Termen biochemie

|  |  |
| --- | --- |
| H3 |  |
| Western blot | = immunoblot  Detectie specifiek eiwit in gel; transfer eiwitten naar nitrocellulose membraan (=blotting); binding primair antilichaam; blokkeren onspecifieke eiwitbinding; binding secundair antilichaam met enzym; detectie met chromogeen substraat, fluorescentie  3 stappen techniek (eiwit scheiden en karakteriseren)  1: overbrengen  2: antilichaam toevoegen, dit is een eiwit => bindt dus ook membraan  GEVOLG: geen onderscheid => 3: OPLOSSING: membraan blokkeren eiwitten (spec antlichamen) te binden  *(gel dus onderstaande 4 termen bij in antwoord op te nemen)* |
| PAGE | = polyacrylamide gel electroforese  Matrix is ‘cross-linked’ polymeer; gel doet dienst als moleculaire zeef => scheiding naar massa en vorm  Toepassing: bepalen moleculaire massa: ‘tracking dye’, = frontlijn volgen |
| Elektroforese | Scheiding van eiwitten in elektrisch veld; scheiden van geladen proteïnen |
| Isoelectric focusing | Scheiding in elektrisch veld, en pH gradiënt; migratie obv eigen (netto) lading => de beweging stopt wanneer eigen pI bereikt wordt; bepaling pI; pH gradiënt door amfolyten (amfoteer) |
| 2D - elektroforese | = PAGE + isoelectric focusing |
| H4 |  |
| β-bocht | Veelvoorkomend in eiwitten; tussen α-helices en segmenten β-platen, 180° draaiing over 4 AZ met H-brug tussen AZ1 en AZ4; Type 1 vaak met Pro, type 2 vaak met Gly; globulaire eiwitten zeer compacte structuur => 1/3 AZ in scherpe β-bochten. |
| α-Keratine | Hoofdbestanddeel haar, wol, nagels, hoorn, buitenste huidlaag; linksdraaiende ‘coiled coil’(=structureel motief in proteïnen, α-helices liggen bij elkaar ingeweven als een touw), 2 parallelle strengen; hydrofobe R aan α-α interactie => dichte stapeling; supramoleculaire complexen, stabilisatie door S-S; haarbehandeling (krullen), oxidatie/reductie S-S bruggen; = een fibrillair eiwit: meestal 1 type secundaire structuur, structuurfunctie, vezelvormig, langwerpig; |
| Collageen | Ook een fibrillair eiwit: meestal 1 type secundaire structuur, structuurfunctie, vezelvormig, langwerpig; voorkomend in pezen, kraakbeen, hoornvlies, extracellulaire matrix; unieke secundaire structuur, verschillend van α-helix, linksdraaiend, 3 AZ/winding; coiled-coil: 3 α-ketens, ‘super twisted’, in rechtsdraaiende helix, superhelix; typisch: 35% Gly, 11% Ala, 21% Pro + 4-Hyp, sequentie: ‘Gly-X-Y-‘, X=vaak Pro, Y=vaak 4-Hyp; Gly is essentieel (oorzaak verschillende genetische afwijkingen); Cross-linking tussen Lys, HyLys of His in X en Y posities |
| Motief | Globulair eiwit: sferisch, gemengde secundaire structuren, enzymen en regulatorische eiwitten; = plooiing (fold), = super-secundaire structuur; *‘A recognizable folding pattern involving two or more elements of secondary structure and the connection(s) between them.’= ‘een herkenbaar vouwpatroon met 2 of meer secundaire elementen en de bindingen hiertussen’*; vaak voorkomende organisatie secundaire structuur, β-α-β loop, β-barrel |
| Domein | Globulair eiwit: sferisch, gemengde secundaire structuren, enzymen en regulatorische eiwitten; ‘*Part of a polypeptide that is independently stable or could undergo movements as a single entity.’= gedeelte van een polypeptide dat onafhankelijk stabiel is of bewegingen kan ondergaan als een enkele entiteit’*; 1 polypeptide georganiseerd in meerdere globulaire eenheden; dikwijls verschillende functies; scheiden vaak met behoud van functie; eiwitplooiing bepaald door fysicochemische beperkingen (‘rules’) |
