



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
UNIVERSITY OF CRETE

Εικονική κλωνοποίηση γονιδίου και δημιουργία βιβλιοθηκών μεταλλαγμάτων

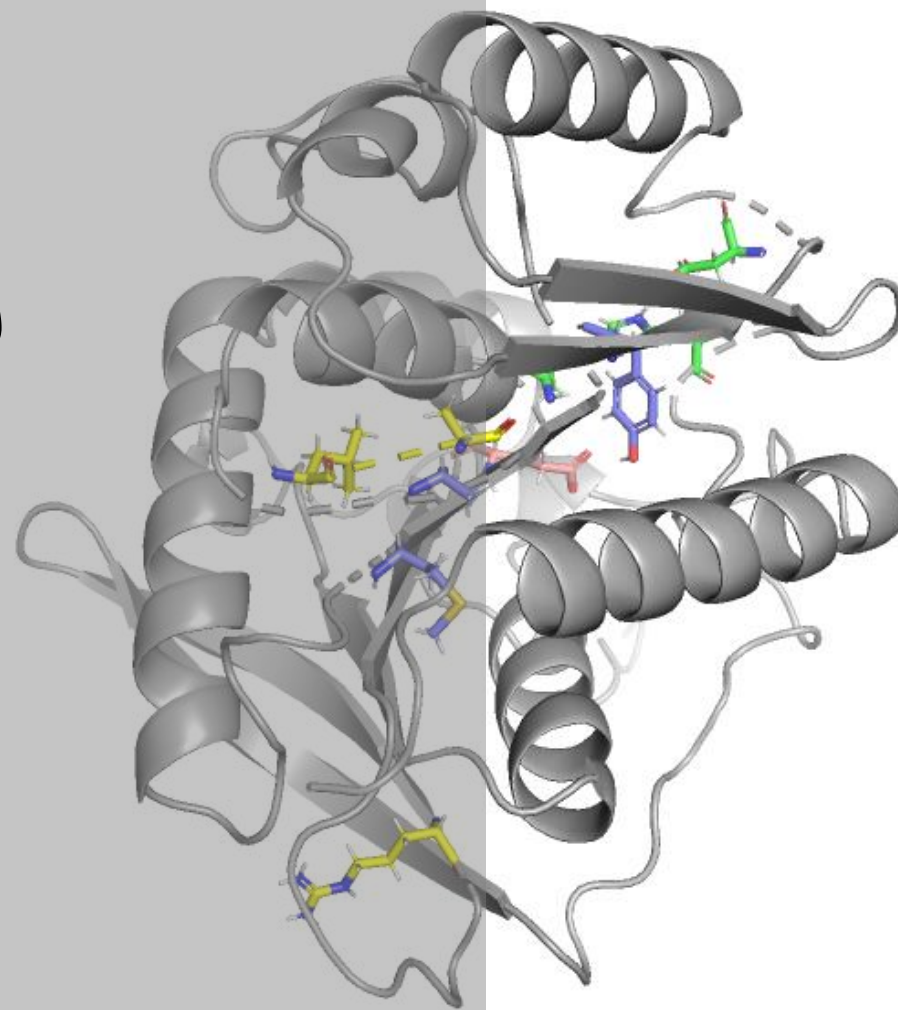
Σταυρουλάκης Ματθαίος (1307)

Τάκη Δήμητρα (1306)

Σεμινάριο 2 - Πρωτεϊνική Μηχανική

Τμήμα Χημείας - Πανεπιστήμιο Κρήτης

Υπεύθυνος Καθηγητής: Παυλίδης Ιωάννης





Υδρολάσες



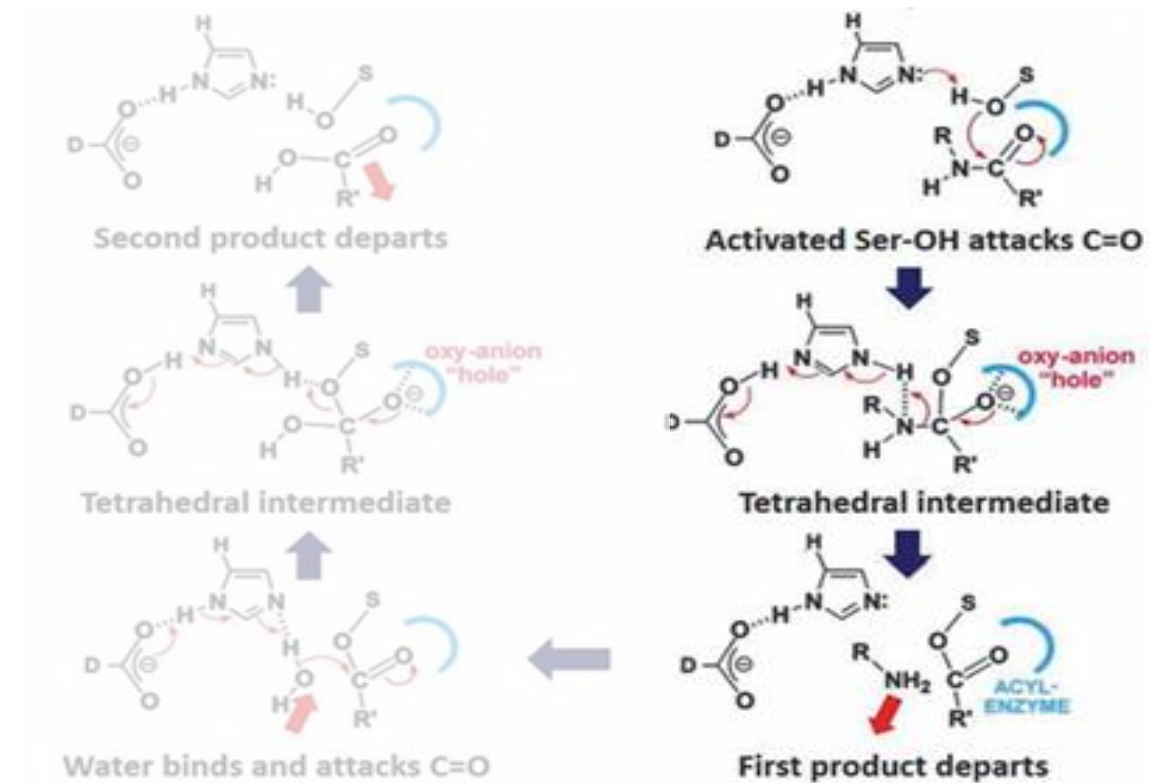
Μηχανισμός

Καταλυτικά αμινοξέα

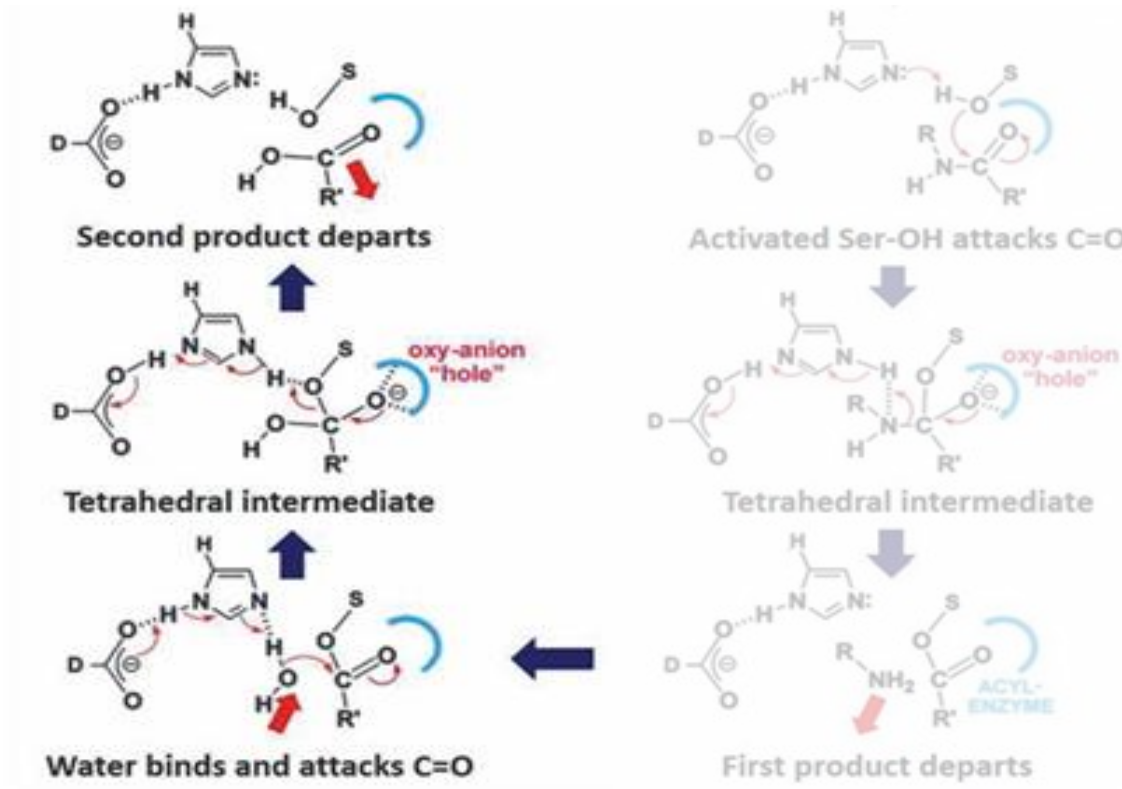
Asp (D) – His (H) – Ser (S)



