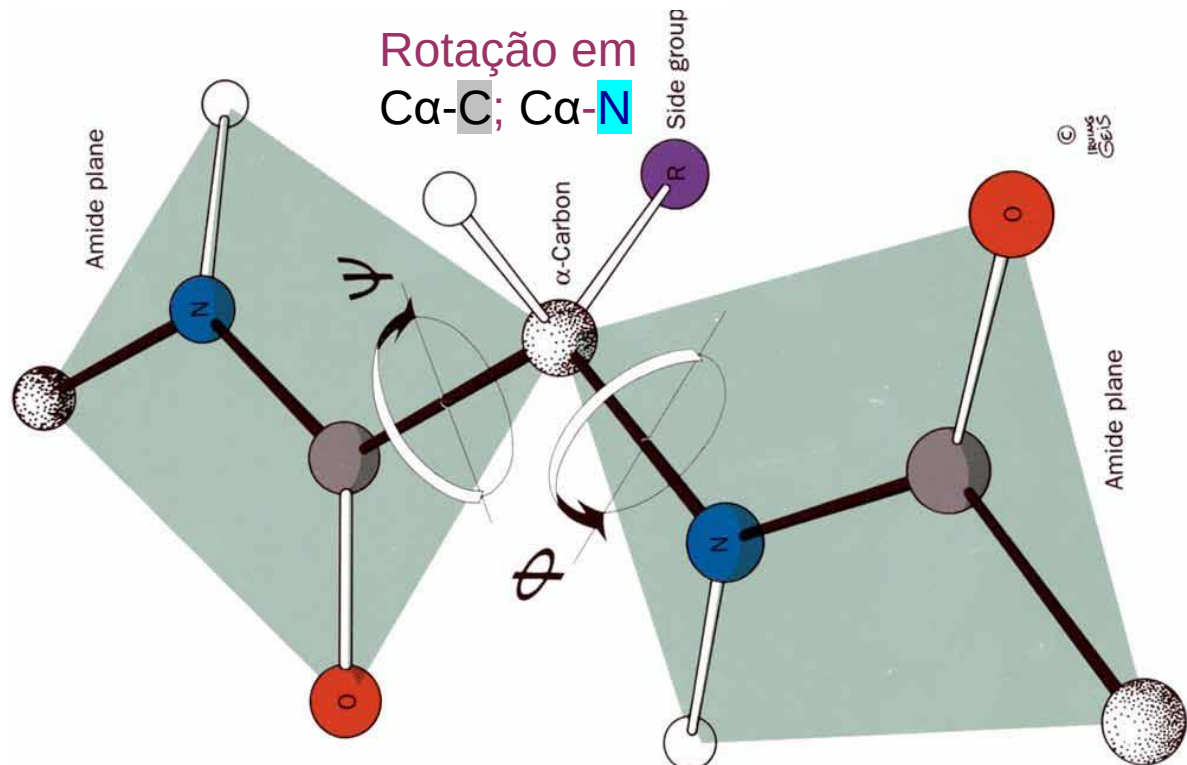
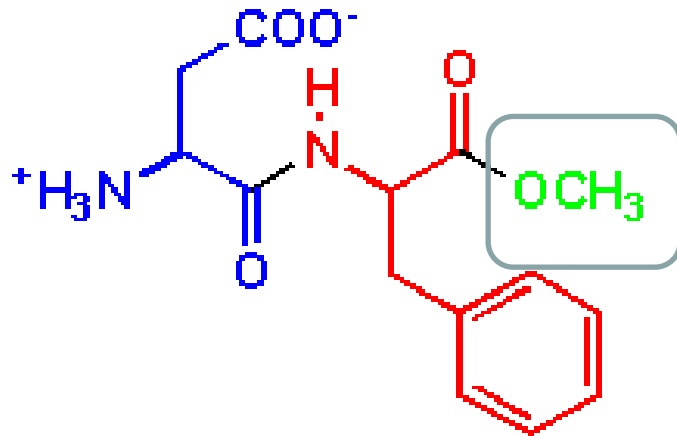


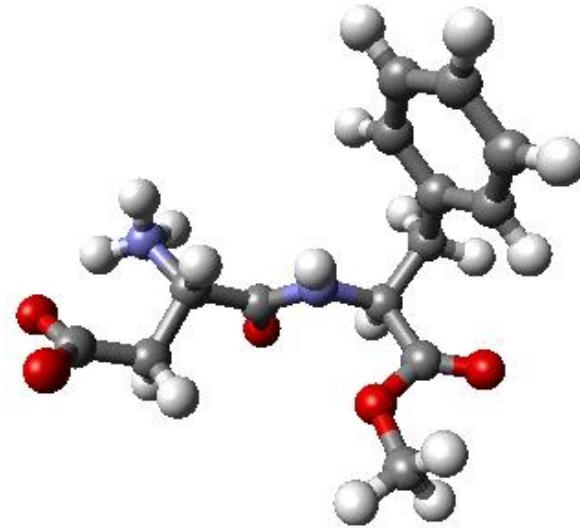
Figure 6-4 Fundamentals of Biochemistry, 2/e

