

1. Rezistenco proti katerim antibiotikom omogočajo ti encimi? Kakšen je njihov način delovanja?

ESBL omogoča odpornost bakterije na peniciline in prvo, drugo, tretjo in četrto generacijo cefalosporinov (antibiotiki, ki vsenujejo beta laktam). Delujejo tako, da beta-laktam hidrolizirajo do substituirane beta-amino kisline.

2. Poišči ESBL *Escherichia coli* in *Pseudomonas aeruginosa*. Ali je aktivno mesto laktamaze pri vseh treh enako? Kakšna je vloga aminokislinskih ostankov aktivnega mesta?

Aktivno mesto vseh treh bakterij vsebuje serin, ki deluje kot nukleofil. Pri *E.coli* sta v aktivnem mestu še lizin in glutamat, ki delujeta kot akceptorja protona ter serin, ki deluje kod donor protona.

3. Za extended spectrum beta-lactamase OXA naredi model - A0A345GSJ4 (SWISS MODEL/Alpha Fold...) ter ga primerjaj z dobro anotiranim ESBL proteinom *Klebsiella pneumoniae*. Kakšne razlike/podobnosti opaziš. Primerjaj še z strukturo ESBL iz *Escherichia coli* in *Pseudomonas aeruginosa*.

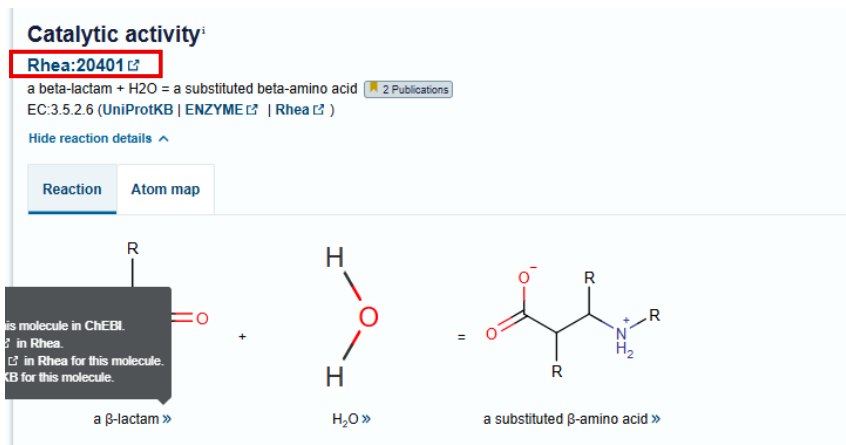
SWISSMODEL - OXA v primerjavi z dobro anotiranim ESBL modelom *K. pneumoniae* (KP): OXA ima krajše zaporedje; "sredinska beta ploskev" se precej pokriva, v obeh primerih je antiparalelna. Prav tako opazimo podobnost pri položaju alfa vijačnic, vendar so te v primerjavi z KP nekoliko krajše, so tudi pod nekoliko drugačnim kotom. Pri OXA so zanke daljše (več neurejenih delov); določeni deli, ki pri KP zavzemajo neko urejeno strukturo pri OXA ne. Ddobro anotiran model tvori dimer.

Podobno je tudi za modela *E.coli* in *P. aeruginosa*. Protein *E.coli* tvori trimer.

4. Ali bi lahko ESBL OXA in dobro anotirani ESBL *K. pneumoniae* ločil z anionsko izmenjevalno kromatografijo? Razloži.

Da,  $pI(\text{oxa}) = 8,73$ ,  $pI(\text{GES-1}) = 6,24$ . Torej pri pH med 6,24 in 8,73 ima dobro anotirani ESBL negativen naboj, medtem ko ima OXA pozitiven naboj. Ta razlika v naboju omogoča ločitev proteinov z anionsko izmenjevalno kromatografijo.

5. Pod katalitično aktivnostjo imaš ID za spletno orodje Rhea, ki podaja podrobnejši opis reakcij. V koliko reakcijah je še vključen  $\beta$ -laktam? Koliko proteinov katalizira to reakcijo? (Namig: S pomočjo ChEBI kode, ki jo lahko najdeš pri reakciji v Uniprotu, poišči reakcijo, ki opisuje hidrolizo  $\beta$ -laktamskega obroča)



- V 26 reakcij

## Reaction participants << Hide

Name <a href="#">?</a>	a β-lactam
Identifier	CHEBI:35627
Charge	0
Formula	C3H2NOR3
SMILES <a href="#">?</a>	C1(C(N(*)C1*)=O)*
2D coordinates	<a href="#">Mol file for the small molecule</a>
Search links	<a href="#">Involved in 26 reaction(s)</a>
	<a href="#">Find molecules that contain or resemble this structure</a>
	<a href="#">Find proteins in UniProtKB for this molecule</a>

- 36,282

### 6. Kakšna pa so karbapenemaze je njihova vloga?

Je protein A-beta-laktamazne družine, poleg odpornosti proti penicilinom in cefalosporinom omogoča rezistenco proti karbapenemom.

### 7. Primerjaj aktivno in vezavno mesto karbapenemaze in ESBL(Chimerax). Ali sta proteina homologa (preveri z BLAST)?

- Aktivno mesto: pri obeh S64

- Vezavno mesto :

Karbapenemaza – S64, S125, N127, T230, T232, R 238

ESBL – K67, S125, E161, T232

- Ligand se veže na zelo podoben način (zelo podobna orientacija, karbapenemaza z ligandom njim tvori več interakcij -bolje stabilizira kompleks)



- Sta homologa (z BLAST)