Στάδιο 1^ο



Στάδιο 2^ο



α/β υδρολάσες

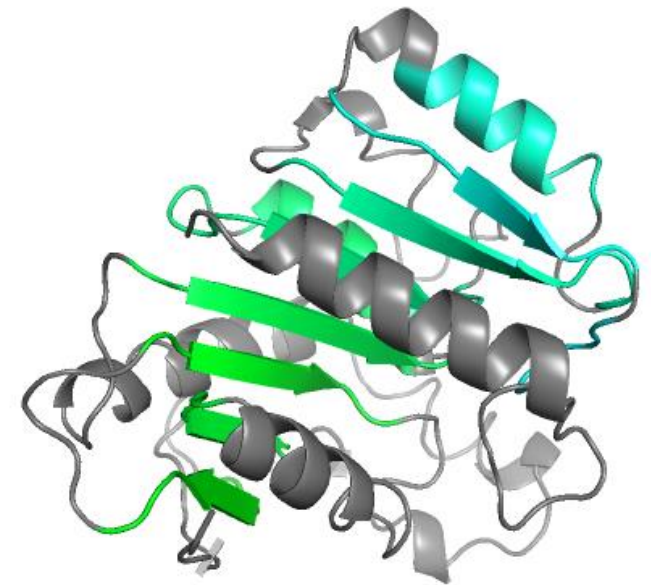
Βασική δομή: 8 β -πτυχώσεις που περιβάλλονται από α -έλικες

Καταλυτική τριάδα: πυρηνόφιλο , ιστιδίνη, όξινο αμινοξύ

Σε αυτήν την υπεροικογένεια ακοίκει και πρωτεΐνη που μελετήθηκε

Υποοικογένεια: 3F67A (Putative Dienelactone Hydrolase)

Το πυρηνόφιλο σε αυτή την υποοικογένεια είναι συνήθως C





Επιλογή Αλληλουχίας - Q9L6M9 (DLHH_SALTY)

Αμινοξική Αλληλουχία

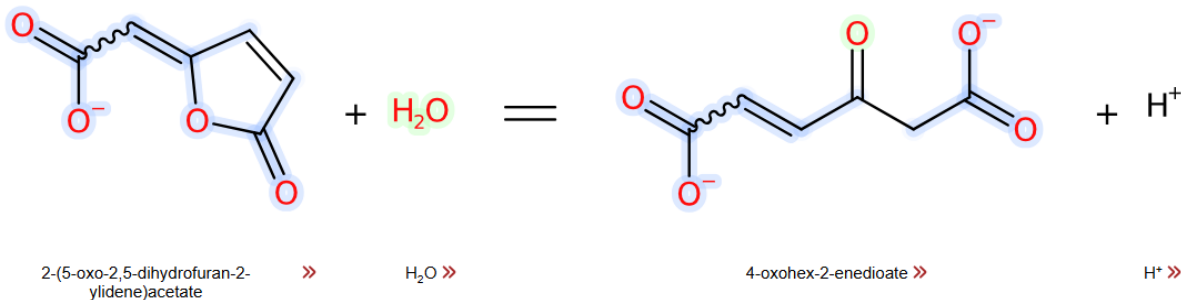
MTTTHPSGFAPAASPLAPTMihtPDGAI SAGITSI PSQDDMPAYYARPKASDGALPVVIVVQEIFGVHEHIRDICRR LALEGYLAIAPELYFREGDPNDFADIPTLLSGLVAKVPD
SQVLADLDHVASWASRNNGDAHRLMITGFCWGGRITWLYAAHN PQLKAAVAWYGKLVGDTSLNSPKHPVDIATDLNAPVLGLYGGQDTSIPQESVETMRQALRAANAKAEIVVYPDA
GHAFNADYRPGYHEASAKDGWQRMLEWFAQYGGKKG

Αλληλουχία γονιδίου

ATGACAACGACACATCCATCCGGCTTTGCACCTGCAGCCTCCCCACTTGCCCC TACGATGATT CATA CGCCTGATGGGGCCATTAGCGCGGGGATAACGTCGATTCCCTCTCAGGGCG
ACGATATGCCCGCCTATTACGCCAGACCAAAAGCGAGCGACGGCGCGCTGCCGGTGGTCATTGTGGTACAGGAAATTTTGGCGTACATGAACACATTCGCGATATTTGCCGACGACT
GGCGCTGGAAGGCTATCTCGCTATCGCGCCGGAGCTCTATTTCCGCGAAGGCGACCCCAATGATTTCCGCCGATATACCCACATTATTGAGCGGGCTGGTGGCTAAAGTACCCGATTCTG
CAAGTCCTTGCCGACCTGGATCACGTCGCCAGTTGGGCTTCGCGCAACGGCGGGGATGCGCATCGGCTGATGATCACCGGTTTTTGTGGGGAGGCCGGATTACCTGGCTGTACGCCG
CGCACAAACCACAGTTAAAAGCGGCGGTAGCATGGTACGGCAAGCTGGTGGGCGACACGTCACCTCAATTCGCCGAAGCATCCCGTTGATATCGCCACCGATCTTAACGCGCCGGTACT
GGGTTTATACGGCGGGCAGGATACCAGTATTCCACAGGAGAGCGTGGAACCATGCGTCAGGCCTACGCGCCGCTAATGCGAAGGCGGAAATCGTGGTCTATCCCGATGCAGGGCAC
GCGTTTAATGCCGATTATCGTCCGGGCTACCACGAAGCCTCAGCGAAAGACGGCTGGCAAAGAATGCTGGAATGGTTCGCGCAGTACGGTGGGAAAAAAGGCTAA

Πληροφορίες Αλληλουχίας

- ❖ *Salmonella enterica* subsp. enterica serovar Typhimurium str. LT2
- ❖ Γονίδιο ysgA
- ❖ **Υποοικογένεια** 3F67A
- ❖ **Core identity** 89%
- ❖ **Αριθμός αμινοξέων** 270
- ❖ **Primary accession** Q9L6M9 (DLHH_SALTY)
- ❖ Putative carboxymethylenebutenolidase (EC:3.1.1.45)
- ❖ **Αντίδραση:**



Protein Parameters

Αριθμός αμινοξέων: 279

Θεωρητικό pI: 5.93

Μοριακό Βάρος: 30183.99

Μοριακός Συντ. Απορρόφησης 49515 / 49390

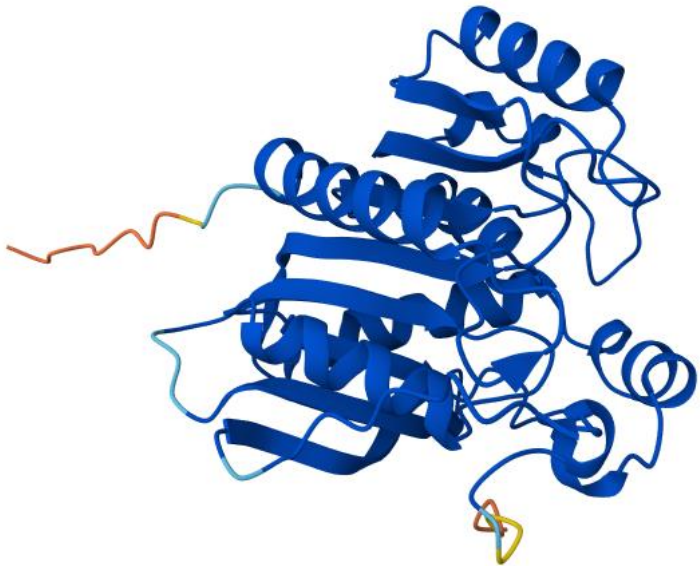
Δείκτης αστάθειας: 31.58 (stable)



Μοντέλα ομολογίας

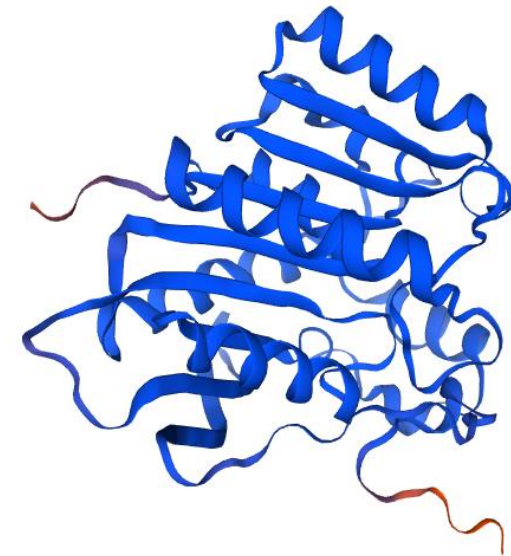
Μοντέλο AlphaFold

- Δεν χρησιμοποιήθηκε κάποιο template για τα αποτελέσματα.
- pTM = 0.92
- Το μοντέλο χρησιμοποίησε όλα τα αμινοξέα.