Dipeptídeo: estrutura covalente sem restrições conformacionais covalentes



Aspartyl-phenylalanine methyl ester

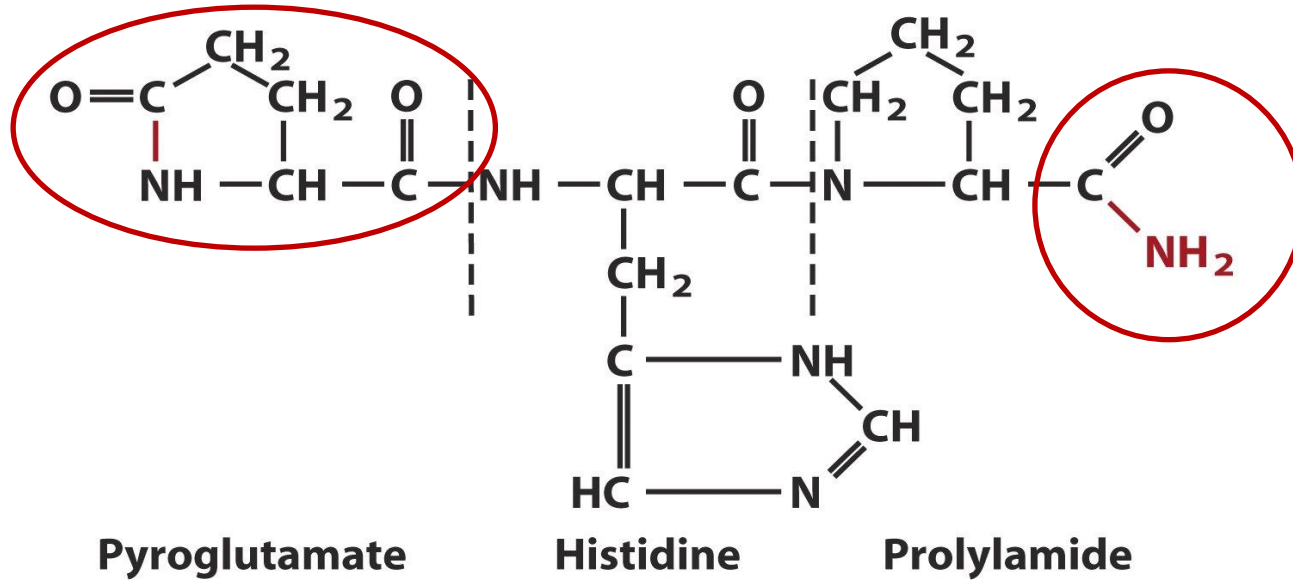
Asp-Phe-OMe



Aspartame → adoçante



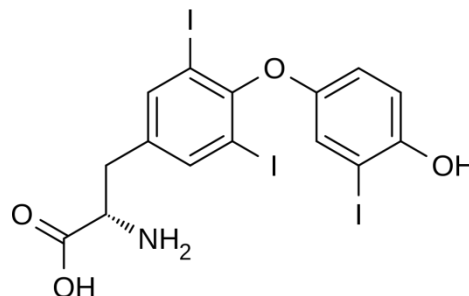
Tripeptídeo: estrutura covalente sem restrições conformacionais covalentes



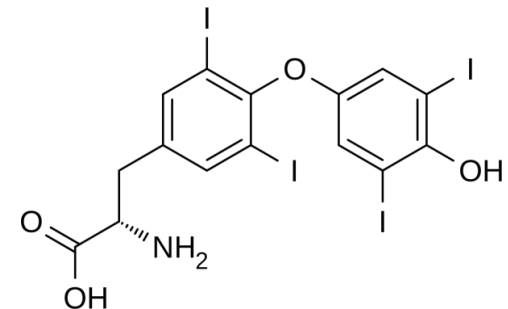
pyroGlu-His-Pro-NH₂

fator liberador da tireotropina (TRF) → produção de hormônios tireoidianos

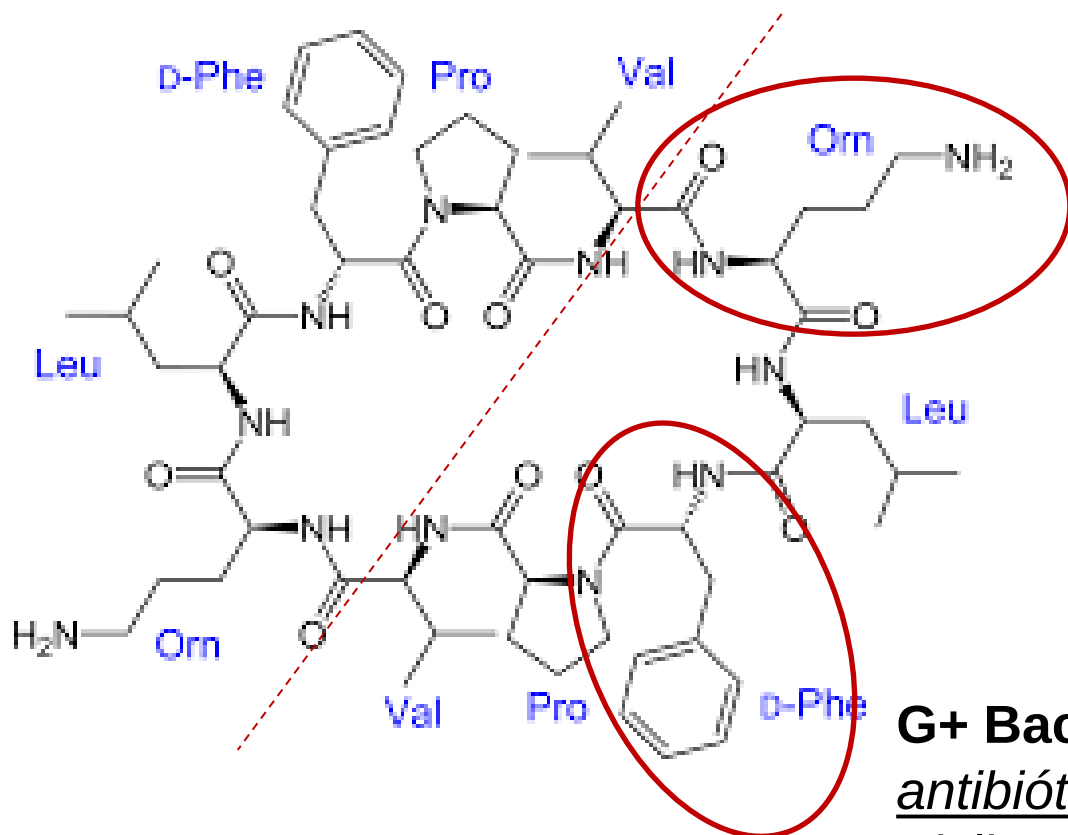
T3 (triiodotironina)



