

## 1. UniProt

Poišči človeški protein p53.

Napiši ime gena: **TP53**

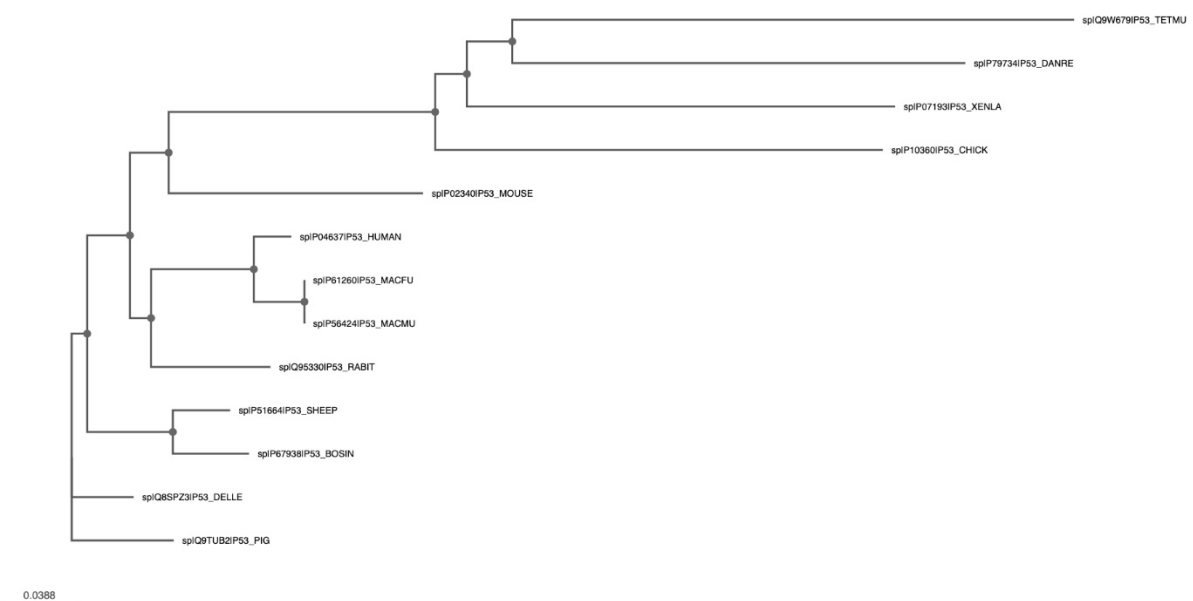
Napiši dolžino proteina: **393 AK ostankov**

Napiši, kje se nahaja protein: **citoplazma, jedro, endoplazemski retikulum, matriks mitohondrija, centrosom**

## 2. Sorodnost

Poišči homologe proteina pri miši (*Mus musculus*) in zebri (*Danio rerio*). S katerim izmed teh dveh organizmov si je človeški protein bolj podoben in zakaj? Odgovor utemelji s sliko filogenetskega drevesa iz programa Clustal Omega, v katerega dodaj še naslednje organizme: *Macaca mulatta*, *Bos indicus*, *Xenopus laevis*, *Tetraodon miurus*, *Gallus gallus*, *Oryctolagus cuniculus*, *Sus scrofa*, *Delphinapterus leucas*, *Ovis aries*, *Macaca fuscata fuscata*.

phylo.io



**Človek in miš sta si evlucijsko bližje, imata bolj podobne genome in regulatorne mehanizme.**

Zaporedja tudi poravnaj in odgovori na vprašanja:

Katere regije so najbolj ohranjene? **Najbolj ohranjena regija proteina p53 je DNA-vezavna domena. Ta del proteina je ključen za vezavo na DNA in regulacijo izražanja genov, povezanih s celičnim ciklom, popravitom DNA in apoptozo. Ker ima pomembno funkcijo, se med evolucijo zelo malo spreminja.**

*Narediš poravnavo zaporedij, pogledaš, katere regije so najbolj ohranjene. V UniProtu pogledaš pod Family & Domains, kaj zapisuje ta regija.*