Μοντέλο SWISS-MODEL

- Template Dienelactone hydrolase family (υποοικογένειας)
- QSQE= 0.92, Seq Similarity= 0.62.
- Μοντελοποιήθηκαν τα αμινοξέα 3 έως 271
Coverage=0.96

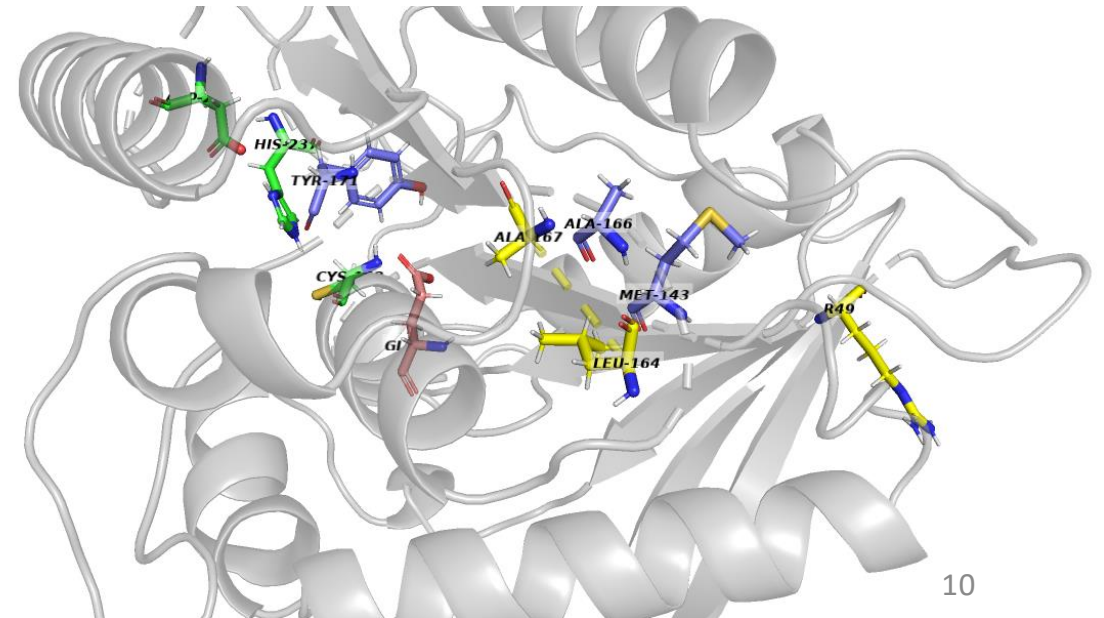
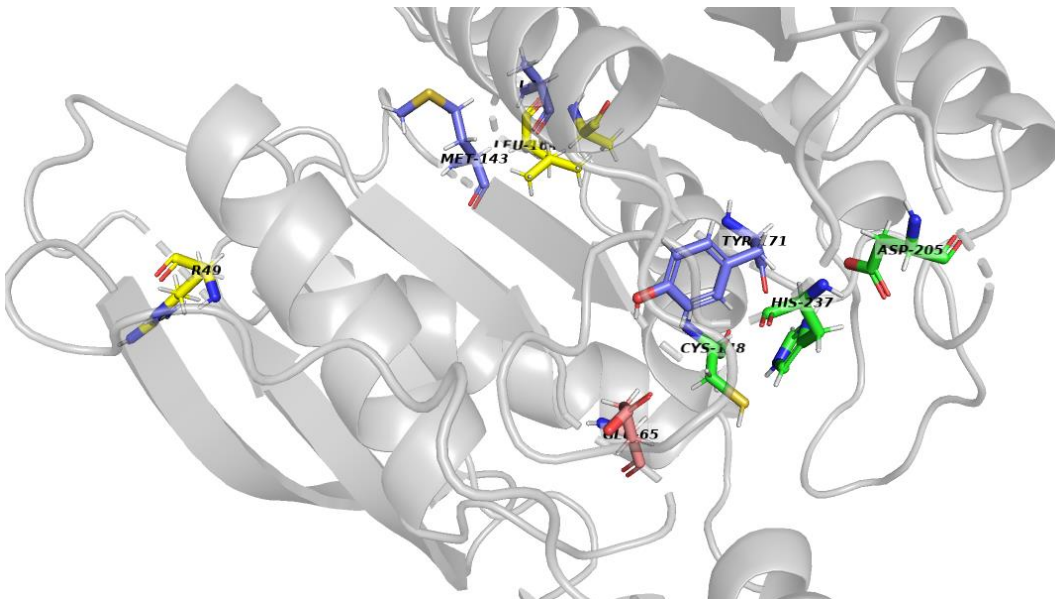


Επιλογή μοντέλου

Ανάλυση με Mol Probity

- ❖ Πανομοιότυπα Διαγράμματα Ramachandran.
- ❖ Αναστροφή αμινοξέων μόνο για το μοντέλο του AlphaFold στα κατάλοιπα 64Gln και 70His.
- ❖ Ramachandran plot outliers
 - 275His και 277His (AlphaFold)
 - **65Glu** (SWISS-MODEL)
- ❖ Επιλέχθηκε το μοντέλο του SWISS-MODEL, καθώς αυτό βασίστηκε πάνω στο template της υποοικογένειας

148C/205D/237H
43M-166A / 171Y-205D





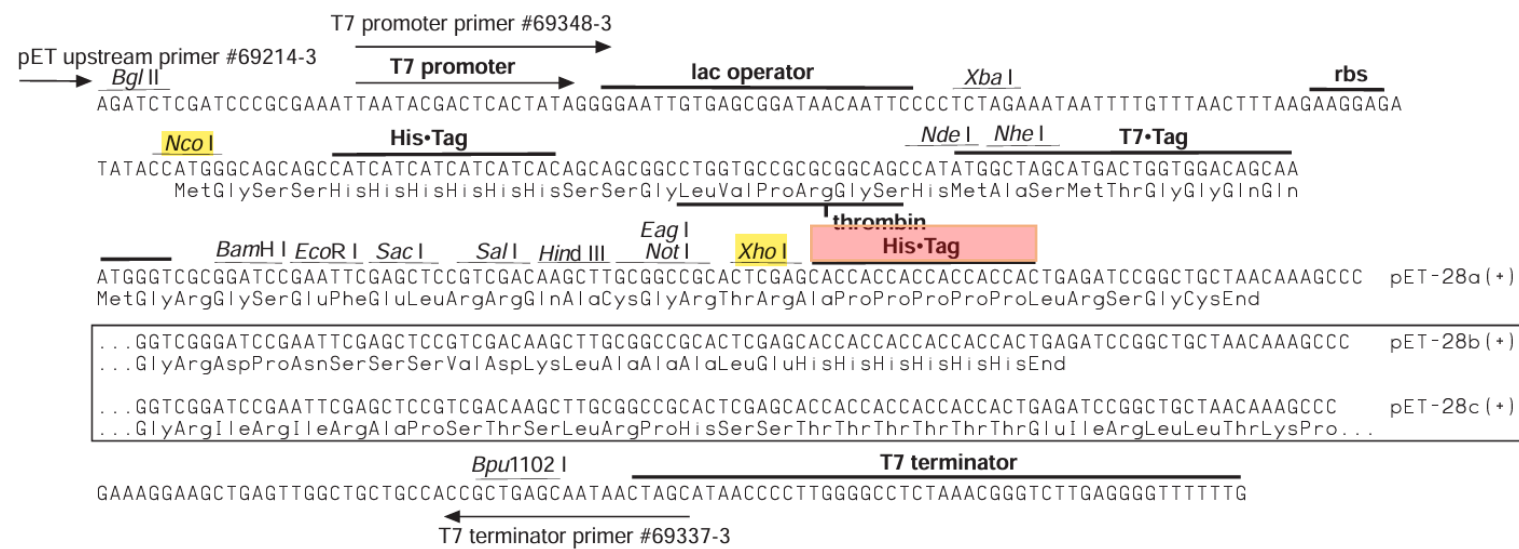
Εικονική Κλωνοποίηση

- C-τερματικό His-Tag
- Αφαίρεση κωδικονίου έναρξης
- Προσθήκη γλυκίνης
- Αφαίρεση κωδικονίου λήξης

