



ISPITIVANJE
NEUROPEPTIDA
KAO SUPSTRATA
H DPP III POMOĆU
HPLC-MS

3. veljače 2020.

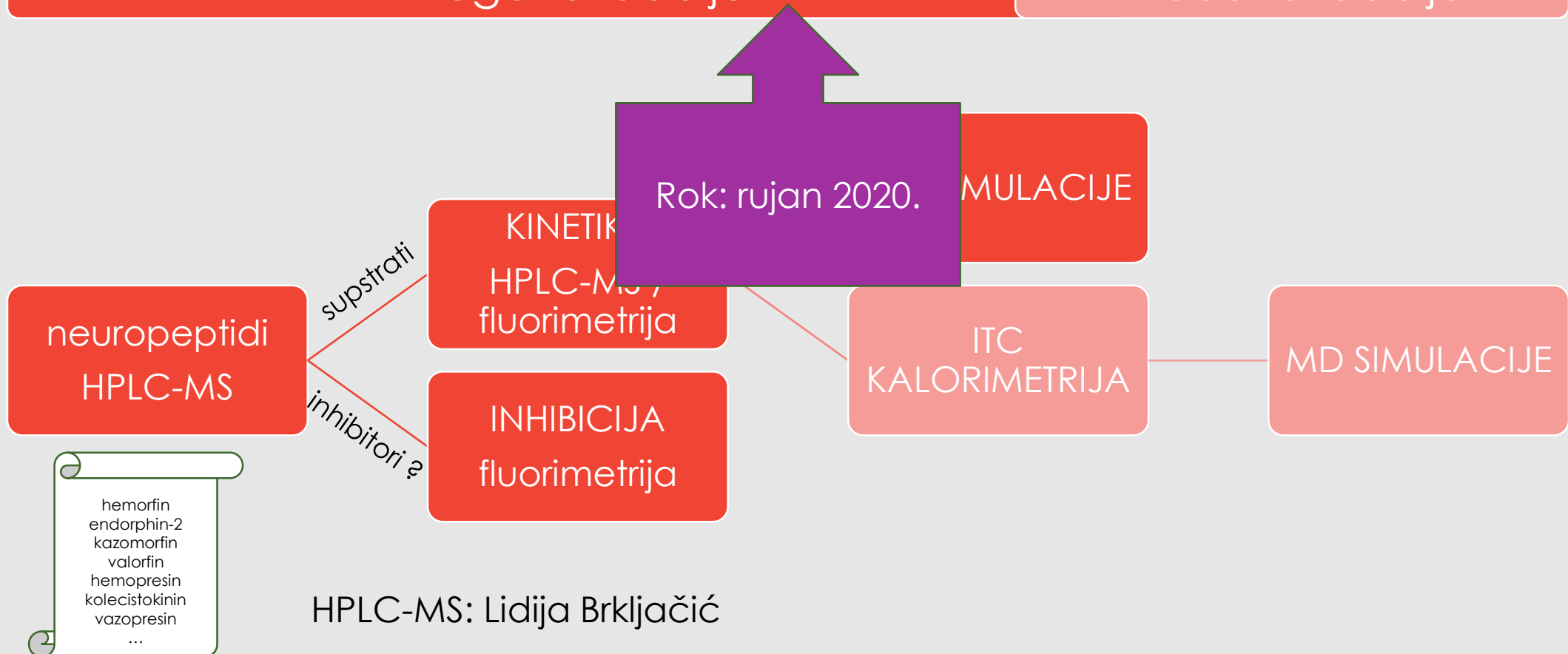
DPP3BioRe radni sastanak

Ana Tomašić Paić & Zrinka Karačić

Plan rada

Drugo razdoblje

Treće razdoblje



Odabrani neuropeptidi

Naručena sinteza
(LUMC; Leiden, Nizozemska):

