

Handelingsdeel Evolutie

Opdracht 1:

Hieronder zie je de aminozuurvolgorde in één lettercode van een klein eiwit uit vijf verschillende organismen: gistcel, varen, varken, aap en mens.

1. **VWERNRKLRSFNLSAIEKHG** - Varen
2. **VWERNRKLRSFNLTAEKHG** -
3. **VWERNRKLKSFNLSALEKHG** -
4. **VWEKNRKLKSFNLSALEKHG** -
5. **VWERNRKLKSFNLSAIEKHG** -

a) Geef de verschillen tussen de aminozuurvolgordes aan (bv met een marker).

b) Welke twee eiwitten hebben de meeste verschillen in de aminozuurvolgorde?

c) Zet de eiwitten op volgorde, zodat ze steeds minder op elkaar lijken. De eiwitten van opdracht B zijn het begin en het einde van de reeks.

d) Bepaal nu welk eiwit bij welk organisme hoort, het eiwit van de varen is al gegeven.

e) Leg uit, dat een mens en gist op basis van dit eiwit het minst met elkaar verwant zijn.

Dit eiwit bestaat helemaal niet. Toch vinden bioinformatici op soortgelijke manier overeenkomsten en verschillen tussen soorten.

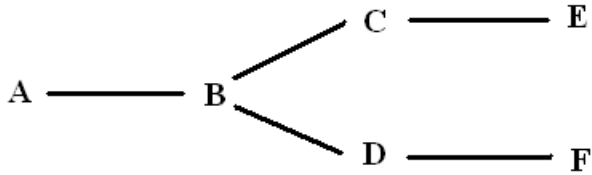
f) Noem een eiwit dat een mens en een chimpansee allebei hebben.

g) Noem een eiwit dat een mens wel heeft, en een chimpansee niet.

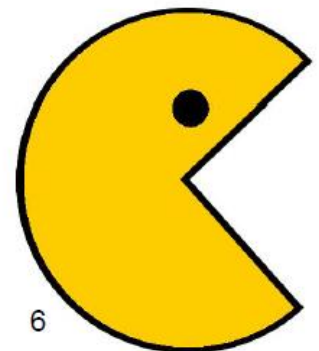
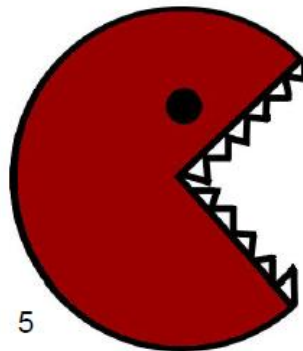
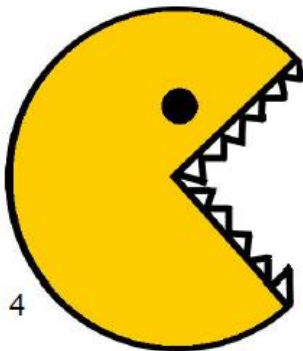
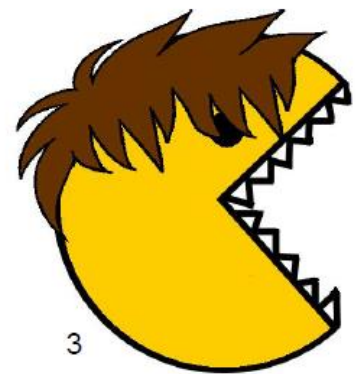
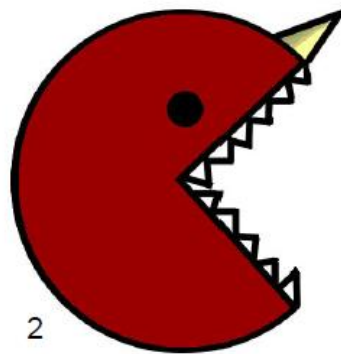
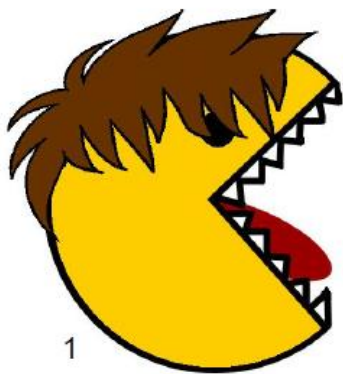
De herkomst van verschillen in eiwitten tussen de mens en de chimpansee ligt in slechts 2,7% van het DNA.