NcoI	XhoI
5'...C↓C A T G G...3' 3'...G G T A C↑C...5'	5'... C↓TCGAG ...3' 3'... GAGCT↑C ...5'

Αλληλουχία γονιδίου

5' ATGACAACGACACAT..... . . GGGAAAAAAGGCTAA 3'



Κωδικόνια

Θρεονίνη (Thr)	Γλυκίνη (Gly)
ACU	GGU
ACC	GGC
ACA	GGA
ACG	GGG

pET-28a-c(+) cloning/expression region



Εικονική Κλωνοποίηση

Βελτιστοποιημένη αλληλουχία για έκφραση σε *Escherichia coli*:

*(με κόκκινο απεικονίζονται οι προσθήκες)

```
5' CCATGGGTACCACCACCCATCCGAGCGGTTTTGCCCCGGCGGCGAGCCCGCTGGCGCCGACCATGATTCATACCCCGGATGGCGCGATTAGCGCGGG  
CATTACCAGCATTCGGTCGCAGGGCGATGATATGCCGGCCTACTACGCCCCGCCGAAAGCCAGCGATGGCGCCCTGCCGGTGGTAATTGTGGTGCAGGA  
AATCTTTGGCGTTCATGAACATATCCGTGATATTTGCCGTCGCCTGGCACTGGAAGGTTATCTGGCGATTGCCCCGGAAGTGTACTTTTCGTGAAGGTGA  
TCCGAACGATTTTGGCGGATATTCCGACCCTGCTGAGCGGCCTGGTGGCGAAAGTTCCGGACAGCCAGGTGCTGGCCGATCTGGATCATGTGGCGTCGTG  
GGCGTCGCGTAACGGCGGTGATGCCCATCGCCTGATGATTACCGGTTTTTGCTGGGGCGGCCGTATTACCTGGCTGTATGCGGCCCATTAATCCGCAGCT  
GAAAGCGGCGGTTCGCGTGGTATGGCAAACCTGGTGGGCGATACCTCCCTGAACAGCCCGAAACATCCGGTGGATATTGCGACGGATCTGAATGCGCCGGT  
GCTGGGCCTGTACGGCGGCCAGGATACCTCTATTCCGCAGGAAAGCGTGGAACCATGCGTCAGGCGCTGCGCGCCGCGAATGCGAAAGCGGAAATTGT  
CGTGTATCCGGATGCGGGCCATGCGTTTAACGCCGATTACCGCCCGGGCTACCACGAAGCGAGCGCGAAAGATGGCTGGCAGCGTATGCTGGAATGGTT  
TGCCCAGTATGGCGGCCAAAAAAGGTCTCGAG 3'
```

Το γονίδιο δεν περιείχε κάποια θέση αναγνώρισης που να άλλαξε σε κάτι μη βέλτιστο.



Εκκινητές Κλωνοποίηση

Οι υποκινητές που σχεδιάστηκαν είναι οι εξής:

· 5' AAT TCC ATG GGT ACC ACC ACC 3'
· 5' TCC TCT CGA GAC CTT TTT TGC 3'

Με θερμοκρασίες τήξης 52°C και 54°C οι οποίοι δεν έχουν σημαντική υβριδοποίηση μεταξύ τους ή με τον εαυτό τους.

NEBuffer r3.1 (1X)	rCutSmart Buffer (1X)
100 mM NaCl 50 mM Tris-HCl 10 mM MgCl2 100 µg/ml Recombinant Albumin pH 7.9	50 mM Potassium Acetate 20 mM Tris-acetate 10 mM Magnesium Acetate 100 µg/ml Recombinant Albumin pH 7.9

NcoI	XhoI
80°C	65°C

5' AAT TCC ATG GGT ACC ACC ACC 3'
3' GG TAC CCA TGG TGG TGG GTAGGCTCGCCAAA.....5'
5' CCATGGGTACCACCACCCATCCGAGCGGTTTTTGCCCCGGCGGGCGAGCCCGCTGGCGCCGACCATGATTCATACCCCGGATGGCGCGATTAGCGCGGGC
ATTACCAGCATTCCTGTCGCAGGGCGATGATATGCCGGCCTACTACGCCCCGCCGAAAGCCAGCGATGGCGCCCTGCCGGTGGTAATTGTGGTGCAGGAAA
TCTTTGGCGTTTCATGAACATATCCGTGATATTTGCCGTCGCCTGGCACTGGAAGGTTATCTGGCGATTGCCCGGAACGTACTTTTCGTGAAGGTGATCC
GAACGATTTTGC GGATATTCCGACCCTGCTGAGCGGCCTGGTGGCGAAAGTTCCGGACAGCCAGGTGCTGGCCGATCTGGATCATGTGGCGTCGTGGGCG
TCGCGTAACGGCGGTGATGCCCATCGCCTGATGATTACCGGTTTTTGCTGGGGCGGCCGTATTACCTGGCTGTATGCGGCCCATAATCCGCAGCTGAAAG
CGGCGGTTCGCGTGGTATGGCAAACCTGGTGGGCGATACCTCCCTGAACAGCCCGAAACATCCGGTGGATATTGCGACGGATCTGAATGCGCCGGTGCTGGG
CCTGTACGGCGGCCAGGATACCTCTATTCCGCAGGAAAGCGTGGAACCATGCGTCAGGCGCTGCGCGCCGCGAATGCGAAAGCGGAAATTGTCGTGTAT
CCGGATGCGGGCCATGCGTTTAACGCCGATTACCGCCCGGGCTACCACGAAGCGAGCGCGAAAGATGGCTGGCAGCGTATGCTGGAATGGTTTGCCCACT
ATGGCG GCA AAA AAG GTC TCG AG 3'
3' CGT TTT TTC CAG AGC TCT CCT 5'

<u>10</u>	<u>20</u>	<u>30</u>	<u>40</u>	<u>50</u>	<u>60</u>
M G TTTHPSGF	APAASPLAPT	MIHTPDGAIS	AGITSIPSQG	DDMPAYYARP	KASDGALPVV
<u>70</u>	<u>80</u>	<u>90</u>	<u>100</u>	<u>110</u>	<u>120</u>
IVVQEIFGVH	EHIRDICRRL	ALEGYLAIAP	ELYFREGDPN	DFADIPTLLS	GLVAKVPDSQ
<u>130</u>	<u>140</u>	<u>150</u>	<u>160</u>	<u>170</u>	<u>180</u>
VLADLDHVAS	WASRNGGDAH	RLMITGFCWG	GRITWLYAAH	NPQLKAAVAW	YGKLVGDTSL
<u>190</u>	<u>200</u>	<u>210</u>	<u>220</u>	<u>230</u>	<u>240</u>
NSPKHPVDIA	TDLNAPVLGL	YGGQDTSIPQ	ESVETMRQAL	RAANAKAEIV	VYPDAGHAFN
<u>250</u>	<u>260</u>	<u>270</u>			
ADYRPGYHEA	SAKDGWQRLM	EWFAQYGGKK	G LE HHHHHHH		



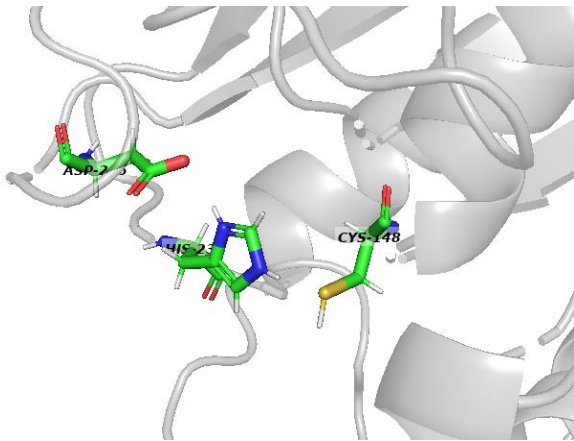


Ανάλυση 3DM

Καταλυτικά αμινοξέα

Active site	147
Sequence: C	
Active site	204
Sequence: D	
Active site	236
Sequence: H	

