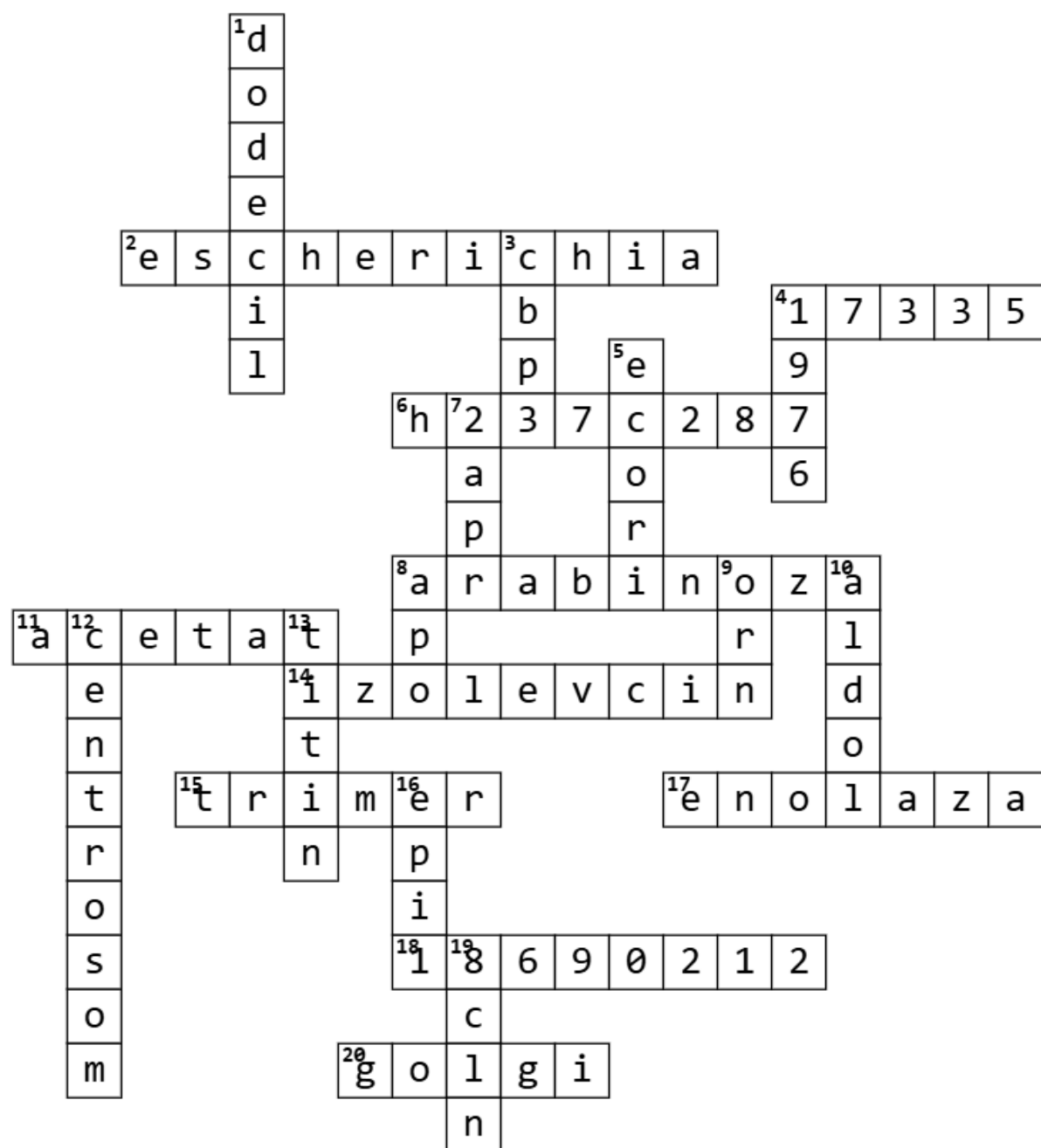


Biokemija Times križanka

Rešitve

Vodoravno	Navpično
2 rodovno ime ekspresijskega sistema, v katerem je bil izražen protein bakterije <i>Thermus thermophilus</i> za določitev strukture. Protein je analog PEP karboksikinaze iz <i>E. coli</i>	1 natrijev ____ sulfat, uporaben pri PAGE
4 leto, ko je bila v PDB objavljena prva struktura določena z rentgensko difrakcijo	3 gen, ki kodira histonsko acetiltransferazo pri <i>C. elegans</i>
6 aminokislina v aktivnem mestu človeške kaspaze 9, ki sodeluje v apoptozi (enočrkovna oznaka + zaporedna številka ak)	4 ekstincijski koeficient človeškega inzulina pri običajnih redoks pogojih
8 to spojino moraš dodati v raztopino plazmida pBAD24, da se bo izražal vključek v multipli klonirni regiji	5 restrikcijska endonukleaza, ki cepi oligonukleotide CTTGGAGAATTCTAGGTCA, AAGTCCGAATCCCATAC ATAGCAGAATTCAATGCT (namig: poglej kaj imajo ta zaporedja skupnega, restriktaza ima v uniprot v opisu funkcije anotirano to prepoznavno mesto)
11 konjugirana baza v pufru, v katerem je človeška PEP karboksikinaza elektronevtralna. Na izbiro so: acetatni (pH: 3,8-5,8), boratni (pH: 8,25-10,25) in Tris/HCl pufer (pH: 7,2-9,0)	7 koda PDB za strukturo aspartatne proteinaze (aspartic proteinase) iz glive <i>Rhizopus chinensis</i> , ki ima najboljšo resolucijo
14 najpogostejša aminokislina v človeškem srčnomišičnem aktinu 1 (actc1)	8 oblika proteina, brez vezanega koencima
