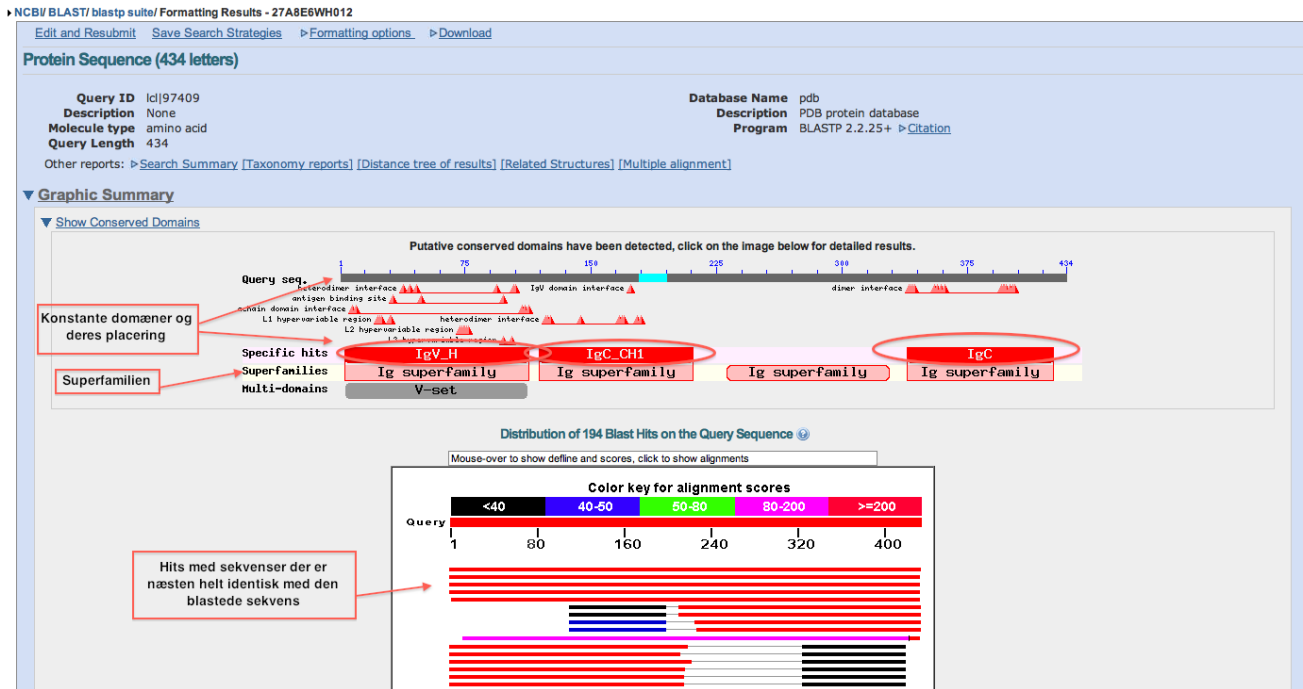


Svar til "Bioinformatisk analyse af antistoffer"

Svar til 3.A BLAST

1. Sekvensen hører til Immunoglobulin (Ig) superfamilien.
2. 5 sekvenser er næsten 100% identisk med query sekvensen (eng. query sequence).



3. Hit 1:

Acc. Nummer: 1IGY_B, Max Score: 900, Query coverage: 100%, E-value: 0.0

Hit 2:

Acc. Nummer: 1IGT_B, Max Score: 565, Query coverage: 99%, E-value: 0.0

NB!!! Disse svar kan ændre sig, da databaserne er dynamiske og hele tiden fornyer og udvider sig. Der skal dermed tages forbehold for at nye sekvenser kan blive tilføjet til databaserne og således give et bedre match.

4. De to resultatsekvenser skal primært vælges på baggrund af deres e-værdi. E-værdien er nemlig det forventede antal af tilfældige hit og angiver dermed sandsynligheden for at det pågældende hit vil blive fundet tilfældigt i den givne database. Jo mindre e-værdi, des mindre er sandsynligheden for at hittet er tilfældigt og dermed er der en større sandsynlighed for at hittet er et rigtigt match til query-sekvensen. Desuden kan man på baggrund af sekvensdækningen (eng. *query coverage*) se, at begge resultatsekvenser

dækker 99% af sekvensen. Der er dog ikke taget højde for om sekvensen fra hittet er længere end det viste, og derfor kan det være misvisende kun at træffe beslutningen på baggrund af sekvens dækningen.