Zakaj so funkcionalno pomembne regije pogosto evolucijsko ohranjene? **Funkcionalno pomembne regije so evolucijsko ohranjene zato, ker mutacije v teh delih pogosto zmanjšajo ali popolnoma uničijo funkcijo proteina. Organizmi z nefunkcionalnim proteinom imajo lahko slabše možnosti za preživetje in razmnoževanje, zato naravna selekcija ohranja pomembna zaporedja skozi evolucijo.**

Kateri del proteina kaže največ variabilnosti? **Največ variabilnosti kažejo terminalni deli proteina. Ti deli pogosto sodelujejo pri regulaciji aktivnosti proteina in interakcijah z drugimi molekulami, zato dopuščajo več evolucijskih sprememb kot osrednja DNA-vezavna domena.**

```
>sp|P04637|P53_HUMAN Cellular tumor antigen p53 OS=Homo sapiens OX=9606
GN=TP53 PE=1 SV=4
MEEPQSDPSVEPPLSQETFSDLWKLLPENNVLSPLPSQAMDDLMLSPDDIEQWFTEDPGP
DEAPRMPEAAPVAPAPAAPTPAAPAPAPSWPLSSSVPSQKTYQGSYGFRLGFLHSGTAK
SVTCTYSPALNKMFCQLAKTQCPVQLWVDSVTPPPGTRVRAMAIYKQSQHMTEVVRRCPHHE
RCSDSDGLAPPQHLIRVEGNLRVEYLDDRNTFRHSVVVPEPPEVGSDCCTTIHYNMNCNS
SCMGMNRRPILTIITLEDSSGNLLGRNSFEVRCACPGRRRTEENLRKKGEPHHELP
PGSTKRALPNNTSSSPQPKKKPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQAGKEPG
GSRAHSSHLKSKKGQSTSRHKKLMFKTEGPDSD
```

```
>sp|P02340|P53_MOUSE Cellular tumor antigen p53 OS=Mus musculus OX=10090
GN=TP53 PE=1 SV=4
MTAMEESQSDISLELPLSQETFSGLWKLLPPEDILPSPHMDLPLPQDVEEFFEGPSEA
LRVSGAPAAQDPVTETPGPVAPAPATPWPLSSVPSQKTYQGNYGFLGFLQSGTAKSVM
CTYSPPLNKLFCQLAKTQCPVQLWVSATPPAGSRVRAMAIYKQSQHMTEVVRRCPHHERCS
DGDGLAPPQHLIRVEGNLYPEYLEDQRQTFRHSVVVPEPPEAGSEYTTIHYKMCNSSCM
GGMNRRPILTIITLEDSSGNLLGRDSFEVRCACPGRRRTEENFRKKEVLCPELPPGS
AKRALPTCTSASPPQKKKPLDGEYFTLQIRGRKRFEMFRELNEALELKDAHATEESGDSR
AHSSYLKTKKGQSTSRHKKTMVKKVGPDS
```

```
>sp|P79734|P53_DANRE Cellular tumor antigen p53 OS=Danio rerio OX=7955
GN=tp53 PE=1 SV=1
MAQNDSQEFALWEKNLIIQPPGGGSCWDIINDEEYLPGSFDPNFFENVLEEQQPQPSTLP
PTSTVPETSDYPGDHGFRLRFPQSGTAKSVTCTYSPDLNKLFCQLAKTQCPVQMVVDVAPP
QGSVVRATAIYKXSEHVAEVVRRCPHHERTPDGDNLAPAGHLIRVEGNQRANYREDNITL
RHSVFVPEYAPQLGAEWTTVLLNYMNCSSCMGGMNRRPILTIITLETQEGQLLGRRSFEV
RVCACPGRDRKTEESNFKKDQETKMAKTTTGTKRSLVKESSATLRPEGSKKKAGSSSD
EEIFTLQVRGRERYEILKKLNDLSLELSDVVPASDAEKYRQKFMTKNKKENRESSEPKQGK
KLMVKDEGRSDSD
```

```
>sp|P10360|P53_CHICK Cellular tumor antigen p53 OS=Gallus gallus OX=9031
GN=TP53 PE=1 SV=1
MAEEMEPLLEPTEVFMDLWSMLPYSMQQLPLPEDHSNWQELSPLEPSDPPPPPPPPPLPL
AAAAPPPLNPPTPPRAAPSPVVPSTEDYGGDFDFRVGFVEAGTAKSVTCTYSPVLNKVYC
RLAKPCPVQVRVGVAPPPGSSLRAVAVYKXSEHVAEVVRRCPHHERCGGGTDGLAPAQHL
IRVEGNPQARYHDETTKRHSVVVPEPPEVGSDCCTTVLYNFMNCSSCMGGMNRRPILTI
LTLEGGQQLLGRRCFEVRCACPGRDRKIEEENFRKRGGAGGVAKRAMSPPTAEPPPK
KRVLNPDNEIFYLQVRGRRRYEMLKEINEALQLAEGGSAPRPSKGRRVKVEGPQPSGK
LLQKGS
```

```
>sp|Q95330|P53_RABIT Cellular tumor antigen p53 OS=Oryctolagus cuniculus
OX=9986 GN=TP53 PE=2 SV=1
MEESQSDLSLEPPLSQETFSDLWKLLPENLLTTSLNPPVDDLLSAEDVANWLNEDPEEG
```