15 oligomerno stanje spike proteina SARS-COV19	9 kratica za neproteinogeno aminokislino, udeleženo v ciklu uree
17 temu človeškemu proteinu je podoben protein, ki ga v genomu <i>Thermobifida fusca</i> YX najdemo pod oznako lokusa (locus_tag) Tfu_0960 (namig: poglej domene)	10 substrat encima, ki razbija fruktozo-1,6-bisfosfat v dihidroksiacetonfosfat in gliceraldehid-3-fosfat (namig: pomagaj si z imenom encima)
18 PubMedID (PMID) za članek, ki eksperimentalno potrdi hidroksilacijo prolina v človeškem proteinu, ki tvori kompleks z RISC	12 predel zraven jedra, kjer je vezan gama-tubulin
20 prva beseda imena monomernega proteina, ki ima določeno strukturo, njegova dolžina se razlikuje za največ 10 ostankov, njegova masa pa za največ 2 kDa (zaokroženo na 1kDa) različno od monomera DSR2 (<i>Bacillus subtilis</i>). Izberi prvi zadetek.	13 največji človeški protein
	16 protein <i>C. elegans</i> , ki je najbolj podoben proteinu usherinu iz malega modrega pingvina (little blue penguin)
	19 koda PDB za SeMet modificiran protein bakterije <i>Streptomyces coelicoflavus</i> , ki je najbolj podoben epoksid hidrolazi 3 (epoxide hydrolase 3-like) severnega medveda (<i>Ursus maritimus</i>)



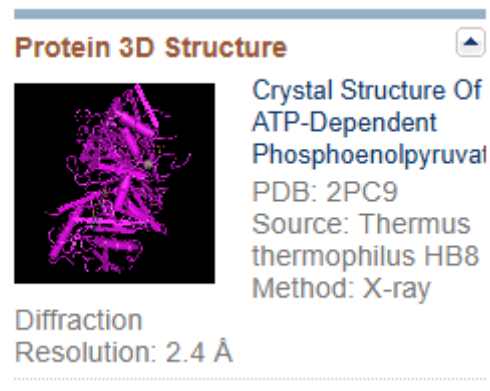
Postopki nalog

1 natrijev ____sulfat, uporaben pri PAGE

Gre seveda za natrijev dodecilsulfat.