Svar til 3.B PDB

1. Se under *Summary* fanen. Id'et koder for et immunoglobulin, nærmere betegnet antistoffet af typen IgG med subklasse 1.
2. Se under *Sequence*. Id'et indeholder 4 kæder, hvor af to par er identiske. Kæde A og C koder for den lette kæde og kæde B og D koder for den tunge kæde.

The screenshot shows the PDB entry for 1IGY. Key features include:

- Sequence Display:** States "The structure 1IGY has in total 4 chains. Out of these 2 are sequence-unique." and "Currently viewing unique chains only. show all chains".
- Chain A:** IGG1 INTACT ANTIBODY MAB61.1.3
- FASTA | Sequence & DSSP | Image:** Polymer 1, Length: 213 residues, Chain Type: polypeptide(L).
- Annotations:**
 - Domain Assignment: **SCOP** d1qya1, Immunoglobulin light chain kappa variable domain, VL-kappa: 106 residues
 - [hide] [reference] d1qya1, Immunoglobulin light chain kappa constant domain, CL-kappa: 107 residues
 - Secondary Structure: **DSSP** 5% helical (3 helices; 12 residues)
 - [hide] [reference] 39% beta sheet (26 strands; 84 residues)
- Sequence Alignment:** Shows the amino acid sequence: PDB 2 K C A H T V S K M S M S V G E R V L T T C K A S E N V V T Y V S W Y Q Q K P E Q S P K L L I Y G A S N R Y T G V P D R

3. Kæde A og C:

Indeholder 213 aminosyrer, og er delt op i følgende domæner:

Position 2-107 er den variable del på den lette kæde.

Position 108-214 er den konstante del på den lette kæde.

Kæde B og D:

Indeholder 434 aminosyrer, og er delt op i følgende domæner:

Position 2-113 er den variable del på den tunge kæde.

Position 114-235 er den første konstante del på den tunge kæde.

Position 236-361 er den anden konstante del på den tunge kæde.

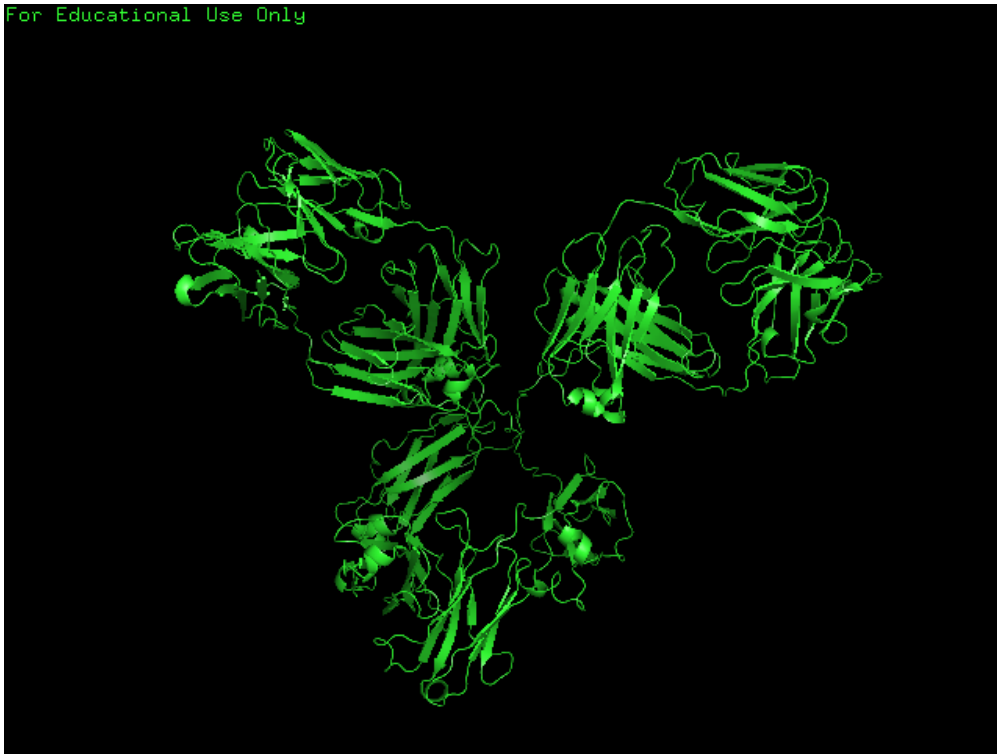
Position 363-474 er den tredje konstante del på den tunge kæde.

Det noteres, at selve kæden har 474 aminosyre, men det er kun 434 af dem der vises i PDB strukturen.

