

OPTIMIZACIÓN DE PÉPTIDOS QUIMÉRICOS DERIVADOS DE ANTÍGENO AMA-1 DE *Plasmodium yoelii* PARA EL ANCLAJE A MOLÉCULAS H2-IE^d DE MODELO MURINO

Luisa Fernanda Hernández Bermúdez

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Bacteriología y Laboratorio clínico



Asesor externo: Kewin Rodríguez Obediente
Asesora interna: Edith Hernández Rojas



TABLA DE CONTENIDO

Contenido

INTRODUCCIÓN

- La malaria
- Ciclo de vida
- Diagnóstico de malaria
- Epidemiología

OBJETIVOS

- Objetivo general
- Objetivos específicos

1º OBJETIVO

- Metodología
- Resultados - discusión

2º OBJETIVO

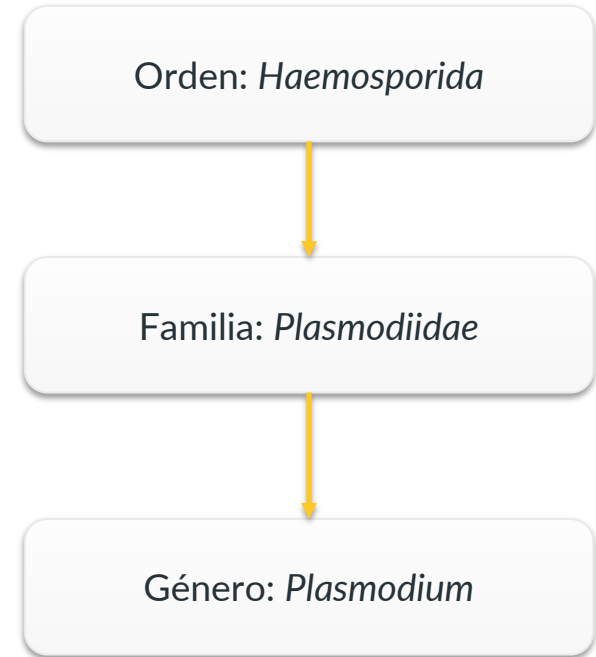
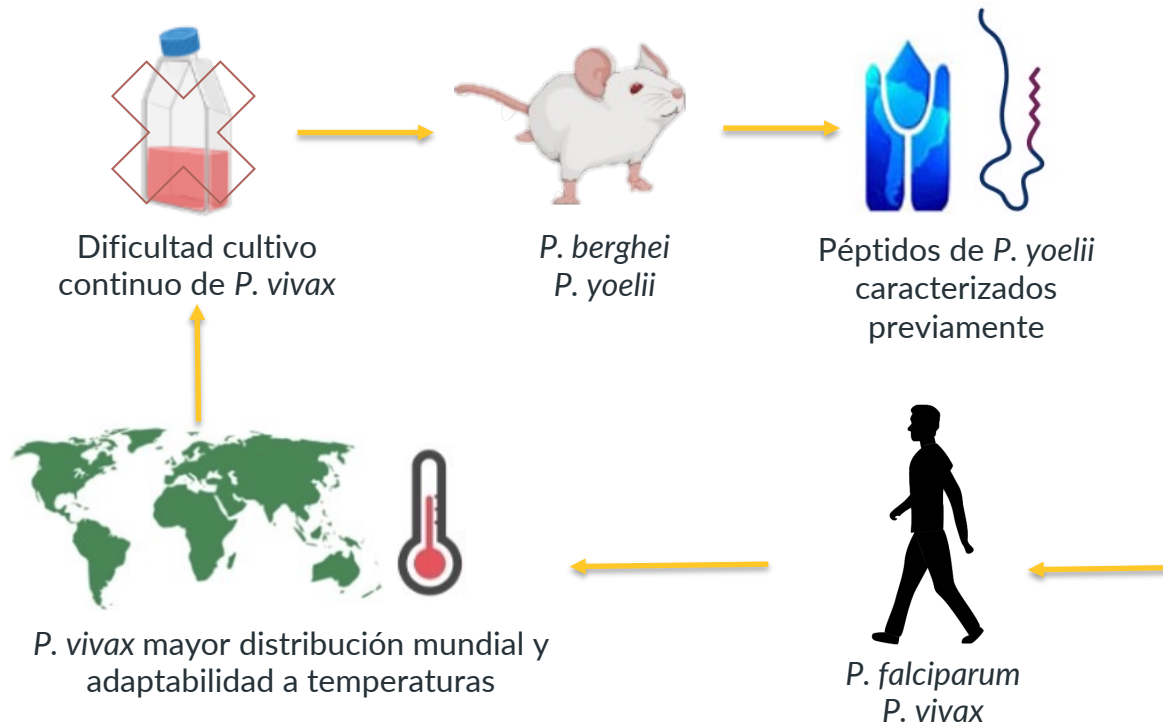
- Metodología
- Resultados - discusión

3º OBJETIVO

- Metodología
- Resultados - discusión

CONCLUSIONES
-
RECOMENDACIONES

LA MALARIA



OMS

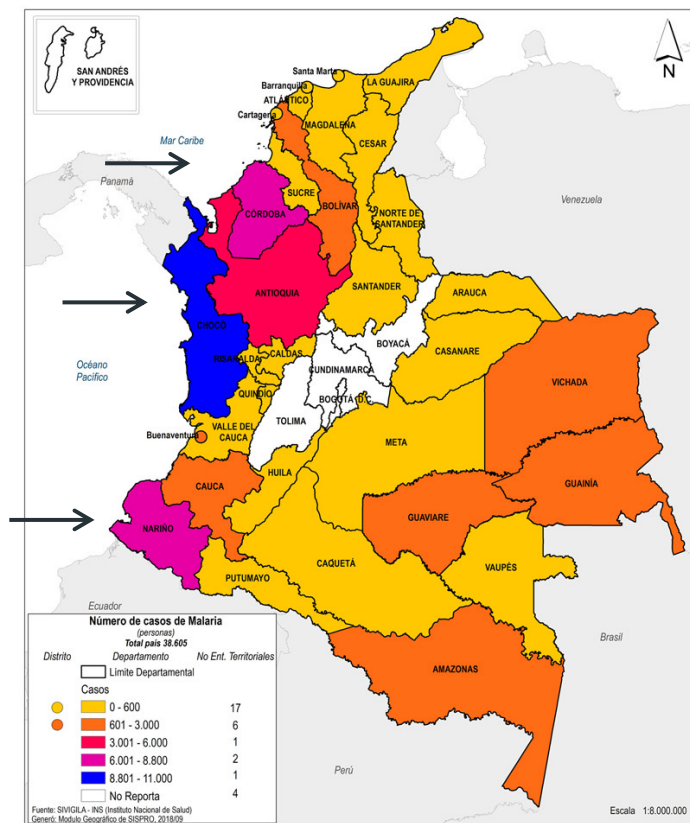
241 MM de casos reportados
627.000 muertes

INS-SIVIGILA

76.958 casos reportados

Departamentos con mayor incidencia de casos: Chocó, Nariño, Córdoba, Antioquia.

