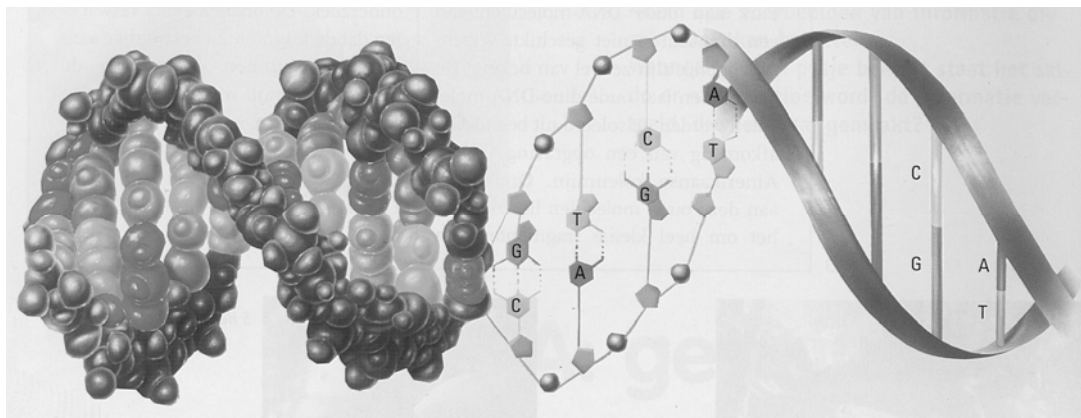


Reader Moleculen in leven (DNA en eiwitten)



Inhoud

| | | |
|----|---|----|
| 1 | Studiewijzer | 2 |
| 2 | Toetsing en eindbeoordeling | 5 |
| 3 | Inleiding | 6 |
| 4 | Hand-outs introductie | 7 |
| 5 | Hand-outs replicatie, transcriptie en translatie | 9 |
| 6 | Samenvatting transcriptie en translatie in hoofdlijnen | 27 |
| 7 | Oefenvragen over replicatie, transcriptie en translatie | 31 |
| 8 | Nog meer oefenen? | 37 |
| 9 | Hand-outs bouw en functies van eiwitten | 38 |
| 10 | Oefenvragen over eiwitten | 48 |
| 11 | Hand-outs werking van enzymen | 50 |
| 12 | Oefenvragen over enzymen (herhaling van thema fysiologie) | 53 |
| 13 | Cystic Fibrosis: klein foutje in de DNA-code met desastreuze gevolgen | 59 |
| 14 | Hand-outs theorie Cystic Fibrosis | 60 |
| 15 | Expertopdracht Cystic Fibrosis | 63 |
| 16 | Strategieën voor een genezing van Cystic Fibrosis | 67 |
| 17 | Praktische Opdracht DNA-posters | 68 |
| 18 | Praktische Opdracht Bio-informatica: speur surfend in je genen | 70 |
| 19 | Antwoorden van de oefenvragen over replicatie, transcriptie en translatie | 80 |
| 20 | Antwoorden van de oefenvragen over eiwitten | 82 |
| 21 | Antwoorden van de oefenvragen over enzymen | 83 |
| 22 | Antwoorden van de vragen en opdrachten over Cystic Fibrosis | 84 |

1 **Studiewijzer**

Tijdens de lessen biologie komen de theorie (in periode 1) en de afsluitende lessen (in periode 2) aan de orde. Tijdens de lessen scheikunde 1 worden de Praktische Opdrachten uitgevoerd (beiden in periode 1). Alleen tijdens de lessen scheikunde 1 wordt aan de module gewerkt (voor scheikunde 1,2 zijn er normale scheikundelessen).

Vakvarianten:

- Alle leerlingen met zowel biologie als scheikunde volgen de biologie- en scheikundelessen van de module.
- Leerlingen die wel biologie hebben, maar geen scheikunde, volgen alleen de biologielessen van de module. Zij krijgen een PO-cijfer voor de afsluitende lessen.
- Leerlingen die geen biologie hebben, maar wel scheikunde 1,2 volgen de verdiepingslessen bij scheikunde 1 en krijgen daar een PO-cijfer voor. Zij krijgen privéles over de (scheikunde)theorie over DNA en eiwitten en maken een aparte toets.

Powerpointslides in kleur

De powerpointslides die in deze module worden gebruikt en een kleurenversie van deze reader kun je downloaden vanaf de website van de school (www.jvo.nl). Klik op "vakken" en "biologie".

| | |
|-----------------|--|
| Stof | Moleculaire biologie (Nectar Hoofdstukken 21 en 22) |
| Toetsing | Theorie: bij schoolexamen 2 Verdieping: als Praktische Opdracht |
| Nodig | Nectar (2 ^e editie, deel 3), Binas (5 ^e druk), NectarNet (v6.nectar.wolters.nl), Bioplek (www.bioplek.org) |

Introductie en theorie tijdens de lessen biologie:

| <i>Datum</i> | <i>Aantal lessen</i> | <i>Onderwerpen</i> | <i>Activiteiten</i> | <i>Check</i> |
|--------------|----------------------|--------------------|---|--------------|
| | 1 | Introductie | <ul style="list-style-type: none"> ➤ Centraal: introductie van het thema: taaislijmziekte als leidend voorbeeld. ➤ Centraal: de centrale vraag en de deelvragen. ➤ Centraal: wat gebeurt er in een cel? Hoe wordt het werk in de cel verzet? | |
| | 1 | Structuur van DNA | <ul style="list-style-type: none"> ➤ Centraal: hoe is de informatie voor eiwitten gecodeerd? ➤ Individueel: Bestudeer Nectar §21.2. ➤ Individueel (of in tweetallen): maak de oefening "Flink uitpakken" van NectarNet (hoofdstuk 21). | |

| Datum | Aantal lessen | Onderwerpen | Activiteiten | Check |
|-------|---------------|-------------------------------|---|-------|
| | 2 | Replicatie | <ul style="list-style-type: none"> ➤ Centraal: hoe wordt de informatie in het DNA doorgegeven aan nieuwe cellen? ➤ Individueel: Bestudeer Nectar §21.3. ➤ Individueel (of in tweetallen): bestudeer op www.bioplek.org de onderdelen "DNA animatie" (onder <i>Erfelijkheidsleer</i>). ➤ Individueel (of in tweetallen): maak de oefening "Legaal kopiëren" van NectarNet (hoofdstuk 21). | |
| | 1 | Transcriptie | <ul style="list-style-type: none"> ➤ Centraal: hoe wordt de informatie in het DNA omgezet in eiwitten? Stap 1: transcriptie. ➤ Individueel: Bestudeer Nectar §21.4. ➤ Individueel (of in tweetallen): maak de oefening "Strafwerk?" van NectarNet (hoofdstuk 21). | |
| | 1 | Translatie | <ul style="list-style-type: none"> ➤ Centraal: hoe wordt de informatie in het DNA omgezet in eiwitten? Stap 2: translatie. ➤ Centraal: een voorbeeld van een regulatieproces: het lac-operon. ➤ Individueel: Bestudeer Nectar §21.5. ➤ Individueel (of in tweetallen): maak de oefening "Volgens bekend recept" van NectarNet (hoofdstuk 21). | |
| | 2 | Verwerking | <ul style="list-style-type: none"> ➤ Centraal: als samenvatting van dit onderdeel bekijken we een aflevering uit de serie BioBits Bovenbouw (Teleac/NOT, blok 58). ➤ Individueel: bestudeer de samenvatting over transcriptie en translatie. ➤ Individueel: maak en controleer de oefenvragen over transcriptie en translatie uit deze reader. ➤ Facultatief: maak en controleer <i>test jezelf</i> (hoofdstuk 21) uit het boek of van NectarNet. | |
| | 2 | Bouw en functies van eiwitten | <ul style="list-style-type: none"> ➤ Centraal: wat zijn eiwitten en hoe zijn ze opgebouwd? ➤ Individueel: Bestudeer Nectar §22.1 en 22.2. ➤ Individueel (of in tweetallen): maak de oefeningen "Overal eiwitten" en "Houdini-ketens" van NectarNet (hoofdstuk 22). ➤ Individueel (of in tweetallen): maak de oefenvragen over eiwitten uit deze reader. | |
| | 2 | Werking van enzymen | <ul style="list-style-type: none"> ➤ Centraal: theorie werking van enzymen. ➤ Individueel: bestudeer Nectar §22.3. ➤ Individueel (of in tweetallen): maak de oefening "Werk aan de winkel" van NectarNet (hoofdstuk 22). ➤ Facultatief: maak en controleer de oefenvragen over enzymen uit deze reader (herhaling van thema Fysiologie). | |
| | 1 | Virussen | <ul style="list-style-type: none"> ➤ Individueel (of in tweetallen): maak de oefening "Eiwitdetector" van NectarNet (hoofdstuk 22). | |
| | | Toetsing | <ul style="list-style-type: none"> ➤ Maak het schoolexamen. | |

| <i>Datum</i> | <i>Aantal lessen</i> | <i>Onderwerpen</i> | <i>Activiteiten</i> | <i>Check</i> |
|--------------|----------------------|---|---|--------------|
| | 6 | Strategieën voor een genezing van taaislijmziekte | <ul style="list-style-type: none"> ➤ We prikkelen ons wetenschappelijke brein: we bedenken strategieën voor een genezing van taaislijmziekte. Taaislijmziekte: een klein foutje in de DNA-code met desastreuze gevolgen... | |

Verdieping tijdens de lessen scheikunde 1:

| <i>Datum</i> | <i>Aantal lessen</i> | <i>Onderwerpen</i> | <i>Activiteiten</i> |
|--------------|----------------------|---------------------------|---|
| | 6 | DNA-posters | <ul style="list-style-type: none"> ➤ Je verdiept je in een onderwerp over DNA naar keuze. Onderdeel van deze opdracht is een postersymposium. |
| | 1 | Inleiding Bio-informatica | <ul style="list-style-type: none"> ➤ Centraal: korte introductie. ➤ In tweetallen: bestudeer de teksten bij "inleiding in de bioinformatica" en maak de bijbehorende opdrachten 1 t/m 6. ➤ Lever aan het eind van de les per tweetal één set beantwoorde vragen in voor beoordeling. |
| | 2 | Practicum Bio-informatica | <p>Dit onderzoek vindt plaats in samenwerking met medewerkers van de Radboud Universiteit Nijmegen.</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Centraal: korte introductie. ➤ Voer het practicum uit volgens de instructies van de onderzoekers. ➤ Lever op instructie van de onderzoekers per tweetal één set beantwoorde vragen in voor beoordeling. |

2 Toetsing en eindbeoordeling

De toetsing van de module Moleculen in Leven bestaat uit 2 onderdelen:

1. Schoolexamen

De theorie wordt getoetst in een schoolexamen.
Het behaalde cijfer telt mee voor biologie en scheikunde 1 (zie voor weging het PTA).

Stof:

- Reader Moleculen in Leven
- Nectar hoofdstukken 21 en 22

NB Leerlingen die geen biologie hebben, maar wel scheikunde 1,2 maken een aparte toets.

2. Praktische Opdrachten

De verdieping wordt getoetst in twee Praktische Opdrachten:

1. **Bio-informatica**
Het behaalde cijfer telt mee voor biologie en scheikunde 1 (zie voor weging het PTA).
2. **DNA-posters**
Het behaalde cijfer telt mee voor biologie en scheikunde 1 (zie voor weging het PTA).

Je wordt beoordeeld op:

- de antwoorden op de opdrachten
- je werkhouding en inzet tijdens het practicum

NB Leerlingen die wel biologie hebben, maar geen scheikunde krijgen een PO-cijfer voor de afsluitende biologielessen.

3 **Inleiding**

3.1 Moleculen in leven?

De cel leeft... maar is opgebouwd uit levenloze moleculen. Door het samenspel van de juiste moleculen op de juiste plek ontstaat een systeem dat in evenwicht is, zichzelf in stand houdt en kan vermeerderen: een levende cel.

In deze module bestuderen we die kleinste levende eenheid: de cel. Hoe zorgen “de moleculen van het leven” er voor dat een cel doet wat hij moet doen? En wat zijn de gevolgen als er iets mis gaat met de moleculen in de cel? **Moleculair biologen** en **biochemici** bestuderen dus de processen in levende cellen op het kleinste functionele niveau, namelijk dat van de moleculen.

Als er iets mis gaat met de moleculen in de cel kan dit grote gevolgen hebben voor het hele organisme. Moleculaire fouten liggen dan ook aan de basis van veel ziektes en aandoeningen in het menselijke lichaam. Om ziektes te begrijpen en te kunnen genezen of voorkomen is het belangrijk te weten wat er op moleculair niveau mis gaat. Er is de laatste jaren grote vooruitgang geboekt op dit gebied. Mede dankzij nieuwe technieken waarmee het DNA, RNA en eiwitten in gezonde en zieke cellen bestudeerd kunnen worden. Maar... of we er ooit achter komen hoe een levende cel precies in elkaar zit? En of je dan ook begrijpt hoe een organisme functioneert, dat uit vele miljarden cellen is opgebouwd? De ontwikkelingen gaan snel, maar er is nog heel veel te ontdekken.

3.2 Taaislijmziekte: een voorbeeld van een moleculaire fout in het menselijke lichaam

In deze module zal de ziekte taaislijmziekte (Cystic Fibrosis) als leidend voorbeeld dienen. Van deze ziekte hebben we tegenwoordig een redelijk goed beeld hoe één foutje in de moleculen zulke desastreuze gevolgen in het lichaam van de patiënt kan hebben. Door deze ziekte als rode draad te nemen, kom je alle fundamentele moleculaire processen in de cel tegen. Als je deze fundamentele processen begrijpt, kun je deze kennis ook toepassen om andere ziektes en aandoeningen op moleculair niveau te begrijpen.

3.3 De centrale vraag van deze module

De centrale vraag van deze module is: *Hoe werken de moleculen in de cel en hoe gebruiken we die inzichten om ziektes te begrijpen, te voorkomen en te genezen?*

3.4 Opzet van de module

De module bestaat uit een aantal onderdelen die tijdens de lessen biologie en scheikunde aan de orde komen. In de biologielessen zal met name de theorie aan de orde komen; bij scheikunde leer je meer over de technieken die moleculair biologen gebruiken. De ziekte Cystic Fibrosis loopt steeds als een rode draad door de theorie heen.

We sluiten de module af met een slotopdracht. Daarin zul je uiteindelijk je kennis en inzichten uit de module moeten gebruiken om zelf een mogelijke strategie voor genezing van Cystic Fibrosis te bedenken.

4 **Hand-outs introductie**

Moleculaire Biologie

Film: Je zal het maar hebben...
Cystic Fibrose...

<http://www.bnn.nl> > je zal het maar hebben > aflevering 1

Centrale vraag

Hoe kunnen inzichten in de moleculaire biologie helpen om ziektes te begrijpen, te voorkomen en te genezen?

De deelvragen

1. Wat gebeurt er in de cel?
2. Hoe wordt het werk in de cel verzet?
3. Hoe is de informatie voor eiwitten gecodeerd?
> **klas 4: DNA bevat de code**
4. Hoe wordt de informatie in het DNA doorgegeven aan nieuwe cellen?
> **klas 4: door replicatie van het DNA**
5. Hoe wordt de informatie in het DNA omgezet in eiwitten?
> **klas 4: door transcriptie en translatie**
6. Wat zijn eiwitten en hoe komen ze op het juiste moment op de juiste plek in actie?

De deelvragen

- 1. Wat gebeurt er in de cel?**
- 2. Hoe wordt het werk in de cel verzet?**
3. Hoe is de informatie voor eiwitten gecodeerd?
4. Hoe wordt de informatie in het DNA doorgegeven aan nieuwe cellen?
5. Hoe wordt de informatie in het DNA omgezet in eiwitten?
6. Wat zijn eiwitten en hoe komen ze op het juiste moment op de juiste plek in actie?

Film: *inside the cell*



<http://multimedia.mcb.harvard.edu>

Conclusies:

- De cel is een biochemische fabriek
- Moleculen worden opgebouwd en afgebroken
- Moleculen worden getransporteerd
- Signalen worden omgezet in acties
- Niets gaat vanzelf in de cel! Er is altijd een "machine" nodig.

Eiwitten verzetten dit werk!
En de code voor die eiwitten staat in het DNA!

5 Hand-outs replicatie, transcriptie en translatie

DNA-structuur

Centrale vraag

Hoe kunnen inzichten in de moleculaire biologie helpen om ziektes te begrijpen, te voorkomen en te genezen?

De deelvragen

1. Wat gebeurt er in de cel?
> *de cel is een biochemische fabriek*
2. Hoe wordt het werk in de cel verzet?
> *eiwitten verzetten het werk*
- 3. Hoe is de informatie voor eiwitten gecodeerd?**
4. Hoe wordt de informatie in het DNA doorgegeven aan nieuwe cellen?
5. Hoe wordt de informatie in het DNA omgezet in eiwitten?
6. Wat zijn eiwitten en hoe komen ze op het juiste moment op de juiste plek in actie?

Concept:

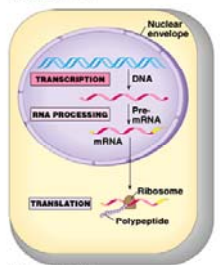
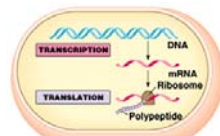
DNA → mRNA

Transcriptie
(bij eukaryoten in de kern;
Bij prokaryoten in het cytoplasma)

mRNA → eiwit

Translatie
(in het cytoplasma)

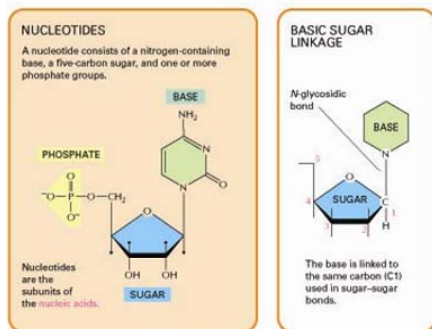
Prokaryoten: bacteriën
Eukaryoten: dieren, planten,
schimmels



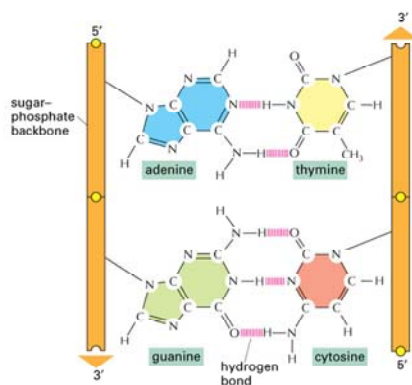
Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Structuur van DNA

DNA is opgebouwd uit nucleotiden: een suiker, een fosfaatgroep en een stikstofbase:



Complementaire baseparen worden gevormd in de DNA dubbel-helix door waterstofbruggen:



DNA bestaat uit twee complementaire ketens van nucleotiden:

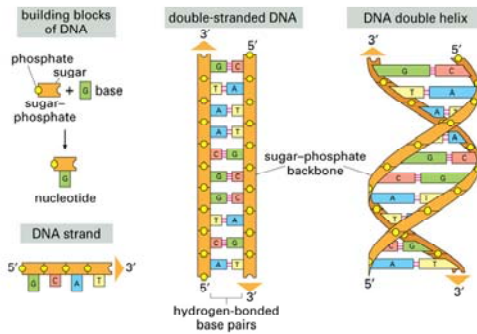


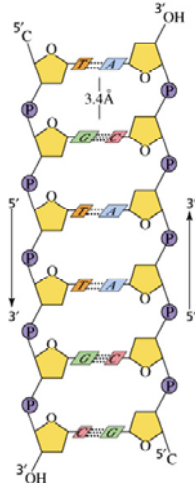
Figure 5-2 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

DNA is dubbelstrengig:

Tegenover de ene keten ligt een tweede, die in tegengestelde richting loopt.

De twee ketens worden bij elkaar gehouden door H-bruggen.

Tegenover een purine-base ligt steeds een pyrimidine base, zodat de afstand tussen de twee suikerfosfaatketens gelijk blijft:
T.....A / G.....C



De DNA helix is anti-parallel:
ene keten 5' → 3'
andere keten 3' → 5'

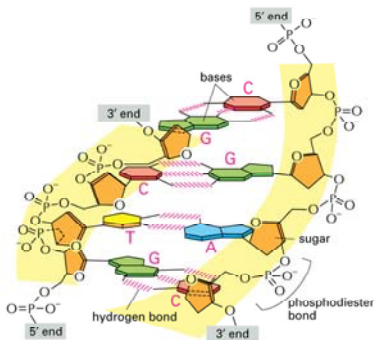
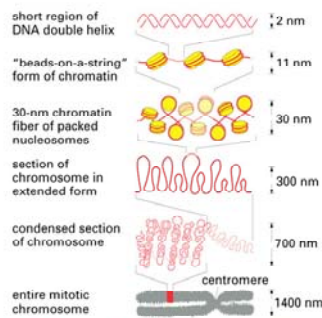


Figure 5-7 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Het Genoom:

- Een menselijke cel bevat $3,2 \cdot 10^9$ nucleotiden, verdeeld over 24 chromosomen
- Afstand tussen 2 nucleotiden = 0,32 nm
- Het DNA van een menselijke cel bevat in uitgestrekte vorm een lengte van 2 meter
- Het menselijk genoom bestaat uit ongeveer 30.000 genen
- 95% van het DNA bestaat uit niet-coderend DNA

De verpakking van die 2 meter DNA in een kern met een diameter van 10 μm :



NET RESULT: EACH DNA MOLECULE HAS BEEN PACKAGED INTO A MITOTIC CHROMOSOME THAT IS 10,000-FOLD SHORTER THAN ITS EXTENDED LENGTH

Figure 5-24 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Film: *chromosome coil*



<http://www.wehi.edu.au>

Uiteindelijk ontstaan na de verpakking in een menselijke cel 23 verschillende chromosomen:

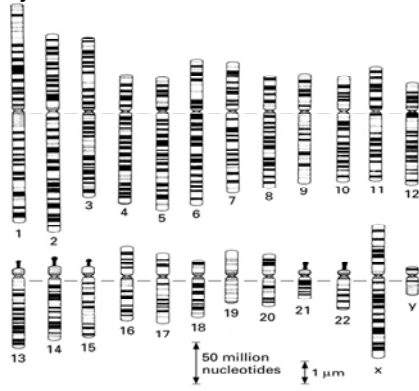


Figure 4-11. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Replicatie

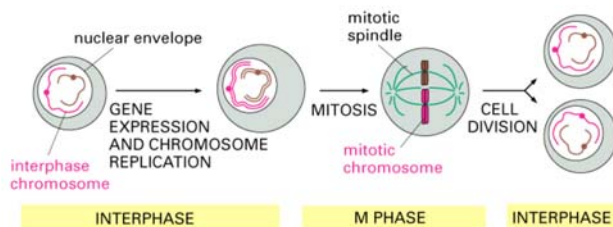
Centrale vraag

Hoe kunnen inzichten in de moleculaire biologie helpen om ziektes te begrijpen, te voorkomen en te genezen?

