

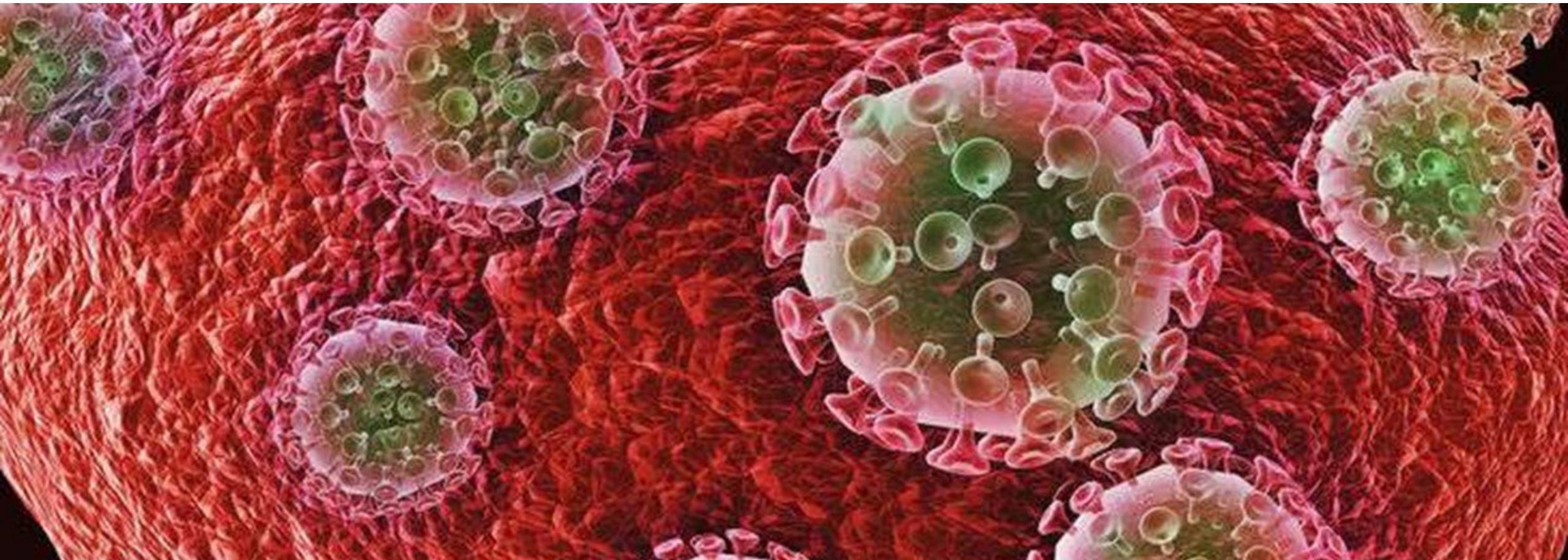
BIO-INFORMATICA

COURSE 3B_ VERGELIJKENDE GENOOMANALYSE

WEEK 1: KICK-OFF EN VIRUSSEN

DE COURSE

Vergelijkende genoom analyse met als uitgangspunt HIV



COURSE OVERZICHT

Beroepsproducten
Onderzoeksverslag Samenvatting Materiaal en Methode Resultaten

Beroepstaak 4
Uitvoeren van natuurwetenschappelijk onderzoek

Life science
Evolutietheorie van Darwin Ontstaan van leven op aarde Prokaryoten en de oorsprong van metabole diversiteit Bio-organische aspecten van mutaties Virussen Transcriptie & translatie Immunologie

Chemie
Sterke en zwakke zuren en basen, pH, bufferoplossingen Organische chemie, naamgeving Functionele groepen: alkenen, alkynen, aromatische verbindingen Isomerie Organische reacties: additie, eliminatie, substitutie, omleggingen

Bioinformatica
'Comparative Genomics' Opbouw en structuur van genomen GC%, Codon bias, opbouw eiwitten Sequenties zoeken via NCBI, EBI Sequentievergelijking Fylogenie en systematiek

TOETSING

Competentie	Geoormerkte competentiebewijzen	Feedback vorm	Wie beoordeelt
Data analyse	Onderzoeksverslag (V)	Individueel cijfer	Gonny en Rick
Samenwerken	Paraaf m.b.t. inzet (IPV)	V / NV	Tutor
Integratie van competenties	Thematoets Bio-informatica + project (T)	Cijfer	Eva
	Kennistoets Life Science 60%, Chemie 40% (K)	Cijfer	Rick

Geen tussentijdse Kennistoets

Eindcijfer berekening: $(V + 2 \cdot T + 2 \cdot K) / 5$

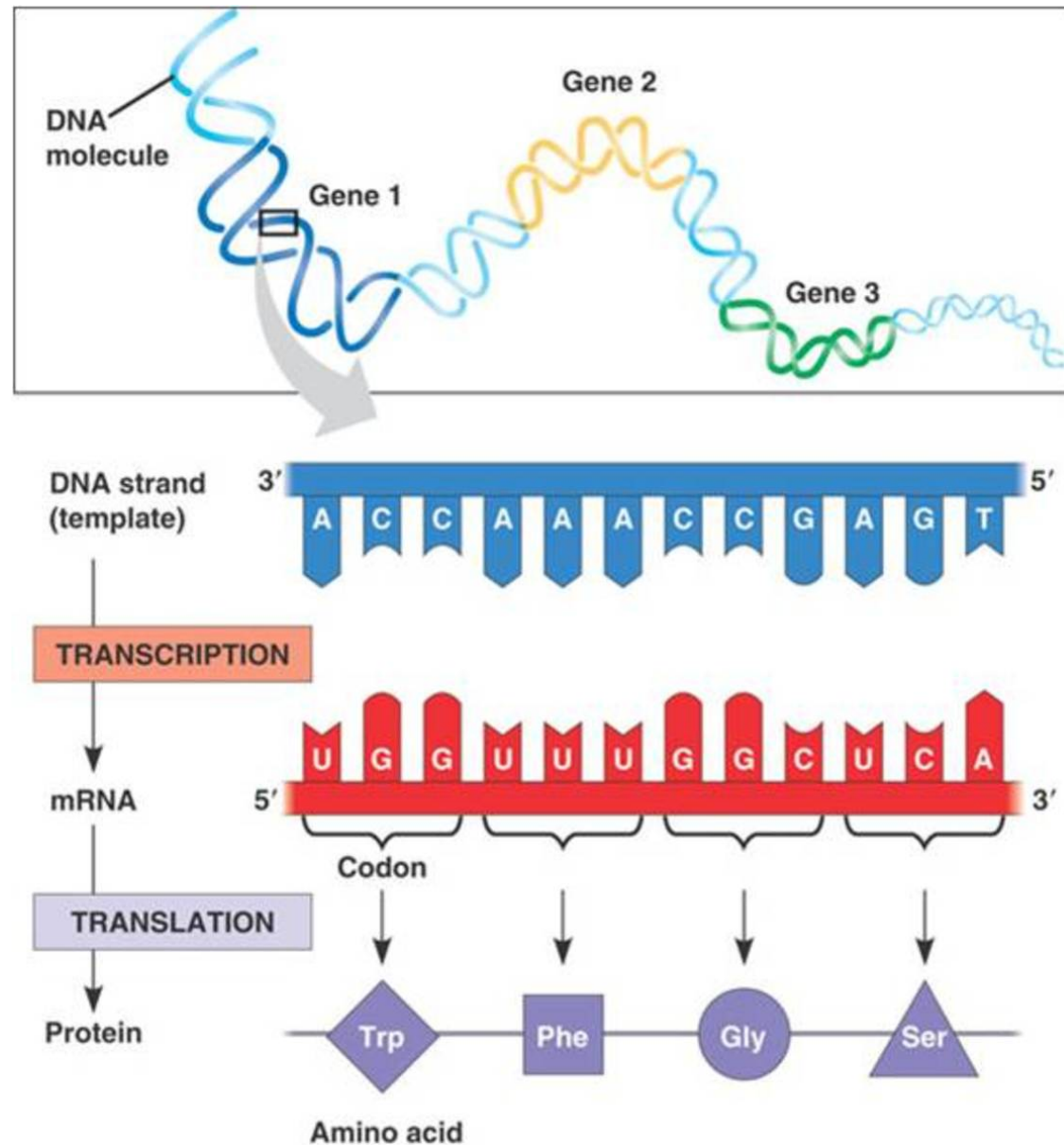
DE LESSEN

- Tijdens de hoorcolleges:
 - Kennis die je kunt gebruiken voor de weektaak
- Tijdens de werkcolleges:
 - Werken aan de weektaken.