2 rodovno ime ekspresijskega sistema, v katerem je bil izražen protein bakterije *Thermus thermophilus* za določitev stukture. Protein je analog PEP karboksikinaze iz *E. coli*

Analog pri *E. coli* (UniProt: P22259), blastp po zbirki pdb z organizmom *Thermus thermophilus*, izbereš edini zadetek, na desni strani GenBank strani najdeš:



3 en izmed genov, ki kodira histonsko acetiltransferazo pri *C. elegans*

GenBank, izbereš, da gre za gene, v iskalnik napišeš histone acetyltransferase in ime organizma. Obstaja več takih genov, mi izberemo tega, ki se ujema z ostalimi črkami v križanki (cbp3).

4 (navpično) ekstincijski koeficient človeškega inzulina pri običajnih redoks pogojih

P01308, ProtParam, ekstincijski koeficient pri oksidiranih cisteinih (vsi cisteini v nativnem inzulinu so oksidirani – PTM).

4 (vodoravno) leto, ko je bila v PDB objavljena prva struktura določena z rentgensko difrakcijo

Napredno iskanje, izbereš X-ray diffraction kot eksperimentalno metodo, zadetke razporediš od najstarejšega do najmlajših.

5 restrikcijska endonukleaza, ki cepi oligonukleotide CTTGGAGAATTCTAGGTCA, AAGTCCGAATTCCCATAC ATAGCAGAATTCAATGCT (namig: poglej kaj imajo ta zaporedja skupnega, restriktaza ima v uniprot v opisu funkcije anotirano to prepoznavno mesto)

Narediš poravnavo več zaporedji (Clustal Omega), dobiš:

CLUSTAL O(1.2.4) multiple sequence alignment

```
2      AAGTCCGAATTCCCATAC-      18
1      CTTGGAGAATTCTAGGTCA      19
3      ATAGCAGAATTCAATGCT-      18
      .:      .***** .
```

Prepoznavno zaporedje je torej GAATTC (je palindromo, kar je smiselno), napredno iskanje na UniProt, pod 'Function [CC]' vpišeš GAATTC, izbereš EcoRI.

6 aminokislina v aktivnem mestu človeške kaspaze 9, ki sodeluje v apoptozi (enočrkovna oznaka + zaporedna številka ak)

Uniprot (P55211), Function, H237 in C287

7 koda PDB za strukturo aspartatne proteinaze (aspartic proteinase) iz glive *Rhizopus chinensis*, ki ima najboljšo resolucijo

Napredno iskanje, 2APR.

8 (navpično) oblika proteina, brez vezanega koencima

Encim je v apo obliki.

8 (vodoravno) to spojino moraš dodati v raztopino plazmida pBAD24, da se bo izražal vključek v multipli klonirni regiji

GenBank, v iskalnik vpišeš pBAD24, izbereš plazmide.

```
regulatory      1250..1277
                /regulatory_class="promoter"
                /note="PBAD promoter"
misc feature     1300..1366
                /note="multiple cloning site"
```

Arabinozni promotor se nahaja pred MCS, za indukcijo je potrebno dodati arabinozo.

9 kratica za neproteinogeno aminokislino, udeleženo v ciklu uree

Gre za ornitin, kratica orn.

10 substrat encima, ki razbija fruktozo-1,6-bisfosfat v dihidroksiacetonfosfat in gliceraldehid-3-fosfat (namig: pomagaj si z imenom encima)

Gre za aldolazo (encim glikolize), substrati so aldoli.

11 konjugirana baza v pufru, v katerem je človeška PEP karboksikinaza elektronevtralna. Na izbiro so: acetatni (pH: 3,8-5,8), boratni (pH: 8,25-10,25) in Tris/HCl pufer (pH: 7,2-9,0)

P35558, ProtParam, izoelektrična točka je pri $pI = 5,8$, primeren pufer bo acetatni, konjugirana baza je acetat.

12 predel zraven jedra, kjer je vezan gama-tubulin

Q9NRH3, Subcellular Location, centrosom.

13 največji človeški protein

UniProt, v iskalnik vpišeš Homo sapiens, razvrstiš po velikosti.

14 najpogostejša aminokislina v človeškem srčnomišičnem aktinu 1 (actc1)

V iskalnik na UniProtu vpišeš actc1 (P68032), ProtParam, največji procent aminokislin je pri izolevcinu (8,0 %).