Opdracht 2:


Een evolutionaire stamboom is nooit lineair, zoals in opdracht 1. Een iets realistischere stamboom ziet er als volgt uit:



Deze stamboom geeft de evolutie van Pacman weer. De letters in deze stamboom staan voor verschillende ondersoorten van Pacman. Die zien er zo uit:



Maak de tabel verder af. Bepaal hiervoor eerst de verschillen in de aminozuurvolgordes van de eiwitten. Beredeneer welke drie eiwitten het meest van elkaar verschillen, deze komen aan de uiteindes van de stamboom. Maak van daaruit de evolutionaire stamboom compleet.

Eiwitten	Soort pacman	Plaats op de evolutionaire stamboom
SRQPALSAACAEEKRRLS		
SRQPALSAACGEKQRLS		
SRQPALSAACVEKYRLS		
SRQPALSAACVEKRRLS		
SRQPALSAACGEKRRLS		
SRQPALSAACAEEKRRLS		c

Onderstaande vier eiwitten zijn ongeveer gelijk. Het stelt het eiwit Acyl-peptide hydrolase voor, een eiwit dat helpt in de spijsvertering. Het breekt andere eiwitten af. Deze eiwitten zijn van vier verschillende organismen: rund, mens, varken en rat.

```

MERQVLLSEF EEAALYRGL SRQPALSAAC LGPEVTTQYG GRVRTVHTEW TQRLDERMEN IRFCRQYLVF HDGDSVVFAG PAGNSVETRG ELLSRESPSG TMKAVLRKAG STGEEKQFLE
VWEKNRKLKS FNLSALEKHG FVYEDDCFCG LSWSHSETHL LYVAEKRRPK AESFFQTKAL DISGSDDEMA RPKKPDQAIAK GDQFLFYEDW GENMVSJKSP VLCVLDIESG NISVLEGVPE
SVSPGQAFWA PGDTGVVVFAG WWHEFFRLGI RFCTNRRSAL YVVDLTGGNC ELLSDDSLAV TSPRLSPDQC RIVYLYQFSL VPHQQCGQLC LYDWYTRVTV VVVDVVRQL GENFSGIYCS
LLPLGCSWAD SQRVVFDTAQ RSRQDLFAVD TQMGTVTPLT AGSGSGSWKL LTIIDRLMVA QFSTPNLPPC LKVGFLPPAG MEQEVVWVSL EEAEPIPDIS WSIRVLQPPP EQEHAQYVGL
DFEAILIQPS NPPDKTQVPM VVMPHGPHS SFVTSWMLLP AMLCKMGFAA LLVNYRGSTG FGQDSILSLP GNVGSQDVKD VQFAVEQVLQ EEHFDAGRVA LLGGSHGGFL SCHLIGQYPE
TYGACVVRNP VINIASMMGS TDIPDWCVVE AGYLYSSDCL PDPNVMSLEML NKSPIKYTPQ VKTPVLLMLG QEDRRVFPKQ GMEYYRALKA RNVFVRLLYL PKSTHSLSEV EVESDSFMNA
VIMWCTHLGH

MERQVLLSEF EEAALYRGL SRQPALSAAC LGPEVTTQYG GQYRTVHTEW TQRLDERMEN IRFCRQYLVF HDGDSVVFAG PAGNSVETRG ELLSRESPSG TMKAVLRKAG GTGPGEEKQF
LEVWEKNRKL KSFNLSALEK HGPVYEDDCFC GCLSWSHSET HLLYVAEKRR PKAESFFQTK ALDVSASDDE IARLKKPDQA IKGDQFVYFE DWGENMVSJKS IPVLCVLDVE SGNISVLEGV
PENVSQGQAF WAPGDAGVVF VGWWHPEFRL GIRFCTNRRS ALYYVDLIGG KCELLSDDSL AVSSPRLSPD QCRIVYLYQYP SLIPHHQCSQ LCLYDWYTKV TSVVVDVVRQL QLGENFSGIY