DEZE WEEK

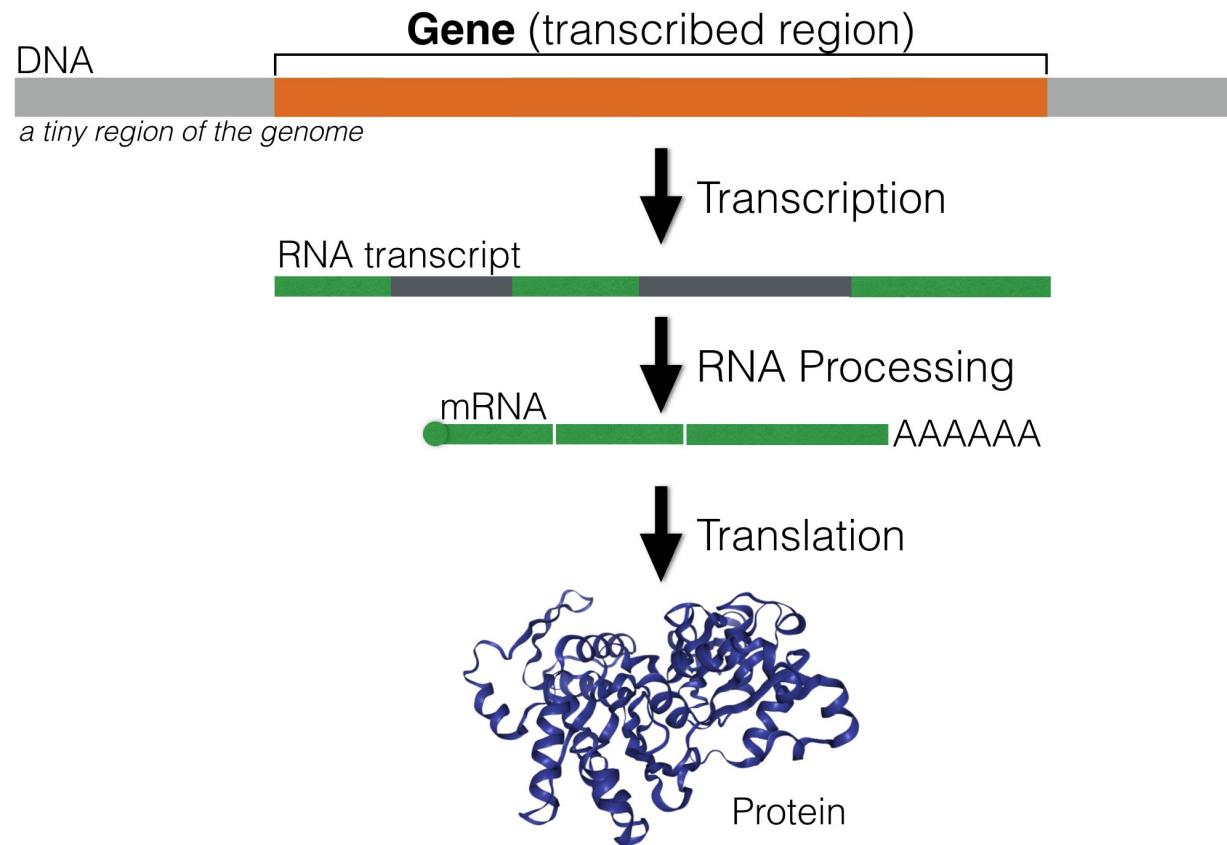
- Inleiding
 - Van genoom naar eiwit (recap)
 - HIV
 - Genoom analyse
- Virussen
 - Soorten/types virussen
 - HIV (genen en eiwitten)
- Bioinformatica
 - Genomen en sequenties vinden

RECAP: VAN GENOOM NAAR EIWIT (CENTRAL DOGMA)



Protein Production: A Simple Summary of Transcription and Translation - Owlcation

RECAP: DNA GENEN CODEREN VOOR EIWITTEN



AIDS - IN 1981 WERD DE WERELD OPGESCHRIKT DOOR EEN MYSTERIEUZE, DODELIJKE ZIEKTE



- HIV is het virus dat bij de mens AIDS veroorzaken.
 - HIV breekt stap voor stap je afweersysteem af, waardoor je vatbaar wordt voor allerlei andere infecties (door andere ziektemakers).
 - HIV: Human Immunodeficiency Virus, oftewel: “Menselijk virus dat de afweer afbreekt”.
- AIDS is de ziekte/symptoom van een infectie met een virus, waarbij je lichaam niet meer instaat is je te beschermen tegen de andere infecties.
 - AIDS: Acquired Immune Deficiency Syndrome. Oftewel: “Verkregen afbraak van afweer”.

AIDS - IN 1981 WERD DE WERELD OPGESCHRIKT DOOR EEN MYSTERIEUZE, DODELIJKE ZIEKTE



- Sinds 1981 (tot 2022) zijn er ongeveer 40,4 miljoen [32,9 miljoen–51,3 miljoen] **overleden aan aids** of AIDS-gerelateerde ziekten.
- In 2022 **leefden** over de hele wereld ongeveer 39 miljoen [33,1 miljoen–45,7 miljoen] mensen met HIV.
- In 2022 zijn er gemiddeld 1.3 miljoen [1.0 – 1.7 miljoen] **bijgekomen** met een HIV infectie
 - ± elke 24 seconden ± 260 aan het einde van de les.
- In 2022 zijn er ongeveer 630000 [480 000 – 880 000] mensen **overleden** aan AIDS-gerelateerde ziekten
 - ± elke 50 seconden ± 126 einde van deze les.



HIV EN COVID

- Mensen met HIV krijgen heftigere COVID symptomen hebben 2x meer kans om te komen overlijden dan mensen zonder HIV.
- COVID varianten kunnen mogelijk muteren door onder andere verzwakte immuun systemen.

South African scientists - hailed for their discovery of Omicron - are investigating the "highly plausible hypothesis" that the emergence of new Covid-19 variants could be linked, in some cases, to mutations taking place inside infected people whose immune systems have already been weakened by other factors, including, though not limited to, untreated HIV.

Researchers have already observed that Covid-19 can linger for many months in patients who are HIV positive but who have, for varying reasons, not been taking the medicines that would enable them to lead healthy lives.

"Normally your immune system would kick a virus out fairly quickly, if fully functional," said Professor Linda-Gayle Bekker, who heads the Desmond Tutu HIV Foundation in Cape Town.

Omicron: South African scientists probe link between variants and untreated HIV - BBC News



HIV EN BEHANDELINGEN

- HIV-remmers zijn steeds beter beschikbaar en werken ook als preventiemiddel. Helaas is het niet voor iedereen op de wereld beschikbaar.
 - In 2022 zijn de HIV-remmers door gemiddeld 76% mensen in gebruik.
- Combinatie therapie van verschillende remmers uit verschillende klassen, gebaseerd op het werkingsmechanisme van het middel.
 - Elk klasse HIV-remmer richt zich op een ander onderdeel van het replicatiecyclus van het virus.