Poblaciones con determinantes de salud deficientes



DIAGNÓSTICO DE LA MALARIA

SINTOMATOLOGÍA



PRUEBAS RÁPIDAS

Fiebre



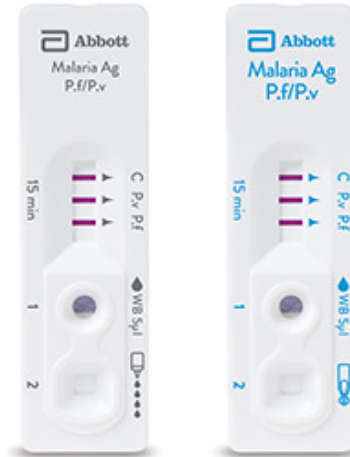
Escalofríos



Náuseas y vómito

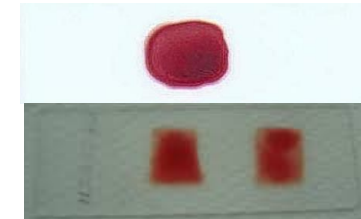


Procedencia
área
endémica



Zonas de difícil
acceso y
condiciones

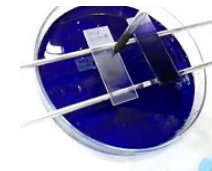
MICROSCOPIA



Gota gruesa

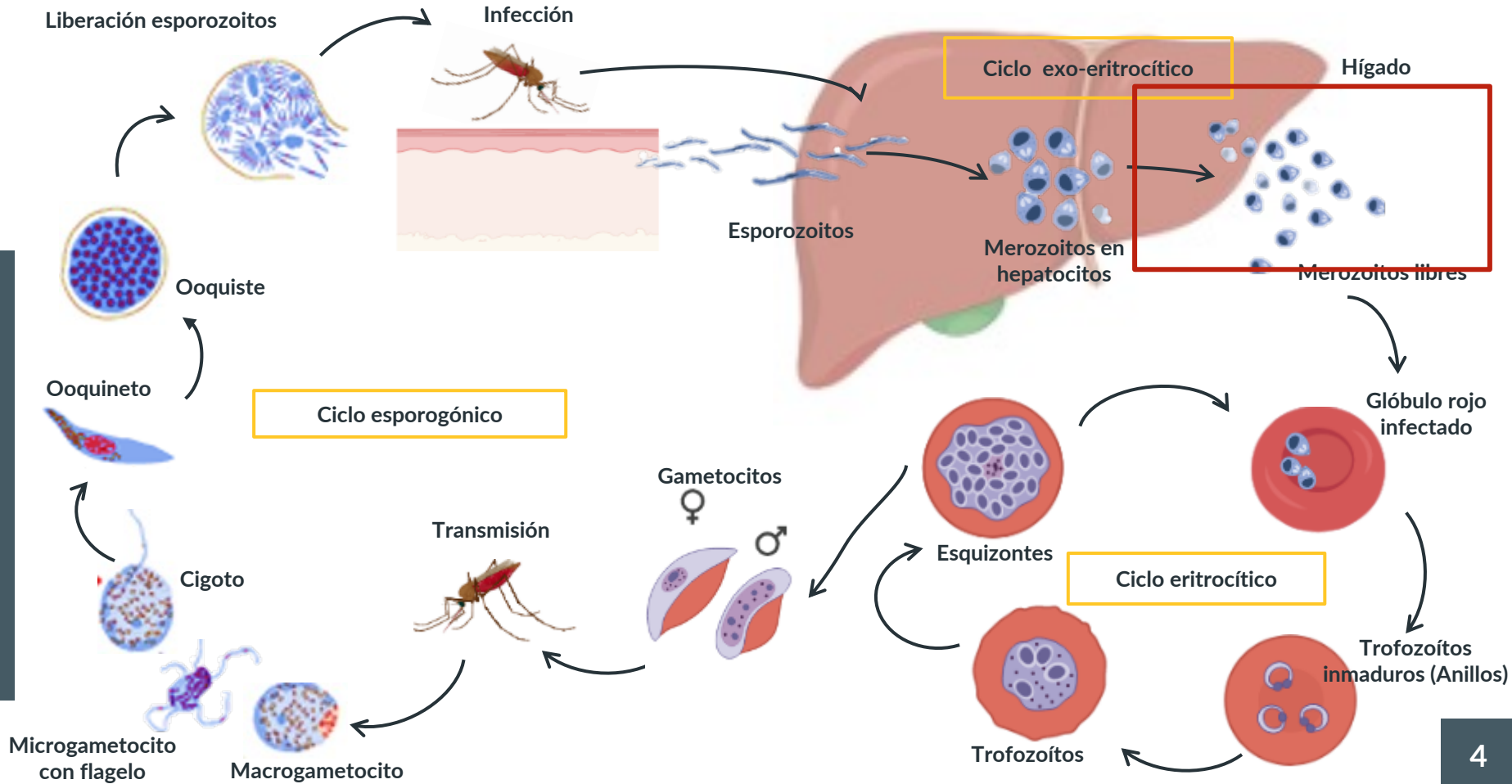


Extendido de
sangre periférica

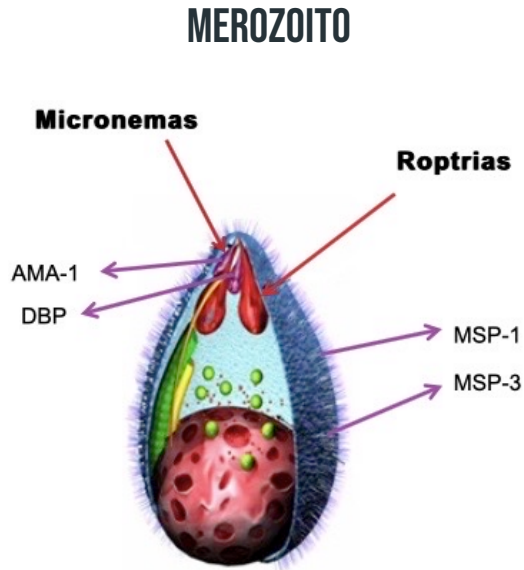


Técnica diagnóstica
de referencia

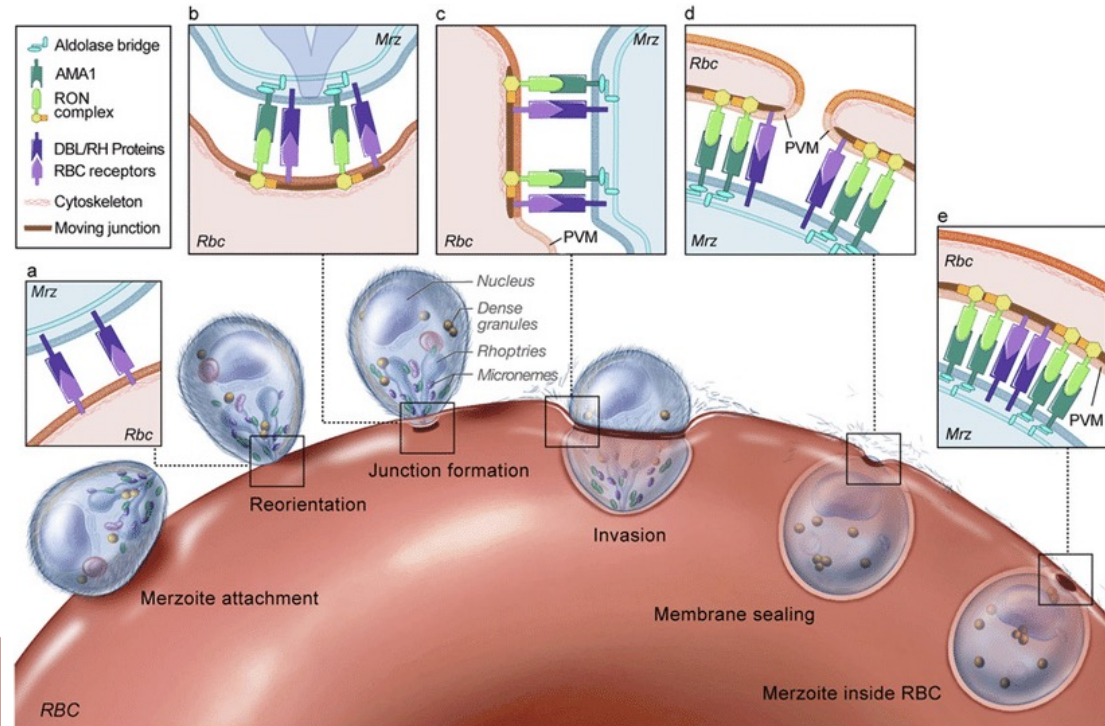
CICLO DE VIDA



AMA - 1



AMA-1 proteína esencial invasión merozoito.
Involucrada en respuesta inmune.



Binding of Plasmodium merozoite proteins RON2 and AMA1 triggers commitment to invasión, Srinivasan P.

HIPÓTESIS

¿Podrán los péptidos derivados de regiones conservadas de *PyAMA-1* unirse de forma específica *in vitro* a moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase II de ratón, y a su vez inmunogénicos?



Los péptidos derivados de regiones conservadas de *PyAMA-1* tienen características para ser candidatos a formación de quiméricos con futura síntesis y evaluación de respuesta inmune en modelo murino.

GENERAL



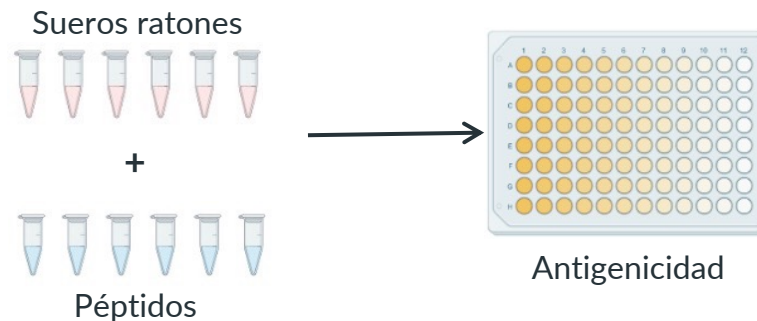
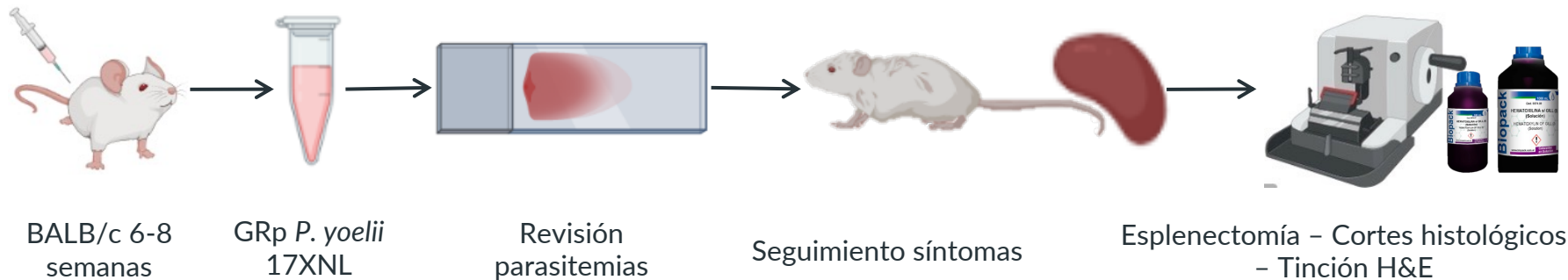
- Optimizar péptidos quiméricos derivados de la proteína AMA-1 de *Plasmodium yoelii* para el anclaje a moléculas H2-IE^d de ratón

ESPECÍFICOS



1. Determinar la antigenicidad de péptidos derivados de regiones conservadas de la proteína AMA-1 de *P. yoelii*
2. Seleccionar péptidos derivados de regiones conservadas de la proteína AMA-1 de *P. yoelii* dependientes de su unión a molécula H2-IE^d
3. Diseñar y seleccionar *in silico* péptidos quiméricos con capacidad de unión a H2-IE^d

MANTENIMIENTO BIOMODELO - ANTIGENICIDAD



R= Ratón

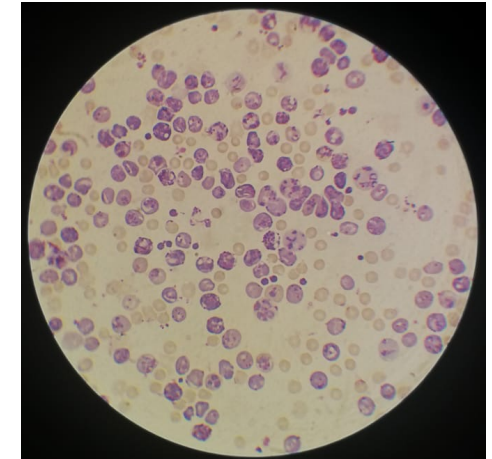
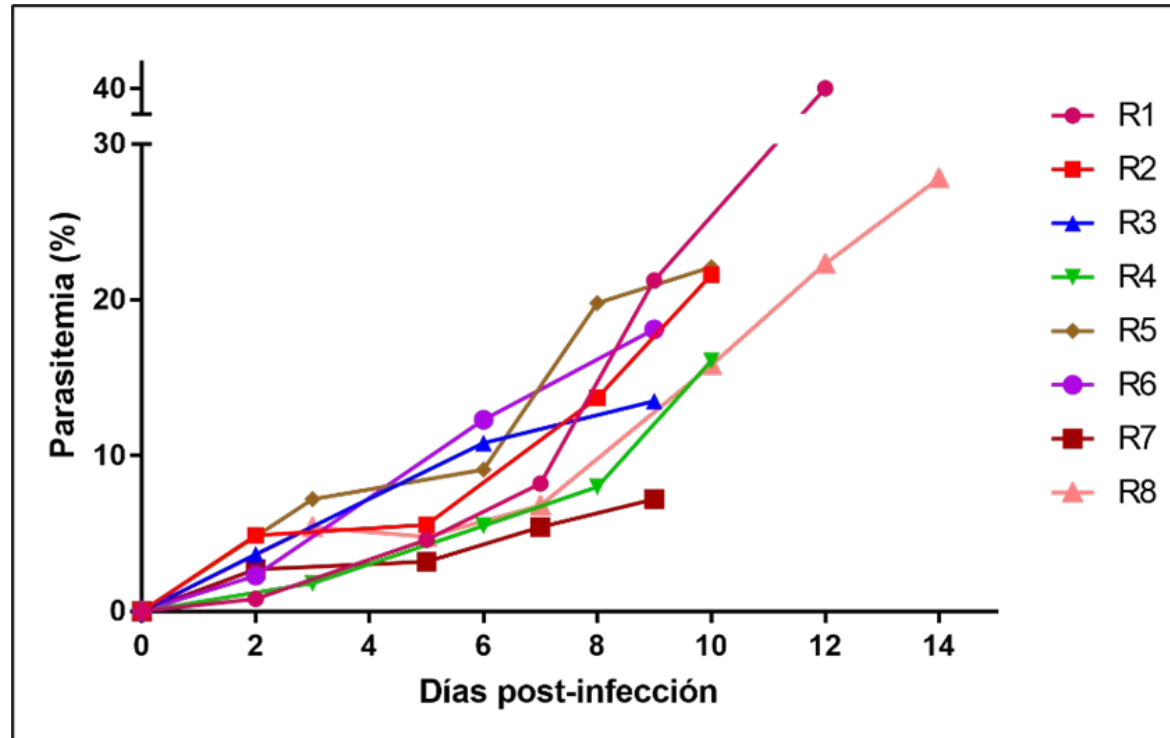
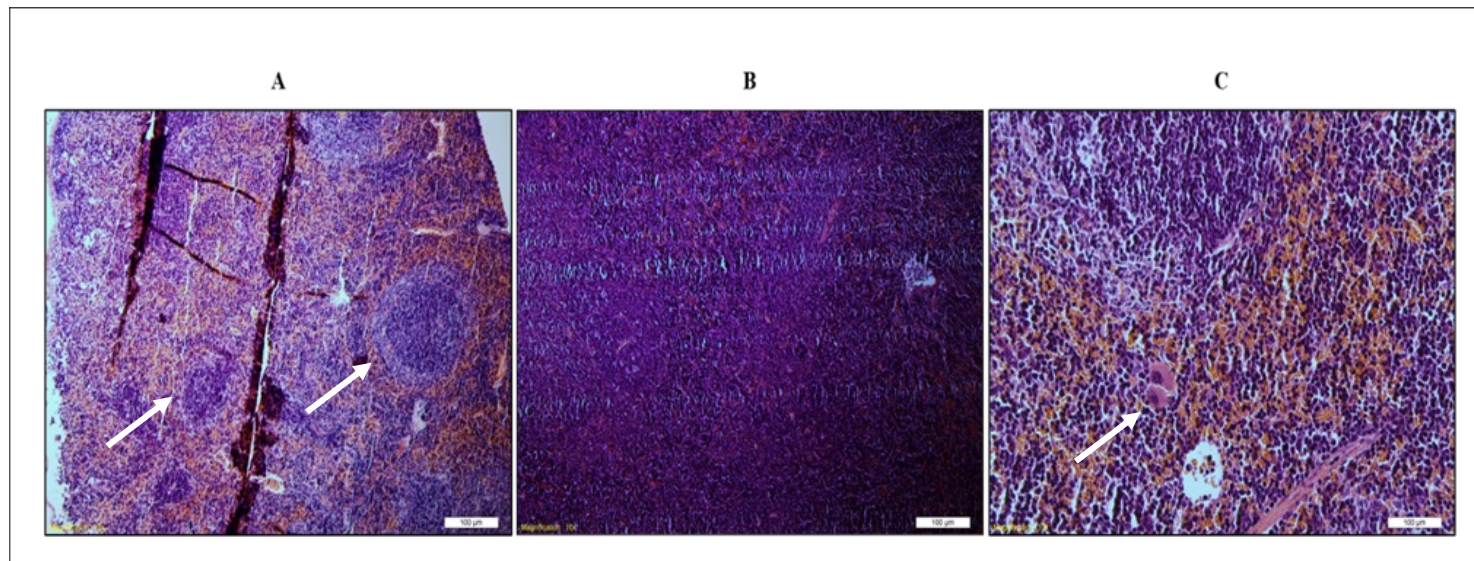


Imagen de microscopía al realizar las parasitemias

El curso de la infección con *P. yoelii* 17XNL fue óptimo y valida la eficiencia del biomodelo murino empleado.



