

# OPTIMIZACIÓN DE PÉPTIDOS QUIMÉRICOS DERIVADOS DE ANTÍGENO AMA-1 DE *Plasmodium yoelii* PARA EL ANCLAJE A MOLÉCULAS H2-IE<sup>d</sup> 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

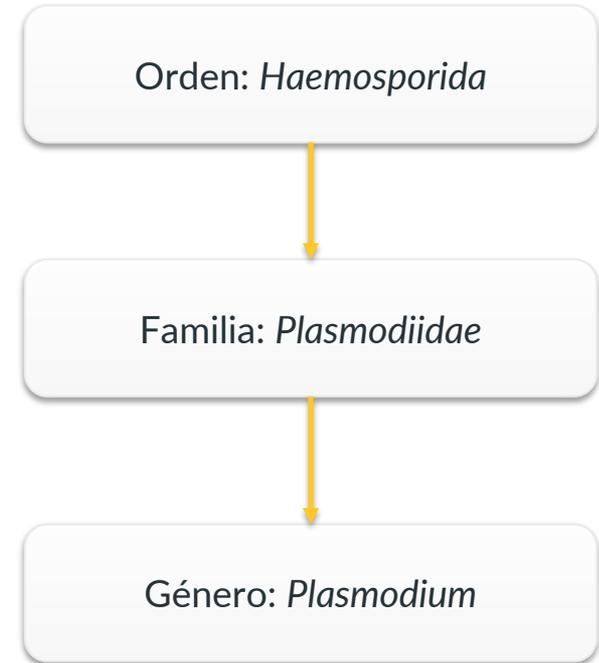
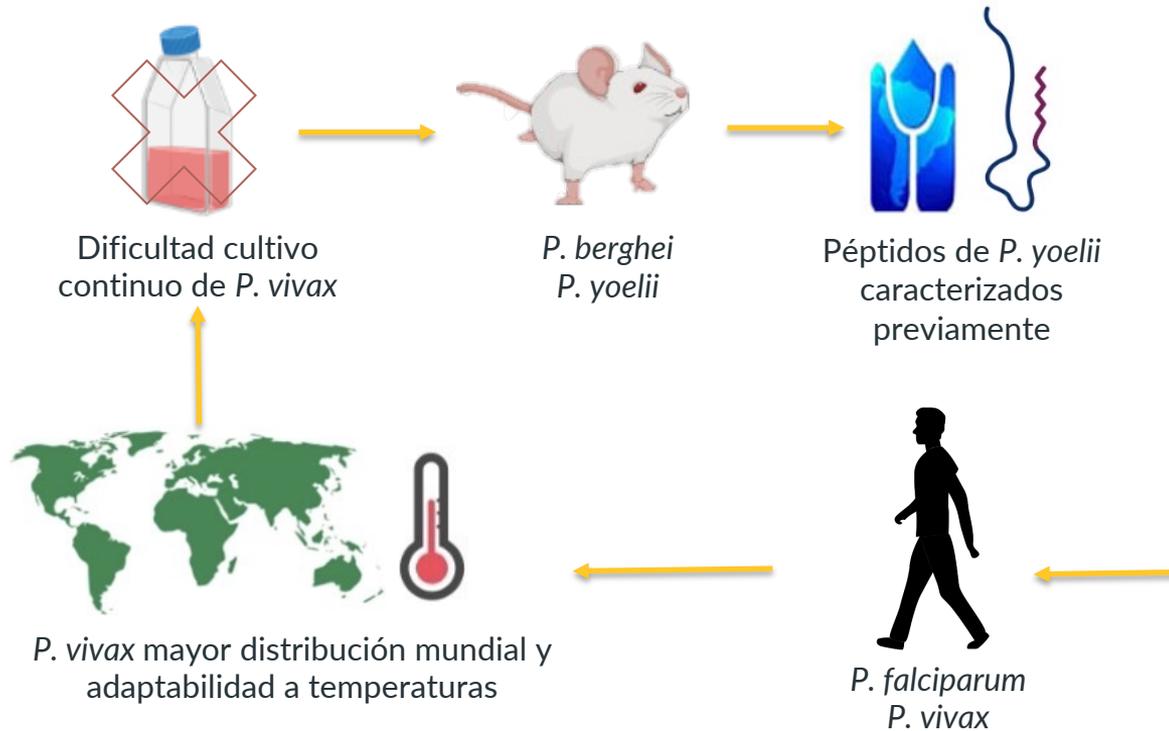
- Metodología
- Resultados - discusión

### 3º OBJETIVO

- Metodología
- Resultados - discusión

**CONCLUSIONES**  
-  
**RECOMENDACIONES**

# LA MALARIA



**OMS**

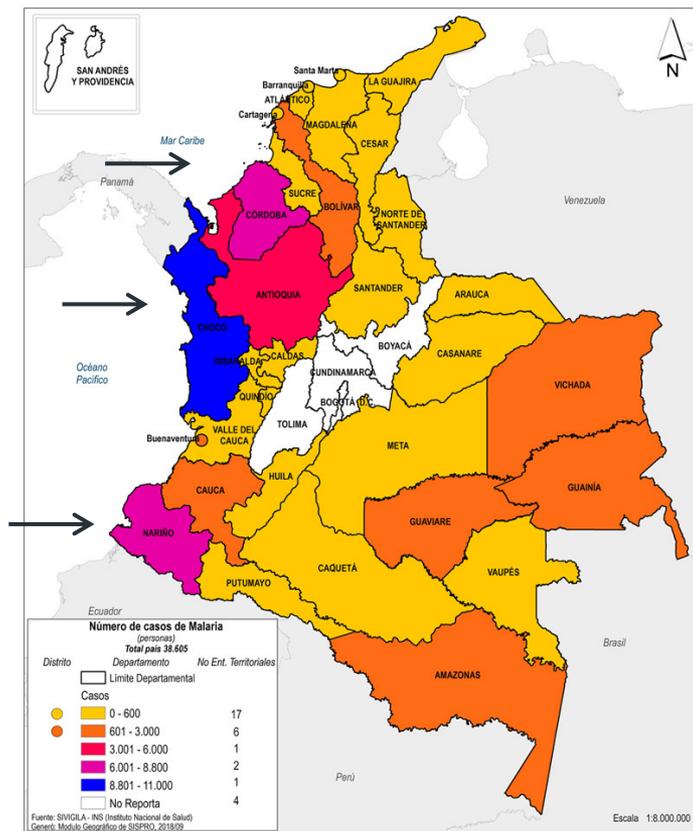
241 MM de casos reportados  
627.000 muertes

