

## Rešitve seminarske naloge: Evolucija skrivnostnega proteina laktacije

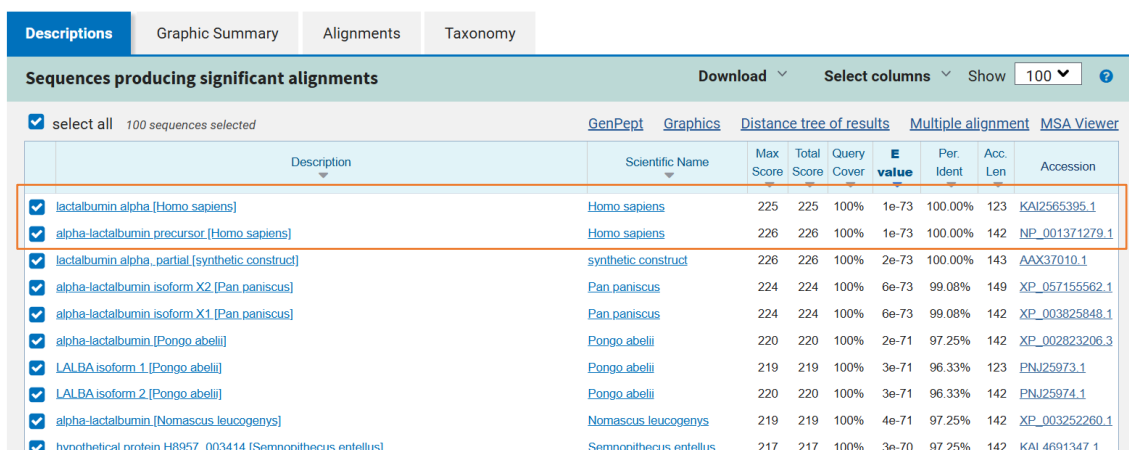
### IDENTIFIKACIJA PROTEINA

#### 1. Rešitev: alfa-laktalbumin

**Razlaga:** Podano aminokislinsko zaporedje vnesemo v orodje blastp, iščemo po podatkovni bazi »Non-redundant protein sequences« (nr) (lahko tudi po »ClusteredNR« (nr\_cluster\_seq)). Če pogledamo zadetke, vsi nakazujejo da gre za alfa-laktalbumin. (glej sliko 1).

#### 2. Rešitev : Iz človeka.

**Razlaga:** Prve dva zadetka, ki nam jih poda blastp izvirata iz človeka. To sta edina dva zadetka, ki imata 100% pokrivanje našega proteina in 100% identičnost. Ker je E vrednost izredno majhna lahko sklepamo, da protein izhaja iz človeka (glej sliko 1).



Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> lactalbumin alpha [Homo sapiens]	Homo sapiens	225	225	100%	1e-73	100.00%	123	KAI2565395.1
<input checked="" type="checkbox"/> alpha-lactalbumin precursor [Homo sapiens]	Homo sapiens	226	226	100%	1e-73	100.00%	142	NP_001371279.1
<input checked="" type="checkbox"/> lactalbumin alpha, partial [synthetic construct]	synthetic construct	226	226	100%	2e-73	100.00%	143	AAZ37010.1
<input checked="" type="checkbox"/> alpha-lactalbumin isoform X2 [Pan paniscus]	Pan paniscus	224	224	100%	6e-73	99.08%	149	XP_057155562.1
<input checked="" type="checkbox"/> alpha-lactalbumin isoform X1 [Pan paniscus]	Pan paniscus	224	224	100%	6e-73	99.08%	142	XP_003825848.1
<input checked="" type="checkbox"/> alpha-lactalbumin [Pongo abelii]	Pongo abelii	220	220	100%	2e-71	97.25%	142	XP_002823206.3
<input checked="" type="checkbox"/> LALBA isoform 1 [Pongo abelii]	Pongo abelii	219	219	100%	3e-71	96.33%	123	PNJ25973.1
<input checked="" type="checkbox"/> LALBA isoform 2 [Pongo abelii]	Pongo abelii	220	220	100%	3e-71	96.33%	142	PNJ25974.1
<input checked="" type="checkbox"/> alpha-lactalbumin [Nomascus leucogenys]	Nomascus leucogenys	219	219	100%	4e-71	97.25%	142	XP_003252260.1
<input checked="" type="checkbox"/> hypothetical protein H0957_003414 [Semnopithecus entellus]	Semnopithecus entellus	217	217	100%	3e-70	97.25%	142	KAI4691347.1

Slika 1: Prikaz rezultatov, ki jih poda blastp po vnosu podanega zaporedja in iskanja po zbirki Non-redundant protein sequences« (nr).

#### 3. Rešitev: Gen, ki kodira za ta protein ima ime LALBA. Nahaja se na kromosomu 12.

**Razlaga:** V zbirki GenBank poiščemo mRNA zapis za dani protein pri človeku (vseeno kateri transkript izbereš) in pod »features«, pod »source« najdemo na katerem kromosomu je zapisan zapis za to mRNA (glej sliko 2).

Takoj pod tem pa je pod »gene« zapisano tudi ime gena (glej sliko 2).

Alternativna pot iskanja gena: Ime gena, ki kodira ta protein lahko najdemo tudi preko UniProt, kjer je zapisano takoj pod imenom proteina (glej sliko 3).

```

FEATURES             Location/Qualifiers
     source           1..728
                     /organism="Homo sapiens"
                     /mol_type="mRNA"
                     /db_xref="taxon:9606"
                     /chromosome="12"
                     /map="12q13.11"
     gene            1..728
                     /gene="LALBA"
                     /gene_synonym="HAMLET; LYZG"
                     /note="lactalbumin alpha"
                     /db_xref="GeneID:3906"
                     /db_xref="HGNC:HGNC:6480"
                     /db_xref="MIM:149750"

```

Slika 2: Prikaz iskanja imena gena in kromosoma na katerem se nahaja.