A. Bazo de ratón sano. B. Bazo de ratón con parasitemia 20%. C. Eritroblasto con formas parasitarias intracelulares.

Daño relacionado a infiltración masiva de células del sistema inmune.

Cambios propios de la coalescencia entre pulpa roja y blanca en infección por *Py17XNL*



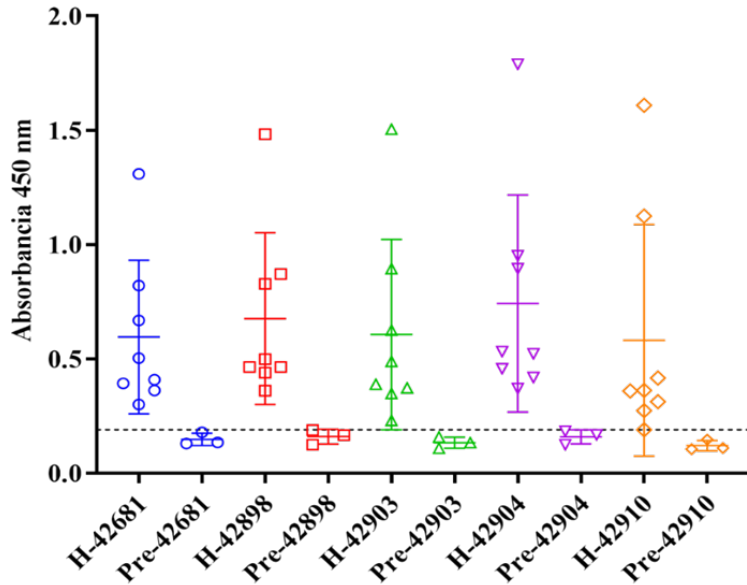
Anillos a partir de 2 hrs - hasta 8 hrs.

Trofozoítos desde 12 hrs - hasta 14 hrs

Esquizontes desde 16 hrs - hasta 20 hrs

Duración de ciclo completo 18 horas aprox.

Establecimiento de patrón para mantenimiento *in vitro* del parásito (Ensayos con formas específicas)



Reactividad antigénica por péptido

Antigenicidad relacionada a parasitemias en el momento de sangría, ratón 1 con mayor reactividad

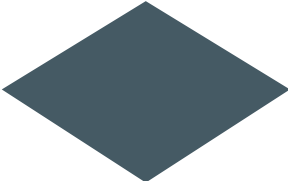

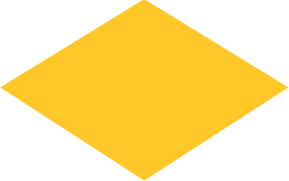
Reactividad antigénica por ratón

42681	1.31	0.50	0.39	0.36	0.67	0.41	0.30	0.82	0.13	0.18	0.13
42898	1.48	0.50	0.46	0.46	0.83	0.44	0.36	0.87	0.17	0.19	0.12
42903	1.50	0.39	0.37	0.62	0.49	0.35	0.23	0.89	0.11	0.13	0.16
42904	1.79	0.53	0.52	0.37	0.89	0.46	0.42	0.95	0.18	0.17	0.12
42910	1.61	0.42	0.41	0.31	0.36	0.27	0.19	1.12	0.11	0.11	0.15
Lisado <i>P. yoelii</i>	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	0.04	0.04	0.04
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	C1	C2	C3

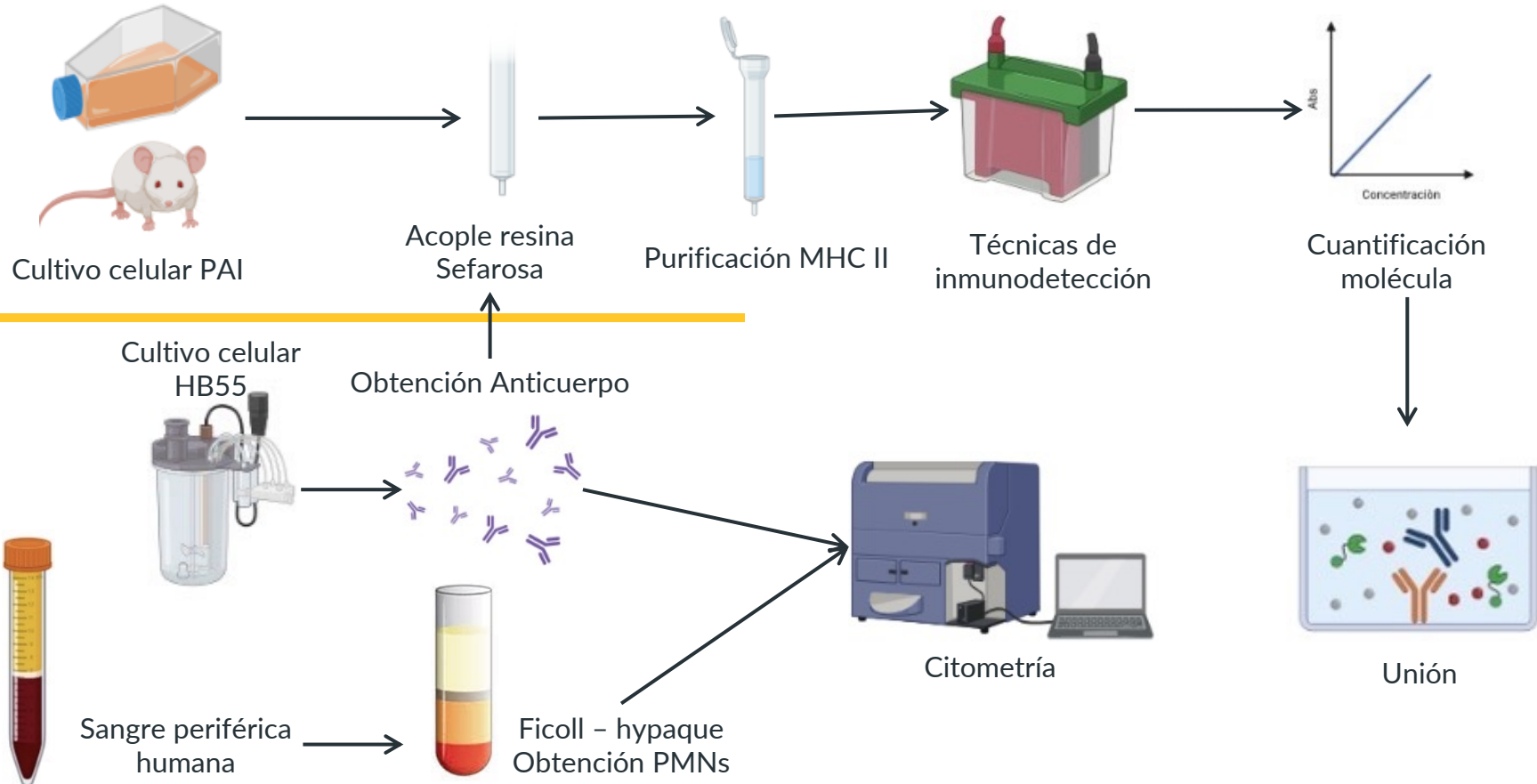
R= Ratón
C= Control

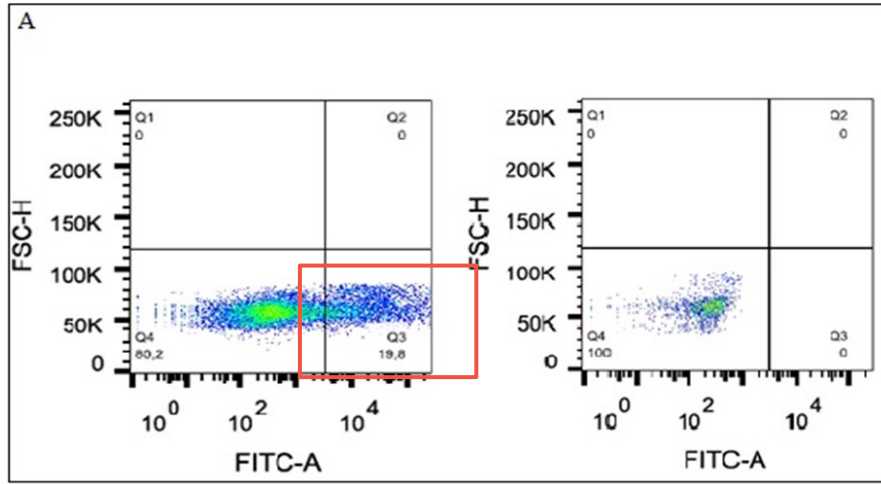
Péptidos 42904 y 42898 con mayor reconocimiento en el ensayo ELISA leído a 450 nm

ESPECÍFICOS

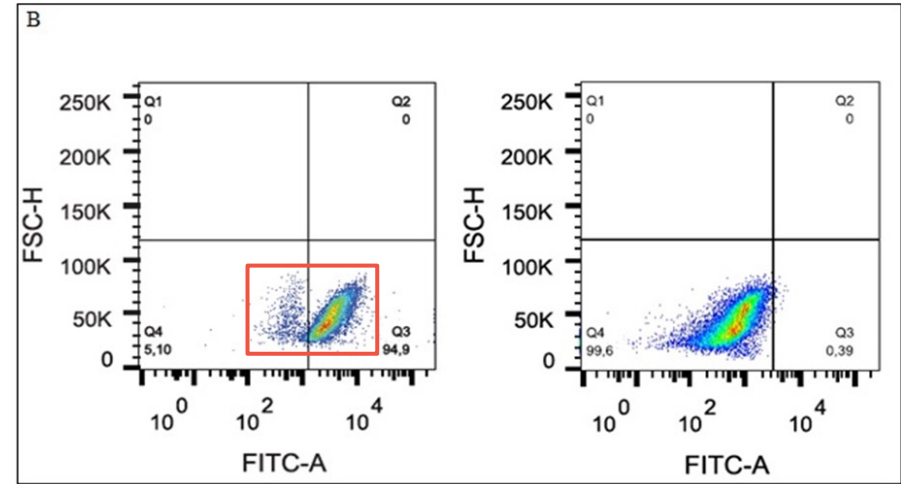
-  1. Determinar la antigenicidad de péptidos derivados de regiones conservadas de la proteína AMA-1 de *P. yoelii*
-  2. Seleccionar péptidos derivados de regiones conservadas de la proteína AMA-1 de *P. yoelii* dependientes de su unión a molécula H2-IE^d
-  3. Diseñar y seleccionar *in silico* péptidos quiméricos con capacidad de unión a H2-IE^d