T4 (tiroxina)



Decapeptídeo: estrutura covalente com uma restrição conformacional covalente

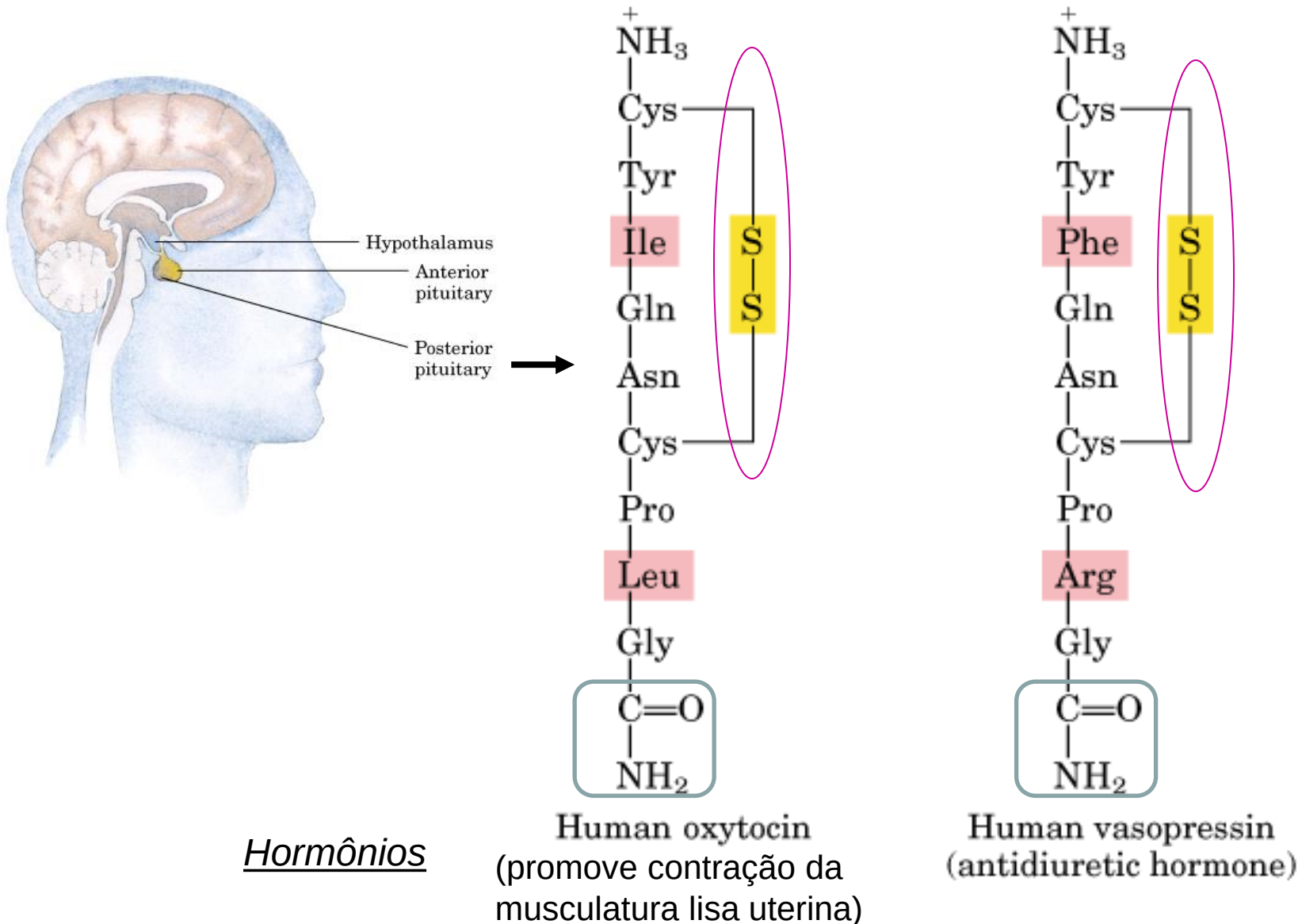


G⁺ Bacillus brevis: Gramidina S
antibiótico catiônico bacteriano

Ciclização N-C

Aminoácido não usual; D-aminoácidos
(Gause & Brazhnikova, *Nature*, 1944)

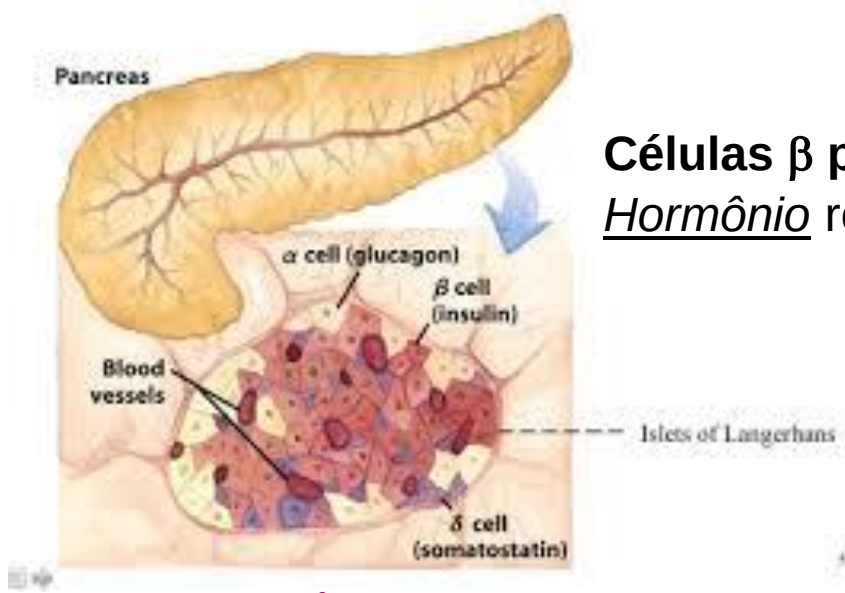
Nonapeptídeos: estrutura covalente com uma restrição conformacional covalente