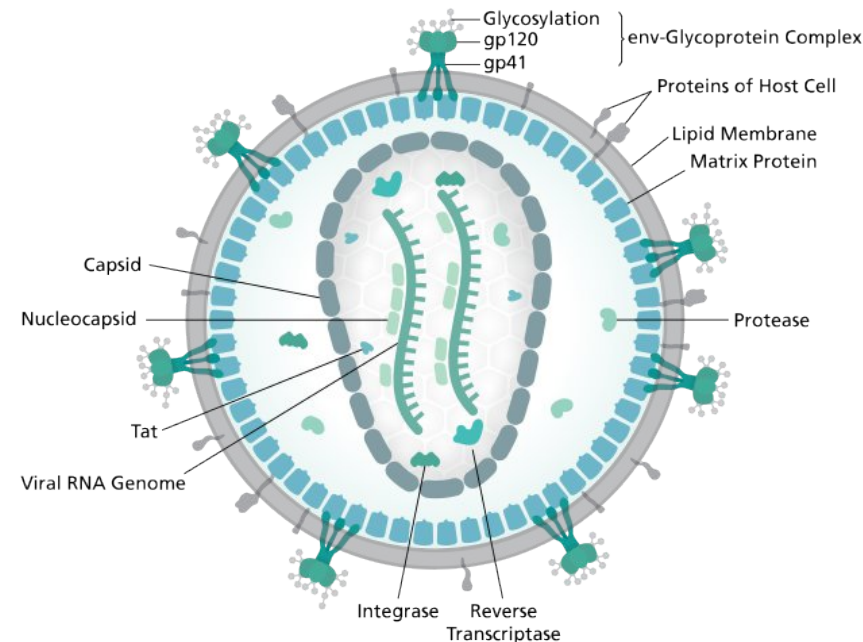


Reyataz – proteaseremmer



HIV EN BEHANDELINGEN

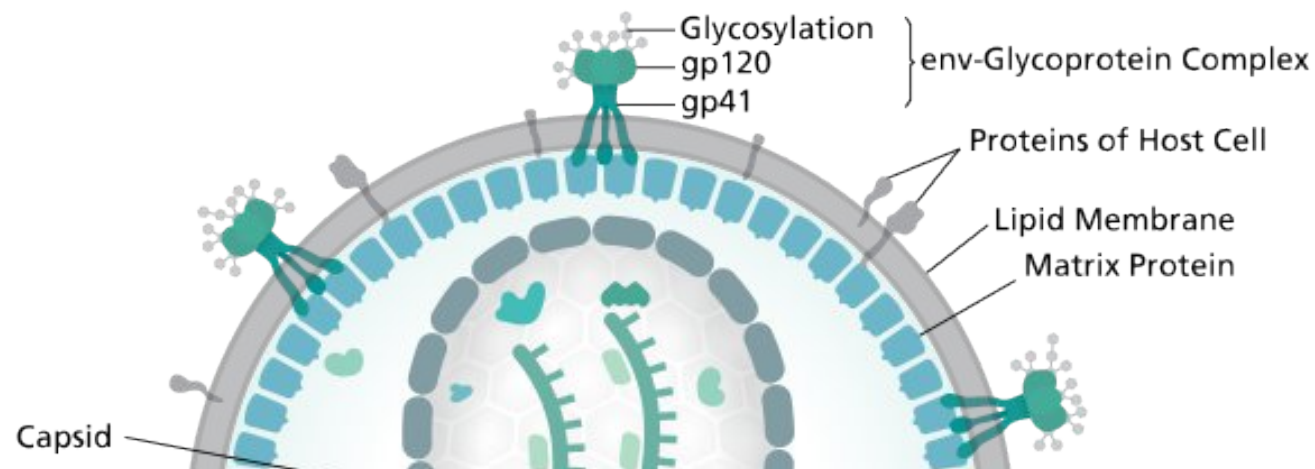
- **We kunnen HIV nog niet genezen of voorkomen**
- Uitgebreid onderzoek naar een vaccin, al 40 jaar lang!
 - Verschillende vaccins in verschillende fasen van onderzoek.
 - Veel onderzoek gericht op de *envelopeiwitten* van het virus.





HIV EN BEHANDELINGEN

- Een vaccin moet het lichaam vertellen het envelopeiwit onschadelijk te maken met antilichamen. Problemen hierbij zijn:
 - gp120 muteert zeer snel en kan daardoor het immuun systeem ontwijken.
 - gp120 is gemaskeerd door o.a. glycosylering.
 - Het virus is heel variabel. (Door ontbreken proofreading reverse transcriptase en laag GC percentage)





HIV EN BEHANDELINGEN

- In 2021 kwam Moderna met het bericht over de ontwikkeling van een mRNA vaccin tegen HIV.
 - Dit vaccin kan mogelijk het immuun systeem bepaalde antilichamen laten opwekken die een breed scala a HIV kan neutraliseren.
 - “De bnAb die de onderzoekers willen opwekken, kan veel verschillende hiv-stammen (varianten) onschadelijk maken.” Broadly neutralizing HIV-1 antibodies.
- Maar dit kan nog jaren duren voordat we daar zijn...

(VERGELIJKENDE) GENOOMANALYSE VAN H/SIV VIRUSSEN

- HIV: Human Immunodeficiency virus
 - Veel verschillende subtypen van HIV-1
 - Verschillende subtypen van HIV-2
- SIV: Simian Immunodeficiency virus
 - Elke soort aap een eigen vorm van SIV die ook daarnaar wordt vernoemd.
 - SIV in African Green Monkey SIV_{afg}.
 - SIV in Sooty mangaby SIV_{smm}.
 - Meesten van deze organismen krijgen geen AIDS.



African green monkey



Sooty mangaby

(VERGELIJKENDE) GENOOMANALYSE VAN H/SIV VIRUSSEN

- HIV en SIV zijn **verwant** aan elkaar.
- Waarschijnlijk heeft de mens HIV opgelopen van een SIV variant door het jagen en blootgesteld worden aan het bloed van apen.



African green monkey



Sooty mangabey

ONDERZOEKSVRAGEN VERGELIJKEND GENOOMANALYSE

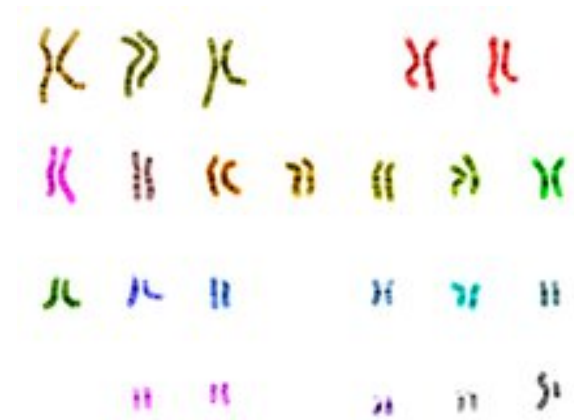
Variant	Virulentie	Besmettelijkheid	Prevalentie
HIV-1	Hoog	Hoog	Globaal
HIV-2	Lager	Laag	West Afrika
SIV_	-	-	-

Dit alles wekt natuurlijk vragen op!

- Waarom is HIV-1 hoog virulent? (Virulentie is mate van schade).
- Wat is de (fylogenetische) oorsprong van HIV-1?
- Wat maakt SIV anders dan HIV en lijkt het meer op HIV-1 of HIV-2?
- Hoe is HIV ziekmakend geworden?
- Hoe heeft het de mens kunnen infecteren?