**P00709 - LALBA\_HUMAN**

Protein <sup>i</sup>	Alpha-lactalbumin	Amino acids	142 (go to sequence)
Gene <sup>i</sup>	LALBA	Protein existence <sup>i</sup>	Evidence at protein level
Status <sup>i</sup>	UniProtKB reviewed (Swiss-Prot)	Annotation score <sup>i</sup>	5/5
Organism <sup>i</sup>	Homo sapiens (Human)		

Slika 3: Prikaz alternativnega iskanja imena gena, ki kodira za iskani protein, preko zbirke UniProt (označeno z oranžno). Z zeleno je označeno iskanje celotne dolžine zaporedja proteina pred posttranslacijskimi modifikacijami.

#### 4. Rešitev: 123 aminokislinskih ostankov.

**Razlaga:** Na UniProtu poiščemo zapis za protein (P00709), ter na začetku strani pogledamo koliko aminokislin ima celotni protein pred posttranslacijskimi modifikacijami, in sicer jih ima 142 (glej sliko 3).

Pod »PTM/Processing« nato pogledamo dolžino signalnega peptida, ki ima dolžino 19 aminokislinskih ostankov (glej sliko 4). To vrednost nato odštejemo od celotne dolžine proteina ( $142 - 19 = 123$ ).

Alternativna pot: Takoj pod »PTM/Processing« pogledamo dolžino zrele verige (20-142). Nato po izračunu  $142 - 20 + 1 = 123$  dobimo pravo vrednost (1 moramo prišteti zato, ker sta prisotna tako prvi kot zadnji aminokislinski ostanek) (glej sliko 4).

Function	Entry	Variant viewer 151	Feature viewer	Genomic coordinates	Publications	External links	History
Names & Taxonomy	M R F F V P L F L V G I L F P A I L A K Q F T K C E L S Q L						
Subcellular Location	TYPE						
Disease & Variants	± * All ID POSITION(S) DESCRIPTION						
IPTM/Processing	+ Signal 1-19 1 Publication Tools • Add						
Expression	+ Chain PRO_0000018444 20-142 Alpha-lactalbumin Tools • Add						
Interaction	+ Disulfide bond 25--139						
Structure	+ Disulfide bond 47--130						
Family & Domains	+ Glycosylation 64 N-linked (GlcNAc...) asparagine 1 Publication						
Sequence	+ Disulfide bond 80--96						
Similar Proteins	+ Glycosylation 90 N-linked (GlcNAc...) asparagine; atypical; partial 1 Publication						
	+ Disulfide bond 92--110						

Slika 4: Prikaz iskanja posttranslacijskih modifikacij proteina. Z oranžno je označena dolžina signalnega peptida, ki se odcepi preden nastane zrel protein. Z zeleno pa je označena alternativna pot izračuna dolžine zrelega peptida.

5. **Rešitev:** Aminokislinski ostanki bodo imeli negativni naboj.

**Razlaga:** Uporabimo orodje ProtParam, ki nam izračuna izoelektrično točko proteina na podlagi vnesenega aminokislinskega zaporedja. Ta znaša 4.83, kar pomeni, da je okolje v mleku bolj bazično (glej sliko 5). Zaradi tega se bodo aminokislinski ostanki deprotonirali in postali negativno nabiti.

## ProtParam - Results

### User-provided sequence:

```

10      20      30      40      50      60
MRFFVPLFLV GILFPAILAK QFTKCELSQL LKDIDYGGI ALPELICTMF HTSGYDTQAI

70      80      90      100     110     120
VENNESTEYG L FQISNKLWC KSSQVPQSRN ICDISCDKFL DDDITDDIMC AKKILDIKGI

130     140
DYWLAHKALC TEKLEQWLCE KL

```

[\[Documentation / Reference\]](#)

Number of amino acids: 142

Theoretical pI: 4.83

Molecular weight: 16224.90

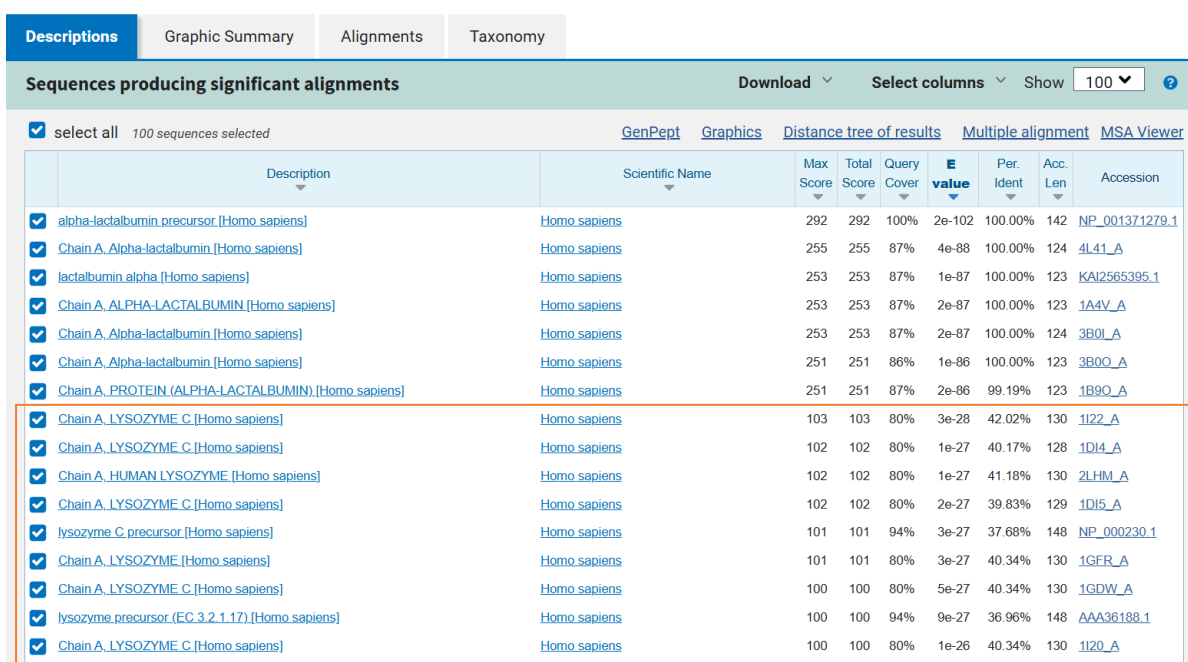
Slika 5: Prikaz izračunane izoelektrične točke s programom ProtParam.

