

S3-08-rešitev

Naloga 1: Lastnosti človeških tioredoksin reduktaz

Koliko različnih tioredoksin reduktaz ima človek? Kje v celici se nahajajo posamezne tioredoksin reduktaze?

Človek ima 3 tioredoksin reduktaze. Tioredoksin reduktaza 1 se nahaja pretežno v citosolu, ena izmed izoform tudi v jedru. Tioredoksin reduktaza 2 se nahaja v izključno v mitohondrijih. Tioredoksin reduktaza 3 pa se nahaja v citosolu, endoplazmatskem retikulumu, jedru in v mikrosomih.

Katero katalitsko aktivnost ima tioredoksin reduktaza 3 poleg tioredoksin reduktazne?

Tioredoksin reduktaza 3 ima še glutaredoksinško in glutacion reduktazno aktivnost.

Katera izmed človeških tioredoksin reduktaz se najbolj razlikuje od drugih dveh? Utemelji. Pomagaj si z velikostjo in lokacijo v celici.

Najbolj se razlikuje tioredoksin reduktaza 2, saj se nahaja v mitohondriju in ima akrajše zaporedje od drugih dveh.

Naloga 2: Primerjava zaporedij človeških tioredoksin reduktaz

Poravnaj vsa 3 zaporedja človeških tioredoksin reduktaz. Komentiraj rezultate. V katerem delu zaporedja tioredoksin reduktaze 2 je prišlo do delecije?

MSA v prilogi. Opazimo, da je prišlo do delecije N-konca pri tioredoksinu 2.

Katere domene ima tioredoksin reduktaza 1? Kje se nahajajo? Ali so vse domene ohranjene? Pomagaj si z orodjem InterPro.

Domene v prilogi. Tioredoksin reduktaza 1 ima na svojem N-koncu glutaredoksinško domeno, v osrednjem delu pa FAD/NAD(P)⁻ vezavno domeno. Glutaredoksinška domena pri tioredoksin reduktazi 2 ni ohranjena.

Glede na rezultate orodja InterPro sklepaj katere kofaktorje potrebujejo tioredoksin reduktaze za delovanje.

Za svoje delovanje potrebujejo NADH, NADPH ali FADH₂, torej reducirane oblike, ker katalizirajo redukcijo cisteinov.

Naloga 3: Tioredoksin reduktaza 2

Kateri mRNA zapis kodira najdaljši izoform tioredoksin reduktaze 2? Kaj je posebnost kodirajočega zaporedja za tioredoksin reduktazo 2? Ali vsebuje le en STOP-kodon?

Najdaljši izoform kodira transcript variant 1. Posebnost sta 2 STOP-kodona, vendar ima le en to funkcijo. Drug kodira nestandardno aminokislino selenocistein.

Ali je model človeške tioredoksin reduktaze 2 eksperimentalno določen?

Ne, eksperimentalno določenega modela ni v zbirki PDB.

Z AlphaFold 3 napovej strukturo tioredoksin reduktaze 2 pri človeku. Za lažji izris predpostavi mutacijo nestandardnih aminokislinskih ostankov v najbolj primeren aminokislinski ostanek. Izberi si tisti rezultat, ki je bil izrisan na podlagi eksperimentalno določenih struktur. Kateri del strukture je najmanj zanesljivo določen?

Selenocistein mutiramo v alanin. Slika modela v prilogi. Najmanj zanesljivo določen je N-konec proteina.

Naloga 4: Primerjava sorodnosti tioredoksin reduktaze 1 med vrstami

Nariši filogenetsko drevo na podlagi tioredoksin reduktaze 1. Uporabi zaporedja vrst *Arabidopsis thaliana*, miši, podgane, kvaskovk, človeka, goveda, orangutana, pujsa, *Caenorhabditis elegans* in vinske mušice. Interpretiraj rezultate.