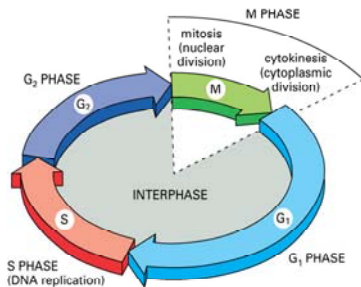
De deelvragen

1. Wat gebeurt er in de cel?
> *de cel is een biochemische fabriek*
2. Hoe wordt het werk in de cel verzet?
> *eiwitten verzetten het werk*
3. Hoe is de informatie voor eiwitten gecodeerd?
> *DNA bevat de code*
- 4. Hoe wordt de informatie in het DNA doorgegeven aan nieuwe cellen?**
5. Hoe wordt de informatie in het DNA omgezet in eiwitten?
6. Wat zijn eiwitten en hoe komen ze op het juiste moment op de juiste plek in actie?

Wat gebeurt er met het DNA in de verschillende fasen van de celcyclus?



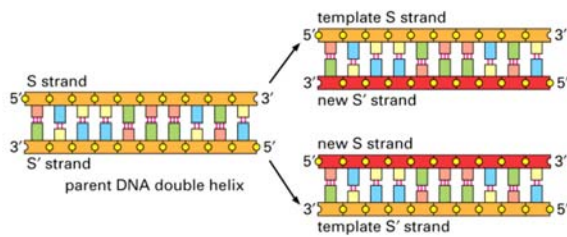
De celcyclus anders weergegeven:



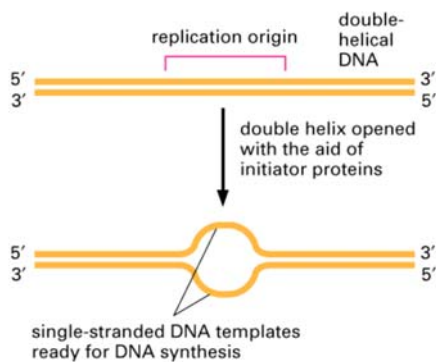
- M:** mitose (= kerndeling)
- G₁:** celgroei en expressie van genen
- S:** verdubbeling DNA (= replicatie)
- G₂:** controle van de replicatie; vermeerderen celorganellen

Figure 18-2 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

DNA replicatie
(verdubbeling van het DNA)



DNA replicatie start bij een oorsprong:



DNA replicatie vindt plaats in de richting 5' → 3':
 (want het enzym DNA-polymerase kan
 alleen een 5' C koppelen aan een 3' C die al is
 ingebouwd)

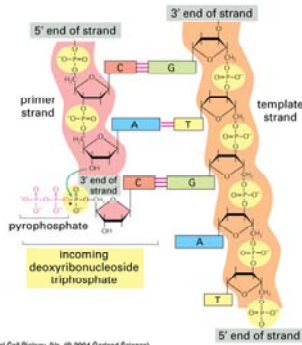


Figure 6-10 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Naar beide zijden vanaf de oorsprong wordt
 gerepliceerd:

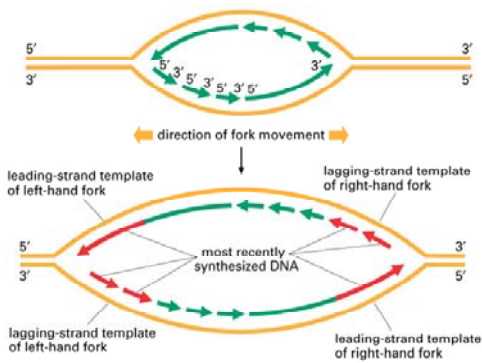
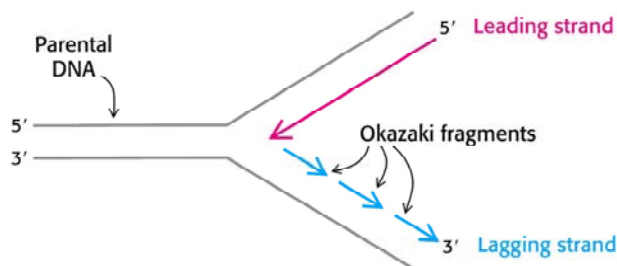
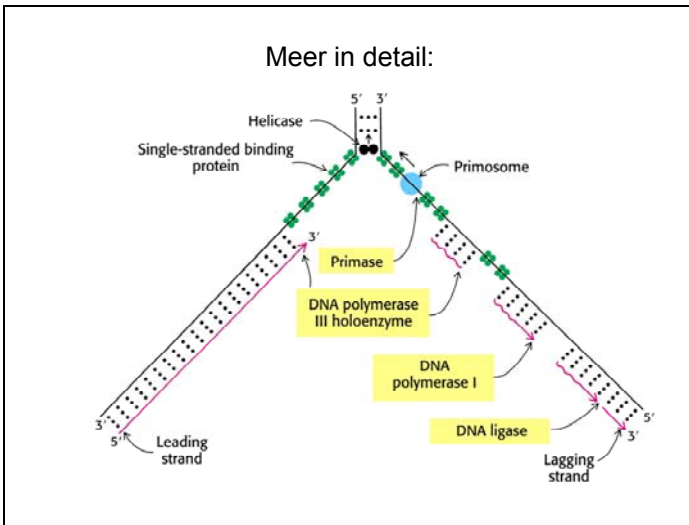
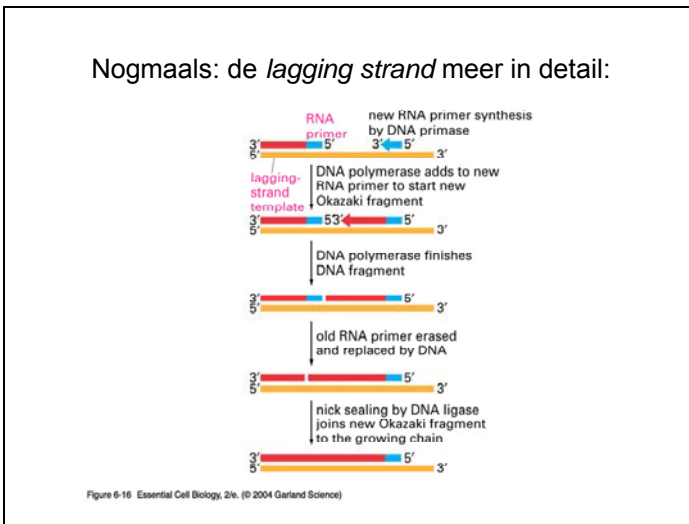


Figure 6-12 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Bij de *leading strand* levert dit geen problemen. De
lagging strand moet echter achterwaarts worden
 gerepliceerd door middel van zogenaamde
Okazaki fragmenten:







Film: DNA replicatie



<http://www.youtube.com/watch?v=E8NHcQesYI8&mode=related&search=>

Nodig voor DNA replicatie:

Algemeen:

- Helicase: ontwindt het DNA zodat oorsprong ontstaat
- Single Stranded Binding Proteins: bezetten het enkelstrengs DNA zodat het enkelstrengs blijft

Voor de leading strand:

- DNA-polymerase: bouwt nieuwe nucleotiden in

Voor de lagging strand:

- Primase: bouwt een stukje RNA primer in
- DNA-polymerase: bouwt nucleotiden in, voortbouwend op de RNA primer; vervangt het eerder gemaakte stukje RNA primer
- Ligase: verbindt de stukjes DNA met elkaar

Transcriptie

Centrale vraag

Hoe kunnen inzichten in de moleculaire biologie helpen om ziektes te begrijpen, te voorkomen en te genezen?

De deelvragen

1. Wat gebeurt er in de cel?
> *de cel is een biochemische fabriek*
2. Hoe wordt het werk in de cel verzet?
> *eiwitten verzetten het werk*
3. Hoe is de informatie voor eiwitten gecodeerd?
> *DNA bevat de code*
4. Hoe wordt de informatie in het DNA doorgegeven aan nieuwe cellen?
> *door replicatie van het DNA*
- 5. Hoe wordt de informatie in het DNA omgezet in eiwitten?**
6. Wat zijn eiwitten en hoe komen ze op het juiste moment op de juiste plek in actie?

Transcriptie
(DNA → mRNA)

Chemische structuur RNA verschilt van DNA:

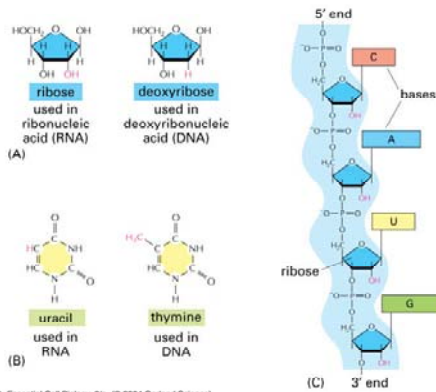
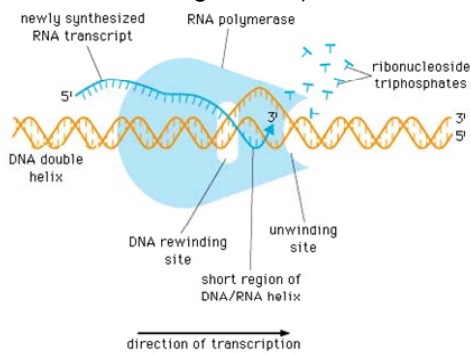


Figure 7-3 Essential Cell Biology, 2/e. © 2004 Garland Science

Het enzym RNA polymerase voert de transcriptie uit (en kan alleen een 5' C koppelen aan een 3' C die al is ingebouwd):



© 1994 GARLAND SCIENCE

De 30.000 genen liggen over beide DNA-ketens verspreid.
 De streng waarop een gen ligt heet *coderende streng*
 De tegenoverliggende streng heet: *matrijs of template-streng*
RNA-polymerase bouwt RNA-nucleotiden in tegen de template streng aan.

Signalen in het DNA vertellen RNA polymerase waar te binden en waar los te laten van het DNA: promotor en terminator-signalen

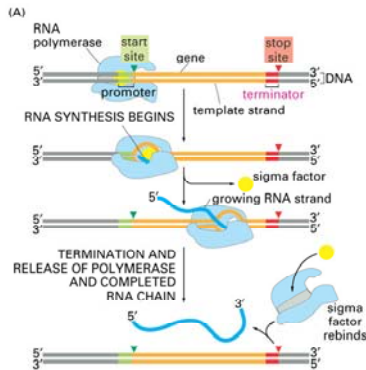
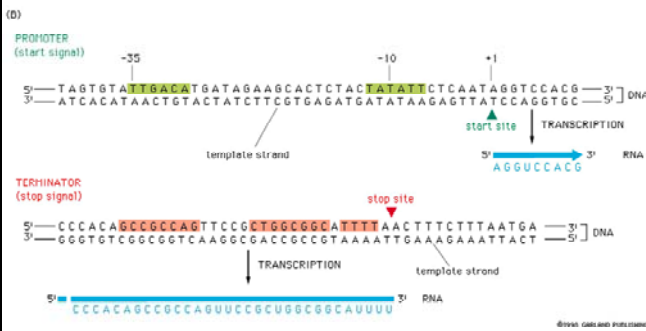


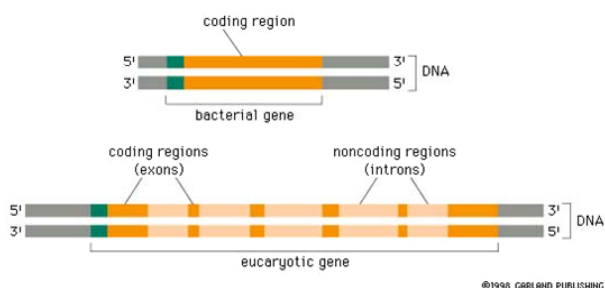
Figure 7-9 part 1 of 2 Essential Cell Biology, 2e. © 2004 Garland Science

De promotor ligt vlak voor het daadwerkelijke gen; de terminator ligt aan het einde van het gen:



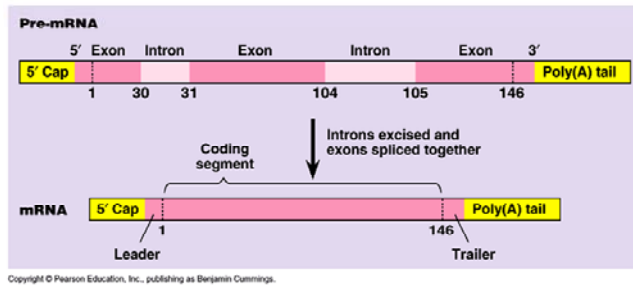
© 2004 Garland Science

Prokaryotische genen bestaan uit één stuk; eukaryotische genen bevatten niet-coderende intronen:



© 2004 Garland Science

Processing: bij eukaryoten worden de intronen weggeknipt en wordt een 5' cap en een 3' poly-A staart aangeplakt:



Samenvatting transcriptie:

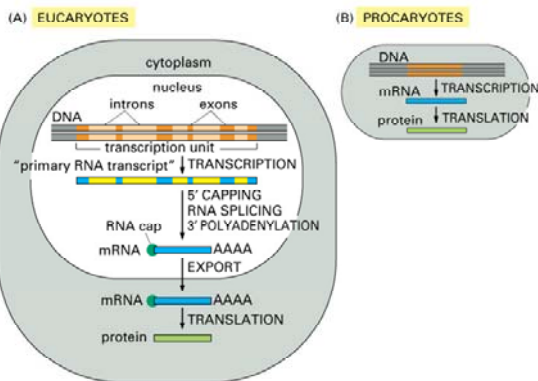
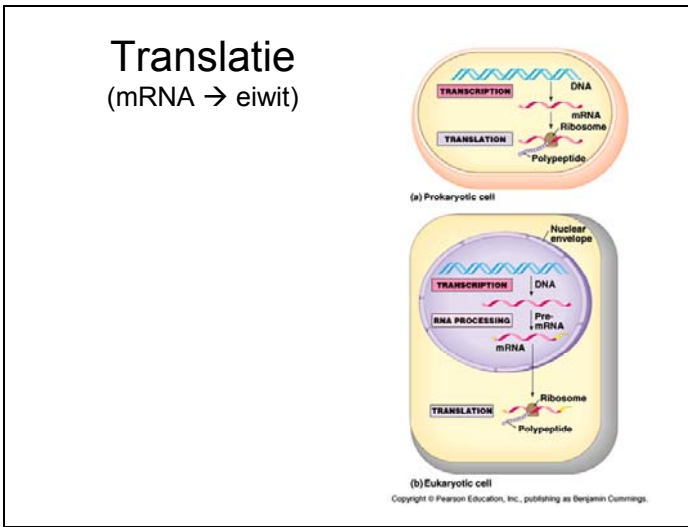


Figure 7-20 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

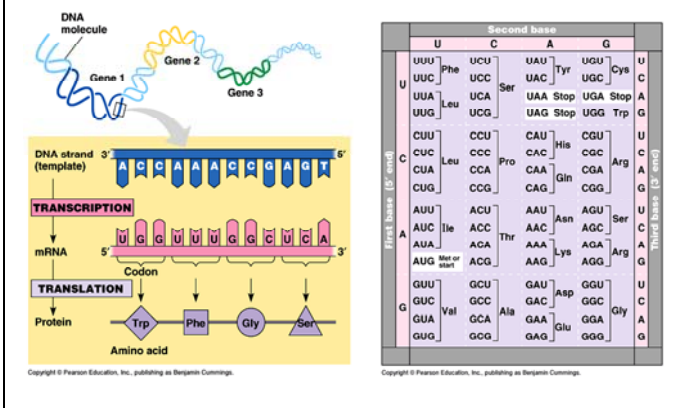
Translatie

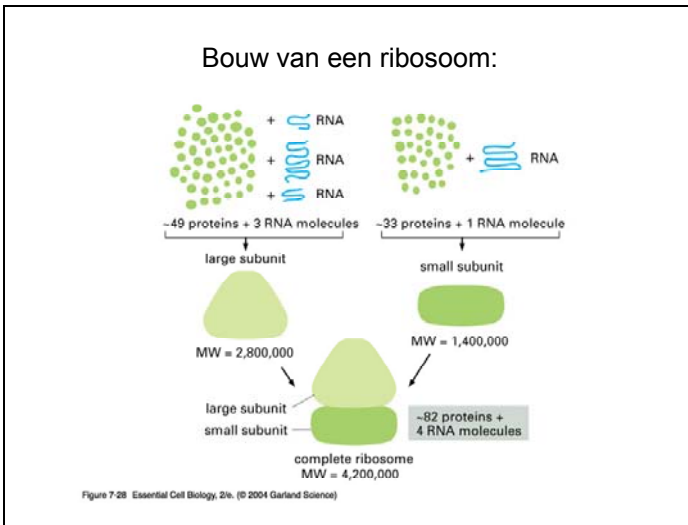


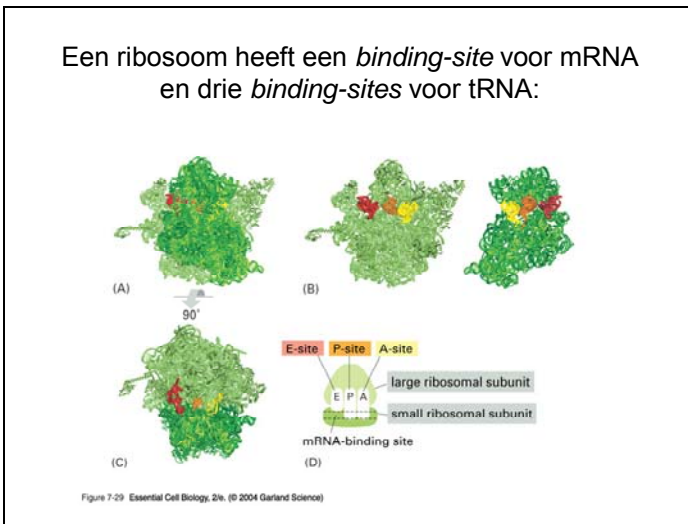
Nodig voor translatie:

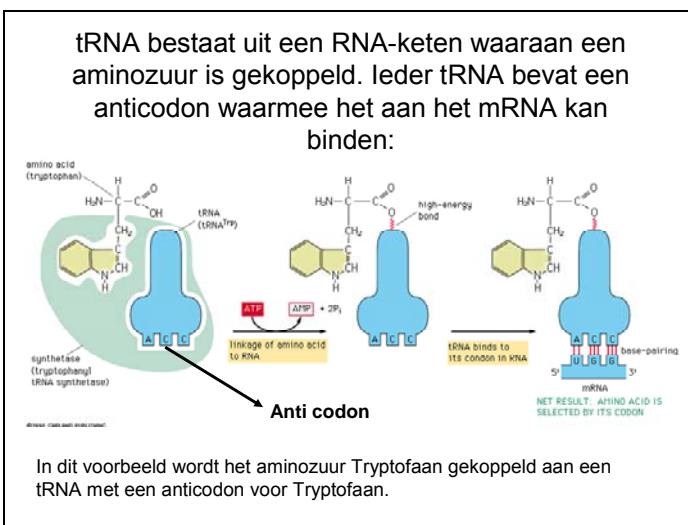
- mRNA (= messenger RNA)
- Ribosoom, onder andere gemaakt van rRNA (= ribosomaal RNA)
- tRNA (= transfer RNA)

In het mRNA coderen iedere drie nucleotiden voor één aminozuur. De sleutel voor die code kun je vinden in de tabel voor de genetische code:



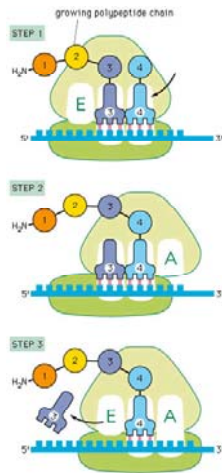






Translatie van mRNA in een ribosoom:

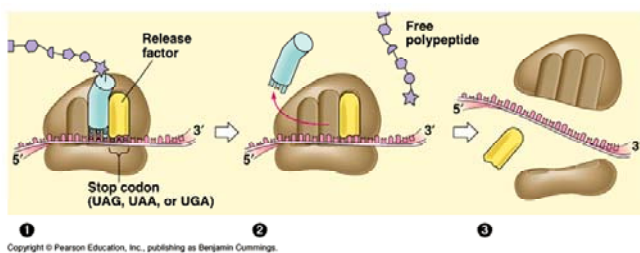
- Stap 1: Een aminoacyl-tRNA molecuul bindt aan een vrije A-site op het ribosoom.
- Stap 2: Een nieuwe peptide binding wordt gevormd tussen het aminozuur op de A-site en het aminozuur op de P-site.
- Stap 3: Het mRNA molecuul beweegt met stappen van 3 nucleotiden door het ribosoom; de tRNA zonder aminozuur laat los.