GENOOMANALYSE

- Wat is een genoom?
 - “In modern molecular biology, the genome is the entirety of an organism's hereditary information. It is encoded either in DNA or, for many types of virus, in RNA.”
 - Betreft coderende (genen) en niet coderende onderdelen.
 - Inclusief mitochondriaal DNA (alle eukaryoten) en chloroplast DNA (in planten en algen).
- Waar bestaat het humane genoom uit?
 - 46 Chromosomen
 - Mitochondriaal DNA (16.569 bp)
 - ± 25000 genen
 - $\pm 3.200.000.000$ bp

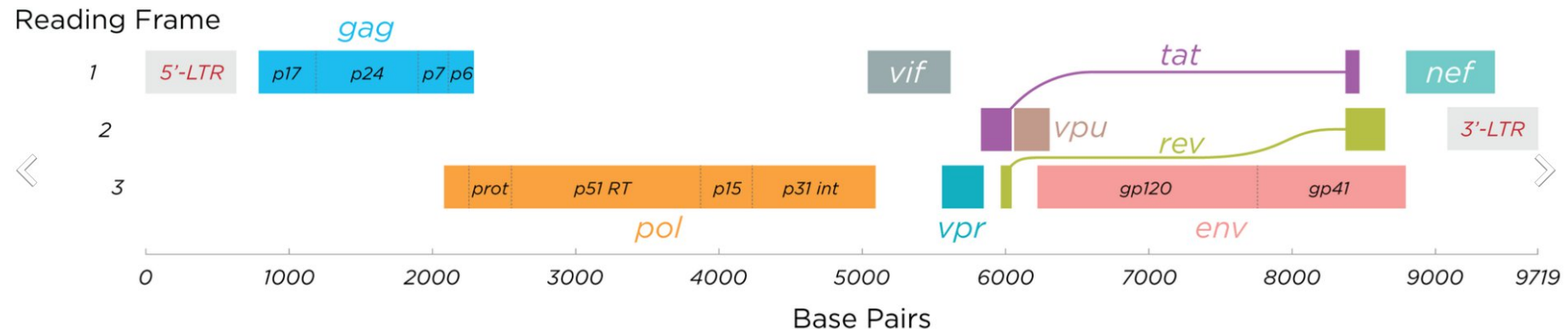
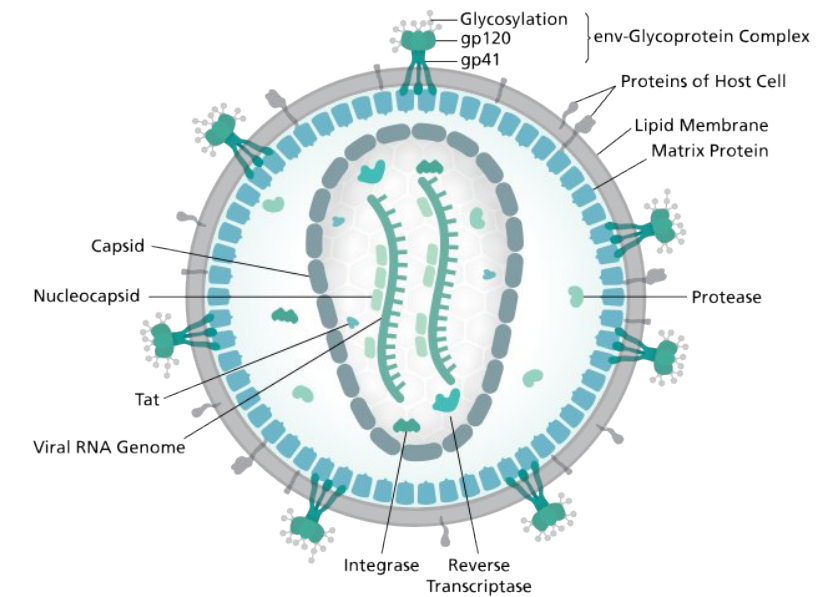


Karyotype van het menselijk genoom (excl. mitochondriaal).

HIV GENOOMANALYSE

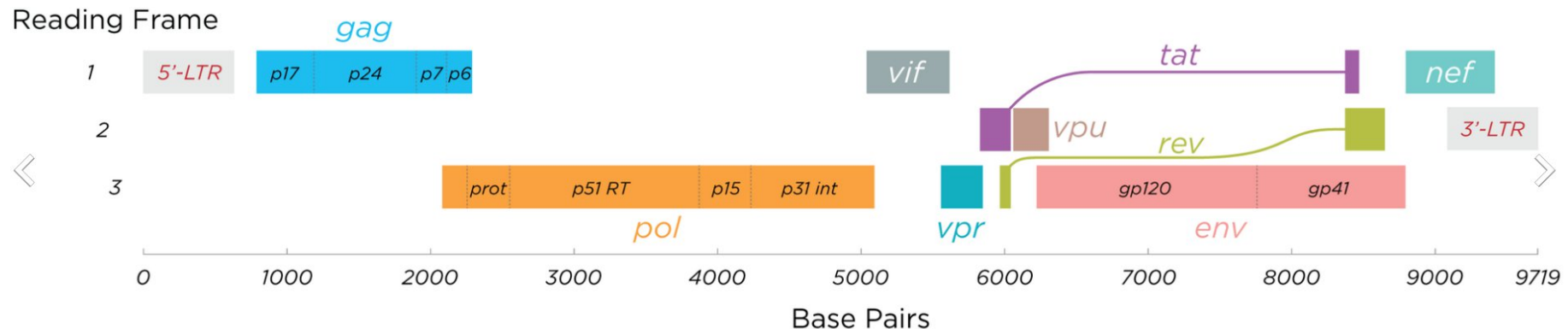
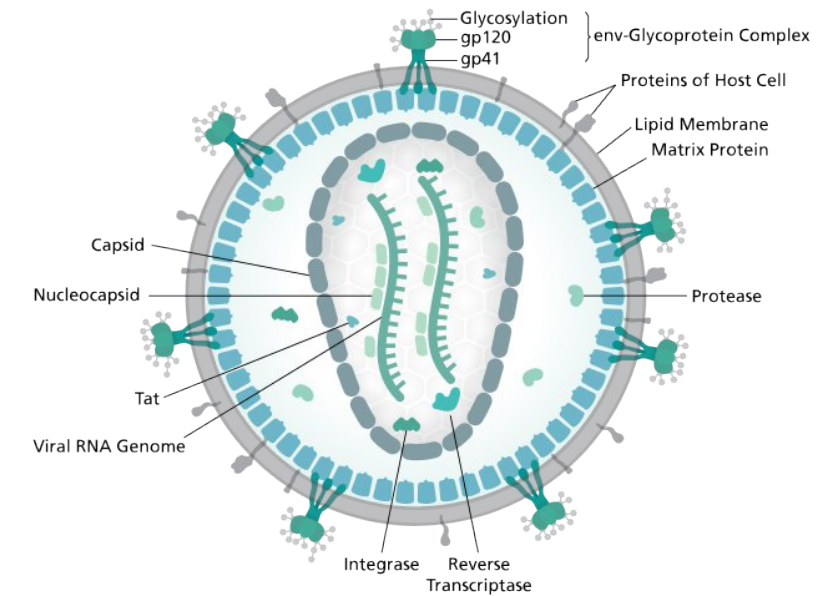
- Waar bestaat het HIV genoom uit?

Opdracht: vul het overzicht voor de eiwitten van HIV in.
Hint: Deze vind je ook in Teams



HIV GENOOMANALYSE

- Waar bestaat het HIV genoom uit?
 - 2 identieke RNA strengen
 - 9 genen (3 regulatie, 6 structureel)
 - 15 virale eiwitten
 - 9181 nt (HIV-1), 10359 nt (HIV-2)
 - Klein!



Naam gen	Codeert voor eiwit(ten)	Functie
gag	MA	Structuur eiwitten van de capside
	CA	
	SP1	
	NC	
	SP2	
	P6	
pol	RT (Reverse transcriptase)	Reverse transcriptase (ssRNA → dsDNA)
	RNase H	Verwijdert RNA streng van de DNA-RNA hybride
	IN (Integrase)	Integrase (Integreert HIV genoom in hostgenoom, maakt daarbij sticky-ends)
	PR (protease)	Protease (knipt de polypeptides in kleinere polypeptides.)
env	Gp120	Glycoproteine dat bindt aan de CD4 receptor
	Gp41	Glycoproteine dat helpt bij het fuseren met de Th-cel.