## EVOLUCIJSKI IZVOR PROTEINA

### 1. Rešitev: P61626

**Razlaga:** Naredimo blastp, in sicer pod »Organism« izberemo, da naj išče samo človeške zadetke, torej izberemo »Homo sapiens«. Takoj za vsi zadetki alfa-laktalbumina (kar je naš protein) opazimo, da je naslednji zadetek lizocim C, ki je encim prirojene imunosti, ki ga iščemo (glej sliko 6).

Nato v UniProt-u poiščemo človeški lizocim C, ki ima »accession code« P61626.



Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> alpha-lactalbumin precursor [Homo sapiens]	Homo sapiens	292	292	100%	2e-102	100.00%	142	NP_001371279.1
<input checked="" type="checkbox"/> Chain A, Alpha-lactalbumin [Homo sapiens]	Homo sapiens	255	255	87%	4e-88	100.00%	124	4L41_A
<input checked="" type="checkbox"/> lactalbumin alpha [Homo sapiens]	Homo sapiens	253	253	87%	1e-87	100.00%	123	KAI2565395.1
<input checked="" type="checkbox"/> Chain A, ALPHA-LACTALBUMIN [Homo sapiens]	Homo sapiens	253	253	87%	2e-87	100.00%	123	1A4V_A
<input checked="" type="checkbox"/> Chain A, Alpha-lactalbumin [Homo sapiens]	Homo sapiens	253	253	87%	2e-87	100.00%	124	3B0I_A
<input checked="" type="checkbox"/> Chain A, Alpha-lactalbumin [Homo sapiens]	Homo sapiens	251	251	86%	1e-86	100.00%	123	3B0O_A
<input checked="" type="checkbox"/> Chain A, PROTEIN (ALPHA-LACTALBUMIN) [Homo sapiens]	Homo sapiens	251	251	87%	2e-86	99.19%	123	1B9O_A
<input checked="" type="checkbox"/> Chain A, LYSOZYME C [Homo sapiens]	Homo sapiens	103	103	80%	3e-28	42.02%	130	1I22_A
<input checked="" type="checkbox"/> Chain A, LYSOZYME C [Homo sapiens]	Homo sapiens	102	102	80%	1e-27	40.17%	128	1D14_A
<input checked="" type="checkbox"/> Chain A, HUMAN LYSOZYME [Homo sapiens]	Homo sapiens	102	102	80%	1e-27	41.18%	130	2LHM_A
<input checked="" type="checkbox"/> Chain A, LYSOZYME C [Homo sapiens]	Homo sapiens	102	102	80%	2e-27	39.83%	129	1DI5_A
<input checked="" type="checkbox"/> lysozyme C precursor [Homo sapiens]	Homo sapiens	101	101	94%	3e-27	37.68%	148	NP_000230.1
<input checked="" type="checkbox"/> Chain A, LYSOZYME [Homo sapiens]	Homo sapiens	101	101	80%	3e-27	40.34%	130	1GFR_A
<input checked="" type="checkbox"/> Chain A, LYSOZYME C [Homo sapiens]	Homo sapiens	100	100	80%	5e-27	40.34%	130	1GDW_A
<input checked="" type="checkbox"/> lysozyme precursor (EC 3.2.1.17) [Homo sapiens]	Homo sapiens	100	100	94%	9e-27	36.96%	148	AAA36188.1
<input checked="" type="checkbox"/> Chain A, LYSOZYME C [Homo sapiens]	Homo sapiens	100	100	80%	1e-26	40.34%	130	1I20_A

Slika 6: Prikaz rezultatov, ki jih da blastp. Orodje je iskalo po zbirki »Non-redundant protein sequences« (nr), in sicer so bili zadetki omejeni na tiste, ki pripadajo človeku. Z oranžno so označeni zadetki lizocima C, ki sledijo takoj za zadetki našega proteina alfa-laktalbumina.

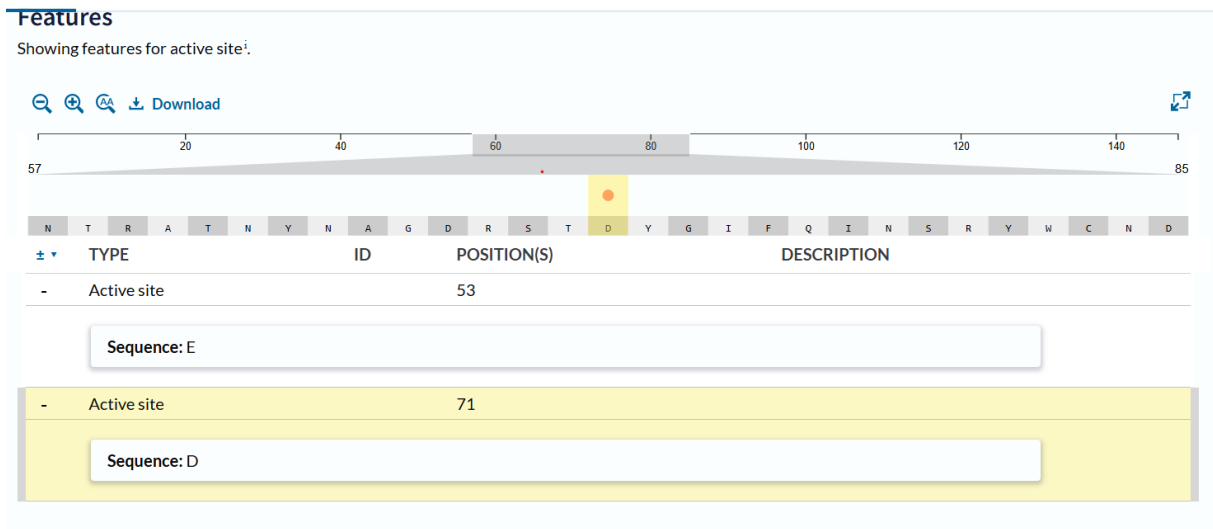
### 2. Rešitev: Lizocim C deluje bakteriolitično, saj s hidrolizo beta-1,4-glikozidnih vezi v peptidoglikanu učinkovito razgrajuje bakterijsko steno in s tem povzroča smrt bakterij.