Start van de translatie:

Het mRNA schuift door het ribosoom. Als in het mRNA een startcodon wordt waargenomen (AUG), wordt het eerste tRNA gebonden (met anticodon UAC) en wordt het eerste aminozuur ingebouwd (methionine)

Terminatie van de translatie:



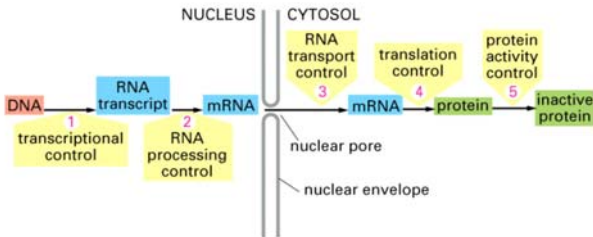
Als in het mRNA een stopcodon (UAG, UAA of UGA) wordt waargenomen, bindt een release factor aan het mRNA en laat de polypeptideketen los.

Regulatie

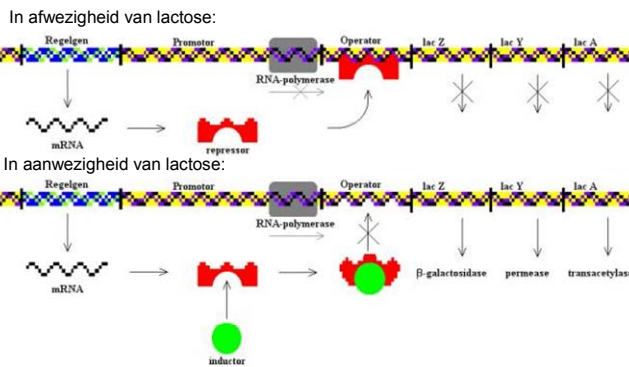
Regulatie van de gen-expressie:

Regulatie wordt geregeld op allerlei niveau's:

- Bij Prokaryoten werkt dat met repressors en activators.
- Bij eukaryoten is dat zeer ingewikkeld:



Een voorbeeld van regulatie bij prokaryoten: het lac-operon



Het lac-operon in woorden:

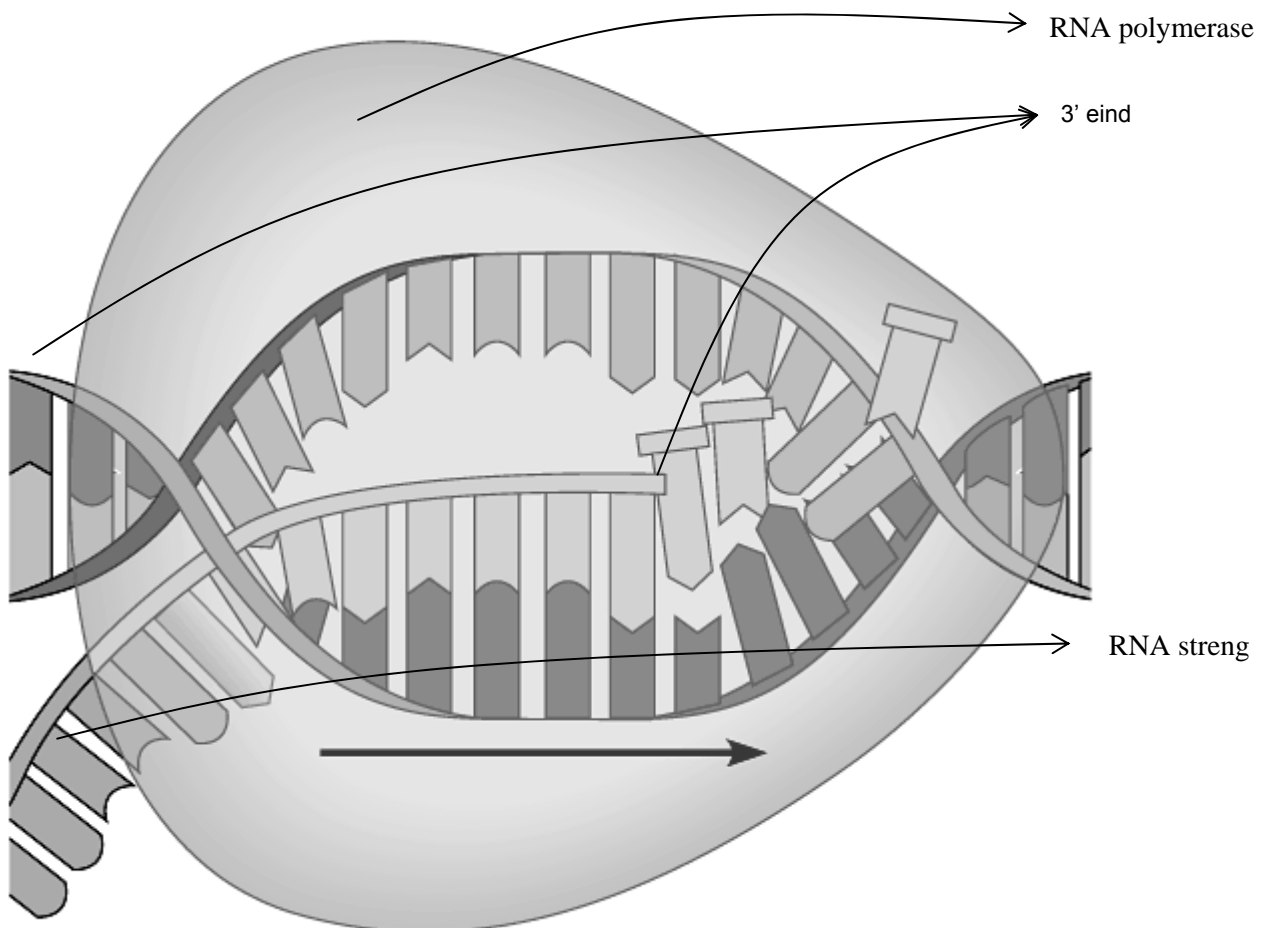
- Als er geen lactose in de omgeving van de bacterie voorkomt, gaat een **repressor** aan een gedeelte van het operon, de **operator**, vastzitten, waardoor er geen enzymen gevormd kunnen worden voor de afbraak van lactose.
- Als er wel lactose voorkomt, onderdrukt lactose de repressor en wordt een mRNA-keten gemaakt waarmee drie enzymen worden gevormd die betrokken zijn bij het de lactose-afbraak

6 Samenvatting transcriptie en translatie in hoofdlijnen

Transcriptie:

RNA wordt gevormd door het enzym *RNA-polymerase*. Het enzym maakt langs bepaalde delen van een DNA-molecuul complementaire RNA-moleculen. De RNA-moleculen worden opgebouwd uit losse RNA-nucleotiden die in het kernplasma aanwezig zijn.

RNA-polymerase kan zich op speciale plaatsen binden aan één van beide nucleotideketens van een DNA-molecuul. Zo'n plaats wordt een **promotor** genoemd. Kort hierna begint het gen. De binding wordt mogelijk gemaakt doordat een promotor een specifieke volgorde van stikstofbasen bevat (meestal TATAAT). Als RNA-polymerase zich aan een promotor heeft gebonden, worden vanaf die plaats in één richting de waterstofbruggen tussen de twee DNA-ketens verbroken. De ketens raken daardoor los van elkaar en de spiraalvorm verdwijnt (zie afbeelding 1).



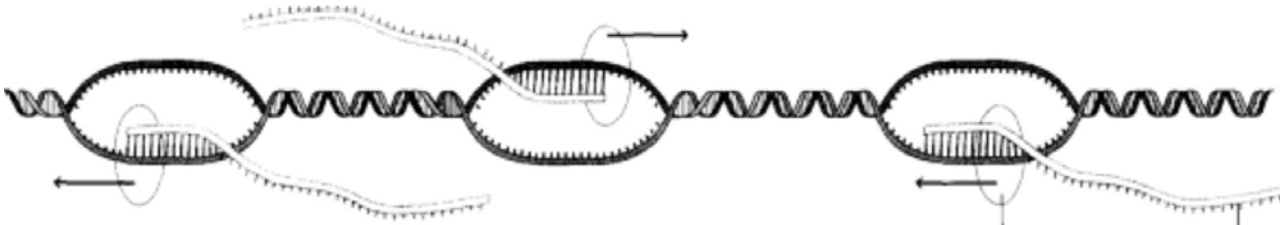
Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Afbeelding 1: transcriptie. De pijl geeft de richting weer waarlangs RNA-polymerase RNA-nucleotiden inbouwt.

De keten met de promotor wordt de **coderende streng** genoemd; de andere keten de **template-streng** (of **matrijs-streng**). Vrije RNA-nucleotiden hechten zich door basenparing aan de nucleotiden van de template-streng. De aangehechte RNA-nucleotiden verbinden zich met elkaar, waardoor een RNA-molecuul ontstaat. Dit RNA-molecuul vormt samen met de template-streng van het DNA een **RNA-DNA-hybride helix**. Het RNA-molecuul dat ontstaat is dus "gelijk" aan de coderende streng.

Het RNA-polymerase schuift nu door naar een volgend stuk van het DNA, en verbreekt daar de waterstofbruggen. In het vorige stuk laat het RNA-molecuul los van het DNA en worden de waterstofbruggen tussen de twee DNA-ketens hersteld. Het DNA neemt daar weer de dubbele helix aan. Het RNA-polymerase blijft doorschuiven tot het einde van het gen is bereikt. Daar bevindt zich een specifieke volgorde van stikstofbasen die de transcriptie doet stoppen (de **terminator**). Het RNA-polymerase laat dan los van het DNA. Het RNA-molecuul laat ook los en wordt via de poriën in het kernmembraan naar het cytoplasma getransporteerd.

De transcriptie bij een gen verloopt altijd langs één van beide DNA-ketens. Voor verschillende genen kan de transcriptie op verschillende DNA-ketens plaatsvinden; dat hangt dus af van de aanwezigheid van een promotor (zie afbeelding 2).

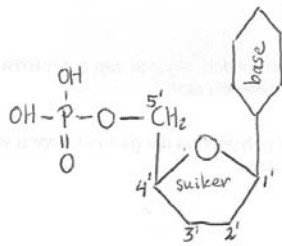


Afbeelding 2: genen liggen op beide ketens en van beide ketens worden dus RNA-moleculen gemaakt.

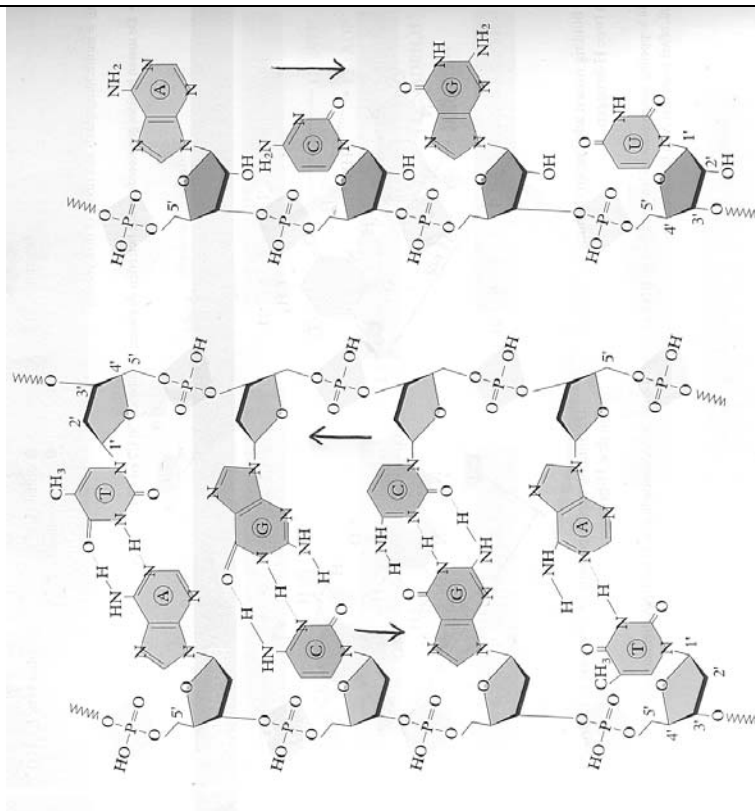
DNA en RNA zouden in theorie naar twee kanten kunnen worden afgelezen. Dat is echter in de praktijk niet het geval: een DNA- en een RNA-keten hebben altijd een richting! Dat heeft te maken met de polymerase-enzymen. Die kunnen maar in één richting nucleotiden aan elkaar koppelen: altijd wordt het 5'-uiteinde van een nucleotide (zie afbeelding 3) gekoppeld aan het 3' uiteinde van een nucleotide dat al is ingebouwd. Het allereerste nucleotide dat is ingebouwd heeft dus een vrijliggend 5'-uiteinde.

LET OP:

- 1. Nieuwe nucleotiden kunnen alleen aan de 3'-kant worden aangekoppeld. Het mRNA begint dus altijd met een 5'-uiteinde en eindigt met een 3'-uiteinde.**
- 2. Omdat RNA van het 5'-uiteinde richting het 3'-uiteinde loopt, moet RNA-polymerase op de template-streng van het 3'-uiteinde richting het 5'-uiteinde bewegen!**
- 3. De coderende streng van het DNA is "gelijk" aan het gemaakte mRNA en moet dus ook vanaf het 5'-uiteinde richting het 3'-uiteinde worden afgelezen.**



Afbeelding 3:
een nucleotide.



Afbeelding 4: RNA (boven) en DNA (onder). Met een pijl is de richting van de transcriptie resp. de replicatie weergegeven.

Translatie:

Een mRNA-molecuul levert de informatie voor de eiwitsynthese die in de ribosomen plaatsvindt. Welke aminozuren in welke volgorde aan elkaar worden gekoppeld, wordt bepaald door de volgorde waarin de stikstofbasen in het mRNA-molecuul voorkomen. Een groepje van drie opeenvolgende nucleotiden codeert voor het inbouwen van één aminozuur in een eiwitmolecuul. Zo'n groepje van drie opeenvolgende nucleotiden heet een **codon** of **triplet**. In de tabel van de genetische code (afbeelding 5) is af te lezen welk codon in een mRNA-molecuul correspondeert met welk aminozuur. De synthese van een polypeptideketen begint met het codon AUG (het **startcodon**). Dit codon correspondeert met het aminozuur methionine. Elke polypeptideketen begint dan ook met methionine.

Drie codons corresponderen niet met een aminozuur: de **stopcodons**. Elk van deze stopcodons geeft het einde aan van de eiwitsynthese.

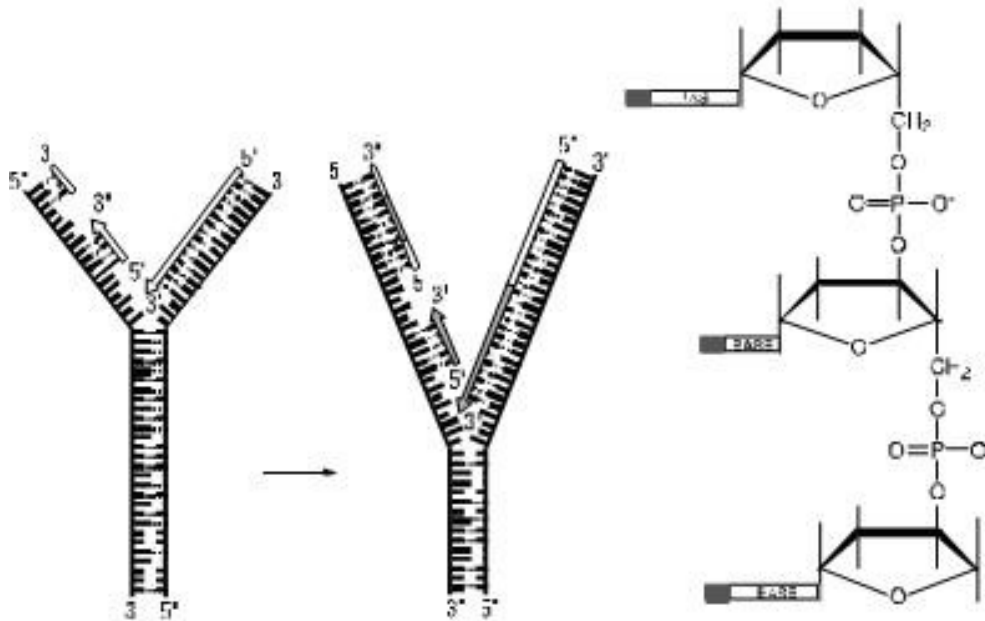
| eerste base (5' einde) | tweede base | | | | derde base (3' einde) |
|---------------------------|------------------|-----|------|------|--------------------------|
| | U | C | A | G | |
| U | Phe | Ser | Tyr | Cys | U |
| | Phe | Ser | Tyr | Cys | C |
| | Leu | Ser | stop | stop | A |
| | Leu | Ser | stop | Trp | G |
| C | Leu | Pro | His | Arg | U |
| | Leu | Pro | His | Arg | C |
| | Leu | Pro | Gln | Arg | A |
| | Leu | Pro | Gln | Arg | G |
| A | Ile | Thr | Asn | Ser | U |
| | Ile | Thr | Asn | Ser | C |
| | Ile | Thr | Lys | Arg | A |
| | Met ¹ | Thr | Lys | Arg | G |
| G | Val | Ala | Asp | Gly | U |
| | Val | Ala | Asp | Gly | C |
| | Val | Ala | Glu | Gly | A |
| | Val | Ala | Glu | Gly | G |

■ Structuurformules van de aminozuren; zie tabel 67 C1.

1 ► startcodon

Afbeelding 5: Tabel van de genetische code.

7 Oefenvragen over replicatie, transcriptie en translatie

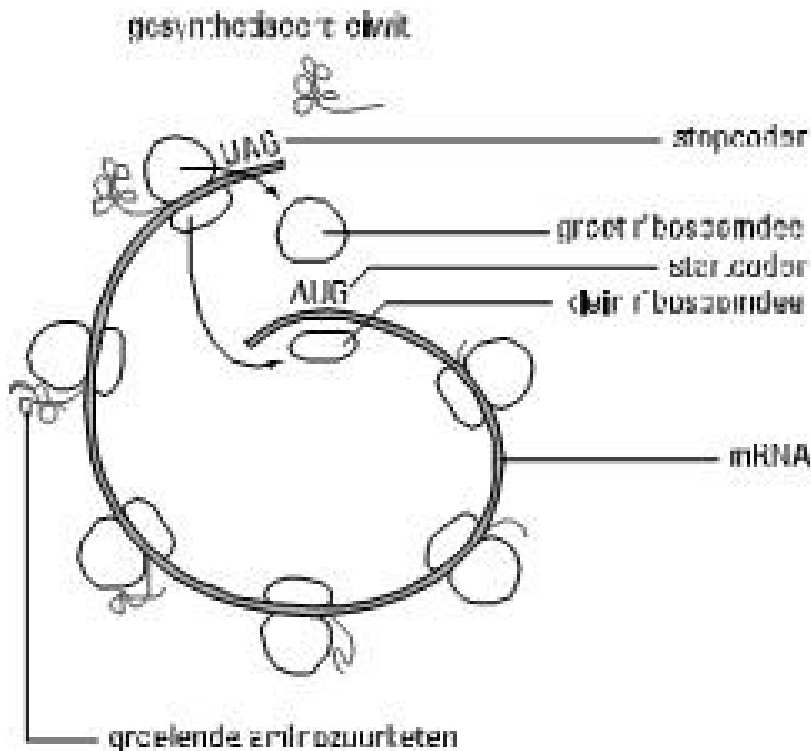


Bovenstaande bron toont de replicatie van DNA en een stukje van een DNA-keten. Daarin zijn op verschillende plaatsen 3'- en 5'-einden aangegeven. Aan het 3'-eind wordt steeds dezelfde stof gekoppeld.

- 1 Welke stof (deoxyribose, base of fosfaat) wordt steeds aan het 3'-eind gekoppeld?
- 2 De volgorde van de nucleotiden in een stukje mRNA-streng is:
3' CCCUGCGUAGGGAGU 5'
Wat is het bijbehorende stukje *coderende* DNA-streng?
A 3' CCCTGCGTAGGGAGT 5'
B 5' CCCTGCGTAGGGAGT 3'
C 3' GGGACGCATCCCTCA 5'
D 5' GGGACGCATCCCTCA 3'
- 3 Hieronder staat de nucleotide-volgorde van een klein stukje enkelstrengs DNA weergegeven.
3' TTAACGAGGAATCTCGATGGCACGGTAAATTATAGGC 5'
Noteer de complementaire DNA-keten.
- 4 Wat is de coderende streng en wat is de template-streng?

