INF381 - 2005
Øving i proteomikk

22. april 2005

1. (a) Finn sekvensen med identifikasjon P13579 i SwissProt, (http://au.expasy.org/cgi-bin/sprot-search-de), gi P13579 som search keyword". Kutt denne opp teoretisk med bruk av programmet PeptideMass (du finn det via http://au.expasy.org/, under Proteomics and sequence analysis tools"). Spesifiser P13579 som protein i SwissProt, trypsin som enzym, og la dei andre parametrane vera som dei er.

   (b) Du skal nå søkja i SwissProt med bruk av massane funne i punktet over. Bruk programmet Mascot, som du finn i same lista som du fann PeptideMass. Søk først med berre den høgaste massen, og sjå på resultatet. Søk så på nytt med å leggja til ei ny masse for kvart nytt søk, inntil P13579 er funne på topp. Der er 4 andre som også matchar alle 3 massane. Forklår kvifor P13579 har høgast socring. Du vil sjå at scoringa ikkje er signifikant. Utvid med fleire massar til du får eit signifikant resultat. Det er nå ein anna sekvens som har like mange match. Kvifor er ikkje det signifikant?

   (c) Søk nå med berre den største massen att, men set peptidetoleransen til 1 mmu.

2. Finn den teoretiske massen til peptidet $RTSLLA$.

3. Vi har ein forløpar (precursor) med m/z-verdi 388. Vi får eit MS-MS-spektrum med topppunkter i 72, 230, 261, 315, 360, 416, 548, 629, 704 (gå ut frå heiltal for massane). Gå ut frå at berre b- og y-ioner blir produsert, og det er ingen modifikasjonar.

   (a) Har forløparen enkel eller dobbelladning?

   (b) Prøv å finna sekvensen til forløparen, og forklår alle topppunkta.

4. Gå ut frå at følgande masser er funne med MS-eksperiment 833.319 844.333 854.843 863.419 872.402 874.395 887.786 898.475 899.555 904.366 955.300 973.845.

   - Søk nå i proteinet Q9UPN3 i SwissProt etter moglege modifikasjonar, med å bruka programmet FindMod i ExPASy. Kryss av for både post-translasjonell modifikasjon og aminosyresubstitusjon. Bruk massetoleranse på 0.3 Dalton, og ingen tapte kutt.
   - Prøv å forklåre resultatet du får. Sjå på ein av dei moglege Methylation- modifikasjonane Trykk på for å få forklåring på kor den modifikasjonen kan skje. Finn den første moglege sulfationmodifikasjon (ved peptide IEELYK, posisjonar 374-379), og trykk på SULF. Du ser at denne modifikasjonen skal kunne skje ved tyrosin (Y), dersom massedifferansen stemmer,og regelen i Prosite-familien PDOC00003 gjeld. Få opp denne familien. Du ser at familien ikkje er klart forklart med eit mønster, men har ein regel med 6 punkt. Undersøk om det funne peptidet tilfredstiller desse punkta. Du må finna fleire aminosyrer rundt peptidet, med å gå inn i SwissProt med Q9UPN3. "Acidicresidyar er D og E, basicer K og R. Hydrofobe er FILMPAV.

5. La oss ha to 2D-geler A og B med punkt $a_1, a_2, ...$ og $b_1, b_2, ...$ Eit program for parvis samanlikning av 2D-geler blir brukt og finn samsvarande punkt (for eksempel $(a_2, b_3)(a_4, b_6).....$). Ein ønskjer nå å finna samsvarande punk mellom fleire 2D-gelar. Diskuter korleis du kan

utvida programmet for parvis samanlikning til dette. Føreslå fleire framgongsmåtar (vink: husk korleis parvis samanstilling av sekvensar/strukturar kan utvidast til multippel samanstilling). Diskuter fordelar og ulempar med dei ulike framgongsmåtane. Husk at det kan vera stor uvisse i den parvise samanlikninga (for eksempel, skal a_2 samsvara med b_3 eller med b_7, eller er det ingen punkt i B som samsvarar med a_2?).

Det vil bli ei gjennomgåing/oppsummering for proteomikk tysdag 26 april kl 14.15.