

Zadanie 1

W pliku mRNA_kalmodulina.ape znajduje się sekwencja mRNA zawierająca gen kodujący kalmodulinę. Otwórz tę sekwencję w ApE lub innym programie do redagowania sekwencji. Znajdź otwartą ramkę odczytu i przetłumacz ten odcinek DNA na sekwencję aminokwasową. Użyj uzyskanej sekwencji kalmoduliny do przeszukania bazy pfam. Jakie domeny zostały znalezione? Jaka może być rola kalmoduliny w komórce? Jakie jeszcze białka zawierają taką domenę?

Przeprowadź klonowanie *in silico* genu kodującego kalmodulinę do wektora pET28a. Przygotuj dwa konstrukty: jeden, który umożliwi wyprodukowanie białka ze znacznikiem histydynowym na końcu N, drugi – ze znacznikiem na końcu C.

Zadanie 2

W pliku pMAL.ape znajduje się sekwencja wektora ekspresyjnego umożliwiającego otrzymanie białka fuzyjnego składającego się z interesującego nas białka i białka pełniącego funkcję znacznika poprawiającego rozpuszczalność i ułatwiającego oczyszczanie. Spróbuj ustalić jakie białko pełni funkcję znacznika. Sekwencja tego białka zaczyna się od 1528. reszty nukleotydowej wektora pMAL. Zaznacz otwartą ramkę odczytu zaczynającą się od tego miejsca i przetłumacz na sekwencję białkową. Następnie używając programu BLASTp (protein BLAST) ustal jak nazywa się to białko, a potem przeczytaj o nim w bazie danych UniProtKB. Spróbuj zaproponować metodę oczyszczania białka wykorzystującą właściwości tego znacznika.

Zadanie 3

Zapoznaj się z aktualną cząsteczką miesiąca edukacyjnej części portalu PDB pdb101.rcsb.org/motm. Jakie elementy strukturalne są kluczowe dla pełnionej przez nie funkcji?