- 5 Hieronder is een deel van een DNA-molecuul weergegeven. Gegeven is dat in dit geval RNA-polymerase zich verplaatst van rechts naar links langs het weergegeven stukje DNA. Het hele stukje wordt in dit geval in mRNA vertaald.
5' ACTCAACGTTAC 3'
3' TGAGTTGCAATG 5'
Wat is de basenvolgorde in het stukje mRNA dat door RNA-polymerase wordt gevormd? Geef daarbij ook het 5'-uiteinde en het 3'-uiteinde aan.
- 6 Het hele mRNA wordt in dit geval in aminozuren vertaald. Geef de aminozuurvolgorde van de polypeptide die gemaakt wordt van het mRNA.
- 7 Drie stukjes eiwit (P, Q en R) worden met behulp van drie verschillende moleculen mRNA met de volgende basevolgorde gemaakt:
P AGAGAGAGAGAGAGAGAG
Q CAUCAUCAUCAUCAU
R AAUGAAUGGAUGAAUGGAUG
De stukjes RNA worden van het eerste tot het laatste nucleotide getransleerd.
Welke van de volgende antwoorden toont het juiste aantal verschillende aminozuren waaruit het stukje eiwit is opgebouwd?
- | | P | Q | R |
|---|---|---|---|
| A | 2 | 1 | 4 |
| B | 1 | 3 | 2 |
| C | 2 | 1 | 3 |
| D | 3 | 1 | 4 |
- 8 Door radioactieve straling kunnen in DNA genmutaties worden veroorzaakt. Over genmutaties worden de volgende beweringen gedaan:
1 een genmutatie kan berusten op vervanging van een molecuul adenine door een molecuul guanine
2 een genmutatie kan berusten op vervanging van een molecuul desoxyribose door een molecuul ribose
3 een genmutatie kan berusten op de afsplitsing van een molecuul fosforzuur van het DNA
Welke van deze beweringen is of welke zijn juist?
- A de beweringen 1, 2 en 3
B alleen bewering 1
C alleen bewering 2
D alleen bewering 3
E alleen de beweringen 1 en 2
F alleen de beweringen 2 en 3
- 9 Een onderzoeker stelt de samenstelling van het erfelijk materiaal van een bepaald virus vast: cytosine 17%, adenine 27%, uracil 31% en guanine 25%.
Welke twee verschillen kun je uit deze gegevens afleiden tussen dit virusmateriaal en menselijk erfelijk materiaal?
- 10 Een onderzoeker isoleert het DNA van *Staphylococcus afermentans* en analyseert de basensamenstelling. Cytosines vormen 27% van het totaal. Kan hij met behulp van deze informatie een uitspraak doen over het gehalte aan adenines? Zo ja, hoe groot is dit? Zo nee, waarom niet?

11



In bovenstaande figuur is de synthese van een eiwit in het cytoplasma te zien. Hierover worden enkele opmerkingen gemaakt. Welke daarvan is juist?

- A Er worden tegelijk een aantal verschillende eiwitten met verschillende lengte geproduceerd.
- B Er worden tegelijk een aantal verschillende eiwitten met dezelfde lengte geproduceerd.
- C Er worden tegelijk een aantal dezelfde eiwitten met dezelfde lengte geproduceerd.
- D Er worden tegelijk een aantal dezelfde eiwitten met verschillende lengte geproduceerd.

12 Hieronder staan enkele gebeurtenissen die optreden tijdens de eiwitsynthese:

- 1 het ontstaan van peptidebindingen.
- 2 de transcriptie.
- 3 het ontstaan van een codon – anticodonbinding.

Wat is de juiste volgorde van deze gebeurtenissen?

13 Een stukje mRNA ziet er als volgt uit:

5' ACUGAGAUGGGGGUA 3'

Hoe zien de eerste twee anticodons eruit die aan dit stuk RNA worden gebonden? Neem als eerste het anticodon dat aan het start codon wordt gekoppeld. Geef het 5'- en het 3'-uiteinde aan.

14 In een bacterieel *in vitro* eiwitsynthese systeem wordt het volgende kunstmatige mRNA gebruikt:

5'- A A G U C C G G U G G C U C U A G A U G A G U A A G U A -3'

De initiatie van de translatie verloopt in dit systeem slordig: de translatie kan bij willekeurige nucleotiden in het mRNA starten. De terminatie verloopt echter correct, zoals dat *in vivo* pleegt te gebeuren.

Wat is de aminozuurvolgorde van het langste polypeptide dat in dit eiwitsynthese systeem gesynthetiseerd kan worden? Gebruik voor de namen van de aminozuren de afkortingen die in de tabel van de genetische code wordt gebruikt.

15 Waarin verschilt een prokaryotisch mRNA van een eukaryotisch?

Bron

Bij kanker, AIDS, hemofilie, taaislijmziekte en nog een groot aantal andere ziekten kan gentherapie over een aantal jaren hulp bieden. Daarbij wordt erfelijk materiaal naar de zieke cellen overgebracht met als resultaat een therapeutisch voordeel. Onderzoekers bekijken of het mogelijk is om als vectoren in plaats van verzwakte virussen dragermoleculen toe te passen. Uit de eerste resultaten blijkt dat bepaalde polymeren inderdaad in staat zijn om stukken DNA naar de juiste bestemming te transporteren.

Ontleend aan Natuur&Techniek, maart 1999.

- 16 Gentherapie zal alleen bij de behandeling van monogene ziekten een rol kunnen spelen. Leid hieruit af welke twee eigenschappen van een ziekte bepalen of deze ziekte 'geschikt' is om met gentherapie te behandelen.
- 17 In de bron wordt het gebruik van vectoren beschreven. Wat wordt bedoeld met een vector?
- 18 Geef aan op welke plaats van een cel de vector belangrijk is. Leg ook uit waarom juist daar.
- 19 Het doel van het in de bron aangehaalde onderzoek is het vinden van een alternatief voor het gebruik van virussen als vector. Leg uit welk gevaar er in verband met de werking van het afweersysteem schuilt in het gebruik van de virussen.

Enige jaren geleden is in Nederland een vergunning aangevraagd voor het uitvoeren van experimenten met gentherapie bij mensen. Het gaat hier om patiënten met de zeldzame ziekte van het immuunsysteem SCID (= Severe Combined Deficiency Syndrome).

Door een genmutatie kunnen deze patiënten het enzym ADA (Adenosine-DeAminase), dat actief is in witte bloedcellen, niet maken. Dit veroorzaakt een storing in de afweer die op den duur fataal is. De volgende behandelingsmethoden worden toegepast of onderzocht.

- 1 *SCID-patiënten krijgen door transplantatie beenmerg van een donor; dit wordt het meest toegepast.*
- 2 *Enkele SCID-patiënten worden in de V.S. behandeld door maandelijkse toediening van hun eigen lymfocyten die kunstmatig zijn voorzien van het correcte gen.*
- 3 *In Leiden wil men de stamcellen uit het beenmerg van de patiënten kunstmatig van het correcte gen voorzien en deze gemanipuleerde cellen terugplaatsen. Deze behandeling is al met succes bij resusapen toegepast.*

De behandelde patiënten kunnen nakomelingen krijgen.

- 20 Zouden patiënten die met succes volgens de Amerikaanse methode (2) en volgens de Leidse methode (3) zijn behandeld, het toegediende gen aan hun nakomelingen kunnen doorgeven? Geef een verklaring voor je antwoord
- 21 Drie chemische verbindingen zijn: DNA, mRNA en het enzym ADA. Welke van deze chemische verbindingen wordt bij de manipulatie in methode 2 aan de lymfocyten toegevoegd? En welke wordt in methode 3 aan de beenmergcellen toegevoegd?
- 22 In welke cellen van een onbehandelde SCID-patiënt kan het gemuteerde gen dat hun ziekte veroorzaakt, zich bevinden?
 - A alleen in witte bloedcellen
 - B alleen in geslachtscellen
 - C alleen in diploïd lichaamscellen
 - D in alle cellen met een kern

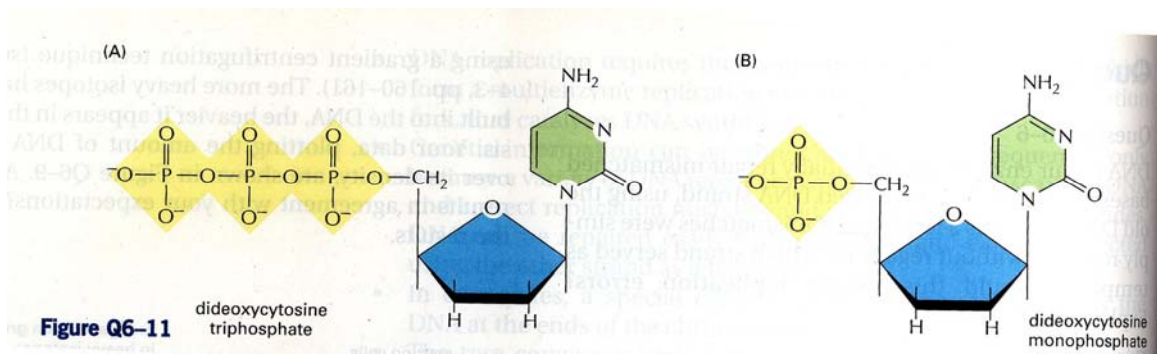
- 23 Bij welke van de drie genoemde behandelingsmethoden bevinden zich in de patiënt alleen lymfocyten met DNA met dezelfde samenstelling als het DNA in zijn hersencellen?
- A bij geen van deze methoden
 - B alleen bij methode 1
 - C alleen bij methode 2
 - D alleen bij methode 3
 - E bij de methoden 1 en 2
 - F bij de methode 1 en 3

Opbouw van het DNA

Voor de DNA-replicatie worden dCTP, dGTP, dATP en dTTP gebruikt. De energie die daarvoor nodig is, komt van de afsplitsing van twee fosfaatgroepen, zodat uiteindelijk de nucleotiden dCMP, dGMP, dAmp en dTMP worden ingebouwd.

Van de vier nucleotiden bestaan ook varianten waarin een zuurstof-atoom ontbreekt aan het 3'-C atoom (de **di**-deoxy-varianten).

Kijk zorgvuldig naar de structuren van onderstaande componenten. Eén van de twee componenten wordt toegevoegd aan een reactiemengsel waarin verder alle benodigdheden voor de replicatie aanwezig zijn.



- 24 Wat verwacht je als component A wordt toegevoegd in grote overmaat vergeleken met het aanwezige deoxycytosine trifosfaat (dCTP)?
- 25 Wat gebeurt er als component B wordt toegevoegd onder dezelfde omstandigheden.

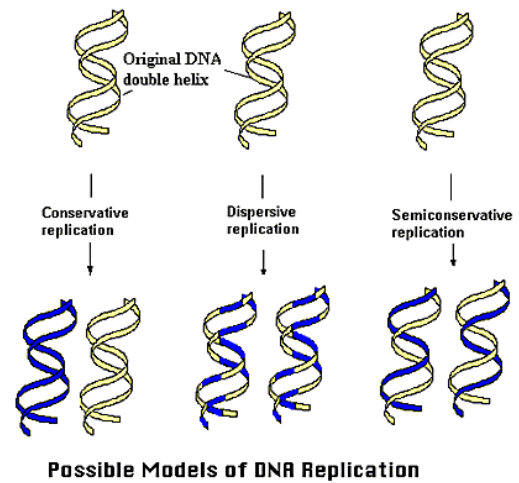
26 Het experiment van Meselson en Stahl

Meselson en Stahl toonden in 1958 aan dat DNA replicatie semi-conservatief is (zie figuur hiernaast). In deze figuur zijn drie verschillende schema's weergegeven van mogelijke manieren van replicatie.

Meselson en Stahl voerden het volgende experiment uit: Ze lieten bacteriën opgroeien in een groeimedium dat de zware isotoop van N bevatte namelijk ^{15}N . Dit deden ze met de bedoeling DNA te verkrijgen dat het ^{15}N bevatte. (welke component van het DNA bevat stikstof?).

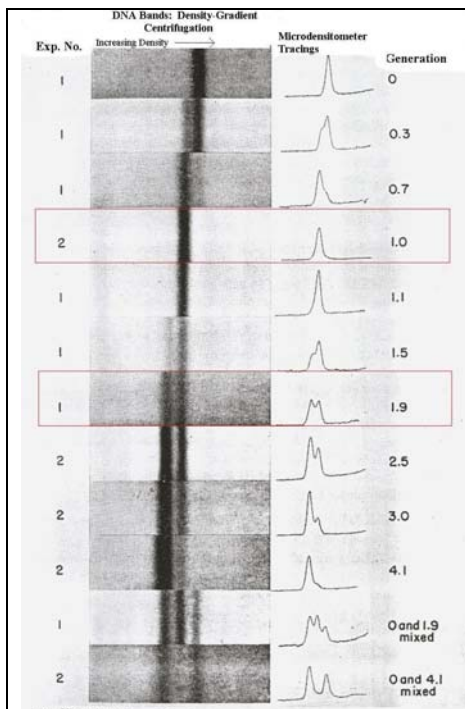
Het kweekmedium waarin ze de bacteriën lieten opgroeien bevatte ^{15}N -ammonium-chloride als de enige stikstofbron (gevolg: De stikstof bevattende basen in het DNA bevatten uitsluitend ^{15}N).

Vervolgens werden de bacteriecultures enkele malen gewassen en weer verder opgegroeid met vers medium bevattend het normale ^{14}N stikstof.



Op verschillende tijden werd het DNA geïsoleerd uit de bacteriën (op verschillende verdubbelingstijden). Dit geïsoleerd DNA werd gemengd met een geconcentreerde CsCl oplossing en vervolgens gecentrifugeerd tot evenwicht. Door de centrifugatie ontstaat er een dichtheidsgradiënt in de centrifugebuis.

De laagste concentratie van het CsCl (laagste dichtheid) bevindt zich in de top van de buis en de grootste concentratie op de bodem van de buis. De DNA-fragmenten komen in de buis op die plaats waar de dichtheid gelijk is aan de dichtheid van DNA. De resultaten van de CsCl-gradiënt na centrifugatie zijn weergegeven in onderstaande figuur. Rechts staat de generatietijd aangegeven.



De CSCI gradiënt na centrifugatie. De plaatsen waar de DNA-banden zich bevinden zijn weergegeven. Links is de top van de centrifugebuis. Rechts staat de generatie tijd aangegeven.

Wat kun je uit dit experiment verklaren?

8 **Nog meer oefenen?**

Door middel van Computer Ondersteund Onderwijs (COO) kun je nog meer oefenen. Een goede COO-module vind je op: <http://www.bio.uu.nl>

- > Ga naar <http://www.bio.uu.nl>
- > Klik op "onderwijs" en vervolgens op "COO (CPIO)"
- > Klik op "Online COO-modules"
- > Klik op "Junior College Utrecht Biologie"
- > Klik op "DNA & eiwitten"

Als wordt gevraagd om de Authorware Plugin klik je op OK en volg je de procedure. Start daarna de computer opnieuw op en zoek opnieuw de module "DNA & eiwitten".

- > Vul je naam in en klik op de groene pijl rechtsonder.

9 Hand-outs bouw en functies van eiwitten

Centrale vraag

Hoe kunnen inzichten in de moleculaire biologie helpen om ziektes te begrijpen, te voorkomen en te genezen?

De deelvragen

1. Wat gebeurt er in de cel?
> *de cel is een biochemische fabriek*
2. Hoe wordt het werk in de cel verzet?
> *eiwitten verzetten het werk*
3. Hoe is de informatie voor eiwitten gecodeerd?
> *DNA bevat de code*
4. Hoe wordt de informatie in het DNA doorgegeven aan nieuwe cellen?
> *door replicatie van het DNA*
5. Hoe wordt de informatie in het DNA omgezet in eiwitten?
> *door transcriptie van het DNA in mRNA en door translatie van het mRNA in eiwitten*
6. Wat zijn eiwitten en hoe komen ze op het juiste moment op de juiste plek in actie?

Eiwitten

Vraag:

Welke functies kunnen eiwitten allemaal hebben?

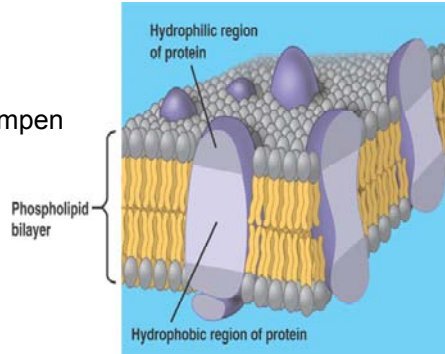
Antwoord:

- Enzymen
- Transport-eiwitten (bijv. kanalen en pompen)
- Hormonale eiwitten (bijv. insuline)
- Receptor-eiwitten
- Bewegings-eiwitten

Functies van eiwitten uitgewerkt:

In membranen komen eiwitten voor als

- Receptoren
- Kanalen en pompen



Kanalen en pompen in het membraan:

Bijvoorbeeld:
 Ionen pomp

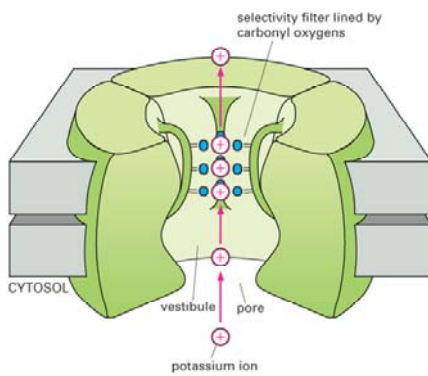


Figure 12-19 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Receptoren in het membraan:

Bijvoorbeeld:
 Hormoonreceptor

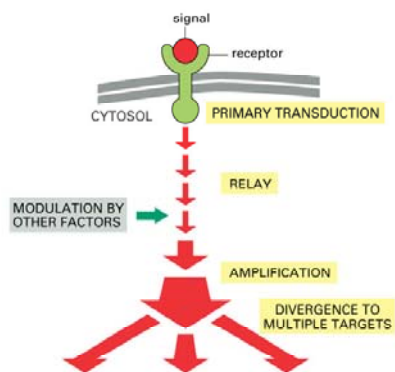
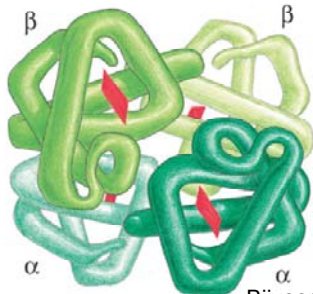


Figure 16-8 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Transport en opslag voor kleine moleculen in de cel:



Bijvoorbeeld:
 Hemoglobine bindt O₂

Figure 4-23 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Schakelaar om genen voor de bouw van eiwitten aan of uit te zetten:

Bijvoorbeeld:

- Activators
- Repressors

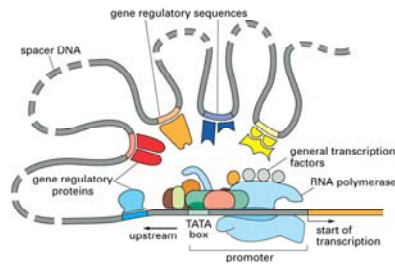
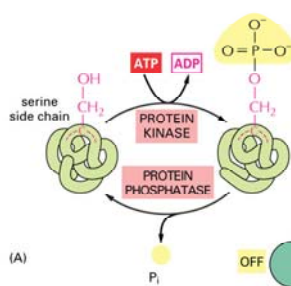


Figure 9-15 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Schakelaar om andere eiwitten aan of uit te zetten:



Bijvoorbeeld: *Protein kinase* zet een fosfaatgroep aan een eiwit, waardoor de vorm verandert en het eiwit actief wordt

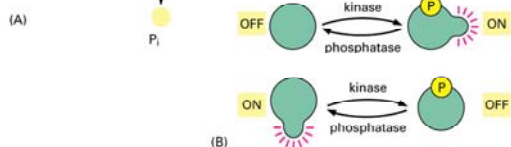


Figure 4-41 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Transportbanden in de cel:

Bijvoorbeeld:

- microtubuli (onderdeel cytoskelet)
- motor eiwitten

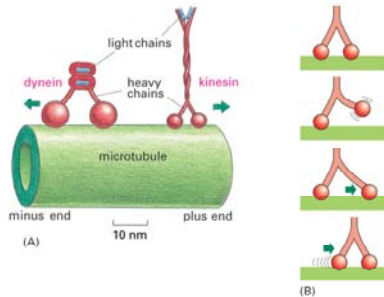


Figure 17-17 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Stevigheid en beweging van de cel:

Bijvoorbeeld:

- Actine eiwitten in het cytoskelet

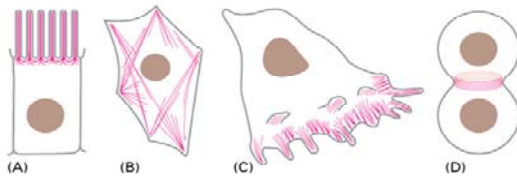
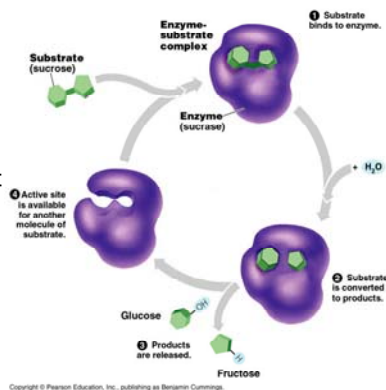


Figure 17-29 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Enzymen:

Een enzym is een katalysator voor een chemische reactie in de cel.

Bijvoorbeeld: het enzym 'sucrase' splitst sucrose in fructose en glucose



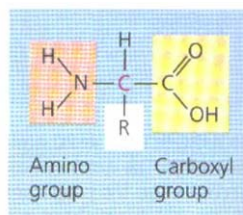
Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Samenvatting: Waarvoor zijn eiwitten nodig?