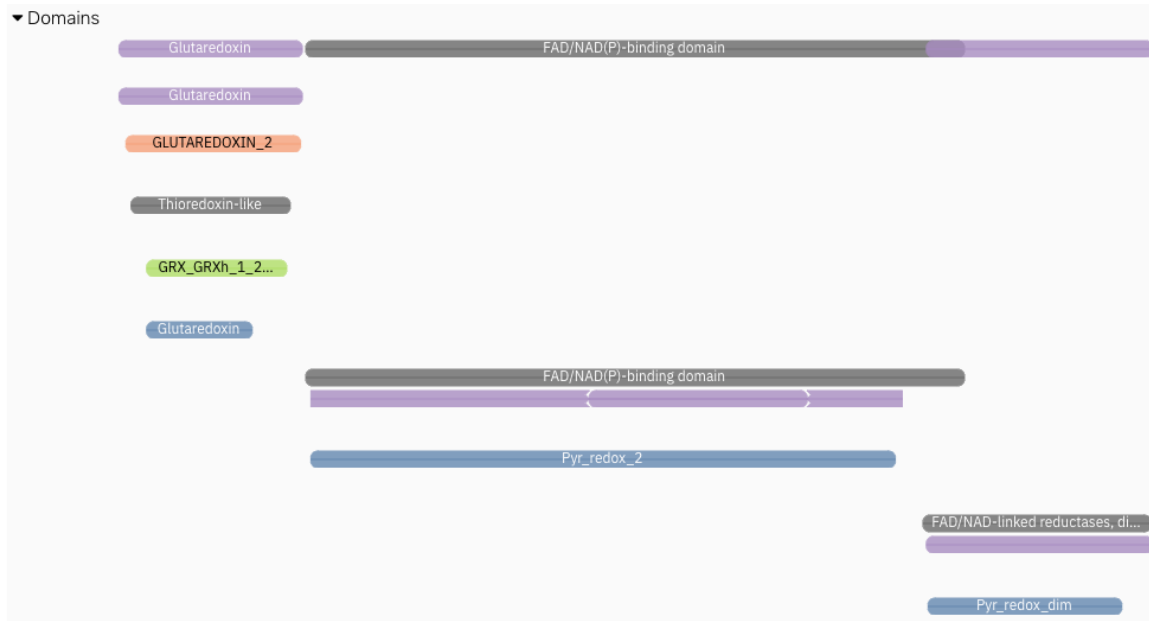
Slika filogenetskega drevesa v prilogi. Opazimo, da sta si človeška in orangutanska tioredoksin reduktaza najbolj sorodni. Vidimo, da so od živalske gruče najbolj oddaljena kvasovka in navadni repnjakovec, kar je ustrezno saj sta iz drugih kraljestev.

Ali smo pri prejšnjem vprašanju ustrezno uvrstili tioredoksin reduktazo 1 vrste *Arabidopsis thaliana* v filogenetsko drevo na osnovi te reduktaze? Utemelji.

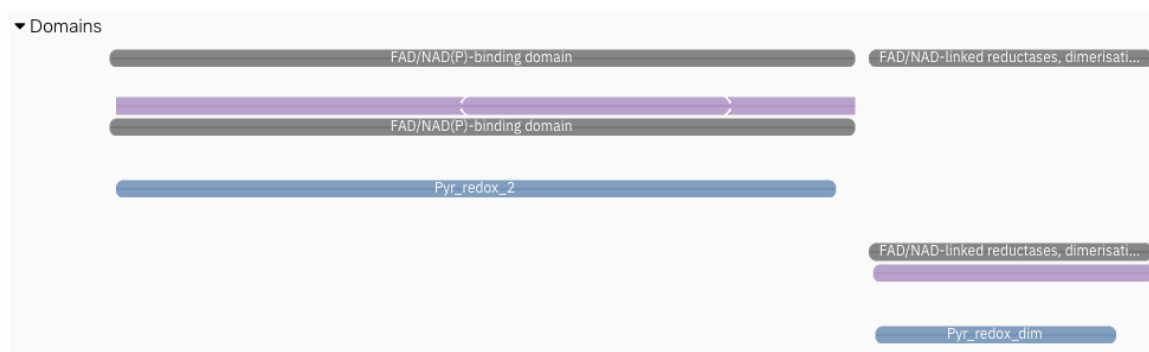
Tioredoksin reduktaze 1 vrste *Arabidopsis thaliana* ni bilo smiselno uvrstiti v to poravnavo več zaporedij, saj če poiščemo podobne proteine z BLAST-om pri človeku, ne dobimo signifikantnih zadetkov in nobene tioredoksin reduktaze. Torej nista homologna proteina, zato je nesmiselno delati filogenetsko drevo na njuni osnovi.