15 oligomerno stanje spike proteina SARS-COV19

V PDB zbirki je očitno da so trimerni.

16 protein C. elegans, ki je najbolj podoben proteinu usherinu iz malega modrega pingvina (little blue penguin)

UniProt (A0A8J4K2V9), aminokislinsko zaporedje se najde na GenBank preko povezave pod poglavjem Sequence, blastp (nr zbirka, C. elegans), epi1.

17 temu človeškemu proteinu je podoben protein, ki ga v genomu Thermobifida fusca YX najdemo pod oznako lokusa (locus_tag) Tfu_0960 (namig: poglej domene)

GenBank, Thermobifida fusca YX complete genome, poiščeš (najbolje kar z CTRL+F) Tfu_0960, CDS kodira o-sukcinilbenzoat sintazo, to lahko poiščeš najprej v UniProt in najdeš enolazi podobne domene, ali pa kar direktno preko povezave na InterPro iz GenBank. Podoben protein je torej enolaza.

```

gene      complement(1125565..1126695)
          /locus_tag="Tfu_0960"
CDS       complement(1125565..1126695)
          /locus_tag="Tfu_0960"
          /EC_number="4.2.1.-"
          /inference="non-experimental evidence, no additional
          details recorded"
          /codon_start=1
          /transl_table=11
          /product="O-succinylbenzoate synthase"
          /protein_id="AAZ54998.1"
          /db_xref="InterPro:IPR000941"

```

18 PubMedID (PMID) za članek, ki eksperimentalno potrdi hidroksilacijo prolina v človeškem proteinu, ki tvori kompleks z RISC

Napredno iskanje UniProt, iščeš človeški protein z modificiranim ak-ostankom (PTM/Modified Residue) 'hydroxyprolin', ki interagira z RISC. Q9UKV8, pod PTM najdeš hidroksiprolin in povezavo do članka, kjer je bila modifikacija potrjena.

4-hydroxyproline UniRule Annotation 1 Publication

Manual assertion based on experimentⁱ

Prolyl 4-hydroxylation regulates Argonaute 2 stability.

Qi H.H., Ongusaha P.P., Myllyharju J., Cheng D.,

[PubMed](#)
[Europe PMC](#)
[Nature 455:421-424 \(2008\)](#)

Cited in Mapped to

19 koda PDB za SeMet modificiran protein bakterije *Streptomyces coelicoflavus*, ki je najbolj podoben epoksid hidrolazi 3 (epoxide hydrolase 3-like) severnega medveda (*Ursus maritimus*)

Na GenBank poiščeš epoksid hidrolazo 3 severnega medveda, blastp po zbirki PDB za *Streptomyces coelicoflavus*:

<input checked="" type="checkbox"/> select all 2 sequences selected GenPept Graphics Distance tree of results Multiple alignment MSA Viewer									
	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Chain A, Hydrolase [Streptomyces coelicoflavus]	Streptomyces coelicoflavus	42.7	42.7	59%	5e-09	27.46%	315	8CLN_A
<input checked="" type="checkbox"/>	Chain A, Hydrolase [Streptomyces coelicoflavus]	Streptomyces coelicoflavus	42.4	42.4	59%	5e-09	27.46%	315	8CLP_A

Izmed obeh PDB ima le prva SeMet modificiran protein.

20 prva beseda imena monomernega proteina, ki ima določeno strukturo, njegova dolžina se razlikuje za največ 10 ostankov, njegova masa pa za največ 2 kDa (zaokroženo na 1kDa) različno od monomera DSR2 (*Bacillus subtilis*). Izberi prvi zadetek.

UniProt, DSR2 (P0DXN8) ima 1005 ak ter 118 kDa. Napredno iskanje po PDB, nastavimo omejitve:

Structure Attributes	
	Polymer Entity Molecular Weight
x	range (upper incl.)
116	to 120
AND	Polymer Entity Sequence Length
x	range (upper incl.)
995	to 1015

Iz izberemo prvi zadetek – Golgi alpha-manosidase II.