OBTENCIÓN MOLÉCULA Y ANTICUERPO - UNIÓN



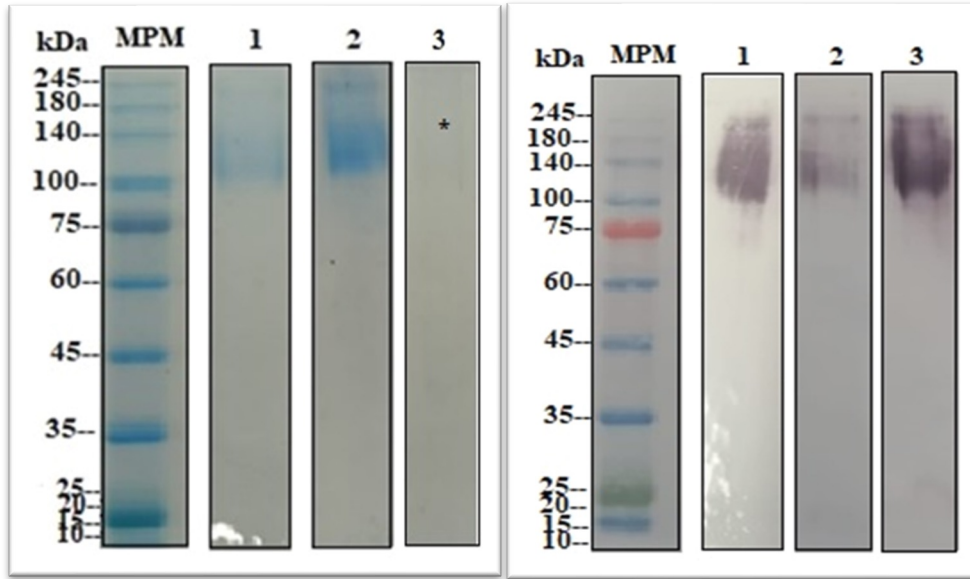


A. Reconocimiento de células humanas presentadoras de Ag por Anti-DR. (19.8%)



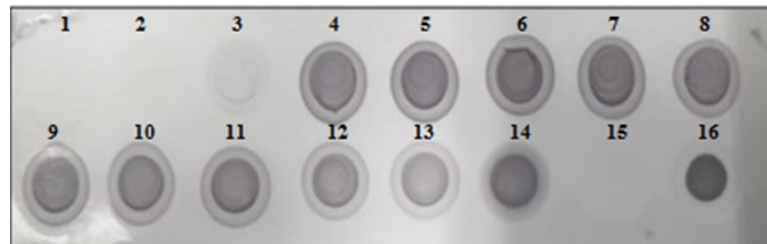
B. Reconocimiento de células PAI con expresión MHC por Anti-DR. (94.9%)

Se evidencia identidad del Anti - DR obtenido y su reconocimiento en sistema murino promoviendo su utilidad en investigación.



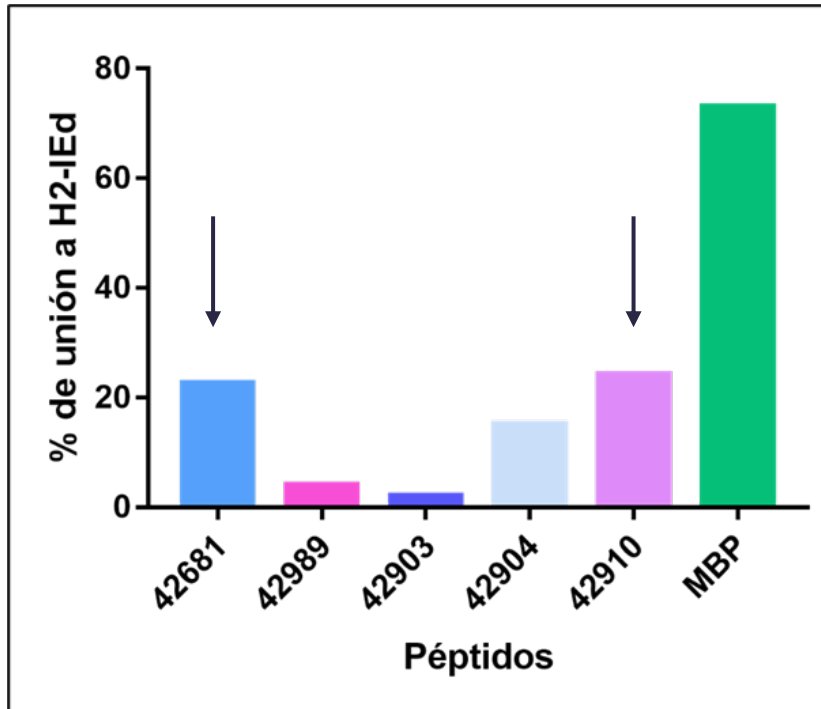
A. Western blot y B. Tinción de Coomassie de cada purificación realizada en columna de sefarosa.

Reconocimiento de la molécula por Anti-DR específico y peso 180kDa.



Dot Blot de fracciones recolectadas en proceso de purificación

Se purificó un total de 1.164 mg de molécula CMH II en 3 purificaciones.



42910 y 42681 péptidos con mayor unión a CMH.

Unión en péptidos quiméricos dependerá del epítipo T artificial.

Se espera aumento de unión al evaluar los constructos

ESPECÍFICOS

- 1. Determinar la antigenicidad de péptidos derivados de regiones conservadas de la proteína AMA-1 de *P. yoelii*
- 2. Seleccionar péptidos derivados de regiones conservadas de la proteína AMA-1 de *P. yoelii* dependientes de su unión a molécula H2-IE^d
- 3. Diseñar y seleccionar *in silico* péptidos quiméricos con capacidad de unión a H2-IE^d

PÉPTIDOS QUIMÉRICOS



Robusto análisis
bioinformático



Articulación epítipo B

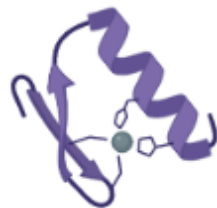


Previa evaluación
de características

- Antigenicidad
- Unión a CMH.



Elección quiméricos con
criterios de interés



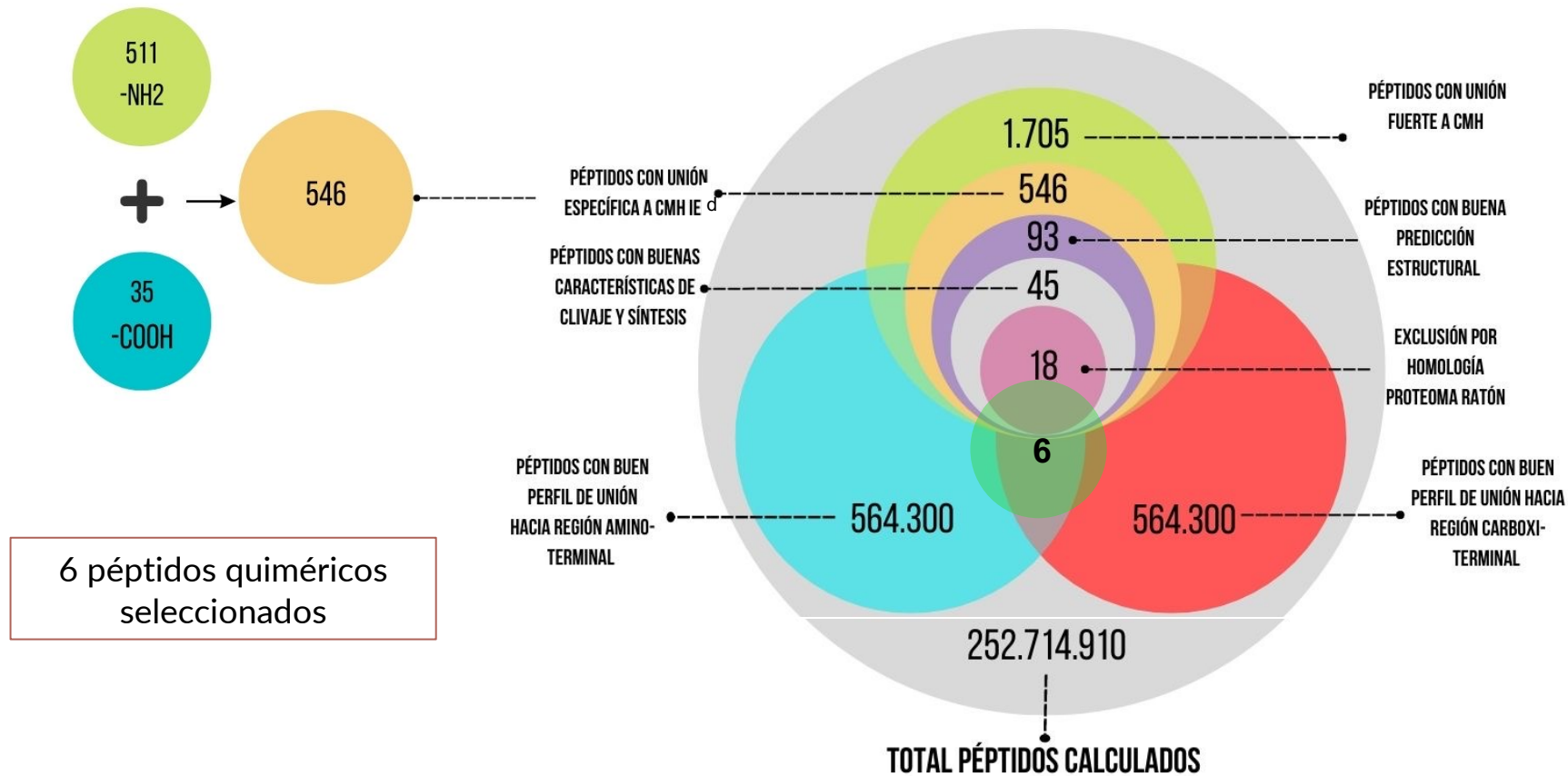
Diseño estructura
bidimensional constructos
finales (6).



Dimerización péptidos



PÉPTIDOS QUIMÉRICOS ANÁLISIS *IN VITRO*



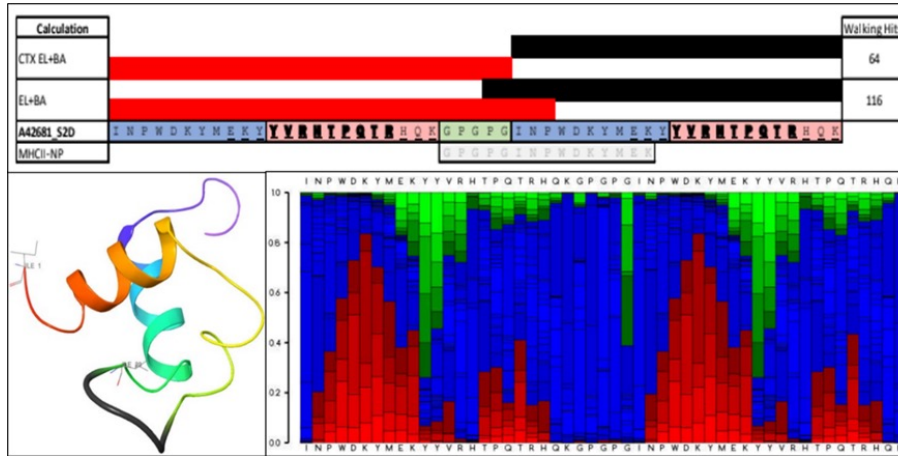
Péptido	Secuencia	Hidrólisis NP+NN	Estructura secundaria	Helix %	Sheet %	Coil %	IE-Rank NORIEd	BA-Rank NORIEd	IE-Rank CTXIEd	BA-Rank CTXIEd
42681_n53641	INPWDKYMEKYWHMKGTRRKPPS	NO	CCCCCCHCHHECCCCCCCCCCC	13,04	8,70	78,26	0,37	0,89	0,25	0,74
42681_n80D45	INPWDKYMEKYYVRHTPQTRHQB	NO	CCCCCCHCHEEECCCCCCCCCCC	8,70	17,39	73,91	0,25	0,44	0,08	0,29
42903_n303D4	YSSNDANNENQFYIAKKPESNRN	NO	CCCCHHHHCHHHHCCCCCCCCCCC	34,78	0,00	65,22	0,49	2,39	0,49	0,21
42903_n76653	YSSNDANNENQYKFHKIPAKDKH	NO	CCCCHHHHCHHHHECCCCCCCCCCC	34,78	4,35	60,87	0,02	0,33	0,39	0,22
42904_c34385	NPNYIMNHPNKRTPEKIENYKDL	NO	CCCECCCCCCCCCHHHHHHCCC	26,09	8,70	65,22	0,71	2,06	0,26	0,93
42904_n722A7	TPEKIENYKDLFRNKTPNRRRSW	NO	CCCCHHHHHHHHCCCCCCCCCCC	34,78	0,00	65,22	0,45	0,36	0,36	0,57

Características de los 6 constructos seleccionados a partir de 45 péptidos pre-seleccionados.
Porcentajes de subestructuras – Rangos de elución de peptidoma y afinidad de unión.