CSLLPLGCSW ADSQRVVFDS AQRSRQDLFA VDTQVGTVTS LTAGSGSGSW KLLTIIDQLM VAQFSTPSLP PTLKVGFLPS AGKEQSVLWV SLEEAEPID IHWGIRVLQP PPEQENVQYA
GLDFEAILLQ PGSPPDKTQV PMVVMPHGGF HSSFVTAWML FPAMLCKMGF AVLLVNYRGS TGFGQDSILS LPGNVGHQDV KDQVFAVEQV LQEEHFDASH VALMGGSHGG FISCHLIGQY
PETYRACVAR NPVINIASML GSTDIPDWCV VEAGFPFSSD CLPDLVSWAE MLDKSPIRYI PQVKTPLLML LGQEDRRVFP KQGMYYRAL KTRNVFVRLLY LYPKSTHALS EVEVESDSFM
NAVLWLRTHL GS

MERQVLLSEF EEAALYRGL SRQPALSAAC LGPEVTTQYG GRVRTVHTEW TQRLDERMEN IRFCRQYLVF HDGDSVVFAG PAGNSVETRG ELLSRESPSG TMKAVLRKAG GTCTAEEKQF
LEVWEKNRKL KSFNLSALEK HGPVYEDDCFC GCLSWSHSET HLLYVADKKR PKAESFFQTK ALDVTGSDDDE MARTKKPDQA IKGDQFLFYFE DWGENMVSJKS TPVLCVLDIE SGNISVLEGV
PESVSPGQAF WAPGDTGVVF VGWWHPEFRL GIRFCTNRRS ALYYVDLIGG KCELLSDES AVTSRPLSPD QCRIVYLYRFP SLVPHQQCGQ LCLYDWYTRV TSVVVDVVRQL QLGEDFSGIY
CSLLPLGCSW ADSQRVVFDS PQRSRQDLFA VDTQMGSVTS LTAGSGSGSW KLLTIIDRLM VAQFSTPSLP PSLKVGFLPP AGKEQAVSWV SLEEAEPID ISWSIRVLQP PPEQENVQYA
GLDFEAILLQ PSNSPEKTQV PMVVMPHGGF HSSFVTAWML FPAMLCKMGF AVLLVNYRGS TGFGQDSILS LPGNVGHQDV KDQVFAVEQV LQEEHFDAGR VALMGGSHGG FLSCHLIGQY
PETYSACVVR NPVINIASMM GSTDIPDWCV VEAGFYSYSSD CLPDLVSWAA MLDKSPIKYA PQVKTPLLML LGQEDRRVFP KQGMYYRYL KARNVFRVLL LYPKSTHALS EVEVESDSFM
NAVLWLCTHL GS

MERQVLLSEF QEAALYRGL SRQPALSAAC LGPEVTTQYG GLYRTVHTEW TQRLDERMEN IRFCRQYLVF HDGDSVVFAG PAGNSVETRG ELLSRESPSG TMKAVLRKAG GTVSGEEKQF
LEVWEKNRKL KSFNLSALEK HGPVYEDDCFC GCLSWSHSET HLLYVAEKRR PKAESFFQTK ALDISASDDE MARPKKPDQA IKGDQFVYFE DWGETMVSJKS IPVLCVLDID SGNISVLEGV
PENVSQGQAF WAPGDTGVVF VGWWHPEFRL GIRYCTNRRS ALYYVDLIGG KCELLSDGSL AICSPRLSPD QCRIVYLYQYP CLAPHQCSQ LCLYDWYTKV TSVVVDVVRQL QLGEDFSGIY
CSLLPLGCSW ADSQRVVFDS AQRSRQDLFA VDTQGTGSITS LTAAGSAGSW KLLTIIDKDLM VAQFSTPSLP PSLKVGFLPP PGKEQSVSWV SLEEAEPID IHWGVRVLRH PPDQENVQYA
DLDFEAILLQ PSNPPDKTQV PMVVMPHGGF HSSFVTAWML FPAMLCKMGF AVLLVNYRGS TGFGQDSILS LPGNVGHQDV KDQVFAVEQV LQEEHFDARR VALMGGSHGG FLSCHLIGQY
PETYSACIAR NPVINIASMM GSTDIPDWCV VETGFPYSNS CLPDLNVWEE MLDKSPIKYI PQVKTPLLML LGQEDRRVFP KQGMYYRAL KARNVFRVLL LYPKSNHALS EVEAESDSFM
NAVLWLHCTHL GS

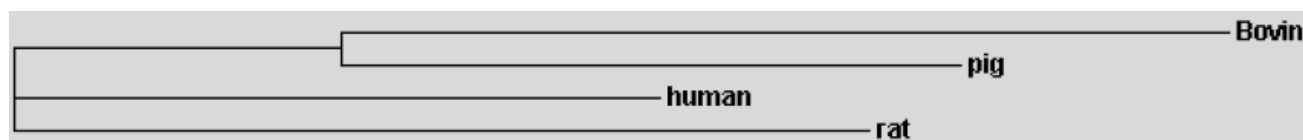
```

