



Afsluitende les

Leerlingenhandleiding

***Wat voor eiwit ben jij?
(Basis)***

Deel 1

In het DNA ligt het erfelijk materiaal van een organisme in code opgeslagen. Deze code is opgebouwd uit vier nucleotiden: adenosine (A), cytosine (C), guanine (G) en thymine (T). In het geval van RNA is thymine vervangen door het nucleotide uracil (U). De volgorde waarin deze nucleotiden elkaar opvolgen wordt een sequentie genoemd. Groepjes van drie nucleotiden die elkaar opvolgen worden codons genoemd die vertaald kunnen worden naar aminozuren. Maar wat nu als er in deze sequentie iets veranderd, toegevoegd of verwijderd wordt? Dat heet een mutatie.

Er zijn verschillende soorten mutaties waarvan hieronder 5 beschreven worden.

Missense mutatie

Bij een missense mutatie wordt 1 nucleotide in een codon veranderd, wat kan leiden tot een volledig ander aminozuur. Een missense mutatie is een type puntmutatie.

Ziektevoorbeeld: sikkelcelanemie (<http://nl.wikipedia.org/wiki/Sikkelcelanemie>)

Nonsense mutatie

De nonsense mutatie verandert een codon in de sequentie van 1 aminozuur, in een STOP codon (TAA, TGA, TAG). Hierdoor zal de cel stoppen met het toevoegen van meer aminozuren aan het eiwit. Deze puntmutatie zorgt er dus uiteindelijk voor dat het eiwit korter wordt.

Ziektevoorbeeld: Thalassemie (<http://nl.wikipedia.org/wiki/Thalassemie>)

Silent mutatie

Een silent mutatie verandert een codon van een aminozuur in een ander codon, maar het aminozuur wordt hierdoor niet anders. Soms heeft een kleine verandering in de DNA sequentie dus geen effect op het eiwit dat gevormt wordt. Hierom heet dit een silent mutatie.

Deletion mutatie

De deletion mutatie verwijdert een deel van DNA sequentie. Aangezien de DNA code in groepjes van drie wordt afgelezen, verandert de deletion mutatie dus ook de manier hoe de rest van de sequentie gelezen wordt.

Ziektevoorbeeld: Cystische Fibrose (<http://nl.wikipedia.org/wiki/Taaislijmziekte>)

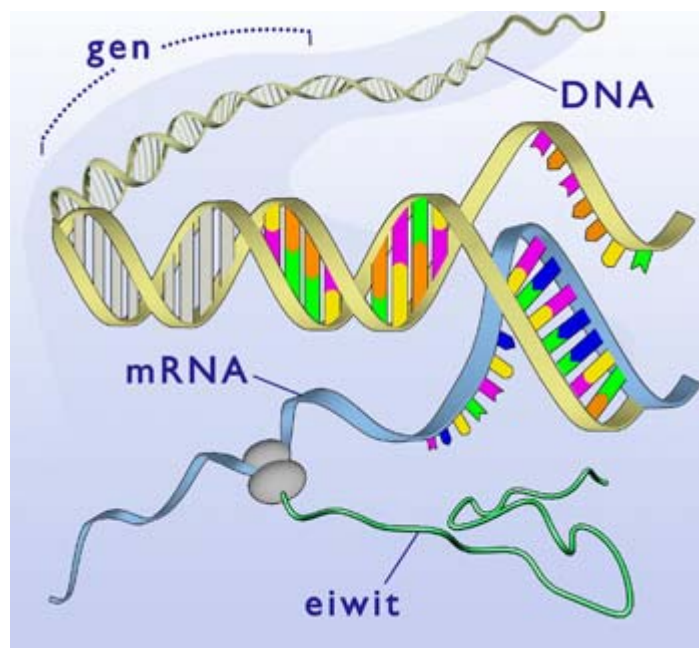
Insertion mutatie

Een insertion mutatie voegt juist een nucleotide toe aan de DNA sequentie. Ook hierbij geldt dat dit effect heeft op de groepjes van drie die gevormd worden en dus zal de DNA code anders gelezen worden.

Ziektevoorbeeld: Huntington's (http://nl.wikipedia.org/wiki/Ziekte_van_Huntington)

Deel 2

DNA kan vertaald worden naar aminozuren, die op hun beurt weer coderen voor eiwitten. In het DNA kunnen verschillende mutaties optreden die ook gevolgen (kunnen) hebben voor de eiwitten. Vijf mutaties zijn missense, nonsense, silent, deletion en insertion mutaties. Nu is het effect van deze mutaties op DNA niveau relatief eenvoudig aan te tonen (zie Deel 1). Het effect op eiwitsequenties is al iets lastiger. Het effect van deze mutaties op de *functie* van een eiwit nog lastiger. En juist dit laatste is zo interessant voor onderzoek, omdat een verstoorde eiwitfunctie, allerlei ziekten tot gevolg kan hebben zoals Cystische Fibrose en de ziekte van Alzheimer.



Bij eiwitten is de vorm die ze krijgen nadat ze zich opvouwen erg belangrijk voor hun functie. Dit is vergelijkbaar met een sleutel die een bepaalde vorm moet hebben om op een slot te passen. Past deze niet, dan kan het slot niet open. Bij eiwitten is het vergelijkbaar; past een eiwit niet op een receptor, dan kan er geen signaal doorgegeven worden.