LRVPAAPAPEAPAPAAPALAAPAPATSWPLSSSVPSQKTYHGNYGFRLGFLHSGTAKSVT  
CTYSPCLNKLFCQLAKTQCPVQLWVDSTPPPGTRVRAMAIYKKSQHMTEVVRRCPPHHERCS  
DSDGLAPPQHLIRVEGNLRAEYLDDRNTFRHSVVVPYEPPEVGSDCCTTIHYNMNCSSCM  
GGMNRRPILTIITLEDSSGNLLGRNSFEVRVCACPGRRRTEENFRKKGEPCELPDPPGS  
SKRALPTTTTSSSPQTKKKPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQAEKEPGGS  
RAHSSYLKAKKGQSTSRHKKPMFKREGPDS

>sp|P51664|P53\_SHEEP Cellular tumor antigen p53 OS=Ovis aries OX=9940  
GN=TP53 PE=2 SV=1  
MEESQAELGVEPPLSQETFSDLWNLLENLLSSELSAPVDDLLPYSEDVVTWLDECPNE  
APQMPEPPAQAALAPATSWPLSSSVPSQKTYPGNYGFRLGFLHSGTAKSVTCTYSPSLNK  
LFCQLAKTQCPVQLWVDSPPPPGTRVRAMAIYKLEHMTEVVRRCPPHHERSSDYSDGLAPP  
QHLIRVEGNLRAEYFDDRNTFRHSVVVPYESPEIESECTTIHYNFMCNSSCMGGMNRRPI  
LTIITLEDSSGNLLGRNSFEVRVCACPGRRRTEENFRKKGQSCPEPPPSTKRALPSS  
TSSSPQKKKPLDGEYFTLQIRGRKRFEMFRELNEALELMDAQAGREPGESEHSSHLKS  
KKGPSPSCHKKPMLKREGPDS

>sp|P67938|P53\_BOSIN Cellular tumor antigen p53 OS=Bos indicus OX=9915  
GN=TP53 PE=2 SV=1  
MEESQAELNVEPPLSQETFSDLWNLLENLLSSELSAPVDDLLPYTDVATWLDECPNEA  
PQMPEPSAPAAPPATPAPATSWPLSSSVPSQKTYPGNYGFRLGFLQSGTAKSVTCTYSP  
SLNKLFCQLAKTQCPVQLWVDSPPPPGTRVRAMAIYKLEHMTEVVRRCPPHHERSSDYSDG  
LAPPQHLIRVEGNLRAEYLDDRNTFRHSVVVPYESPEIDSECTTIHYNFMCNSSCMGGMN  
RRPILTIITLEDSCGNLLGRNSFEVRVCACPGRRRTEENLRKKGQSCPEPPPRSTKRA  
LPTNTSSSPQPKKKPLDGEYFTLQIRGFKRYEMFRELNDALELKDALDGREPGESEHSS  
HLKSKKRSPSCHKKPMLKREGPDS