| Proteostase | = homeostase van eiwitten; onderhoud van actieve set eiwitten; gecoördineerde processen, synthesen afbraak, her-plooiing; onderdeel van eiwitdenaturatie en plooiing |
| Moleculaire chaperones | = proteïnes die interageren met gedeeltelijk gevouwen of fout gevouwen polypeptides, ze faciliteren pathways die ze correct vouwen of voorzien een micro-omgeving waarin het vouwen kan plaatsvinden; onderdeel van eiwitdenaturatie en plooiing: sommige eiwitten ondergaan geassisteerde plooiing;  Vbn.:  Hsp70: heat shock proteïn  70kDa, sterk geconserveerd; binden hydrofobe R om onjuiste aggregatie te vermijden; verhinderen plooien eiwitten die door membranen worden getransporteerd  Chaperonines, enzymen  GroEL/GroES, proteine disulfide isomerase (PDI) |
| H6 |  |
| Steady state kinetics | = analyse van de initiële snelheden; d[ES]/dt ≈ 0 : initiële snelheid; reactiesnelheid bepaald door [S], maar [S] is veranderlijk ([S] = substraatsconcentratie); Simplificatie, initiële reactiesnelheid (V0) 🡪 d[S]/dt ≈ 0 (bij [S]>>[E]); Relatie [S], V0 🡪 maximale snelheid, Vmax; Kinetiek bepaald door vorming ES complex, en k1 >> k2;      Vmax assymptoot; V0 wordt nooit Vmax;  Vmax door extrapolatie uit relatie [S],V0 |
| Michaelis-Menten | Een kwantitatieve relatie tussen V0, Vmax en [S] (initieel) (tussen substraatconcentratie en reactiesnelheid dus), vergelijking geldend voor 1-substraat reacties:  Km = Michaelis constante = ; V0 = ½Vmax  Michaelis-Menten kinetiek enkel in steady state condities; Niet alle enzymen volgen Michaelis-Menten kinetiek  V0 lineair afh. van [S]  afh. van [S] en V0  verklaring vorm curve:  lage [S]: Km >> [S]  => V0 =  => [S] hier insignificant  hoge [S]: [S] >> Km  => V0 = Vmax |
| Inhibitie (4 types) | Omkeerbaar: competitieve inhibitie   * Competitieve inhibitie, structuuranalogen * Binding aan actieve site: EI-complex * Michaelis-Menten: V0 = * Vmax verandert niet, Km verandert wel => vlakkere curve, verminderde affiniteit * Molecule die in competitie is met substraat 🡪 kan binden op dezelfde plek (remt binding van eigen substraat), moet dus ook grotere affiniteit vertonen * ~ snelheid en affiniteit   Omkeerbaar: on-competitieve inhibitie   * I (inhibitor) aan alternatieve site, enkel ES * I bindt ergens anders, enkel binden als ES pas gevormd is * Michaelis-Menten: V0 =   Km≈Vmax~E+S  Beide niet competitief  Omkeerbaar: gemengde inhibitie   * I aan alternatieve site, E of ES * I binden aan enzyme en dan reactie verhinderen * Michaelis-Menten: V0 =     Km~ en Vmax~ E+S  Onomkeerbare inhibitie   * Covalente associatie met E (actieve site) * Suicide inactivator (= gedraagt zich als substraat, 1ste omgezet blokkeert deze de katalytische site 🡪 inactivatie) * Diisopropylfluorofosfaat (DIFP) op chemotrypisine * Difluoromethylornithine op ornithine decarboxylase (slaapziekte => kan dus ook handig zijn als ‘middel’) * Transition state analogs => hechte binding |
| H7 |  |
| Glycolisering | = het aanhangen van één of enkele suikers, enzymatisch proces waarbij suikergroepen gekoppeld worden aan een eiwit; suiker covalent gebonden via anomerische C:   * O-glycosidische binding met -OH van Ser of Thr: “O-linked” * N-glycosidische binding met amide N van Asn: “N-linked” |
