

## REŠITVE

Egiptovski sadni netopir (*Rousettus aegyptiacus*), je svoje ime dobil po značilni prehrani s sadjem in je vrsta netopirjev, ki jo zelo pogosto najdemo v Aziji in Afriki.

1. Koliko člankov vsebuje v naslovu ime organizma?

The screenshot shows the PubMed search interface. The search bar contains '(Rousettus aegyptiacus[Title])'. Below the search bar are links for 'Advanced', 'Create alert', and 'Create RSS'. On the right, there is a 'Search' button and a 'User Guide' link. Below the search bar, there are buttons for 'Save', 'Email', and 'Send to'. To the right of these buttons is a 'Sort by:' dropdown menu set to 'Most recent', and a 'Display options' button with a gear icon. At the bottom, there is a 'MY CUSTOM FILTERS' link, a '127 results' count, and a pagination bar showing 'Page 1 of 13' with navigation arrows.

2. Koliko izmed teh člankov je na temo kliničnih poskusov?
  - Takoj ko pod filtri označimo 'Clinical Trial' nam odpre članek. Odgovor je ena.

Hemoglobin tega netopirja ima alfa in beta verigo. Znanstveniki so naredili poravnavo s človeškim hemoglobinom. Primerjava je pokazala razliko v 14 aminokislinskih ostankih v alfa verigi in 19 v beta verigi. Glede na filogenetsko razdalijo teh dveh organizmov, je razlika zelo majhna.

3. Poišči beta-podenoto hemoglobina netopirja.
  - Zapiši Uniprot ID: **P02058**
  - Koliko ak ostankov tega proteina je modificiranih? : **7**

+	Modified residue	1	N-acetylvaline	<a href="#">By Similarity</a>
+	Chain	PRO_0000053094	1-146	Hemoglobin subunit beta
+	Modified residue	12	Phosphothreonine	<a href="#">By Similarity</a>
+	Modified residue	44	Phosphoserine	<a href="#">By Similarity</a>
+	Modified residue	59	N6-acetyllysine	<a href="#">By Similarity</a>
+	Modified residue	82	N6-acetyllysine	<a href="#">By Similarity</a>
+	Modified residue	93	S-nitrosocysteine	<a href="#">By Similarity</a>
+	Modified residue	144	N6-acetyllysine	<a href="#">By Similarity</a>

4. Katera poravnava netopirjeve in človeške beta-podenote hemoglobina nam da večji odstotek identičnih aminokislinskih ostankov? Pojasni.
  - Naredimo lokalno in globalno poravnavo z orodjem emboss. Vidimo, da je odstotek identičnosti višji pri lokalni. Razlog je v tem, da je človeška podenota za eno aminokislino daljša, zato orodje pri lokalni poravnavi to aminokislino izpusti.

## Poravnava Needle – globalna

```
# Length: 147
# Identity:      127/147 (86.4%)
# Similarity:    135/147 (91.8%)
# Gaps:          1/147 ( 0.7%)
# Score: 670.0
#
#
#=====
```

## Poravnava Water – lokalna

```
# Length: 146
# Identity:      127/146 (87.0%)
# Similarity:    135/146 (92.5%)
# Gaps:          0/146 ( 0.0%)
# Score: 670.0
#
#
#=====
```

5. Kateri drug organizem ima protein, ki je po dolžini enak netopirjevemu hemoglobinu in ima najvišji odstotek identičnosti?
- **Pteropus vampyrus (Large flying fox)**

Sequences producing significant alignments									
Download Select columns Show 100 ?									
select all 100 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"/>	hemoglobin subunit beta [Rousettus aegyptiacus]	Rousettus aegy...	297	297	100%	2e-101	100.00%	147	XP_015991494.1
<input checked="" type="checkbox"/>	RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-globin; AltName: Full=Hemoglobin beta chain [...]	Rousettus aegy...	297	297	100%	3e-101	100.00%	146	P02058.1
<input checked="" type="checkbox"/>	TPA: globin A2 [Pteropus vampyrus]	Pteropus vampy...	294	294	100%	3e-99	97.26%	193	SAI82279.1
<input checked="" type="checkbox"/>	hemoglobin subunit beta-like [Pteropus alecto]	Pteropus alecto	291	291	100%	8e-99	97.26%	147	XP_006915761.2
<input checked="" type="checkbox"/>	hemoglobin subunit beta [Pteropus alecto]	Pteropus alecto	289	289	100%	5e-98	96.58%	147	XP_006915760.1
<input checked="" type="checkbox"/>	RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-globin; AltName: Full=Hemoglobin beta chain [...]	Pteropus vampy...	289	289	100%	5e-98	96.58%	146	D0VX08.1
<input checked="" type="checkbox"/>	hemoglobin beta-like protein, partial [Apibacter sp. B3889]	Apibacter sp. B3...	290	290	100%	5e-98	95.21%	162	WP_2214111036.1
<input checked="" type="checkbox"/>	hypothetical protein [Apibacter sp. B3889]	Apibacter sp. B3...	288	288	100%	1e-97	95.21%	147	MXO42620.1
<input checked="" type="checkbox"/>	hemoglobin subunit beta [Pteropus vampyrus]	Pteropus vampy...	287	287	100%	3e-97	95.89%	147	XP_023380644.1
<input checked="" type="checkbox"/>	RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-globin; AltName: Full=Hemoglobin beta chain [...]	Pteropus polio...	286	286	100%	4e-97	95.89%	146	P14392.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Hemoglobin subunit beta [Pteropus alecto]	Pteropus alecto	290	556	100%	3e-95	96.58%	363	ELK09417.1
<input checked="" type="checkbox"/>	RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-globin; AltName: Full=Hemoglobin beta chain [...]	Macroderma gigas	281	281	100%	8e-95	93.15%	146	P24660.1
<input checked="" type="checkbox"/>	hemoglobin subunit beta [Mustela erminea]	Mustela erminea	279	279	100%	5e-94	92.47%	147	XP_032213313.1

