



ВЛАСТИВОСТІ ПОЛІПЕПТИДІВ

Для вивчення властивостей штучних поліпептидів було синтезовано наступні фрагменти ДНК (наведено кодуєчий ланцюг)*:

- 1) 5' (GCC)₅ATGTAC(GCC)_nTAGTTTGCC 3';
- 2) 5' TTTTGTGCCATGTTTGT(GCC)_nTTTATGTAGTGTGCC 3';
- 3) 5' CGAATGCGATGG(GCC)_nCGACACTAGTGGCGA 3';
- 4) 5' TGGATGGAT(GCC)_nTTTTTTTAGGATTTTTTTTAGGAT 3';
- 5) 5' ATGGATGAAGAT(GCC)_nTTTGAATAGGAAGAT 3';
- 6) 5' GAATAGGAAATG(GCC)_nAAGTAGAAGGCC 3';
- 7) 5' ATGTGTTAC(GCC)_nTAGTGT(GCC)_n 3';
- 8) 5' GCCATG(GCC)_nGATGAAGAATAGGCCTGT 3'.

Зазначені фрагменти ДНК використали у складі експресуючих векторів для генетичної трансформації клітин і отримання відповідних поліпептидів (1–8).

Практикант випадково переплутав флакони з синтезованими поліпептидами. Для з'ясування які з поліпептидів (продуктів експресії ланцюгів ДНК 1–8), потрапили до якого з флаконів (I–VIII), практикант провів якісні реакції на амінокислоти (фенілаланін, тирозин, триптофан виявляються ксантопротеїновою реакцією; тирозин – реакцією Мілона; триптофан – реакцією Адамкевича; аргінін – реакцією Сакагуші; метіонін – реакцією Маккарті та Саллівана; гістидин – реакцією Паулі; цистеїн – нітропрусидною реакцією).

Не встановивши однозначну відповідність усіх поліпептидних ланцюгів за якісними реакціями, практикант вирішив вміст «проблемних» флаконів проаналізувати за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі. Для цього зразки поліпептидів з «проблемних» флаконів він вніс до лунок поліакриламідного гелю (див. рисунок). Після цього, занурив гель у камері для електрофорезу в буферний розчин (рН=7,0) та підключив джерело живлення постійного струму на певний (деякий) час. Після від'єднання струму, для виявлення місць локалізації поліпептидів, гель було забарвлено барвником Кумассі-блакитним (див. рисунок).

Мета роботи: проаналізувати амінокислотний склад поліпептидів і визначити їхні можливі молекулярно-біологічні властивості.

* - кодуєчий ланцюг – комплементарний тому, з якого транскрибується мРНК; нижнім індексом позначено кількість відповідних триплетів.

** - знаком «+» у таблиці 3 позначено позитивний результат якісної реакції.

Хід роботи:

1. У **таблицю 1** бланку для відповіді запишіть **триплетами** послідовності мРНК, які транскрибуються з синтезованих фрагментів ДНК (1–8).
2. Користуючись генетичним кодом, встановіть амінокислотну послідовність та визначте довжину поліпептидів (кількість амінокислотних залишків), що відповідають 1–8 мРНК. Результати занотуйте у **таблицю 2** бланку для відповіді.
3. Керуючись результатами проведених якісних реакцій на амінокислоти (див. таблицю 3 бланку для відповіді)**, встановіть який з поліпептидних ланцюгів (1–8) може знаходитися в кожному з переплутаних флаконів (I–VIII). Результати занотуйте у **таблицю 3** бланку для відповіді.
4. Враховуючи те, що радикали деяких амінокислот несуть певний заряд, встановіть за результатом електрофорезу (див. рисунок) вміст «проблемних» (не визначених однозначно за допомогою якісних реакцій) флаконів. Результати занотуйте у **таблицю 4** бланку для відповіді.

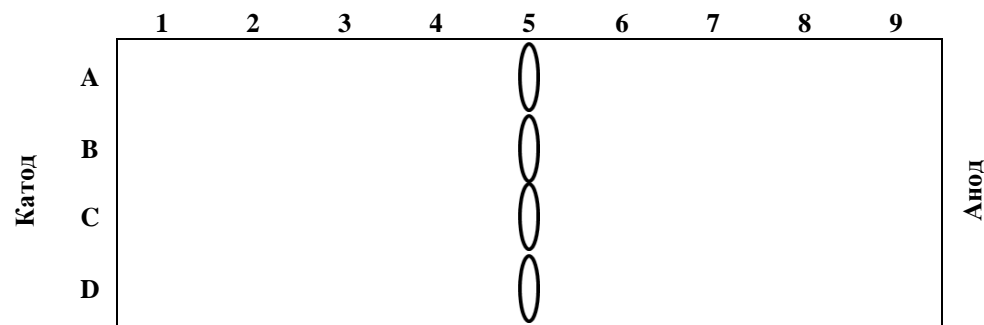
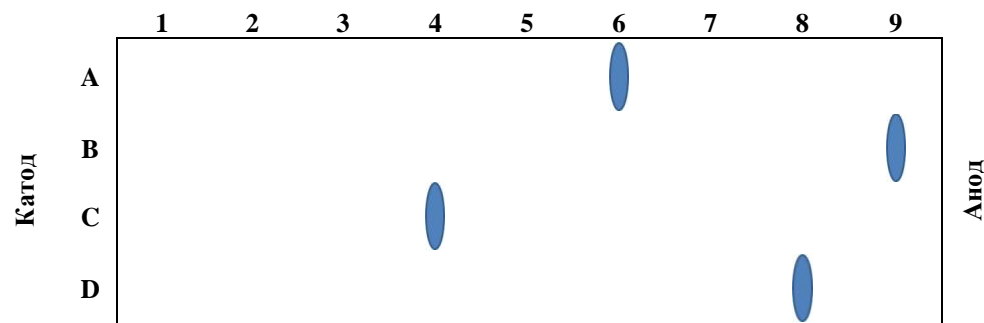