>sp|Q8SPZ3|P53\_DELLE Cellular tumor antigen p53 OS=Delphinapterus leucas  
OX=9749 GN=TP53 PE=2 SV=1  
MEESQAELGVEPPLSQETFSDLWKLLPENLLSSELSAPVDDLLSPEDVANWLDERPDE  
APQMPEPPAPAAPTAAAPATSWPLSSSVPSQKTYPGSYGFHLGFLHSGTAKSVTCTYS  
PALNKLFCQLAKTQCPVQLWVSSPPPPGTRVRAMAIYKSEYMTEVVRRCPPHHERCSDYSD  
GLAPPQHLIRVEGNLRAEYLDDRNTFRHSVVVPYEPPEVGSDCCTTIHYNFMCNSSCMGGM  
NRRPILTIITLEDSSGNLLGRNSFEVRVCACPGRRRTEENFRKKGQSCPELPTGSAKR  
ALPTGTSSSPQKKKPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQAGKEPGESEHSS  
SHLKSCKKQSPSRHKKLMFKREGPDS

>sp|P61260|P53\_MACFU Cellular tumor antigen p53 OS=Macaca fuscata fuscata  
OX=9543 GN=TP53 PE=2 SV=1  
MEEPQSDPSIEPPLSQETFSDLWKLLPENNVLSPLPSQAVDDLMLSPDDLAQWLTEDPGP  
DEAPRMSEAAPPMAPTPAAPTAAAPAPAPSWPLSSSVPSQKTYHGSYGFRLGFLHSGTAK  
SVTCTYSPDLNKMFCQLAKTQCPVQLWVDSTPPPGSRVRAMAIYKQSQHMTEVVRRCPPHE  
RCSDSGLAPPQHLIRVEGNLRAEYSDDRNTFRHSVVVPYEPPEVGSDCCTTIHYNMNCNS  
SCMGGMNRRPILTIITLEDSSGNLLGRNSFEVRVCACPGRRRTEENFRKKGEPCHQLP  
PGSTKRALPNNTSSSPQPKKKPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQAGKEPA  
GSEHSSHLKSCKKQSTSRHKKFMFKTEGPDS

>sp|P56424|P53\_MACMU Cellular tumor antigen p53 OS=Macaca mulatta OX=9544  
GN=TP53 PE=2 SV=1  
MEEPQSDPSIEPPLSQETFSDLWKLLPENNVLSPLPSQAVDDLMLSPDDLAQWLTEDPGP  
DEAPRMSEAAPPMAPTPAAPTAAAPAPAPSWPLSSSVPSQKTYHGSYGFRLGFLHSGTAK  
SVTCTYSPDLNKMFCQLAKTQCPVQLWVDSTPPPGSRVRAMAIYKQSQHMTEVVRRCPPHE  
RCSDSGLAPPQHLIRVEGNLRAEYSDDRNTFRHSVVVPYEPPEVGSDCCTTIHYNMNCNS  
SCMGGMNRRPILTIITLEDSSGNLLGRNSFEVRVCACPGRRRTEENFRKKGEPCHQLP  
PGSTKRALPNNTSSSPQPKKKPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQAGKEPA  
GSEHSSHLKSCKKQSTSRHKKFMFKTEGPDS

>sp|Q9TUB2|P53\_PIG Cellular tumor antigen p53 OS=Sus scrofa OX=9823 GN=TP53  
PE=2 SV=1  
MEESQSELGVEPPLSQETFSDLWKLLPENLLSSELSLAAVNDLLLSPVTNWLDPDDA

SRVPAPPAATAPAPAAPAPATSWPLSSSFVPSQKTYPGSYDFRLGFLHSGTAKSVTCTYSP  
ALNKLFCQLAKTQCPVQLWVSSPPPPGTRVRAMAIYKKSEYMTEVRRCPHHERSSDYSDG  
LAPPQHLIRVEGNLRAEYLDDRNTFRHSVVVPYEPPEVGSDCITIHYNFMCNSSCMGGMN  
RRPILTIITLEDASGNLLGRNSFEVRVCACPRDRRTEENFLKKGQSCPEPPPGSTKRA  
LPTSTSSSPVQKKKPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNDALELKDAQTARESGENRAHSS  
HLKSKKGQSPSRHKKPMFKREGPDSD

