

Základní vlastnosti proteinů

Úkol 1

Pomocí aplikace **ProtParam** určete základní fyzikálně-chemické parametry proteinu:

```
PLLSASIVSAPVVTSETYVDIPGLYLDVAKAGIRDGKLQVILNVPTPYATGNNFPGIYFAIATNQGTVV  
ADGCFTYSSKVPSTGRMPFTLVATIDVSGVTFVKQWKSVRGSAMHIDSYASLSAIWGTAAAPSSQG  
SGNQGAEETGGTGAGNIGGGGERDGTFNLPPIKFGVTALHTAANDQTIDIYIDDDPKPAATFKGAGAQ  
DQNLGTKVLDSGNGRVRVIVMANGRPSRLGSRQVDIFKKSIFGIIGSEDGADDDYNDGIVFL
```

Úkol 2

Molekulová hmotnost zkoumaného proteinu byla pomocí SDS-PAGE stanovena na cca 30 kDa. Ověřte, zda se jedná o Váš protein:

```
SKEPLRPRCRPINATLAVEKEGCPVCITVNTTICAGYCPTMTRVLQGVLPALPQVVCNYRDVRFESIR  
LPGCPRGVNPNVVSYAVALSCQCALCRRSTTDCGGPKDHPLTCDDPRFQDSSSSKAPPSLPSRLPG  
PSDTPILPQ
```

Pokuste se vysvětlit možné nesrovnalosti.

Úkol 3

Student s využitím **ProtParam** vypočítal molekulovou hmotnost svých proteinů na 69,9 a 12,7 kDa. Při gelové chromatografii ale určil molekulovou hmotnost na 33 a 51 kDa! Ověřte jeho výpočet a zkuste najít vysvětlení, když je experimentálně prokázáno, že tyto proteiny nepodléhají PTM.

Protein 1:

```
CCGACGGAGTTCCTGTACACGAGCAAGATAGCGGCGATAAGCTGGGCGGCGACGGGGGGGAGGCAGCAGAGGGTG  
TACTTCCAGGACCTGAACGGGAAGATAAGGGAGGCGCAGAGGGGGGGGACCAACCCGTGGACGGGGGGGAGCAGC  
CAGAACGTGATAGGGGAGGCGAAGCTGTTTCAGCCCGCTGGCGGCGGTGACGTGGAAGAGCGCGCAGGGGATACAG  
ATAAGGGTGTACTGCGTGAACAAGGACAACATACTGAGCGAGTTCGTGTACGACGGGAGCAAGTGGATAACGGGG  
CAGCTGGGGAGCGTGGGGGTGAAGGTGGGGAGCAACAGCAAGCTGGCGGCGCTGCAGTGGGGGGGAGCGAGAGC  
GCGCCGCCAACATAAGGGTGTACTACCAGAAGAGCAACGGGAGCGGGAGCAGCATAACGAGTACGTGTGGAGC  
GGGAAGTGGACGGCGGGGGCGAGCTTCGGGAGCACGGTGCCGGGGACGGGGATAGGGGCGACGGCGATAGGGCCG  
GGGAGGCTGAGGATATACTACCAGGCGACGGACAACAAGATAAGGGAGCACTGCTGGGACAGCAACAGCTGGTAC  
GTGGGGGGTTCAGCGCGAGCGGAGCGGGGGTGGAGCATAGCGGCGATAAGCTGGGGGAGCACGCCGAACATA  
AGGGTGTACTGGCAGAAGGGGAGGGAGGAGCTGTACGAGGCGGCGTACGGGGGGAGCTGGAACACGCCGGGGCAG  
ATAAAGGACGCGAGCAGGCCGACGCCGAGCCTGCCGGACACGTTTCATAGCGGCGAACAGCAGCGGGGAACATAGAC  
ATAAGCGTGTTCCTCCAGGCGAGCGGGGTGAGCCTGCAGCAGTGGCAGTGGATAAGCGGGGAAGGGGTGGAGCATA  
GGGGCGGTGGTGCCGACGGGGACGCCGGGGGGTGG
```

Protein 2:

```
AWKGEVLANNEAGQVTSIIYNPGDVITIVAAGWASYGPTQKWGPQGDREHPDQGLICHDAFCGALVMKIGNSGTI  
PVNTGLFRWVAPNNVQGAITLIYNDVPGTYGNNSGSFSVNIGKDQS
```

Úkol 4

Student pracuje se směsí tří proteinů. Ve standardním pufru (20 mM Tris/HCl, 150 mM NaCl, pH 7,5) pozoroval vznik sraženiny! Zkuste ODHADNOUT, jestli dochází ke srážení všech proteinů nebo pouze některého z nich a zoufalému studentovi pomozte najít řešení.

