



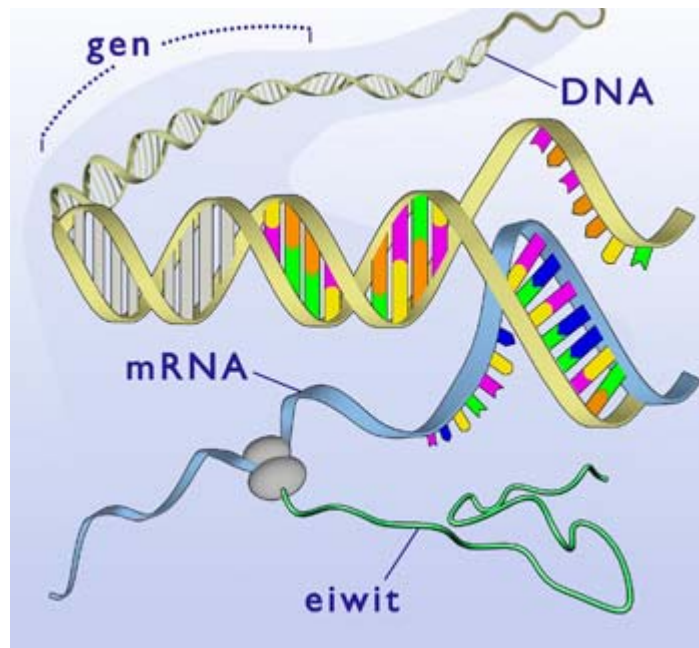
Afsluitende les

Leerlingenhandleiding

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

Deel 1

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. 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, verschillende ziekten tot gevolg kan hebben zoals Cystische Fibrose en de ziekte van Alzheimer.



Figuur 1. Een weergave van DNA. Het DNA bevat genen. Die genen coderen voor aminozuursequenties. Aminozuursequenties kunnen vertaald worden naar mRNA. mRNA kan afgelezen worden door ribosomen waarbij de aminozuren aan elkaar gezet worden en het eiwit gevormd kan worden.

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 1.1.

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

Opdracht 1.1

Ga nu een stap verder om te kijken wat verschillende mutaties bij eiwitvouwing en eiwitfunctie tot gevolg kunnen hebben. Volg 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.

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

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

Callouts:

- >groepsnaam
- aminozuur-sequentie
- aanvinken

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

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

XtalPred Job id: webdb/1266783047.19253

JCMM | JCSG
Godzik Lab
BIMR

# 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.)	Homologs in PDB
groepx	5	69	-0.58	47.62	7.17	0	31	17	No	No	-	0	0

Crystallization classes ?

- Optimal
- Suboptimal
- Average
- Difficult
- Very difficult

Callout: aanklikken

- Scroll omlaag en maak vervolgens onderstaande vragen.