Het alignen van zulke eiwitten gaat een stuk lastiger! Eiwitten hebben gemiddeld een lengte van 300 aminozuren. Gelukkig zijn er computerprogramma's die grote aminozuurvolgordes kunnen alignen.

Als je de bovenstaande eiwitten laat alignen door de computer komt daar het volgende uit (er is maar een klein deel weergegeven):

QYPSLIPHHQCSQLCLYDWYTKVTSVVVDVVRQLGENFSGIYCSLLPLGCSWADSQRVVFDSAQRSRQD	Mens
QYPC LAPHHQCSQLCLYDWYTKVTSVVVDIVPRQLGESFSGIYCSLLPLGCSWADSQRVVFDSAQRSRQD	Rat
QFPSLVPHQCGQLCLYDWYTRVTVVVVDVVRQLGENFSGIYCSLLPLGCSWADSQRVVFDTAQRSRQD	Rund
RFPSLVPHQCGQLCLYDWYTRVTSVVVDIVPRQLGEDFSGIYCSLLPLGCSWADSQRVVF DSPQRSRQD	Varken

Door de kleurtjes kun je nu heel duidelijk zien waar verschillen voorkomen. Dit soort programma's berekenen ook evolutionaire stambomen. De stamboom voor deze vier eiwitten ziet er als volgt uit:



Door het vergelijken van aminozuurvolgordes kun je iets zeggen over hoe de evolutie verlopen kan zijn. Je kunt met behulp van moleculaire biologie evolutionaire stambomen maken die inzicht geven in de evolutie. Eiwitten van organismen die maar weinig verwant zijn verschillen erg in aminozuurvolgorde. Eiwitten van organismen die wel nauw verwant zijn lijken veel meer op elkaar qua aminozuurvolgorde.

Opdracht 3:

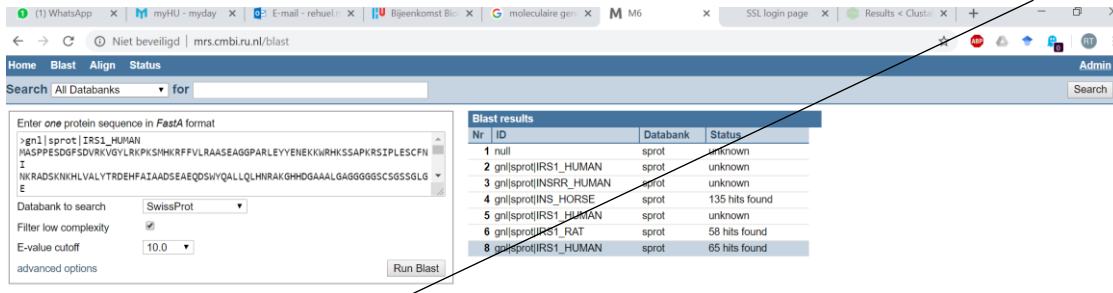
Computerpracticum

Je gaat nu zelf je fylogenetische stamboom maken op basis van aminozuursequenties.

