

Svar til "Aktin, fra mRNA til tredimensionelt protein"

Svar til 1.A Virtual Ribosome

1. >>> er ensbetydende med en strict start codon (ATG)
)]) er ensbetydende med en alternativ start codon (fx bliver GTG og TTG benyttet af nogle E. Coli bakterier),
*** er ensbetydende med et stop codon (TAA, TGA og TAG, disse vises som * i selve sekvensen).
2. Læserammen er en måde at opdele en DNA- eller RNA-sekvens i 3-nukleotid codons, der kan translateres til aminosyrer. Hver DNA- eller RNA-streng har 3 forskellige læserammer (6 i alt for et helt DNA molekyle); læseramme 1 starter fra position 1, læseramme 2 på position 2 og læseramme 3 på position 3. Det protein, der bliver dannet, er både afhængigt af hvor translationen starter og om det er på den positive eller negative streng. For hvert protein er der således kun én læseramme der danner det korrekte funktionelle protein da der ofte er stop codons i andre læserammer.

Læseramme 1 er blevet brugt – dette er standardindstillingen for Virtual Ribosome, og kan desuden ses i højre hjørnet af outputtet:

```
VIRTUAL RIBOSOME
-----
Translation table: Standard SGC0

>213688374 actin_human_mRNA
Reading frame: 1

  L S P P P R G G A H S P T R A G A D L W L G L S G L V Q E F
5' CTCTCCCCGCCCCCGGGGGCGGCGCGCACTCACCCACCCGCGCCGGAGCGGACCTTTGGCTTGGCTTGTTCAGGGCTTGTCCAGGAGTTC 90
.....)))).....
```

3. Nej, det kan ikke antages at være korrekt, alle læserammer bør tjekkes for at se hvilken en der giver det længste protein og først der drage en endelig konklusion. Desuden er der kun et strict startcodon som resulterer i et protein på 12 aminosyre. Dette er ikke langt nok til at være et funktionelt aktin molekyle eller noget andet protein.
Da aktin er meget bevaret og udbredt i mange organismer er det den almindelig ATG startcodon, der skal bruges og ikke en alternativ.
4. Det er 12 aminosyrer langt og starter på position 1600 på DNA-strengen.
Nej, af samme grund som beskrevet i 3)
5. Det er 377 aminosyrer langt og starter fra position 476 på DNA-strengen. Læseramme 2 blev brugt, dvs. at translationen startede fra position 2 på den positive DNA-streng.

6. I reglen er det en god guideline at antage, at den længst translaterede sekvens er det korrekte, funktionelle protein. I en tilfældig DNA sekvens vil en stop codon kunne findes for ca. hver 21 codon, så hvis den åbne læseramme er over denne længde kan det antages at den koder for et protein. Det anbefales dog altid at kontrollere den translaterede sekvens ved BLAST (hvis det er et ukendt protein der søges efter), eller ved at lave en sekvensalignment med den kendte aminosyresekvens for proteinet, hvis denne er kendt.

Svar til 1.B UniProt

1. Det er 31867 resultater når man søger på aktin.
2. De næste step kan være:
 - a. Aktin AND human (2658 resultater), da organismen skal være menneske
 - b. Aktin AND human NOT cytoplamic (2242 resultater), da det skal være fra glat muskulatur og ikke cytoplasmisk aktin, desuden ses det fra den tidligere liste med resultater at der er mange hits med cytoplasmisk aktin, og dermed vil mange af disse blive fjernet.
 - c. Aktin AND human NOT cytoplamic AND smooth (65 resultater), da det skal være aktin fra glat muskulatur
 - d. Aktin AND human NOT cytoplamic AND smooth AND aortic (12 resultater), da Aorta er en hovedblodåre og det vil føre til at det er et overskueligt antal resultater man opnår, hvilke ville kunne undersøges manuelt – det ønskede protein er Aktin, aortic smooth muscle med accession nummer P62736

Det skal huskes at man ved søgninger i databaser kan give for specifikke søgekriterier, hvilke kan medføre at det protein man egentlig leder efter bliver ekskluderet fra søgningen uden man er klar over det. I denne øvelse ses det, at så snart man bliver specifik, fx tilføjer glat (eng. smooth), ekskludere man en masse hits (i dette tilfælde fra 2242 til 65 resultater). I denne søgning kan det korrekte protein stadig findes, men det er ikke altid det er tilfældet.

