

S1-09-Morski_adhesivi



Datum izdelave: 2026-05-07

Koda seminarja: S1

Naloga 1

V medicini prihaja do problemov pri zapiranju ran, kjer zaradi same narave tkiva šivanje ni primerno. Rešitev za to bi lahko predstavljala biološka lepila iz morskih organizmov, kot so na primer klapavice, ki se s svojimi "nogami" pritrdijo na podlago in obdržujejo izjemno trdnost v morski vodi, naši čeni s solmi.

Naš sodelavec je poskušal iz celic izolirati nek protein iz klapavice, za katerega je z plasmidom vstavil zaporedje v gostiteljsko celico, a mu do tega ni in ni prišlo. Ko je dal sekvenacirati zaporedje pripravljenega plazmida, pa je ugotovil, da ni dodal celotne kodirajoče regije proteina vanj, ampak le del. Ker je po sekvenciranju odšel na potovanje, ni pa oznančil, kateremu protein naj bi to delno zaporedje pripadalo in ne odgovarja na telefon, je to sedaj naša naloga.

Sekvencirano zaporedje fragmenta iskanega proteina po odstranitvi zaporedja ostalnega plazmida je:

```
GAAAGCCCCACCACCGACCTGGACTGCATGGAAGGCAACACCAAAAACCATGGACCGCATGGAAGGCCCT  
CCACCTGCTTGGACTGCATGGAAGGCTACACTAAAACCATGGACTGCATGGAAGGCAACCCCTAAACCAT  
GGACTGCATGGAAGGCCACTCCTAAACCATGGACTGCATGGAAGGCAACCCCTAAACCATGGACTGCTTG  
GAAGGCAACTCCAAAACCATGGACTGCATGGAAGGCAACACCAAAAACCATGGACCGTATGGAAGGCAACT  
CCTAAACCATGGACTGCATGGAAGGCAACACCAAAAACCATGGACTGCATGGAAGGCCCTCCACCTGCCT  
GGAGTGCATGGAAGGCTACACCAAAAACCATGGACCGTATGGAAGGCAACCCCTAAACCATGGACCGCATG  
GAAGGCAACTCCAAAACCATGGACTGCATGGAAGGCAACACCAAAAACCATGGACCGTATGGAAGGCAACT  
CCTAAACCATGGACTGCATGGAAGGCCCTCCACCTGCCTGGACTGCATGGAAGGCTACGCCAAAACCAT  
GGACTGCATGGAAGCCCCACCACCGACCTGGACTGCATGGAAGGCAACACCAAAAACCATGGACTGCATG  
GAAAGCCCCTCCACCTGCCTGGAGTGCATGGAAGGCTACACCAAAAACCATGGACCGCATGGAAGGCAACC  
CCTAAACCATGGACCGCATGGAAGGCAACTCCAAAACCATGGACTGCATGGAAGGCAACACCAAAAACCAT  
GGACTGCATGGAAGTTCTCCACCTGCATGGACTGCATGGAAGCACATCCTCCTGCATGGACTGCATG  
GAAGGCTACACCAAAAACCATGGACCGCATGGAAGGCCCTCCACCTGCCTGGACTGCATGGAAGGCTACG  
CCAAAACCATGGACTGCATGGAAGGCCCTCCACCTGCTTGGACTGCATGGAAGGCTACACCAAAAACCAT  
GGACTGCATGGAAGGCAACTCCAAAACCATGGACCGTATGGAAGGCAACTCCTAAACCATGGACTGCTTG  
GAGGGCAACCCACCACCAACATGGACTGCATGGCATGGACATGGTTATGGTGGATATGGCAAACCTGGC
```

AAACCAGGTAAACCCGGTTCTAAAGGCCCAAGAGGACCAGCTGGTCCTCCAGGTGCAACCCGGCAAGACAG
GAAGAACAGGAGCT

- a) Kakšno je polno ime najdenega proteina in njegova se imenuje najden protein v Genebank in kolikšen odstotek kodirajočega zaporedja je bil prej dodan v plasmid?
- b) Oglej si sam protein. Naš sodelavec je uporabil za ekspresijski sistem bakterijske celice. Je prav storil? Navedi vsaj 3 post-translacijske modifikacije, in na katerih vrstah aminokislinski ostankih so. Kako bi bil nabit ta protein pri pH=6, bi bil to primerno pH območje za izolacijo z ionsko kromatografijo? Katero bi uporabili in zakaj? Bi modificirani aminokislinski ostanki vplivali teoretično izoelektrično točko?
- c) Opiši domene, ki jih ta protein vsebuje, od katerega do katerega aminokislinskega ostanka segajo, sekundarne strukture, število njihovih ponovitev znotraj posameznih domen, katera ponavljajoča si aminokislinska zaporedja vsebujejo. Ali so vse anotirane v Interpro?
- d) Od ostalih proteinov, ki tvorijo druge predele pritrjevalne sktrukture klapavice (npr. ploščo, angl. plaque), se te modifikacije razlikujejo. Kako se razlikuje naš najden protein po funkciji od ostalih adhesivnih proteinov in v PTM? kje v "nogi" klapavice ga najdemo? Lahko povežemo te PTM-je z funkcijo proteinov?

Naloga 2

Podobna prostorska razporeditev aminokislinskih ostankov je med proteini veliko bolj pogosta kot popolno podobno zaporedje le teh. Poglejmo si sedaj še proteine z podobno strukturo kot osrednja domena najdenega proteina iz 1. naloge (ak. ostanki 46-432). (namig: ker nimajo deponirane pdb kode, bo potrebno naložiti datoteko njegove AlfaFold strukture.)

- a) Navedi pdb kodo proteina z enako domeno ter ime organizma(lat.), v katerem je bil najden. S katero eksperimentalno metodo je bil ta protein določen in s kakšno ločljivostjo? Najdi ta protein še v Uniprotu. Kakšna je njegova katalitična aktivnost?

Najdena bakterija povzroča probleme v živilski industriji, saj povzroči gnitje že obrane zelenjave, napade lahko tudi drevesa. Natančneje hidrlizira pa pektin med posameznimi celicami in tako pozroči tako imenovano črno "mehko" plesen (angl. black soft rot).

b) Koliko različnih vrst pektin liaz ima ta vrsta? (vpoštevaj tudi različne podvrste)
Katera aminokislina se nahaja v njenem aktivnem mestu, ali se ta razlikuje med različnimi proteini pektin liaz? kaj pa signalna sekvenca? navedi za koliko koliko je krajša signalna sekvenca te vrste proteina, če je.

Ali ima kakšne potrebne kofaktorje za svojo funkcionalnost?

c) Pod kateri rod najverjetneje spadajo njegovi homologi?