

Uveďte svoje jméno:

Úloha 1

Získali jste cDNA vašeho proteinu, který se skládá z 253 aminokyselin, a naklonovali jste ji do expresního plasmidu tak, aby krátce za 3' koncem cDNA následovala plasmidová sekvence ACG GCC GTC GTT TTA C. Pro kontrolu sekvence vašeho genu pomocí dideoxy metody jste použili primer 5'GTA AAA CGA CGG CCG T3'. Výstup sekvenátoru obsahoval přiložený fragment, odpovídající přibližně stému nukleotidu v sekvenci. Červeně je značen signál fluoroforu navázaného na ddTTP, modře na ddCTP, zeleně na ddATP, černě na ddGTP.

1. Do rámečku запиšte číslo výstupu:

2. Do rámečku запиšte úsek sekvence vlákna DNA obsahujícího vaši cDNA, který odpovídá uvedenému fragmentu výstupu sekvenátoru:

3. Do rámečku запиšte příslušný úsek sekvence mRNA, která sloužila jako templát pro vaši cDNA:

4. Do rámečku запиšte úsek sekvence proteinu, který je kódován tím úsekem vašeho genu, jehož sekvenci čteme ve výstupu sekvenátoru. Uveďte všechny aminokyseliny, které můžeme jednoznačně určit:

Úloha 2

Určete sekvenci pentapeptidu z hmotnostního spektra, ve kterém jsou přítomny signály celého peptidu a všech y a b fragmentů (krom fragmentu b_1 , který v praxi nevzniká).

1. Do rámečku запиšte číslo spektra:

2. Do rámečku запиšte sekvenci peptidu:

Úloha 3

Z infračerveného spektra vibrace AMID I určete zastoupení α -šroubovice a skládaného listu v proteinu.

1. Do rámečku запиšte číslo proteinu:

2. Uveďte zastoupení α -šroubovice:

%

3. Uveďte zastoupení skládaného listu:

%

Úloha 4

Dostali jste výsledky CD měření. V horní části jsou naměřená spektra typických konformací peptidů, v dolní části jsou spektra proteinu naměřená ihned po purifikaci a o dva dny později. Z uvedených interpretací výsledků uveďte tu, která odpovídá vašemu CD spektru.

1. Do rámečku zapište číslo proteinu:

2. Označte správnou odpověď:

- Purifikovaný protein neměl pravidelnou strukturu, během doby mezi měřeními došlo k jeho vysrážení, takže koncentrace v kyvetě poklesla.
- Purifikovaný protein měl strukturu β -soudku, během doby mezi měřeními došlo k částečnému vysrážení, takže koncentrace v kyvetě poklesla. Struktura proteinu v roztoku se ale nezměnila.
- Purifikovaný protein byl tvořen svazkem α -šroubovic. Během doby mezi měřeními došlo k částečnému vysrážení, takže koncentrace v kyvetě poklesla. Struktura proteinu v roztoku se ale nezměnila.
- Purifikovaný protein měl strukturu β -soudku, během doby mezi měřeními došlo k částečné denaturaci proteinu.
- Purifikovaný protein byl tvořen svazkem α -šroubovic. Během doby mezi měřeními došlo k částečné denaturaci proteinu.
- Purifikovaný protein byl tvořen dvěma β -doménami spojenými delší smyčkou bez pravidelné struktury. Mezi měřeními byla přidána látka, která vyvolala přeměnu smyčky na β -sandwich.
- Purifikovaný protein byl tvořen dvěma β -doménami spojenými delší smyčkou bez pravidelné struktury. Mezi měřeními byla přidána látka, která vyvolala přeměnu smyčky na dvě antiparalelní α -šroubovice.
- Purifikovaný protein byl tvořen dvěma paralelními α -helixy spojenými dlouhou smyčkou bez pravidelné struktury. Mezi měřeními byla přidána látka, která vyvolala konformační změnu proteinu na strukturu α - β - α .
- Purifikovaný protein byl přítomen ve své nativní α -šroubovicové formě. Mezi měřeními bylo přidáno malé množství patologické β -formy proteinu. Tento přídatek katalyzoval přeměnu proteinu na formu skládaného listu.
- Purifikovaný protein měl strukturu β -soudku. Zlomyslný kamarád vám ale vzorek mezi měřeními vyměnil za protein tvořený svazkem α -šroubovic.