Om te zien hoe eiwitten weergegeven worden om er onderzoek naar te doen, kun je het volgende filmpje bekijken:

<http://www.youtube.com/watch?v=iaHHgEoa2c8>

Maar hoe kom je er nu achter hoe een eiwit zich vouwt en wat zijn uiteindelijke vorm is? Wat zijn dan de gevolgen van de mutaties in het DNA voor de vorm van het eiwit?

Maak opdracht 1.

Opdracht 1

Om een stap verder te gaan, ga je nu kijken naar de gevolgen van mutaties voor eiwitvouwing, oftewel de ruimtelijke structuur van een eiwit. Volg hiervoor onderstaande stappen op.

- Vorm een groep van 3 à 4 leerlingen
- Plak alle namen (voornaam & achternaam) van de mensen in je groep aan elkaar
- Vertaal de namen naar de aminozuur-sequentie met behulp van het aminozuur-alfabet hiernaast
- Ga naar <http://ffas.burnham.org/XtalPred-cgi/xtal.pl>
- Begin met:
>groepsnaam
- Enter
- Voer vanaf de 2^e regel de aminozuursequentie vertaling van alle namen van jouw groep in als weergegeven in de *printscreen* onderaan deze bladzijde
- Vink 'server policy' aan
- Klik op submit

Alfabet	Aminozuur	Code
A	Alanine	A
B	Alanine	A
C	Cysteine	C
D	Asparaginezuur	D
E	Glutaminezuur	E
F	Fenylalanine	F
G	Glycine	G
H	Histidine	H
I	Isoleucine	I
J	Isoleucine	I
K	Lysine	K
L	Leucine	L
M	Methionine	M
N	Asparagine	N
O	Asparagine	N
P	Proline	P
Q	Glutamine	Q
R	Arginine	R
S	Serine	S
T	Threonine	T
U	Threonine	T
V	Valine	V
W	Tryptofaan	W
X	Tryptofaan	W
Y	Tyrosine	Y
Z	Tyrosine	Y

XtalPred XtalPred Server: Prediction of Protein Crystallizability

Sequence submission:

Paste your sequence or sequences in FASTA format (*examples*): ?

```
>beginmetjegroepsnaamendrukopenter
voerhierdeaminozuursequentievertalingvandenameninjegroepin
```

(Please, do not exceed 1000 residues per sequence, 10 sequences per submission, submit a new job only after your previous job is finished, contact us about large jobs)

Optional features: ?

Find close bacterial homologs more likely to crystallize.

Find close homologs in the full NR database.

Send e-mail at: when job finishes. **Recommended!**

server policy (You must agree with our policy in order to submit a job): ?

I am a non-profit/academic user and this server will be used solely for educational purposes or for basic research intended to advance the field of protein structure determination.

Notice: XtalPred crystallizability classification is based on statistics on non-secreted wild-type microbial proteins and is optimized for large protein families. XtalPred is also helpful in construct design, although crystallizability class itself is usually not a sufficient predictor of crystallizability.

Het scherm zal een aantal maal vernieuwen tot de berekening klaar is. Dit kan een paar minuten duren. Je kunt de pagina ook handmatig vernieuwen.

- Klik als hij klaar is op de naam van de groep, te vinden onder 'target id' (zie screenshot)

The screenshot shows the XtalPred web interface. At the top, it says 'Job id: webdb/1266783047.19253'. Below that is a table with the following columns: # Target id (link to target details), Class Length, Gravy index, Instability index (II), Isoelectric point (pI), Coiled coils, Longest disorder region, Percentage of coil structure, Transmembrane helices (TM), Signal peptides (SP), Insertions score, Homologs in NR (clustered to 60% seq. ident.), and Homologs in PDB. The first row has the following values: 1, groepX, 5, 69, -0.58, 47.62, 7.17, 0, 31, 17, No, No, -, 0, 0. Below the table is a legend for 'Crystallization classes' with five categories: 1 Optimal (green), 2 Suboptimal (yellow), 3 Average (orange), 4 Difficult (red), and 5 Very difficult (purple). An arrow points from a box labeled 'aanklikken' to the 'groepX' target ID in the table.

- Scroll omlaag en maak vervolgens onderstaande vragen

Opdracht 1.1

Welke domeinen zitten in jullie "naam-eiwit"? (Hint: bekijk de legenda)

De verschillende domeinen van een eiwit hebben elk een vorm. Zo heeft de *loop* de vorm van een lus, de *helix* (α -helix) de vorm van een spiraaltrap en een *strand* (β -sheet) heeft de vorm van een platte plaat. De *transmembrane helices* (trans-membraan helix) zijn speciaal omdat dit betekent dat het eiwit door een celmembraan heen zit. De volgorde van de aminozuren van jullie namen bepalen welke domeinen het eiwit bevat. Als er mutaties optreden in jullie namen, wat voor gevolgen heeft dat dan voor de domeinen?

Om het effect van mutaties op jullie eiwit te bepalen gaan jullie er een aantal uitproberen.

Opdracht 1.2

Haal bij elke naam de eerste twee letters weg. Wat blijft er van de domeinen over?

Opdracht 1.3

Haal alle klinkers weg. Wat blijft er van de domeinen over?

Opdracht 1.4

Plak op vijf willekeurige plekken een "p" (aminozuur proline) ertussen. Wat gebeurt er nu met de domeinen?

Opdracht 1.5

Zet tot slot de naam van je docent ertussen, op een willekeurige plek. Wordt het hierdoor beter of juist slechter?