Oligopeptídeos: estrutura covalente com algumas restrições conformacionais covalentes

Células β pancreáticas: **Insulina**

Hormônio responsável pela sinalização da alta taxa de glicose no sangue



A chain

Gly-Ile-Val-Glu-Gln-Cys-Cys-Ala-Ser-Val-Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn
5 10 15 21

B chain

Phe-Val-Asn-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Tyr-Thr-Pro-Lys-Ala
5 10 15 20 25 30

Figure 5-1 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

Propriedades físico-químicas dos peptídeos

MTM

- Capacidade de formar ligações de H
- Capacidade de se envolver em ligações S-S
- Reatividade química
- Acidez X Basicidade
- Polaridade: *moléculas polares, porém existem os mais/menos polares que outros*
- Aromaticidade
- Volume
- Capacidade de absorver/emitir luz
- Capacidade de desviar luz plano polarizada
- Quiralidade
- Flexibilidade conformacional

Solubility

Generally soluble in water, mainly at low-neutral pH. Some can aggregate at high pH.

Melting points

Not well defined. Most do not form well-defined crystals.

Polipeptídeos/Proteínas: estrutura covalente com muitas restrições conformacionais

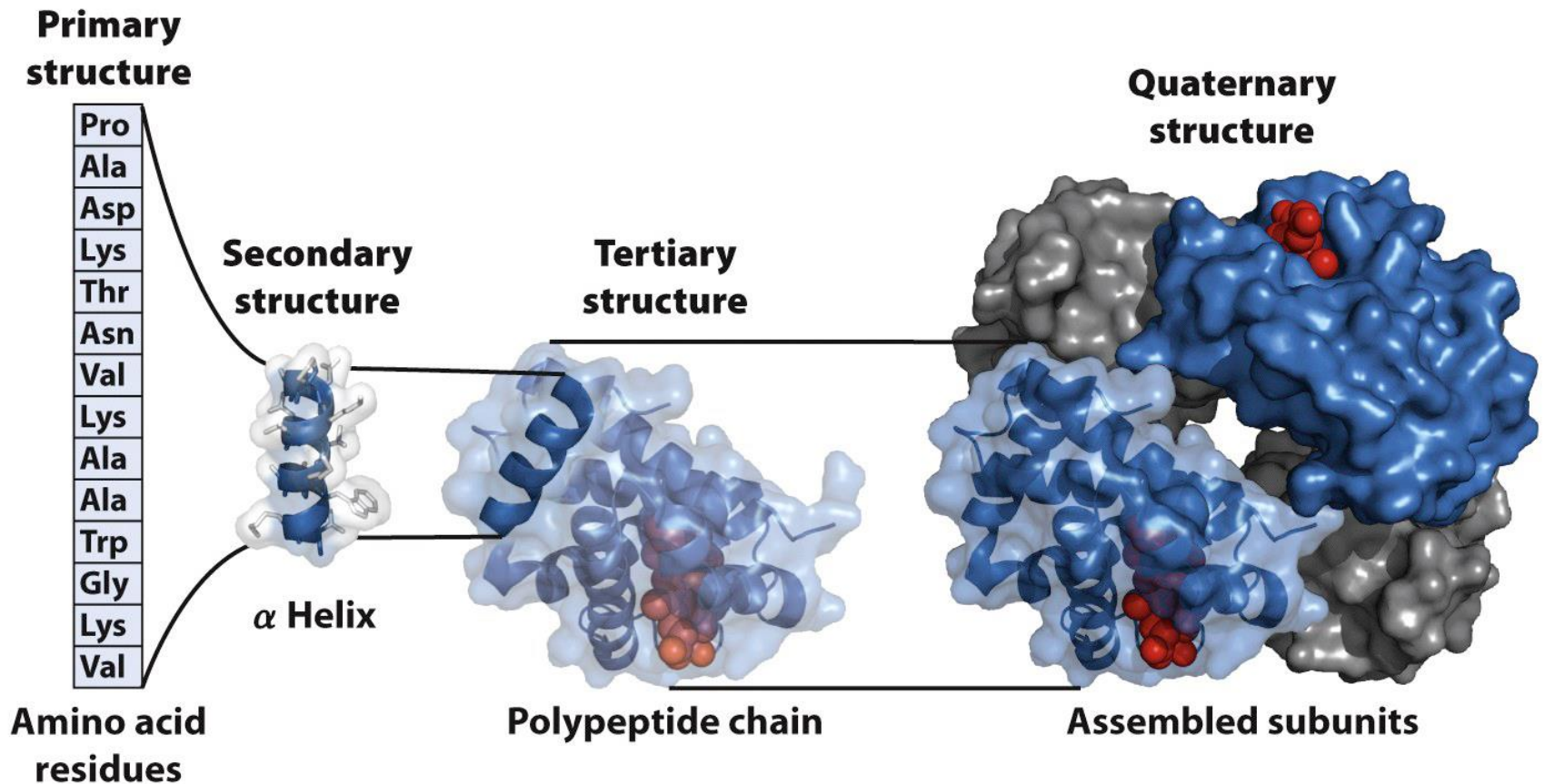


Figure 3-23

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

Sequência de aminoácidos (**estrutura 1^a.**) → **estruturas 2^a., 3^a. e 4^a.** → Enovelamento → conformação ativa → função

