

Soluzione preliminare del problema 27

Problema 27) Spettrometria di massa di un peptide

Domanda A) Quanti decapeptidi di sequenza diversa si possono formare con i seguenti dieci amminoacidi? 1 × Asx, 2 × Glx, 1 × His, 1 × Ile, 4 × Pro, 1 × Trp.

A1) Se i due Glx sono uguali (2 × Glu o 2 × Gln).

Le possibili permutazioni di n AA in n posizioni sono n! In questo caso 10!

Se ci sono r amminoacidi ripetuti e quindi indistinguibili, questo valore va diviso per r!

Il decapeptide del problema ha quindi N sequenze diverse date dalla formula:

$$N = \frac{10!}{2!4!} \quad \text{quindi} \quad N = \frac{10 \cdot 9 \cdot 8 \cdot 7 \cdot 6 \cdot 5 \cdot 4 \cdot 3 \cdot 2}{2 \cdot 4 \cdot 3 \cdot 2} \quad \text{si ottiene} \quad N = 75600$$

A2) Se i due Glx sono uno Glu e l'altro Gln, si ottengono le seguenti sequenze distinte:

$$N = \frac{10!}{4!} \quad \text{da cui} \quad N = 75600 \cdot 2 \quad \text{quindi si ottiene} \quad N = 151200$$

Domanda B) Calcolare le possibili masse del polipeptide X.

La semplice somma dei 10 AA (nel caso di presenza di Asp, Glu, Glu) è $M(X) = 1377,9$.

A questo valore bisogna sottrarre 9 molecole di H₂O che vengono perse quando gli AA condensano per formare il legame peptidico e che hanno massa $9 \cdot 18 = 162$.

$$M(X) = 1377,9 - 162 = 1215,9$$

Questo polipeptide non ha amminoacidi in forma di ammidi in catena laterale. Lo chiamo M(X₀).

Se uno dei 3 AA acidi è in forma di ammidi la massa scende di una unità (NH₂ al posto di OH cioè 16 al posto di 17) e chiamo M(X₁) questo polipeptide.

Posso avere 0, 1, 2 o 3 AA in forma di ammidi quindi le masse sono:

$$M(X_0) = 1215,9 \text{ con Asp, Glu, Glu}$$

$$M(X_1) = 1214,9 \text{ con Asn, Glu, Glu, oppure Asp, Gln, Glu}$$

$$M(X_2) = 1213,9 \text{ con Asn, Gln, Glu, oppure Asp, Gln, Gln}$$

$$M(X_3) = 1212,9 \text{ con Asn, Gln, Gln}$$

Considerando $M(\text{Asp}) = M(\text{Asn}) - 1 = 132,1 - 1 = 130,1$ (nella tabella il valore è 130,0)

Domanda C) Determinare la sequenza del polipeptide X.

Si deve calcolare la differenza tra ogni ione e il precedente per ottenere la massa dello ione in quella posizione. La massa dell'amminoacido si ottiene aggiungendo 18 (H + OH). Per l'amminoacido numero 1 va aggiunto 17 (OH).

Si ottiene:

$$\text{AA1} \quad 112,2 + 17 = 129,2 \quad \text{AA?} \quad \Rightarrow \text{Mod}$$

$$\text{AA2} \quad 114,2 + 18 = 132,2 \quad \text{Asn}$$

$$\text{AA3} \quad 186,1 + 18 = 204,1 \quad \text{Trp}$$

$$\text{AA4} \quad 97,2 + 18 = 115,2 \quad \text{Pro}$$

$$\text{AA5} \quad 137,0 + 18 = 155,0 \quad \text{His}$$

$$\text{AA6} \quad 97,1 + 18 = 115,1 \quad \text{Pro}$$

$$\text{AA7} \quad 128,2 + 18 = 146,2 \quad \text{Gln}$$

$$\text{AA8} \quad 113,0 + 18 = 131,0 \quad \text{Ile}$$

$$\text{AA9} \quad 97,2 + 18 = 115,2 \quad \text{Pro}$$

L'AA10 viene determinato per differenza con la composizione nota dall'analisi di AA: Pro

Il polipeptide X ha quindi la sequenza:



Domanda D) Dedurre la massa di Mod. Questa risulta $M(\text{Mod}) = 129,2$, diversa da ogni AA noto.

Domanda E) Dedurre la struttura di Mod e interpretare gli spettri NMR.

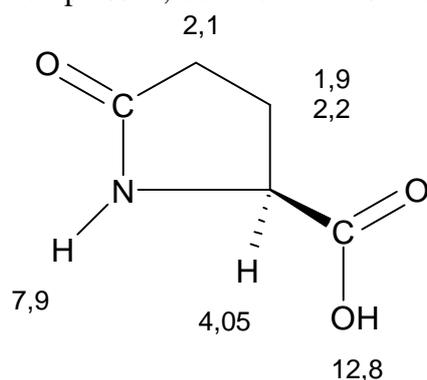
Dallo spettro ^{13}C NMR si deduce la presenza di due carboni carbonilici con delta di circa 180 ppm. Si notano poi altri tre carboni ($\text{C}\alpha$ ha $\delta = 65$) per un totale di 5 carboni.

Dallo spettro ^1H NMR si nota la presenza a $\delta = 12,8$ di un H acido (COOH), a $\delta = 7,9$ di un H ammidico. Questi sono confermati dal fatto che il loro segnale scompare nello spettro fatto in D_2O dove vengono facilmente scambiati con deuterio D^+ .

A $\delta = 4,05$ si nota il segnale dell'H sul $\text{C}\alpha$ che è compreso tra un carbonile ed un azoto e quindi è spostato a δ maggiori.

I segnali intorno a $\delta = 2$ sono dovuti agli idrogeni della catena alchilica, si tratta di due gruppi CH_2 , ma i due H vicini al $\text{C}\alpha$ non sono equivalenti perchè vedono lati opposti del carbonio (S) $\text{C}\alpha$.

Dal fatto che sono presenti due carbonili, un solo C acido, un solo C ammidico e 5 carboni complessivi, deduco che la struttura di Mod è la seguente:



Si tratta quindi di acido glutammico che si è disidratato formando una ammido ciclica.

Infatti $M(\text{Mod}) + \text{H}_2\text{O} = 129,2 + 18 = 147,2$ (Glu)

Soluzione proposta in via preliminare da

prof. Mauro Tonellato

ITIS Natta di Padova

e da

Luca Zucchini

medaglia di bronzo alle olimpiadi IChO 2008