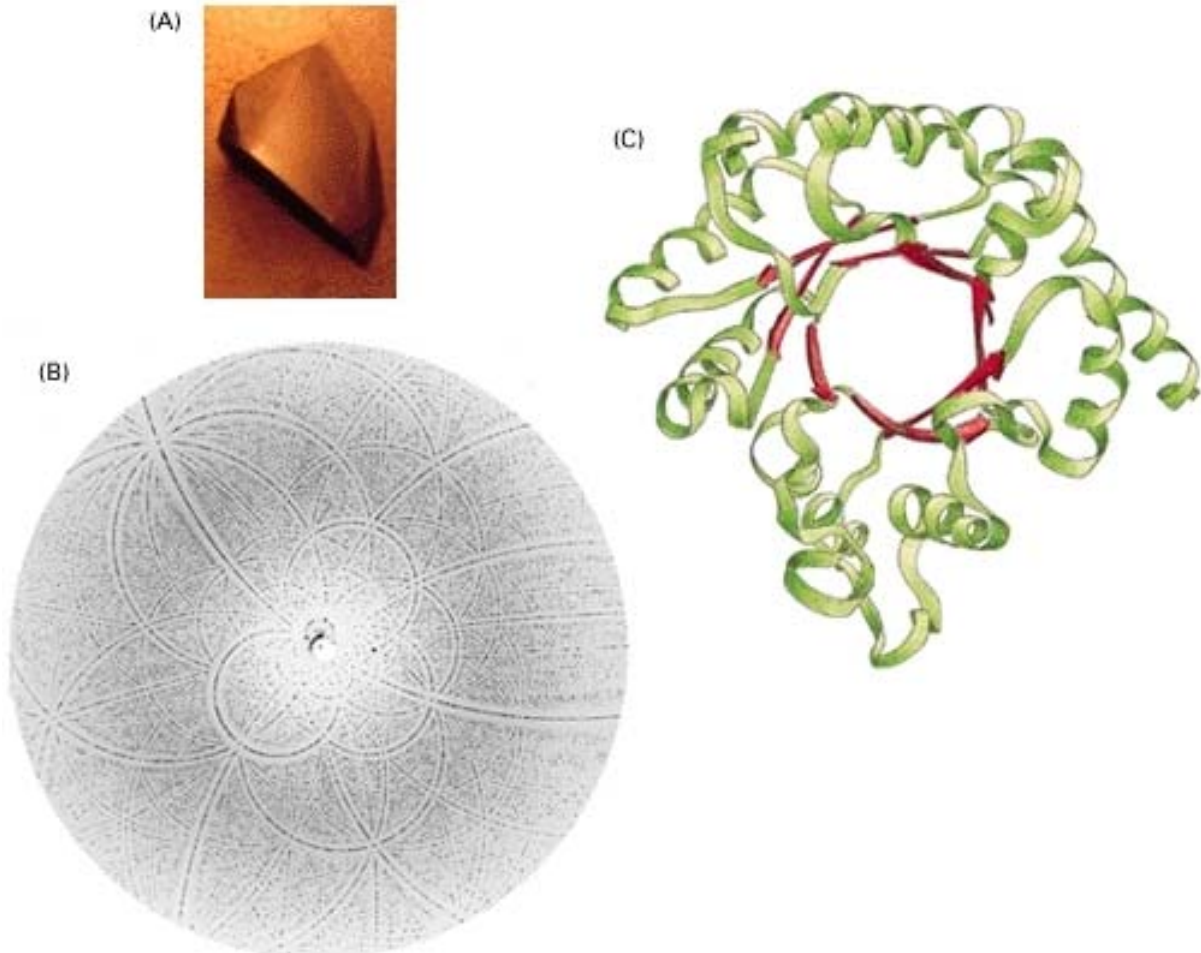
Opdracht 1.1

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

Opdracht 1.2

Is jullie eiwit goed te kristalliseren? Waarom wel/niet? (Hint: bekijk "crystallization classes")

Als jullie eiwit goed te kristalliseren is, dan kan het in een zogenoemde röntgendiffractor gezet worden. Een röntgendiffractor is een techniek waarmee de kristalstructuur heel nauwkeurig bepaald kan worden, als een bijzonder nauwkeurige microscoop. Met behulp van een computer kan vervolgens de 3D-structuur van het eiwit waar het kristal van gemaakt is berekend worden. Deze structuren kunnen op verschillende manieren weergegeven worden maar onderstaand voorbeeld (Figuur 2) is een van de meest gebruikte. Het voordeel van deze weergave is dat de secundaire structuren, de α -helix en de β -sheet, goed zichtbaar worden.



Figuur 2. De stappen van het ontrafelen van de 3D-structuur van een eiwit. (A) is een zuiver kristal dat in de röntgendiffractor gestopt kan worden. (B) is de uitslag van de röntgendiffractor en (C) is de 3D-structuur van het eiwit na computeranalyse van de uitslag van de röntgendiffractor. De α -helix is groen gekleurd en de β -sheet is rood gekleurd.

Om meer te weten te komen over deze techniek kan de volgende link gebruikt worden:
<http://nl.wikipedia.org/wiki/R%C3%B6ntgendiffractie>

Deel 2

Naast Cystische Fibrose en de ziekte van Alzheimer is er nog een bekend ziektebeeld dat te verklaren valt door middel van onderzoek naar eiwitten: de gekkekoeienziekte. Dit wordt ook wel Boviene Spongiforme Encefalopathie (BSE) genoemd. De tweede naam betekent letterlijk *sponsachtige hersenziekte bij runderen*, wat niets meer is dan een beschrijving van het uiterlijk van het hersenweefsel onder de microscoop. Dit valt te verklaren doordat verdwenen hersencellen een soort leegte achterlaten, wat een gatenkaas of sponsachtig beeld geeft. De gekkekoeienziekte is dan ook een fatale neurodegeneratieve ziekte. Neurodegeneratief betekent dat het hersenweefsel afsterft.