Porcentajes altos de Coil resultan favorables al sugerir un acople más estable con CMH.



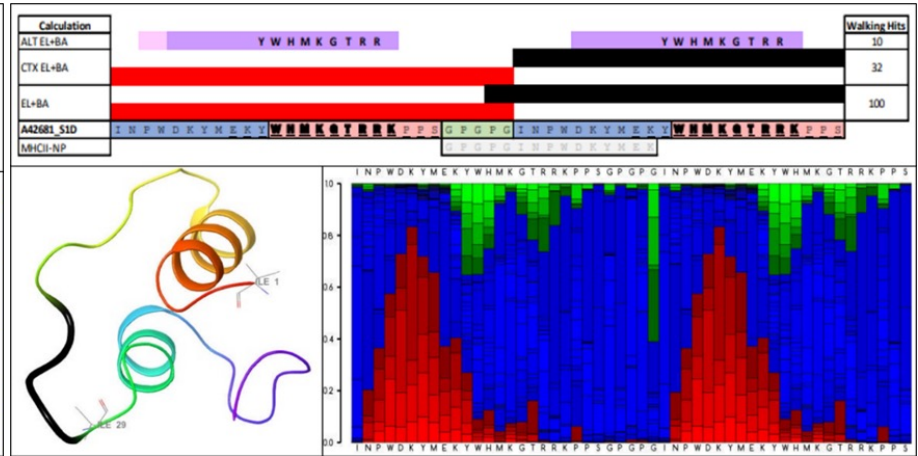
Rangos de elución y de unión correspondientes a su proceso de síntesis.



A42681_S1D

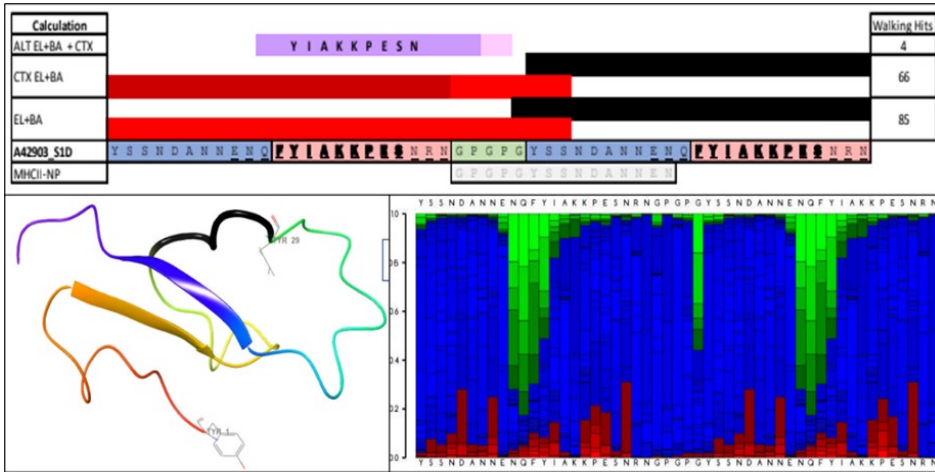
Porcentaje correspondiente a hélice mayor al ideal

Sugiere dificultad en el reconocimiento

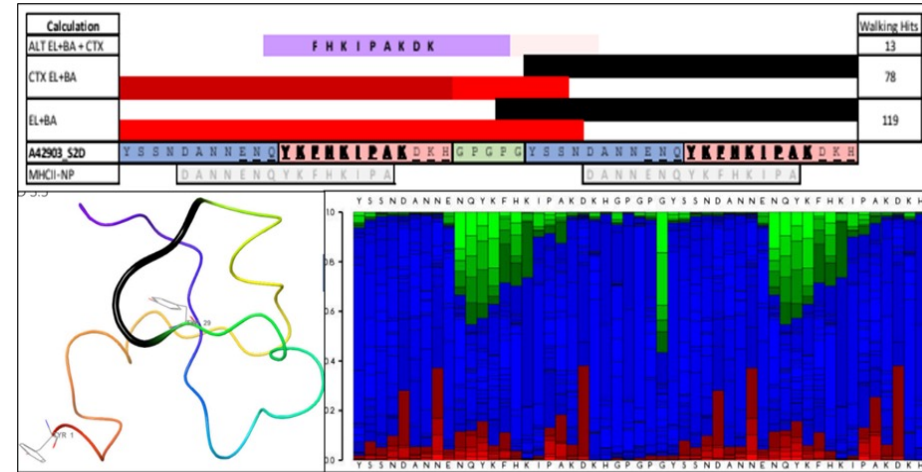


A42681_S2D

Porcentaje alto de coil infiere un reconocimiento más estable con molécula CMH.



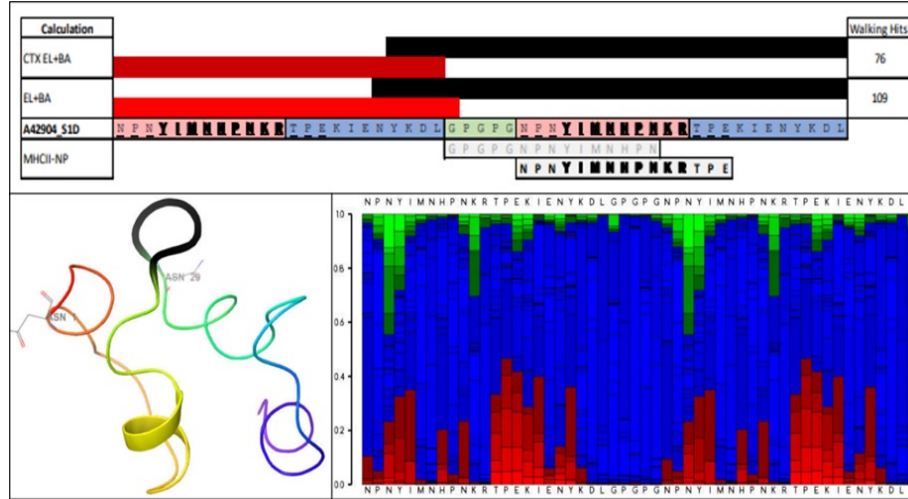
A42903_S1D



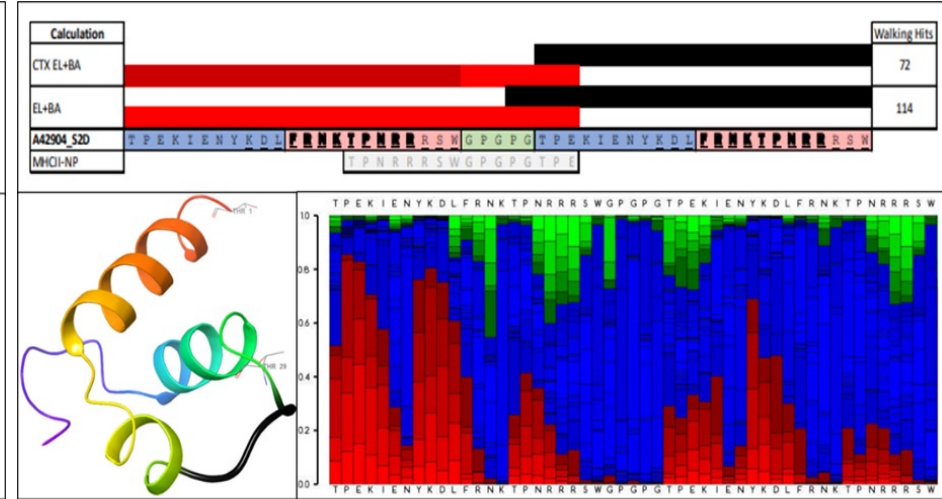
A42903_S2D

Subestructura predominante de coil, sugiere linealidad en la conformación del péptido con presencia de poliprolinas

Sugiere reconocimiento estable



A42904_S1D



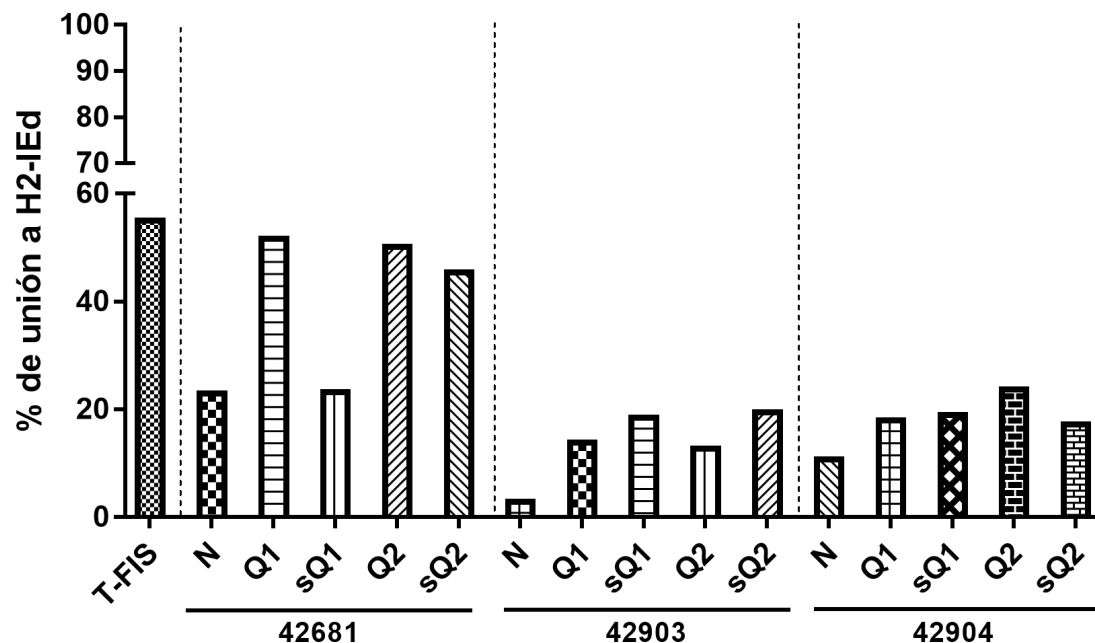
A42904_S2D

Porcentaje menor correspondiente a hélice

Presencia de giros aleatorios según la posición de los residuos.

Porcentaje alto de hélice interfiere el reconocimiento con molécula CMH.

Perfil de unión de péptidos quiméricos a moléculas H2-IE^d



- Péptido con mejor perfil de unión 42681
- Incremento 55,76% comparado a nativo.

CONCLUSIONES

- La antigenicidad presentada por cada péptido al estar en contacto con el suero de cada ratón es directamente proporcional a la parasitemia presentada por el individuo en el momento del sacrificio.
- La unión presentada de los péptidos al H2-IE^d demuestra la necesidad de realizar modificaciones adicionales para mejorar su perfil de unión.
- Se obtuvieron 6 constructos que garantizan la metodología implementada para el desarrollo de péptidos quiméricos.
- Estos resultados están incluidos en un artículo próximo a publicación en la revista Frontiers.