Ali sta človeška tioredoksin reduktaza 1 izoform 1 in goveja tioredoksin reduktaza 1 ortologa?

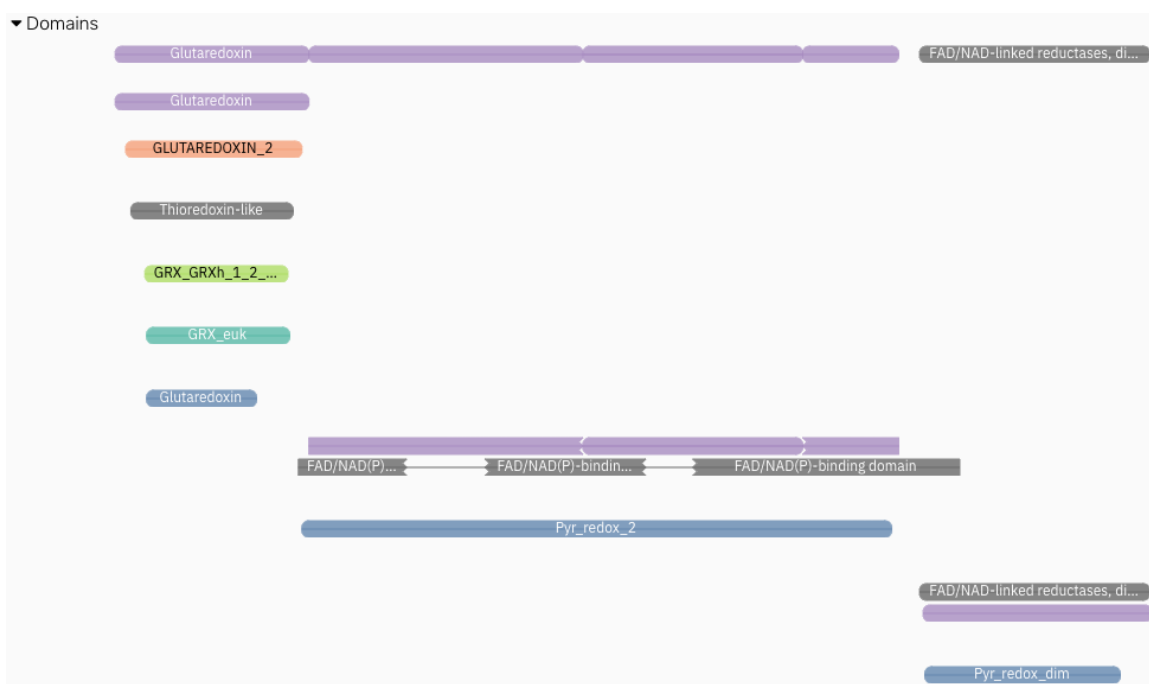
Ne, saj če to preverimo z recipročnim BLAST-om opazimo, da reverzno iskanje nazaj iz goveda v človeka, se goveje zaporedje najbolj ujema z izoformom 5.