GENOOMANALYSE

- Wat je aan een genoom kunt analyseren:
 - Grootte
 - Coding / non-coding stukken
 - Expressie profielen van de genen
 - GC-content
 - Aan- en afwezigheden van genen (in vergelijking met andere organismen)
- Waarom je een genoom wilt analyseren
 - Hoe zit een organisme in elkaar?
 - Wat maakt een organisme anders dan alle andere organismen?
 - Hoe is de evolutie verlopen?
 - ...

VIRUSSEN – EEN GELEEND LEVEN

- Een virus is een besmettelijk deeltje die bestaan uit genen verpakt in eiwitmantel of soms een membraan achtige envelop. Het zijn geen cellen!
- Virussen zijn veel simpeler dan zelfs prokaryoten.
- Virussen kunnen zich niet zelfstandig reproduceren of hebben geen werkende metabolisme buiten een gastheer cel.

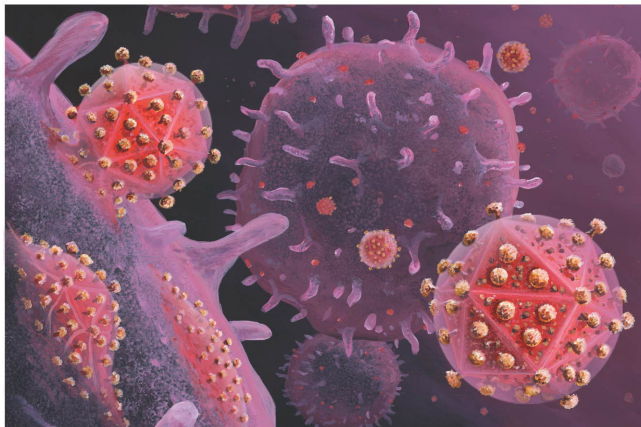
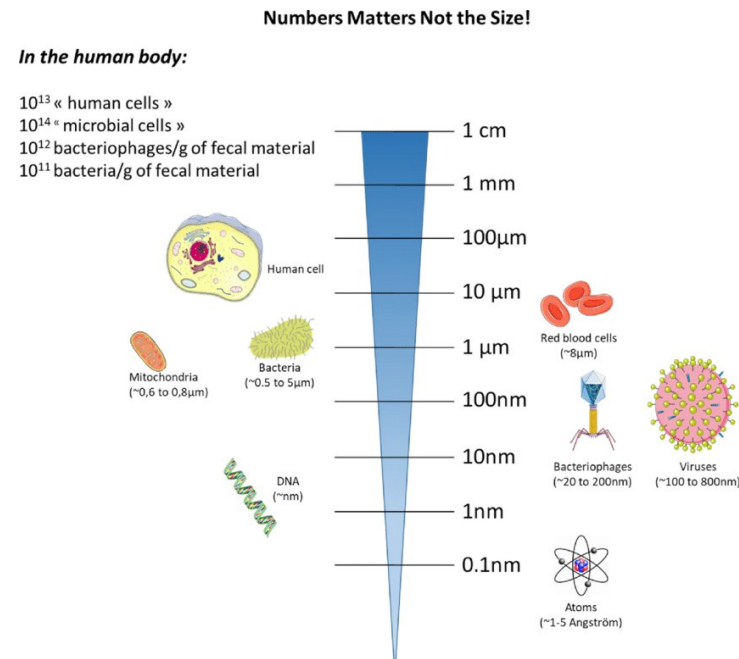


Fig. 19-1. Cambell Biology, 2015 Global edition

Knopvorming (budding) van HIV

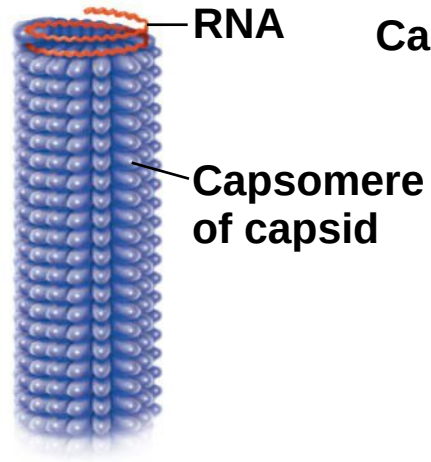


Relative sizes of major host cells and their components
versus those of... | Download Scientific Diagram
(researchgate.net)

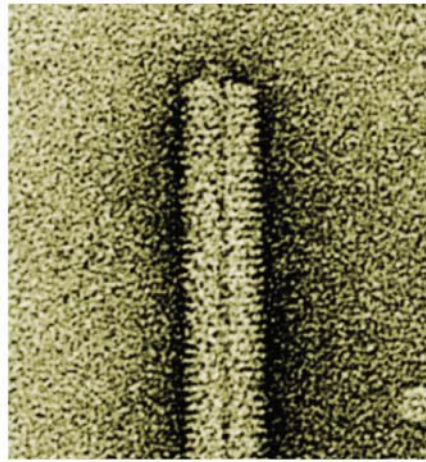
SOORTEN VIRUSSEN (EN HUN GENOMEN)

- Virale genomen kunnen:
 1. Dubbel (dsDNA) of enkel strengs DNA (ssDNA) hebben.
 2. Dubbel (dsRNA) of enkel strengs RNA (ssRNA) hebben.
- Een virus is dus een DNA of RNA virus.
- Virale genomen hebben enkel een lineaire of circulaire nucleotide streng.
- Virale genomen hebben tussen 3 tot 1000en genen.

**SPIRAALVORMIG
COMPLEX**

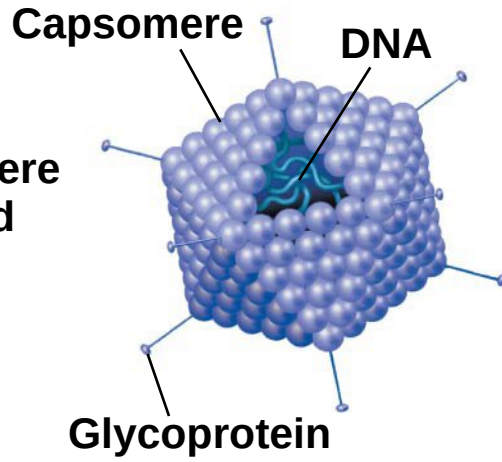


18 250 nm

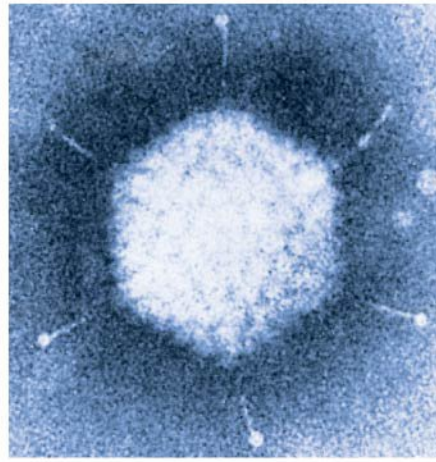


(a) Tobacco mosaic virus

VEELVLAKKIG

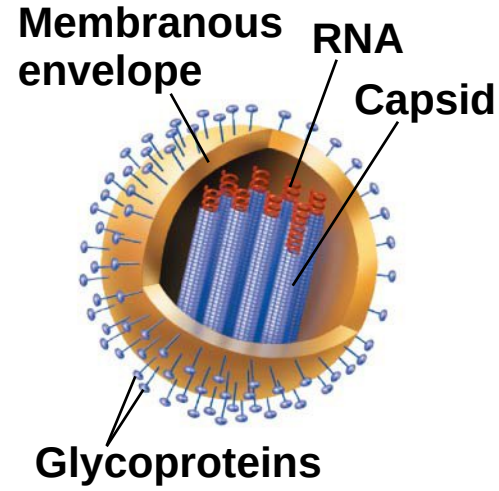


70–90 nm (diameter)