Determinação de massa molar *(tb para proteínas)*

MTM

1) PAGE/SDS com tampão específico

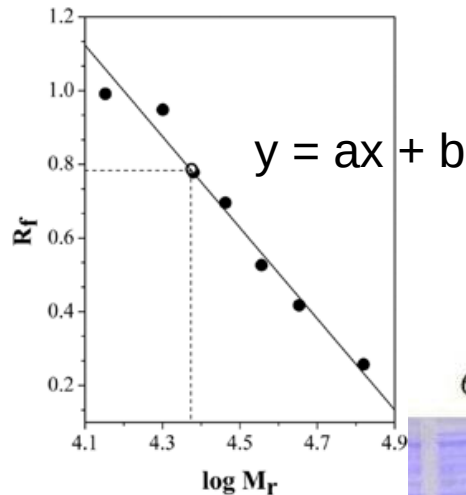
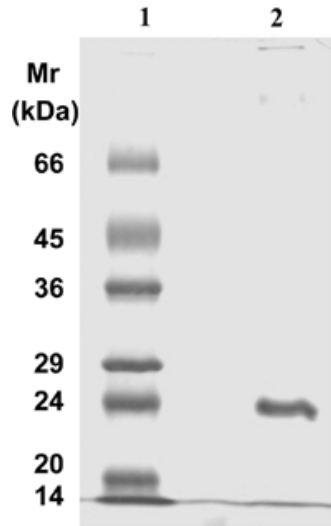
Condições não desnaturantes, não redutoras:

peptídeo/ proteína na estrutura nativa

Condições desnaturantes, redutoras:

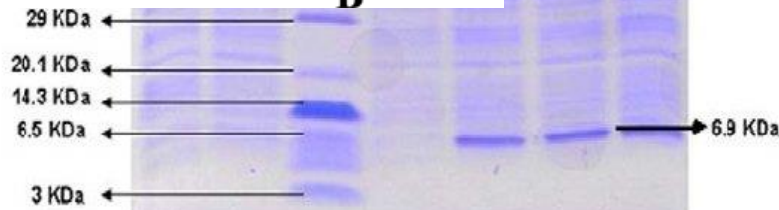
peptídeo/ proteína desenovelada

Uso de padrões

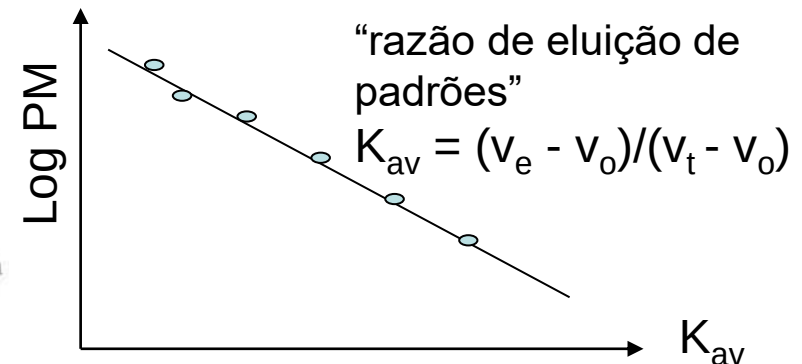
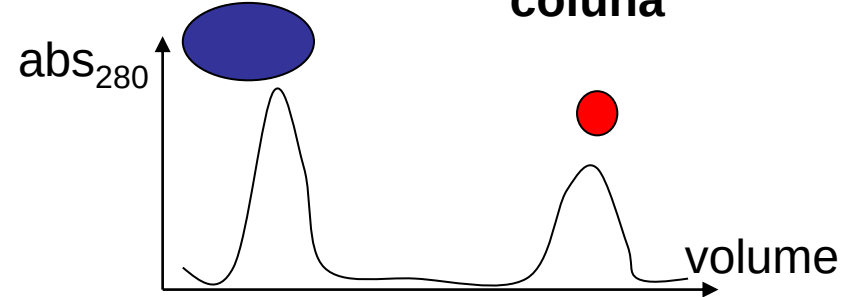
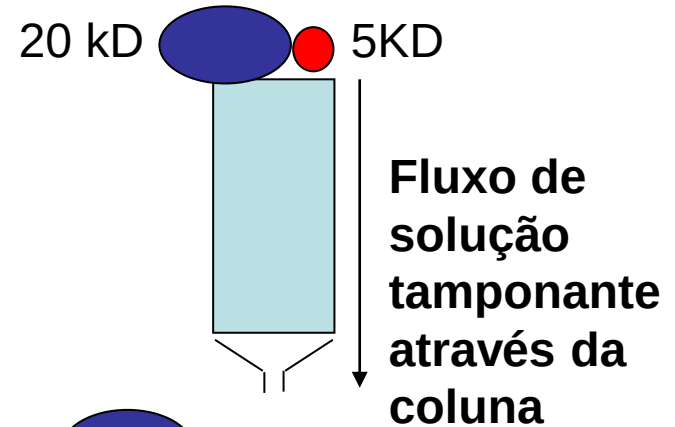


A

B



2) Cromatografia de permeação em gel



3) Espectrometria de massas (MS): ferramenta analítica

Electrospray ionization (ESI)