Ga naar <http://mrs.cmbi.ru.nl>

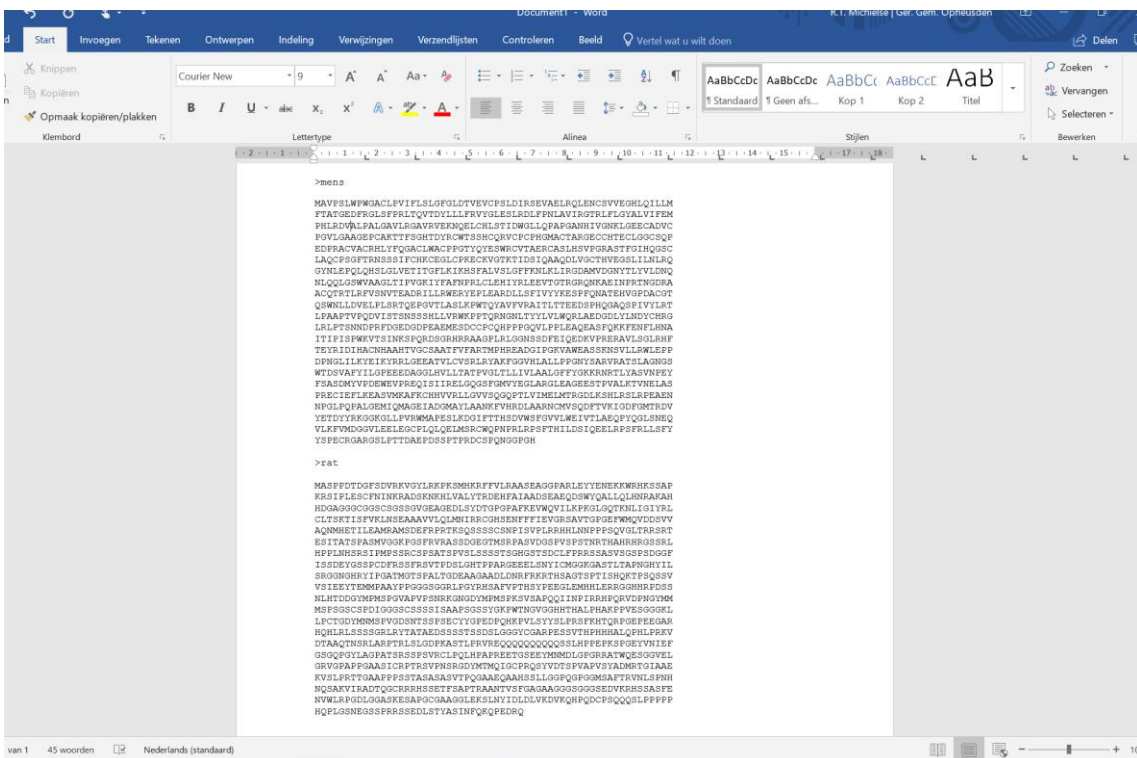
1. Kies in het menu links bovenin de databank: Swiss prot
2. Typ in het veld daarachter de Engelse naam van het eiwit (we kiezen nu voor 'insulin'), daarna [spatie] en dan 'os:human', sluit af met [enter]
3. Alle eiwitten van de mens met een op insulin lijkende naam verschijnen.
4. Gegevens over de eiwitten krijg je door op de ID te klikken, kies er eentje uit (we kiezen nu IRS1_HUMAN).
5. Klik op 'Blast'
6. Klik in het nieuwe scherm op 'Run blast'
7. Even wachten, onder 'blast results' wordt zo direct een aantal hits gemeld van het gekozen eiwit in allerlei organismen
8. Klik een keer op het resultaat en de lijst verschijnt
9. Klik op de ID van het eiwit (hier: IRS1_HUMAN) en er verschijnen weer allerlei gegevens, helemaal onderaan de aminozuursequentie (onder 'Sequence information')
10. Selecteer de aminozuurvolgorde, rechtermuisknop en dan kiezen voor 'kopiëren'
11. Open een nieuw Word document, typ >soortnaam (wij typen '>mens'). De soortnaam mag maar uit een woord bestaan
12. Toets 'Enter' (je moet dus naar de volgende regel)
13. Rechtermuisknop -> 'plakken'. Kies voor 'opmaak van de bron behouden'. Hiermee plak je de aminozuurvolgorde direct onder de soortnaam
14. Ga met de cursor helemaal aan het einde van het document staan. Houd de 'CTRL toets' ingedrukt en typ de letter 'H' in. Je krijgt nu een pop-up menu om te zoeken en te vervangen. Klik in het vakje 'zoeken' eenmaal op de spatiebalk (je geeft nu de opdracht om alle spaties te zoeken). Klik in het vakje 'vervangen door' eenmaal met de aanwijzer van je muis (niets typen, je wilt nl. de spaties vervangen door 'niets'). Klik op 'alles vervangen' en vervolgens op 'sluiten'.
15. Nu moeten we een tweede naam ingeven, omdat we een eiwit van twee verschillende organismen willen alignen.