| Selectines | Lectines zijn eiwitten die de suikercode lezen en veel biologische processen mediëren;  Plasmamembraan eiwitten (lectines) betrokken in cel-cel interactie, e.g. in rekruteren van T lymfocyten in capillairen |
| Lectines | Lectines zijn eiwitten die de suikercode lezen en veel biologische processen mediëren;  Suiker-bindende eiwitten, o.m betrokken in opname van luteïniserend hormoon en thyrotroop hormoon (beide met N-gebonden oligosaccharides) |
| H10 |  |
| Glycerofosfolipiden | = fosfoglyceriden  Afgeleid van glycerol-3-fosfaat, 2 vetzuren + polaire kopgroep gebonden in fosfodiester binding   * Naamgeving, afgeleid van fosfatidinezuur * Fosfaat is negatief geladen bij pH 7 * Zijgroepen hebben verschillende ladingen   Het is een fosfolipide, een membraanlipide, deze zijn amfipatisch: hydrofoob aan 1 einde, hydrofiel aan het andere |
| Sfingolipiden | Zijn afgeleid van sfingosine (lang-keten amino alcohol) + vetzuur + polaire kopgroep (glycosidische binding of fosfodiester)  3 groepen:   * Sfingomyellinen, fosfocholine of fosfoethanolamine kopgroep. Veel voorkomend in myelline * Glycosfingolipiden, suikers in de kopgroep * Gangliosiden, oligosacchariden als kopgroep + *N*-acetylneuramine zuur   Prominent in de plasmamembraan van neuronen; koolhydraat-deel van sfingolipiden bepaalt A-B-O bloedgroep systeem  Het is een fosfolipide, een membraanlipide, deze zijn amfipatisch: hydrofoob aan 1 einde, hydrofiel aan het andere |
| H11 |  |
| Sidedness membraaneigenschap | Oriëntatie eiwitten is asymmetrisch; de domeinen van het proteïne die zichtbaar zijn aan 1 zijde van de dubbele membraanlaag, zijn verschillend van diegene aan de andere zijde => functionele asymmetrie. |
| Hydropathy plot | = visualisatie hydrofobiciteit over de lengte van een peptidesequentie  Hydropathy index = de hydrofobiciteit van een proteïne wordt gemeten aan de hand van de som van vrije energieën die vrijkomt wanneer het individueel residu (van de sequentie van het proteïne) overgeplaatst wordt van een hydrofoob solvent naar water. Een proteïne is een sequentie van AZ’n. Exergoon voor polaire of geladen residuen, endergoon voor AZ’n met aromatische of alifatische koolwaterstof zijketens.  *Gemiddelde hydropathy index wordt geplot tegen residu nummer voor 2 integrale membraanproteÏnes* |
| Membraanverankeringen (4) | Covalent gebonden lipiden verankeren sommige membraaneiwitten.   * Palmitoyl groep in thioester met Cys (of Ser) * N-myristoyl groep aan N-terminaal Gly * Farnesyl/geranylgeranyl aan C-terminaal Cys        * GPI anker   + - Sleutelrol in verscheidene biologische processen     - Glycosyl phosphatidylinositol, aann C-terminaal einde ethanolamine * Aanhechting van eiwitten aan membranen door lipiden (definitie) |
| Flip-flop | Diffusie van een lipide in een membraan, gebeurt zeer traag; Ondersteund door eiwitten:   * Flippase: translocatie van fosfatidylethanolamine, fosfatidylserine. Verwantaan P-type ATPasen.   + P-type ATPasen: kation transporters; Asp fosforylering tijdens cyclus; vanadaat als inhibitor; >70 in menselijk genoom; Ca2+ ATPase, N+K+ ATPase, flippase, planten PM P-type ATPase * Floppase: fosfolipiden van cytosol-zijde naar extracellulaire zijde van PM. ABC transporters   + ABC transporters: 2 “ATP binding casette” (ABC) (motief); 2 (of meer) transmembraan domeinen; ca. 1 ATP/ substraat molecule; meestal in plasmamembraan, maar ook in ER, mitochondria en lysosomen; transporteren AZn, peptiden, eiwitten, metaalionen, lipiden, … * Scramblase: translocatie volgens concentratiegradiënt   Controle van asymmetrie en membraankromming |
