

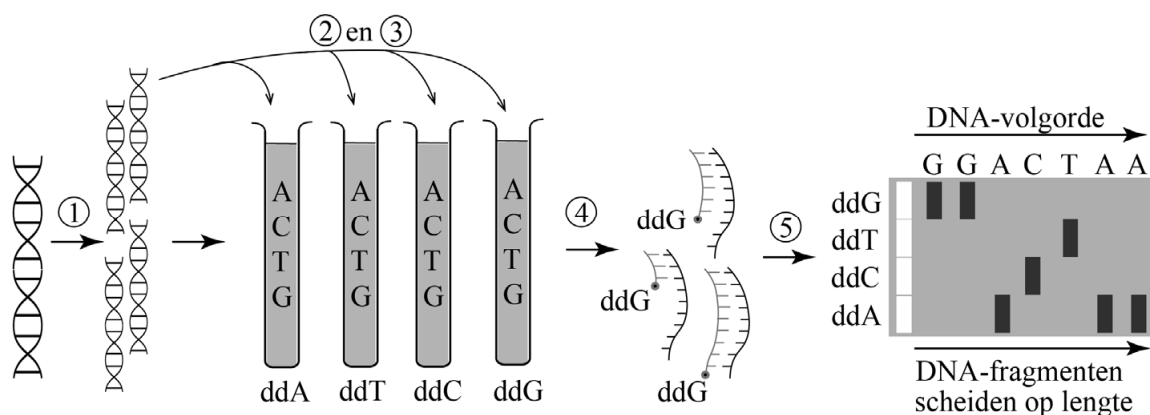
DNA-analyse

Voor het monitoren van infectieziekten en het ontwikkelen van vaccins wordt gebruikgemaakt van analysetechnieken. Hiermee kan de volgorde van de basenparen in het DNA van bijvoorbeeld virussen worden bepaald. In een van de stappen wordt dubbelstrengs-DNA omgezet tot enkelstrengs-DNA.

- 2p 7 Noem de twee soorten bindingen die hierbij tussen de DNA-strengen worden verbroken.

In figuur 1 is weergegeven hoe men bij zo'n DNA-analyse te werk gaat.

figuur 1



De stappen van de DNA-analyse in figuur 1 zijn hieronder beschreven:

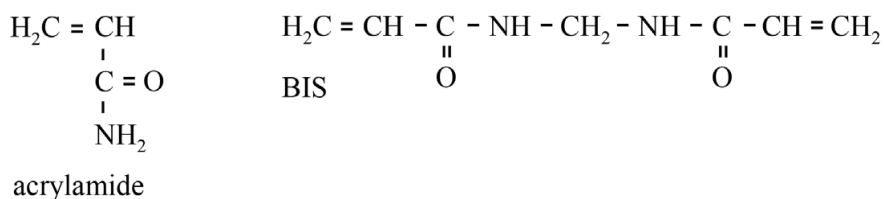
- 1 Het DNA van het te onderzoeken monster wordt vermenigvuldigd tot miljoenen kopieën DNA.
- 2 Deze kopieën DNA worden verdeeld over vier verschillende reageerbuisjes en door behandeling met hitte enkelstrengs gemaakt.
- 3 In deze reageerbuisjes zitten ook de basen A, C, T en G. Behalve deze basen bevatten de buisjes ook één speciaal soort base: een dideoxy-base (dd). Elk buisje bevat een andere dd-base: ddA, ddT, ddC of ddG. In elk buisje wordt de matrijsstreng gebruikt om een nieuwe coderende streng te maken.
- 4 Zodra een dd-base wordt gekoppeld aan een groeiende coderende streng, stopt de groei van deze streng. De coderende strengen die zo ontstaan, hebben alle mogelijke lengtes.
- 5 Van elk buisje wordt het ontstane dubbelstrengs-DNA weer omgezet tot enkelstrengs-DNA. Dit enkelstrengs-DNA wordt op lengte gescheiden. Uit het resultaat van de scheiding is de DNA-volgorde af te lezen van de coderende streng.