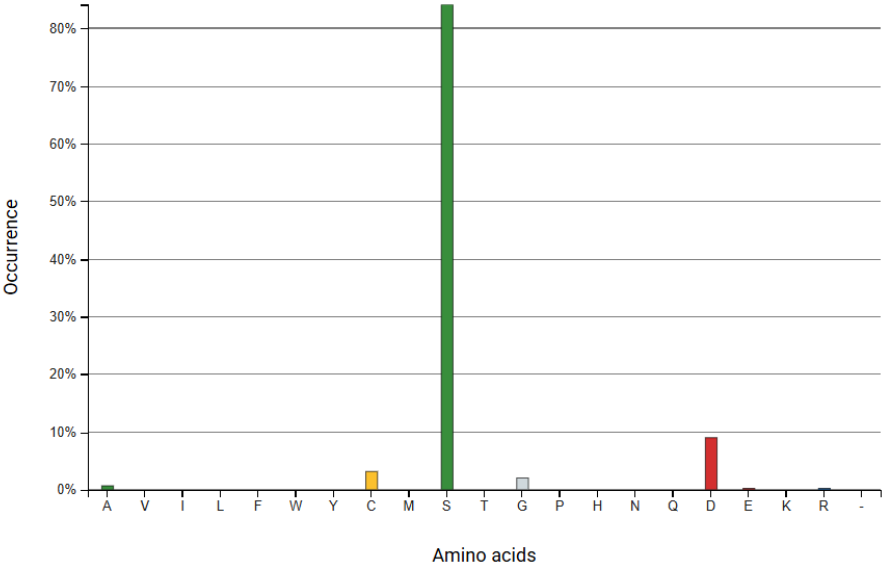
	0 0	0 0	0 0
Seq. Numb	1 1	2 2	2 2
	4 4	0 0	3 3
	7 8	5 6	4 7
Structure	EC W	DI S	AGHA
Sequence	0	0	0 0
	0	0	0 0
3DM	3	6	8 8
	2	5	5 8





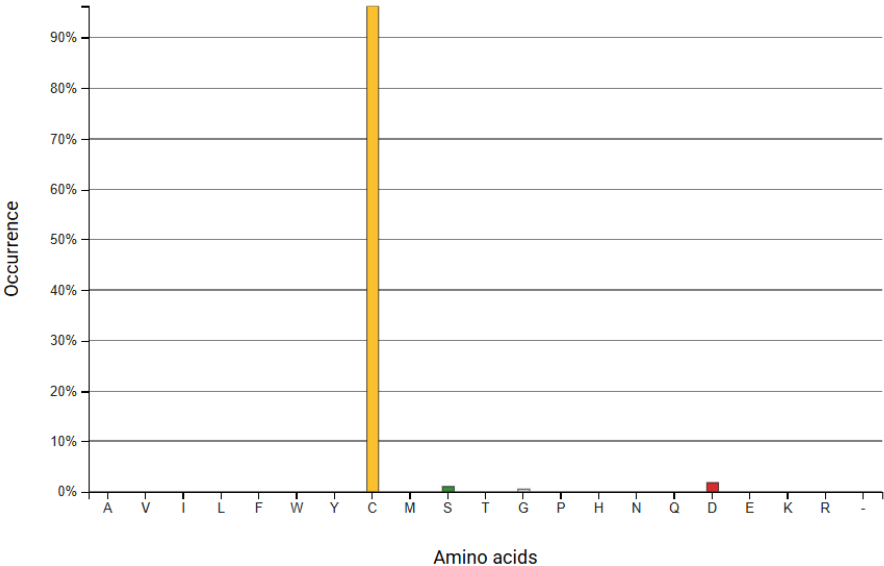
Συντηρημένη θέση 32 (θέση 147)

Υπεροικογένεια



84,15%

Υποοικογένεια

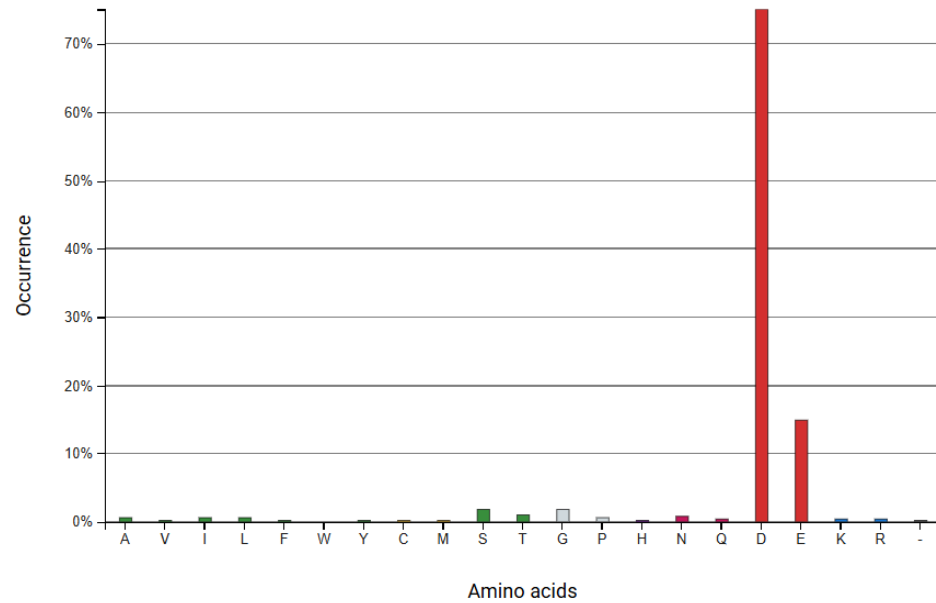


96,31%



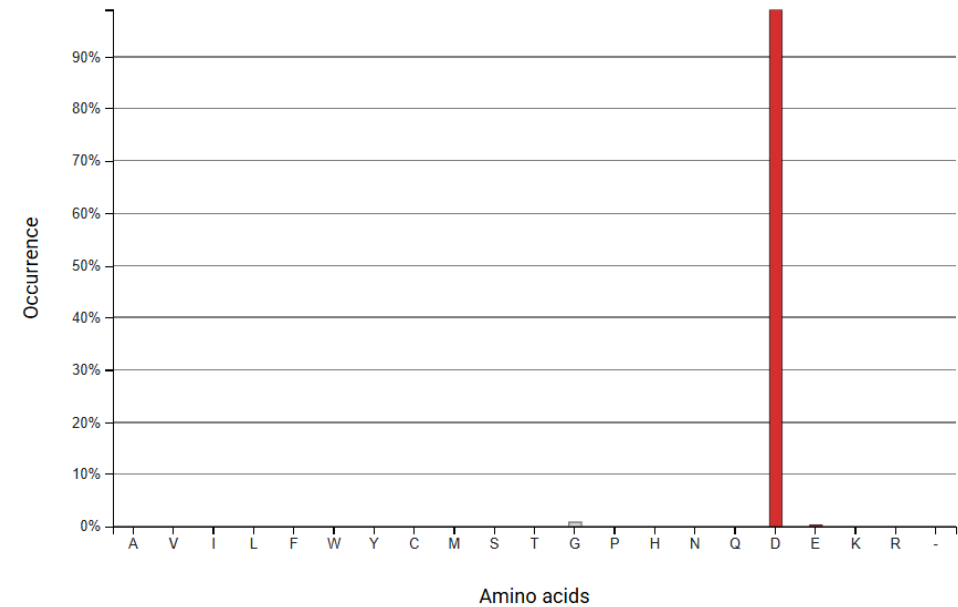
Συντηρημένη θέση 64 (θέση 204)