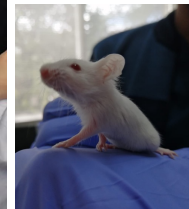
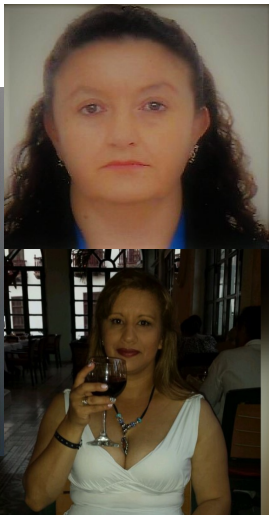


RECOMENDACIONES

- Continuar con la síntesis de los péptidos quiméricos optimizados, realizar pruebas de seguridad para su uso *in vivo* y evaluar la respuesta inmune generada tras la inmunización en modelo murino.
- Realizar diseños adicionales *in silico* de péptidos derivados de regiones conservadas de diferentes proteínas presentes en otras especies de *Plasmodium* spp., con la metodología implementada en este proyecto para poder generar mayor número de candidatos a vacuna que puedan ser evaluados.



¡GRACIAS!



SUPLEMENTARIAS

COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD

Suplementarias

CMH HUMANO



Localizado en el brazo corto del cromosoma 6

Sistema HLA

Región clase I
HLA A, B, C.

Ubicación:
Mayoría de células nucleadas.

Región clase II
HLA DP, DR, DQ.

Ubicación:
Macrófagos, células dendríticas, células B.

CMH MURINO



Localizado en el cromosoma 17

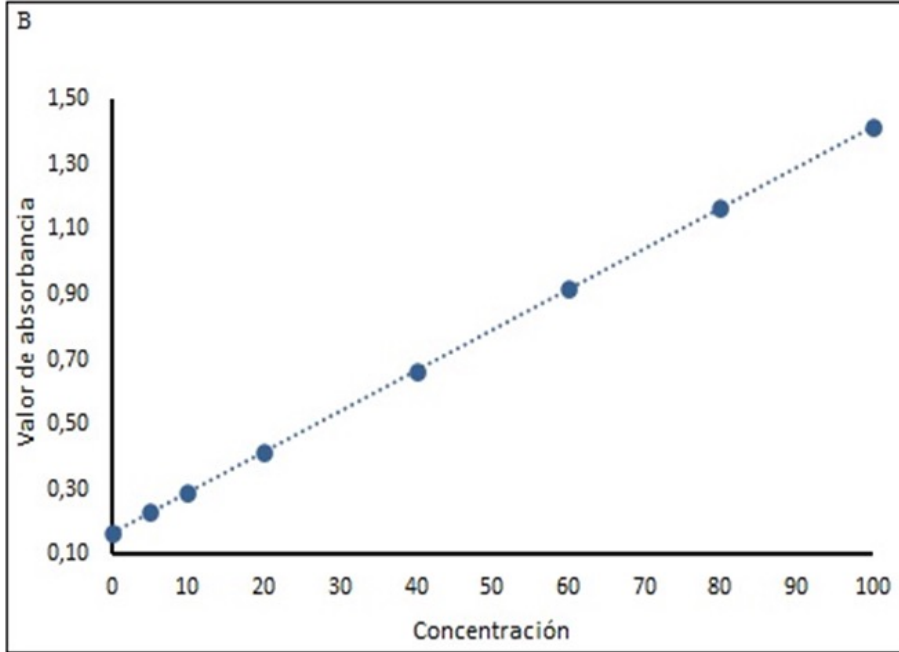
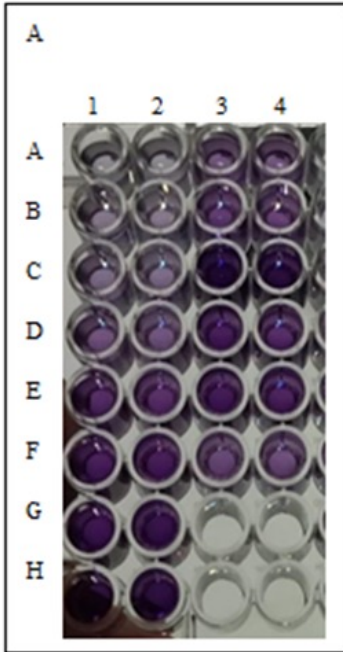
Sistema H-2

Región clase I
H2- K, D, L.

Ubicación:
Presentes en la mayoría de células.

Región clase II
H2-IE, IA.

Ubicación:
Células presentadoras de antígeno profesional.
Linfocitos B.



A. Columnas 1 -2 patrón para curva de cuantificación 3-4 muestras con réplica.

B. Curva de cuantificación

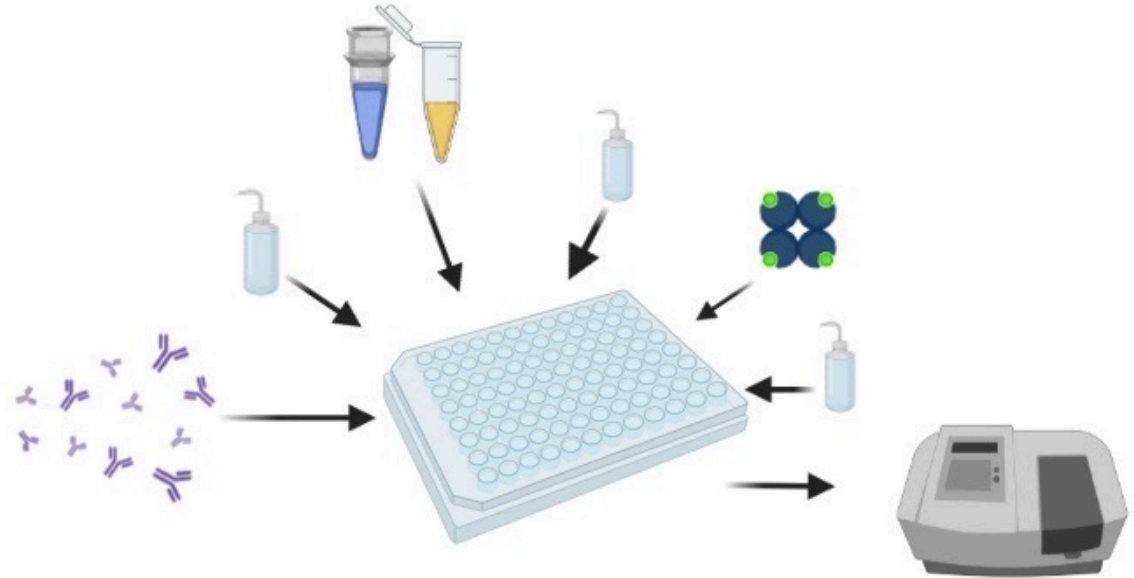
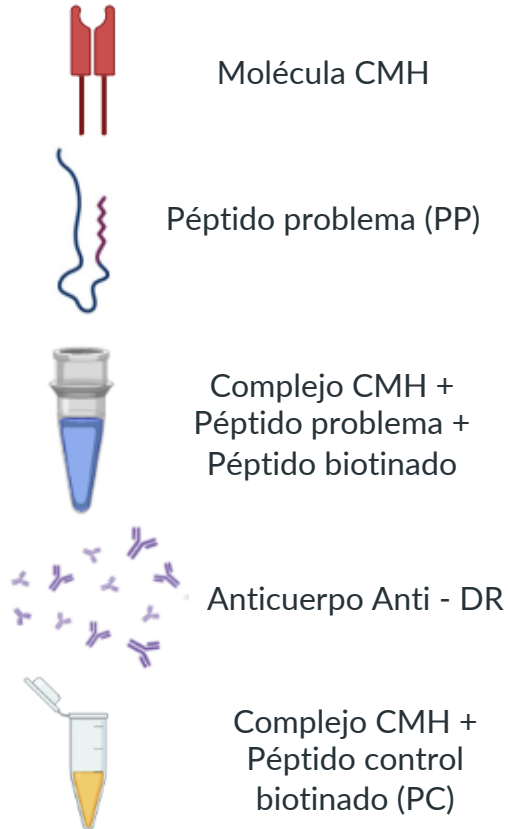
Curva aceptable

Validez del ensayo

Regresión lineal

Se purificó un total de 1.164 mg de molécula CMH

EVALUACIÓN DE CAPACIDAD DE UNIÓN



RTS, S/AS01

Fase pre-eritrocítica
Fragmento *Pf*CSP

Eficacia limitada y
variación significativa
entre individuos.

R21

Proteína CSP –
Antígenos de virus
Hepatitis B

Inmunogenicidad en
modelo murino

FMP2.1/AS02

Dirigida a
merozoito -

No presenta
porcentajes relevantes
de eficacia

¿HAY VACUNAS PARA MALARIA?

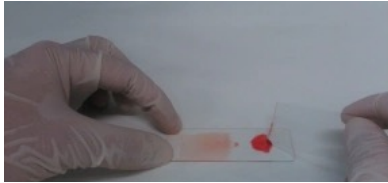
ENFOQUE
INVESTIGATIVO



Proteínas sintéticas con
epitopes B y T.

Sugieren mayor
inmunogenicidad y
diversidad alélica

TINCIÓN GIEMSA



1. Realizar extendido de sangre y distribución de la gota gruesa. Fijar.

2. Distribuir Giemsa 3% en toda la lámina apoyada en cristalizador. 30 a 45 minutos.



3. Lavar con agua destilada. Observar al microscopio.



TINCIÓN FIELD

GOTA GRUESA

1. Fijar lámina y deshemoglobinizar con azul de metileno.
2. Inmersión colorante A - B de Field. 10 min.
3. Lavado agua a pH 7.2

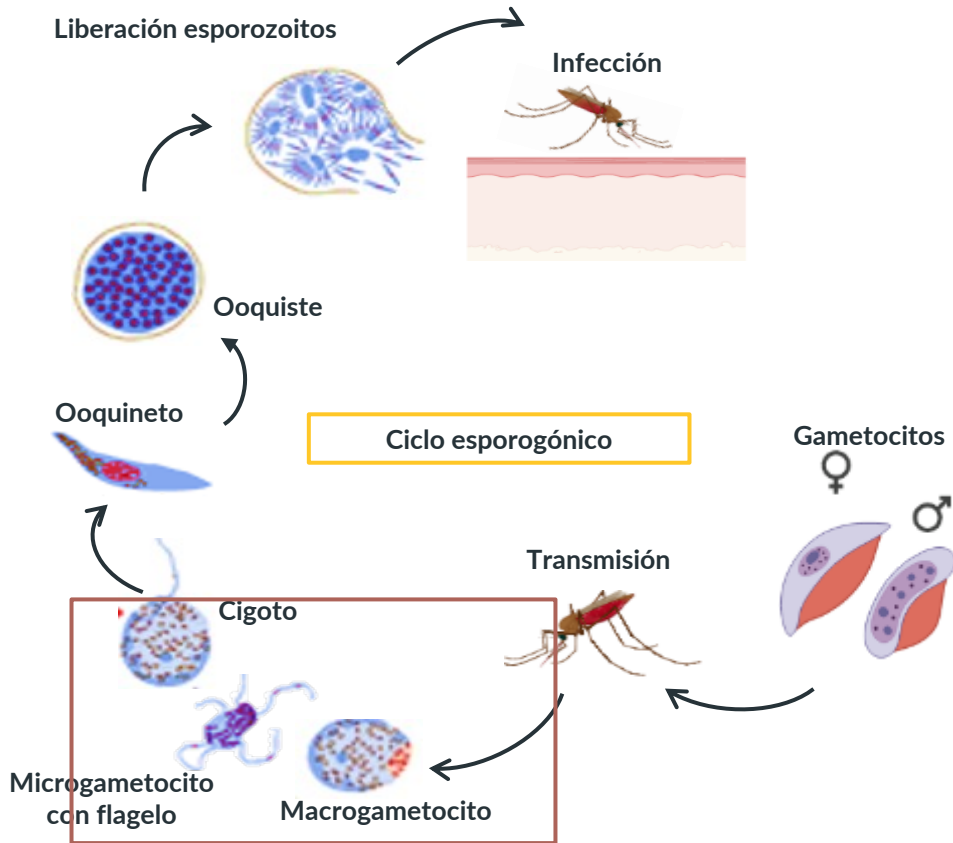


FROTIS SANGRE PERIFÉRICA

1. Fijar con metanol.
2. Inmersión colorante A y B de Field. 1 - 3 minutos.
3. Lavado agua a pH 7.2



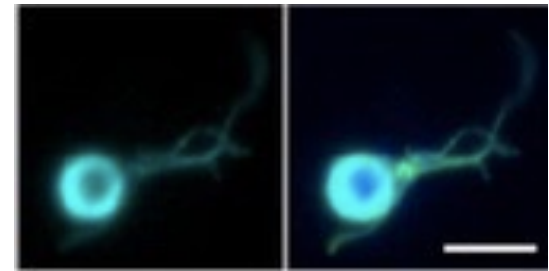
EXFLAGELACIÓN MICROGAMETOCITO



Producción 6 - 8 gametos móviles a partir de microgametocito macho.



