

Ljudje imamo sposobnost sinteze proteina C16orf58. Tvoj mrož Ambrož (*Odobenus rosmarus*) ima redko genetsko okvaro, kjer mu primanjkuje tega proteina. Kot Biokemik mu želiš pomagati in se zato lotiš raziskovanja tega proteina v UniProtu.

1. Podaj UniProt kodo človeškega proteina, njegovo velikost in druge ime (kratico).

Q96GQ5, 468 ak, RUSF1

2. Podaj dolžino celotnega mRNA zaporedje mroževega proteina

1808 bp

ORIGIN

```

1 gagggcccagc tgtgctccga gcagttcggg tccggggcgg cccggggcgt cctcgccgcc
61 gccgatggga gcctgcagtg ggagatttcg ggggtggcgt ggtggggggt ctctgggccc
121 ttcacagtaa aacccaagg acgggatggc ggcgcagggg gggctcccgg gactgcttca
181 ccacctctct ceggtctcat ggccgtgttc ctgccgcagg gcttccccga tagcgtcage
241 ccggactacc tgccctacca gctgtgggat tccgtgcagg cctttgcttc cagcctctca
301 ggctccctgg ccacccatgc agtcttgctg ggcatagggg tggggaacgc aaaagcttct
361 gtttcagctg cactgccac ctgggttggt aaagattcaa ctggcatgct gggccgcac
421 atctttgcct ggtggaaggg gagtaaatg gactgcaatg ccaagcagtg gaggcttttt
481 gctgatatcc tcaacgatgt agccatgttc ctcgagatta tggctcccat atatccagtc
541 tttttcacca tgaccgtctg taccagcaac ctggccaagt gcattgtgag cgtggctggg
601 ggggccactc gggctgccct gaccatgcac caggccagga gaaacaacat ggctgatgtg
661 tcagccaagg acagcagcca ggagacattg gtaaacctgg cagggtccct ggtcagcctc
721 ttgatgcttc ccctggtgtc agcttgccct agctttagcc tcagttgttt cttcttcctc
781 accgcccttc acatctacgc caactaccgg gcagtcagag cccttgctct agagaccttg
841 aatgaaggcc ggctccggct ggtcctgaag cacttccttc agaggggaga ggtacttggc
901 cccacctcag ctaatcagat ggagccactg tggacagggt tttggcgtc tctgtctcta
961 tccctggggg tccccctaca ccgcttgatc tccagcgtct ttgagctgca acagctgggt
1021 gagggacacc aagaacccta cctccttcgc tgggaccagt caaaaacca ggtgcaagtt
1081 gttttgagcc agatggcagg ccctgaaacc atcctaaggg ctgccataca tggactgggtg
1141 cttgaagccc tgcagggaga tgggccctg ccaagagaac tggaggaact gaggaaccga
1201 gtacgggcag gtccctgagaa agagagctgg gtcacgtcga gggagacaca ccgagtgttg
1261 gacaggctat tcccaaagtt cttgaaagga ctgcaggatg caggctggaa gactgagaag
1321 caccagctag aggtggatga gtggagggcc acatggcttc tctctccgga aaagaagatc
1381 ttgtgagcag ccagataga ggcccaggtc ccaggatagg agcctggagc aagcacactt
1441 tggccacagc aggatgtggg aacagcggtt ttattttcgc tcaggggaac tgetgtggca
1501 gtttggccaa ggctcatggt gctataactg ccagtcagag ggacagggcc cccagacaga
1561 gatgacgtgg agagaagggg aaccagggcc taccctctcc cgtcctgcc gttctccctt
1621 ctcaccactg caggctcctc atgcccattc attgtgaggc tgagccctgc cctggctgtg
1681 gctcatggtg tccaacagag ttggcctcag gcataaaagc cccagaggaa cgtggccaca
1741 gccatcatta gcaaggcatt gaagttgacc acacgggccc agctcgagtc ctcgctgatg
1801 tcctccag

```

//

3. Ker si študent brez denarja in je oskrba mroža zelo draga, poskusiš sintetizirati protein sam, in sicer v E.Coli. Ugotovili smo, da prvih posttranslacijske modifikacije na prvih 50 ak nimajo bistvenega vpliva na delovanje. Ali je mogoče narediti ekspresijo bakterijskem ekspresijskem sistemu, utemelji? Kolikšna je najkrajša funkcionalna dolžina DNA vključka za plazmidni vektor, vsebovati mora start kodon in heksahistidinsko oznako.

Da, na 2 in 49 mestu sta edini PTM, kar pomeni, da nezmožnost bakterije, da izvede PTM ne bo vplivala na funkcionalnost proteina.

1425bp.

4. Vključek boš vstavil v vektor pUC19 v MCS. Na voljo imaš restriktaze Bfal, CviQI, EcoRI. Katero od teh bi izbral in zakaj? Pomagaj si z orodjem NEBcutter 3.0. Kaj moraš DNA vključku še dodati, da ga boš lahko z izbrano restriktazo sploh vstavil v vektor?

EcoRI. Drugi dve restriktazi režeta nekje v sekvenci vključka. Dodati moramo primerne lepljive konce (GAATTC).

5. Koliko baznih parov je velik nov vektor z vključkom?

4117bp