

REŠITEV z razlago (S1-04):

AK zaporedje: Uniprot koda - P0CJ63 (N-acyl homoserine lactonase AiiA) iz organizma *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*.

1. Najverjetnejšo identiteto proteina

Zaporedje preneseš v blastp (izbereš bazo nr) dobiš zadetek: **MULTISPECIES: quorum-quenching N-acyl homoserine lactonase AiiA [*Bacillus*]**- multispecies le pomeni, da gre za protein AiiA, ki ga najdemo v več vrstah rodu *Bacillus*. In Chain A, N-Acyl Homoserine Lactone Hydrolase [*Bacillus thuringiensis* serovar *kurstaki*]. Katerega koli od teh dveh vzamemo, bomo prišli do enake rešitve. V blastp dobimo 100 % identičnost in 100 % Query Cover in E value=0.0

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
MULTISPECIES: quorum-quenching N-acyl homoserine lactonase AiiA [<i>Bacillus</i>]	<i>Bacillus</i>	514	514	100%	0.0	100.00%	250	WP_000216581.1
Chain A, N-Acyl Homoserine Lactone Hydrolase [<i>Bacillus thuringiensis</i> serovar <i>kurstaki</i>]	<i>Bacillus thuringi...</i>	514	514	100%	0.0	100.00%	254	3DHA_A
N-acyl-homoserine lactone [<i>Bacillus thuringiensis</i>]	<i>Bacillus thuringi...</i>	514	514	100%	0.0	99.60%	250	ABN51242.1
Chain A, AIIA-LIKE PROTEIN [<i>Bacillus thuringiensis</i>]	<i>Bacillus thuringi...</i>	513	513	100%	0.0	99.60%	252	2BR6_A

2. S pomočjo spletnih orodij določite glavne funkcionalne domene in proteinske družine analiziranega proteina.

Dobimo več zadetkov najpomembnejši: **N-acyl homoserine lactonase AiiA** (to je encim, ki razgrajuje AHL molekule, sodeluje pri quorum quenching → to je proces, s katerim se prekine oziroma zavira komunikacija med bakterijami), **AiiA-like** (torej spada v to družino), **Metallo-beta-lactamase** (protein vsebuje metallo-beta-laktamazno domeno) in **Ribonuclease Z-like** (Struktura je podobna tej domeni AMPAK ni nujno, da je protein ribonukleaza!).

The screenshot shows the InterPro classification interface. At the top, it says "Classification of protein families". Below the navigation bar, it states "This protein matches these entries:" and shows a table of matches. The table has columns for Accession, Short Name, Name, Source Database, and Matches. Three matches are shown: RibonucZ/Hydroxyglut_hydro, AiiA-like, and Metallo-B-lactamas. Below the table, there is a domain architecture diagram showing a protein of length 250 with several domains highlighted. The domains are: AHLactAiiA, AHLactAiiA, QUORUM-QUENCHING LACTONASE YTNP-RELATED-RELATED, Metallo-hydrolase/oxidoreductase, AHL_lactonase_MBL-fold, Lactamase_B, and Lactamase_B_5a. To the right of the diagram, there are sections for "Representative families", "Representative domains", and "Unintegrated" entries, each with a small icon and a link to the corresponding entry.

Accession	Short Name	Name	Source Database	Matches
IPR036866	RibonucZ/Hydroxyglut_hydro	Ribonuclease Z/Hydroxyacylglutathione hydrolase-like	InterPro	100
IPR051013	AiiA-like	N-acyl homoserine lactonase-like	InterPro	100
IPR001279	Metallo-B-lactamas	Metallo-beta-lactamase	InterPro	100

Families

- AHLactAiiA
- AHLactAiiA
- QUORUM-QUENCHING LACTONASE YTNP-RELATED-RELATED

Domains

- Metallo-hydrolase/oxidoreductase
- AHL_lactonase_MBL-fold
- Lactamase_B
- Lactamase_B_5a

Representative families

- AiiA - N-acyl homoserine lactonase AiiA
- AiiA-like - N-acyl homoserine lactonase

Representative domains

- RibonucZ/Hydroxyglut_hydro - Ribonuc
- Metallo-hydrolase/oxidoreductase - Metall

Unintegrated

- Metallo-B-lactamas - Metallo-beta-lact

3. Določite njegovo osnovno biokemijsko funkcijo, povejte tudi, do katere molekule kaže največjo aktivnost, ter na kratko odgovorite, kako hidroliza AHL molekul vpliva na bakterijsko komunikacijo.

