

## Simulador de eletroforese

O roteiro para utilização do software está dividido em quatro partes.

Parte I. Comportamento de ácidos fracos.

Parte II. Comportamento de um aminoácido com cadeia lateral não ionizável.

Parte III. Comportamento de aminoácidos com cadeia lateral ionizável.

Parte IV. Comportamento de peptídeos.

### **Parte I. Comportamento de ácidos fracos.**

**A. Selecione na lista de compostos o Ácido p-nitro-fenil-propanóico, fixe o pH em 4,48 e faça a simulação da eletroforese.**

1. Qual foi o resultado obtido na eletroforese? Qual foi a velocidade de migração?
2. Qual é a proporção das espécies presentes no meio no início e no final da simulação?
3. Na representação microscópica, observe apenas um ponto. Esse ponto, que representa uma molécula, mantém sempre a mesma carga? Por que as espécies mudam seu estado de ionização mesmo sem a aplicação de voltagem?
4. Todas as moléculas do sistema movimentam-se na eletroforese?
5. A proporção das espécies do sistema será mudada se houver alteração do pH do meio. Verdadeiro ou Falso?
6. A resposta à questão anterior tem confirmação pela Equação de Henderson-Hasselbalch?

**B. Reinicie o experimento e interrompa-o quando a mancha estiver aproximadamente na metade do caminho.**

7. Uma vez que a corrida foi interrompida, é possível retomá-la? Qual é a velocidade em relação ao início do experimento?

8. Houve mudança no comportamento microscópico e macroscópico da amostra na situação atual em relação ao experimento anterior?
9. Qual a proporção de espécies no pH em que foi realizado o experimento? Escreva as estruturas dessas espécies.
10. Por que aparece apenas uma mancha na eletroforese se há duas espécies diferentes, uma com carga elétrica e outra sem carga?
11. É possível separar as duas espécies?

**C. Altere o pH do meio para 5,48 e faça a simulação da eletroforese.**

12. Qual foi o resultado obtido na eletroforese? Qual foi a velocidade de migração? Compare essa velocidade com a da eletroforese realizada em pH=4,48.
13. Qual é a proporção das espécies presentes no meio no início e no final da simulação? Qual a relação entre as proporções das espécies no pH=4,48 e no pH 5,48 com as velocidades observadas nos dois casos?
14. Verifique as proporções das espécies do sistema em pH 2,48; 3,48; 4,48; 5,48 e 6,48.
15. Que previsão pode ser feita quanto à velocidade de migração em pH 6,48; 8,48 e 10,48?
16. Qual a relação entre a velocidade de migração da amostra e os valores de pH?
17. Em qual(uais) valores de pH o sistema se encontra em equilíbrio?

**Parte II. Comportamento de um aminoácido  
com cadeia lateral não ionizável.**

**A. Na lista de aminoácidos, escolha a Glicina (Gly), ajuste o pH do meio para 2,35 e faça a simulação da eletroforese.**

1. Qual foi o resultado obtido na eletroforese? Em direção a que polo a amostra migrou? Qual foi a velocidade de migração?
2. Qual é a proporção das espécies presentes no meio no início e no final da simulação? Escreva as estruturas dessas espécies.
3. Existe algum valor de pH no qual ocorra uma espécie sem nenhuma carga?

4. Na representação microscópica, observe apenas um ponto. Esse ponto, que representa uma molécula, mantém sempre a mesma carga?

**B. Ajuste o pH para 9,78 e faça a simulação da eletroforese.**

5. Qual a diferença entre o resultado deste experimento e o do experimento anterior?

**C. Repita o experimento em uma faixa de pH com variação de uma unidade de pH.**

6. Há algum valor de pH em que não haja nenhuma carga nas espécies?

**D. Faça experimentos com o objetivo de determinar um valor de pH no qual não há nenhuma migração.**

7. Qual foi o valor encontrado? É possível encontrar esse valor teoricamente?

**E. Prepare agora um sistema com a Alanina (Ala), e repita os passos 1, 3, 5 e 6**

8. Houve diferenças no comportamento dos sistemas? Quais?

**F. Prepare agora um sistema com Alanina (Ala) e Glicina (Gly) e repita os passos 1, 3, 5 e 6.**

9. Qual foi o resultado?

**G. Prepare novamente o sistema anterior e adicione Glutamato (Glu) à amostra. Repita os passos 1, 3, 5 e 6.**

10. O que foi observado agora? Que hipótese pode explicar os resultados observados?

**Parte III. Comportamento de aminoácidos  
com cadeia lateral ionizável.**

**A. Prepare um experimento com o Glutamato (Glu) em pH=2,1**

1. Repita os passos da Parte II de A1 até A4.

2. Por que o pI é tão baixo?

**B. Prepare um experimento com a Arginina (Arg) em pH=10,74**

1. Repita os passos da Parte II de A1 até A4.

2. Por que o pI é tão baixo?

3. Por que há um pI entre pKa e pK<sub>R</sub> e não na média global dos pKas, tanto para Glu como para Arg?

**Parte IV. Comportamento de peptídeos.**

**A. Na lista de amostras, monte um peptídeo que seja formado por duas Glicinas (Gly-Gly), ajuste o pH do meio para 2,35 e faça a simulação da eletroforese.**

1. Qual foi o resultado obtido na eletroforese? Em direção a que polo a amostra migrou? Qual foi a velocidade de migração?

2. Qual é a proporção das espécies presentes no meio no início e no final da simulação? Escreva as estruturas dessas espécies.

3. Existe algum valor de pH no qual ocorra uma espécie sem nenhuma carga?

4. Na representação microscópica, observe apenas um ponto. Esse ponto, que representa uma molécula, mantém sempre a mesma carga?

5. Existe diferença entre o comportamento dessa amostra o observado na Parte II, item A? Por que? Justifique com a estrutura do peptídeo.

6. Qual seria a diferença se o peptídeo agora fosse mudado para Gly-Leu? E para um peptídeo Leu-Ile-Gly? Por que se comportam como se fossem aminoácidos isolados?

**A. Na lista de amostras, monte um peptídeo que seja formado por uma Glicina (Gly) e um Glutamato (Glu), ajuste o pH do meio para 2,1 e faça a simulação da eletroforese.**

1. Qual a diferença entre o resultado dessa eletroforese e o observado na Parte III A? Qual a explicação para esse fato?

2. Repita agora o experimento proposto com os seguintes peptídeos:

a. Glu-Glu.

b. Gly-Glu.

c. Glu-Gly-Glu

Pergunta-se qual a seria a diferença nos resultados em relação ao Glu?

3. Haveria diferença no comportamento eletroforético se o peptide agora fosse Glu-Arg? E se fosse Glu-Val-Arg?

4. Haveria diferença se o peptideo, nesse mesmo pH agora fosse Arg-Val-Glu? Por que se comportam de forma diferente se possuem os mesmos aminoácidos em sua composição?

5. Diante dos resultados obtidos, o que define o comportamento eletroforético de um peptideo?