**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



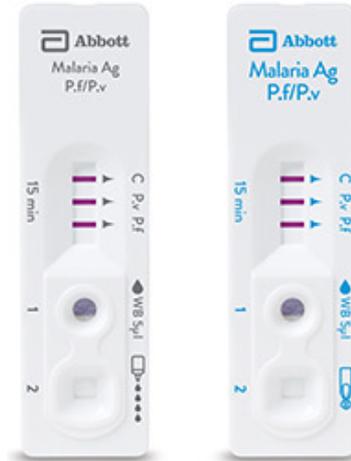
Escalofríos



Náuseas y vómito

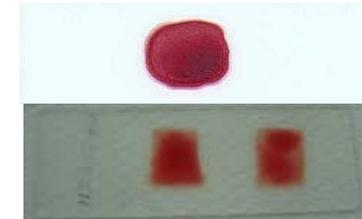


Procedencia  
área  
endémica



Zonas de difícil  
acceso y  
condiciones

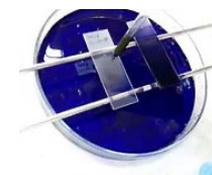
## MICROSCOPIA



Gota gruesa

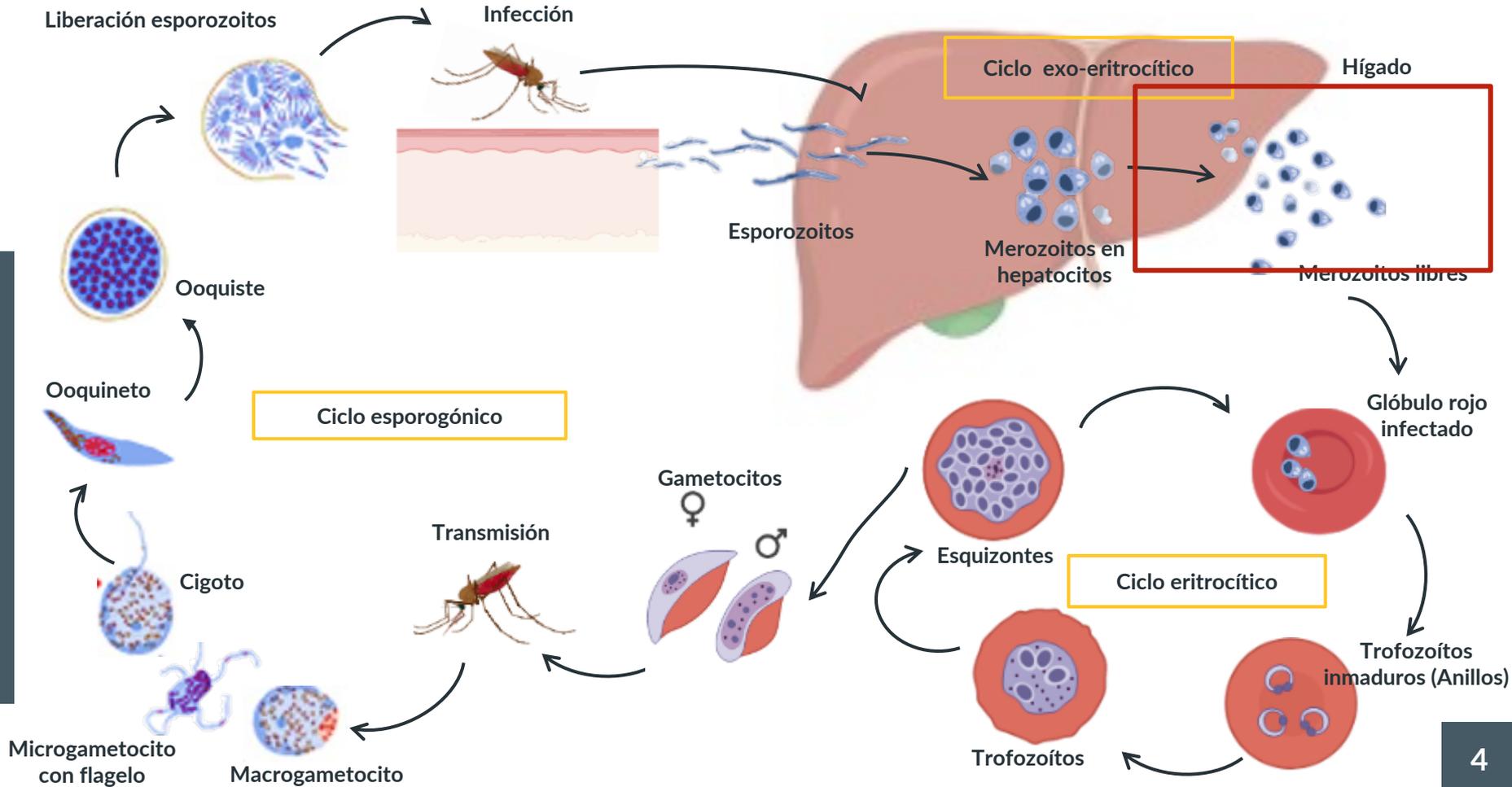


Extendido de  
sangre periférica

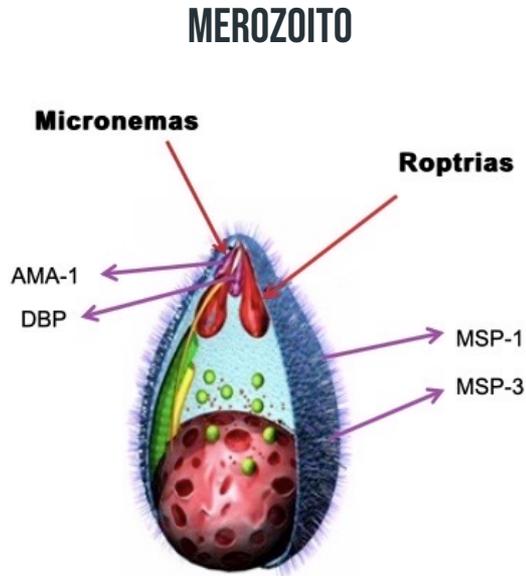


Técnica diagnóstica  
de referencia

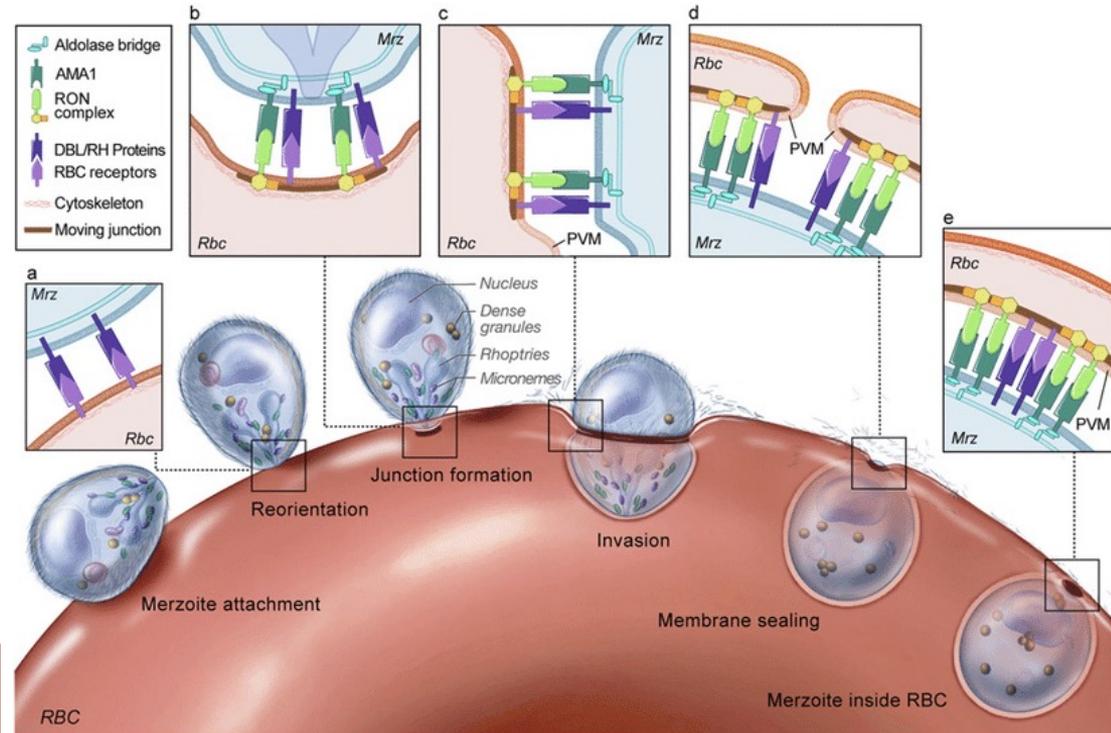
# CICLO DE VIDA



# 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



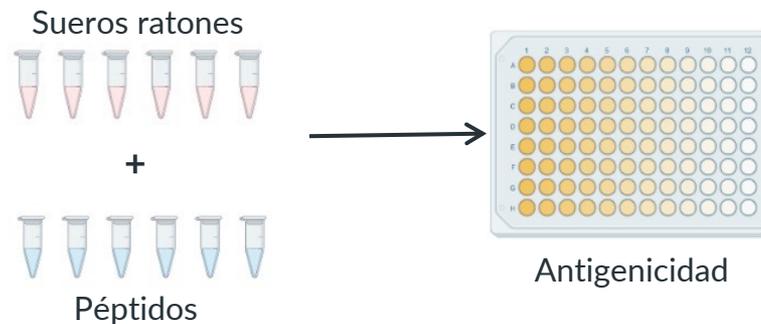
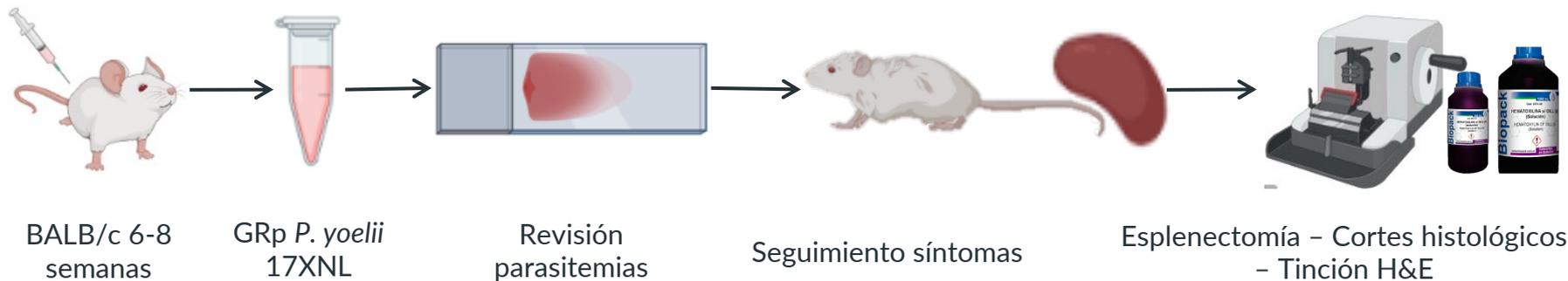
- Optimizar péptidos quiméricos derivados de la proteína AMA-1 de *Plasmodium yoelii* para el anclaje a moléculas H2-IE<sup>d</sup> de ratón

## 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<sup>d</sup>
- 3. Diseñar y seleccionar *in silico* péptidos quiméricos con capacidad de unión a H2-IE<sup>d</sup>

# MANTENIMIENTO BIOMODELO - ANTIGENICIDAD



R= Ratón

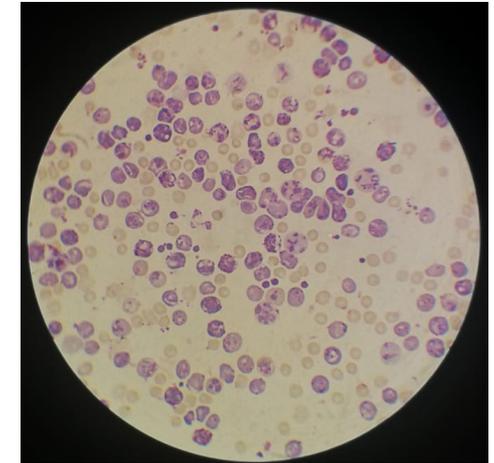
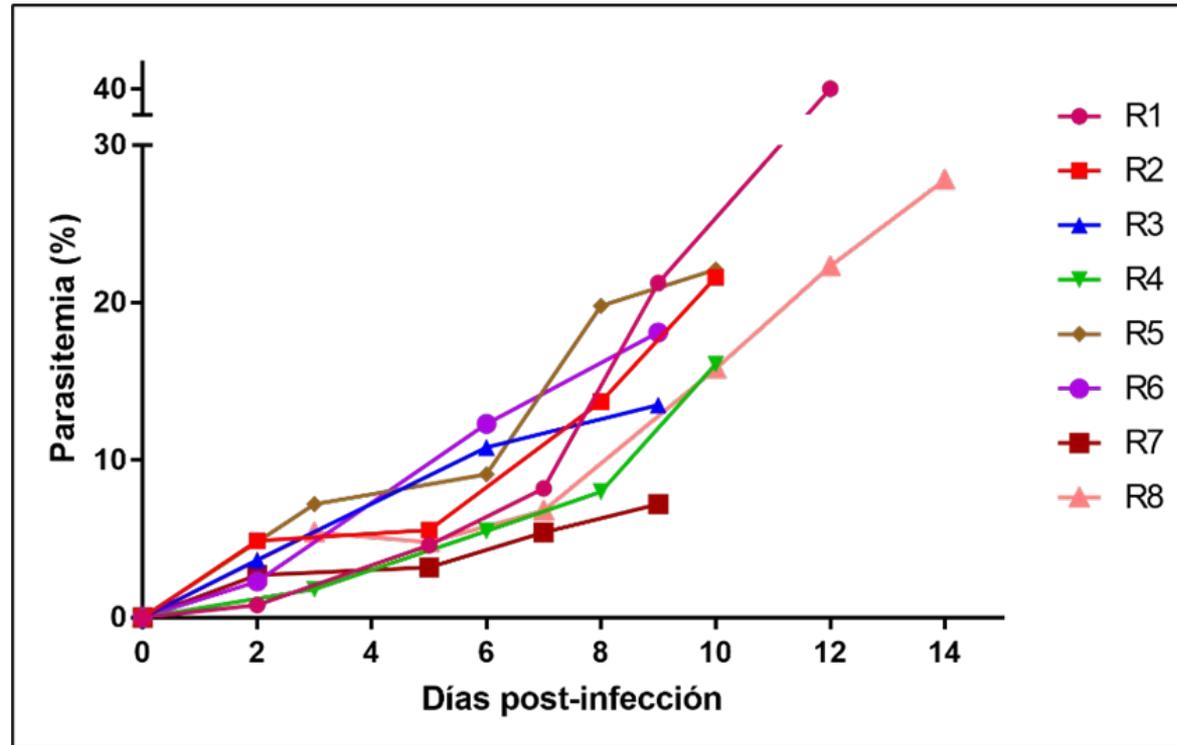
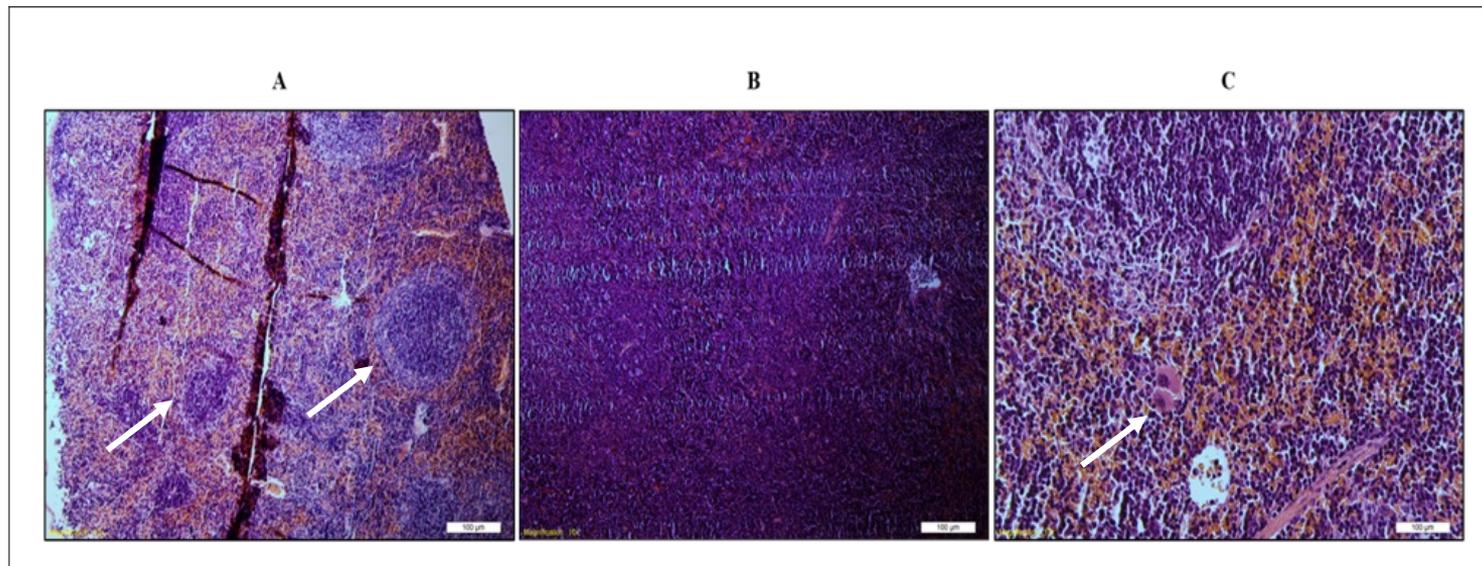