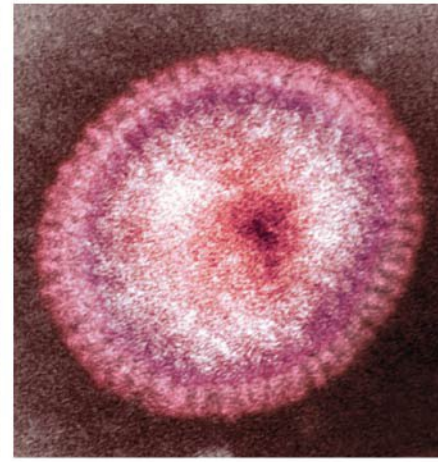


(b) Adenoviruses

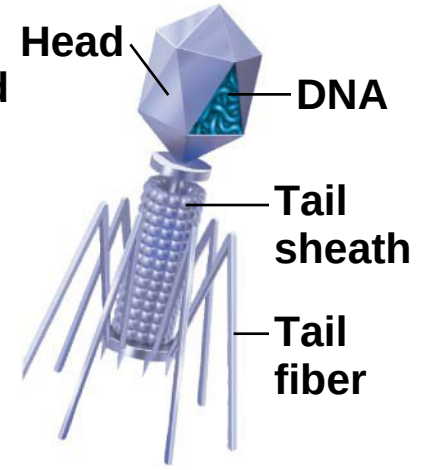
BOLVORMIG



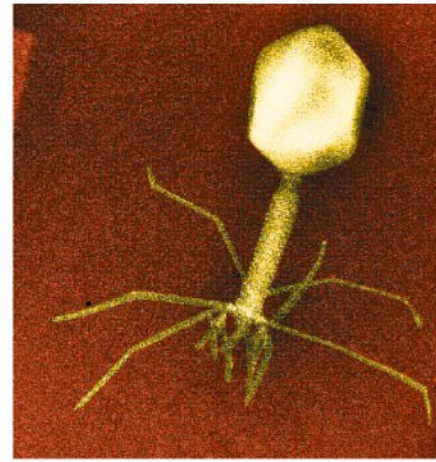
80–200 nm (diameter)



(c) Influenza viruses



80 225 nm



(d) Bacteriophage T4

Fig. 26.3, Cambell Biology, 2021 Global edition

Table 26.1 Classes of Animal Viruses

Class/Family	Envelope?	Examples That Cause Human Diseases
I. Double-Stranded DNA (dsDNA)		
Adenovirus (see Figure 19.3b)	No	Respiratory viruses
Papillomavirus	No	Warts, cervical cancer
Polyomavirus	No	Tumors
Herpesvirus	Yes	Herpes simplex I and II (cold sores, genital sores); varicella zoster (shingles, chicken pox); Epstein-Barr virus (mononucleosis, Burkitt's lymphoma)
Poxvirus	Yes	Smallpox virus; cowpox virus
II. Single-Stranded DNA (ssDNA)		
Parvovirus	No	B19 parvovirus (mild rash)
III. Double-Stranded RNA (dsRNA)		
Reovirus	No	Rotavirus (diarrhea); Colorado tick fever virus
IV. Single-Stranded RNA (ssRNA); Serves as mRNA		
Picornavirus	No	Rhinovirus (common cold); poliovirus; hepatitis A virus; other intestinal viruses
Coronavirus	Yes	Severe acute respiratory syndrome (SARS); Middle East respiratory syndrome (MERS)
Flavivirus	Yes	Zika virus (see Figure 19.10c); yellow fever virus; dengue virus; West Nile virus; hepatitis C virus
Togavirus	Yes	Chikungunya virus (see Figure 19.10b); rubella virus; equine encephalitis viruses
V. ssRNA; Serves as Template for mRNA Synthesis		
Filovirus	Yes	Ebola virus (hemorrhagic fever; see Figure 19.10a)
Orthomyxovirus	Yes	Influenza virus (see Figure 19.3c)
Paramyxovirus	Yes	Measles virus; mumps virus
Rhabdovirus	Yes	Rabies virus
VI. ssRNA; Serves as Template for DNA Synthesis		
Retrovirus	Yes	Human immunodeficiency virus (HIV/AIDS; see Figure 19.9); human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) (leukemia)

Table 21.6, Campbell Biology, 12th edition.