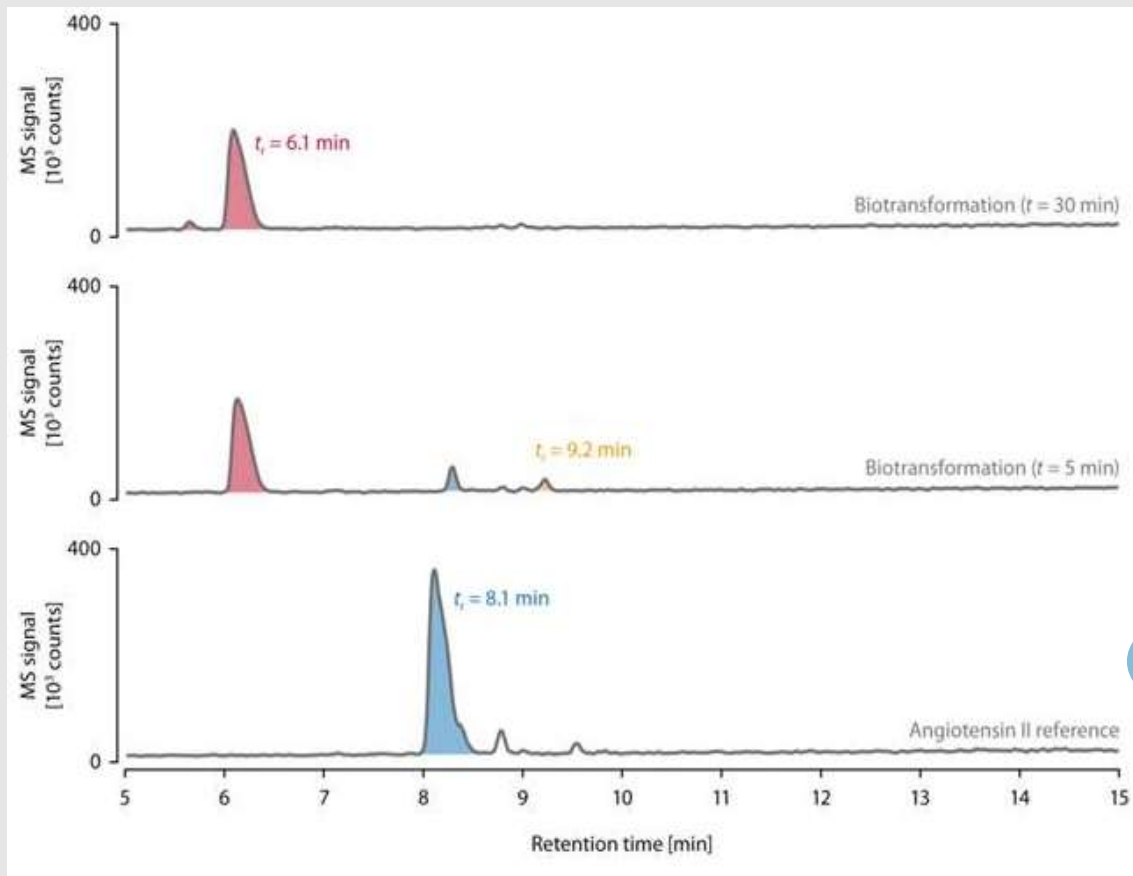
- količina: 20 μ mol
- čistoća: > 98 % (TFA-free)

Drugi peptidi:

- Met-enkefalin
- Valorfin
- Proktolin
- Oksitocin
- Tinorfin
- ?

#	ime	sekvenca	napomena	količina
1	Endomorphin 2	H-YPFF-NH ₂		
2	Hemopressin	H-PVNFKFLSH-OH		23,2 mg
3	Hemorphin-4	H-YPWT-OH		
4	Leu-valorphin-Arg	H-LVVYPWTQR-OH		4,9 mg
5	β -casomorphin	H-YPFVEPI-OH		9,2 mg
6	Vasopressin	H-C(1)YFQNC(1)PRG-NH ₂	Disulfidni most!	10,2 mg
7	β -neoendorphin	H-YGGFLRKYP-OH		
8	Dynorphin A (1-8)	H-YGGFLRRI-OH		4,9 mg
9	Cholecistokinin	H-DYMGWMDF-NH ₂	H-Asp-Tyr(SO ₃ H)-Met-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH ₂	2,1 mg

Analiza reakcije– primjer Ang II



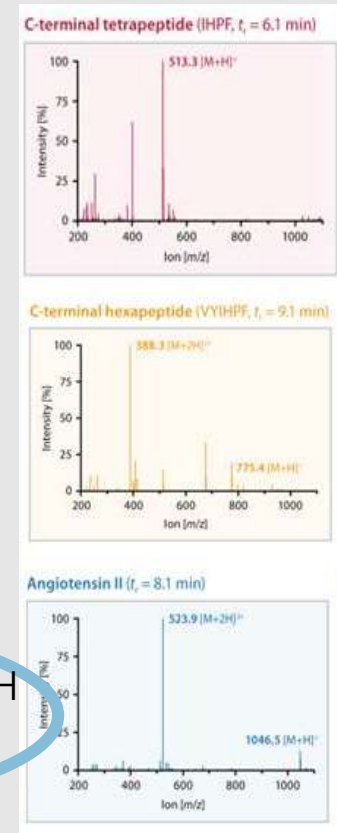
enzimska reakcija

Asp-Arg + Val-Tyr + Ile-His-Pro-Phe

Asp-Arg + Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe

H-Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-OH

Mr=1046.2 g/mol



HPLC-MS TIMELINE



**ISPITIVANJE
REAKCIJSKIH UVJETA**



**TESTIRANJE
NEUROPEPTIDA**



**KINETIKA ZA SUPSTRATE I
K_i ZA INHIBITORE
(FLUORIMETAR)**

HPLC-MS TIMELINE



**ISPITIVANJE
REAKCIJSKIH UVJETA**

ožujak 2020.



**TESTIRANJE
NEUROPEPTIDA**

proljeće 2020.?



**KINETIKA ZA SUPSTRATE I
K_i ZA INHIBITORE
(FLUORIMETAR)**

Eventualni problemi



ISPITIVANJE
REAKCIJSKIH UVJETA

- X mala količina peptida
- X loši supstrati
- X nečisti supstrati



TESTIRANJE
NEUROPEPTIDA

- X kvantifikacija?
- X prebrza reakcija?
- X ...



KINETIKA ZA SUPSTRATE I
 K_i ZA INHIBITORE
(FLUORIMETAR)



DODATNI PEPTIDI ZA TESTIRANJE?

SUGESTIJE ZA PLAN RADA?