Protein 1:

```
PLLSASIVSAPVVTSETYVDIPGLYLDVAKAGIRDGKQLQVILNVPTPYATGNNFPGIYFAIATNQGVVADGCFTY  
SSKVPESTGRMPFTLVATIDVGSVTFVKGQWKSVRGSAMHIDSYASLSAIWGTAAAPSSQGSNGQGAETGGTGAG  
NIGGGGERDGTFLNPPHIKFGVTALTHAANDQTDIYIDDDPKPAATFKGAGAQQDQNLGTKVLDGNGRVRVIVM  
ANGRPSRLGSRQVDIFKKSIFYGIIIGSEGDADDDYNDGIVFLNWPLG
```

Protein 2:

```
GLSDGACWQLVLNVWGKVEADICPGHGQEVLLILLFKGHPETLEKFDKCFKHLKCSSEDEMKASEDLKKGATVLT  
CLGGILKKKCGHHEAECIKPLAQDQSHATKHKISPVKYLCFRISECRCIQIVLQCSKHPGDFGCADAQGGAMNKA  
LELFRCKDMASNYKELGFQG
```

Protein 3:

```
AWKGEVLANNEAGQVTSIIYNPGDVITIVAAGWASYGPTQKWGPQGDREHPDQGLICHDAFCGALVMKIGNSGTI  
PVNTGLFRWVAPNNVQGAITLIYNDVPGTYGNNSGSFVSVNIGKDQS
```

Úkol 5

Student potřeboval pro následné experimenty imobilizovat 3 proteiny na nosič (karboxymethylovaný dextran). Nechtělo se mu ptát se na radu kolegů a tak proteiny rozpustil v doporučeném komerčním pufru (10 mM octan sodný, pH 5,0) a provedl imobilizace. U proteinů 1 a 3 byla úspěšná, u proteinu 2 naprosto selhala. „Proč?“, ptá se (opět) zoufalý student.

Protein 1:

```
PTEFLYTSKIAAISWAATGGRQQRVYFQDLNGKIREAQRGGDNPWTGGSSQNVIGEAKLFSPLAAVTWKSQAQGIQ  
IRVYCVNKDNLSEFVYDGSKWITGQLGSGVGVKGSNSKLAALQWGGSESAPPNIRVYYQKSNVSGSSIHEYVWS  
GKWTAGASFGSTVPGTGIGATAIGPRLRIYYQATDNKIREHCWDSNSWYVGGFSASASAGVSIAAISWGSTPNI  
RVYWQKREELYEAAYGGSWNTPGQIKDASRPTPSLPDTFIAANSSGNIDISVFFQASGVSLQWQWISGKGWSI  
GAVVPTGTGAPGW
```

Protein 2:

```
ATQGVFTLPANTFGVTAEFANESSGTQTVNVLVNNETAATFSQSTNNAVIGTQVENSGSSGKVQVQVSVNGRPS  
DLVSAQVILTNELNFALVGSSEDDGTDNDYNDVAVVVINWPLG
```

Protein 3:

```
SSVQTAATSWGTVPSIRVYTANNGKITERCWDGKGWYTGAFNEPGDNVSVTSWLVGSAIHIRVYASTGTTTTEWC  
WDGNGWTKGAYTATN
```

Úkol 6

Student experimentálně určil extinkční koeficienty tří proteinů při 280 nm. A potom si rozházel špatně popsané výsledky a neví, který koeficient patří ke kterému proteinu... Pomozte mu přiřadit jednotlivé koeficienty ke správným proteinům. Předpokládejte, že student už čeká před kanceláří vedoucího a nemůže použít počítač.