Imagen de microscopía al realizar las parasitemias

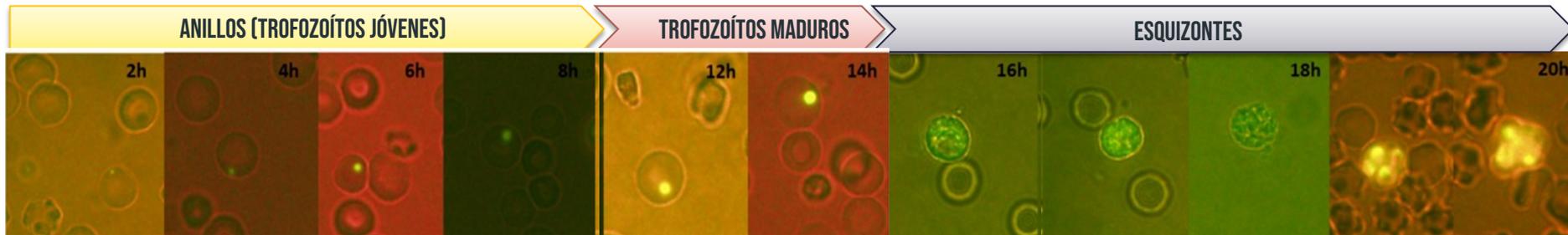
El curso de la infección con *P. yoelii* 17XNL fue óptimo y valida la eficiencia del biomodelo murino empleado.



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*



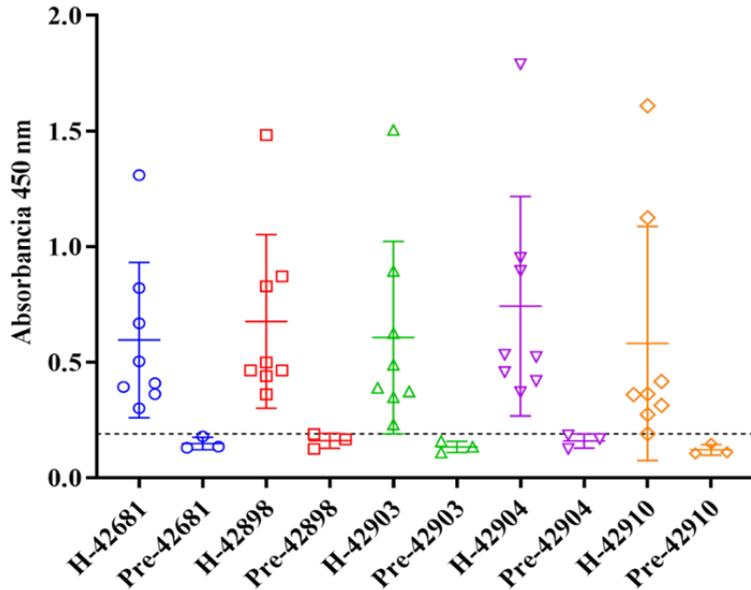
Anillos a partir de 2 hrs - hasta 8 hrs.

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

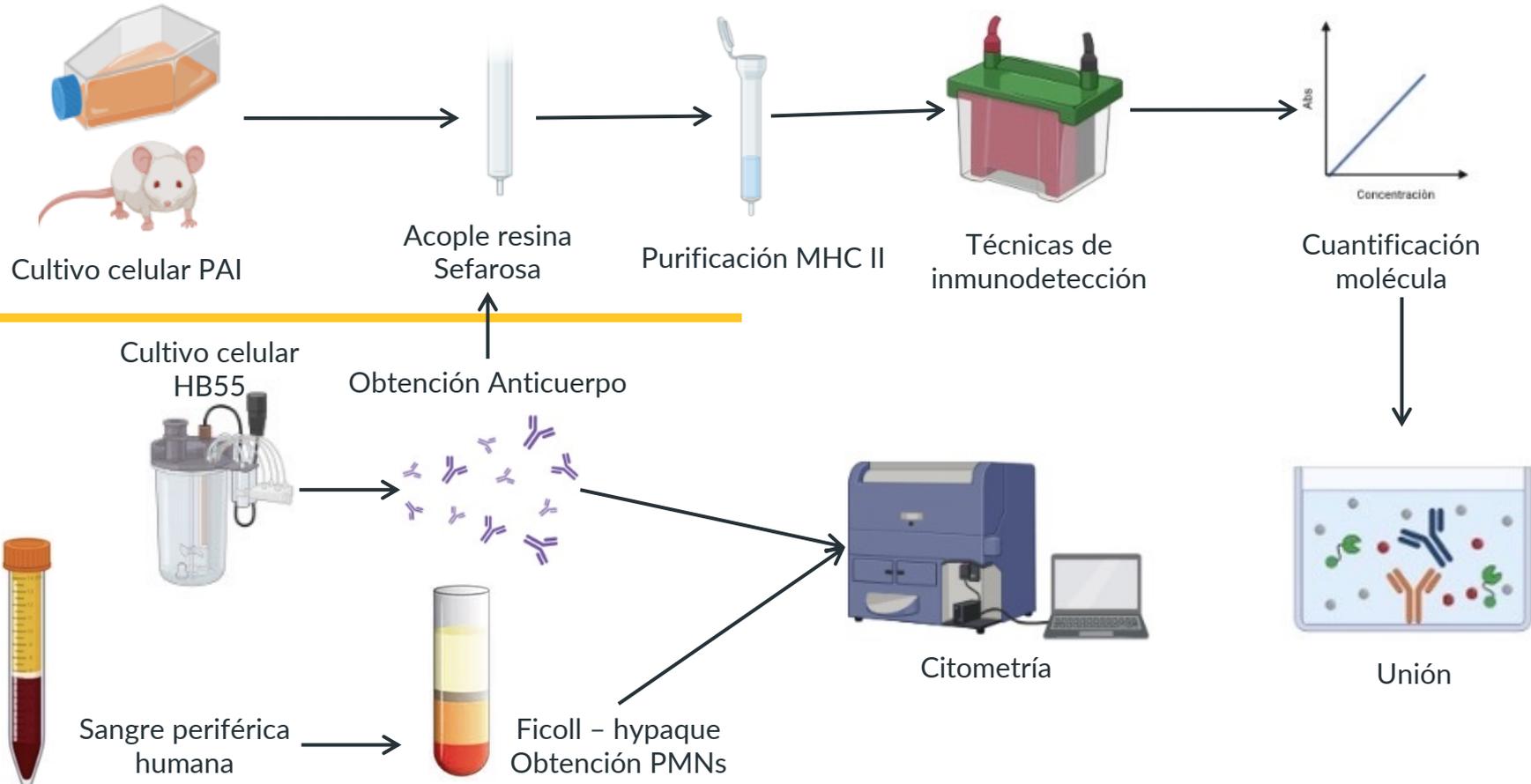
Péptidos 42904 y 42898 con mayor reconocimiento en el ensayo ELISA leído a 450 nm