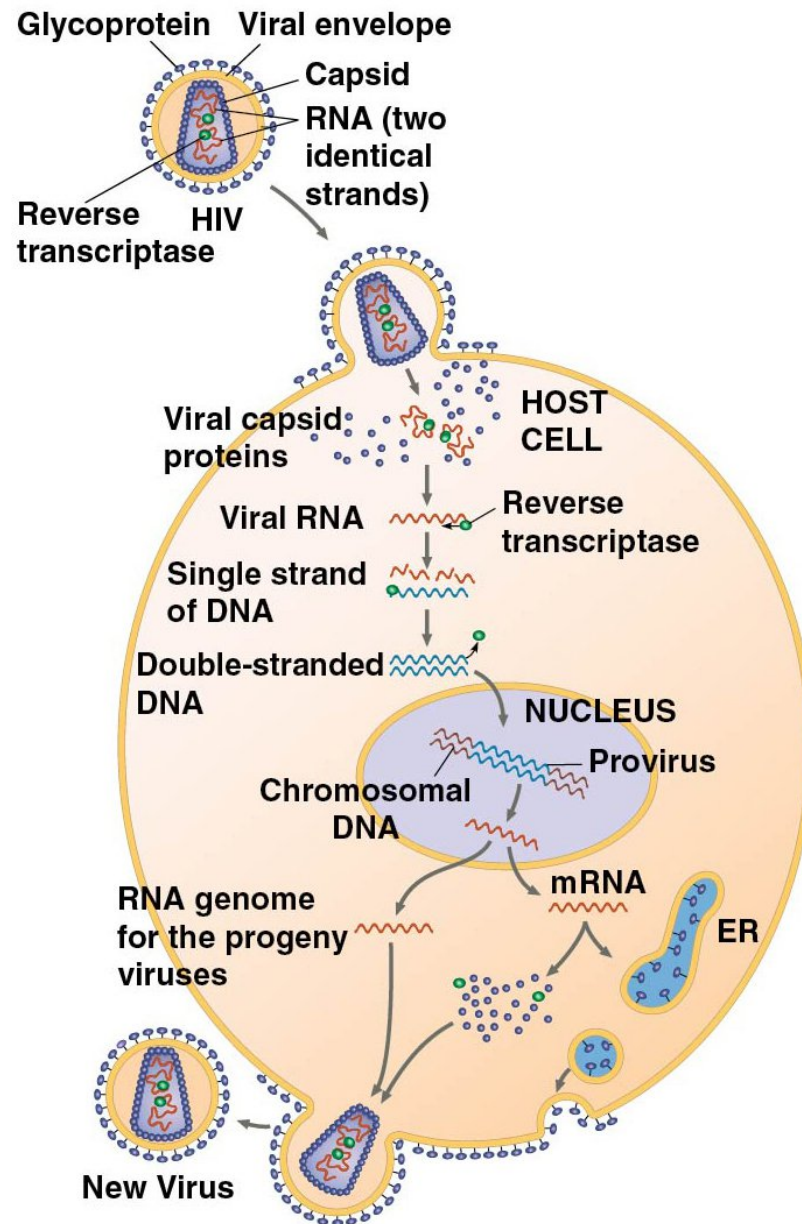


Fig. 26.9, Cambell Biology, 2021 Global edition

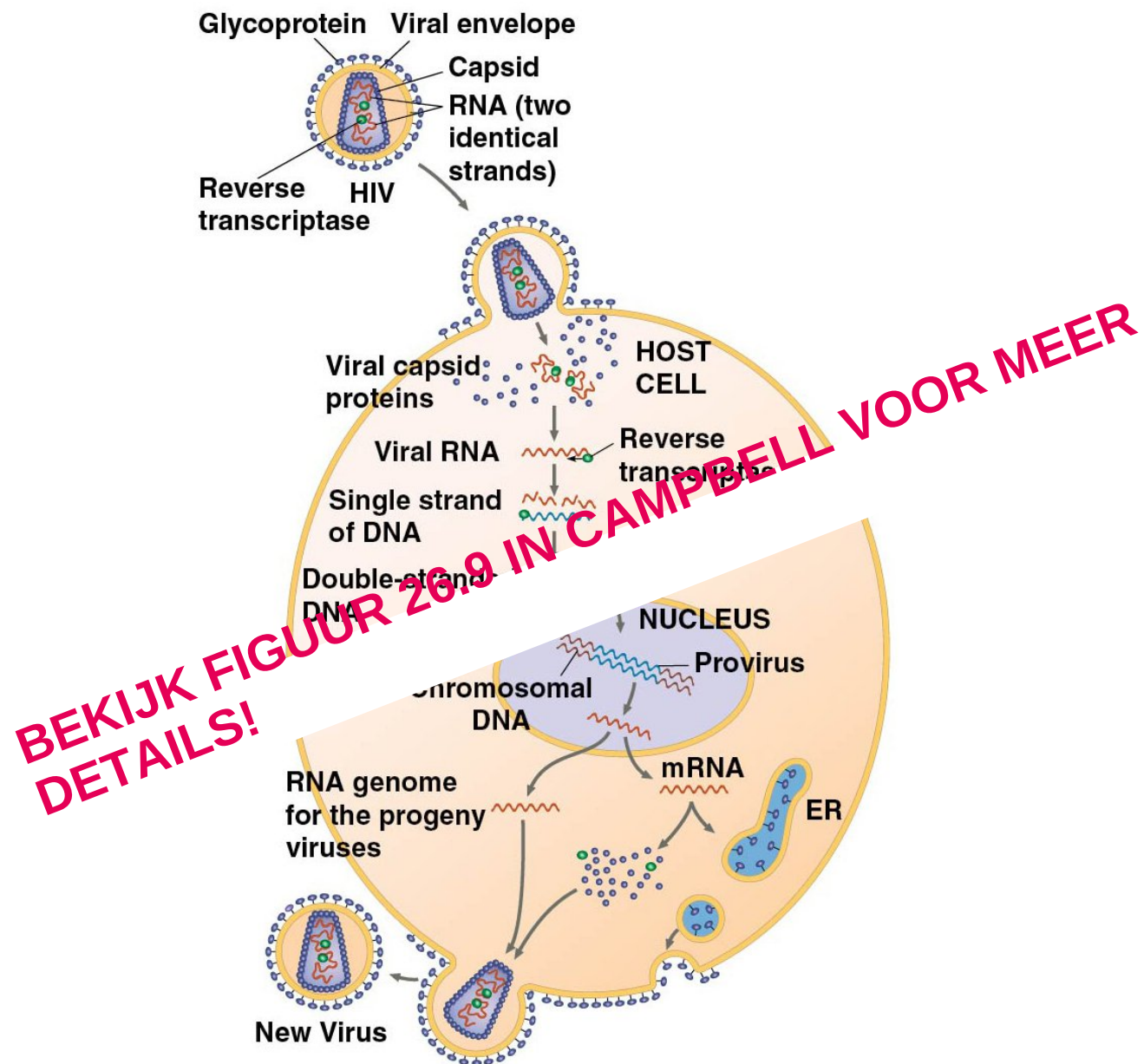


Fig. 26.9, Cambell Biology, 2021 Global edition

HET VERSCHIL TUSSEN EXO-/ENDOCYTOSIS AND BUDDING/FUSION

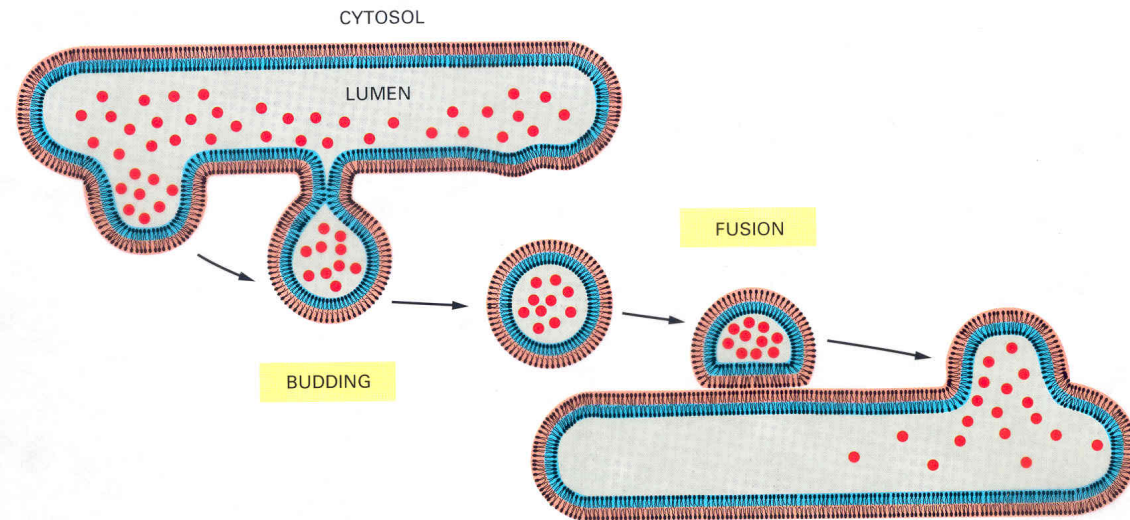
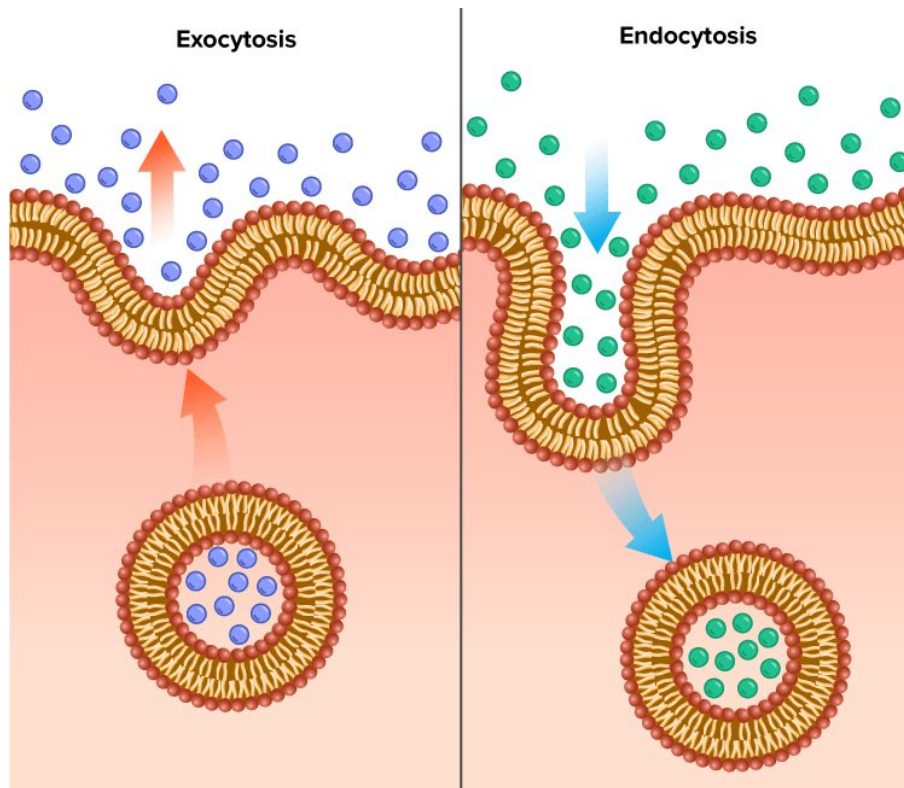
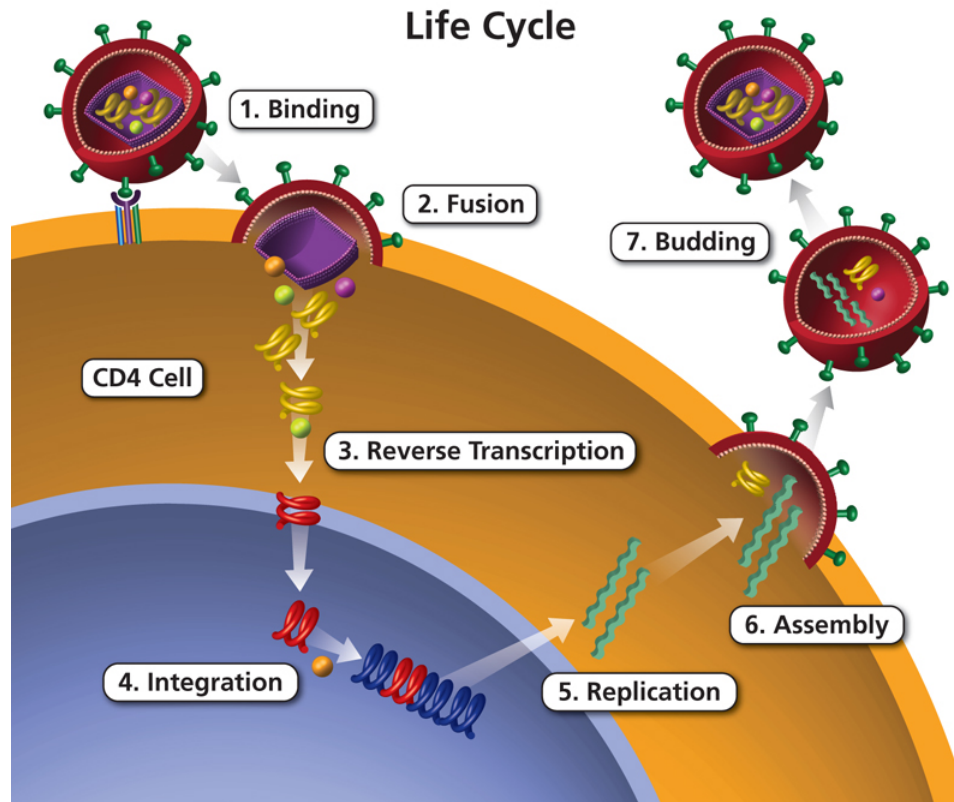