3. Se under *Names and origin*. Det anbefalede navn er Aktin, aortic smooth muscle, og gennavnet er ACTA2.
4. Se under *Protein attributes*. Sekvensen er 377AA.
5. Se under *General annotation (Comments)*. Aktin bliver brugt til cytoskelettet i cellers cytoplasma og i muskler hvor det danner en platform for myosin molekyler.
Aktins subcellulærelokation er i cytoplasmaet.
En arvelig defekt i genet ACTA2 kan bevirker aortic aneurysm familial thoracic type 6. Mutationen er dominant, hvilket er ensbetydende med at en organisme, der er heterocytgot for genet udtrykker mutationen fænotypisk. Mutationen medfører en udvidelse af den del af Aorta der ligger bag ved brystkassen og kan medfører til:
 - I. Livedo reticularis, der kan ses som tydlige blodåre fremspringninger under huden. Læs mere [her](#) (link til wiki).

- II. Bicuspid aortic valve (BAV), hvilket er ensbetydende med at der kun er to og ikke tre folder i den ventil, der pumper blod fra hjertet ud i Aorta. Læs mere [her](#) (link til wiki).
 - III. Patent ductus arteriosus (PDA) hvilket opstår, når blodåren ductus arteriosus ikke lukker ordentligt efter fødsel. Dette medfører til en anomalitet i blodflowet mellem Aorta og en anden hovedarterie, som dermed mikser oxygen-rigt og oxygen-fattigt blod hvilket giver øget blodtryk i lunge arterierne. Læs mere [her](#) (link til wiki).
6. Se under *Sequence annotation (Features)*. Ja, de første to aminosyre tilhører et propeptid, som bliver skåret af i proteinets færdige form.

Svar til 1.C PDB

1. Se under *Summary* fanen. Id'et koder for et krydsbindings kompleks fra et insekts flyve muske. Man kan se myosin, der stammer fra skeletmuskulatur i en kylling og et aktin stammer fra skeletmuskulatur i en kanin.
2. Se under *Sequence* fanen. Id'et indeholder i alt 26 kæder, men kun 4 forskellige slags (4 unikke), hvor af kæde 0-9 og V-Z koder for aktin og kæde A-I og P-R koder for DNAase I.

PDB - 101
An Information Portal to Biological Macromolecular Structures
As of Tuesday Sep 13, 2011 at 5 PM PDT there are 75801 Structures | PDB Statistics

1M8Q Display Files Download Files Share this Page

Molecular Models of Averaged Rigor Crossbridges from Tomograms of Insect Flight Muscle

Sequence Display
The sequence display provides a graphical representation of the UniProtKB, PDB - ATOM and PDB - SEQRES sequences. Different 3rd party annotations can be graphically mapped on the sequence and displayed in the Jmol viewer.

The structure **1M8Q** has in total **26** chains. These are represented by **4** sequence-unique entities.

Currently viewing **unique chains only**. [show all chains](#)

Chain 7 : Skeletal muscle Actin

FASTA | Sequence & DSSP | Image
Polymer 4
Length: 375 residues
Chain Type: polypeptide(L)
Reference: [UniProtKB P68135](#)

Sequence & Structure Relationships
[Display Jmol](#)
Enable Jmol to view annotations in 3D.

Display Parameters
Identical chains: **0 1 2 3 4 5 8 9 V W X Y Z** | [show all chains](#)
Currently displayed: **SEQRES** sequence.

Sequence Display
The structure **1M8Q** has in total **26** chains. These are represented by **4** sequence-unique entities.

Currently viewing **unique chains only**. [show all chains](#)

Chain 7 : Skeletal muscle Actin

FASTA | Sequence & DSSP | Image
Polymer 4
Length: 375 residues
Chain Type: polypeptide(L)
Reference: [UniProtKB P68135](#)

Sequence & Structure Relationships
[Display Jmol](#)
Enable Jmol to view annotations in 3D.

Display Parameters
Identical chains: **0 1 2 3 4 5 8 9 V W X Y Z** | [show all chains](#)
Currently displayed: **SEQRES** sequence.
Display external (UniProtKB) sequence
Mouse over an annotation to see more details.

