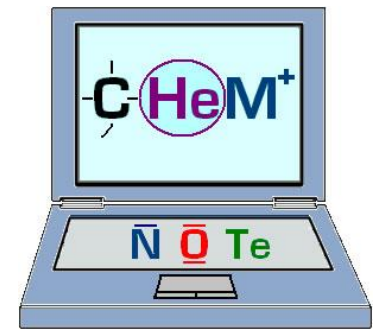




Studijní opora předmětu Seminář biochemie I – primární struktura

- Určete místa štěpení u následujících polypeptidů

Ser-Ala-Phe-Lys-Pro	chymotrypsinem
Thr-Cys-Gly-Met-Asn	bromkyanem
Leu-Arg-Gly-Asp	karboxypeptidasou A
Gly-Phe-Trp-Pro-Phe-Arg	thermolysinem
Val-Trp-Lys-Pro-Arg-Glu	trypsinem
- Po analýze koncových skupin proteinu dansylchloridem byl molární poměr dansylovaných aminokyselin serinu a alaninu 2:1. Jaké závěry o povaze tohoto proteinu můžete odvodit ?
- Protein je degradován karboxypeptidasou B. Během krátké doby se uvolňuje arginin a lysin a pak již nepozorujeme žádnou další změnu. Co lze soudit o primární struktuře ?
- Polypeptid byl naštěpen pomocí CNBr a trypsinem. Z porovnání sekvencí fragmentů určete sekvenci polypeptidu.
Štěpení CNBr: Asp-Ile-Lys-Gln-Met, Lys, Lys-Phe-Ala-Met, Tyr-Arg-Gly-Met
Štěpení trypsinem: Gln-Met-Lys, Gly-Met-Asp-Ile-Lys, Phe-Ala-Met-Lys, Tyr-Arg

- Reakcí polypeptidu s dithiothreitem vznikají dva polypeptidy
 - Ala-Phe-Cys-Met-Tyr-Cys-Leu-Trp-Cys-Asn
 - Val-Cys-Trp-Val-Ile-Phe-Gly-Cys-Lys
 - Chymotrypsin katalyzuje hydrolýzu intaktního polypeptidu za vzniku následujících fragmentů (složení)
 - (Ala, Phe), (Asn, Cys₂, Met, Tyr), (Cys, Gly, Lys), (Cys₂, Leu, Trp₂, Val), (Ile, Phe, Val)
 - Jak vypadal původní polypeptid?

- Jaká bude sekvence hexapeptidu.
 - Po působení Sangerova činidla a kyselé hydrolyse získáte DNP-Asp
 - Po druhém cyklu Edmanova odbourávání získáte PHT-Met
 - Po působení LiBH₄ a následné hydrolýze získáte aminoalkohol glycinu
 - Volný His a Gly po krátkém působení karboxypeptidasy
 - po štěpení pomocí CNBr a rozdělení na tenké vrstvě a detekci získáte dva body