

1.1 Aus wie viel Aminosäuren besteht das Signalpeptid des Thaumatin I (zusammen mit Signal-, und Propeptid-Sequenz?) **235 AS**

1.2a) Wie viel Disulfidbrücken enthält Thaumatin I? **8**

1.2b) Welche Nummern haben die Aminosäuren, die mit dem größten Abstand untereinander über eine Disulfidbrücke verknüpft sind? **31-226**

1.2c) Prüfen Sie um welche Aminosäuren es sich handelt. Einbuchstabencode: **C**. \_\_\_\_\_ ausgeschriebener Name: **Cystein**

1.3) Für was stehen die verschiedenen Farben?

schwarz: **beta-Faltblatt** , blau: **Schleifen-Bereich** , rosa: **alpha-Helix**

1.4 Klicken Sie auf einen Link (z.B. „EMBL“) der zur mRNA des „Präprotahaumatin I“ gehört. HINWEIS: Im sich öffnenden Fenster rechts oben im blauen Kasten auf z.B. „FASTA“ klicken, um sich die mRNA-Basensequenz anzuzeigen.

a) [setzt Vorwissen voraus] Welche Base fehlt in einer mRNA-Sequenz (im Vergleich zur DNA)? **Thymin (T)**

b) [setzt Vorwissen voraus] Welche finden sich stattdessen in einer mRNA?: **Uracil (U)**

c) Welches Start-Codon würde man für die erste Aminosäure (Methionin = Met = M) erwarten? ⇒ Auf der **Code-**

**Sonne** recherchieren! **AUG** Wie ist es hier angegeben? **ATG**

d) Welches Stopp-Codon findet sich in der mRNA zum Thaumatin? hier dargestellt als: **TAA** damit ist eigentlich gemeint: **UAA** (vgl. Code-Sonne)

2.1 Legen Sie die Aminosäuresequenzen für das **humane** und das **bovine Serumalbumin** als Präkursor-Version (selber in der Datenbank finden! Tipps: z.B. über die englischen Namen oder die UniProtID) in den Korb (basket) und vergleichen Sie diese bezüglich der AS-Sequenz (Alignment).

UniProtIDs („Entry“) und UniProt-Proteinbezeichnung („Entry name“):

**P02768, ALBU\_HUMAN**

**P02769, ALBU\_BOVIN**

2.3 Wie viel Prozent der Aminosäuren der Aminosäuren sind identisch?

**76,355% identische Posititonen (465 AS von 609 AS)**

3.1. BLASTen Sie das gesamte humane Prolactin indem Sie auf BLAST drücken. Prüfen Sie auf der Basis Ihres Ergebnissen ob Menschen eher mit Bonobo-Schimpanzen (*Pan paniscus*) oder eher mit Gorillas (*Gorilla gorilla*) oder eher mit Dromedaren (*Camelus dromedarius*) verwandt sind. Wie groß sind die Übereinstimmungen?

**mit Bonobos (*Pan paniscus*): 98,7%; mit Gorillas (*Gorilla gorilla*): 98,2%; mit Dromedaren (*Camelus dromedarius*): 81,4%**

3.2 Führen Sie mit UniProt ein **blastx** für folgende DNA-Sequenz durch: **agtgctgcgtgtagagagtgccgagtgta** (Leseraster ist nicht bekannt!). Geben Sie das Protein mit UniProtID und Uniprot-Name an, zu dem die Sequenz passt.

**V5G432, alpha-1,2-Mannosidase (*Byssochlamys spectabilis* (st...))**

3.3 Ermitteln Sie die proz. Übereinstimmung des Enzyms „**ATP-abhängige 6-Phosphofruktokinase 1(ATP-PFK)**“ (**Enzymnummer: 2.7.1.11**) im Vergleich zur humanen Variante. Existieren verschiedene **Isoformen** (gleiche Funktion, anderer Bau, meist in unterschiedlichem Gewebe zu finden), so vergleichen Sie die aus Muskelgewebe (**PFKM** oder **PFKMA**). Wenn kein oder mehrere passende Einträge, dann diejenige Form mit am ehesten vergleichbarer molarer Masse wählen. **Möglichkeit 1:** Protein Alignment. Alle Proteine in den Korb befördern. Dann jedes Protein einzeln mit dem humanen Protein vergleichen.