- Als katalysator (enzym) voor chemische omzettingen
- In het membraan als kanalen en pompen
- In het membraan als receptoren
- Voor transport en opslag van kleine moleculen in de cel
- Als schakelaar om genen voor de bouw van eiwitten aan of uit te zetten
- Als schakelaar om andere eiwitten aan of uit te zetten
- Als transportbanden in de cel
- Voor stevigheid en beweging van de cel

Naamgeving eiwitten (1)

- Een *polypeptide* is een keten van aminozuren
- Een *eiwit* (of proteïne) bestaat uit één of meer polypeptides, gevouwen tot een specifieke driedimensionale structuur
- Er zijn 20 verschillende *aminozuren*



De algemene bouw van een aminozuur:

Naamgeving eiwitten (2)

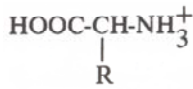
De naam van enzymen eindigt op **-ase**,
bijvoorbeeld: alcoholdehydrogen**ase**, DNA-polymer**ase**,
amyl**ase**

De naam van andere eiwitten eindigt op **-ine**,
bijvoorbeeld: insul**ine**, act**ine**

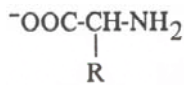
Natuurlijk zijn er ook uitzonderingen, bijvoorbeeld *histonen*,
collageen

En er zijn moderne benamingen, zoals *p53*, *EGF*

De lading van een aminozuur
in oplossing is afhankelijk van de pH:



In een zure omgeving



In een basische omgeving

De lading van een aminozuur in oplossing
is afhankelijk van de pH:

| Group | Acid | Base | Typical pK _a |
|--------------------------------|------|------|-------------------------|
| Terminal α-carboxyl group | | | 3.1 |
| Aspartic acid Glutamic acid | | | 4.1 |
| Histidine | | | 6.0 |
| Terminal α-amino group | | | 8.0 |
| Cysteine | | | 8.3 |
| Tyrosine | | | 10.9 |
| Lysine | | | 10.8 |
| Arginine | | | 12.5 |

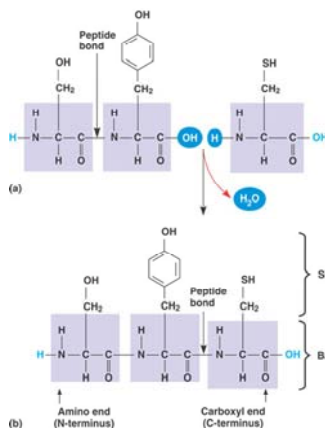
Ook zijgroepen
kunnen positief of
negatief geladen zijn
afhankelijk van de pH

Het *iso-elektrisch punt*
is de pH waarbij de
netto lading van een
aminozuur 0 is, dus
evenveel positieve als
negatieve ladingen.

Zie tabel 67 in binas!

*pK_a values depend on temperature, ionic strength, and the microenvironment of the ionizable group.

Het koppelen van de aminozuren:



Aminozuren worden
gekoppeld tot een
polypeptide in een
(poly)condensatiereactie.

De bindingsplaats tussen
de aminozuren heet
peptide-binding

DE VIER NIVEAU'S VAN DE EIWIT-STRUCTUUR

Primaire structuur: de aminozuur volgorde

Voorbeelden:

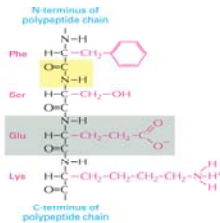
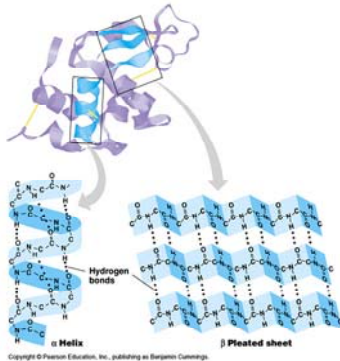


Figure 3.22 Essential Cell Biology, 6e. © 2004 Garland Science

Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

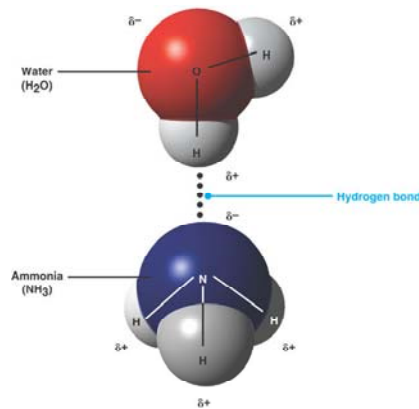
Secundaire structuur: de vouwing van de aminozuurketen als gevolg van waterstof-bruggen tussen de amino-groep en de carboxyl-groep.

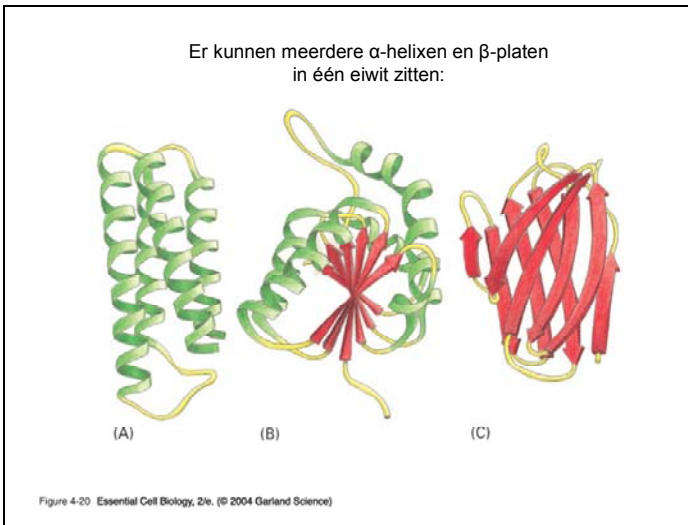
Er zijn twee vormen van een secundaire structuur: de α -helix en de β -plaat:

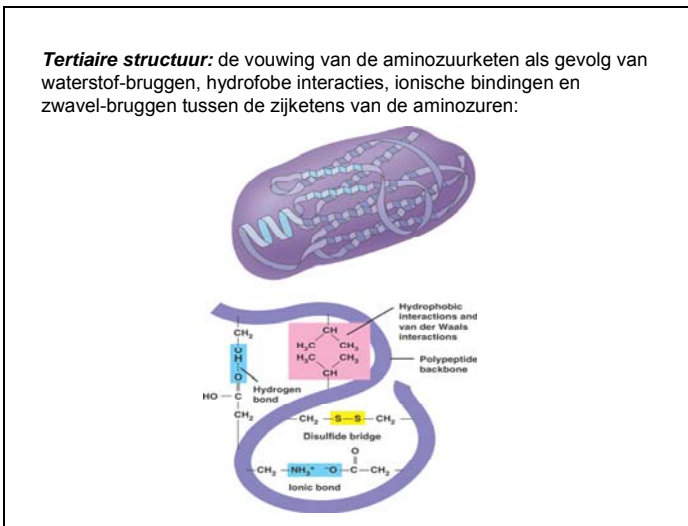


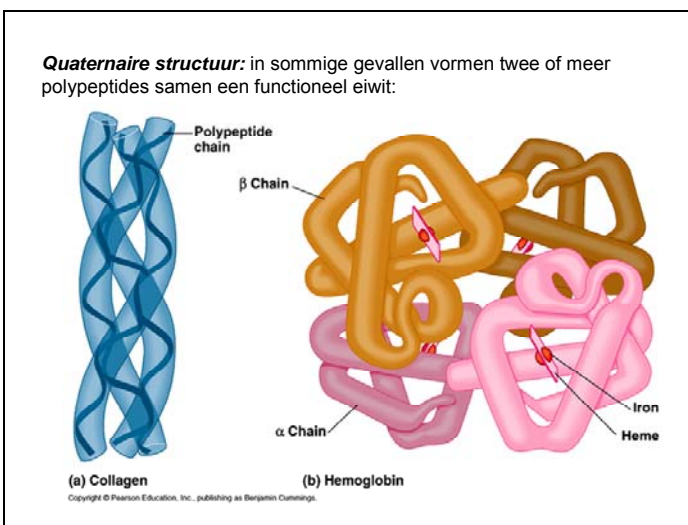
Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

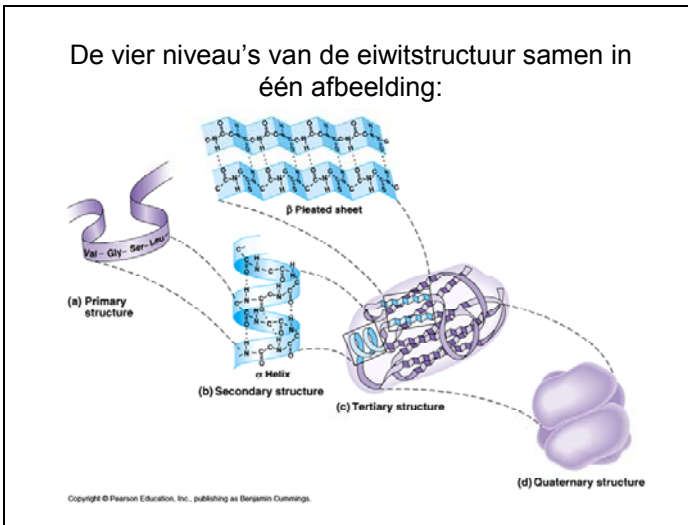
Waterstofbrug:











Een voorbeeld: keratine in je haar

- Haren zijn stevig door het eiwit keratine.
- Keratine heeft de secundaire structuur van een α -helix door de waterstofbruggen \rightarrow .
- Door je haar nat te maken en verwarmen, verbreek je de secundaire structuur en kun je het in vorm brengen.
- Dat is niet erg stabiel: regen of wind verwoesten je kapsel omdat de waterstofbruggen dan weer gevormd worden.

Je kunt je haar ook rigoreuzer in model brengen: permanenten.

Dan verander je de tertiare structuur door zwavelbruggen te verbreken en opnieuw aan te brengen.

eiwitkatens in haar
 thioglycolzuur
 waterstofperoxide
 haar in nieuwe vorm

De 3D-structuur is dus essentieel voor de functie en werking van eiwitten:

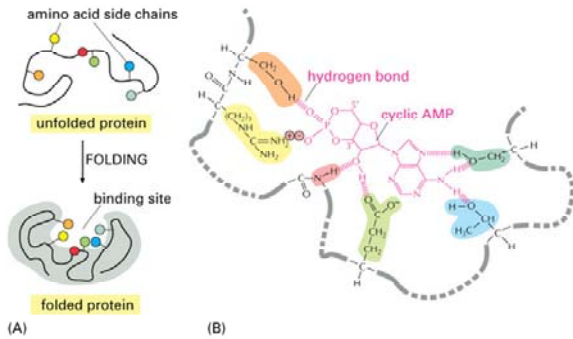
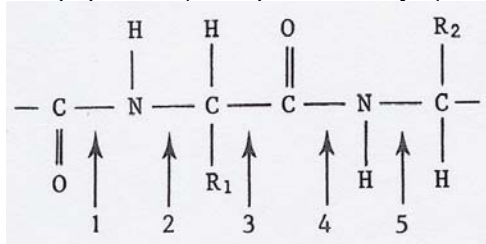


Figure 4-31 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

10 Oefenvragen over eiwitten

Eiwitbouw

- 1 Welke binding(en) in onderstaand deel van een eiwitmolecuul kan (kunnen) worden verbroken door een peptidase (eiwitsplitsend enzym)?



- A alleen 3
B alleen 1 en 4
C alleen 2 en 5
D 1, 2, 3, 4 en 5
- 2 De structuur van een eiwit wordt bepaald door de aminozuurvolgorde van het eiwit. Als je een genetisch gemodificeerd eiwit maakt waarin de aminozuurvolgorde exact is omgekeerd, krijg je dan een eiwit met dezelfde structuur? Licht je antwoord toe.
- 3 Welk van de volgende aminozuren verwacht je vaker in het centrum van een gevouwen eiwit aan te treffen? Welke verwacht je meer aan het oppervlak van het eiwit? Gebruik bij deze vraag je Binas en licht je antwoord toe.

Ser, Leu, Lys, Gln, Val, Ile, Cys-S-S-Cys (dit laatste zijn twee cysteïnes die een zwavelbrug vormen)

Computereiwitten

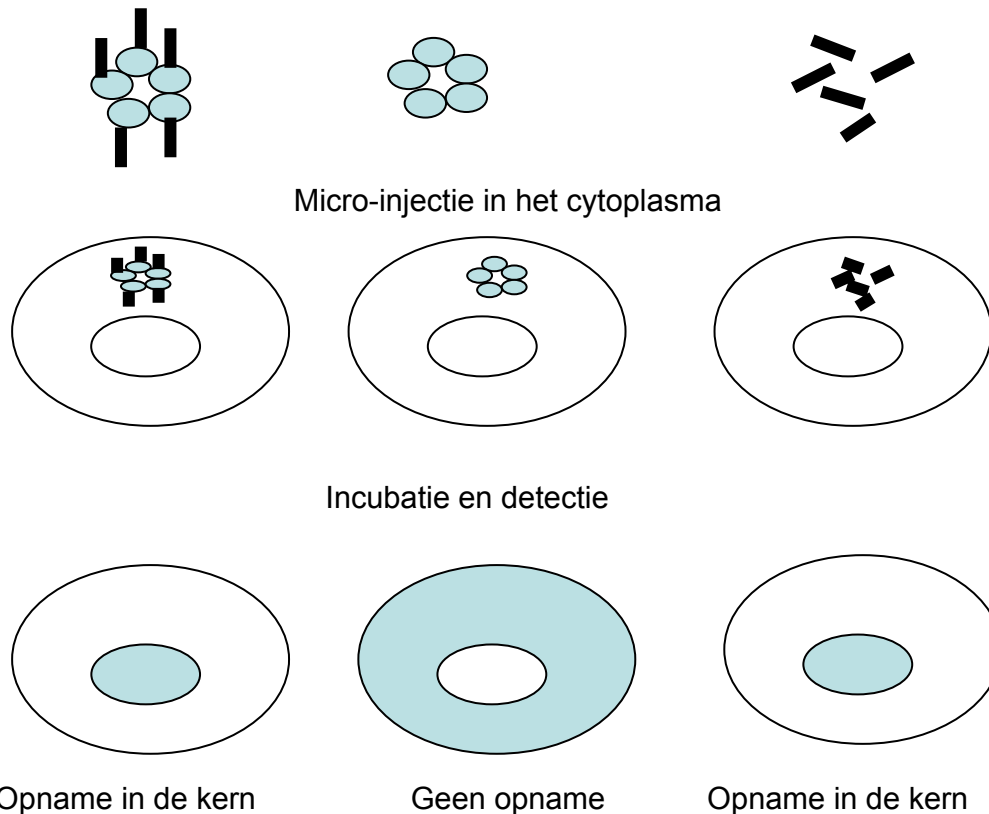
Computers zijn tegenwoordig onmisbaar bij het ophelderen van de ruimtelijke structuur van eiwitten. Deze kennis is van cruciaal belang bij het ontwerpen van nieuwe moleculen. Nadat een eiwit is gebombardeerd met röntgenstralen, bouwt de computer daarvan een driedimensionaal beeld op. Op deze wijze is de structuur van een groot aantal eiwitten opgehelderd. Nieuwe software geeft onderzoekers nu de mogelijkheid om nieuwe eiwitten te ontwerpen of bestaande te verbeteren. Een belangrijke toepassing is het ontwerpen van nieuwe medicijnen, bijvoorbeeld stoffen die de werking van een bepaald enzym blokkeren of verhinderen. Zo heeft men met de computer vele stoffen gescreend om er een te vinden die een bepaald enzym van het HIV-virus kan blokkeren. Van dit enzym werd de ruimtelijke structuur bepaald waarna een afgietsel van de bindingsplaats werd vergeleken met de vorm van zo'n 10.000 moleculen. Op deze manier is een stof gevonden die wellicht op termijn kan worden ingezet bij de AIDS-therapie.

(Bron: *Natuur en Techniek*, 1994.)

- 4 Bovenstaande bron beschrijft de bepaling van de ruimtelijke structuur van een eiwit uit het HIV-virus met behulp van röntgenstralen en een computer. Leg uit waarom alleen de bepaling van de aminozuurvolgorde onvoldoende gegevens oplevert.
- 5 Geef aan waarom er een afgietsel van de bindingsplaats werd gebruikt.
- 6 Leg in drie stappen uit hoe het nieuw ontwikkelde medicijn na toediening het HIV-virus onschadelijk maakt.

Nucleoplasmine

Nucleoplasmine is een groot eiwit dat werkzaam is in de kern en in het cytoplasma gesynthetiseerd wordt. Dit eiwit bestaat uit 2 domeinen: kopdomein en staartdomein. Deze twee domeinen zijn van elkaar los te koppelen door middel van een specifiek protease (eiwit knipper). Het intacte nucleoplasmine, bestaande uit beide domeinen, is radioactief te labelen. Micro-injectie van dit radioactieve eiwit en de losse domeinen (kopdomein en staartdomein) in het cytoplasma van de eicel van een pad gaf na incubatie onderstaande resultaten.



7 Welke conclusie kun je trekken over de functie van het staartdomein?

8 De onderzoekers gingen nog verder en kwamen de volgende aminozuurvolgorde tegen in het nucleoplasmine: ---Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val--- (A). Door een mutatie aan te brengen in deze volgorde ----Pro-Pro-Lys-Thr-Lys-Arg-Lys-Val--- (B) bleek het nucleoplasmine niet meer gelokaliseerd te zijn in de kern (zie figuur hiernaast).

Wat kun je uit dit experiment concluderen?

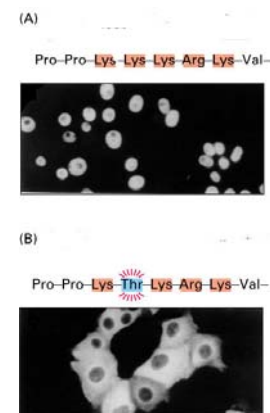


Figure 12-12. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

9 Licht toe op welk domein (kop of staart) deze aminozuurvolgorde ligt.

11 Hand-outs werking van enzymen

Enzymen

Enzymen zijn eiwitten die chemische omzettingen katalyseren:



(E = enzym)

S = substraat

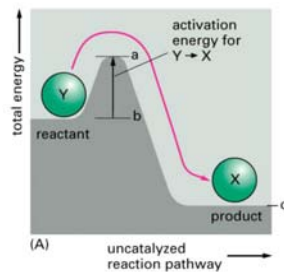
P = product

ES = enzym-substraat-complex)

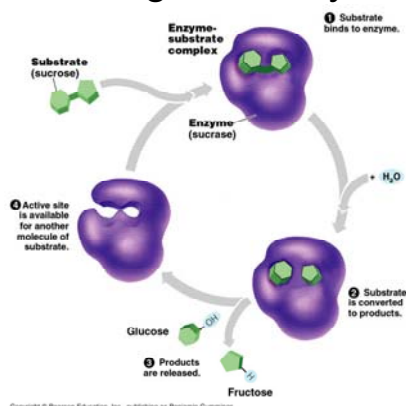
Activeringsenergie:

Chemische omzettingen verlopen alleen als er eerst activeringsenergie wordt toegevoegd (meestal warmte). Voorbeelden:

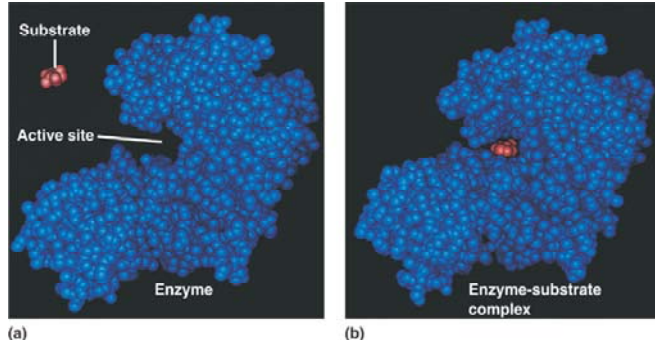
- Dieselolie komt pas tot ontbranding in een motor als het sterk wordt samengedrukt.
- Een kaars gaat pas branden nadat je er een lucifer bijgehouden hebt.



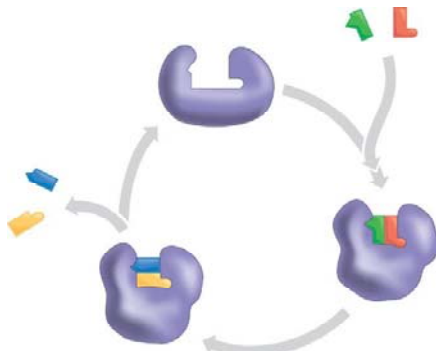
Werking van enzymen



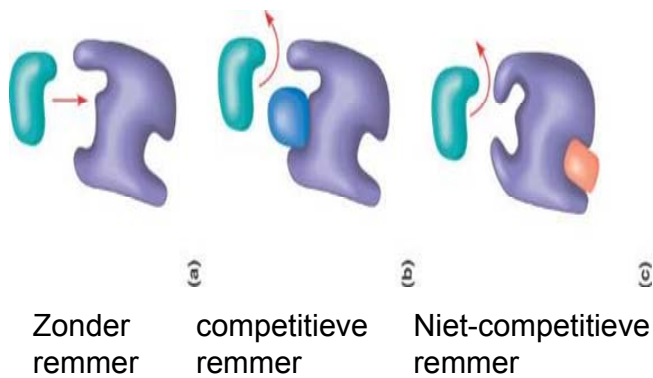
De vorm bepaalt dat enzymen specifiek werken, want alleen dan past het substraat precies:



Enzymen zijn "substraat specifiek": ieder enzym heeft een unieke bindingsplaats ("active site") waar het substraat wordt gebonden en omgezet:

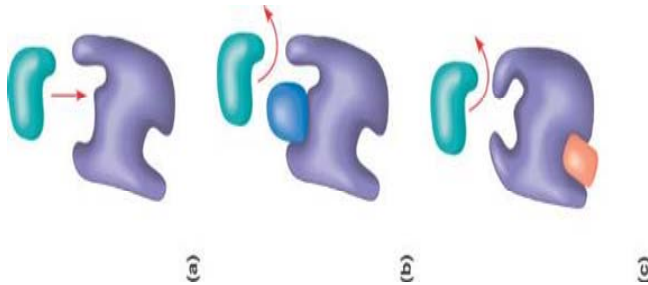


Enzymen kunnen geremd worden waardoor de enzymactiviteit afneemt:

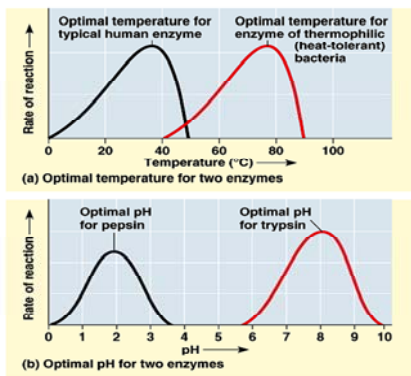


Vraag:

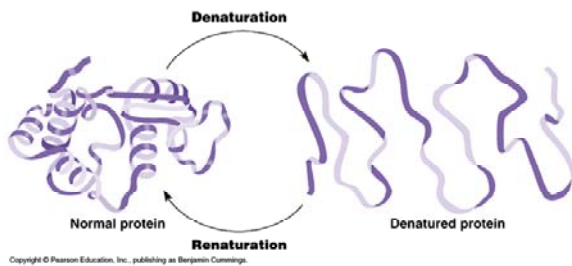
Wat is het effect van toevoegen van meer substraat bij aanwezigheid van competitieve en niet-competatieve remmers?