Opdracht 2.1

Wat heeft de gekkekoeienziekte, een ziekte die voorkomt bij runderen, met menselijke ziekten te maken?

Gebruik deze link als hulpmiddel: http://nl.wikipedia.org/wiki/Ziekte_van_Creutzfeldt-Jakob

De ziekte van Creutzfeldt-Jakob wordt veroorzaakt door prionen. Prionen zijn deeltjes die ontstaan uit bepaalde eiwitten die normaal ook in de hersenen voorkomen. Prionen zijn op een abnormaal gevouwen versie van deze eiwitten en kunnen in tegenstelling tot het normale 'gezonde' eiwit niet meer afgebroken worden of hun functie vervullen. Als deze prionen de 'gezonde' variant tegenkomen, kunnen ze er zelfs voor zorgen dat deze ook verkeerd gaan vouwen en dus prionen worden. Hierdoor ontstaat een kettingreactie waardoor uiteindelijk al de 'gezonde' eiwitten omgezet worden in prionen en de functie van het eiwit gaat verloren. De aangetaste hersencellen gaan uiteindelijk dood waardoor er letterlijk gaten in de hersenen ontstaan.

Opdracht 2.2

Wat is de gemiddelde levensverwachting van iemand met de ziekte van Creutzfeldt-Jakob?

Opdracht 2.3

Wat kan het nut zijn van onderzoek naar prionen?

Prionen zijn een mooi voorbeeld van eiwitten waarvan de functie verloren is gegaan door verkeerde vouwing. Maar hoe ziet het gezonde eiwit eruit en wat is het verschil nu met de prionen?

Maak om hier achter te komen opdracht 2.1.

Opdracht 2.1

- Ga naar <http://www.rcsb.org>
- Zoek hier op 'human prion'

Zie je bij 'Experiment' overal X-RAY DIFFRACTION staan? Dit is de röntgendiffractie techniek die in deel 1 besproken is.

Je zult meerdere 'structure hits' krijgen. Om een goed beeld te krijgen van de verschillende prion varianten gaan we er een aantal vergelijken op basis van hun structuur. Dit betekent dat de overige informatie die gegeven wordt niet uitgelicht wordt, maar mocht je het leuk vinden dan kan je dit uiteraard wel bekijken.

- Open 'Human prion protein variant V129' in een nieuw tabblad. (→ het "gezonde" eiwit)
- Rechts in beeld zie je een 3D weergave van het eiwit. Klik op More Images... en laat het tabblad open staan.
- Open 'Human prion protein variant D178N with M129' in een nieuw tabblad.
- Rechts in beeld zie je een 3D weergave van het eiwit. Klik op More Images... en laat het tabblad open staan.

Opdracht 2.4

Vergelijk de afbeeldingen van beide eiwitten met elkaar en noem tenminste drie overeenkomsten en drie verschillen.

Opdracht 2.5

Wat voor mutatie (op DNA niveau) zou de verandering kunnen verklaren? Of zou er meer dan één mutatie voor nodig zijn?

Opdracht 2.6

Nu je een idee hebt wat er verschillend is tussen beide eiwitten, denk je dat een opzettelijke mutatie ervoor zou kunnen zorgen dat het eiwit zijn normale vouwing weer aanneemt en zijn functie weer kan uitoefenen? Zo ja, welke?

Een van de behandelingen die gegeven is bij de ziekte van Creutzfeldt-Jakob is een β -sheet-breker. Als deze werd gegeven, ontvouwde het eiwit zich gedeeltelijk. Dit leidde tot een vermindering van de symptomen, maar de ziekte is er nog niet mee genezen. Er wordt nog volop onderzoek gedaan naar een geneesmiddel. Hierbij worden de in deze les behandelde technieken daadwerkelijk gebruikt.