Kaj je funkcija hemoglobina?

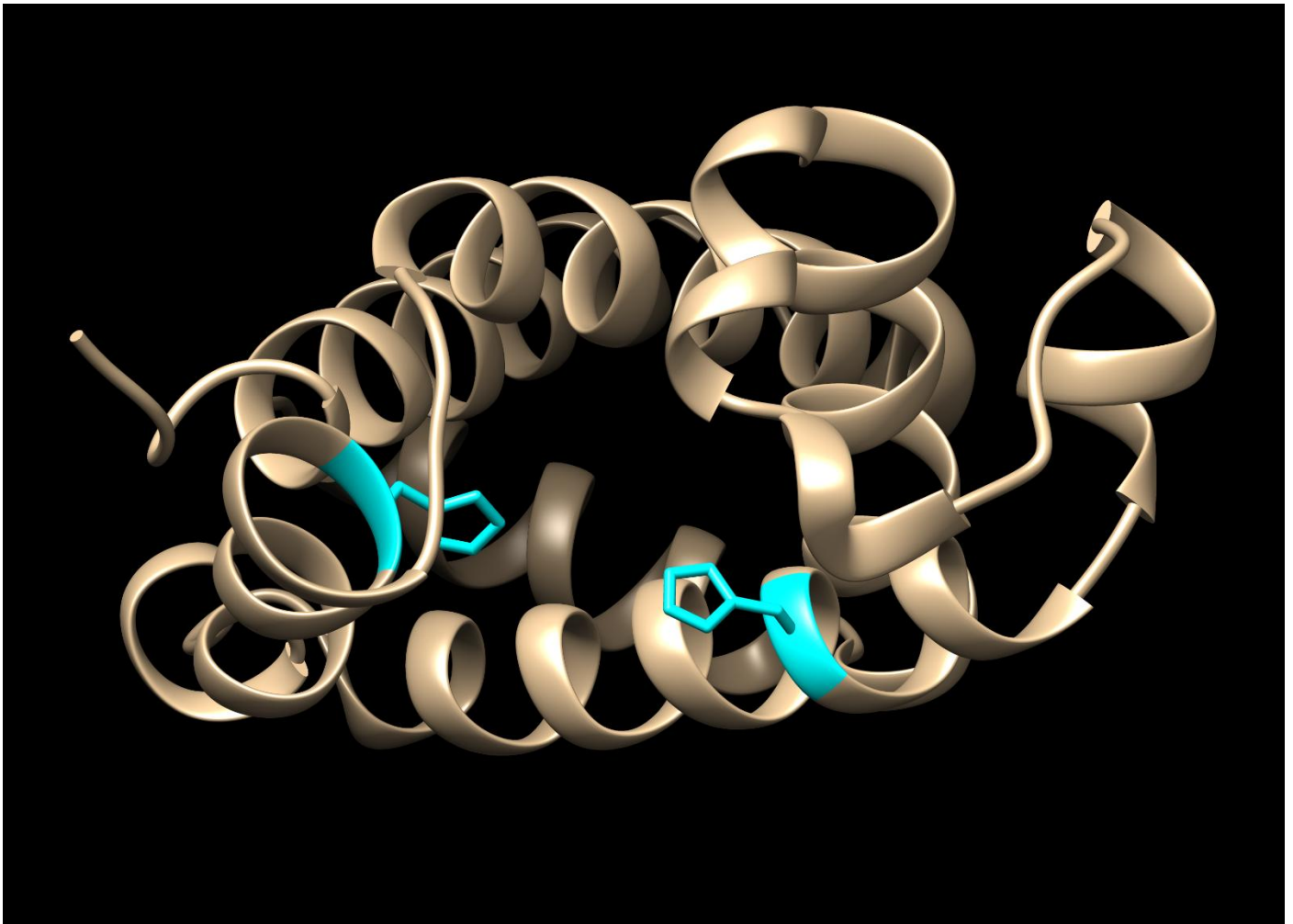
Hemoglobin se nahaja v rdečih krvničkah. Njegova naloga je, da po krvi prenaša kisik od pljuč do ostalih delov telesa.