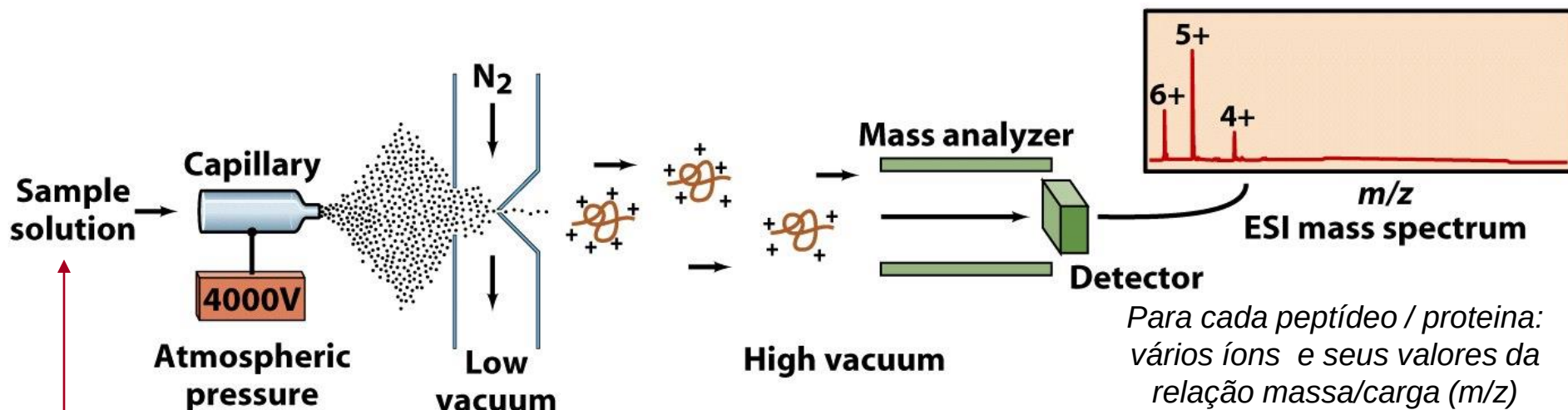


Figure 5-18a Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

geralmente: em solução de HCOOH, TFA, p.ex.

Nesta modalidade: acoplamento ao sistema de HPLC (LC/ESI-MS): separação e análise simultaneamente → identificação