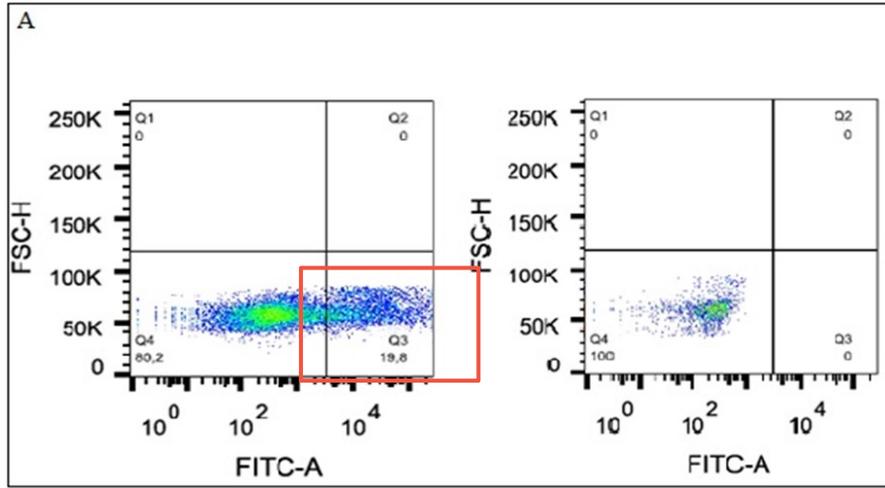
# ESPECÍFICOS

---

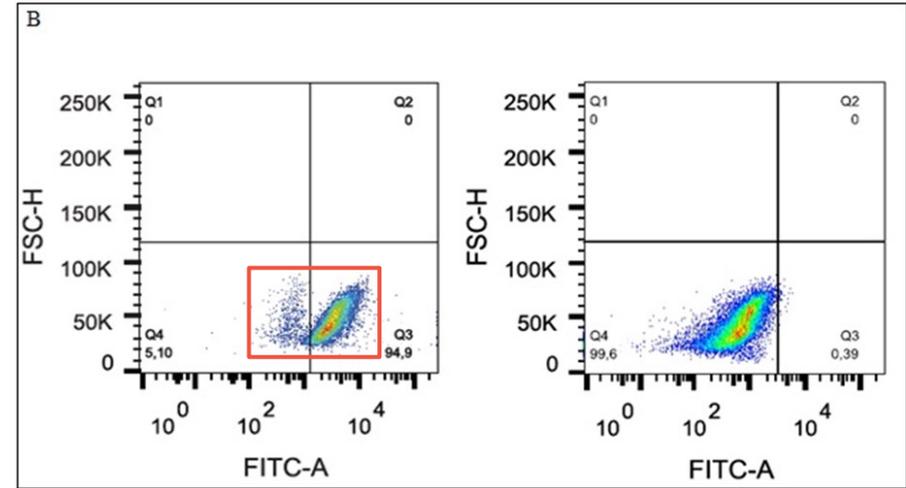
- 1. Determinar la antigenicidad de péptidos derivados de regiones conservadas de la proteína AMA-1 de *P. yoelii*
- 2. Seleccionar péptidos derivados de regiones conservadas de la proteína AMA-1 de *P. yoelii* dependientes de su unión a molécula H2-IE<sup>d</sup>
- 3. Diseñar y seleccionar *in silico*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

# OBTENCIÓN MOLÉCULA Y ANTICUERPO - UNIÓN



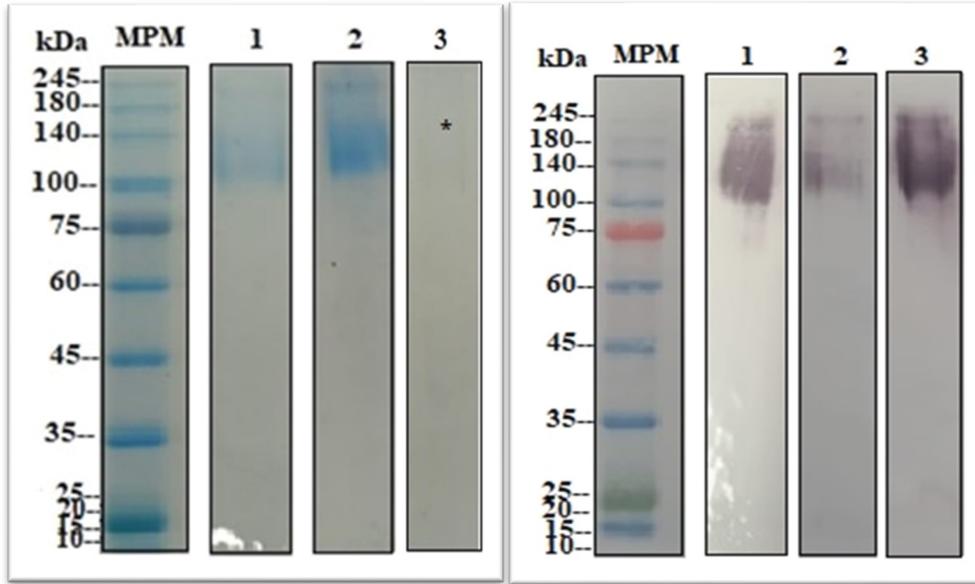


A. Reconocimiento de células humanas presentadoras de Ag por Anti-DR. (19.8%)



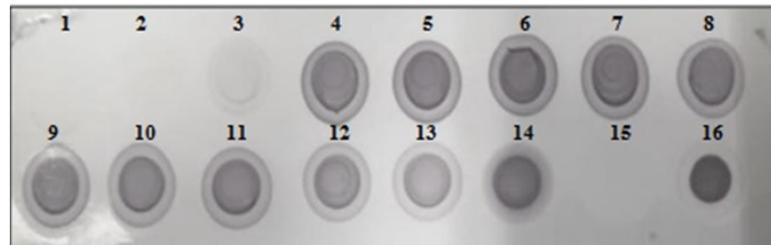
B. Reconocimiento de células PAI con expresión MHC por Anti-DR. (94.9%)

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



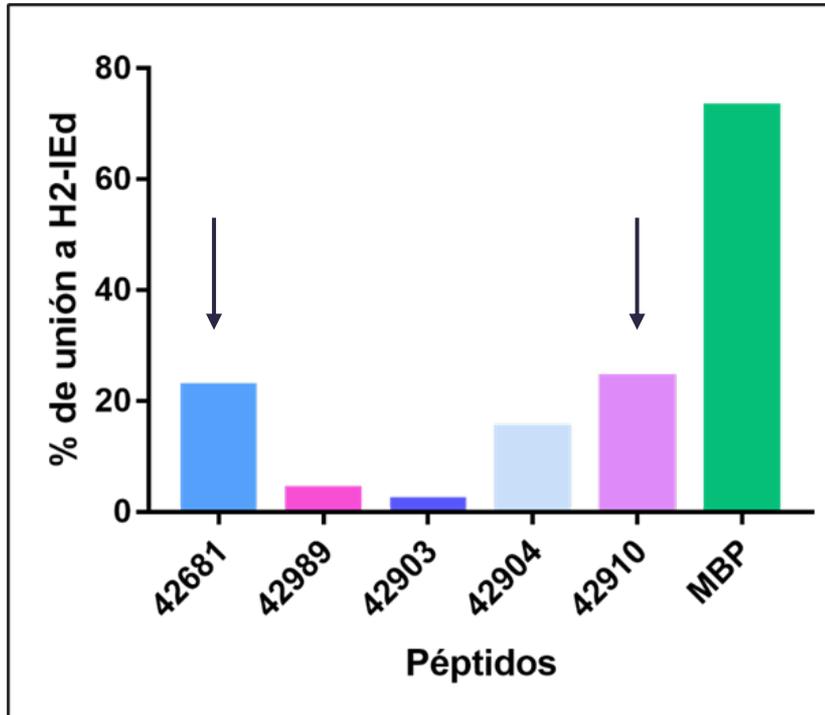
A. Western blot y B. Tinción de Coomassie de cada purificación realizada en columna de sefarosa.

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.



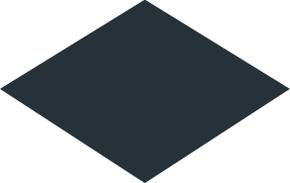
42910 y 42681 péptidos con mayor unión a CMH.

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<sup>d</sup>
-  3. Diseñar y seleccionar *in silico* péptidos quiméricos con capacidad de unión a H2-IE<sup>d</sup>

# PÉPTIDOS QUIMÉRICOS



Robusto análisis  
bioinformático



Articulación epítipo B

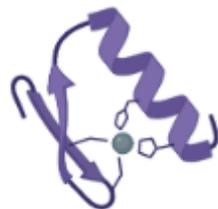


Previa evaluación  
de características

- Antigenicidad
- Unión a CMH.



Elección quiméricos con  
criterios de interés



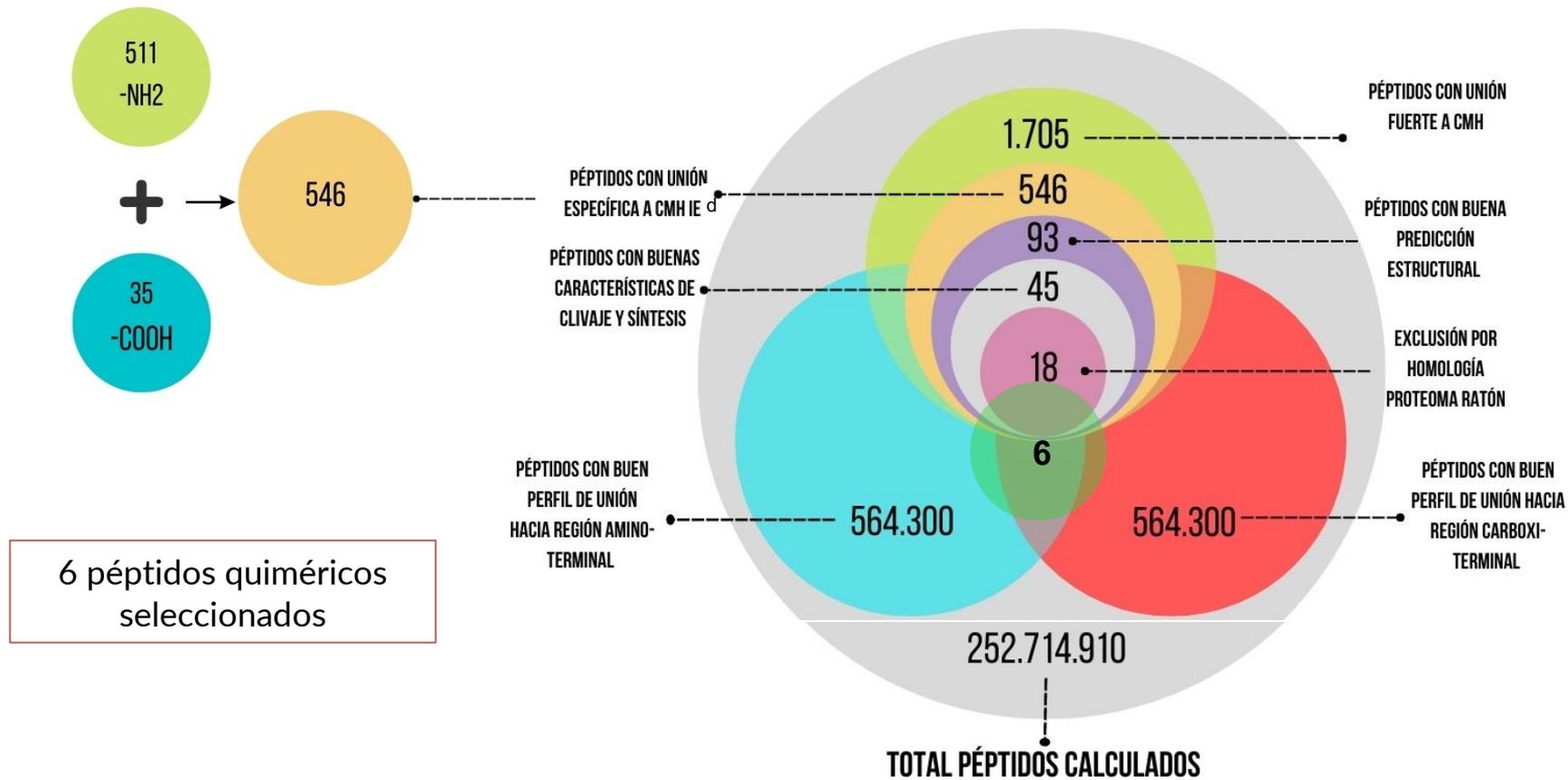
Diseño estructura  
bidimensional constructos  
finales (6).