**Razlaga:** V UniProtu si pod razdelkom »Function« lahko preberemo njegovo funkcijo in na podlagi tega formuliramo odgovor.

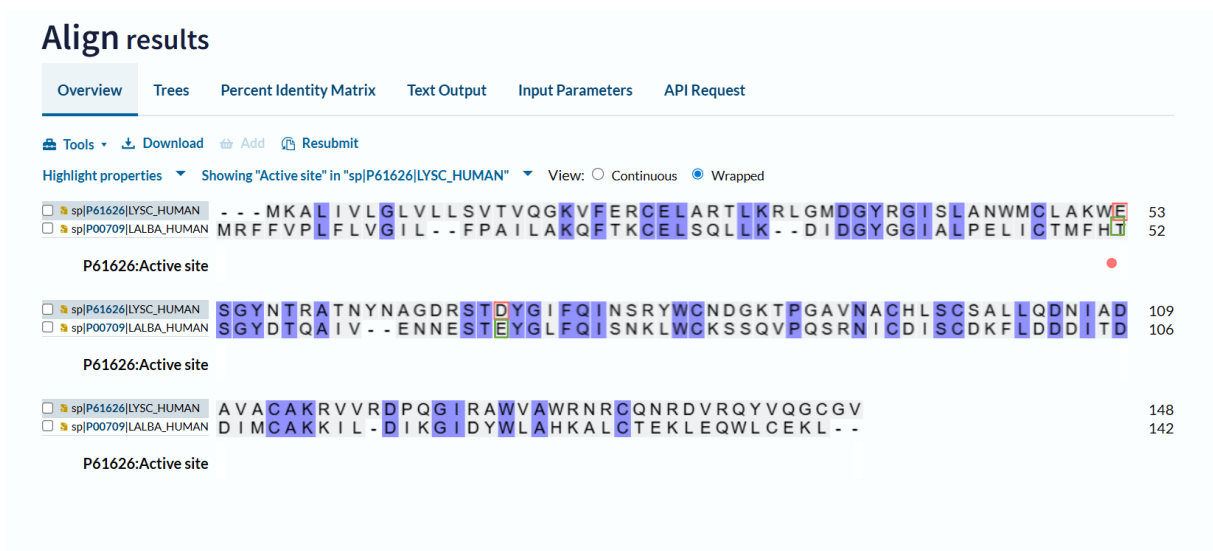
### 3. Rešitev: Aminokislinska ostanka v aktivnem mestu sta E in D. Ostanka nista ohranjena v alfa-laktalbuminu, in sicer je E zamenjan s T, D pa z E.

**Razlaga:** Pod razdelkom »Function« pod »Features« pridobimo podatke o aktivnem mestu (glej sliko 7).

Nato naredimo poravnavo kar v UniProtu s človeškim alfa-laktalbuminom in pod »select annotation« izberemo aktivno mesto. Program označi aktivno mesto lizocima C z rdečo barvo. Nato pogledamo spodaj pripisani ostanek pri alfa-laktalbuminu, ki sovпада z ostankom aktivnega mesta. Opazimo, da ostanka v aktivnem mestu nista ohranjena (glej sliko 8).



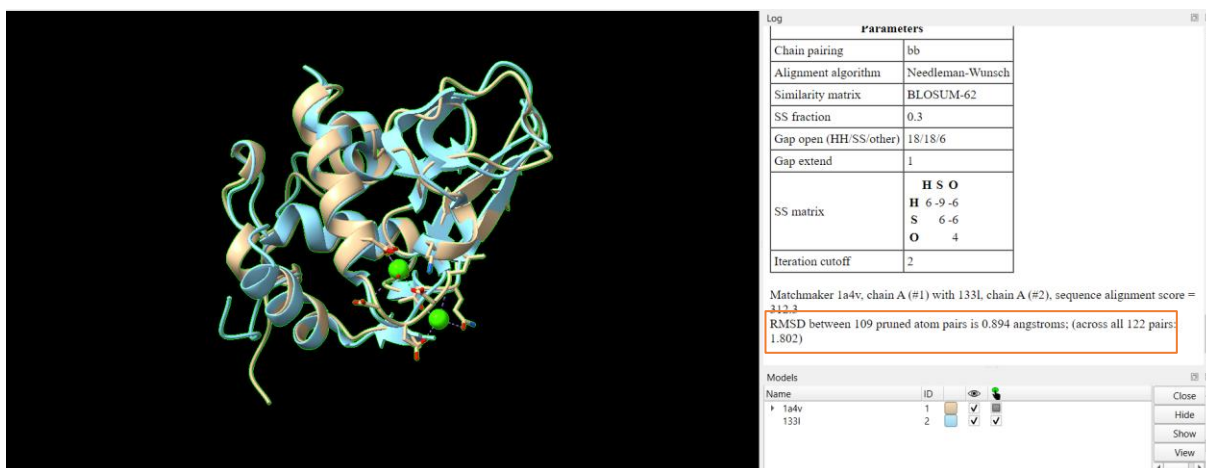
Slika 7: Prikaz aminokislinskih ostankov v aktivnem mestu. Do tega pogleda pridemo preko razdelka »Function« pod »Features«.