Annotations
Add Annotations
Domain Assignment: **SCOP** **d1m8q7** Averaged rigor crossbridges from tomograms of insect flight muscle: 372 residues
Secondary Structure: **DSSP** 40% helical (22 helices; 153 residues)
19% beta sheet (19 strands; 74 residues)

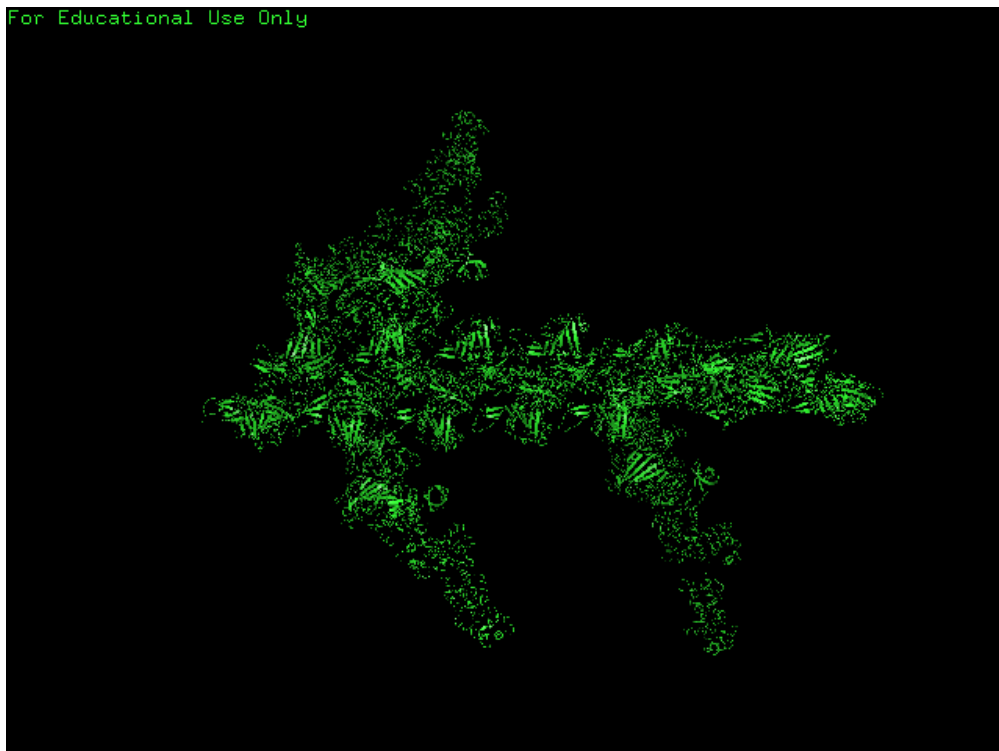
Averaged rigor crossbridges from tomograms of insect flight muscle (d1m8q7)

SCOP: **d1m8q7**
DSSP: **DEDETTALVCDNGS GLVKAGFAGDDAPRAVFP S I VGRPRHQGVVMVGMQKDS YVGD EAQS KRG ILTLKYP I EHG I ITNWD**

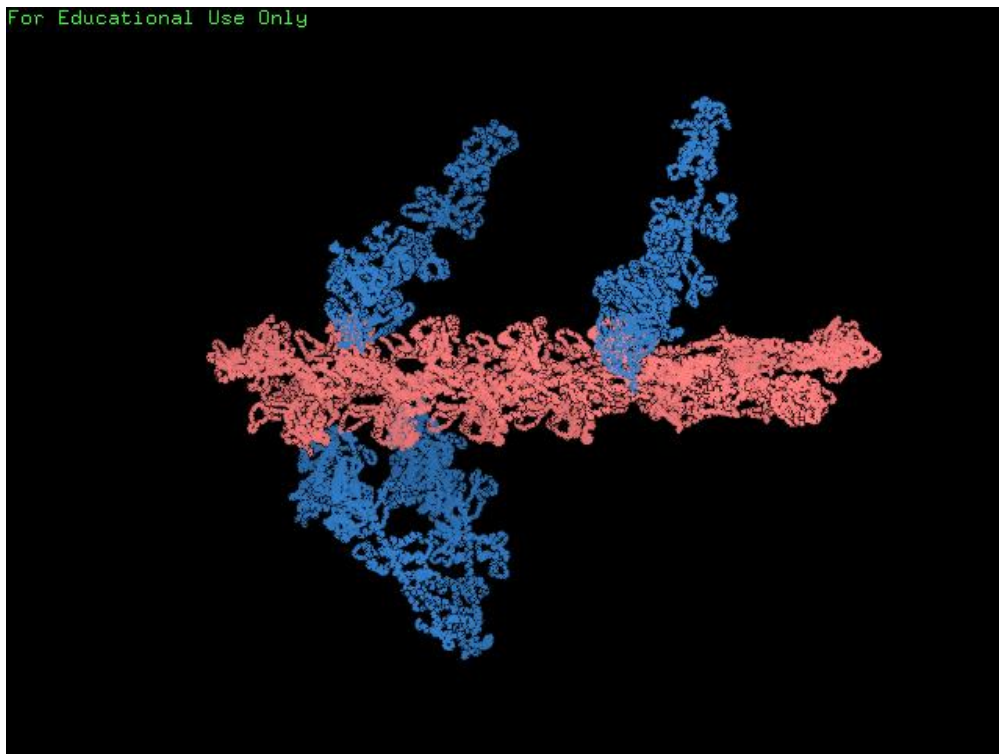
3. Der er 375 aminosyrer i kæde 7(aktin), der er fra position 1 til 275.
Der er 840 aminosyrer i kæde A (myosin), der er fra position 4 til 843.
Der er 145 aminosyrer i kæde B (myosin, regulatorisk let kæde), der er fra position 19 til 163.
Der er 147 aminosyrer i kæde C (myosin, essentiel let kæde), der er fra position 3 til 149.