Dimerización péptidos



# PÉPTIDOS QUIMÉRICOS ANÁLISIS *IN VITRO*



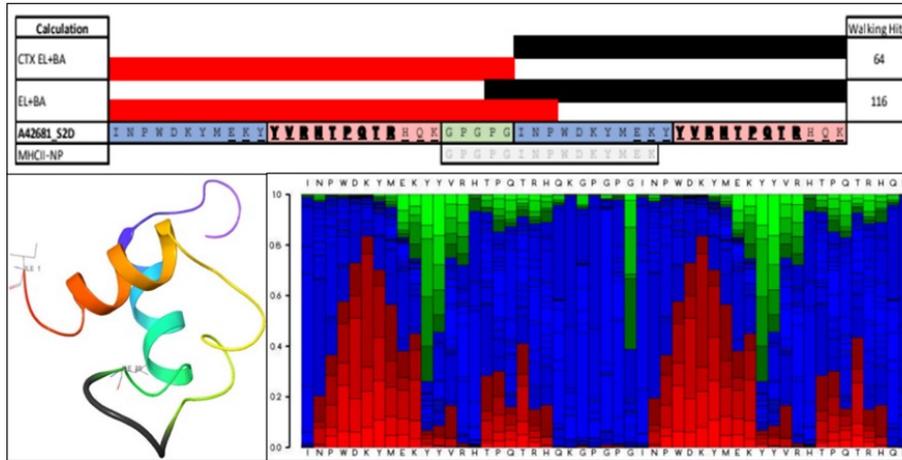
Péptido	Secuencia	Hidrólisis NP+NN	Estructura secundaria	Helix %	Sheet %	Coil %	IE-Rank NORIEd	BA-Rank NORIEd	IE-Rank CTXIEd	BA-Rank CTXIEd
42681_n53641	INPWDKYMEKYWHMKGTRRKPPS	NO	CCCCCCHCHHECCCCCCCCCCC	13,04	8,70	78,26	0,37	0,89	0,25	0,74
42681_n80D45	INPWDKYMEKYYVRHTPQTRHQB	NO	CCCCCCHCHEEECCCCCCCCCCC	8,70	17,39	73,91	0,25	0,44	0,08	0,29
42903_n303D4	YSSNDANNENQFYIAKKPESNRN	NO	CCCCHHHHCHHHCCCCCCCCCCC	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.



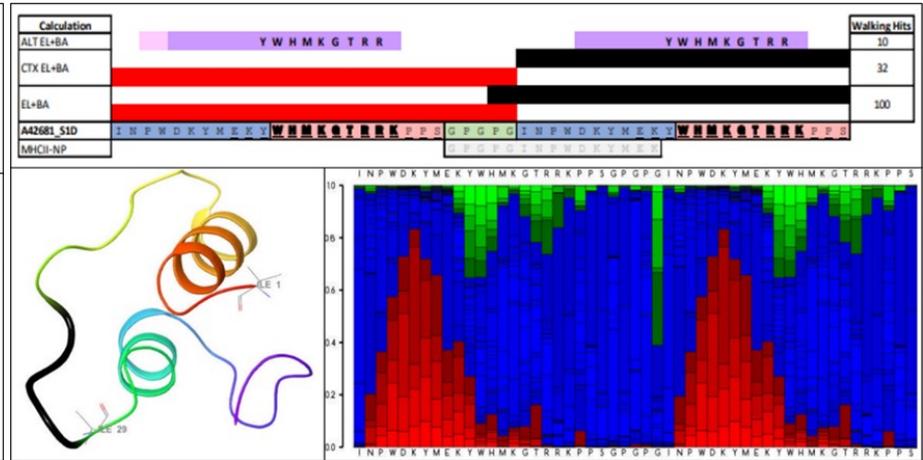
Rangos de elución y de unión correspondientes a su proceso de síntesis.



A42681\_S1D

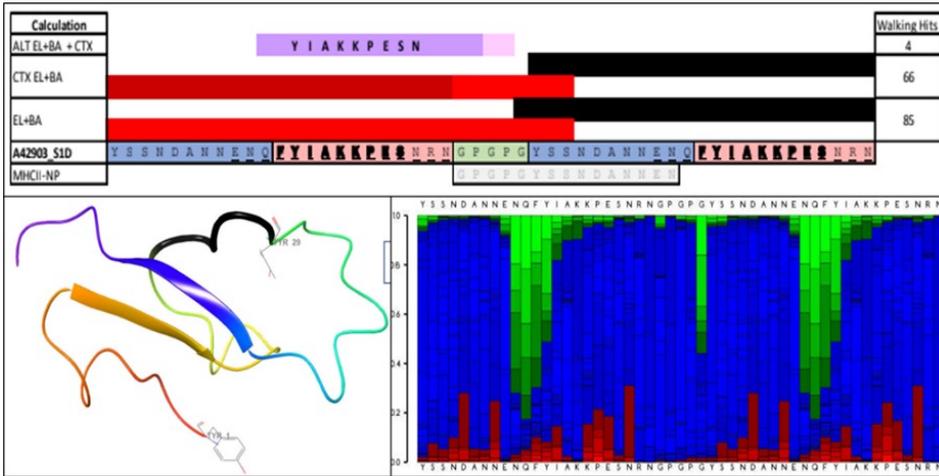
Porcentaje correspondiente a hélice mayor al ideal