Slika 8: Poravnava človeškega lizocima C (zgoraj) s človeškim alfa-laktalbuminom (spodaj). Pod anotacijami je izbran prikaz aktivnega mesta pri lizocimu C, ki je označen z rdečo. Z zeleno sta označena pripadajoča aminokislinska ostanka pri alfa-laktalbuminu.

4. **Rešitev:** RMSD med »pruned pairs« je 0,894Å.

**Razlaga:** Poiščemo obe strukturi teh proteinov v UniProt. Za alfa-laktalbumin tako pod razdelkom »Strukture« vidimo prvo podano eksperimentalno strukturo s PDB kodo 1A4V. Enako naredimo pri lizocimu C in dobimo njegovo PDB kodo, ki je 133I. Potem v ChimeraX (ali Molstar) naredimo poravnavo obeh struktur (matchmaker). ChimeraX ti nato sama izpiše RMSD vrednost (glej sliko 9).



Slika 9: Ugotavljanje RMSD vrednosti preko poravnave PDB struktur alfa-laktalbumina (peščena) z lizocimom C (modra). RMSD vrednost se izpiše v Log razdelku.

5. **Rešitev:** Med proteinoma je bolj ohranjena tridimenzionalna struktura kot aminokislinsko zaporedje. To je smiselno, saj je med evolucijo 3D pogosto bolj ohranjena kot samo zaporedje, ker je stabilna struktura ključna za pravilno delovanje proteina.

**Razlaga:** Na podlagi UniProt poravnave, ki smo jo opravili pod vprašanjem 3. lahko pod zavihkom »Percent Identity Matrix« opazimo, da je identičnost proteinov glede na njuno aminokislinsko zaporedje samo 34.53% (glej sliko 10). Vrednost RMSD (0,894Å) pa nakazuje, da imata skoraj identično 3D strukturo. To pomeni, da je struktura veliko bolj ohranjena, kar je značilno za evolucijsko povezane proteine.

### Align results

Overview Trees **Percent Identity Matrix** Text Output Input Parameters API Request

Tools Download Add Resubmit

Percent Identity Matrix

<input type="checkbox"/> sp P61626 LYSC_HUMAN	100.00%	34.53%
<input type="checkbox"/> sp P00709 LALBA_HUMAN	34.53%	100.00%

Slika 10: Prikaz ugotovitve identičnosti med aminokislinskima zaporedjema lizocima C in alfa-laktalbumina. Rezultati temeljijo na podlagi poravnave opravljene pri točki 3.

## ANALIZA INTERAKCIJ

### 1. Rešitev: beta-1,4-galaktoziltransferaza 1.

**Razlaga:** V UniProt-u pod poglavjem »Interaction« lahko preberemo, da tvori kompleks z beta-1,4-galaktoziltransferazo (glej sliko 11). Ker rabimo zapisati ime specifičnega člana družine, v kateri je sicer sedem galaktoziltransferaz, si pomagamo z genom, ki je zapisan v oklepaju. Če ta gen vnesemo v GenBank dobimo rezultate iz katerih jasno vidimo, da gre za beta-1,4-galaktoziltransferazo 1 (glej sliko 12).

Alternativna pot: V UniProt lahko napišemo v iskalno vrstico »beta1,4-galactosyltransferase«, dobimo rezultate sedmih različnih članov družine. Nato lahko za vsakega pod »Interaction« preverimo ali interagira z alfa-laktalbuminom ali ne. Opazimo, da razen člana tipa 1, z omenjenim proteinom ne interagira noben drug član.

#### Interaction<sup>i</sup>

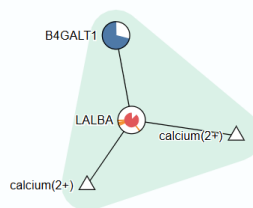
##### Subunit<sup>i</sup>

Lactose synthase (LS) is a heterodimer of a catalytic component, beta1,4-galactosyltransferase (beta4Gal-T1) and a regulatory component, alpha-lactalbumin (LA).

##### Complex viewer<sup>i</sup>

Select complex

CPX-2811 Lactose synthase complex ▾



ComplexViewer 2.2.9

Slika 11: Prikaz zapisa interakcij alfa-laktalbumina. Z zeleno je označen gen na podlagi katerega lahko ugotovljamo nadaljnje iskanje. Ime kompleksa, ki ga tvorita ta dva proteina pa je označen z modro.

See [B4GALT1 \(BETA4GALT1\) beta-1,4-galactosyltransferase 1](#) in the Gene database  
beta4galt1 reference sequences [Genomic.\(1\)](#) [Transcript.\(8\)](#) [Protein.\(8\)](#)

**Items: 16**

Filters activated: mRNA [Clear all](#)

- PREDICTED: Homo sapiens beta-1,4-galactosyltransferase 1 (B4GALT1), transcript variant X3, mRNA**  
1. [mRNA](#)  
8,308 bp linear mRNA  
Accession: XM\_054362742.1 GI: 2462624211  
[BioProject](#) [Protein](#) [Taxonomy](#)  
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)
- PREDICTED: Homo sapiens beta-1,4-galactosyltransferase 1 (B4GALT1), transcript variant X1, mRNA**  
2. [mRNA](#)  
5,163 bp linear mRNA  
Accession: XM\_047423231.1 GI: 2217376780  
[BioProject](#) [Protein](#) [Taxonomy](#)  
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)
- Homo sapiens beta-1,4-galactosyltransferase 1 (B4GALT1), transcript variant 1, mRNA**  
3. [mRNA](#)  
4,176 bp linear mRNA  
Accession: NM\_001497.4 GI: 1811109620  
[Protein](#) [PubMed](#) [Taxonomy](#)  
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)
- PREDICTED: Xenopus tropicalis UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4-galactosyltransferase, polypeptide 1, gene 1 (b4galt1.1), transcript variant X1, mRNA**  
4. [mRNA](#)  
4,121 bp linear mRNA  
Accession: XM\_012069714.2 GI: 1786333658

**Results by taxon**

Top Organisms [\[Tree\]](#)

- Homo sapiens (9)
- Xenopus tropicalis (3)
- Mus musculus (2)
- Rattus norvegicus (1)
- Bos taurus (1)

**Analyze these sequences**

Run BLAST

**Find related data**

Database: [\[Select\]](#)

[Find items](#)

**Search details**

beta4Gal-T1[All Fields] AND  
biomol\_mrna[PROP]

[Search](#) [See more...](#)

**Recent activity**

[Turn Off](#) [Clear](#)

[Q](#) beta4Gal-T1 AND (biomol\_mrna[PROP])

Slika 12: Prikaz rezultatov, ki jih dobimo, če v GenBank vnesemo ime podanega gena.