De enzymactiviteit is afhankelijk van factoren in de omgeving zoals pH en temperatuur:

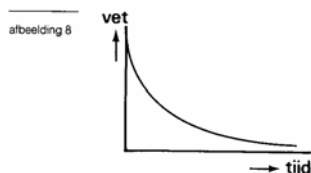


Onder extreme omstandigheden denatureert het eiwit en wordt het (tijdelijk) onwerkzaam:

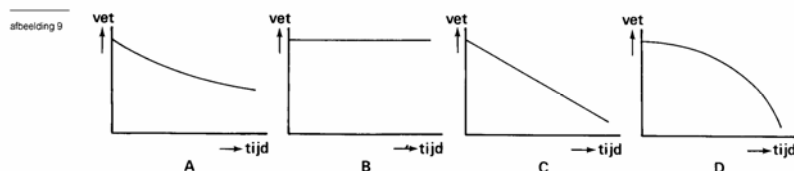


12 Oefenvragen over enzymen (herhaling van thema fysiologie)

- 2p 1 Enzymen zijn
 A koolhydraten
 B mineralen
 C lipiden
 D nucleïnezuren
 E eiwitten
- 2p 2 Waarin verschilt een enzym van een katalysator?
 A een enzym werkt op talloze substraten
 B een enzym kan de activeringsenergie niet verlagen
 C een enzym werkt specifiek
 D een enzym kan de richting van de reactie niet bepalen
- 2p 3 Tijdens een experiment wordt in een reageerbuis vet afgebroken door een enzym in aanwezigheid van gal. In het onderstaande diagram (afbeelding 8) is het verband weergegeven tussen de tijd dat het experiment duurt en de hoeveelheid overgebleven vet.



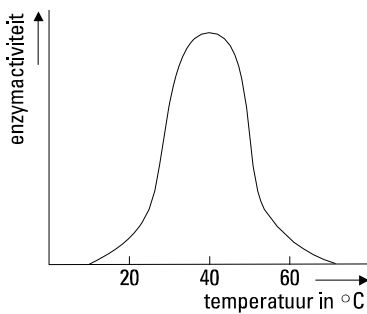
Een tweede experiment wordt op dezelfde wijze uitgevoerd zonder toevoeging van gal. In afbeelding 9 zijn vier diagrammen getekend. In welk van deze diagrammen wordt het resultaat van het tweede experiment juist weergegeven?



- A in diagram A
 B in diagram B
 C in diagram C
 D in diagram D
- 2p 4 In ieder van de drie reageerbuizen K, L en M wordt 0,5 ml van een oplossing van enzym Q gepipetteerd. Daarna worden de buizen bewaard bij 45 °C: buis K 10 minuten, buis L 20 minuten en buis M 30 minuten. Vervolgens wordt aan iedere buis 3 ml substraatoplossing toegevoegd, waarna iedere buis 30 minuten op 35 °C wordt gehouden. Daarna wordt de hoeveelheid substraat in ieder van de buizen gemeten. De optimum-temperatuur van enzym Q is 35 °C. Eén van de staafdiagrammen geeft de resultaten van de metingen juist weer. Welk diagram is dat?



2p 5



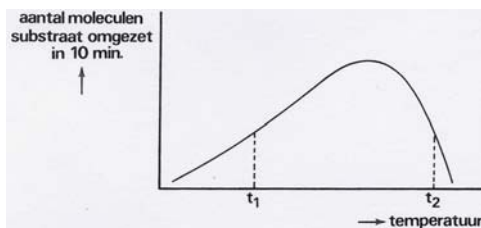
In bovenstaande figuur is de activiteit van een enzym zoals die door middel van onderzoek is vastgesteld, uitgezet tegen de temperatuur. In een reageerbuis, waarin het enzym is samengebracht met een overmaat aan het om te zetten substraat, verhoogt men langzaam de temperatuur.

Wanneer is de omzettingssnelheid van een werkend enzymmolecuul het hoogst?

- A rond de 40°C, want dat is de optimale temperatuur voor dit enzym
- B rond de 60°C, want dat is de optimale temperatuur voor dit enzym
- C rond de 40°C, want dat is de maximale temperatuur voor dit enzym
- D rond de 60°C, want dat is de maximale temperatuur voor dit enzym

2p 6

In het diagram is van een enzymreactie het verband aangegeven tussen de temperatuur en het aantal moleculen dat in 10 minuten wordt omgezet.

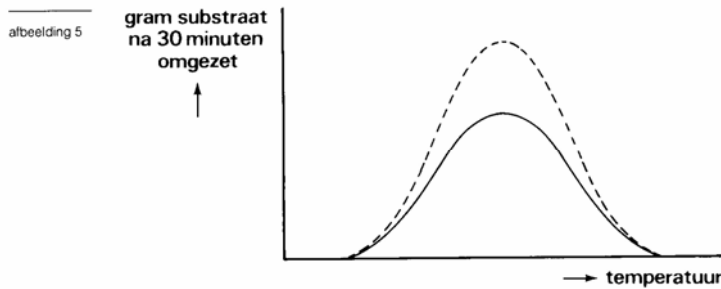


Het aantal moleculen substraat dat in 10 minuten wordt omgezet is bij t_1 en t_2 even groot.

Wat is de juiste verklaring hiervoor?

- A bij t_1 en t_2 zijn evenveel enzymmoleculen werkzaam
- B bij t_1 zet elk enzymmolecuul evenveel substraat om als bij t_2
- C bij t_1 blijven er meer enzymmoleculen werkzaam dan bij t_2 , maar bij t_1 zet ieder enzymmolecuul per minuut minder substraat om dan bij t_2 .
- D bij t_1 blijven er minder enzymmoleculen werkzaam dan bij t_2 , maar bij t_1 zet ieder enzymmolecuul per minuut meer substraat om dan bij t_2 .

- 2p 7 Iemand laat bij verschillende temperaturen een bepaald enzym gedurende een half uur inwerken op een substraatoplossing. Daarna meet hij hoeveel substraat in dat halve uur is omgezet. Tijdens alle experimenten is een overmaat aan substraat aanwezig. De hoeveelheid substraat die wordt omgezet, is in het diagram hieronder uitgezet tegen de temperatuur (weergegeven met ____). Met ---- is het resultaat weergegeven van dezelfde enzymreactie onder andere omstandigheden.

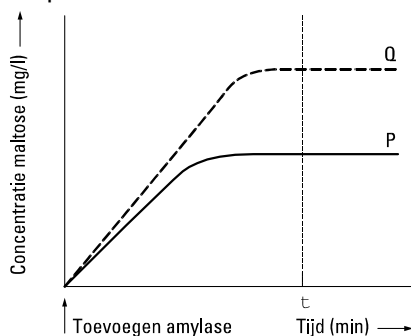


Over de andere omstandigheden worden de volgende beweringen gedaan:

- I er zijn meer enzymmoleculen toegevoegd
II de reacties vinden plaats bij een andere pH
Kan bewering I juist zijn? En bewering II?

| | bewering I | bewering II |
|---|------------|-------------|
| A | ja | ja |
| B | ja | nee |
| C | nee | ja |
| D | nee | nee |

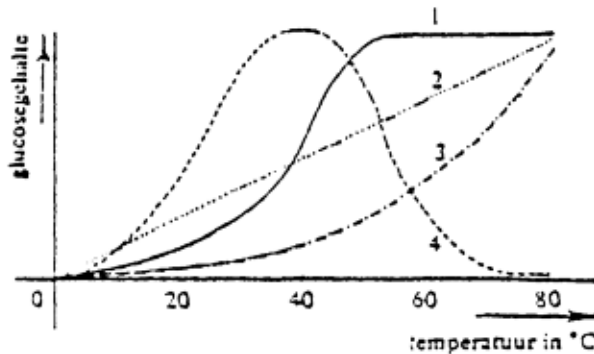
- 3p 8 Door leerlingen wordt de werking van het enzym amylase bij een bepaalde temperatuur bestudeerd. Hiertoe wordt aan zetmeel in water een bepaalde hoeveelheid van het enzym amylase toegevoegd (experiment p). Door inwerking van amylase op zetmeel wordt maltose gevormd. In het diagram hieronder geeft grafiek P het resultaat weer van experiment p bij een temperatuur van 25°C.



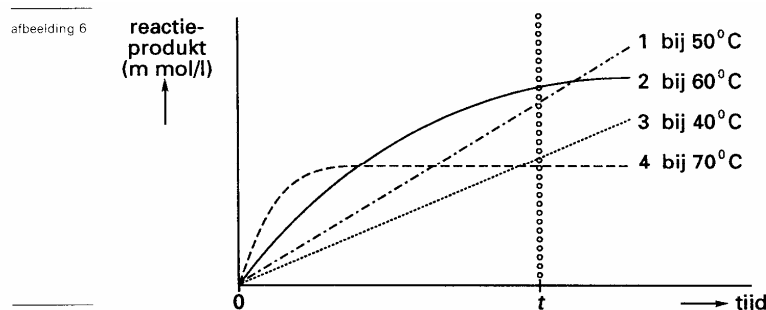
Een leerlinge overweegt de volgende wijzigingen van experiment p: een verhoging van de enzymconcentratie (1), een verhoging van de zetmeelconcentratie (2) of een combinatie van deze beide wijzigingen (1 en 2). Andere omstandigheden, zoals temperatuur en pH, laat zij gelijk. Zij doet een nieuw experiment (experiment q) en krijgt als uitkomst grafiek Q. Welke van de wijzigingen (1), (2) en (1 en 2) heeft zij gekozen? Geef een verklaring voor je antwoord.

- 1p 9 Waardoor neemt na tijdstip t de hoeveelheid gevormde maltose in beide experimenten p en q niet meer toe?

- 4p 10 Aan een reageerbuis gevuld met een overmaat aan maltose-oplossing van 0°C wordt een enzym afkomstig van een zoogdier toegevoegd dat maltose omzet in glucose. De inhoud van de buis wordt al roerend langzaam tot 80°C verwarmd. Welke grafiek uit de figuur hieronder kan juist aangeven hoe het glucosegehalte in de buis verandert? Verklaar *volledig* het verloop van deze grafiek.



- 2p 11 In een experiment wordt de reactie van een bepaald enzym dat bij de mens voorkomt, bestudeerd bij vier verschillende temperaturen. Een oplossing met dit enzym wordt in gelijke hoeveelheden verdeeld over vier bekers P, Q, R en S. Deze bekers worden vervolgens op een bepaalde temperatuur gebracht en daar vanaf tijdstip 0 even lang op gehouden: bekers P op 40°C, bekers Q op 50°C, bekers R op 60°C en bekers S op 70°C. Op tijdstip 0 wordt aan elk beker een gelijke hoeveelheid substraat toegevoegd met dezelfde temperatuur als de oplossing in het bekers. Vervolgens wordt regelmatig de concentratie van het reactieproduct in de bekers bepaald. De resultaten zijn weergegeven in het diagram hieronder.



De grafieken 1, 2, 3 en 4 geven de hoeveelheid reactieproduct weer die bij respectievelijk 50°C, 60°C, 40°C en 70°C in de loop van de proef is gevormd.

Bij welke van deze temperaturen is op tijdstip t de reactiesnelheid van de enzymoplossing in het bekers het grootst?

- A bij 40°C
- B bij 50°C
- C bij 60°C
- D bij 70°C

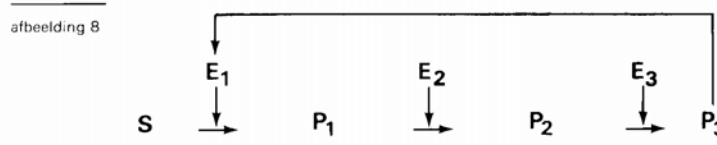
- 2p 12 Concurrerende inhibitie berust op
- A het tijdelijk veranderen van het substraat.
 - B het tijdelijk veranderen van het enzym.
 - C het bezetten van het aangrijpingspunt op het substraat.
 - D het bezetten van de actieve bindingsplaats van het enzym.

- 2p 13 De werking van enzymen kan op verschillende manieren worden geremd. Zo zijn er remstoffen die werkzaam zijn doordat ze de structuur van het enzym veranderen (type 1). Andere remstoffen (type 2) zijn werkzaam doordat ze, wat hun structuur betreft, erg veel lijken op het substraat dat gewoonlijk wordt omgezet; zowel substraat als een remstof van type 2 verkeren hierbij in een evenwichtsreactie met het enzym. Bij een experiment wordt aan een bepaalde hoeveelheid enzym in reageerbuis 1 zoveel remstof van type 1 toegevoegd, dat alle enzymmoleculen onwerkzaam zijn. Hetzelfde gebeurt in reageerbuis 2 met remstof van type 2. Hierna wordt aan beide buizen een aantal malen substraat toegevoegd. Wat kan verwacht worden omtrent een omzetting van dit substraat?

| | buis 1 | buis 2 |
|---|----------------------|----------------------|
| A | toenemende omzetting | toenemende omzetting |
| B | toenemende omzetting | geen omzetting |
| C | geen omzetting | toenemende omzetting |
| D | geen omzetting | geen omzetting |

- 2p 14 Men laat een enzymreactie verlopen bij een zodanige temperatuur dat de hoogste reactiesnelheid wordt bereikt. Het reactiemengsel wordt uitsluitend geschud. Er wordt geen vloeistof aan het mengsel onttrokken. Hoewel er voldoende substraat aanwezig is, blijkt de reactiesnelheid geleidelijk af te nemen. Kan remming door het substraat een verklaring zijn voor deze afname? Kan remming door het product een verklaring zijn voor deze afname? En kan vermindering van de concentratie van het enzym een verklaring zijn voor deze afname? Schrijf de letter op van het juiste alternatief.
- A Alleen remming door het substraat kan een verklaring zijn.
 B Alleen remming door het product kan een verklaring zijn.
 C Alleen vermindering van de concentratie van het enzym kan een verklaring zijn.
 D Alleen remming door het substraat en door het product kunnen een verklaring zijn.
 E Alleen remming door het substraat en vermindering van de concentratie van het enzym kunnen een verklaring zijn.
 F Alleen remming door het product en een vermindering van de concentratie van het enzym kunnen een verklaring zijn.
 G Zowel remming door het substraatremming, als remming door het product, als vermindering van de concentratie van het enzym kunnen een verklaring zijn.

- 2p 15 Er bestaat een vorm van enzymremming waarbij het eindproduct van een reactieketen werkt als remmer van de activiteit van één van de enzymen die aan de reactieketen deelnemen. De remmende stof bindt zich aan dat enzym waardoor het enzym tijdelijk onwerkzaam wordt. De reactie tussen remstof en enzym is een evenwichtsreactie. In de afbeelding hieronder is een schema van een reactieketen weergegeven waarin E_1 , E_2 en E_3 enzymen zijn en P_1 , P_2 en P_3 reactieproducten zijn. P_3 remt E_1 .

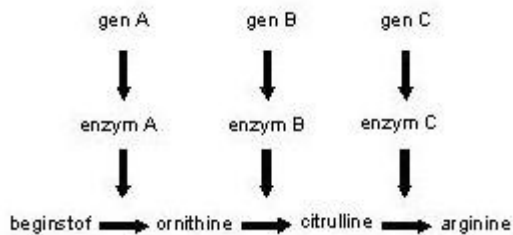


Drie situaties in de cel, die invloed hebben op de hoeveelheid P_3 die per tijdseenheid wordt geproduceerd, zijn:

- I het verwijderen van P_3 uit de cel
- II het toevoegen van P_3 aan de cel
- III omzetting van P_3 in een andere stof, die geen remstof van E_1 is

In welk of in welke van deze situaties zal de productie van P_3 per tijdseenheid hoger worden?

- 3p 16 Een broodschimmel produceert aminozuren via een keten van enzymreacties op de volgende manier (zie de afbeelding hieronder).



Karel doet op grond van de afbeelding een aantal beweringen:

- I Enzym A katalyseert de reactie waarbij ornithine wordt gevormd uit de beginstof.
 - II Als gen B er niet zou zijn, dan zou arginine rechtstreeks gevormd worden uit ornithine.
 - III Als gen A wordt vernietigd zou de schimmel kunnen overleven mits er ornithine aan het voedingsmedium wordt toegevoegd.
 - IV Als gen B wordt vernietigd zou de schimmel kunnen overleven mits enzym B door de schimmel uit het voedingsmedium kan worden opgenomen.
 - V Gen C codeert voor de vorming van enzym C.
 - VI De bij de afzonderlijke reacties betrokken enzymen hebben verschillende co-enzymen nodig.
- Deel deze beweringen op de volgende manier in.
- a) een goede conclusie
 - b) een verkeerde conclusie
 - c) een conclusie die waar kan zijn maar die niet volgt uit de afbeelding
 - d) geen conclusie, maar een vertaling in woorden van de in de afbeelding gegeven informatie

Schrijf bij ieder van de beweringen I t/m VI de juiste letter a, b, c of d op je antwoordblad.

13 Cystic Fibrosis: klein foutje in de DNA-code met desastreuze gevolgen

In deze module vormt de ziekte Cystic Fibrosis de rode draad. In een aflevering van het BNN-programma *Je zal het maar hebben!* komt Eline aan het woord. Zij vertelt hoe haar leven met Cystic Fibrosis er uit ziet. Feit is dat alle behandelingen die Eline ondergaat en alle medicijnen die ze gebruikt, haar wel helpen een beter en hopelijk langer leven te hebben, maar dat ze Eline niet zullen genezen.

In dit onderdeel van de module "Moleculen in leven" ga je op zoek naar de moleculaire oorzaak van Cystic Fibrosis. Om de oorzaak en gevolgen van Cystic Fibrosis te begrijpen, moet je snappen hoe cellen op moleculair niveau werken. Eigenlijk stel je jezelf de vraag: **hoe werken de 'moleculen in leven'?** Als je deze theorie beheerst kun je ook de moleculaire mechanismen van vele andere ziektes, aandoeningen en medicijnen begrijpen.

De vraag waarmee we starten is: ***Wat is de oorzaak van Cystic Fibrosis?***

De theoretische onderzoeksvraag waarmee we eindigen is: ***Wat zou een mogelijke strategie voor genezing van CF kunnen zijn?***

Deelvragen die we eerst moeten beantwoorden:

- Wat gaat er fout in het lichaam van een CF- patiënt? In welke organen gaat het mis? In welke cellen gaat het mis?
- Hoe produceert een gezonde cel in de longen slijm? Waarom produceert deze cel geen goed slijm?
- Wat is de oorzaak van het feit dat deze cellen geen goede ionkanalen vormen?
- Hoe komt het dat alle (ook nieuwe) cellen in de longen en darmen geen goede ionkanalen hebben?
- Hoe zorgt een fout in het DNA voor een fout in de ionkanalen?
- Waarom heeft de mutatie niet in alle cellen een effect?
- Wat zijn ionkanalen?
- Hoe komen ionkanalen in het membraan en waarom ontbreken in de cellen van veel CF-patiënten de ionkanalen volledig?

14 Hand-outs theorie Cystic Fibrosis

15 Expertopdracht Cystic Fibrosis

Introductie

In deze opdracht ga je uitzoeken welke processen in de cel allemaal correct moeten verlopen om het juiste CFTR-eiwit op de juiste plek in de cel te krijgen. De opdracht voer je uit in expertgroepen. Daarbij wordt je expert in één van de cellulaire en moleculaire processen die bij Cystic Fibrosis een rol spelen. Als expert draag je je kennis over op je klasgenoten. Je klasgenoten worden vervolgens getoetst op hun verkregen kennis door middel van een korte diagnostische toets.

De groepsindeling

| Groep | Groepsleden | onderwerp |
|--------------|----------------------------------|---|
| 1 | 1. 2. 3. 4. 5. 6. | Het CFTR-genen het CFTR-eiwit |
| 2 | 1. 2. 3. 4. 5. 6. | Het transport van het CFTR-eiwit naar het membraan |
| 3 | 1. 2. 3. 4. 5. 6. | Aanmaak van ATP als energiebron voor CFTR |
| 4 | 1. 2. 3. 4. 5. 6. | eiwit vouwing en afbraak van verkeerde gevouwen CFTR-eiwitten |

Beschikbare bronnen

Maak gebruik van de bronnen die bij je onderwerp genoemd staan. Gebruik daarnaast wikipedia om de algemene termen voor de betrokken celprocessen te vinden. Als de term niet via de Nederlandse Wikipedia te vinden is, zul je de Engelstalige moeten gebruiken: daarop staan veel meer termen uitgelegd. Verder kun je gebruik maken van:

- Essential Cell Biology, (Alberts)
- Biology, (Campbell)
- Biochemistry, (Stryer)
- <http://scholar.google.nl/>
- www.PubMed.gov (tip: search BOOKS voor algemene informatie. Hier zijn onder andere de bovengenoemde boeken digitaal beschikbaar.
 NB voor bepaalde delen van deze website is een accesscode nodig. Veel wetenschappers en artsen hebben met die code toegang tot deze enorme wetenschappelijke schat van wetenschappelijke literatuur. Misschien heb je iemand in je kennissenkring die toegang heeft...?)

De uitvoering

Lees eerst de onderstaande deelopdrachten door om een totaalbeeld van de opdracht te krijgen.