De concentratie van een dd-base moet bij deze methode ongeveer 100x zo groot zijn als de concentratie gewone basen (A, C, T en G). Bij veel lagere of veel hogere concentraties dd-base leidt de analyse van een DNA-monster niet tot het gewenste resultaat.

- 2p **8** Leg uit dat bij de beschreven methode een veel hogere concentratie dd-base niet leidt tot het gewenste resultaat.

De fragmenten coderend DNA die worden gebruikt in stap 5 zijn negatief geladen. Onder invloed van elektrische spanning worden de fragmenten op lengte gescheiden in een polyacrylamide-gel. Deze gel bevat een netwerkpolymeer van methyleen-bis-acrylamide (BIS) en acrylamide. Zie figuur 2. Het monomeer BIS zorgt voor de vorming van crosslinks.

figuur 2



- 3p **9** Teken de structuurformule van een gedeelte van de polyacrylamide-gel.
- Dit gedeelte moet komen uit het midden van het polymeer en moet zijn gevormd uit één eenheid BIS en twee eenheden acrylamide.
 - In de structuurformule moet duidelijk worden hoe twee ketens door middel van een crosslink zijn verbonden.

In de gel zijn ruimtes tussen de ketens van het netwerkpolymeer. De DNA-fragmenten bewegen hier doorheen. Het percentage BIS in het netwerkpolymeer bepaalt hoe groot deze ruimtes zijn. De DNA-fragmenten die gescheiden moeten worden kunnen lang of kort zijn. Afhankelijk van de lengte van deze DNA-fragmenten is een ander percentage BIS te adviseren.

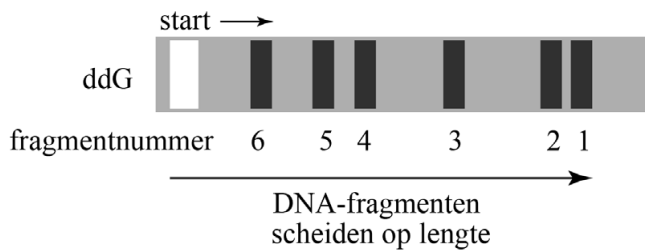
- 2p **10** Leg uit of voor een goede scheiding van lange DNA-fragmenten een relatief hoog of een relatief laag percentage BIS moet worden gebruikt bij het maken van het netwerkpolymeer.

Tijdens de analyse van een DNA-monster is na stap 2 het volgende matrijs-DNA verkregen:

matrijs-DNA start AGCCTGGCGACCATCGAG

Aan dit monster is in stap 3 behalve A, C, T en G ook ddG toegevoegd. Vanaf de 'start' wordt tegen de matrijs-streng een coderende streng gevormd. In figuur 3 is het resultaat weergegeven van de scheiding van deze coderende strengen (stap 5).

figuur 3



- 2p 11 Geef de basevolgorde van de coderende streng van het fragment met nummer 2 in figuur 3.

Door middel van DNA-analyse kan gemonitord worden of er bij een virus mutaties optreden in het DNA. Met behulp van de 1-lettersymbolen van aminozuren kan men dit soort mutaties vereenvoudigd weergeven. Zo geeft bijvoorbeeld de notatie 'V408M' een mutatie weer waarbij op plaats 408 van een eiwit een valine-eenheid is vervangen door een methionine-eenheid. Bij het monitoren van het Cowpox-virus werd een mutatie gevonden die is weergegeven in figuur 4.

figuur 4

	2536		2556
	↓		↓
Cowpox	...	TACAAGACCAGACTGTCTGAG...	
Cowpox met mutatie	...	TACAAGACCAGACTGTATGAG ...	

De code voor het aminozuur met nummer 1 begint bij het basenpaar met nummer 1. Figuur 4 toont de coderende streng van het DNA.

- 3p 12 Leid met behulp van het gegeven voorbeeld af wat de notatie is van de mutatie in figuur 4.