Sugiere dificultad en el reconocimiento

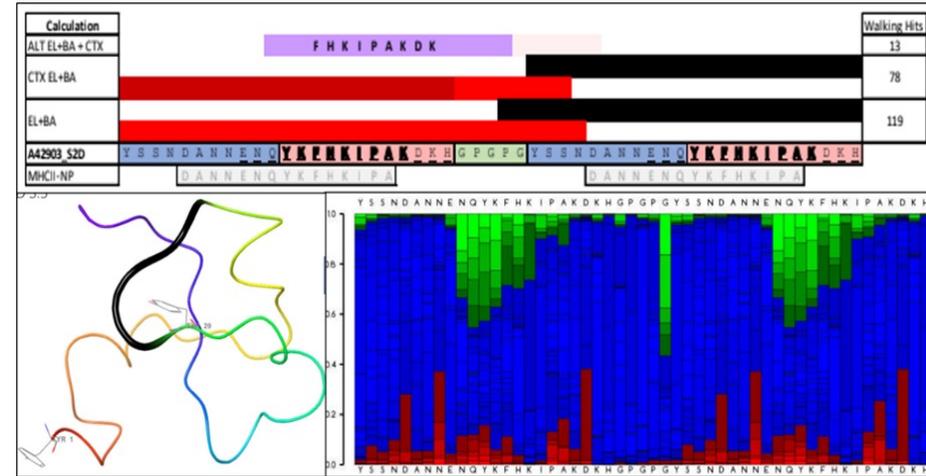


A42681\_S2D

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



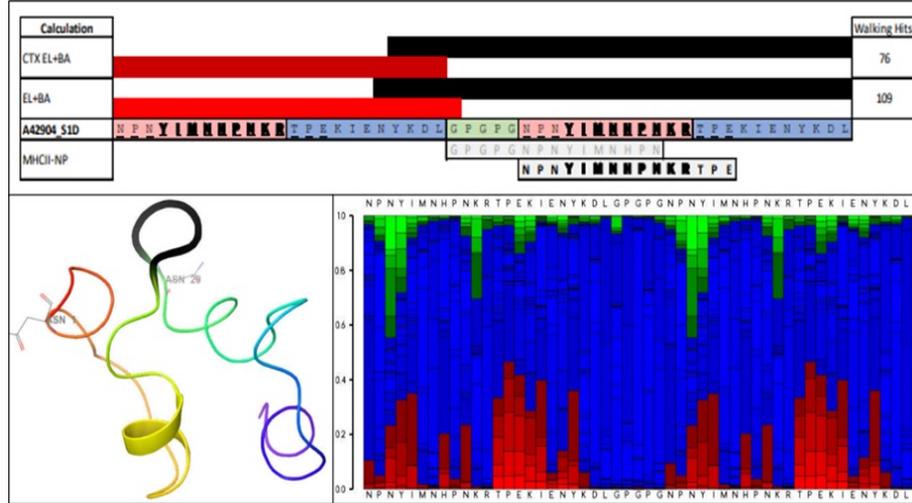
A42903\_S1D



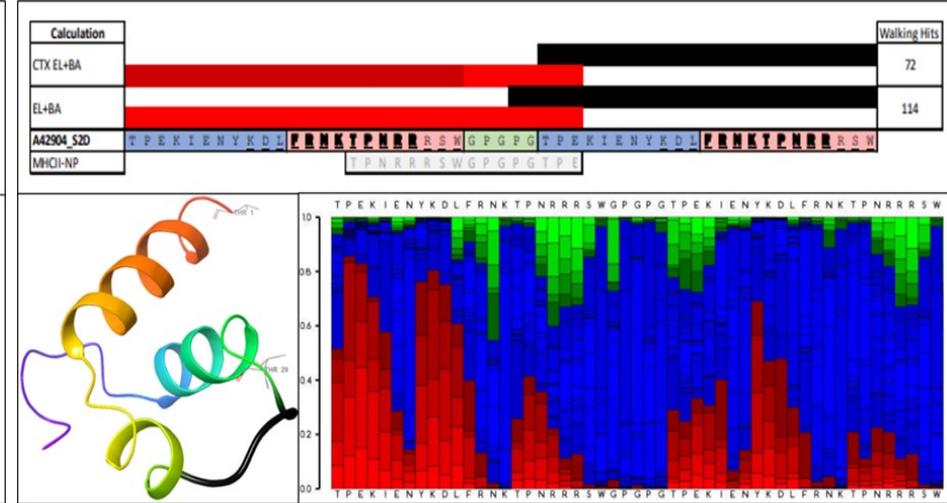
A42903\_S2D

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

Sugiere reconocimiento estable



A42904\_S1D



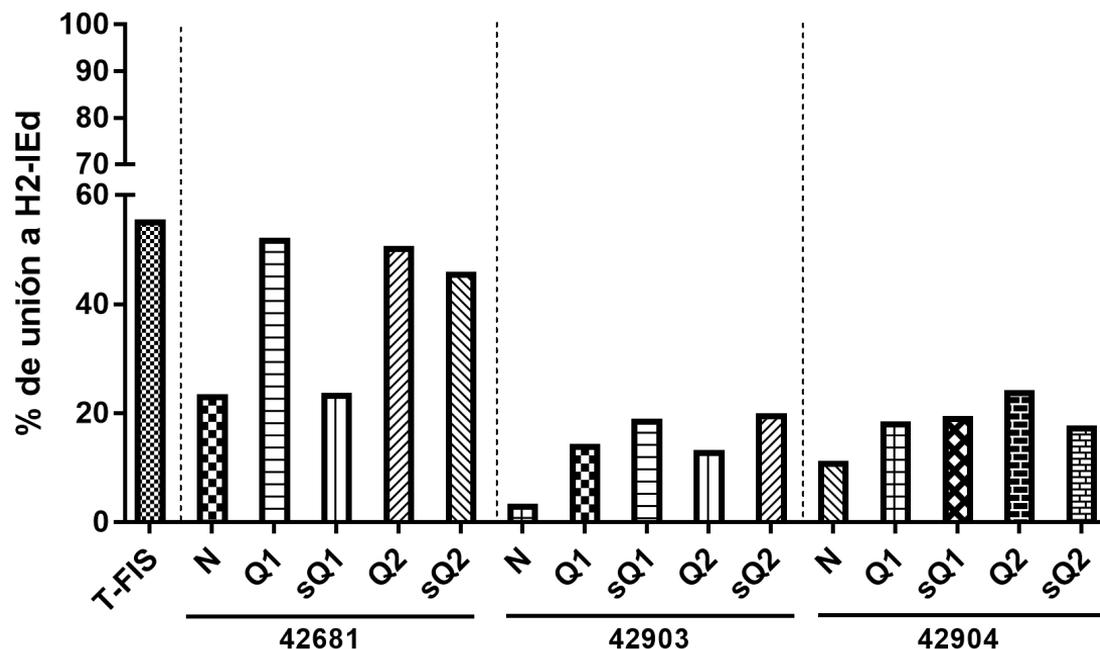
A42904\_S2D

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<sup>d</sup>



- 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<sup>d</sup> 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

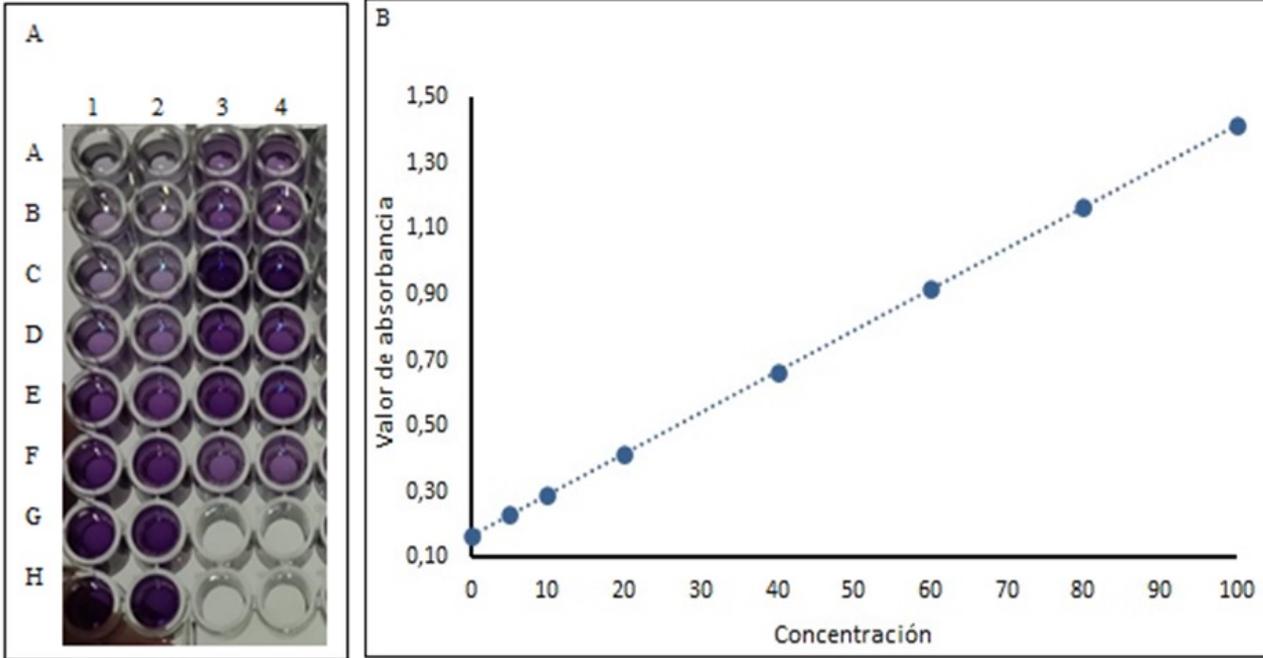
Sistema H-2

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

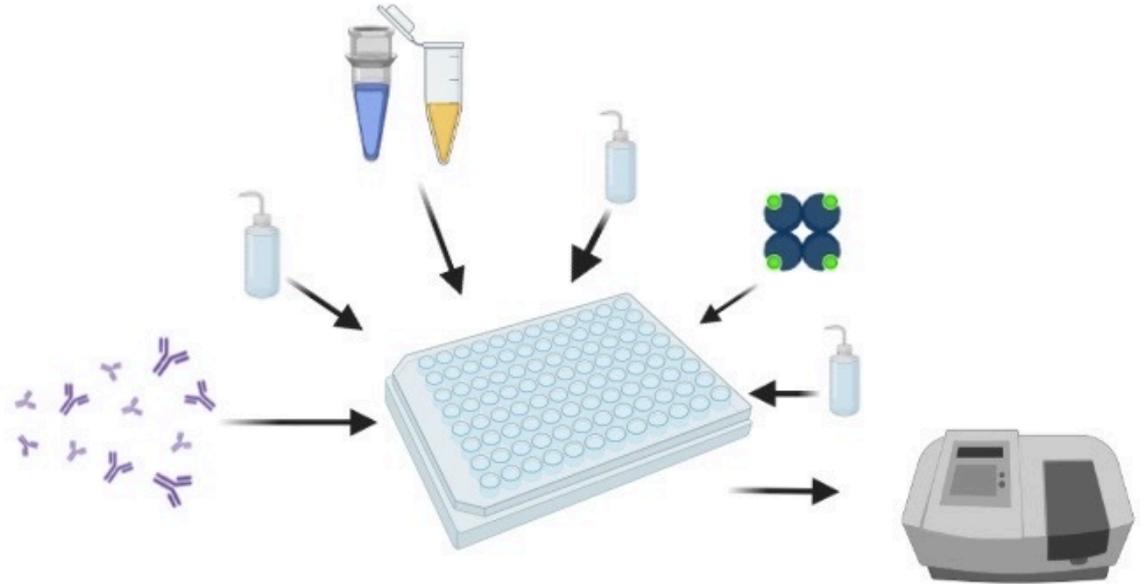
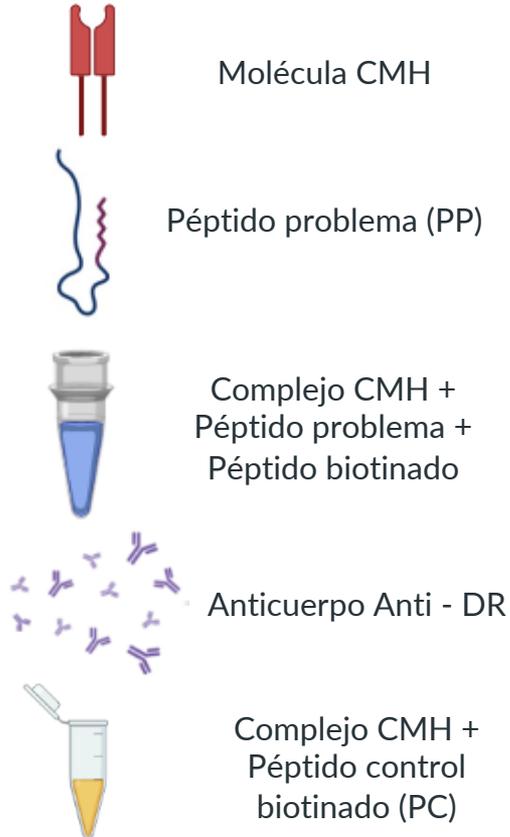
Curva aceptable

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?

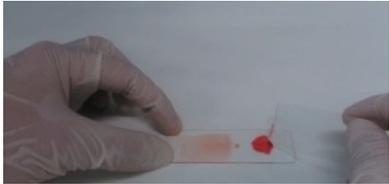
ENFOQUE  
INVESTIGATIVO



Proteínas sintéticas con  
epitopes B y T.

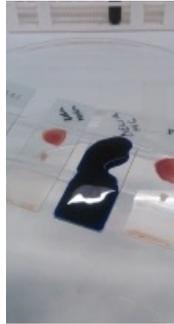
Sugieren mayor  
inmunogenicidad y  
diversidad alélica