Ex.: MW Esperado = 5000

Detectados no espectro de massas: *

$$[M + 1]^+ = 5001 \rightarrow m/1 = 5000 + 1/1 = 5001^*$$

$$m/2 = 5000 + 2/2 = 2501^*$$

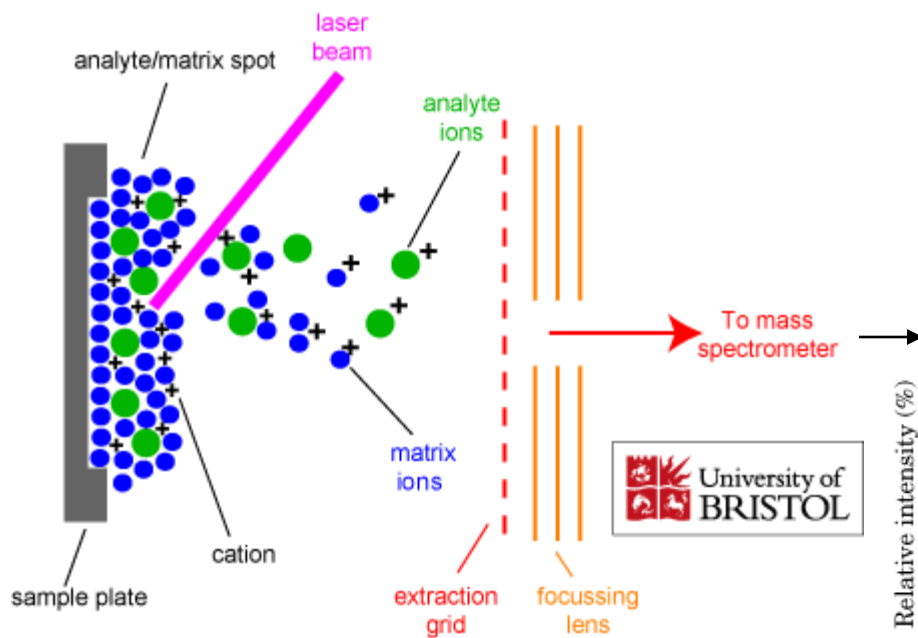
$$m/3 = 5000 + 3/3 = 1667,7^*$$

$$m/4 = 5000 + 4/4 = 1251^*$$

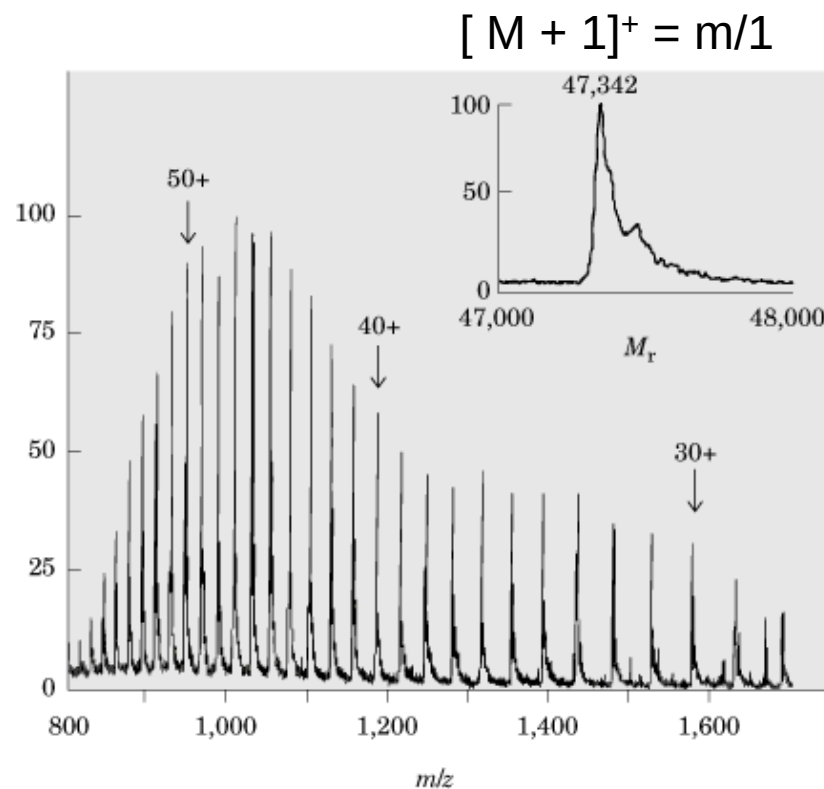
$$m/5 = 5000 + 5/5 = 1001^*$$

$$m/6 = 5000 + 6/6 = 834,3^*$$

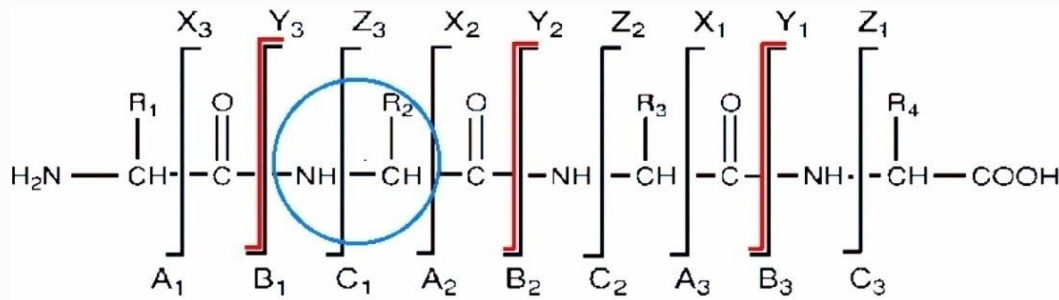
Matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI)



Matriz cristalina
(ex. ácido 2,5 dihidroxibenzóico)



Geralmente: para cada proteína / peptídeo:
um íon com a sua relação massa/carga ($m/1$)
Altos MW: $m/2$ ou $m/3$ podem ser detectados



Voet & Voet , Biochemistry,
3rd. Edition, 2004, p.174.

Ex: Tripeptídeo

ocorrência de série:

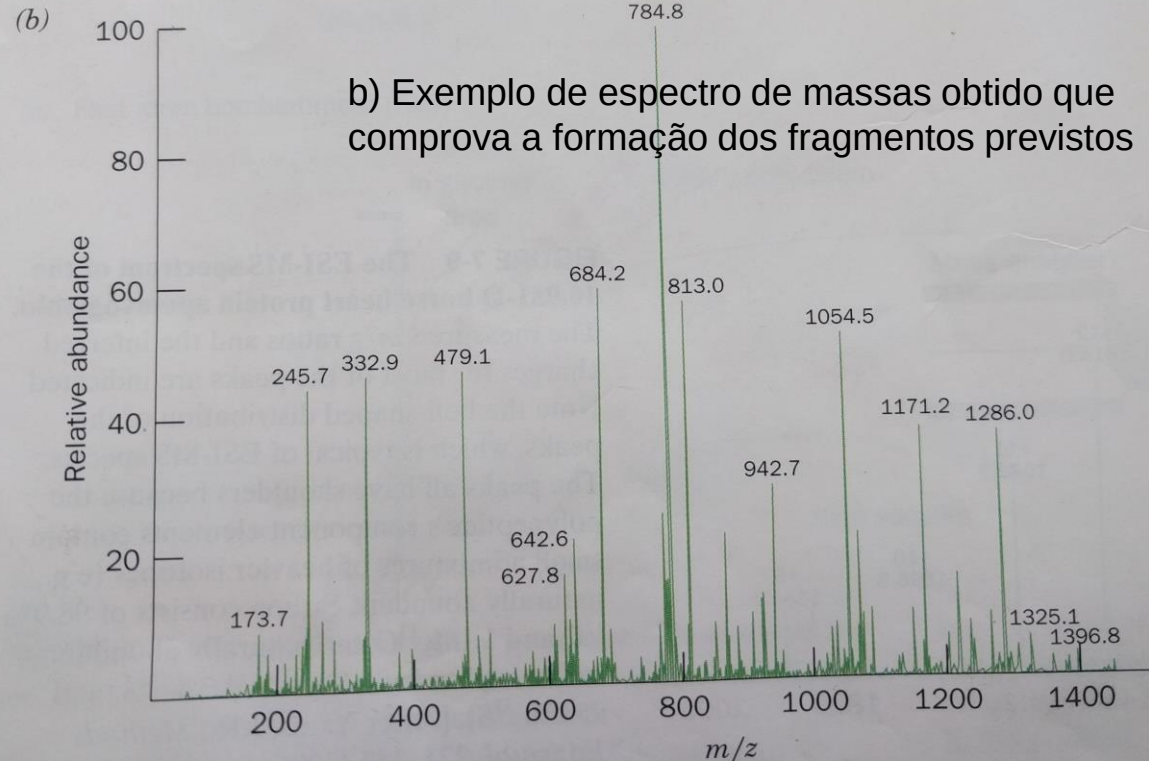
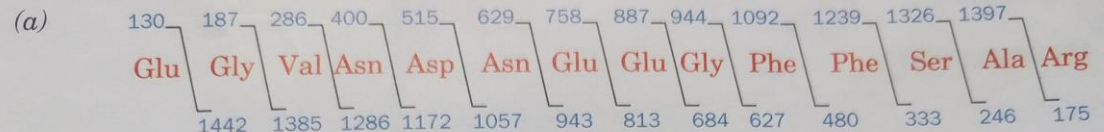
b, y (ou **B, Y**)

e pode gerar outras:

a, x (ou **Z, X**)