6. Kateri aminokislinski ostanek znotraj beta podenote netopirjevega hemoglobina moramo spremeniti, da protein izgubi svojo funkcijo?
- Histidin na 63 in histidin na 92.

-	Binding site	63	Fe (UniProtKB)
Sequence: H			
-	Binding site	92	Fe (UniProtKB)
Sequence: H			

S pomočjo AlphaFolda najdi predvideno strukturo in te aminokislinske ostanke označi z drugo barvo. Prilepi sliko.

- Mol\*: odpremo protein, označimo ak ostanke v ak zaporedju na vrhu, izberemo ikono s čopičem in pobarvamo.
- Chimera: v komandni vrstici lahko označimo izbran ak ostanek z ukazom 'select : 63/92'. Ko ga izberemo ga obarvamo pod zavihkom 'Actions' in nato pod istim zavihkom izberemo 'show', da se pokažeta stranski verigi na ak ostankih.



Kakšen je naboj aminoskislinskih ostankov netopirjevega hemoglobina v krvi?

- Pozitiven; pH krvi je okoli 7,3 – 7,4; izoelektrična točka proteina je 8,56(ProtParam), torej je kri za protein kislo okolje.

**Number of amino acids: 146**

**Molecular weight: 15955.37**

**Theoretical pI: 8.56**

Kolikšen je ekstinkcijski koeficient za ta protein?

- Cisteini so reducirani – to vidiš v UniProtu (oz. vidiš, da ni disulfidnih mostičkov, torej niso oksidirani), torej je 15470.

### Extinction coefficients:

Extinction coefficients are in units of  $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , at 280 nm measured in water.

Ext. coefficient 15595

Abs 0.1% (=1 g/l) 0.977, assuming all pairs of Cys residues form cystines

Ext. coefficient 15470

Abs 0.1% (=1 g/l) 0.970, assuming all Cys residues are reduced

Netopirji so pogosto prenašalci različnih bolezni. Egipčovski sadni netopirji so naravni gostitelji Marburg virusa, ki napada fagocitične in epitelne celice. Simptomi okužbe so hemoragična mrzlica in odpoved jeter, okužbe možganov in težave s koagulacijo krvi.

### 7. Poišči celotno kodirajoče zaporedje protein VP-35 iz tega virusa.

V GenBanku poiščemo zapis za genom marburg virusa. **Marburg virus strain M/S.Africa/Johannesburg/1975/Ozolin, complete sequence**

- Za koliko aminokislinskih ostankov kodira ta gen? : 329

```
gene      2964..3953
          /gene="VP35"
CDS       2964..3953
          /gene="VP35"
          /note="putative minor component of RNA-dependent RNA-
          polymerase"
          /codon_start=1
          /product="VP35 protein"
          /protein_id="AAQ55256.1"
          /translation="MWDSSYMQQVSEGLMTGKVPIDQVFGANPLEKLYKRRKPKGTVG
          LQCSPCLMSKATSTDDIWDQLIVKKTLDLLIPINRQISDIQSTLSEVTTRVHEIER
          QLHEITPVLKMGRTLEAISKGMSEMLAKYDHLVISTGRTTAPAAAFDAYLNEHGVPPP
          QPAIFKDLGVAQQACSKGTMVKNATDAADKMSKVLSEETFSKPNLSAKDLALLF
          THLPGNPTPHILAQVLSKIAYKSGKSGAFDAFHQILSEGENAQAALTRLSRTFADF
          LGVPPVIRVKNFQTVPRPCQKSLRAVPPNPTIDKGWVCVYSSEQGETRALKI"
          -----
```

- S katero metodo so pridobili strukturo tega proteina? : X-ray diffraction
- Kateri ekspresijski sistem so uporabili? : E. Coli, sev BL-21(DE3)
- Iz koliko različnih podenot je sestavljen protein? : iz 1. Gre za HOMO-tetra-mer, torej je iz 4 enakih podenot.



### 4GHA | pdb\_00004gha

Crystal structure of Marburg virus VP35 RNA binding domain bound to 12-bp dsRNA

PDB DOI: <https://doi.org/10.2210/pdb4GHA/pdb> NAKB: 4GHA

Classification: **VIRAL PROTEIN, RNA BINDING PROTEIN/RNA**

Organism(s): Marburg virus - Musoke, Kenya, 1980

Expression System: Escherichia coli

Mutation(s): Yes

Deposited: 2012-08-07 Released: 2012-08-22

Deposition Author(s): Bale, S., Jean-Philippe, J., Bornholdt, Z.A., Kimberlin, C.K., Halfmann, P., Zandonatti, M.A., I. Y., MacRae, I.J., Wilson, I.A., Saphire, E.O.

#### Experimental Data Snapshot

Method: X-RAY DIFFRACTION

Resolution: 2.50 Å

R-Value Free:  
0.250 (Depositor), 0.250 (DCC)

R-Value Work:  
0.209 (Depositor), 0.210 (DCC)

R-Value Observed:  
0.211 (Depositor)

Starting Model: experimental

[View more details](#)

#### wwPDB Validation