**Möglichkeit 2:** **blastp**

	Bonobo-	Wanderratte	<b>Zebrafisch</b>	Lanzettfischchen	ein Fadenwurm	<b>Escherichia coli</b>
--	---------	-------------	-------------------	------------------	---------------	-------------------------

	Schimpanse ( <i>Pan paniscus</i> )	( <i>Rattus norvegicus</i> )		( <i>Branchiostoma sp.</i> )	( <i>Caenorhabditis elegans</i> )	(Stamm K12)
letzter gemeinsamer Vorfahre lebte vor	5-6 Mio J	100-150 Mio J	200-300 Mio J	500 Mio J	800 – 1000 Mio J	?
UniProt ID	A0A2R9BRB6	P47858	Q66HV8	C3Y8C1	Q9TZL8	P0A796
% Übereinstimmung	100,0%	ca. 97%	ca. 77%	ca. 62%	ca. 53%	ca. 17%

#### 4.1. Aufgabe: Humanes Glucagon

- a) Nehmen Sie den Aminosäuresequenz-Abschnitt zwischen der 15. und 21. Aminosäure aus dem humanen Peptidhormon Glucagon und übersetzen Sie es in die wahrscheinlichste Nucleotid-Sequenz.

**AS-Sequenz: VQGSWQR - wahrscheinlichste DNA-Sequenz: GTGCAGGGCAGCTGGCAGAGG**

- b) Übersetzen Sie die AS-Sequenz mit einem anderem Werkzeug zurück in eine Aminosäuresequenz.

**5'-3'-Leserahmen: VQGSWQR**

4.2. Ergänzen Sie in Querformat angegebene Tabelle (siehe unten). Existieren mehrere Möglichkeiten, so wählen Sie „REVIEWED“-Einträge, also solche die verifiziert wurden (goldfarben + Sternchen). Im Zweifelsfall wählen Sie den obersten passenden Eintrag.

Bezeichnung (DE/EN)	Wirts-organismus	UniProt ID	Gen-Name	erste 10 AS (N-Terminus )	letzte 10 AS(C-Terminus)	Länge (AS), Masse (kDa)	Bemerkung (z.B. wichtigste Eigenschaft/Biolog. Funktion)
Thaumatin I	<u>Thaumatococcus daniellii</u>	P02883	N/A (not available) - noch keiner	MAATTCFFFL	CPTALELEDE	235 AS; 25,4 kDa	man beachte! Alle erste AS in Tabelle! Met (M)! posttranslational häufig abgespalten
Myoglobin	human	<u>P02144</u>	MB	MGLSDGEWQ L	SNYKELGFQG	154 AS; 17,2 kDa	Dient dem Sauerstofftransport im Muskelgewebe
Bovines Serumalbumin	Rind (Bos taurus)	P02769	ALB	MKWVTFISLL	EGPKLVVSTQ TALA	607 AS; 69,3 kDa	Protein des Blutplasmas, z.B. Transport verschiedener Stoffe im Blut
Humanes Serumalbumin	Human	P02768	ALB	MKWVTFISLL	VAASQAALGL	609 AS; 69,4 kDa	mit Advanced suchen!
mitochondrielle Aldehyd Dehydrogenase 2	<u>Saccharomyces cerevisiae</u>	P32872	ALD2	MSKSKTKTDK	GRELGEYGLE	511 AS, 56,5 kDa	enthält Fragment MGRELGE * mit "Peptide search" suchen!
Trypsin	human	P07478	PRSS2	MNLLLILTFV	DWIKDTIAANS	ca. 26560 Da, 245-248 AS	enthält Sequenz IAANS * mit "Peptide search" suchen! Auf Homo sapiens einschränken!
Prolactin	Human	P01236	PRL	MNIKGSPWK G	KCRIIHNNNC	ca. 23 kDa	Sequenzausschnitt RYTHGRGFIT * mit "Peptide search" suchen!
Spike Coronavirus	<u>Zellulärer oder subzellulärer unbekannter Erreger:</u> Fledermaus oder Mensch	P59594	S	MFVFLVLLPL	CRIIHNNNC	ca. 141 kDa	Aus Sputum erkrankter Person isoliert. Ein weiteres nach Trypsin-Verdau gewonnenes Fragment besitzt die Sequenz: GIYQTSNFR