Υπεροικογένεια



75,13%

Υποοικογένεια

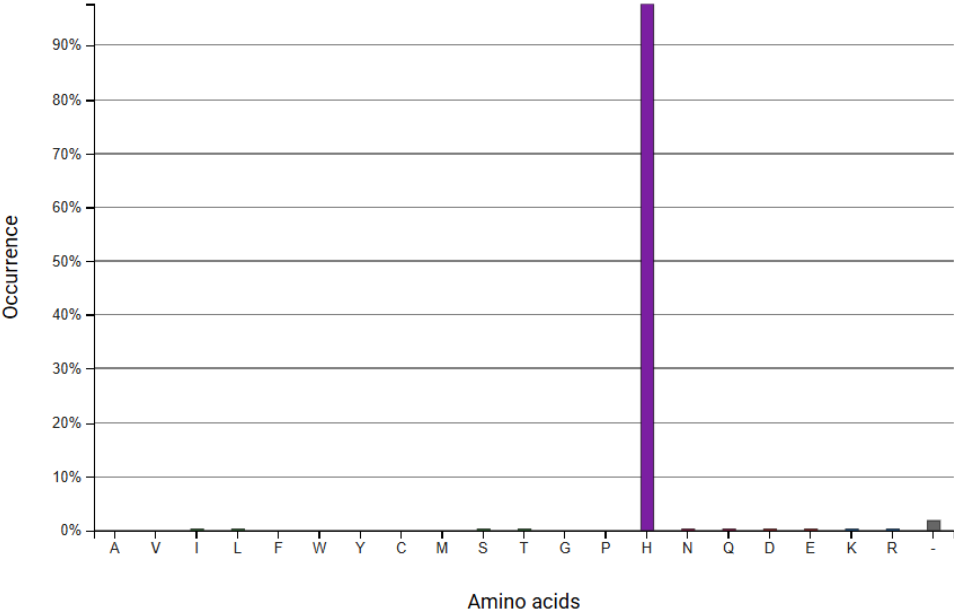


98,96%



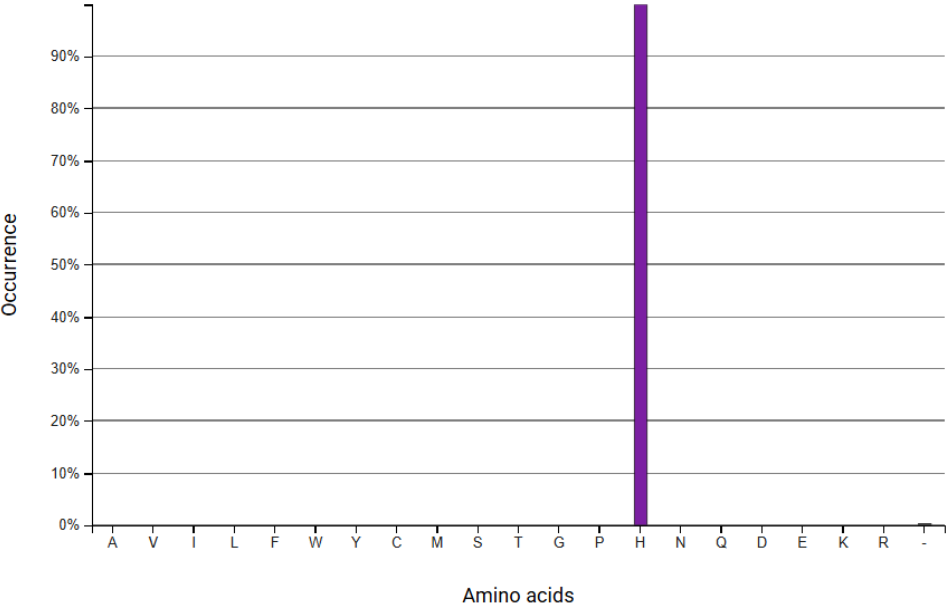
Συντηρημένη θέση 87 (θέση 236)

Υπεροικογένεια



97,71%

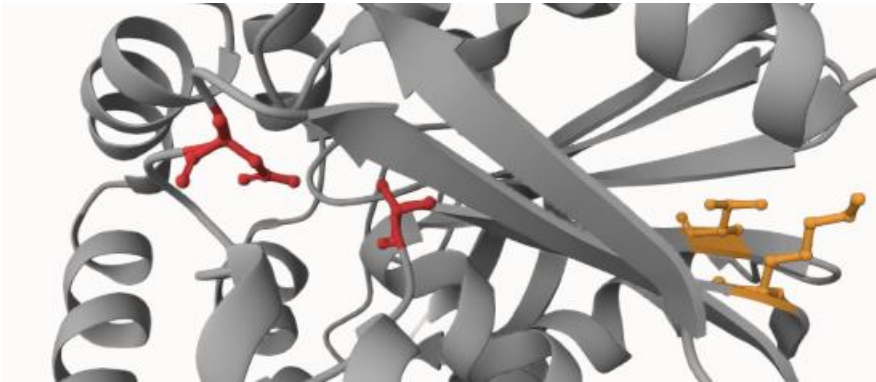
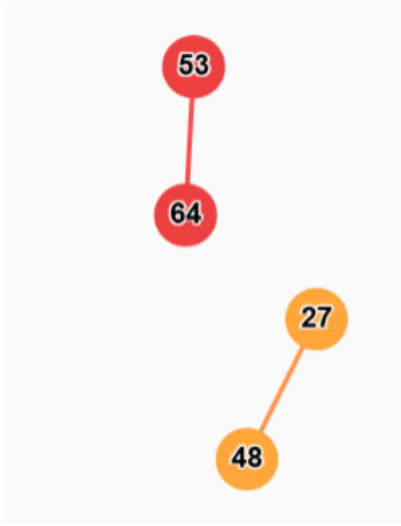
Υποοικογένεια



99,86%

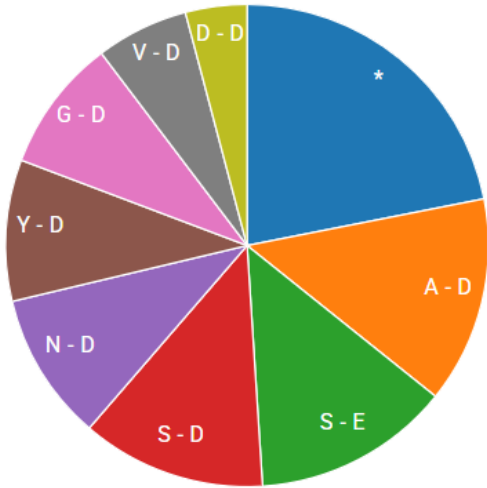


Correlation network



Positions: 53 - 64

CMA score: 1,000

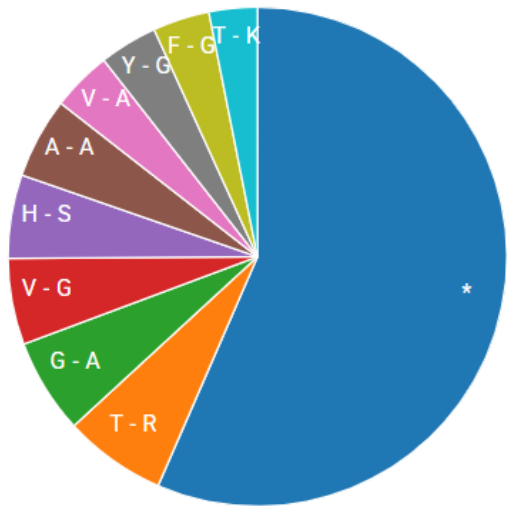


53A-64D (13.98%)

170Y-204D (9.50%)

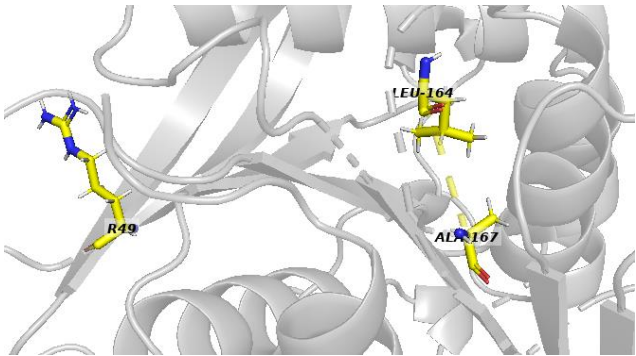
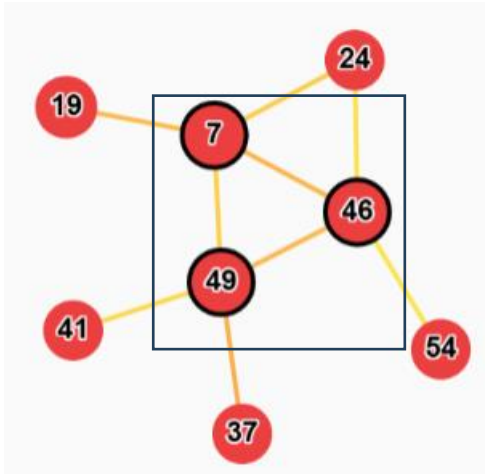
Positions: 27 - 48

CMA score: 0,816



27T-48R(6.64%)

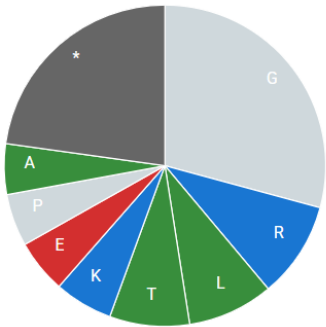
142M-165A (0.34%)