Схема внесення зразків у лунки гелю



Вигляд гелю після забарвлення Кумассі-блакитним

Генетичний код

		2-а основа							
		U		C		A		G	
1-а основа	U	UUU	(Фен) Фенілаланін	UCU	(Сер) Серин	UAU	(Тир) Тирозин	UGU	(Цис) Цистеїн
		UUC	(Фен) Фенілаланін	UCC	(Сер) Серин	UAC	(Тир) Тирозин	UGC	(Цис) Цистеїн
		UUA	(Лей) Лейцин	UCA	(Сер) Серин	UAA	Стоп-кодон	UGA	Стоп-кодон
		UUG	(Лей) Лейцин	UCG	(Сер) Серин	UAG	Стоп-кодон	UGG	(Трп) Триптофан
	C	CUU	(Лей) Лейцин	CCU	(Про) Пролін	CAU	(Гіс) Гістидин	CGU	(Арг) Аргінін
		CUC	(Лей) Лейцин	CCC	(Про) Пролін	CAC	(Гіс) Гістидин	CGC	(Арг) Аргінін
		CUA	(Лей) Лейцин	CCA	(Про) Пролін	CAA	(Глн) Глутамін	CGA	(Арг) Аргінін
		CUG	(Лей) Лейцин	CCG	(Про) Пролін	CAG	(Глн) Глутамін	CGG	(Арг) Аргінін
	A	AUU	(Ле) Ізолейцин	ACU	(Тре) Треонін	AAU	(Асп) Аспарагін	AGU	(Сер) Серин
		AUC	(Ле) Ізолейцин	ACC	(Тре) Треонін	AAC	(Асп) Аспарагін	AGC	(Сер) Серин
		AUA	(Ле) Ізолейцин	ACA	(Тре) Треонін	AAA	(Ліз) Лізин	AGA	(Арг) Аргінін
		AUG	Старт-кодон/ (Мет) Метіонін	ACG	(Тре) Треонін	AAG	(Ліз) Лізин	AGG	(Арг) Аргінін
	G	GUU	(Вал) Валін	GCU	(Ала) Аланін	GAU	(Асп) Аспарагінова кислота	GGU	(Глі) Гліцин
		GUC	(Вал) Валін	GCC	(Ала) Аланін	GAC	(Асп) Аспарагінова кислота	GGC	(Глі) Гліцин
		GUA	(Вал) Валін	GCA	(Ала) Аланін	GAA	(Глу) Глутамінова кислота	GGA	(Глі) Гліцин
		GUG	(Вал) Валін	GCG	(Ала) Аланін	GAG	(Глу) Глутамінова кислота	GGG	(Глі) Гліцин

Бічні ланцюги деяких α-амінокислот, які зазвичай входять до складу білків

Характеристика бічного ланцюга		Назва амінокислоти		Бічний ланцюг
		повна	скорочена	
Полярний	Негативно заряджені	Аспарагінова кислота	Асп	$-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}^-}{\text{C}}}$
		Глутамінова кислота	Глу	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}^-}{\text{C}}}$
	Позитивно заряджені	Аргінін	Арг	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\overset{\text{NH}_2}{\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}}$
		Гістидин	Гіс	$-\text{CH}_2-\overset{\text{CH}}{\underset{\text{C}=\text{CH}}{\text{N}^+\text{H}-\text{N}^+\text{H}}}$
Неполярний	Аліфатичні	Аланін	Ала	$-\text{CH}_3$
	Ароматичні	Тирозин	Тир	$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$
		Триптофан	Трп	$-\text{CH}_2-\overset{\text{NH}}{\text{C}}=\text{C}(\text{H})-\text{C}_6\text{H}_5$
		Фенілаланін	Фен	$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$
	Сульфурвмісні	Метіонін	Мет	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$
		Цистеїн	Цис	$-\text{CH}_2-\text{SH}$