## 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

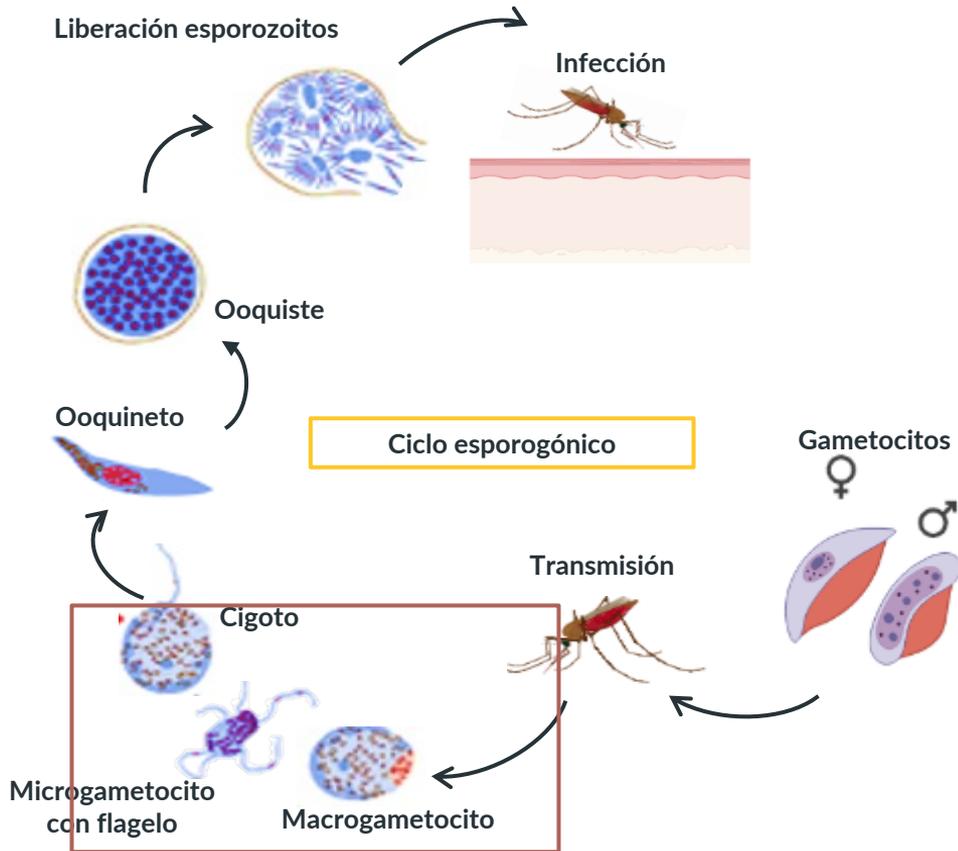


### FROTIS SANGRE PERIFÉRICA

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



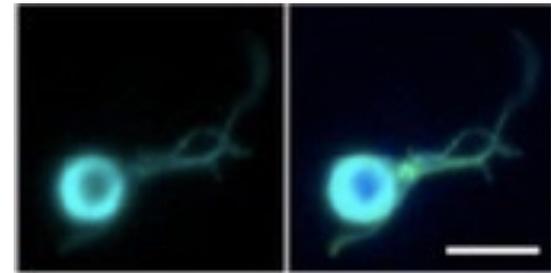
# EXFLAGELACIÓN MICROGAMETOCITO



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



Ciclo de división del microgametocito



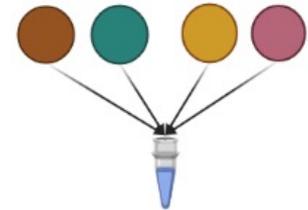
# DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA MALARIA

## PCR ANIDADA

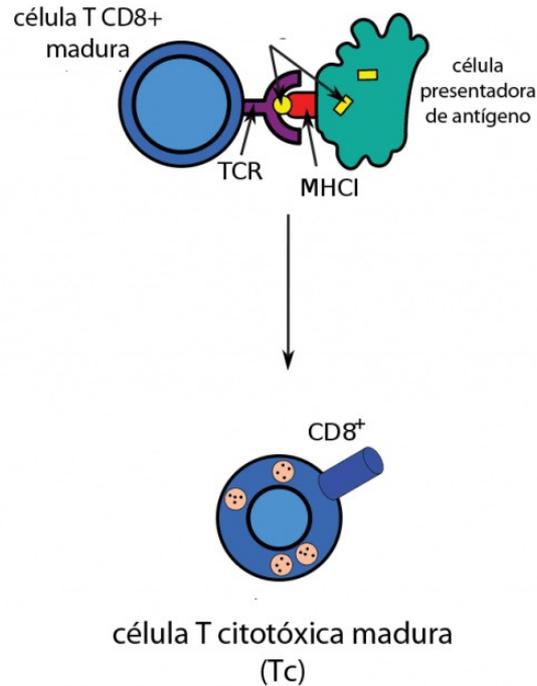
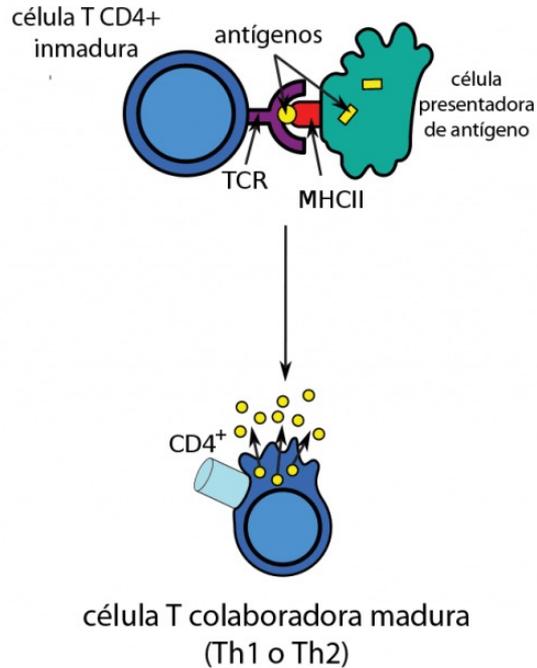
- Modificación a la PCR tradicional.
- Uso de dos pares de cebadores (dos procesos de PCR).
- Reducción de inespecificidades.

## 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

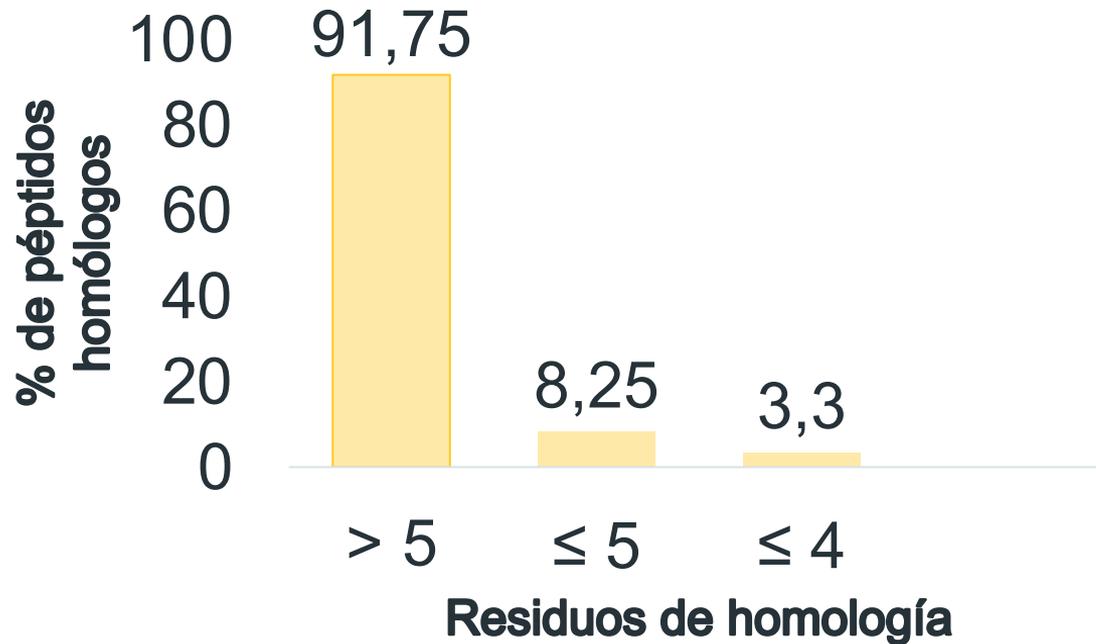
Peptide	Sequence	Cleavage NP+NN	Synthesis / Purificati	SRM/MRM Compatibilit y	Hydrophobicity	GRAVY -2 (Hydrophilic) to +2	Mw average	Mw monoisotopic	Theoretic al pl	Secondary Structure	Helix %	Sheet %	Coil %
42681_c2F83F	KPKVWVIRSHKQINPWDKYMELY	NO	B	3	37,56	-1,32	#####	2972,58	10,30	CCCCCEHEHHCDCDCDCDCDCDCDC	17,39	17,39	65,22
42681_c34385	NPNYIMNHPNKRINPWDKYMELY	NO	B	3	35,52	-1,77	#####	2964,42	9,80	CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCHCC	4,35	8,70	86,96
42681_c37554	KPKFVYNRANPQINPWDKYMELY	NO	B	3	35,99	-1,54	2930,41	2928,47	10,00	CCCCCECCCCCCCCCCCCCCHCC	4,35	8,70	86,96
<b>42681_c77462</b>	DNGYRYQHNIHRIINPWDKYMELY	NO	A	3	28,21	-2,29	#####	3063,39	9,30	CCCCEEEEHCCCCCCCCCCHCC	8,70	21,74	69,57
<b>42681_c83F07</b>	DKSYRVNKSNAHINPWDKYMELY	NO	A	3	29,38	-1,73	#####	2885,39	9,70	CCCEHECCHHCCECCCCCCHCC	17,39	13,04	69,57
42681_n007B3	INPWDKYMELYFQVKDKHKRHR	NO	A	3	28,51	-2,09	#####	3073,62	10,40	CCCCCCHHHHHEHHHHHCC	#####	4,35	47,83
42681_n00CB6	INPWDKYMELYFYAKDNPKVHL	NO	B	3	38,77	-1,30	#####	2954,49	9,70	CCCCCCHHHHEHHHHHCC	17,39	8,70	73,91
42681_n01112	INPWDKYMELYFDIRRTSKDRDQ	NO	B	3	34,64	-1,90	#####	3044,54	10,20	CCCCCCHHHHEEEHHCCECC	#####	21,74	52,17
42681_n01860	INPWDKYMELYFKFSHPKPKKL	NO	B	3	36,96	-1,48	2971,55	2969,57	10,50	CCCCCCHHHHHHCCCCCCCC	#####	0,00	73,91
42681_n04193	INPWDKYMELYFYWQHKHSAPP	NO	B	3	37,16	-1,58	#####	2992,45	9,70	CCCCCCHHHHEEHHHHCC	#####	13,04	56,52
42681_n044EE	INPWDKYMELYMYKHAFKPED	NO	B	3	36,61	-1,59	#####	3023,44	9,20	CCCCCCHHEHEECCCCCC	17,39	17,39	65,22
42681_n04B4D	INPWDKYMELYTVNKEKLRPNH	NO	B	3	34,26	-1,68	#####	2965,49	9,70	CCCCCCEHECEEEHCCCC	13,04	21,74	65,22
42681_n053A8	INPWDKYMELYKYKNKSLGKNDA	NO	A	3	32,58	-1,63	#####	2867,40	9,60	CCCCCCHHHHEEEHHCCECC	21,74	21,74	56,52
42681_n06AC6	INPWDKYMELYFWIKRNWKKNRK	NO	B	3	41,68	-1,87	3172,78	3170,68	10,70	CCCCCCHHHHEEEHHHHHCC	39,13	17,39	43,48
42681_n07ECC	INPWDKYMELYKQKKNEMRTPS	NO	A	3	29,42	-2,01	#####	2976,46	10,00	CCCCCCHHHHEHHHHHCC	#####	8,70	56,52
42681_n089A5	INPWDKYMELYWKIVKKRSEHI	NO	B	3	37,92	-1,40	#####	3018,63	10,20	CCCCCCHHHHHHHHHHCC	52,17	0,00	47,83
42681_n089BC	INPWDKYMELYYYLPRNKKKPS	NO	B	3	36,72	-1,77	#####	3023,54	10,00	CCCCCCHHEHEECCCCCC	13,04	17,39	69,57
42681_n089D6	INPWDKYMELYNIKHTQERARF	NO	B	3	37,48	-1,59	3031,47	3029,50	9,80	CCCCCCHHHHEEEHHHCC	#####	17,39	47,83
42681_n08C16	INPWDKYMELYFINKESAERAKM	NO	B	3	37,79	-1,48	#####	2975,48	9,80	CCCCCCHHHHEHHHHHCC	52,17	4,35	43,48
42681_n090C5	INPWDKYMELYFNYHKQNERHWR	NO	B	3	37,34	-2,16	3183,59	3181,51	9,80	CCCCCCHHHHEHHHHHCC	#####	13,04	43,48
42681_n09B4B	INPWDKYMELYFRMARNISRAKM	YES	B	3	39,26	-1,04	#####	2947,48	10,60	CCCCCCHHHHEHHHHHCC	#####	4,35	47,83
<b>42681_n0A581</b>	INPWDKYMELYWKSOKPHRRNKQ	NO	A	3	27,65	-2,38	3048,51	3046,53	10,30	CCCCCCHHEHCCCCCCCC	17,39	4,35	78,26
<b>42681_n0A6BB</b>	INPWDKYMELYRYDYSHHKNTR	NO	A	3	30,71	-2,12	3108,47	3106,45	9,60	CCCCCCHHCHEEEEECC	13,04	26,09	60,87
<b>42681_n0A87E</b>	INPWDKYMELYRVNHQNNKYKG	NO	A	3	30,15	-1,97	#####	2987,45	9,90	CCCCCCHHCHEECCCHCC	21,74	17,39	60,87
42681_n0BF46	INPWDKYMELYIRRFSKNKRKED	NO	A	3	31,90	-2,01	#####	3043,58	10,30	CCCCCCHHHHEHHHHHCC	#####	4,35	47,83
42681_n0C7F6	INPWDKYMELYRVNNSNQRRHY	YES	A	3	26,07	-2,37	#####	3088,45	10,00	CCCCCCHHHHEEECCCHHCC	#####	17,39	56,52
42681_n0D0EA	INPWDKYMELYFTFHKKAGGKQK	NO	A	3	33,98	-1,59	2916,42	2914,50	10,20	CCCCCCHHEEEHHHCC	#####	17,39	56,52
42681_n0D436	INPWDKYMELYWRYKATEHRGDN	NO	A	3	32,72	-1,96	3001,36	2999,41	9,40	CCCCCCHHHHEEHHC	#####	8,70	56,52
42681_n0DB33	INPWDKYMELYWRSKKNLQKALK	NO	B	3	37,25	-1,58	#####	2966,60	10,50	CCCCCCHHHHHCHHHHHHC	#####	0,00	43,48
42681_n0DB43	INPWDKYMELYKFEHPYKPFYE	NO	B	3	37,49	-1,90	3125,58	3123,50	9,20	CCCCCCHHCCEECCCC	8,70	13,04	78,26
42681_n0DCF5	INPWDKYMELYWDIKLTHREPR	NO	B	3	40,27	-1,72	#####	3073,57	9,90	CCCCCCHCHCHHHHCC	#####	0,00	69,57
42681_n0DDF9	INPWDKYMELYWARHITEKRKDS	NO	A	3	32,88	-1,74	#####	2993,50	9,80	CCCCCCHHHHHECHHHCC	39,13	4,35	56,52
42681_n0E271	INPWDKYMELYFRLQNTRYRQFN	YES	B	3	40,56	-1,61	3111,57	3109,53	10,20	CCCCCCHHHHHHCHEHCC	#####	8,70	47,83
42681_n0E436	INPWDKYMELYWRFKHMEERKWP	NO	B	3	39,64	-2,09	3181,66	3179,56	9,80	CCCCCCHHHHHHEHHHCC	39,13	4,35	56,52