Alignment Position: 7



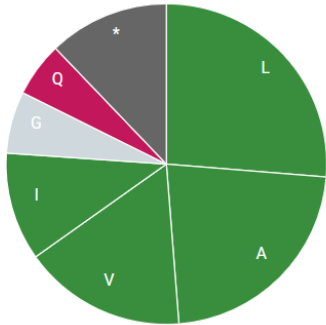
48R



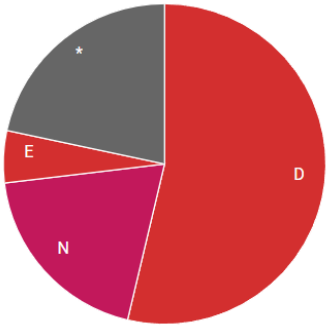
Alignment Position: 49



166A



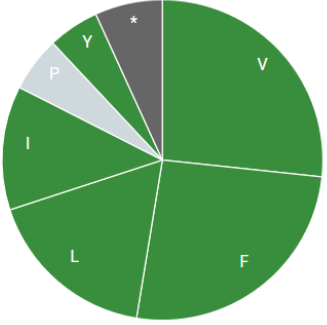
Alignment Position: 24



Alignment Position: 46



163L





Συντηρημένη θέση 7 (θέση 48)

VNA

F	T	TTT	Phe [F]	TCT	Ser [S]	TAT	Tyr [Y]	TGT	Cys [C]	T	T
I	T	TTC	Phe [F]	TCC	Ser [S]	TAC	Tyr [Y]	TGC	Cys [C]	C	H
R		TTA	Leu [L]	TCA	Ser [S]	TAA	Ter [end]	TGA	Ter [end]	A	I
S		TTG	Leu [L]	TCG	Ser [S]	TAG	Ter [end]	TGG	Trp [W]	G	R
T		CTT	Leu [L]	CCT	Pro [P]	CAT	His [H]	CGT	Arg [R]	T	D
C		CTC	Leu [L]	CCC	Pro [P]	CAC	His [H]	CGC	Arg [R]	C	
P		CTA	Leu [L]	CCA	Pro [P]	CAA	Gln [Q]	CGA	Arg [R]	A	P
O		CTG	Leu [L]	CCG	Pro [P]	CAG	Gln [Q]	CGG	Arg [R]	G	O
S	A	ATT	Ile [I]	ACT	Thr [T]	AAT	Asn [N]	AGT	Ser [S]	T	S
I	A	ATC	Ile [I]	ACC	Thr [T]	AAC	Asn [N]	AGC	Ser [S]	C	I
T		ATA	Ile [I]	ACA	Thr [T]	AAA	Lys [K]	AGA	Arg [R]	A	T
I		ATG	Met [M]	ACG	Thr [T]	AAG	Lys [K]	AGG	Arg [R]	G	I
O		GTT	Val [V]	GCT	Ala [A]	GAT	Asp [D]	GGT	Gly [G]	T	O
N		GTC	Val [V]	GCC	Ala [A]	GAC	Asp [D]	GGC	Gly [G]	C	N
G		GTA	Val [V]	GCA	Ala [A]	GAA	Glu [E]	GGA	Gly [G]	A	
		GTG	Val [V]	GCG	Ala [A]	GAG	Glu [E]	GGG	Gly [G]	G	

L, P, Q, 2R, I, T, K, V, A, E, G

VNG

F	T	TTT	Phe [F]	TCT	Ser [S]	TAT	Tyr [Y]	TGT	Cys [C]	T	T
I	T	TTC	Phe [F]	TCC	Ser [S]	TAC	Tyr [Y]	TGC	Cys [C]	C	H
R		TTA	Leu [L]	TCA	Ser [S]	TAA	Ter [end]	TGA	Ter [end]	A	I
S		TTG	Leu [L]	TCG	Ser [S]	TAG	Ter [end]	TGG	Trp [W]	G	R
T		CTT	Leu [L]	CCT	Pro [P]	CAT	His [H]	CGT	Arg [R]	T	D
C		CTC	Leu [L]	CCC	Pro [P]	CAC	His [H]	CGC	Arg [R]	C	
P		CTA	Leu [L]	CCA	Pro [P]	CAA	Gln [Q]	CGA	Arg [R]	A	P
O		CTG	Leu [L]	CCG	Pro [P]	CAG	Gln [Q]	CGG	Arg [R]	G	O
S	A	ATT	Ile [I]	ACT	Thr [T]	AAT	Asn [N]	AGT	Ser [S]	T	S
I	A	ATC	Ile [I]	ACC	Thr [T]	AAC	Asn [N]	AGC	Ser [S]	C	I
T		ATA	Ile [I]	ACA	Thr [T]	AAA	Lys [K]	AGA	Arg [R]	A	T
I		ATG	Met [M]	ACG	Thr [T]	AAG	Lys [K]	AGG	Arg [R]	G	I
O		GTT	Val [V]	GCT	Ala [A]	GAT	Asp [D]	GGT	Gly [G]	T	O
N		GTC	Val [V]	GCC	Ala [A]	GAC	Asp [D]	GGC	Gly [G]	C	N
G		GTA	Val [V]	GCA	Ala [A]	GAA	Glu [E]	GGA	Gly [G]	A	
		GTG	Val [V]	GCG	Ala [A]	GAG	Glu [E]	GGG	Gly [G]	G	

L, P, Q, 2R, M, T, K, V, A, E, G



Συντηρημένη θέση 46 (θέση 163)

NHC

F I R S T C P O S I T I O N	T	TTT	Phe [F]	TCT	Ser [S]	TAT	Tyr [Y]	TGT	Cys [C]	T	T
		TTC	Phe [F]	TCC	Ser [S]	TAC	Tyr [Y]	TGC	Cys [C]	C	H
		TTA	Leu [L]	TCA	Ser [S]	TAA	Ter [end]	TGA	Ter [end]	A	I
		TTG	Leu [L]	TCG	Ser [S]	TAG	Ter [end]	TGG	Trp [W]	G	R
	C	CTT	Leu [L]	CCT	Pro [P]	CAT	His [H]	CGT	Arg [R]	T	D
		CTC	Leu [L]	CCC	Pro [P]	CAC	His [H]	CGC	Arg [R]	C	
		CTA	Leu [L]	CCA	Pro [P]	CAA	Gln [Q]	CGA	Arg [R]	A	P
		CTG	Leu [L]	CCG	Pro [P]	CAG	Gln [Q]	CGG	Arg [R]	G	O
	A	ATT	Ile [I]	ACT	Thr [T]	AAT	Asn [N]	AGT	Ser [S]	T	S
		ATC	Ile [I]	ACC	Thr [T]	AAC	Asn [N]	AGC	Ser [S]	C	I
		ATA	Ile [I]	ACA	Thr [T]	AAA	Lys [K]	AGA	Arg [R]	A	T
		ATG	Met [M]	ACG	Thr [T]	AAG	Lys [K]	AGG	Arg [R]	G	I
	G	GTT	Val [V]	GCT	Ala [A]	GAT	Asp [D]	GGT	Gly [G]	T	O
		GTC	Val [V]	GCC	Ala [A]	GAC	Asp [D]	GGC	Gly [G]	C	N
		GTA	Val [V]	GCA	Ala [A]	GAA	Glu [E]	GGA	Gly [G]	A	
		GTG	Val [V]	GCG	Ala [A]	GAG	Glu [E]	GGG	Gly [G]	G	

NHT

F I R S T C P O S I T I O N	T	TTT	Phe [F]	TCT	Ser [S]	TAT	Tyr [Y]	TGT	Cys [C]	T	T
		TTC	Phe [F]	TCC	Ser [S]	TAC	Tyr [Y]	TGC	Cys [C]	C	H
		TTA	Leu [L]	TCA	Ser [S]	TAA	Ter [end]	TGA	Ter [end]	A	I
		TTG	Leu [L]	TCG	Ser [S]	TAG	Ter [end]	TGG	Trp [W]	G	R
	C	CTT	Leu [L]	CCT	Pro [P]	CAT	His [H]	CGT	Arg [R]	T	D
		CTC	Leu [L]	CCC	Pro [P]	CAC	His [H]	CGC	Arg [R]	C	
		CTA	Leu [L]	CCA	Pro [P]	CAA	Gln [Q]	CGA	Arg [R]	A	P
		CTG	Leu [L]	CCG	Pro [P]	CAG	Gln [Q]	CGG	Arg [R]	G	O
	A	ATT	Ile [I]	ACT	Thr [T]	AAT	Asn [N]	AGT	Ser [S]	T	S
		ATC	Ile [I]	ACC	Thr [T]	AAC	Asn [N]	AGC	Ser [S]	C	I
		ATA	Ile [I]	ACA	Thr [T]	AAA	Lys [K]	AGA	Arg [R]	A	T
		ATG	Met [M]	ACG	Thr [T]	AAG	Lys [K]	AGG	Arg [R]	G	I
	G	GTT	Val [V]	GCT	Ala [A]	GAT	Asp [D]	GGT	Gly [G]	T	O
		GTC	Val [V]	GCC	Ala [A]	GAC	Asp [D]	GGC	Gly [G]	C	N
		GTA	Val [V]	GCA	Ala [A]	GAA	Glu [E]	GGA	Gly [G]	A	
		GTG	Val [V]	GCG	Ala [A]	GAG	Glu [E]	GGG	Gly [G]	G	