Svar til 3.C 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 deepblue, chain A

color ruby, chain B

color skyblue, chain C

color deepsalmon, chain D

- b. Benyt kommandolinjen med:

sele A, chain A

sele B, chain B

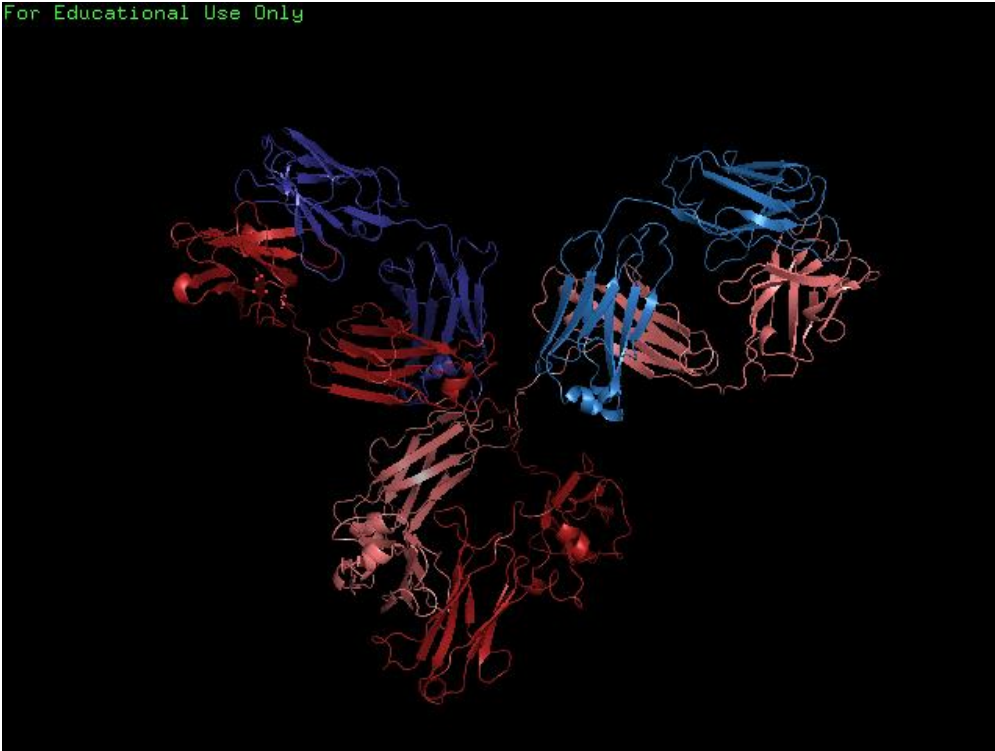
sele C, chain C

sele D, chain D

Dette gøres for først vælge de to kæder og gemme dem som separate domæner i højre margin. Herefter benyttes ASHLC tasterne til at farve de valgte domæner, A, B, C og D, hver deres farve (*color* → *vælg en farve*).

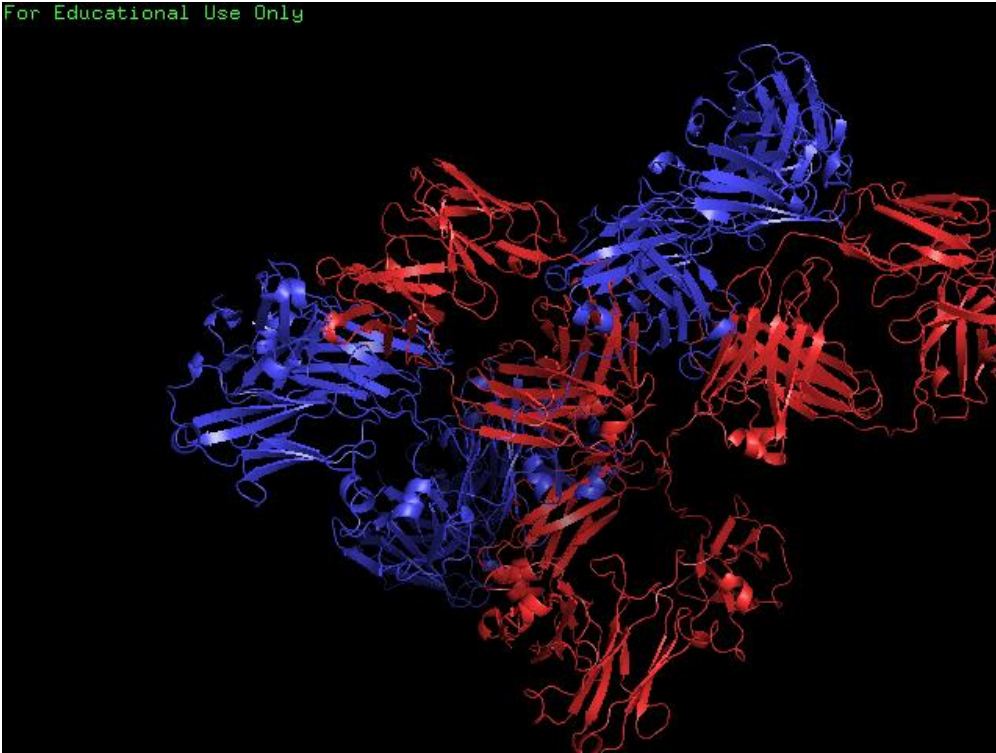
Nedenfor ses et billede af strukturen i PyMol:

For Educational Use Only



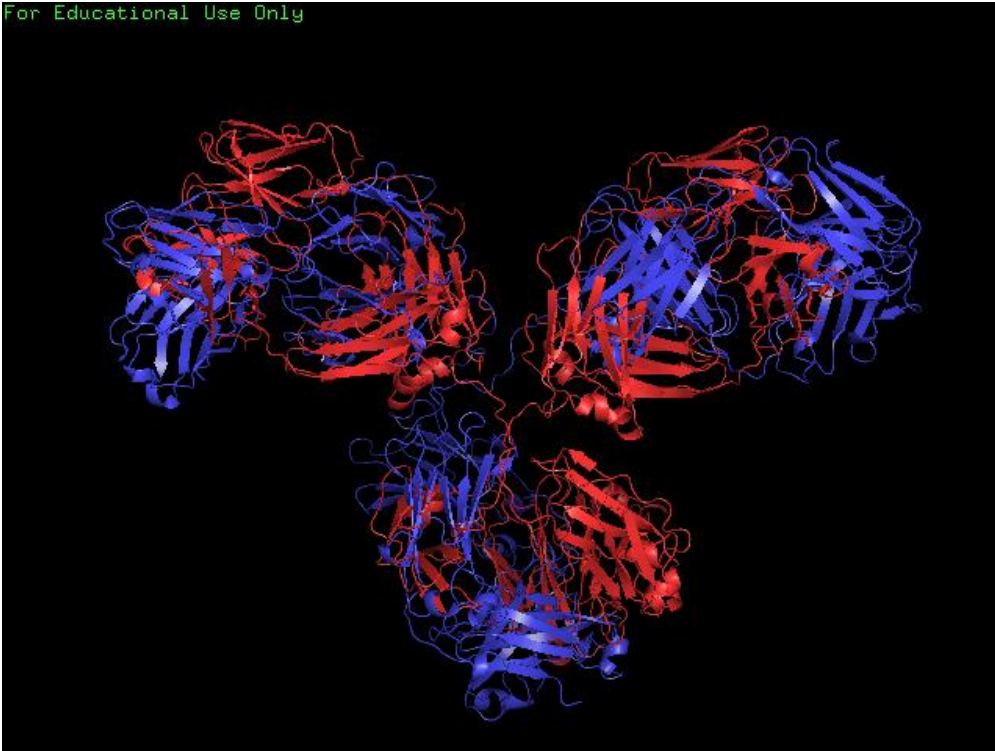
3. Ja, det har opbygning som et antistof (se figur fra øvelsesvejledningen). Ved at farve kæderne, kan det ses at de lette kæder er de korte og de tunge kæder er de lange, hvilket stemmer overens med den forventede placering af kæderne i "Y" formen. Desuden interagerer de fire kæde, som det er forventet af et antistof.
4. De samme kommandoer som i 1 benyttes, farv evt. således:
color tv_red, 1IGY
color tv_blue, 1IGT
Nedenfor ses et billede af strukturen i PyMol:

For Educational Use Only



5. Til at sammenstille (eng. *aligne*) benyttes:
align 1IGY, 1IGT
Nedenfor ses et billede af strukturen i PyMol:

For Educational Use Only



Fra alignmentet kan det ses, at de to antistoffer overordnet har samme struktur; nemlig som IgG. Det ses dog, at de ikke overlapper hinanden fuldstændig, hverken i de konstante eller de variable dele. Det antages derfor, at de stammer fra hver deres subklasse af IgG. For nærmere at bekræfte dette, kan PDB databasen bruges til at søge på begge PDB id (1IGY og 1IGT). Det ses her, at 1IGY er et IgG1 (subklasse 1) antistof og 1IGT er et IgG2 (subklasse 2) antistof. Dette forklarer hvorfor de to immunoglobuliner har den samme struktur, men ikke er helt identisk.

6. 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*.