Svar til 1.D PyMol

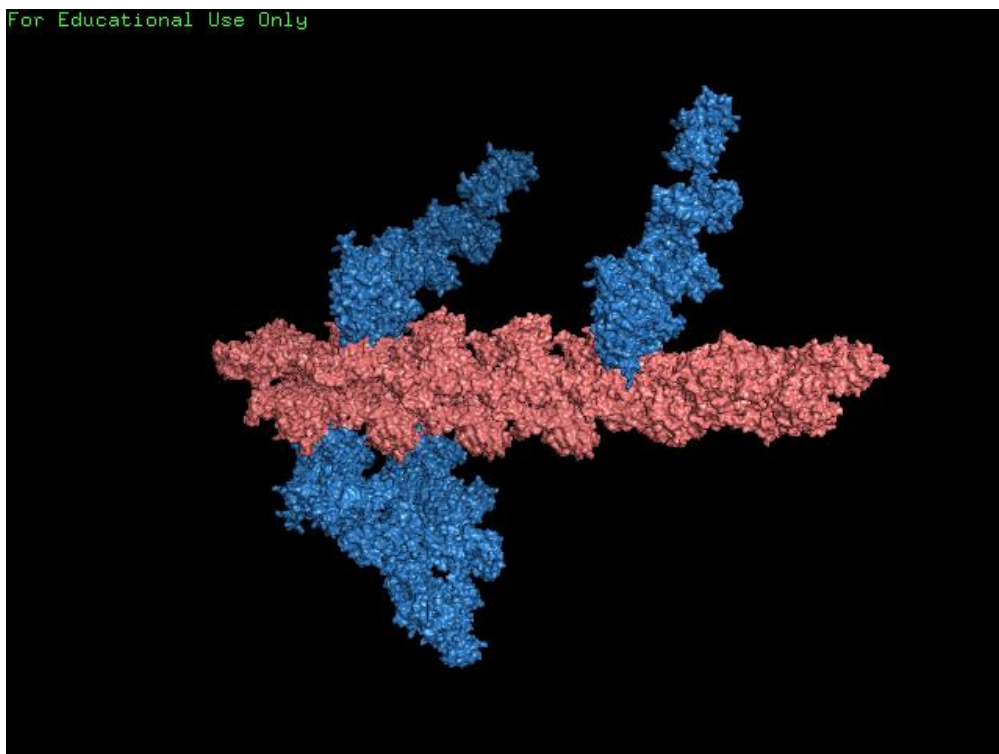
1. Benyt kommandolinjen til dette. For at gemme alt, benyttes kommandoen: *hide everything* og for at vis det hele i tegnings struktur benyttes kommandoen: *show cartoon*.
Nedenfor ses et billede af strukturen i PyMol:



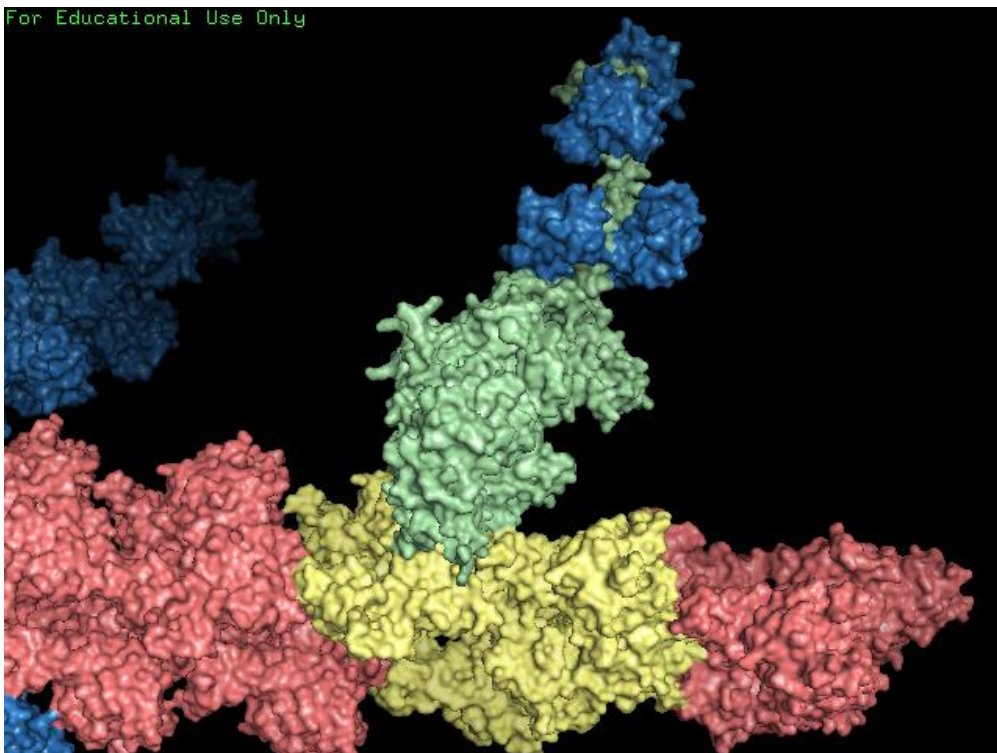
2. Der er flere måder dette kan gøres på:
- a. Benyt kommandolinjen med:
color deepsalmon, chain 0+1+2+3+4+5+6+7+8+9+V+W+X+Y+Z
color skyblue, chain A+B+C+D+E+F+G+H+I+P+Q+R
- b. Benyt kommandolinjen med:
sele actin, chain 0+1+2+3+4+5+6+7+8+9+V+W+X+Y+Z
sele myosin, chain A+B+C+D+E+F+G+H+I+P+Q+R
- Dette gøres for først at vælge de to kæder og gemme dem som separate domæner i højre margin. Herefter benyttes ASHLC tasterne til at farve de to valgte domæner, A og D, hver deres farve (*color -> vælg en farve*).
- Nedenfor ses et billede af strukturen i PyMol:



3. Benyt herefter ASHLC tasterne til at vise overfladen af proteinerne i komplekset (*show* → *surface*). Ved sammenligning ses, at overflade strukturen giver et bedre billede af komplekset som heled. Nedenfor ses et billede af overflade strukturen i PyMol:



4. Det er to aktin molekyler der ligger lige op ad myosin. Dette kan ses ved først at farve myosin kæde P, så man kan se hvor i komplekset den er (*color palegreen, chain P*). Herefter kan man zoome ind på kæde P (*zoom chain P*) og prøve sig frem ved at farve en aktin kæde af gangen (kæde 0-9 og V-W, *color paleyellow, chain 0* osv.) og se hvilke der interagerer med kæde P. Det anbefales at farve tilbage til den originale farve hvis aktin molekylet ikke interagerer med myosin for et bedre overblik. Alternativt kan man blot trykke på aktin molekylet hvormed man i historievinduet vil kunne se navnet på den kæde der er markeret. Herefter kan denne farves.
- Ved at gøre dette observeres det, at aktin fra kæde 0 og 2 der interagerer med myosin på kæde P.
- Nedenfor ses et billede af strukturen i PyMol hvor der er zoomet ind på kæde P:



5. Baggrundsfarven kan ændres i menulinien *Display* → *Background*, skyggerne under *Setting* → *Rendering* → *Shadows* og måden hvorpå den sekundære struktur bliver vist på kan ændres i *Setting* → *Cartoon*.