# Diseño y optimización de péptidos quiméricos

Peptide	Sequence	Classave NP-III	Synthesis Purificati on	SRM/MRM Compa tibility	Hydropho bicity	crayt -2 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 NORIED	BA-Rank NORIED	IE-Rank CTXIED	BA-Rank CTXIED
42681_n1B1B	INPWDKYMEKYYFSKHDA SRQRR	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	INPWDKYMEKYFNSKVVHHRNER	NO	A	3	30,29	-1,80	2979,36	2977,44	9,90	CCCCCCHHHHECCCHHHHECCCC	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	CCCCCCHHHHECCCHHHHHHCC	30,43	0,00	69,57			0,93	0,84	0,77	1,16
42681_n4E10C	INPWDKYMEKYVTOHKTMRFRQPQ	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	INPWDKYMEKYVHMKGTRRKRKPS	NO	A	3	33,38	-1,79	2949,48	2947,47	10,40	CCCCCCHCHHEECCCHCCCCCCC	13,04	8,70	78,26			0,37	0,89	0,25	0,74
42681_n5D620	INPWDKYMEKYIHPHTRKGHNT	NO	A	3	32,31	-1,61	2889,32	2887,42	9,80	CCCCCCHHHHECCCHCCCCCCCC	13,04	8,70	82,61			0,68	4,85	0,08	1,30
42681_n5E409	INPWDKYMEKYVHFEPYIKDKH	NO	B	3	37,69	-1,67	3082,52	3080,46	7,80	CCCCCCHCEEECCCHCHCCCC	13,04	13,04	73,91						
42681_n6119A	INPWDKYMEKYRPHPTHKKTEN	NO	A	3	26,23	-2,09	2948,38	2946,45	9,70	CCCCCCHHHCCCCCHCCCCCCCC	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	CCCCCCHCHHEECCCHCCCCCCC	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	CCCCCCHHHHEECCCHCCCCCCC	17,39	17,39	65,22						
42681_n69A74	INPWDKYMEKYVAKRNGGDTQ	NO	A	3	33,37	-1,60	2925,30	2923,40	9,30	CCCCCCHHHCEEEHEHCCCCCCC	17,39	17,39	65,22			0,98	1,87	0,01	0,87
42681_n72EA2	INPWDKYMEKYVRRPHTRNRFRG	NO	A	3	31,83	-2,19	3030,45	3028,50	10,40	CCCCCCHHHCCCCCHCCCCCCCC	8,70	0,00	91,30			0,64	2,84	0,23	1,38
42681_n74291	INPWDKYMEKYRPHPTHKKTEN	NO	A	3	30,63	-2,22	3071,50	3069,50	10,00	CCCCCCHHHCCCCCHCCCCCCCC	13,04	4,35	82,61			0,38	2,54	0,04	0,93
42681_n746E2	INPWDKYMEKYRYKDPHSQYKR	NO	A	3	32,53	-2,19	3109,55	3107,51	9,80	CCCCCCHHHHEECCCHCCCCCCC	13,04	13,04	73,91			0,50	4,92	0,04	1,07
42681_n77462	INPWDKYMEKYRYQHMHRDVK	NO	A	3	29,40	-2,34	3185,56	3183,49	9,60	CCCCCCHHCHHEEHEECCCCCCC	21,74	17,39	60,87						
42681_n7CEFB	INPWDKYMEKYVIMTGEKRRKQ	NO	A	3	27,69	-2,10	2963,46	2961,47	10,20	CCCCCCHHHHEEHCCECCCCCCC	17,39	17,39	60,87						
42681_n80D45	INPWDKYMEKYVRRPHTRNRFRG	NO	A	3	28,74	-1,89	3019,47	3017,51	10,10	CCCCCCHCEEECCCHCCCCCCCC	8,70	17,39	73,91			0,25	0,44	0,08	0,29
42681_n865AD	INPWDKYMEKYVYKQVPHQRNKY	NO	A	3	31,09	-2,14	3080,50	3078,48	9,80	CCCCCCHHHHEECCCHCCCCCCC	17,39	13,04	69,57						
42903_n089BC	YSSNDANINENQYYLPRNKKKPS	NO	A	3	18,82	-2,15	2794,02	2792,32	9,70	CCCCHHHCHHCECCCHCCCCCCC	26,09	4,35	69,57			0,93	2,43	0,99	0,56
42903_n303D4	YSSNDANINENQFYIAKCPESNIN	NO	A	3	19,76	-1,87	2703,85	2702,23	7,00	CCCCHHHCHHCHHCCCCCHCCCC	34,78	0,00	65,22			0,49	2,39	0,49	0,21
42903_n76653	YSSNDANINENQYKFKIPAKDKH	NO	A	3	17,44	-1,95	2748,97	2747,31	9,40	CCCCHHHCHHCHHCECCCHCCCC	34,78	4,35	60,87			0,02	0,33	0,39	0,22
42904_c34385	NPNIYIMHPNKRTPEKIENYKDL	NO	A	3	29,13	-1,77	2829,21	2827,41	9,50	CCCCCCCCCCCCCHHHHHHCCCC	26,09	8,70	65,22			0,71	2,06	0,26	0,93
42904_n0EC02	TPEKIENYKDLRYRSPNPKRNGG	NO	A	3	22,93	-2,06	2789,12	2787,43	10,10	CCCCHHHHHHHCCCCCHCCCCCCC	34,78	0,00	65,22						
42904_n2D432	TPEKIENYKDLFRQVNPVHGRHR	NO	A	3	26,54	-1,82	2821,18	2819,46	10,10	CCCCHHHHHHHCCCCCHCCCCCCC	39,13	0,00	60,87						
42904_n34F8D	TPEKIENYKDLFRPHPTKKGGRQ	NO	A	3	21,98	-2,13	2870,34	2868,58	10,80	CCCCHHHHHHHCCCCCHCCCCCCC	30,43	0,00	69,57						
42904_n3C69A	TPEKIENYKDLMPKPNKKGNIH	NO	A	3	33,17	-1,45	2742,22	2740,44	9,90	CCCCHHHHHCCCCCHCCCCCCCC	21,74	4,35	73,91						
42904_n473DC	TPEKIENYKDLFYSYKPKKQNP	NO	A	3	26,47	-2,03	2839,27	2837,51	10,00	CCCCHHHHHHHCCCCCHCCCCCCC	39,13	0,00	60,87						
42904_n59357	TPEKIENYKDLFFRKYTPPKPQM	NO	A	3	33,94	-1,64	2895,45	2893,56	10,50	CCCCHHHHHHHCCCCCHCCCCCCC	39,13	0,00	60,87						
42904_n722A7	TPEKIENYKDLFRNKTMRRRS	NO	A	3	29,95	-2,05	2949,35	2947,55	10,90	CCCCHHHHHHHCCCCCHCCCCCCC	34,78	0,00	65,22			0,45	0,36	0,36	0,57
42904_n72EA2	TPEKIENYKDLWRPHTRNRFRG	NO	A	3	27,30	-2,20	2893,24	2891,49	10,20	CCCCHHHHHCCCCCHCCCCCCCC	26,09	0,00	73,91			0,80	3,57	0,20	3,05
42904_n74291	TPEKIENYKDLVRRPHTRNRFRG	NO	A	3	26,12	-2,23	2934,29	2932,49	9,80	CCCCHHHHHCCCCCHCCCCCECC	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