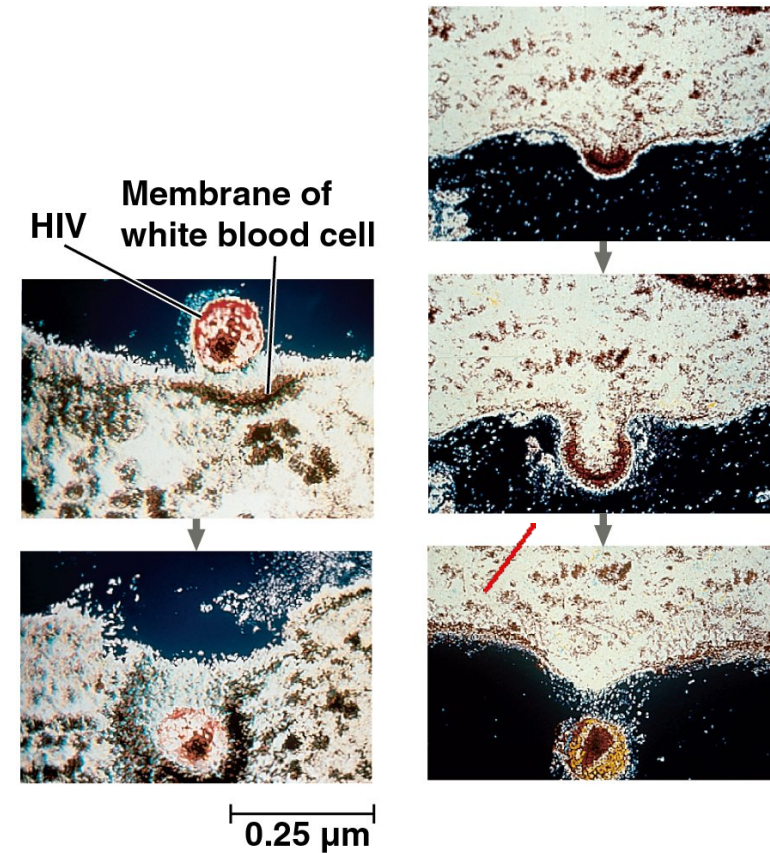
Figure 13.2 Vesicular transport
Alberts et al.: *Molecular Biology of the Cell*, Third Edition
© 1994 Garland Publishing, Inc.

Exocytosis and Endocytosis (Read) | Biology | CK-12 Foundation (ck12.org)

HIV FUSION EN BUDDING



Life Cycle | NIH (hiv.gov)



HIV entering a cell

New HIV leaving a cell

© 2021 Pearson Education, Inc.

Fig. 26.9, Cambell Biology, 2021 Global edition

WAAR IS BIO-INFORMATICA IN DIT VERHAAL?

- Met bioinformatische analyses kunnen we informatie uit de genomen/sequenties van virussen halen.
- We kunnen deze informatie vergelijken.
- We kunnen de sequenties vergelijken.
- Zo kunnen we dus ook (de genomen) van HIV-1, HIV-2 en SIV vergelijken.

OVERZICHT ONDERZOEKSPLAN 3B

Week	Onderwerp	Activiteiten	M&M
1	Oriëntatie op onderwerp Sequenties verzamelen	Inlezen Stap 1	NCBI database
2	Genen en GC percentage	Stap 2	Python script
3	Codon gebruik	Stap 3	Python script
4	Eiwit karakterisering / aminozuren	Stap 4	Python script
5	Kenmerken oppervlakte proteïnen	Stap 5	Python script
6	Fylogenetisch onderzoek	Stap 6	Bioinf tools
7	Onderzoeksverslag		

FILMPJES OVER HIV

HIV Replicatie: <http://www.youtube.com/watch?v=PdzFvxfDGbg>

HIV levenscyclus: <https://www.youtube.com/watch?v=odRyv7V8LAE>

FILMPJES OVER VIRUSSEN

- <http://www.youtube.com/watch?v=Rpj0emEGShQ/> (influenza)
- <http://www.sumanasinc.com/webcontent/animations/microbiology.html>
- HIV resistentie: <http://www.youtube.com/watch?v=4zFjh1LrdV4>
- Boek over retroviruses: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK19376/>

GENOMEN EN SEQUENTIES VINDEN

- Opdracht: Zoek de sequenties van HIV-1 en 2 en van enkele varianten van SIV
- Viral genomes @ NCBI:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/GenomesHome.cgi?taxid=10239>
- Retroviruses @ NCBI:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/retroviruses/>
- LANL HIV databases:
<http://www.hiv.lanl.gov/content/index>
- Taxonomy browser:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=11676>

WAT MOET JE OPSLAAN

- Compleet genoom
- DNA CDS sequenties
- Proteïne sequenties
- FASTA files
- HIV soort, genoom/DNA/eiwit, accessiecode
- Schrijf op van waar tot waar genen liggen en waar de CDS zich bevindt.

SAMENVATTING WEEK 1

- Er zijn verschillende soorten virussen.
 - HIV is een retrovirus.
- HIV veroorzaakt AIDS.
- HIV fuseert met een witte bloedcel waardoor HIV binnen dringt.
- Met (vergelijkende) genoom analyse kun je genomen vergelijken, zo ook dat van HIV, HIV (sub)typen en SIV.