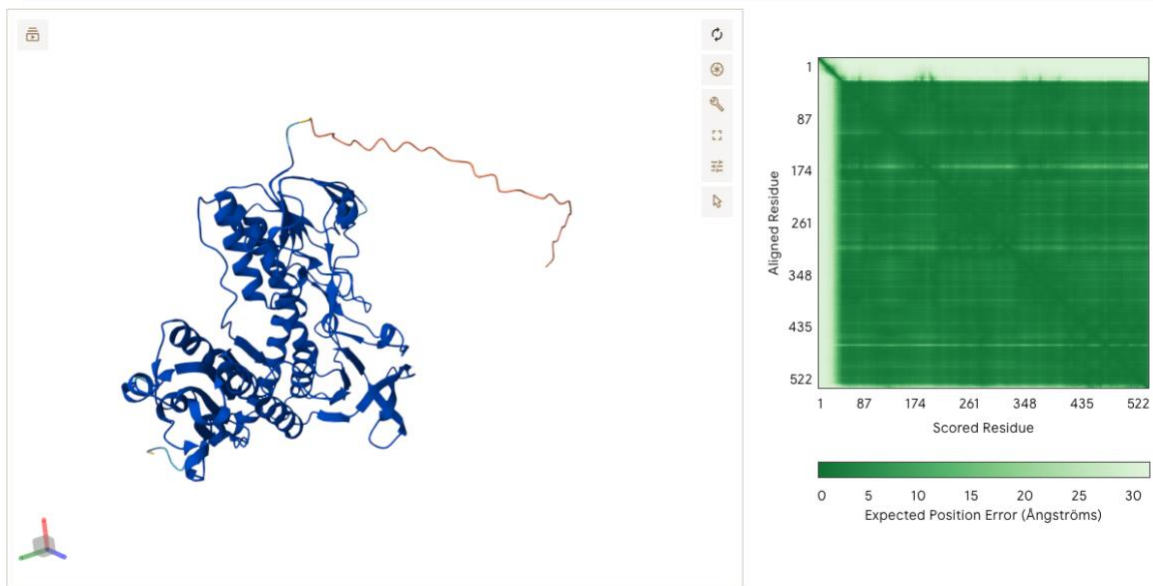
Slika 2: Priloga k nalogi 2. Domene tioredoksin reduktaze 1.



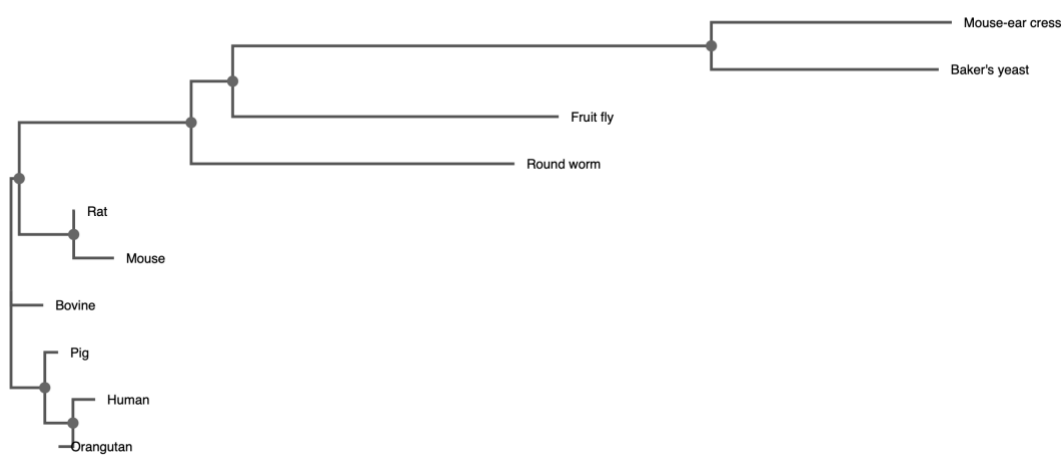
Slika 3: Priloga k nalogi 2. Domene tioredoksin reduktaze 2.



Slika 4: Priloga k nalogi 2. Domene tioredoksin reduktaze 3.



Slika 5: Priloga k nalogi 3. Model človeške tioredoksin reduktaze 2.



Slika 6: Priloga k nalogi 4. Filogenetsko drevo na osnovi tioredoksin reduktaze 1.