## 5. Werkzeuge zur Berechnung Fotometrischer Daten anhand der Aminosäuresequenz

Ist die AS-Sequenz eines Proteins oder die UniprotID bekannt, kann anhand der Zusammensetzung der theoretische Absorptionskoeffizient bei 280 nm und andere physikalischer Parameter, wie der theoretische isoelektrische Punkt (pI oder IEP) berechnet werden. Ein online-Werkzeug hierfür ist:

<https://web.expasy.org/protparam/>

**5.1 Bestimmen Sie den isoelektrischen Punkt und die fotometrischen Daten für das menschliche Myoglobin (P02144). Hinweis: Ganz unten auf „SUBMIT“ klicken.**

- Molare Masse: **17184 Da** ( **17184 g/mol**) **17,184 kDa** **17,184 kg/mol**
- molarer Absorptionskoeffizient  $\epsilon_{280}$  in L/mol\*cm: **13980 L/(mol\*cm)**  
berechnen Sie anhand dieser Daten selbst des spezifischen Absorptionskoeffizienten:  $\epsilon_{280}$  in L/g\*cm: **0,814 L/(g\*cm)**
- Absorbanz einer Lösung mit 1 g/L: **0,814** (Prüfen Sie auf Konsistenz!)
- theoretischer isoelektrischer Punkt: **7,14**

**5.2 Bestimmen Sie die fotometrischen Daten von Hühner-Ovalbum (Ovalbumin Chicken, P01012) durch Eingabe der Aminosäure-Sequenz (z.B. Copy and Paste aus Uniprot heraus):**

MGSIGAASMEFCDFVKELKVHHANENIFYCPIAIMSALAMVYLGAKDSTRQINKVVRFDKLPFGGDSIEAQCCTSVNVHSSLRDILNQITKPNDDVYSFSLASR  
LYAERYPIPEYLQCVKELYRGGLEPINFQTAADQARELINSWVESQTNGIIRNVLQPSVDSQTAMVLVNAIVFKGLWEKAFKDEDTQAMPFRVTEQESKPVQ  
MMYQIGLFRVASMASEKMKILELPFASGTMSMLVLLPDEVSGLEQLESIIINFEKLEWTSSNVMEERKIKVYLPRMKMEEKYNLTSVLMAMGITDVFSSANLS  
GISSAESLKISQAVHAAHAEINEAGREVVGSAGVDAASVSEEFRAADHPFLFCIKHIATNAVLFFGRCVSP

- Molare Masse: **42881 Da** ( **42881 g/mol**) **42,881 kDa** **42,881 kg/mol**
- molarer Absorptionskoeffizient  $\epsilon_{280}$  in L/mol\*cm: **31775 L/(mol\*cm)**  
berechnen Sie anhand dieser Daten selbst des spezifischen Absorptionskoeffizienten:  $\epsilon_{280}$  in L/g\*cm: **0,741 L/(g\*cm)**
- Absorbanz einer Lösung mit 1 g/L: **0,741** (Prüfen Sie auf Konsistenz!)
- theoretischer isoelektrischer Punkt: **5,19**