Ciclo de división del microgametocito



DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA MALARIA

PCR ANIDADA

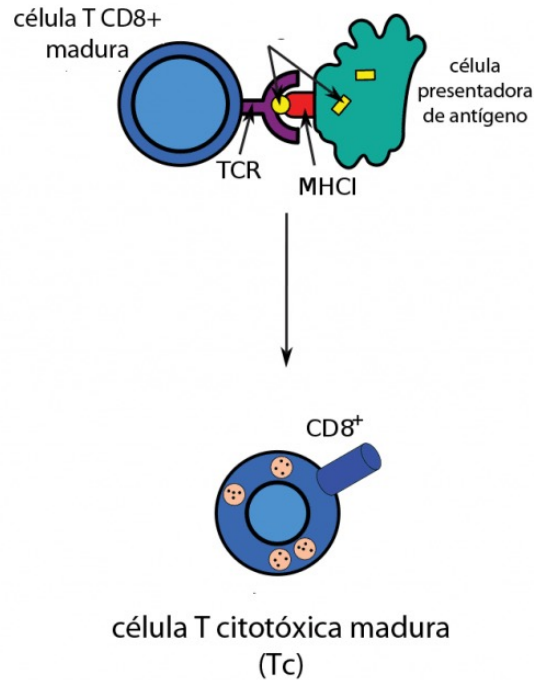
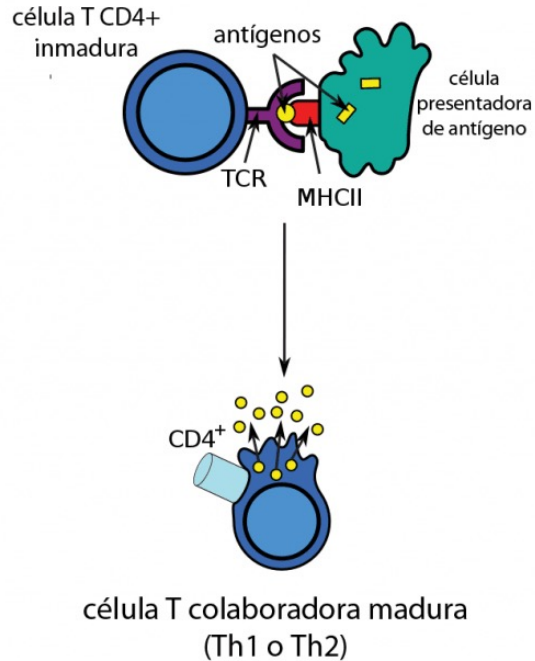
- Modificación a la PCR tradicional.
- Uso de dos pares de cebadores (dos procesos de PCR).
- Reducción de inespecificidades.

PCR MÚLTIPLEX

- Uso de dos o más juegos de cebadores para la detección simultánea de más de una especie de *Plasmodium spp.*



PRESENTACIÓN ANTIGÉNICA



PRESENTACIÓN A LINFOCITOS T A PARTIR DE FAGOLISOSOMA.

Dimerización

Evita que el péptido sea reconocido por vía pinocítica.

Diseño y optimización de péptidos quiméricos

Suplementarias

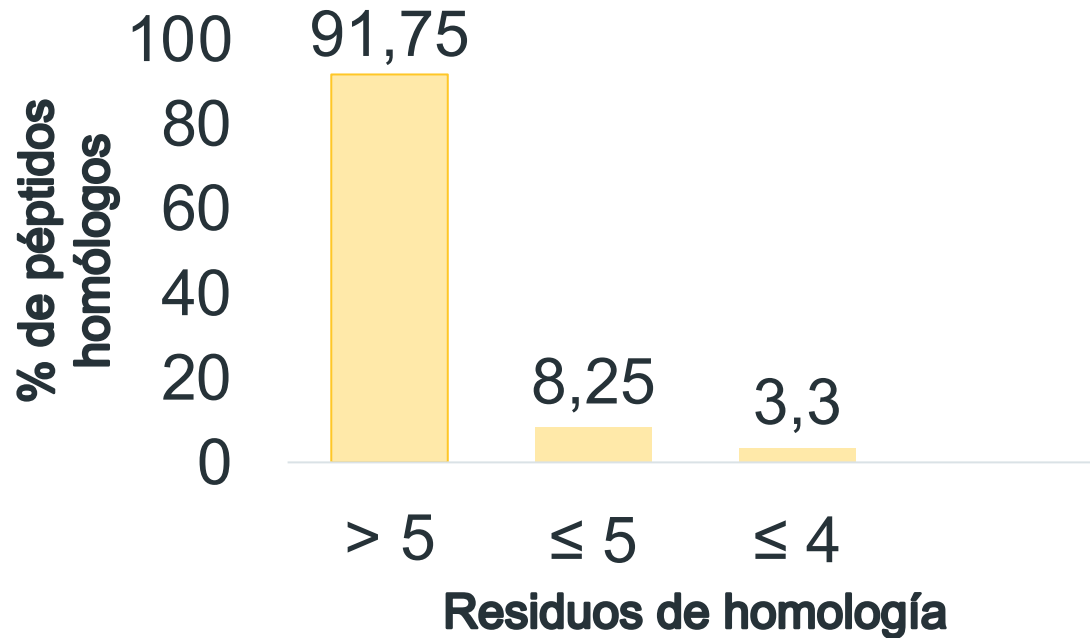
Peptide	Sequence	Cleavage NP+NN	Synthesis / Purificati	SRM/MRM Compatibilit y	Hydrophobicity	GRAVY (-2 (Hydrophilic) to +2)	Mw average	Mw monoisotopic	Theoretical pl	Secondary Structure	Helix %	Sheet %	Coil %
42681_c2F83F	KPKWVIRSHKQINPWDKYMELY	NO	B	3	37,56	-1,32	#####	2972,58	10,30	CCCCCEHEHHCDCDCDCDCDCDCDC	17,39	17,39	65,22
42681_c34385	NPNYIMNHPNKRINPWDKYMELY	NO	B	3	35,52	-1,77	#####	2964,42	9,80	CCCECCDCDCDCDCDCDCDCDCDCDC	4,35	8,70	86,96
42681_c37554	KPKFVYNRANPQINPWDKYMELY	NO	B	3	35,99	-1,54	2930,41	2928,47	10,00	CCCCCECCDCDCDCDCDCDCDCDCDC	4,35	8,70	86,96
42681_c77462	DNGYRYQHNRHNRINPWDKYMELY	NO	A	3	28,21	-2,29	#####	3063,39	9,30	CCCCCEEEHHCDCDCDCDCDCDCDC	8,70	21,74	69,57
42681_c83F07	DKSYRVNKSNAHNPWDKYMELY	NO	A	3	29,38	-1,73	#####	2885,39	9,70	CCCEHECCCHCCECCDCDCDCDCDC	17,39	13,04	69,57
42681_n007B3	INPWDKYMELYFQVKDKHKRHR	NO	A	3	28,51	-2,09	#####	3073,62	10,40	CCCCCCHHHHHEHHHHHHCCDC	#####	4,35	47,83
42681_n00CB6	INPWDKYMELYFYAKDNPKVHL	NO	B	3	38,77	-1,30	#####	2954,49	9,70	CCCCCCHHHHEHHHHHHCCDC	17,39	8,70	73,91
42681_n01112	INPWDKYMELYFDIRRTSKDRDQ	NO	B	3	34,64	-1,90	#####	3044,54	10,20	CCCCCCHHHHEEEHHCCECCDC	#####	21,74	52,17
42681_n01860	INPWDKYMELYFKFSHSPKPKKL	NO	B	3	36,96	-1,48	2971,55	2969,57	10,50	CCCCCCHHHHHHCDCDCDCDCDC	#####	0,00	73,91
42681_n04193	INPWDKYMELYFYWQHKHSAPP	NO	B	3	37,16	-1,58	#####	2992,45	9,70	CCCCCCHHHHEEHHCDCDCDCDC	#####	13,04	56,52
42681_n044EE	INPWDKYMELYMYKHAFKPED	NO	B	3	36,61	-1,59	#####	3023,44	9,20	CCCCCCHHEHEHECCDCDCDCDC	17,39	17,39	65,22
42681_n04B4D	INPWDKYMELYTVNKEKLRPNH	NO	B	3	34,26	-1,68	#####	2965,49	9,70	CCCCCCHHECEEEHHCDCDCDCDC	13,04	21,74	65,22
42681_n053A8	INPWDKYMELYKYKNSLGNDA	NO	A	3	32,58	-1,63	#####	2867,40	9,60	CCCCCCHHHHEEEHHCDCDCDCDC	21,74	21,74	56,52
42681_n06AC6	INPWDKYMELYFWIKRNWKNRKL	NO	B	3	41,68	-1,87	3172,78	3170,68	10,70	CCCCCCHHHHEEEHHCDCDCDCDC	39,13	17,39	43,48
42681_n07ECC	INPWDKYMELYKQKKNEMRTPS	NO	A	3	29,42	-2,01	#####	2976,46	10,00	CCCCCCHHHHEHHHHHHCCDC	#####	8,70	56,52
42681_n089A5	INPWDKYMELYWKIVKKRSEHI	NO	B	3	37,92	-1,40	#####	3018,63	10,20	CCCCCCHHHHHHHHHHHCCDC	52,17	0,00	47,83
42681_n089BC	INPWDKYMELYYYLPRNKKKPS	NO	B	3	36,72	-1,77	#####	3023,54	10,00	CCCCCCHHEHEEECCDCDCDCDCDC	13,04	17,39	69,57
42681_n089D6	INPWDKYMELYNIKHTQERARF	NO	B	3	37,48	-1,59	3031,47	3029,50	9,80	CCCCCCHHHHHHEEEHHCDCDCDC	#####	17,39	47,83
42681_n08C16	INPWDKYMELYFINKESAERAKM	NO	B	3	37,79	-1,48	#####	2975,48	9,80	CCCCCCHHHHEHHHHHHCCDC	52,17	4,35	43,48
42681_n090C5	INPWDKYMELYFNYHKQNERHWR	NO	B	3	37,34	-2,16	3183,59	3181,51	9,80	CCCCCCHHHHEHHHHHHCCDC	#####	13,04	43,48
42681_n09B4B	INPWDKYMELYFRMARNISRAKM	YES	B	3	39,26	-1,04	#####	2947,48	10,60	CCCCCCHHHHEHHHHHHCCDC	#####	4,35	47,83
42681_n0A581	INPWDKYMELYWKSOKPHRRNKQ	NO	A	3	27,65	-2,38	3048,51	3046,53	10,30	CCCCCCHHEHCDCDCDCDCDCDC	17,39	4,35	78,26
42681_n0A6BB	INPWDKYMELYRYDYSHHKNTNTR	NO	A	3	30,71	-2,12	3108,47	3106,45	9,60	CCCCCCHHCHEEEEECCDCDCDCDC	13,04	26,09	60,87
42681_n0A87E	INPWDKYMELYRVNHNQNNKYKG	NO	A	3	30,15	-1,97	#####	2987,45	9,90	CCCCCCHHCHEEECCDCDCDCDCDC	21,74	17,39	60,87
42681_n0BF46	INPWDKYMELYIRRFSKNKRKED	NO	A	3	31,90	-2,01	#####	3043,58	10,30	CCCCCCHHHHEHHHHHHCCDC	#####	4,35	47,83
42681_n0C7F6	INPWDKYMELYRVNNSNQRRHY	YES	A	3	26,07	-2,37	#####	3088,45	10,00	CCCCCCHHHHEEECCDCDCDCDCDC	#####	17,39	56,52
42681_n0D0EA	INPWDKYMELYFTFHKKAGGKQK	NO	A	3	33,98	-1,59	2916,42	2914,50	10,20	CCCCCCHHEEEHHCDCDCDCDCDC	#####	17,39	56,52
42681_n0D436	INPWDKYMELYWRYKATEHRGDN	NO	A	3	32,72	-1,96	3001,36	2999,41	9,40	CCCCCCHHHHEEHHCDCDCDCDCDC	#####	8,70	56,52
42681_n0DB33	INPWDKYMELYWRSKKNLQKALK	NO	B	3	37,25	-1,58	#####	2966,60	10,50	CCCCCCHHHHHCHHHHHHCDC	#####	0,00	43,48
42681_n0DB43	INPWDKYMELYKFEHPYKRFYE	NO	B	3	37,49	-1,90	3125,58	3123,50	9,20	CCCCCCHHCCEEECCDCDCDCDCDC	8,70	13,04	78,26
42681_n0DCF5	INPWDKYMELYWDIKLTHREPR	NO	B	3	40,27	-1,72	#####	3073,57	9,90	CCCCCCHCHCHCHHHHCDCDCDCDC	#####	0,00	69,57
42681_n0DDF9	INPWDKYMELYWARHITEKRKDS	NO	A	3	32,88	-1,74	#####	2993,50	9,80	CCCCCCHHHHHHECHHHHCDCDC	39,13	4,35	56,52
42681_n0E271	INPWDKYMELYFRLQNTRYRQFN	YES	B	3	40,56	-1,61	3111,57	3109,53	10,20	CCCCCCHHHHHHCHEHHCDCDCDC	#####	8,70	47,83
42681_n0E436	INPWDKYMELYWRFKHMEERKWP	NO	B	3	39,64	-2,09	3181,66	3179,56	9,80	CCCCCCHHHHHHEHHHCDCDCDC	39,13	4,35	56,52