2. **Rešitev:** Laktozna sintaza.

**Razlaga:** Pod poglavjem »Interaction« je podano ime kompleksa (glej sliko 11).

3. **Rešitev:** Laktoza.

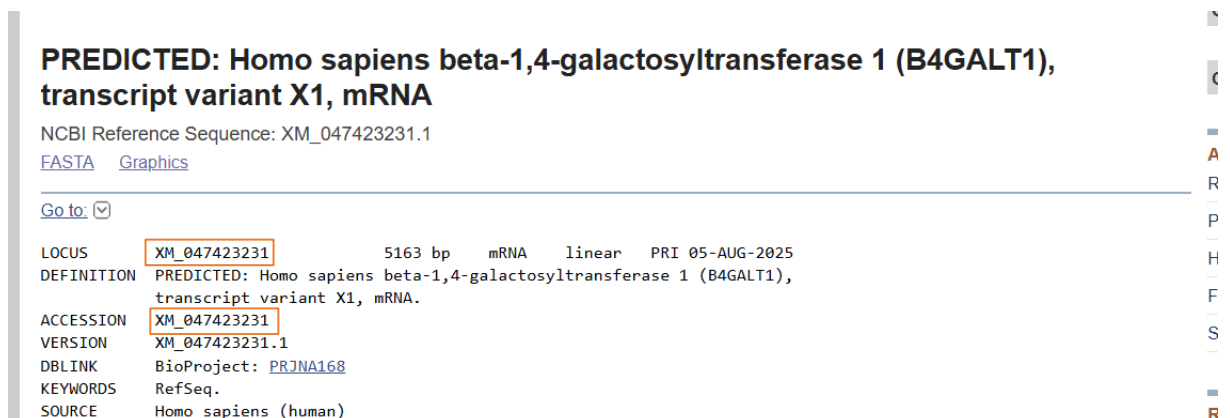
**Razlaga:** Rešitev lahko najdemo, če si preberemo poglavje »Function« pri kateremu koli izmed proteinov, ki tvorita kompleks laktozne sintaze.

4. **Rešitev:** Vezava regulatornega proteina spremeni substratno specifičnost galaktoziltransferaze, tako da encim namesto N-acetilglukozamina začne učinkovito vezati glukozo kot akceptorski substrat. To omogoči sintezo laktoze, glavnega sladkorja v mleku.

**Razlaga:** Rešitev prav tako kot prej najdemo, če si preberemo poglavje »Function« pri kateremu koli izmed proteinov, ki tvorta kompleks laktozne sintaze.

5. **Rešitev:** XM\_047423231

**Razlaga:** V GenBank napišemo v iskalno okence »beta-1,4-galactosyltransferase 1«, nato pod filtri izberemo mRNA in človeka kot organizem. Poiščemo transkript X1 ter nato »accession code« za ta mRNA zapis (glej sliko 13).



**PREDICTED: Homo sapiens beta-1,4-galactosyltransferase 1 (B4GALT1), transcript variant X1, mRNA**

NCBI Reference Sequence: XM\_047423231.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

LOCUS	<b>XM_047423231</b>	5163 bp	mRNA	linear	PRI 05-AUG-2025
DEFINITION	PREDICTED: Homo sapiens beta-1,4-galactosyltransferase 1 (B4GALT1), transcript variant X1, mRNA.				
ACCESSION	<b>XM_047423231</b>				
VERSION	XM_047423231.1				
DBLINK	BioProject: <a href="#">PRJNA168</a>				
KEYWORDS	RefSeq.				
SOURCE	Homo sapiens (human)				

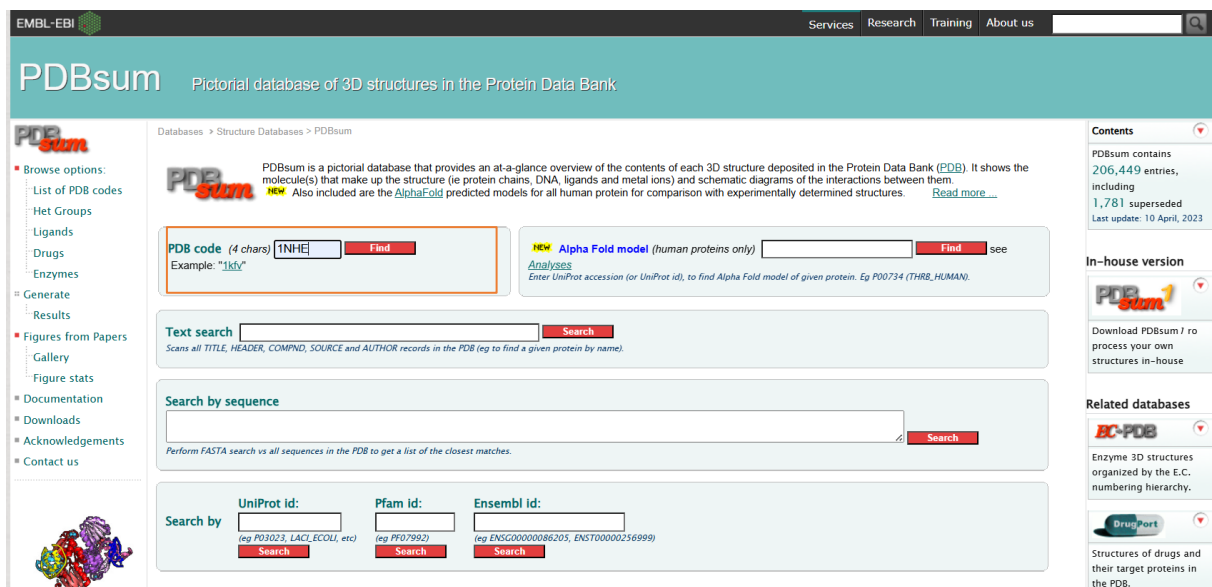
Slika 13: Prikaz izpisa podatkov za mRNA transkript X1, ki pripada beta-1,4-galaktoziltransferazi 1.