Les 1 en 2

- **Vooraf: introductie van de opdracht; indelen van de groepen en van de onderwerpen**
- **Opdracht 1: verdelen van taken; bestuderen en uitdiepen van onderwerp**
Ieder groepslid probeert via bronnen volledig begrip te krijgen van het toebedeelde regulatiemechanisme. Als groep maak je eerst een heldere taakverdeling: wie houdt de voortgang in de gaten? Wie onderhoudt contacten met de docenten over de voortgang? Wie bestudeert papieren bronnen? Wie zoekt op internet?
- **Opdracht 2: uitwisseling van kennis; formuleren van vragen**
Kom weer met je groep samen. Binnen de groep wissel je de gevonden kennis uit en ondervraag je elkaar. Op deze manier wordt ieder lid van de groep expert in dit onderwerp. Als expert ben je in staat je kennis over te dragen op je klasgenoten.
Als groep formuleer je twee vragen met antwoorden: één kennisvraag en één begrips- of toepassingsvraag.
Door zelf vragen te bedenken controleer je of je als expertgroep en als lid ook werkelijk zoveel weet dat je kritische vragen over je onderwerp kunt beantwoorden.
Laat de vragen door je docent beoordelen, digitaliseer ze en mail ze naar je docent.
- **Opdracht 3: voorbereiden van de uitwisseling met niet-experts**
Als groep bereid je de uitwisseling met de niet-experts voor. Bedenk wat je wilt gaan uitleggen en welke materialen je daarvoor nodig hebt. Tip: geef de informatie weer in de vorm van schema's of figuren. De uitleg aan de niet-experts mag maximaal 8 minuten duren.

Les 3

- **Opdracht 4: uitwisselen van kennis met niet-experts**
Er worden nieuwe groepen samengesteld: experts uit iedere groep vormen samen een nieuwe groep. In elke nieuwe groep zitten dan vier experts, elk met zijn/haar expertise op het gebied van zijn onderwerp. Iedere expert heeft 8 minuten de tijd om het onderwerp aan de niet-experts uit te leggen.
De niet-experts maken aantekeningen en stellen vragen over zaken die niet duidelijk zijn.

Les 4

- **Opdracht 5: maken en bespreken van diagnostische toetsvragen**
Om te zien of de verschillende regulatiemechanismen door iedereen begrepen zijn, maakt iedereen de vragen die eerder door de expertgroepen zijn geformuleerd.
De antwoorden worden klassikaal nabesproken.
- **Achteraf: evaluatie en afronding**

De expertopdrachten

Groep 1: Het CFTR-gen en het CFTR-eiwit

Jullie worden experts op het gebied van het CFTR-gen en het daaruit gevormde CFTR-eiwit. Beantwoord in ieder geval de volgende vragen:

1. Op welk chromosoom ligt het CFTR-gen?
2. Uit hoeveel baseparen bestaat het CFTR-gen?
3. Uit hoeveel exonen bestaat het gen?
4. Hoe lang is het mRNA? (Hoeveel % van het gen bestaat uit niet-coderende stukken?)
5. Uit hoeveel aminozuren bestaat het CFTR-eiwit? (Hoeveel % van de nucleotiden in het mRNA coderen niet voor een aminozuur?)
6. Beschrijf de bouw van het eiwit (wat zijn de verschillende domeinen?)
7. Wat is een nucleotide-binding domain (NBD) en wat is de functie van dit domein?
8. Waar zit de mutatie die het meest voorkomt bij CF-patiënten?
9. Geef een logische verklaring voor het feit dat CF een recessieve aandoening is (zie ook wikipedia).

Gebruik onder andere de volgende bronnen:

- http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/posters/chromosome/cftr.shtml
- <http://users.ox.ac.uk/~genemed/> (klik op Cystic Fibrosis)

Groep 2: Het transport van het CFTR-eiwit naar het membraan

Jullie worden expert op het gebied van eiwittransport. CFTR is een transmembraaneiwit. Het transport naar het membraan is cruciaal om een goed werkende slijmproducerende cel te krijgen. Beantwoord in ieder geval de volgende vragen:

1. Wat betekent 'transmembraaneiwit' (transmembrane protein)?
2. Op welke locatie in de cel worden eiwitten gemaakt die naar het membraan moeten?
3. Transmembraaneiwitten worden eerst in het membraan van een blaasje vastgezet en vervolgens versmelt dit blaasje met het celmembraan. Geef de route aan vanaf de aanmaak van het CFTR-eiwit tot de plaats van bestemming.
4. Hoe 'weet' de cel dat een eiwit een transmembraan is?
5. Hoe 'weet' de cel welke delen van het eiwit in en welke buiten het membraan moeten steken?

Gebruik onder andere de volgende bronnen:

- <http://nl.youtube.com/watch?v=TnoCLsslW0A>
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?highlight=ER&rid=mboc4.section.2202#2204>
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=mboc4.figgrp.2212>
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=mboc4.figgrp.2227>

Groep 3: Aanmaak van ATP als energiebron voor CFTR

Het CFTR-eiwit pompt chloride-ionen. Het uitvoeren van deze functie kost energie. Zoals bij de meeste processen in de cel, wordt het hoog-energetische molecuul ATP als energiebron gebruikt. Het CFTR-eiwit heeft hiervoor twee ATP-bindings cassettes (meer info hierover komt van groep 1). Jullie worden in deze opdracht expert op het gebied van ATP productie in de cel. Beantwoord in ieder geval de volgende vragen:

1. Op welke plek in de cel vindt ATP productie plaats?
2. Hoe heten de eiwitten die ATP produceren?
3. Schrijf de netto reactievergelijking op van de synthese van ATP.
4. Beschrijf aan de hand van de beelden de werking van het eiwit dat ATP maakt.
5. In de animaties is te zien dat protonentransport de drijvende kracht is achter ATP vorming.
 - a. Waar bevinden de protonen zich voordat ze door het eiwit heen gaan?
 - b. Hoe ontstaat de protonen gradiënt?
 - c. Wat is de brandstof van de cel?

Gebruik onder andere de volgende bronnen:

- <http://nl.youtube.com/watch?v=VARFQL4veQQ>
- http://multimedia.mcb.harvard.edu/anim_ATPase3_flv.html

Groep 4: eiwit vouwing en afbraak van verkeerde gevouwen CFTR-eiwitten

Jullie worden expert op het gebied van eiwitafbraak. Als het CFTR-eiwit niet goed gevouwen is, zal het door de cel vernietigd worden. Beantwoord in ieder geval de volgende vragen:

1. Door welke moleculen worden eiwitten 'geholpen' om op de juiste wijze te vouwen?
2. Hoe heet het label dat aan eiwitten wordt gekoppeld als ze afgebroken moeten worden?
3. Beschrijf in eigen woorden wat er gebeurt als een eiwit afgebroken moet worden.

Gebruik onder andere de volgende bronnen:

- http://www.c3.nl/c3/files/chemistry_nl.pdf <http://nl.youtube.com/watch?v=4DMqnrzpkKg>
- <http://nl.youtube.com/watch?v=w2Qd6v-4llc>

16 Strategieën voor een genezing van Cystic Fibrosis

In deze les prikkelen we ons wetenschappelijke brein: we bedenken strategieën voor een genezing van taaislijmziekte. Taaislijmziekte: een klein foutje in de DNA-code met desasteuze gevolgen...

De werkvorm

Brainstorm in groepen van drie personen. Daarna klassikale bespreking met inbreng van de groep.

De opdracht

Eline heeft Cystic Fibrosis. Ze ondergaat veel behandelingen en gebruikt verschillende medicijnen om de klachten bij haar ziekte te beperken. Geen van deze behandelingen pakt echter de oorzaak van de ziekte aan. Aan jullie de taak een oplossing te bedenken waarmee je de oorzaak van de ziekte op moleculair niveau aanpakt. Beantwoord daarom de volgende vragen:

- 1** Beschrijf de drie verschillende reparaties in de slijmproducerende cellen die in theorie mogelijk zijn. Voor deze drie mogelijkheden moet je denken aan de drie type 'moleculen in leven' die in deze module aan bod gekomen zijn.
- 2** Beschrijf per oplossing wat de randvoorwaarden zijn om deze methode succesvol te laten zijn.
- 3** Leid uit deze randvoorwaarden af waarom deze oplossing (nog) niet met succes toegepast kan worden.

We bespreken alle oplossingsstrategieën klassikaal en proberen in te schatten welke het meest succesvol zou kunnen zijn.

Een voorbeeld van een toetsvraag

CF komt voor bij 1 op de 4.000 pasgeborenen in Nederland en is daarmee een van de meest voorkomende erfelijke aandoeningen (bron: RIVM). Bij de geboorte is niet direct te zien of het kind de aandoening heeft, hoewel het wel van belang is dat de diagnose zo vroeg mogelijk gesteld wordt. Daarom wordt vanaf 1 januari 2008 onderzoek gedaan naar de mogelijkheden om Cystic Fibrosis (CF) toe te voegen aan de hielprik. Door analyse van een bloedsample kan dan vastgesteld worden of er sprake is van CF.

De meest voorkomende mutatie bij CF is een deletie van drie baseparen in het CFTR-gen, waardoor het aminozuur phenylalanine op positie 508 ontbreekt in het gevormde eiwit.

Beschrijf in detail hoe je te werk zou gaan als je een diagnostische DNA-test zou moeten ontwikkelen voor pasgeborenen met bovenstaande afwijking in het CFTR-gen. De aanpak is vergelijkbaar met de DNA-test die je bij het practicum hebt gedaan.

17 Praktische Opdracht DNA-posters

Tijdens deze module zul je in drietallen de moleculaire mechanismen onderzoeken van een gekozen ziekte, aandoening of biologisch fenomeen. In je onderzoek laat je zien dat je de theorie over moleculaire mechanismen binnen een cel beheerst. Je zult je bevindingen presenteren door middel van een poster.

Wat houdt de posteropdracht precies in?

- Je voert een literatuuronderzoek uit over een moleculair biologisch onderwerp.
- Je voert de opdracht uit in een drietal uit dezelfde cluster tijdens de lessen scheikunde.
- Je presenteert je literatuuronderzoek in de vorm van een poster.

De keuzemogelijkheden

- Je kiest als drietal een moleculair biologisch onderwerp uit de onderstaande lijst. Een geheel eigen onderwerp is mogelijk toegestaan na overleg met je docent.
- Noteer je keuze op de intekenlijst. Als een andere groep hetzelfde onderwerp wil doen, overleg je met je docent.

- 1 *Exonskipping als therapie voor Duchenne?*
- 2 *De ziekte van Huntington*
- 3 *Hoe werkt het anti-kanker medicijn Gleevec?*
- 4 *Hoe werkt het medicijn Herceptin dat bij bostkanker gebruikt wordt?*
- 5 *Wat doet HIV in het menselijke lichaam?*
- 6 *Triple therapie in de strijd tegen HIV.*
- 7 *Hoe kan een tumor resistent worden voor chemotherapie?*
- 8 *Het griepvirus: waarom elk jaar nieuwe vaccins?*
- 9 *Hoe werkt BOTOX?*
- 10 *De pijnstillers VIOXX: van de markt gehaald, maar hoe werkt het middel?*
- 11 *Vaccineren tegen baarmoederhalskanker?*
- 12 *Secretase: van Alzheimer- naar Kanker-medicijn?*
- 13 *Verkeerd cholesterol: erfelijke hypercholesterolemie?*
- 14 *Geïnduceerde resistentie in planten door niet-schadelijke Rhizobium bacteriën.*
- 15 *Ontwikkeling van nieuwe bestrijdingsmethoden voor Phytophthora (aardappelziekteverwekker).*
- 16 *Golden Rice: wat hebben Potrykus en Beyer gemaakt en hoe?*
- 17 *Wat is het verband tussen prionen en DNA?*
- 18 *Welke straling is schadelijk voor het DNA en waarom?*
- 19 *Waarom herstellen cellen zich soms van stralingsschade?*
- 20 *Hoe kun je uit stamcellen weefsels en organen maken?*
- 21 *Hoe zijn ziektes bij de mens te behandelen met gentherapie?*
- 22 *Hoe kan men DNA gebruiken om nieuwe, betere computers te maken?*
- 23 *Welke rol speelt de DNA-chip bij het herkennen en genezen van kankercellen?*
- 24 *Welke beschadigingen in het DNA veroorzaken de ziekte Progeria?*
- 25 *Wat zijn de belangrijkste redenen voor en tegen genetische manipulatie bij de mens?*
- 26 *Hoe worden nieuwe gezonde of ziektebestrijdende genen in het bestaande DNA op de juiste plaats in het lichaam ingebracht om ziektes te bestrijden?*
- 27 *Is het mogelijk om met zout, afwasmiddel en jenever thuis je DNA zichtbaar te maken?*
- 28 *DNA-chips in de gezondheidszorg.*
- 29 *Zonder genetisch gemanipuleerd voedsel geen toekomst.*
- 30 *Hartfalen en DNA.*
- 31 *DNA en wasmiddelen.*
- 32 *DNA en diabetes*
- 33 *.....(eigen onderwerp)*

De uitvoering

Lees eerst de onderstaande deelopdrachten door om een totaalbeeld van de opdracht te krijgen.

- **Les 1, 2 en 3 introductie van de opdracht; indelen van de groepen en van de onderwerpen (15 minuten)**
- **Vooraf: introductie van de opdracht; indelen van de groepen (15 minuten)**
- **Opdracht 1: verzamelen van bronnen (50 minuten)**

Je zoekt op school en thuis naar bronnen met informatie over je onderwerp (tijdschriften, websites etc.). Je zorgt dat ieder van je drietal alle bronnen krijgt. Je leest en bestudeert thuis alle bronnen.
- **Opdracht 2: maken samenvatting (100 Minuten)**

Je hebt als drietal twee lessen de tijd om samenvatting te schrijven van de bevindingen uit je onderzoek. Je mag geen geschreven samenvatting of delen daarvan meenemen naar de les. De reden hiervoor is dat wij je samenvatting willen zien ontstaan en dat je een samenvatting maakt die echt samen gemaakt is. De samenvatting zal niet meer dan 1 A4-tje zijn, exclusief een lijst met bronvermeldingen. Hoewel de samenvatting niet beoordeeld gaat worden is dit een essentieel onderdeel in het maken van een goede poster: na het maken van een goede samenvatting wordt het maken van een poster een stuk eenvoudiger. Aan het eind van de tweede les mail je de samenvatting en een lijst met bronvermeldingen naar je docent.
- **Opdracht 3: maken poster (100 Minuten)**

Op basis van de samenvatting maak je een poster.
- **Opdracht 4: postersymposium (50 minuten)**

Je poster gaat beoordeeld worden door je medeleerlingen en door docenten, maar ook jij bent een beoordelaar van een poster. Je gaat dit doen in een carrousel. Van je groep van drie leerlingen blijf er altijd één bij de poster. Deze zal de poster presenteren aan de beoordelaars. De twee andere groepsleden beoordelen op dat moment een andere poster. Na een aantal rondes wisselt een beoordelaar met de presentator. Ieder beoordeelt minimaal vijf posters van anderen.

18 Praktische Opdracht Bio-Informatica: Speur surfend in je genen

Opdrachten gemaakt door: en



```
TGTGGCTCCTCATTAGACATTAGATCACGTGGCGCCGGGT  
CCTCGCGATACGCAGCCGTGCACGTACGCAGTAAGACGTC  
TCGTCTCATGAAGGGTGTCCACCGTAAGTCAAGTAAACATC  
CCCTATAGCTCTTACTAATGAGGTAGCCATATCCATTAAC  
GGACGGTATCATAGACTGCGACACGTGAATACGGTATCTT  
CAACAGCGTCCAGGAGACTTCATTAATGCCGGTTCCAAT  
AACGTCACATTGATCGCTGCGCCCGGTAGTAAAGACTTG  
CCTCCTGGAAAGTTCCCGGGGTAGCGGGGGGTCCAGGCA  
AGTGCCATACCTTGGCTATAATACTAGGTTGTAGGATTG  
TAGATCGGACATAAGAGTGTGTGCTAGATCTGGTGGTGGT  
AGGCCTTGGAGGGCGCCGGTGCAATTAGTAATCCTATCGG  
ATAATTAGAGTCCCATCTCCAAAGGGCCATTCACAGGGT  
TAATATCGGAGAGATCTGATGCACTCGGTAACAAAGACATC  
TGCCGC AATGCCTGTCTCAGCCCTGCAAATACTATTTGG  
GCCTATGGACATCTCTGTAAAGCGCAACTGCATAGTCTAC  
GC CGGCTAATTATTGACTGACTACGCCCTTACACTACAAT  
ACTCAACCAATAATGTTACACTTCGATGATCTATACGCTA  
TGGGTTTATAGTGACCATATCCAGTCATGTCTGCAGGAGG  
CCAGGGTATTCCGGTCTAGACTGCTGAATCCCCATATAGC  
CAGACATCCATTTTCGATCAAGCGGAGGCATTCAAGTAT  
TTGTAGTATGACCCCGTTAGACCAAATCCGCGAGAACAA  
AGGATACCCAGTGGACATGGGAGTACCTCCAAGCACAAAG  
ATGATCCTGGTACTTGTCTTTC CAAGACGTCCGGGGCACC  
TGTATATTATTGGGGCGGGTTTTTCCC GGAACCAGG  
ACTCAGATCGGTCCGGTGGCTCCATCGTATCCTAGGCCA  
ACCATGAGGTGATAGTAAGGGTCTGGGTGTTTCGACTC  
CATTTTGCTCCTGTGCATCGCCCGACCGATCTGCTGTCAA  
CTCTGGATCTAGAACCAGGTAGTATTAATGGTTCTTTCC  
ACTCACCGGGGTAGTTTCTATTCCGCGGGGAGTACCATC  
AGGACAGGACATGCATGTCCAAGTACTCGTCAACCTGTAG  
AGTGGTACCGTCCGATCACTCAGGGCGCAAGTCCTGGGATGG  
CTTCGAGCCGGTAGGGTCTAGTCCCTTTCCGTGAAAG  
CCTCGGAGGTTCCAGCCAGAAAACGTT
```

Inleiding in de bio-informatica

In deze Praktische Opdracht worden DNA en eiwitten bekeken vanuit het perspectief van de bio-informatica. Maar wat is bio-informatica?

Bio-informatica is het gebruiken van computers om biologische problemen op te lossen

Om planten te onderzoeken of dierengedrag te beschrijven heb je niet noodzakelijk een computer nodig. Daarom is het niet onmiddellijk duidelijk waarom bio-informatica onmisbaar is. Om dit op te helderen gaan we eerst een wiskundig probleem oplossen...

Hoe groot is je DNA eigenlijk?

Heb je je al ooit afgevraagd hoeveel DNA je in je cellen hebt? En in je lichaam?
In elke cel bevinden zich $3 \cdot 10^9$ basenparen (3 miljard, 3000 miljoen of 3000000000). Twee DNA strengen vormen de dubbele helix, de "wenteltrap", waarbij een "trede" gevormd wordt door één basenpaar. De afstand tussen twee opeenvolgende treden van de wenteltrap is 0,0000000034 m (0,34 nanometer, of $0,34 \cdot 10^{-9}$ m).

Opdrachten:

- 1p 1 Bereken hoe lang het DNA uit één cel is.
.....
.....
.....
.....
- 2p 2 Bereken hoe lang al het DNA uit je hele lichaam samen is (info: een volwassene heeft naar schatting 75 biljoen cellen; in elke cel zit dezelfde hoeveelheid DNA).
Reken vervolgens uit hoeveel keer je met al dat DNA de afstand naar de maan heen en terug kunt afleggen (info: de afstand van de aarde tot de maan is $3,8 \cdot 10^5$ km).
.....
.....
.....
- 2p 3 Bereken hoeveel telefoonboeken het DNA uit één cel zou vullen, als een telefoonboek 5 cm dik is, 1000 vellen heeft en iedere bladzijde 10.000 letters bevat. Reken vervolgens uit hoe hoog die stapel telefoonboeken is.
.....
.....
.....
- 1p 4 Gelukkig zitten wij nu in een tijd waar het niet meer nodig is om dikke telefoonboeken te gebruiken voor gegevensopslag. Nu hebben we ook computers en de daarbij behorende opslagmogelijkheden.
Bereken hoeveel DVD's van 4,7 Gigabyte (4,7 miljard byte) je nodig hebt om de DNA-code van één cel op te slaan (info: een base uit het DNA neemt één byte opslagruimte in beslag).
.....
.....
.....

Je weet nu hoeveel DNA je bezit en welke enorme hoeveelheid informatie dat voorstelt.

Dus: computers zijn onmisbaar voor de **opslag** van grote hoeveelheden gegevens

Stel dat je uit een stapel van 10 telefoonboeken moet zoeken naar het nummer 024-3653383, hoe zou je dan te werk gaan? Het lijkt wel een onmogelijke opdracht! Nochtans is er een andere oplossing: zoek het nummer op met behulp van een computer! Bij voorbeeld op de site <http://zoekopnummer.gik.nl/index.php> kun je dit in een mum van tijd doen.



tel nummer:

Postcode:

Voor meer informatie: [FAQ](#)

Dus: computers zijn onmisbaar voor het **vinden van informatie** in de grote hoeveelheden gegevens

Data en databanken

We zijn geïnteresseerd in informatie over ons erfelijk materiaal, eiwitten en de functies van die eiwitten. Genen en eiwitten kunnen *gesequenced* worden: dat betekent dat men de volgorde van de basen in een gen, of de volgorde van aminozuren in een eiwit bepaalt.

De informatie moet op een intelligente manier geordend zijn, zodat onderzoekers makkelijk en snel bepaalde vragen kunnen beantwoorden aan de hand van wat ze vinden. Daarom is de informatie opgedeeld in *databanken*, die vaak vrij toegankelijk zijn voor iedereen op het Internet.

Er bestaat bij voorbeeld een databank van eiwitstructuren (de PDB), een van aminozuursequenties van eiwitten en hun functies (Swiss-Prot), een databank van enzymen en hun functies (ENZYME) en een databank met de nucleotidesequentie van alle genen die tot vandaag gesequenced werden (EMBL).