Diseño y optimización de péptidos quiméricos

Peptide	Sequence	Classificac ión NP-III	Synthesis Purificac ión	SRM/MRM Compati bilit	Hydropho bicity	cryst -z Hydropho bicity	Mw average	Mw monois otopic	Theoret ical pI	Secondary Structure	Helix %	Sheet %	Coil %	Homoio gía pBlast Ratón	Homoio gía pBlast Ratón	IE-Rank NORIE	BA- Rank NORIE	IE-Rank CTXIed	BA- Rank CTXIed
42681_n1B1B	INPWDKYMEKYYFSKHDAQRQR	NO	A	3	32,25	-1,87	3019,42	3017,47	10,10	CCCCCCHCHHEECCCHHHCHCCC	30,43	8,70	60,87			0,57	1,73	0,26	0,81
42681_n122AD	INPWDKYMEKYFNSKVVHRRNER	NO	A	3	30,29	-1,80	2979,36	2977,44	9,90	CCCCCCHHHEECCCHHHCECCCC	26,09	8,70	65,22			0,58	0,95	0,25	0,68
42681_n45065	INPWDKYMEKYFRPQRNKNKYA	NO	A	3	32,38	-1,86	3047,52	3045,54	10,20	CCCCCCHHHEECCCHHHHHHCC	30,43	0,00	69,57			0,93	0,84	0,77	1,16
42681_n4E10C	INPWDKYMEKYVTOHKTMRFRQP	NO	A	3	32,32	-2,11	3111,59	3109,51	10,20	CCCCCCHCEHEECCCHHHCCCC	17,39	21,74	60,87			0,92	2,25	0,54	2,32
42681_n53641	INPWDKYMEKYVHMKGTRRKPQS	NO	A	3	33,38	-1,79	2949,48	2947,47	10,40	CCCCCCHCHHEECCCHCCCCCC	13,04	8,70	78,26			0,37	0,89	0,25	0,74
42681_n5D620	INPWDKYMEKYVPHPTFRKGHNT	NO	A	3	32,31	-1,61	2889,32	2887,42	9,80	CCCCCCHHHEECCCHCCCCCCC	8,70	8,70	82,61			0,68	4,85	0,08	1,30
42681_n5E409	INPWDKYMEKYVHFPEYIKDKH	NO	B	3	37,69	-1,67	3082,52	3080,46	7,80	CCCCCCHCEEECCCHCHCCCC	13,04	13,04	73,91						
42681_n6119A	INPWDKYMEKYVPHPTTKKTEN	NO	A	3	26,23	-2,09	2948,38	2946,45	9,70	CCCCCCHHCCCHCCCHCCCCCC	8,70	0,00	91,30			0,13	3,80	0,11	3,40
42681_n6456A	INPWDKYMEKYVYENPGRRKGE	NO	A	3	32,27	-1,79	2936,33	2934,41	9,30	CCCCCCHCHHEECCCHCCCCCC	13,04	13,04	73,91			0,88	4,05	0,62	2,93
42681_n666D7	INPWDKYMEKYVIMTGEKRRKQ	NO	A	3	32,76	-1,73	2964,49	2962,48	10,00	CCCCCCHHHEECCCHCCCCCC	17,39	17,39	65,22						
42681_n69A74	INPWDKYMEKYVAKRNGGDTQ	NO	A	3	33,37	-1,60	2925,30	2923,40	9,30	CCCCCCHHCEEEHEHCCCCCC	17,39	17,39	65,22			0,98	1,87	0,01	0,87
42681_n72EA2	INPWDKYMEKYVRRPHTNRFRFG	NO	A	3	31,83	-2,19	3030,45	3028,50	10,40	CCCCCCHHCCCHCCCHCCCCCC	8,70	0,00	91,30			0,64	2,84	0,23	1,38
42681_n74291	INPWDKYMEKYVFRPNRKNQHDR	NO	A	3	30,63	-2,22	3071,50	3069,50	10,00	CCCCCCHHCCCHCCCHCCCCCC	13,04	4,35	82,61			0,38	2,54	0,04	0,93
42681_n746E2	INPWDKYMEKYVRYKDPHSQYKR	NO	A	3	32,53	-2,19	3109,55	3107,51	9,80	CCCCCCHHCHHEECCCHCCCCCC	13,04	13,04	73,91			0,50	4,92	0,04	1,07
42681_n77462	INPWDKYMEKYVYQHMHRDVK	NO	A	3	29,40	-2,34	3185,56	3183,49	9,60	CCCCCCHHCHHEEHEECCCCCC	21,74	17,39	60,87						
42681_n7CEFB	INPWDKYMEKYVIMKGEQKRKRG	NO	A	3	27,69	-2,10	2963,46	2961,47	10,20	CCCCCCHHHEEHEHCEECCCC	11,74	17,39	60,87						
42681_n80D45	INPWDKYMEKYVRRPHTPQTRHQK	NO	A	3	28,74	-1,89	3019,47	3017,51	10,10	CCCCCCHCHHEECCCHCCCCCC	8,70	17,39	73,91			0,25	0,44	0,08	0,29
42681_n865AD	INPWDKYMEKYVFKSPYHQRNKY	NO	A	3	31,09	-2,14	3080,50	3078,48	9,80	CCCCCCHHHEECCCHCCCCCC	17,39	13,04	69,57						
42903_n089BC	YSSNDANINENQYYLPRNKKFPS	NO	A	3	18,82	-2,15	2794,02	2792,32	9,70	CCCCHHHCHHCEECCCHCCCCCC	26,09	4,35	69,57			0,93	2,43	0,99	0,56
42903_n303D4	YSSNDANINENQFYIAKFPESNIN	NO	A	3	19,76	-1,87	2703,85	2702,23	7,00	CCCCHHHCHHCHCCCHCCCCCC	34,78	0,00	65,22			0,49	2,39	0,49	0,21
42903_n76653	YSSNDANINENQYFKHPIAKDKH	NO	A	3	17,44	-1,95	2748,37	2747,31	9,40	CCCCHHHCHHCHHEECCCHCCCCCC	34,78	4,35	60,87			0,02	0,33	0,39	0,22
42904_c34385	NPNIYIMHPNKRTPKEIENYKDL	NO	A	3	29,13	-1,77	2829,21	2827,41	9,50	CCCCCCCCCCCCCHHHHHHCC	26,09	8,70	65,22			0,71	2,06	0,26	0,93
42904_n0EC02	TPEKIENYKDLRYRSPNPKNGG	NO	A	3	22,93	-2,06	2789,12	2787,43	10,10	CCCCHHHHHHHCHCCCHCCCCCC	34,78	0,00	65,22						
42904_n2D432	TPEKIENYKDLFRQNVNPHRGRH	NO	A	3	26,54	-1,82	2821,18	2819,46	10,10	CCCCHHHHHHHHHCHCCCHCCCCCC	39,13	0,00	60,87						
42904_n34F8D	TPEKIENYKDLFRPHPTKKGGRQ	NO	A	3	21,98	-2,13	2870,34	2868,58	10,80	CCCCHHHHHHHCHCCCHCCCCCC	30,43	0,00	69,57						
42904_n3C69A	TPEKIENYKDLMPKPNKKGNIH	NO	A	3	33,17	-1,45	2742,22	2740,44	9,90	CCCCHHHHHCHCCCHCCCHCC	21,74	4,35	73,91						
42904_n473DC	TPEKIENYKDLFYSYKPKKDNP	NO	A	3	26,47	-2,03	2839,27	2837,51	10,00	CCCCHHHHHHHHHCHCCCHCCCCCC	39,13	0,00	60,87						
42904_n59357	TPEKIENYKDLFFRKYTPPKPQM	NO	A	3	33,94	-1,64	2895,45	2893,56	10,50	CCCCHHHHHHHHHCHCCCHCCCCCC	39,13	0,00	60,87						
42904_n722A7	TPEKIENYKDLFRNKTFRRRS	NO	A	3	29,95	-2,05	2949,35	2947,55	10,90	CCCCHHHHHHHHHCHCCCHCCCCCC	34,78	0,00	65,22			0,45	0,36	0,36	0,57
42904_n72EA2	TPEKIENYKDLWRPHTFRNFRFG	NO	A	3	27,30	-2,20	2893,24	2891,49	10,20	CCCCHHHHHCHCCCHCCCHCC	26,09	0,00	73,91			0,80	3,57	0,20	3,05
42904_n74291	TPEKIENYKDLVFRNKNQHDR	NO	A	3	26,12	-2,23	2934,29	2932,49	9,80	CCCCHHHHHCHCCCHCCCHCEC	30,43	4,35	65,22						

- A We foresee no issues with synthesis, purification or delivery of the quantity and purity ordered.
 - B Synthesis and purification may prove difficult, resulting in a delivery time that may be twice as long as for a standard peptide. There is also a moderate risk that we will not be able to deliver the peptide quantity and/or purity ordered. Note: If we are not able to deliver the quantity and/or purity ordered, you may c
 - C Synthesis and purification will be challenging, and there is a significant risk that we will not be able to deliver the peptide quantity and purity ordered. If we are successful, though, delivery time may be 2 to 3 times longer than for a standard peptide. Note: If we are not able to deliver the quantity and/or purity orde
- 1 This is a very hydrophilic peptide that should not be used in SRM/MRM experiments, because the elution time will be unstable.
 - 2 The high hydrophilicity of this peptide makes it potentially unsuitable for SRM/MRM experiments, because the elution time will be unstable.
 - 3 The moderate hydrophobicity of this peptide makes it compatible with SRM/MRM experiments.
 - 4 The high hydrophobicity of this peptide makes it unsuitable for SRM/MRM experiments because of unstable elution time and inaccurate quantitation caused by aggregation and poor solubility.
 - 5 This is a very hydrophobic peptide that should not be used in SRM/MRM experiments because of unstable elution time and very inaccurate quantitation caused by aggregation and insolubility.

DISEÑO Y OPTIMIZACIÓN DE PÉPTIDOS QUIMÉRICOS



Homología - Proteoma de Ratón