>sp|P07193|P53\_XENLA Cellular tumor antigen p53 OS=Xenopus laevis OX=8355  
GN=tp53 PE=2 SV=1  
MEPSSETGMDPPLSQETFEDLWSLLPDPLQTVTCRLDNLSEFPDYPLAADMTVLQEGLMG  
NAVPTVTSCAVPSTDDYAGKYGLQLDFQQNGTAKSVTCTYSPELNKLFCQLAKTCLLVR  
VESPPPRGSILRATAVYKKSEHVAEVRKRCPHHERSVEPGEDAAPP SHLMRVEGNLQAYY  
MEDVNSGRHSVCVPYEGPQVGTCTTVLYNYMCNSSCMGGMNRRPILTIITLETQGLLL  
GRRCFEVRVCACPRDRRTEEDNYTKRGLKPSGKRELAHPPSSEPPLPKKRLVVDDDE  
EIFTLRIKGRSRYEMIKKLNDALELQESLDQKVTIKCRKCRDEIKPKKGKLLVKDEQP  
DSE

>sp|Q9W679|P53\_TETMU Cellular tumor antigen p53 OS=Tetraodon miurus  
OX=94908 GN=tp53 PE=2 SV=1  
MEEENISLPLSQDTFQDLWDNVSAPPISTIQTAALENEAWPAERQNMCMCFMDSTFNEA  
LFNLLPEPPSRDGANSSSPTVPVTTDYPGEYGFKLRFQKSGTAKSVTSTYSEILNKLYCQ  
LAKTSLVEVLLGKDPMPGAVLRATAIYKKTEHVAEVRKRCPHHQNEDSAEHRSHLIRMEG  
SERAQYFEHPHTKRQSVTVPEPPQLGSEFTTILLSFMCNSSCMGGMNRRPILTILTLET  
QEGIVLGRRCFEVRVCACPRDRKTEETNSTKMQNDAKDAKKRKSVPDSTTIKKSSTA  
SSAEEDNNEVYTLQIRGRKRYEMLKKINDGLDLENKPKSKATHRPDGP IPPSGKRLLR  
GEKSDSD

### 3. Modeliranje

S pomočjo Swiss-model izdelaj model proteina p53 iz izbranega organizma (ki še nima eksperimentalne strukture). Priloži sliko modela.

Kaj pomeni kratica GMQE in kakšna je njena vrednost? Kaj to pove o modelu? **To je ocena kakovosti modela v vrednosti med 0 in 1. bližje kot je 1, bolj je model zanesljiv.**

Kakšna je sekvenčna podobnost? Kaj to pomeni? **Sekvenčna podobnost pove, kolikšen delež aminokislin v poravnavi je enakih med tarčnim proteinom in izbrano predlogo (template). Višja sekvenčna podobnost pomeni večjo evolucijsko sorodnost, bolj podobno tridimenzionalno strukturo, večjo zanesljivost modela.**

Kakšen je coverage? Kaj to pomeni? **Coverage pomeni, kolikšen del zaporedja proteina je zajet v modelu oziroma poravnan s predlogo. Če je coverage 100% to pomeni, da model pokriva celotno zaporedje proteina. Modeli z višjim coverage so bolj uporabni za analizo strukture in funkcije.**

### 4. Struktura

V programu Chimera X odpri strukturo proteina p53 s kodo 7DHZ in jo poravnaj z modelom pridobljenem v Swiss-model. Priloži sliko poravnave strukture in jo komentiraj.

Poravnava kaže, da se osrednji del struktur zelo dobro ujema, končni deli proteina pa kažejo precejšnja odstopanja. Najboljše ujemanje opazimo v osrednji domeni p53, kjer se  $\beta$ -listi in  $\alpha$ -vijačnice skoraj prekrivajo. To nakazuje, da je ta regija evolucijsko in funkcionalno močno ohranjena, saj predstavlja DNA-binding domeno, ki je ključna za vezavo DNA in tumorsupresorsko funkcijo proteina.

Nasprotno pa dolgi zunanji deli strukture kažejo veliko variabilnost in slabše prekrivanje. Ti deli predstavljajo fleksibilne regije proteina, predvsem N- in C-terminalne dele. Takšne regije pogosto niso popolnoma določene v eksperimentalnih strukturah. To potrjuje povezavo med evolucijsko ohranjenostjo, strukturo in funkcijo proteina p53. Najbolj ohranjeni deli so hkrati tudi strukturno stabilni in funkcionalno ključni za vezavo DNA ter regulacijo celičnega cikla. Razlike med strukturama so zato pričakovane.