F, S, Y, L, P, H, I, T, N, V, A, D



Συντηρημένη θέση 49 (θέση 166)

VNA

F I R S T	T	TTT	Phe [F]	TCT	Ser [S]	TAT	Tyr [Y]	TGT	Cys [C]	T	T
		TTC	Phe [F]	TCC	Ser [S]	TAC	Tyr [Y]	TGC	Cys [C]	C	H
		TTA	Leu [L]	TCA	Ser [S]	TAA	Ter [end]	TGA	Ter [end]	A	I
		TTG	Leu [L]	TCG	Ser [S]	TAG	Ter [end]	TGG	Trp [W]	G	R
P O S I T I O N	C	CTT	Leu [L]	CCT	Pro [P]	CAT	His [H]	CGT	Arg [R]	T	D
		CTC	Leu [L]	CCC	Pro [P]	CAC	His [H]	CGC	Arg [R]	C	
		CTA	Leu [L]	CCA	Pro [P]	CAA	Gln [Q]	CGA	Arg [R]	A	P
		CTG	Leu [L]	CCG	Pro [P]	CAG	Gln [Q]	CGG	Arg [R]	G	O
	A	ATT	Ile [I]	ACT	Thr [T]	AAT	Asn [N]	AGT	Ser [S]	T	S
		ATC	Ile [I]	ACC	Thr [T]	AAC	Asn [N]	AGC	Ser [S]	C	I
		ATA	Ile [I]	ACA	Thr [T]	AAA	Lys [K]	AGA	Arg [R]	A	T
		ATG	Met [M]	ACG	Thr [T]	AAG	Lys [K]	AGG	Arg [R]	G	I
	G	GTT	Val [V]	GCT	Ala [A]	GAT	Asp [D]	GGT	Gly [G]	T	O
		GTC	Val [V]	GCC	Ala [A]	GAC	Asp [D]	GGC	Gly [G]	C	N
		GTA	Val [V]	GCA	Ala [A]	GAA	Glu [E]	GGA	Gly [G]	A	
		GTG	Val [V]	GCG	Ala [A]	GAG	Glu [E]	GGG	Gly [G]	G	

L, P, Q, 2R, I, T, K, V, A, E, G

Βιβλιοθήκη



Θέση	48	163	166
Degenerate	VNA/VNG	NHC/NHT	VNA
Αριθμός κωδικονίων	12	12	12
Αριθμός αμινοξέων	11	12	11

Αριθμός Μεταλλάξεων	Σύνολο κωδικονίων	Μοναδικές Πρωτεΐνες	Αποικίες (95% κάλυψη)
3	1728	1452 (288*)	5175



Σύγκριση με NNK

F I R S T P O S I T I O N	T	TTT	Phe [F]	TCT	Ser [S]	TAT	Tyr [Y]	TGT	Cys [C]	T	T
		TTC	Phe [F]	TCC	Ser [S]	TAC	Tyr [Y]	TGC	Cys [C]	C	H
		TTA	Leu [L]	TCA	Ser [S]	TAA	Ter [end]	TGA	Ter [end]	A	I
		TTG	Leu [L]	TCG	Ser [S]	TAG	Ter [end]	TGG	Trp [W]	G	R
	C	CTT	Leu [L]	CCT	Pro [P]	CAT	His [H]	CGT	Arg [R]	T	D
		CTC	Leu [L]	CCC	Pro [P]	CAC	His [H]	CGC	Arg [R]	C	
		CTA	Leu [L]	CCA	Pro [P]	CAA	Gln [Q]	CGA	Arg [R]	A	P
		CTG	Leu [L]	CCG	Pro [P]	CAG	Gln [Q]	CGG	Arg [R]	G	O
	A	ATT	Ile [I]	ACT	Thr [T]	AAT	Asn [N]	AGT	Ser [S]	T	S
		ATC	Ile [I]	ACC	Thr [T]	AAC	Asn [N]	AGC	Ser [S]	C	I
		ATA	Ile [I]	ACA	Thr [T]	AAA	Lys [K]	AGA	Arg [R]	A	T
		ATG	Met [M]	ACG	Thr [T]	AAG	Lys [K]	AGG	Arg [R]	G	I
	G	GTT	Val [V]	GCT	Ala [A]	GAT	Asp [D]	GGT	Gly [G]	T	O
		GTC	Val [V]	GCC	Ala [A]	GAC	Asp [D]	GGC	Gly [G]	C	N
		GTA	Val [V]	GCA	Ala [A]	GAA	Glu [E]	GGA	Gly [G]	A	
		GTG	Val [V]	GCG	Ala [A]	GAG	Glu [E]	GGG	Gly [G]	G	

32 κωδικόνια
Και τα 20 αμινοξέα
! Κωδικόνιο τερματισμού !

Αριθμός Μεταλλάξεων	Σύνολο κωδικονίων	Μοναδικές Πρωτεΐνες	Αποικίες (95% κάλυψη)
3	32768	8000 (288*)	98163

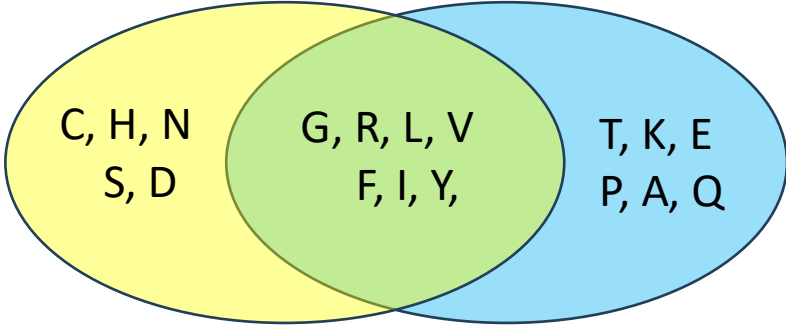


Σύγκριση με NDT

F	T	TTT	Phe [F]	TCT	Ser [S]	TAT	Tyr [Y]	TGT	Cys [C]	T	T
I	T	TTC	Phe [F]	TCC	Ser [S]	TAC	Tyr [Y]	TGC	Cys [C]	C	H
R		TTA	Leu [L]	TCA	Ser [S]	TAA	Ter [end]	TGA	Ter [end]	A	I
S		TTG	Leu [L]	TCG	Ser [S]	TAG	Ter [end]	TGG	Trp [W]	G	R
T		CTT	Leu [L]	CCT	Pro [P]	CAT	His [H]	CGT	Arg [R]	T	D
C		CTC	Leu [L]	CCC	Pro [P]	CAC	His [H]	CGC	Arg [R]	C	
P		CTA	Leu [L]	CCA	Pro [P]	CAA	Gln [Q]	CGA	Arg [R]	A	P
O		CTG	Leu [L]	CCG	Pro [P]	CAG	Gln [Q]	CGG	Arg [R]	G	O
S		ATT	Ile [I]	ACT	Thr [T]	AAT	Asn [N]	AGT	Ser [S]	T	S
I	A	ATC	Ile [I]	ACC	Thr [T]	AAC	Asn [N]	AGC	Ser [S]	C	I
T		ATA	Ile [I]	ACA	Thr [T]	AAA	Lys [K]	AGA	Arg [R]	A	T
I		ATG	Met [M]	ACG	Thr [T]	AAG	Lys [K]	AGG	Arg [R]	G	I
O		GTT	Val [V]	GCT	Ala [A]	GAT	Asp [D]	GGT	Gly [G]	T	O
N	G	GTC	Val [V]	GCC	Ala [A]	GAC	Asp [D]	GGC	Gly [G]	C	N
		GTA	Val [V]	GCA	Ala [A]	GAA	Glu [E]	GGA	Gly [G]	A	
		GTG	Val [V]	GCG	Ala [A]	GAG	Glu [E]	GGG	Gly [G]	G	

NDT (12 κωδικόνια
12 αμινοξέα)

Επιτρεπτά
αμινοξέα



Αριθμός Μεταλλάξεων	Σύνολο κωδικονίων	Μοναδικές Πρωτεΐνες	Αποικίες (95% κάλυψη)
3	1728	1728(60*)	5175



Ευχαριστούμε για την προσοχή σας!!