| Lipid rafts | Clustering van sfingolipiden en cholesterol; lipiden verdeling in één enkel ‘blad’ van de membraan is niet willekeurig   * Sfingolipiden (lang-keten, verzadigde vetzuren) vormen tijdelijke clusters, zonder glycerofosfolipiden * Grotere oplosbaarheid van cholesterol   + Sfingolipide-cholesterol ‘rafts’ * Relatief aangereikt in integrale membraaneiwitten met 2 lang-keten vetzuren of GPI anker * Concentratie van specifieke eiwitten verhoogt kans op interactie   Notities:   * Zones in de membraan die gespecifieerd zijn * Waarom ≠ membranen?   + - Meer lipiden met langere vetzuurstaart     - Cholesterol ↗ (moeilijk te zien dat niveau)     - Meer GPI-ankers     - Meer voorkomen bepaalde eiwitten (dus bepaalde functies kunnen meer worden uitgevoerd) |
| Glucose transporter | : zorgt voor beweging van glucose in het bloed in de cel; type lll integraal eiwit, ~45kD; 12 transmembraan helices; hydrofiel kanaal;  Glucosetransporter van erytrocyten ondersteunt passief transport  Glucose in het bloed: 4.5-5mM  Vergelijking met enzymatische reactie 🡪 afleiden kinetische parameters:  Kt ≈ Km, affiniteit voor substraat  GLUT1 Kt = 1.5mM voor D-glucose (>3.000 mM voor L-glucose)  Passief transport, volgens concentratiegradiënt    Maaltijd => bloedglucose > 5mM   * Verhoging insuline gehalte (pancreas) * GLUT4 incorporatie in plasmamembraan in myocyten en adipocyten * 15x verhoogde glucose opname   Type I diabetes (juveniele diabetes): onvermogen om insuline vrij te stellen 🡪 insuline-afhankelijk |
| Lactose transporter | In *E. coli*: H+ gedreven cotransport van lactose, H+ gradiënt opgebouwd door energiemetabolisme (secundair actief transport!!)   * 1 polypeptide (417 AZn) * 12 transmembraan helices * Tweevoudige symmetrie * “rocking banana model” voor openen en sluiten |
| Ionoforen | Moleculen (soms eiwitten) die ionengradiënt selectief vernietigen   * Toxisch * Antibiotisch (valinomycine (K+), monensine (Na+))   + Valinomycine, K+ ionofoor     - Klein cyclisch peptide (12 AZn)     - Schermt K+ lading af     - Beweging volgens concentratiegradiënt     - Uit *Streptomyces* |
| K+ kanaal | Zeer hoge specificiteit in ‘pore region’; ‘ion selectivity filter’ 🡪 K+ >>> Na+ (ca. 10.000x); 4 identieke subeenheden: 2 TM helices, + korte helix; dubbele conische structuur; 4 bindingsplaatsen voor K+: 2x H2O + 2x K+  Werking: aan beide zijden van membraan, (-) geladen residu’s   * Lokaal hogere kation (K+ niet Na+) concentraties * K+ komt binnen met watermantel, stabilisatie door (-) lading op korte α-helices (!) * Verlies van watermantel, stabilisatie door -C=O in ‘selectivity filter’ * Perfecte 3D coördinatie voor K+ niet Na+ |
| ‘Ligand-gated’ ionenkanaal | Vb. acetylcholine: prikkeloverdracht => diffusie van acetylcholine naar PM van de spiercel   * Binding aan acetylcholine receptor (kanaal!) * Inwaartse stroom van Ca2+, Na+, (K+) * Depolarisatie van PM en contractie van spiercel   Gate opent als respons op de ligand |
| H12 |  |