- Om dit te kunnen doen moet je weer terug naar het tabblad dat bij stap 9 is gebruikt. Daar staat IRS1_HUMAN bovenaan. Op de derde plaats staat IRS1_RAT. Klik hierop.



Nr	ID	Coverage	Description	Hsps	BitScore	E-value
1	IRS1_HUMAN	100%	Insulin receptor substrate 1	1	1959	0.00
2	IRS1_CHLAE	100%	Insulin receptor substrate 1	1	1910	0.00
3	IRS1_RAT	100%	Insulin receptor substrate 1	1	1750	0.00
4	IRS1_MOUSE	100%	Insulin receptor substrate 1	1	1750	0.00
5	IRS1B_XENLA	100%	Insulin receptor substrate 1-B	1	1003	1.65e-291
6	IRS1A_XENLA	100%	Insulin receptor substrate 1-A	1	732	6.27e-210
7	IRS2A_XENLA	100%	Insulin receptor substrate 2-A	4	391	2.81e-107
8	IRS2B_XENLA	100%	Insulin receptor substrate 2-B	4	386	8.99e-106
9	IRS2_MOUSE	100%	Insulin receptor substrate 2	3	384	3.60e-105
10	IRS2_HUMAN	100%	Insulin receptor substrate 2	5	384	3.60e-105
11	IRS1_XENTR	100%	Insulin receptor substrate 1	2	322	1.66e-86
12	IRS4_HUMAN	100%	Insulin receptor substrate 4	3	176	1.48e-42
13	IRS4_MOUSE	100%	Insulin receptor substrate 4	3	164	6.06e-39
14	IRS1_DROAN	100%	Insulin receptor substrate 1 (ECO-0000250)UniProtKB:O9XTN2	2	97	8.94e-19
15	IRS1_DROYA	100%	Insulin receptor substrate 1 (ECO-0000250)UniProtKB:O9XTN2	2	97	8.94e-19
16	IRS1_DROER	100%	Insulin receptor substrate 1 (ECO-0000250)UniProtKB:O9XTN2	2	96	1.79e-18
17	IRS1_DROME	100%	Insulin receptor substrate 1	2	96	1.79e-18

- Scroll weer helemaal naar beneden en selecteer de aminozuurvolgorde, rechtermuisknop en dan kiezen voor 'kopiëren'
- Ga naar het word-document waarin je bij stap 13 de aminozuursequentie van de mens hebt geplakt. Geef een enter na de laatste regel en type weer een '>' met daarachter het woordje 'rat'.
- Herhaal stap 14 ook voor deze set, zodat we alle spaties kwijt zijn. Het document moet er nu zó uitzien:



20. Selecteer nu alles, rechtermuisknop, 'kopiëren' (dus alle sequenties, inclusief de namen)

Ga naar <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>

21. Ga in het veld 'sequences in any supported format:' staan, rechtermuisknop, 'plakken'

22. Scroll naar beneden en klik op 'Submit'

23. Even wachten en de alignment verschijnt

24. Ga naar de tab 'Phylogenetic Tree'

25. Je ziet nu de fylogenetische boom van jouw organismen, gebaseerd op het door jou gekozen eiwit.

26. Je kunt nu ook voor andere eiwitten en/of organismen dit practicum uitvoeren. Begin dan gewoon weer bij stap 2 en maak je eigen fylogenetische stamboom van jouw gekozen eiwit. In je stamboom dienen ten minste 10 verschillende soorten worden opgenomen.