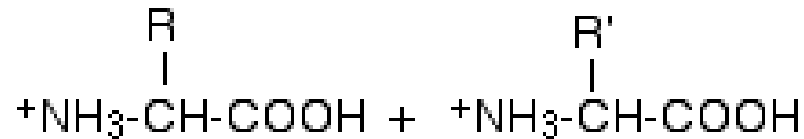
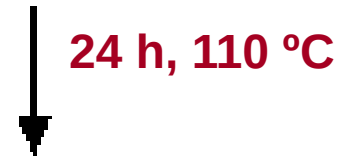
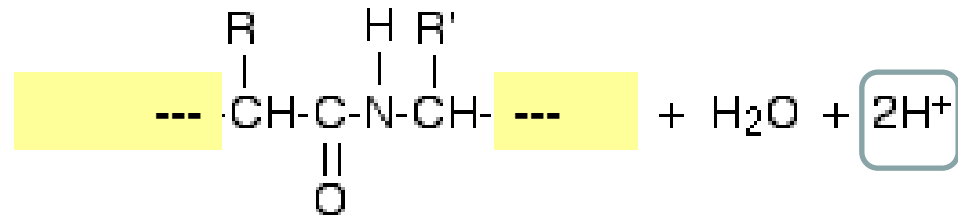
Note que nas duas séries os fragmentos gerados se complementam (ao serem somados dão o peso molecular do P que foi fragmentado)

a) Previsão de possíveis fragmentos



Conteúdo de aminoácidos

1) Hidrólise total de peptídeos e proteínas → aminoácidos

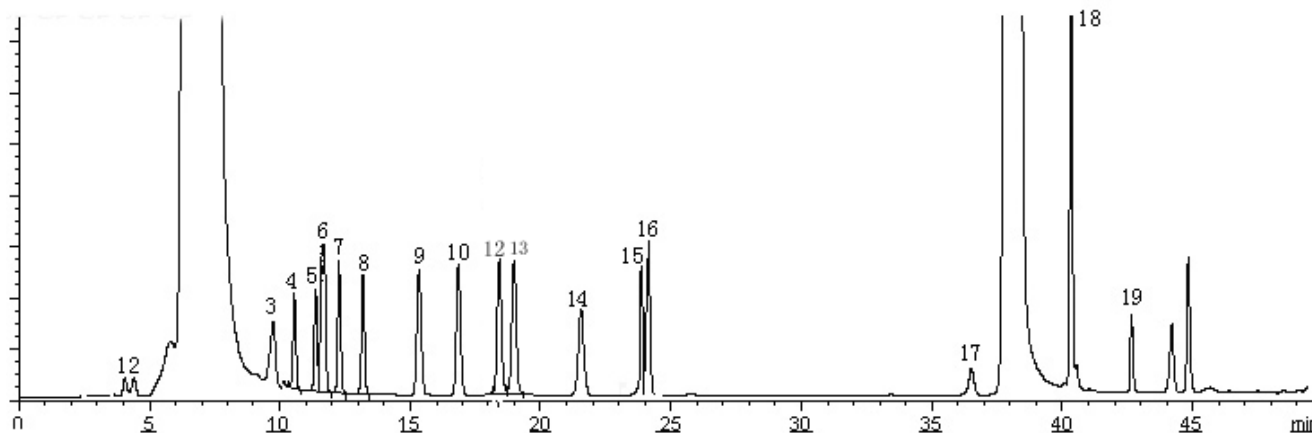


Notice the positive ions formed from the amino acids.

Conteúdo de aminoácidos

2) Análise do hidrolisado total: cromatografias (ver slides Aminoácidos 2023)

Análise por RP-HPLC com derivatização pré-coluna
(modificou para depois separar/detectar)

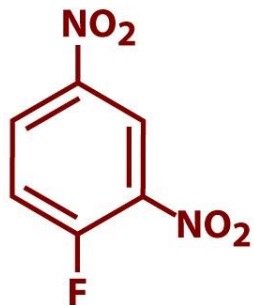


Identificação feita por análise comparativa com padrões que também foram derivatizados

Determinação de aminoácido N-terminal (também serve para proteínas)

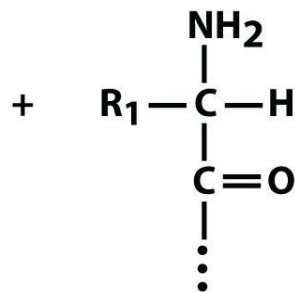
1 ou mais cadeias polipeptídicas???? Ex:

MTM

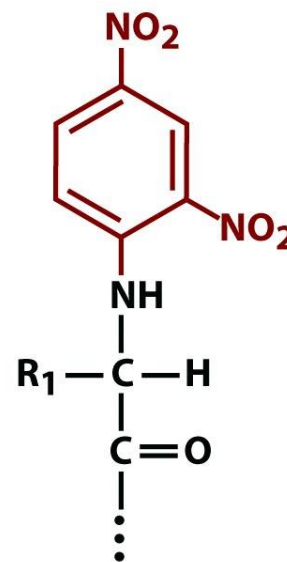


**2,4-Dinitrofluoro-
benzene (DNFB)**

Box 5-2 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

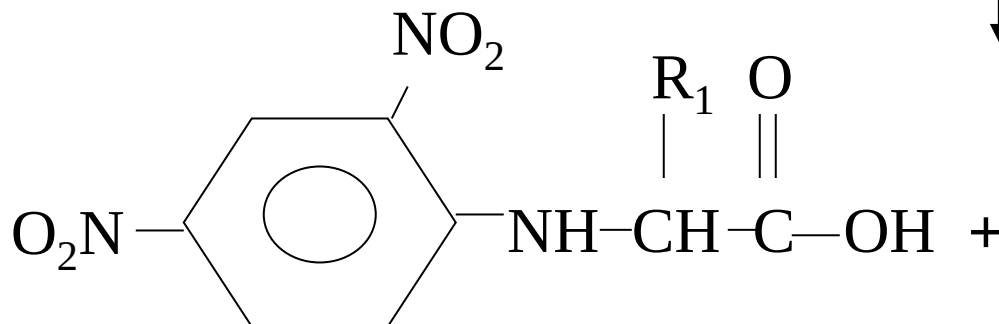


Polypeptide



DNP Polypeptide

Meio ácido (HCl 6M a 110°C)
(remove apenas o aminoácido
modificado N-terminal =
amarelo)



mistura dos outros aminoácidos
não modificados

(**DNP-aminoácido**) → Identificado por TLC ou cromatografia em coluna usando padrões