Toch bestaan er een aantal "onevenredigheden", die te maken hebben met de hedendaagse stand van de techniek. Zo bevat EMBL, de nucleotidendatabank, véél meer gensequenties dan er eiwitstructuren geregistreerd zijn in de PDB. De uitleg hiervoor is de volgende: een gen sequencen (d.w.z. de DNA-code ontrafelen) is niet erg moeilijk. Moeilijker is om daarna te bepalen voor welk eiwit het gen codeert en wat de functie van dat eiwit is. Als laatste stap moet dan ook nog de structuur van het eiwit bepaald worden.

De stand van zaken voor drie belangrijke databanken op 22 november 2005:

| | |
|---------------|--|
| - EMBL: | 115.478.836.243 nucleotiden (waarvan het overgrote deel nog onbekende functies hebben) |
| - Swiss-Prot: | 199.607 eiwitten waarvan sequentie en functie bekend zijn (= 772.346.026 aminozuren) |
| - PDB: | 33.585 eiwitstructuren |

Naast Swiss-Prot bestaat ook een ander eiwit-databank: Uni-Prot. Uni-Prot is veel vollediger dan Swiss-Prot omdat het alle eiwitten bevat van Swiss-Prot + de computer-gegenereerde translaties van alle genen uit EMBL. Het nadeel is dat de informatie omtrent deze "computer-gegenereerde" eiwitten (nog) niet volledig is nagekeken en experimenteel bevestigd.

Met behulp van de databanken kun je allerlei vergelijkingen en zoekopdrachten uitvoeren. Heb je bijvoorbeeld een eiwit bij de mens gevonden dat een ziekte veroorzaakt, dan kun je in die databanken kijken of zo'n eiwit al eerder is gevonden en wat dat eiwit in het lichaam doet. Op die manier kun je sneller een medicijn ontwikkelen of een test om die ziekte vroegtijdig aan te tonen.

Maar bio-informatica komt bij veel meer toepassingen om de hoek kijken.

Opdracht:

4p 5 Bedenk een toepassing van de bio-informatica in de volgende domeinen.

- de voedselindustrie:
- medicijnontwikkeling:.....
- enzymen in waspoeders:
- plantenveredeling:

Vooruitgang biotechnologie en bio-informatica

Natuurlijk is de technologie niet overnacht op hedendaags niveau gekomen. Biotechnologie bestond al duizenden jaren geleden, toen de Sumeriërs bier brouwden. De vooruitgang die de mens geboekt heeft ligt op verschillende niveaus:

- experimentele vooruitgang: het ontwikkelen van nieuwe methoden en technieken in het lab
- vooruitgang van de kennis
- computervooruitgang

Hieronder staat een aantal belangrijke ontwikkelingen die nodig waren voor de vooruitgang van bio-informatica.

Opdracht:

5p 6 Vermeld bij elke stap of het een *experimentele vooruitgang* is, een *voortgang in de kennis* of een *computervooruitgang*:

| Jaar | Mijlpaal | Type |
|------|---|------------|
| 1590 | De microscoop wordt uitgevonden | |
| 1663 | Voor het eerst worden cellen beschreven | |
| 1830 | Voor hete eerst worden eiwitten beschreven | |
| 1833 | Er wordt een methode ontwikkeld om enzymen te zuiveren | |
| 1906 | Het woord "genetica" wordt voor het eerst gebruikt | ////////// |
| 1919 | Het woord "biotechnologie" wordt voor het eerst gebruikt | ////////// |
| 1944 | Avery toont aan dat DNA het molecuul is waaruit het erfelijk materiaal is opgebouwd | |
| 1946 | Bouw van ENIAC, de eerste "programmeerbare computer", die zo'n 5000 bewerkingen per seconde kon uitvoeren | |
| 1951 | Pauling en Corey beschrijven de structuur van α -helixen en β -vouwbladen | |
| 1953 | Watson en Crick beschrijven de 3D structuur van DNA | |

| | | |
|------|---|------------|
| 1958 | De eerste microchip wordt ontwikkeld | |
| 1970 | Een methode wordt ontwikkeld om sequenties te vergelijken (Needleman-Wunsch) | |
| 1971 | Ray Tomlinson verzint een nieuw communicatiemiddel: e-mail | |
| 1972 | Men komt er achter dat de DNA samenstelling van mensen voor 99% overeenkomt met het DNA van de chimpansee | |
| 1973 | De Protein Data Bank wordt ontworpen, een grote databank met informatie over eiwitstructuren | |
| 1974 | Het idee ontstaat om meerdere computers samen te laten communiceren via een "internet" | |
| 1976 | Bouw van de eerste "supercomputer"; deze kon 160 miljoen bewerkingen per seconde uitvoeren en had een geheugen van 8 Megabyte | |
| 1981 | Er wordt een machine ontwikkeld om nucleotiden aan elkaar te koppelen en zo kleine stukjes genen te maken | |
| 1981 | IBM introduceert zijn "Personal Computer" op de markt: een computer die voor iedereen bestemd is | |
| 1983 | Er wordt een techniek ontworpen waardoor exacte kopieën van DNA kunnen gemaakt worden in grote hoeveelheden: de PCR | |
| 1983 | De Compact Disk wordt op de markt gebracht | |
| 1986 | De term " <i>Genomics</i> " wordt voor het eerst gebruikt en beschrijft de wetenschap van het sequencen, in kaart brengen en analyseren van genen | ////////// |
| 1986 | De Swiss-Prot databank wordt ontworpen, waarin allerlei informatie over eiwitten is opgeslagen | |
| 1988 | Het Human Genome Project wordt gelanceerd | ////////// |
| 1991 | Het Europees onderzoekscentrum CERN ontwikkelt het "World Wide Web" | |
| 1994 | Het eerste borstkankergen wordt ontdekt | |
| 1995 | De eerste publicatie van het al het DNA van een bacterie | |
| 1997 | Een techniek voor het kloneren van zoogdieren wordt ontwikkeld; het Schotse schaap Dolly wordt geboren | |
| 1998 | Het eerste complete diergenoom wordt gepubliceerd: een worm | |
| 2001 | De volledige sequentie van het menselijk genoom wordt gepubliceerd (op enkele "gaten" na) | |
| 2005 | Publicatie van het genoom van de aap | |

Ten slotte

In deze praktische opdracht "Speur surfend in je genen" zullen we de bio-informatica databanken en zoekprogramma's gaan gebruiken om verdachte eiwitten – die gevonden zijn bij een moordzaak - te identificeren. Tevens gaan we in 3D naar een van deze eiwitten kijken.

CSI – GENOMICS ANTWOORDENFORMULIER
SCREENING VERDACHTE EIWITTEN

Vul hieronder de resultaten van het onderzoek in voor elk van de 4 gevonden eiwitten en je eindconclusie.

Vragen voor elk eiwit:

1. Welk eiwit is het?
2. Uit welk organisme komt het?
3. Wat doet deze stof, wat is de functie van het eiwit?
4. Is dit verdacht? Is dit eiwit een potentiële dader? Waarom (niet)?
5. Eventuele andere opmerkelijke bevindingen.

Namen van het CSI-team:

| | | | |
|----|--------------------|---|--|
| 4p | Kandidaat 1 | 1 | |
| | | 2 | |
| | | 3 | |
| | | 4 | |
| | | 5 | |
| 4p | Kandidaat 2 | 1 | |
| | | 2 | |
| | | 3 | |
| | | 4 | |
| | | 5 | |

| | | | |
|----|---|---|--|
| 4p | Kandidaat 3 | 1 | |
| | | 2 | |
| | | 3 | |
| | | 4 | |
| | | 5 | |
| 4p | Kandidaat 4 | 1 | |
| | | 2 | |
| | | 3 | |
| | | 4 | |
| | | 5 | |
| 1p | Eindconclusie: waaraan is het slachtoffer overleden? | | |

CSI – GENOMICS ANTWOORDENFORMULIER
PRACTICUMUUR 1, SUPPLEMENT

Opdrachten:

1p 8
.....
.....

1p 9
.....
.....

CSI – GENOMICS ANTWOORDENFORMULIER
ONTWERP EEN TEGENGIF IN 3D

Opdrachten:

1p 1
.....
.....
.....

2p 3 Atoomtypes in eiwitten:.....
Atomen in Yasara:
Rood: Donkerblauw: Groen: Lichtblauw:

2p 4 Witte bindingen:
Gele bindingen:

3p 5 A :
Groen:
Blauw:
Oranje:

B: [vervalt]

2p 7 Blauw:
Rood:

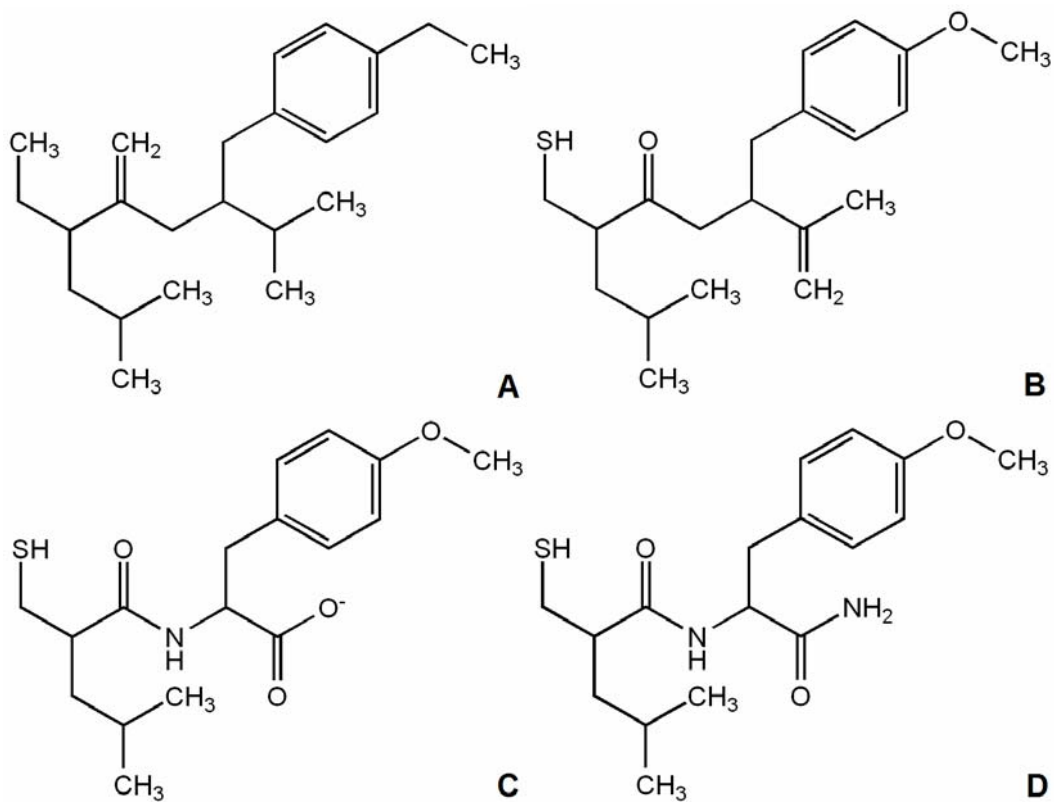
4p 8 Dubbel gebonden zuurstof: *Ball & stick weergave*
Peptidebinding:
Histidine:
Alfa helix:
Zwavelbrug:

1p 9
.....
.....

1p 11

1p 14
.....
.....
.....

3p 16 Markeer de atomen die interacties kunnen aangaan in de onderstaande figuur.



Figuur 7:

- A) Het passende ligand bestaat volledig uit koolstofatomen.
- B) Aangepast ligand versie 1.
- C) Aangepast ligand versie 2.
- D) Aangepast ligand versie 3.

2p

Eindvraag:

.....

.....

.....

.....

19 Antwoorden van de oefenvragen over replicatie, transcriptie en translatie

- 1 aan het 3'-eind: fosfaat
- 2 A
- 3 3' TTAACGAGGAATCTCGATGGCACGGTAAATTATAGGC 5'
5' AATTCGTCCTTAGAGCTACCGTGCCATTTAATATCCG 3'
- 4 De coderende streng kun je vinden door te zoeken naar de promotor. Die bevat TATAAT. Deze promotor staat in dit geval in de onderste keten. Het mRNA wordt dan gemaakt tegen de streng daar tegenover (de template-streng).
- 5 Gegeven is dat RNA-polymerase van rechts naar links langs de DNA-keten beweegt. Omdat het allereerste RNA-nucleotide een vrijliggend 5'-uiteinde heeft, moet de bovenste DNA-keten als matrijs dienen. Het juiste antwoord is dus: 5' GUAACGUUGAGU 3'
- 6 Je leest de codons ook weer af in 5'-3'-volgorde: GUA – ACG – UUG – AGU
eiwit: Val – Thr – Leu - Ser
(Opmerking: bij veel examenvragen is geen promotor weergegeven en ook niet een startcodon in het mRNA. Je moet dan het hele stuk DNA in eiwit vertalen.)
- 7 A
- 8 B
- 9 Ja. $C=27\%$, de hoeveelheid C is hetzelfde als G, dus $C+G= 54\%$. $A+T= 100\%-(C+G)= 46\%$, $A=T$, dus $A = 23\%$.
- 10 - het virus bevat RNA i.p.v. DNA (want er is U i.p.v. T)
- in menselijk erfelijk materiaal zit evenveel adenine als thymine en evenveel guanine als cytosine/ het virus-RNA is enkelstrengig en niet dubbelstrengig zoals DNA
- 11 C
- 12 2, 3, 1
- 13 5' CAU 3' (en niet 5' UAC 3' , want de anticodons zijn weer complementaire met de codons) en CCC
- 14 Ser Pro Val Ala Leu Asp Glu
- 15 Prokaryotisch RNA bevat geen Poly A staart en geen 3' CAP. Verder bevat het RNA van prokaryoten geen introns.
- 16 - De ziekte moet worden veroorzaakt door een afwijking in het DNA
- De afwijking mag ten hoogste één gen bevatten
- 17 Een vector is een middel om het goede DNA in de cel(kern) te transporteren
- 18 De vector is belangrijk voor het passeren van de (cel)membraan
Want DNA kan het (cel)membraan niet zelfstandig passeren
- 19 Virussen bevatten lichaamsvreemde eiwitten
Er kan dus een afweerreactie tot stand komen tegen de 'genezen' cellen
- 20 Patiënten die met methode 2 of 3 zijn behandeld kunnen het toegediende gen niet doorgeven, omdat zowel door behandeling met 2 als met 3 de geslachtscellen (en de cellen waaruit deze ontstaan/ de cellen van de kiembaan) niet zijn veranderd.

- 21** bij methode 2: DNA
bij methode 3: DNA
- 22** D
- 23** A
- 24** Component A wordt ingebouwd bij replicatie, hij wordt herkend door DNA polymerase, maar als hij ingebouwd is kan er geen volgende nucleotide meer worden ingebouwd, want er is geen 3' OH. Er is overmaat van component A aanwezig. Dit heeft tot gevolg dat bij de eerste G in de template DNA, ddCTP wordt ingebouwd en de replicatie stopt vervolgens.
- 25** Deze component wordt gewoon niet ingebouwd.
- 26** Wat je verwacht te zien na 1 generatie is: bij conservatieve replicatie 2 banden/peken, want één DNA keten bevat het zwaardere ^{15}N en het andere bevat DNA bevat ^{14}N . Bij de andere twee replicatie mogelijkheden wordt één band/peik verwacht, want de DNA moleculen bevatten beide ^{15}N en ^{14}N . Na 2 generaties verwacht je: bij conservatieve replicatie 2 banden/peken, want 1 DNA molecuul bevat dan ^{15}N en 3 DNA moleculen bevatten alleen ^{14}N ; Bij dispersieve replicatie verwacht je 1 band te zien, want het DNA bevat een mix van ^{15}N en ^{14}N in alle moleculen ; Bij semi-conservatieve replicatie verwacht je 2 banden te zien, want er zijn dan DNA moleculen die ^{14}N ^{15}N hebben en DNA moleculen die ^{14}N ^{14}N hebben, de pieken zijn even sterk).
Kijk je nu naar de gegevens dan komt de data alleen overeen met semi-conservatieve replicatie.

20 **Antwoorden van de oefenvragen over eiwitten**

- 1 B (alleen 1 en 4 zijn peptidebindingen (=binding tussen twee aminozuren))
- 2 Nee, een aminozuur is niet symmetrisch. Als je naar twee opeenvolgende aminozuren in een eiwit kijkt, levert het aminozuur het dichtst bij de amino-terminale kant de carboxylgroep voor de peptidebinding en het andere aminozuur de aminogroep. Als je hun volgorde omkeert, komen de zijgroepen in een andere positie ten opzichte van de centrale keten, waardoor de chemische interacties en daardoor de structuur totaal anders zal zijn.
- 3 De polaire aminozuren zijn Ser, Lys en Gln. Deze zul je vaker aan het oppervlak van het eiwit aantreffen.
De hydrofobe, niet-polaire aminozuren zijn Leu, Val en Ile. Deze zul je vaker in binnenin het eiwit aantreffen.
Zwavelbruggen vind je meestal binnenin het eiwit. Na de vorming van de zwavelbrug kunnen de zijgroepen geen waterstofbruggen meer vormen, waardoor ze nog hydrofober worden.
- 4 De werking van enzymen berust op hun ruimtelijke vorm. De aminozuurvolgorde geeft hiervoor onvoldoende informatie.
- 5 Het afgietsel heeft dezelfde vorm als het substraatmolecuul.
- 6 Medicijnmoleculen binden zich aan het HIV-enzym. Het HIV-enzym kan het normale substraat niet meer omzetten. Het HIV-enzym kan zich nu niet meer reproduceren.
- 7 Je kunt concluderen dat het intacte nucleoplasmine na incubatie wordt opgenomen in de kern. Dit geldt ook voor het staartdomein. Het kopdomein wordt echter niet opgenomen in de kern en blijft in het cytoplasma. Er moet dus iets aanwezig zijn in het staartdomein dat er voor zorgt dat het naar de kern wordt getransporteerd. Dit domein zorgt er ook voor dat het intacte nucleoplasmine naar de kern wordt getransporteerd.
- 8 Je kunt concluderen dat deze aminozuurvolgorde waarschijnlijk verantwoordelijk is voor de opname in de kern. Bij aanbrengen van een mutatie in deze volgorde (Lys---Thr) treedt dit transport namelijk niet meer op (Zie figuur b).
- 9 Deze aminozuurvolgorde zal aanwezig zijn in het staartdomein, want het losse staartdomein wordt wel naar de kern getransporteerd en het losse kopdomein niet.

21 Antwoorden van de oefenvragen over enzymen

- 2p **1** E
- 2p **2** C
- 2p **3** A (Gal emulgeert vet, zodat het enzym beter het vet kan afbreken.)
- 2p **4** D (Bij hogere temperaturen (vooral hoger dan de optimumtemperatuur) van het enzym gaat het enzym kapot. Hoe langer bij die hogere temperatuur, hoe meer enzym kapot gaat. Na bewaren bij 45 graden heeft buis K nog de hoogste activiteit, daarna buis L en daarna buis M. Hoe hoger de activiteit, hoe meer substraat wordt afgebroken. Dus in buis K zit het minste substraat, dan in buis L en dan in buis M.)
- 2p **5** D (de omzettingssnelheid is bij 60EC het hoogt, maar de totale activiteit is lager, omdat het enzym ook snel denatureert)
- 2p **6** C
- 2p **7** A
- Max 3p **8** Grafiek Q ontstaat door een combinatie van de wijzigingen 1 en 2 (deelscore 1p).
Uit grafiek Q blijkt dat er aanvankelijk meer maltose wordt gevormd in dezelfde tijd; dit is het resultaat van een verhoging van de enzymconcentratie (want meer enzym kan meer substraat omzetten). (deelscore 1p).
Het maximum van grafiek Q wordt later bereikt en het plateau ligt hoger; dit is het resultaat van een verhoging van de zetmeelconcentratie (want zetmeel wordt pas later beperkend). (deelscore 1p).
- 1p **9** Na t is het zetmeel op.
- Max 4p **10** Grafiek 1 (bij een lage temperatuur is het enzym dat maltose omzet in glucose weinig actief, bij een heel hoge temperatuur is het enzym niet actief en bij een temperatuur daartussenin is het enzym erg actief.) (deelscore 1 punt)
In het begin van het experiment zit er nog geen glucose in de buis, omdat het enzym nog nauwelijks actief is (deelscore 1p).
Hoe hoger de temperatuur hoe actiever de enzymen worden en hoe meer glucose wordt gemaakt (deelscore 1p).
Als de temperatuur heel hoog is wordt geen glucose meer bijgemaakt omdat de enzymen dan kapot zijn (deelscore 1p).
- 2p **11** B (De reactiesnelheid is hoger naarmate meer product per tijdseenheid wordt gemaakt (dus als $\Delta C/\Delta t$ groot is). De richtlijnen aan de grafieken zijn dus een maat voor de reactiesnelheid. De richtlijn is het grootst bij 50°C.)
- 2p **12** D
- 2p **13** C
- 2p **14** F (Enzymen gaan niet eeuwig mee. Bij de optimumtemperatuur van een enzym gaan er al enzymen kapot.)
- Max 2p **15** I en III hebben tot gevolg dat de remming van E1 wegvalt. Daardoor neemt de productie van P3 toe.
(iedere onjuiste of ontbrekende keuze: 1 punt aftrek)
- Max 3p **16** I d
 II b
 III c (je weet niet of de schimmel ornithine uit het voedingsmedium kan opnemen)
 IV a
 V d
 VI c
(Ieder fout of ontbrekend antwoord: een punt aftrek)

22 Antwoorden van de vragen en opdrachten over Cystic Fibrosis

Eindopdracht:

1. repareren van het gen
2. toevoegen van mRNA
3. toevoegen of repareren van het eiwit

Het zou mooi zijn als alle leerlingen inzien dat dit de drie 'moleculen in leven' zijn waarop je kunt ingrijpen.