S pomočjo rezultata blastp poiščemo neznani protein v Uniprot (lahko le kopiramo ime najdeno v blastp: quorum-quenching N-acyl homoserine lactonase AiiA, v začetku imamo podano vrsto bakterije, glede na to izberemo pravi protein.

The screenshot shows the UniProt search results page for the query 'quorum-quenching N-acyl homoserine lactonase AiiA'. The search results are displayed in a table with columns: Entry, Entry Name, Protein Names, Gene Names, Organism, and Length. The first result is P0CJ63, AHLLA_BACTK, N-acyl homoserine lactonase AiiA[...], aiiA, Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki, 250 AA. Other results include Q9L8R8 (AHLL_BACSP), A3FJ64 (AHLL_BACTU), G9B7C4 (G9B7C4_9BACI), and D5FM51 (D5FM51_9BACI).

Entry	Entry Name	Protein Names	Gene Names	Organism	Length
P0CJ63	AHLLA_BACTK	N-acyl homoserine lactonase AiiA[...]	aiiA	Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki	250 AA
Q9L8R8	AHLL_BACSP	N-acyl homoserine lactonase[...]	aiiA	Bacillus sp.	250 AA
A3FJ64	AHLL_BACTU	N-acyl homoserine lactonase[...]	aiiA	Bacillus thuringiensis	250 AA
G9B7C4	G9B7C4_9BACI	quorum-quenching N-acyl-homoserine lactonase[...]	aiiA	Bacillus sp. AI96	250 AA
D5FM51	D5FM51_9BACI	quorum-quenching N-acyl-homoserine lactonase[...]	aiiA	Bacillus sp. B546	250 AA

Protein deluje kot quorum quenching encim oziroma N-acyl homoserine lactonase. Katalizira hidrolizo N-acyl homoserin laktonov (AHL), ki sodelujejo pri bakterijski komunikaciji (quorum sensing). S hidrolizo teh signalnih molekul moti oziroma zmanjšuje komunikacijo med bakterijami (quorum quenching). Encim deluje na kratko- in dolgoveržne AHL molekule, največjo aktivnost pa kaže proti C-10-AHL.

4. Ali protein za svoje delovanje potrebuje kofaktor ali kovinski ion? Če da, katerega?

Preverimo v Uniprot in vidimo, da je naš protein, encim, ki za svoje delovanje potrebuje kofaktor: Zn²⁺.

5. Razmisli, kako bi na delovanje proteina vplivali točkovni mutaciji D108N in F107W, obrazloži svoje ugotovitve.

Pogledamo v Uniprot, kje se nahajajo vezavna mesta (sekcija Function), vidimo, da se na mestu 108 nahaja vezavno mesto na mestu 107 pa ne, argumentiramo:

- **D108N**

Aspartat na mestu 108 se zamenja z asparaginom, to je lahko problem, ker aspartat pogosto sodeluje pri vezavi kovinskih ionov ali katalizi. Če ga zamenjamo z asparaginom, se spremeni kemija aktivnega mesta – pričakujemo močno zmanjšano aktivnost.

- **F107W**

Fenilalanin na mestu 107 se zamenja s triptofanom (obe sta aromatski, hidrofobni aminokisljini), ker mesto 107 ni vezavno mesto mutacija po vsej verjetnosti ne uniči encima popolnoma, ker pa je triptofan večji to lahko vpliva na stabilnost in spremembo konformacije.

6. Protein je v InterPro poleg drugih uvrščen tudi v metallo-beta-lactamase superdružino. Ali to pomeni, da gre za klasično beta- laktamazo?

Protein, kot smo ugotovili spada v metallo-beta-lactamase superdružino, kar pomeni, da ima podobno strukturo in kovinsko aktivno mesto kot metallo-beta-laktamaze. Kljub temu, kot lahko razberemo iz opisa na Uniprot, njegova dejanska biološka funkcija ni razgradnja beta-laktamskih antibiotikov, ampak hidroliza AHL signalnih molekul, ki sodelujejo pri komunikaciji bakterij. Torej to kaže, da podobna proteinska struktura ne pomeni tudi nujno enake funkcije.

7. Na podlagi vseh rezultatov ocenite, ali bi bil ta protein lahko uporaben za zaviranje bakterijske komunikacije v medicini? Utemelji.

Protein N-acyl homoserine lactonase AiiA bi lahko bil uporaben v medicini za zmanjševanje komunikacije med patogenimi bakterijami. Encim AiiA razgrajuje AHL signalne molekule (te signalne molekule imajo predvsem Gram-negativne patogene bakterije), to zmanjša izražanje virulentnih dejavnikov in s tem oslabi bakterijsko okužbo.