## ANALIZA INTERAKCIJ

1. in 2. **Rešitev:** Možnih je več rešitev (navedeni sta dve). Ena izmed rešitev je mutacija Tyr286, saj tvori med aminokislinskimi ostanki največ interakcij. Zamenjali bi ga lahko npr. z Asp ali Glu, saj bi z uvedbo naboja prekinili hidrofobne interakcije s His32, Phe31 ter Trp118. S tem bi destabilizirali strukturo kompleksa.

Še ena možnost je mutacija Gln117 v npr. levcin, saj glutamin poleg drugih interakcij tvori tudi edini dve vodikovi vezi, ki stabilizirata interakcijo med proteinoma, ki tvorita kompleks. Z zamenjavo z levcinom bi vodikovi vezi prekinili, kar bi verjetno vplivalo na spremembo strukture proteina in s tem na njegovo vezavo.

**Razlaga:** Odpremo orodje PDBsum, kjer v orodno vrstico najprej vpišemo podano PDB kodo (1NHE) (glej sliko14).



The screenshot shows the PDBsum website interface. At the top, there is a navigation bar with 'Services', 'Research', 'Training', and 'About us'. The main header reads 'PDBsum Pictorial database of 3D structures in the Protein Data Bank'. Below the header, there is a search bar with the PDB code '1NHE' entered and a 'Find' button. To the right of the search bar, there is a section for 'NEW Alpha Fold model (human proteins only)' with a 'Find' button and a 'see' link. Below the search bar, there are sections for 'Text search', 'Search by sequence', and 'Search by UniProt id', 'Pfam id', and 'Ensembl id'. The right sidebar contains 'Contents', 'In-house version', 'Related databases', and 'DrugPort'.

Slika 14: Začetna stran orodja v katero zapišemo PDB kodo.

Ko pritisnemo »Find« se nam pokažejo podatki o proteinu. Na vrhu je orodna vrstica, kjer gremo pod zavihek »Prot-Prot«, kjer lahko najdemo podatke o interakcijah med proteini v kompleksu (glej sliko 15).

**PDB ID: 1nhe**

**Name:** Transferase activator/transferase

**Title:** Crystal structure of lactose synthase complex with udp

**Structure:** Alpha-lactalbumin. Chain: a, c. Fragment: regulatory subunit of lactose synthase. Synonym: lactalbumin, alpha. Engineered: yes. Other details: chains a and b form first, c and d second lactose synthase complex. Beta-1,4-galactosyltransferase. Chain: b, d.

**Source:** Mus musculus. House mouse. Organism\_taxid: 10090. Expressed in: escherichia coli b121. Expression\_system\_taxid: 511693. Bos taurus. Cattle. Organism\_taxid: 9913.

**Biol. unit:** Dimer (from PQS)

**Resolution:** 2.50 Å **R-factor:** 0.197 **R-free:** 0.255

**Authors:** B Ramakrishnan, P K Qasba

**Key refs:** B Ramakrishnan and P K Qasba (2001). Crystal structure of lactose synthase JM13 reveals a large conformational change in its catalytic component, the beta1,4-galactosyltransferase-1. *J Mol Biol.* 310, 205-218. PubMed id: 11419947

**DOI:** 10.1006/jmbi.2001.4757

**Date:** 19-Dec-02 **Release date:** 07-Jan-03

**Supersedes:** 1f84

**Protein chains:**

- P29752 (LALBA\_MOUSE)** - Alpha-lactalbumin from Mus musculus
  - Seq: 143 a.a.
  - Struc: 123 a.a.
- P08037 (B4GT1\_BOVIN)** - Beta-1,4-galactosyltransferase 1 from Bos taurus
  - Seq: 402 a.a.
  - Struc: 272 a.a.

**Key:** PfamA domain, Secondary structure, CATH domain

**Enzyme reactions**

**Enzyme class 1:** Chains B, D: E.C.2.4.1.-: -?????

Slika 15: Prikaz podatkov o proteinu. V orodni vrstici izberemo zavihek »Prot-Prot«. Na tem zavihku lahko dobimo tudi podatke o tem, katera polipeptidna veriga pripada kateremu proteinu (označeno z zeleno).

Nato opazimo, da so prisotne štiri polipeptidne verige (glej sliko 16). Verigi A in C pripadata alfa-laktalbuminu, verigi B in D pa beta-1,4-glaktosiltransferazi 1. Kateremu proteinu pripada katera veriga piše na zavihku »Top page« (glej sliko 15). Prikazana je asimetrična enota kompleksa, se pravi je prikazana tudi interakcija med dvema heterodimeroma. Ta nas ne zanima, saj ni interakcija znotraj laktozne sintaze. Interakciji, ki pripadata proteinoma, ki tvorita heterodimer pa sta A-B in C-D. Navodila pravijo, da se osredotočimo samo na interakcijo A-B. Podatke o tej interakciji si lahko ogledamo pod »Interface summary« na levi strani ekrana, kjer izberemo interakcijo A-B (glej sliko 16).

