

## **VPRAŠANJA-----**

---

- 1) Pri določevanju sekvence proteinov protein denaturiramo in reduciramo, Cys ostanke pa alkiliramo. Zakaj?
  
- 2) Protein pred cepitvijo z  $\beta$ -tripsinom kemijsko modificiramo. Po katerih postopkih dobimo bolj kompleksno mapo?
  
- 3) Pri sekvenčni analizi prot. ( $M=24000$  kDa) določimo zaporedje z Gly-C endopeptidazo. Dobimo zaporedje ..... Katera možnost kemijske fragmentacije prot. Se nam pokaže?
  
- 4) Kako ugotoviš, če so v prot. Prisotni le disulfidni mostički Cys?

- 5) Protein (60000 kDa) ob redukciji razdelimo na 2 dela. Po oksidaciji s peroksimravljično KSL polipeptida ločimo. Oksidirani verigi A določimo AK sestavo. Analiza terminalov:  
N: Gly  
C: Asx  
Oksidirano verigo A fragmentiramo s parc. KSL hidrolizo in na HPLC nastale peptide ločimo. Z ED določimo AK sekvenco (21AK). Nativen prot. ne vsebuje prostih Cys. Veriga A ima intramolekularno S-S vez, ki zapira obroč sestavljen iz 12 AK. Določi sekvenco!

G	SLY
GIVEE	LYE
EEC	ELE
ECC	EDY
CCA	YC
SVC	CD
	D

- 6) Kako dobimo bolj kompleksno mapo po cepitvi z endoproteinazo Lys-C?
  
- 7) Opiši ionizacijo MALDI!
  
- 8) KSL hidroliza s sulfonsko KSL. Kaj več opazimo kot pri HCl?

9) Običajna mesta fosforilacije?

10) Pri 10 AK nič ne vidimo. Kateri AK ostanki so 12i?

11) Pro je na C-term. Katero metodo za C-term. Sekveniranje boš uporabil?

12) Hočemo določiti D- in L-AK. Kakšna bo derivatizacija?

13) Zakaj alikiliramo Cys?

14) Kje cepi tripsin?

15) Značilna mesta za N-glikozilacijo?

16) C-term. Reagenti?

17) Kislinska hidroliza uniči C, M, Y. Kaj dodamo, da dobimo boljši izkoristek?

18) Princip MS za določevanje prot. Kateri je boljši za proteomiko?

19) Katere reagente bi lahko uporabili za določitev vsebnosti Cys v prot.?

- a) FMOC
- b) Elmanov reagent
- c) parabromofen.....bromid
- d) diketon

20) Katera od AK ima stransko sk. primerno za uvajanje kemijskih modifikacij?

- a) K
- b) I
- c) C
- d) V

e) A

21) Koliko razl. derivatov bi dobili, če bi zmes AK: ASVIM derivatizirali z nihidrinom?

- a) 1
- b) 2
- c) 5
- d) 6

22) Po kisl. Hidrolizi prot. v 6M HCl, 110 °C, 24h, nam AK analiza ne da odgovora o prisotnosti:

- a) K
- b) S
- c) W
- d) V
- e) N

23) Katere reagente bi lahko uporabili za določitev N-term. AK ostanka v proteinu?

- a) 1-fluoro-2,4-dinitrobenzen
- b) fenilizotiocianat
- c) trifluoroocetno KSL
- d) 1-karbodiimid

24) Kateri so reagenti, ki uvedejo cepitvena mesta?

25) Peptid QAFVNDAAYGRWWGNPE hidroliziramo 42 ur v 6M HCl pri 110 °C. Sledi AK analiza po nihidrinski metodi. Kakšen bo rezultat?