Protein 1:

```
AQQGVFTLPARINFGVTVLVNSAATQHVEIFVDNEPRAAFSGVGTGDNNGTKVINSGSGNVRVQITANGRQSDL  
VSSQLVLANKLNLAVVGSSEDDGTDMDYNDIVILNWPLG
```

Protein 2:

AWKGEVLANNEAGQVTSIIYNPGDVITIVAAGWASYGPTQKWGPQGDREHPDQGLICHDAFCGALVMKIGNSGTI
PVNTGLFRWVAPNNVQGAITLIYNDVPGTYGNNSGSFSVNIQKQDS

Protein 3:

SSVQTAATSWGTVPSIRVYTANNGKITERCWDGKGWYTGAFFNEPGDNVSVTSWLVGSAIHIRVYASTGTTTTEWC
WDGNGWTKGAYTATN

Určené koeficienty jsou: 45 687, 7105, 27 860 M⁻¹ cm⁻¹.

Úkol 7

Stejná situace. Ale nyní předpokládejte, že student má internet v mobilu. (A že je příliš nervózní a nedokáže to odhadnout. Což je rychlejší.)

Úkol 8

Predikujte in vivo half-life následujících proteinů:

Protein 1:

MAQQGVFTLTPARINFGVTVLVNSAATQHVEIFVDNEPRAAFSGVGTGDNNLGTVKVINSGSGNVRVQITANGRQSD
LVSSQLVLANKLNLAUVGSEDGTDMDYNDIVILNWPLG

Protein 2:

MDRNGNFSLPPNTAFKAIIFYANAADRQDLKLFIDDAPEPAATFVGNSEDGVRLEFTLNSKGGKIRIEASANGRQSA
TDARLAPLSAGDTVWLGWLGAEEDGADADYNDGIVILQWPIT

Protein 3:

MERDGTFNLPPIKFGVLTALHTAANDQTIDIYIDDDPKPAATFKGAGAQQNLGTVKVLDSGNGRVRVIVMANGRPSRLGSRQVDIFKKSIFYGIIHSEDGADDDYNDGIVFLNWPLG

Úkol 9

Student se má rozhodnout, se kterými proteiny bude pracovat příští dva roky v rámci diplomové práce. Poučen předchozími chybami se chce poradit se svými kolegy (s Vámi). Vyberte mu dva proteiny!

Protein 1:

SDVDIEAQDAGQTLVQVISIPSGETWVAIQLPQYRYDFVFFENVSPTSSGSVLVAQMAPQSGGVYGSNYSGSGW
GNDLGGGGFYGYSEAKWMCLWPANRSGPSSKTGLYGTCKLMNLNQSSAVPSVTSNLFAPTAYKNEPGYANVGGCC
QKIRGLASSIQFAFALAGGNVPQNTDTFNGGTIKVYGWN

Protein 2:

LVIVDAVTLLSAYPEASRDPAAPTVIDGRHLYVVS PGDAAQLGHNSRLFTGLSPGDQLHLRETALALRAEVSVL
FIRFALKDAGIVAPIELEVRDAATAVPDADDLLHPSRPLKDHYWRSVLAAGATTCADFAVCDRDGTVSGYFR
WETSIEIAGSQPDTKQPGFKPSS

Protein 3:

PLLSASIVSAPVVTSETYVDIPGLYLDVAKAGIRDGKLQVILNVPTPYATGNNFPGIYFAIATNQGVVADGCFTY
SSKVPESTGRMPFTLVATIDVSGSVTFVKGQWKSVRGSAMHIDSYASLSAIWGTAAAPSSQGSNGQGAETGGTGAG
NIGGGG

Protein 4:

ADSQTSSNRAGEFSIPPNTDFRAIFFANAAEQQHIKLFIGDSQEPAAAYHKLTTTRDGPREATLNSGNGKIRFEVSV
NGKPSATDARLAPINGKKS DGSFPFTVNFQIVVSEDGHDSDYNDGIVVLQWPIG

Úkol 10

Porovnejte typický membránový a cytoplasmatický protein:

Protein 1:

DPIALTAAVGADLLGDGRPETLWLIGITLLMLIGTFYFIVKGGVTDKEAREYYSITILVPGIASAAYLSMFFGI
GLTEVQVGSEMLDIYARYADWLFTTPLLDDLALLAKVDRVSI GTLVGVDALMIVTGLV GALSHTPLARYTWLW
FSTICMIVVLYFLATSLRAAAKERGPVASTFNLTALVVLVLTAYPILWII GTEGAGVVGLGIETLLEFMVLDVT
AKVGF GFI LLRSRAILGDTEAPEPSAGAEASAAD

Protein 2:

KLAVYSTKQYDKKYLQOVNESFGFELEFFDFLLTEKTAKTANGCEAVCI FVNDDGSRPVLEELKKHGVKYIALRC
AGFNNDLDAAKELGLKVVRVPAYDPEAVA EHAIGMMMTLNRRIHRA YQRTRDANFSLEGLTGFTMYGKTAGVIG
TGKIGVAMLHILKGFGRMLLAFDPYPSAAALEL GVEYVDLPTLFSESDV I SLHCPLTPENYHLLNEAAFDQMKNG
VMIVNTSRGALIDSQAAIEALKNQKIGSLGMDVYENERDLFFEDKSNDVIQDDVFRRLSACHNVLF TGHQAFLTA
EALTSISQTTLQNL SNLEKGETCPNELV

Úkol 11

Analyzujte proteiny z Úkolu 10 pomocí nástroje PSORT. Oba proteiny pocházejí z Gram negativních bakterií.

Úkol 12

Student má za úkol izolovat zajímavý (pro vedoucího) protein z Gram negativní bakterie. Po několikadenním pěstování čtyř litrů kultury se student snažil získat z buněk protein (další týden práce), ale získal pouze mizivé množství... Jeho kolegyně si myslí, že se jedná o membránový protein, který je labilní a nevydrží proces izolace. Ověřte její teorii...

Protein 1:

MKYKTVKSIPLFLLGSIVFTACSTPQSTFHLPVQTTVSAIKKDISGKTATAVKAASSSSSTTTSNDDNNQKGYFL
ETNRSTGTYDPNNSTR LIKLGESGDFHAADQNKPEEALFERLYGGIASLLNFRI IKPALTYWNTVTPSLKAIGKS
SNLITFSQDIDETELQRALANNLIVADDGNNNFWFGLKSLSFNSAKLTDNAQTQMAQKTTQAVTLKSQAQMSSTN
TKNTNKKIDLRDKITLSSTMNTQSGDNKNPSSGLIQKLVSVENIEAEFSFVKTFGNGNEIKFGDFVTENSPTTT
QLKQVWKKKWGTE LKKTNYKLQLN NFSLLLTYTPEVNKVEKGNGDSNKGTIATPNGFSFLYPANLNETPSSSSS
YWTNVTDLTKAATDTENTNLLNDLQKSQE QVNQFVAAITQNHLDVSEAAALTKKQFGSLSISDFFKAI FKENGKDT
KAKS

Úkol 13

Student má za úkol charakterizovat a navrhnout možnou funkci proteinu z *Burkholderia cenocepacia*. Pomozte mu.

Protein 1:

LVIVDAVTLLSAYPEASRDPAAPTVIDGRHLYVVS PGDAAQLGHNDSRLFTGLSPGDQLHLRETALALRAEVSVL
FIRFALKDAGIVAPIELEVRDAATAVDPDADDLLHPSRPLKDHYWRSVLAAGATTCTADFAVCDRDGTVSGYFR
WETSIEIAGSQPDTKQPGFKPSS

Úkol 14

Predikujte možnou lokalizaci proteinu z *Homo sapiens* a zkuste predikovat lokalizaci proteinu z *Vampyroteuthis infernalis*, i když je k dispozici jen fragment proteinu.

Protein 1:

MKWLLLLGLVALSECIMYKVPLIRKKSRLRRTLSEGRLLKDFLKKHNLNPARKYFPQWEAPTLVDEQPLENYLDME
YFGTIGIGTPAQDFTVVFDTGSSNLWVPSVYCSSLACTNHNRFNPESSSTYQSTSETVSITYGTGSMTGILGYDT
VQVGGISDTNQIFGLSETEPGSFLYYAPFDGILGLAYPSISSSGATPVFDNIWNQGLVSDLFVYLSADDQSGS
VVIFGGIDSSYYTGSLNWVPVTVEGYWQITVDSITMNGEAIACAEGCQAIVDVTGTSLLTGPTSPIANIQSDIGAS
ENSDGDMVSCSAISSLPDIVFTINGVQYPVPPSAYILQSEGSCISGFQGMNLPTESGELWILGDVFIHQYFTVF
DRANNQVGLAPVA

Protein 2:

RKSTGGKAPRKQLATKAARKSAPATGGVKKPHRYRPGTVALREIRRYQKSTELLIRKLPFQRLVREIAQDFKTDL
RFQSSAVMALQEASEAYLVGLFEDTNLCAIHAKR

Úkol 15

Použijte BLAST a pokuste se blíže určit funkci proteinu z *Vampyroteuthis infernalis*.