**Interfaces summary for 1nhe**

**Interface summary**

- A:B (10:8 res)
- B:C (10:9 res)
- C:D (9:8 res)

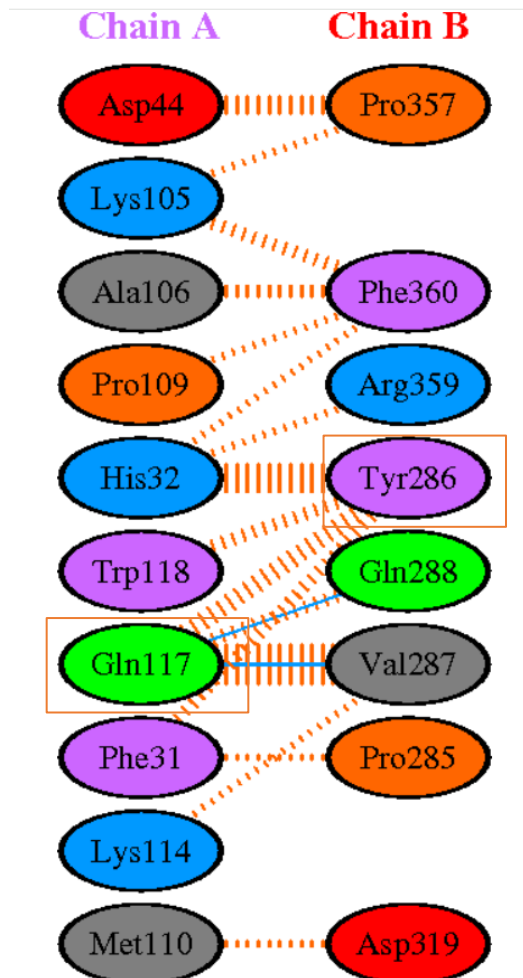
\* Coloured by residue conservation

**Key:** Salt bridges, Disulphide bonds, Hydrogen bonds, Non-bonded contacts

**Schematic diagram of interactions between protein chains.** Interacting chains are joined by coloured lines, each

Slika 16: Prikaz asimetrične enote laktozne sintaze. Z oranžno sta označena posamezna heterodimera.

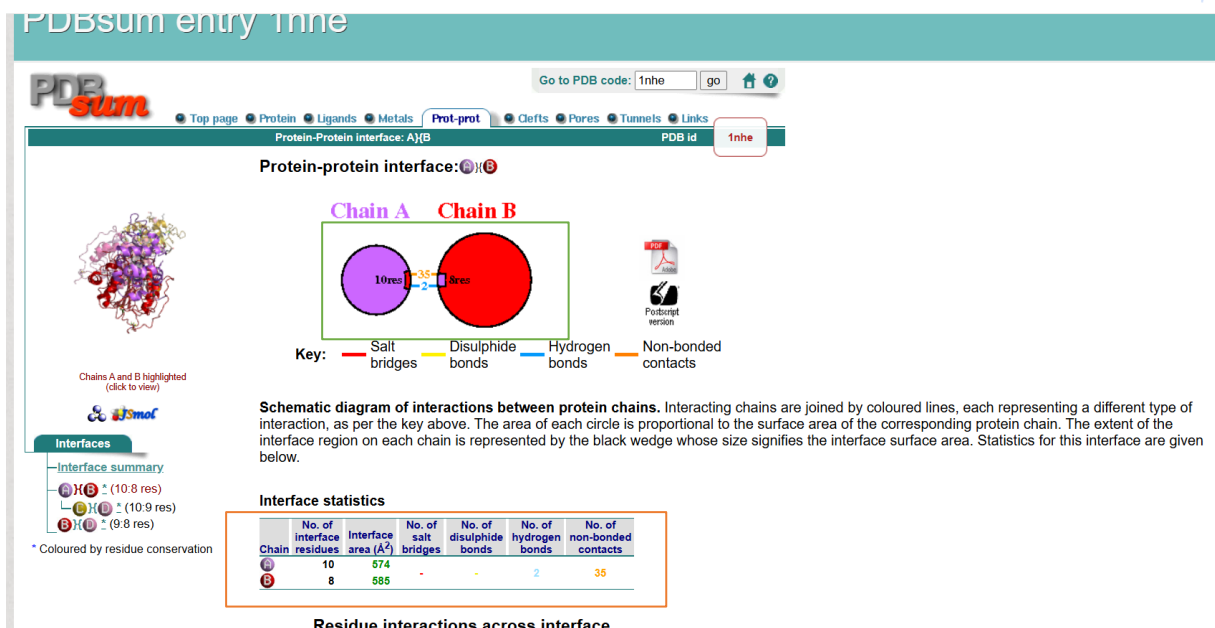
Ko kliknemo na interakcijo A-B se nam izpišejo podatki o le te. Slikovni prikaz na spodnjem delu strani nam prikazuje različne interakcije med aminokislinami (glej sliko 17). Za mutacijo po navadi izberemo tiste, ki tvorijo največ interakcij, kot sta Tyr286 ali Gln117. Mutiramo pa jih v njima drugačni aminokislini, ki prekinejo interakcije z drugimi aminokislinskimi ostanki.



Slika 17: Shematski prikaz interakcij med aminokislinskimi ostanki obeh polipeptidnih verig. Z oranžno sta označena dva izmed možnih izborov ostankov za izvedbo mutacije.

3. **Rešitev:** Interakcijsko površino med verigama A-B stabilizira 37 interakcij, med verigama C-D pa 50 interakcij. Število interakcij med podenotama ni enako, kar je verjetno posledica nastanka kristala. Pakiranje proteinskega kompleksa v kristal lahko povzroči, da se nekatere interakcije spremenijo. Struktura tega kompleksa je bila namreč določena z XRD.

**Razlaga:** Število interakcij med polipeptidnima verigama vidimo iz skice ali iz tabele, potrebno jih je samo sešteti med seboj (glej sliko 18).



Slika 18: Prikaz števila interakcij med polipeptidnima verigama, ki jih lahko ugotovimo bodisi iz skice (zelena) bodisi iz diagrama (oranžna).