| Algemene eigenschappen signaaltransductie: | * Specificiteit: moleculaire complementariteit      * Coöperativiteit: lage concentratie ligand => groot effect op receptor activiteit * Amplificatie: vb. cascades van enzymatische reacties      * Modulair: associatie meerdere eiwitten      * Desensitisatie: inactivatie van signaaltransductie      * Integratie: respons is resultaat van meerdere signalen      * Lokalisatie: reactie soms lokaal en kort |
| Receptortypen (5) | G-proteïne gekoppelde receptoren, receptor enzymen, ‘gated’-ionenkanalen, nucleaire receptoren |
| TM dimeer receptor guanylyl cyclase | Guanylyl cyclasen => productie cGMP => activatie cGMP-afhankelijke kinase  Extracellulair ligand binding, intracellulair cyclase domein  Vb. ANF receptor: ANF (atrial natriuretic factor) peptide uit hart atrium bij dilatatie => activatie receptor in de nier => cGMP stimuleert Na+ secretie => water verlies => afname bloedvolume |
| Oplosbaar receptor guanylyl cyclase | Guanylyl cyclasen => productie cGMP => activatie cGMP-afhankelijke kinase  Cytoplasmatisch heemeiwit  Vb.: NO-geactiveerd GC, multi-domein dimeer  cGMP veroorzaakt oa vasodilatatie; fosfodiesterase => cGMP => GMP; viagra inhibitie fosfodiesterase |
| Gated ionenkanalen | Ionenkanalen liggen aan de basis van elektrische signalen in exciteerbare cellen (denk aan zenuwgeleiding, spiercontractie, …)  Controle door ligand of membraanpotentiaal (Vm)  Electrogeen transport beïnvloedt Vm  Passief transport door ionenkanalen bepaald door elektrochemische gradiënt      Voltage gated ionenkanalen => neuronale actiepotentialen   * Na+ kanaal, gehele axon, gesloten bij rustpotentiaal   + Kort open bij depolarisatie door acetylcholine   + Instroom Na+ * K+ kanaal, gehele axon, gesloten bij rustpotentiaal   + Open bij depolarisatie door Na+ instroom => efflux K+   + Repolarisatie (!) * Ca2+ kanaal, axontip, open bij depolarisatie   + Influx Ca2+ (2de boodschapper)   + Exocytose acetylcholine |
| H14 |  |
| Pentosefosfaatroute | Oxidatie route Glu 6-P => pentosefosfaat; synthese van RNA, DNA, ATP, NADH, FADH2, Co-A in sneldelende cellen; NADP+ = elektron acceptor => NADPH  Oxidatieve fase leidt tot pentosefosfaat en NADPH:   * Glucose 6-fosfaat dehydrogenase (G6PD)   + Oxidatie van Glu 6-P   + NADP+ als elektronenacceptor * 6-fosfogluconaat dehydrogenase   + Oxidatie en decarboxylatie   + NADP+ als elektronenacceptor * Fosfopentose isomerase   + Ribulose 5-fosfaat => ribose 5-fosfaat   Pathway:    Regulatie:  Glu-6-fosfaat bestemming   * Glycolyse of pentosefosfaatroute * Regulatie op niveau van G6PD * [NADPH]↗ => G6PD↘ (allosterisch) |
| Reactieve zuurstofradicalen (vorming) |  |
| H16 |  |
| Amfibolische route | Componenten van de citroenzuurcyclus zijn belangrijke biosynthese intermediairen => amfibolische route zorgt ervoor dat er voldoende componenten blijven vvoor de citroenzuurcyclus (= anapleurotische reacties uitvoeren)  Rol in anabolisme en katabolisme; α-ketoglutaraat en oxaalazijnzuur => AZn; oxalaat => glucose (gluconeogenese); succinyl-CoA => porfyrinen, heem    Rode pijlen : amifbolische route |
| Anapleurotische reacties | Deze leveren de citroencyclus intermediairen  Niveau van intermediairen nagenoeg constant (zodat citroenzuurcyclus altijd kan blijven doorgaan!); carboxylering van pyruvaat => oxaalazijnzuur (pyruvaat carboxylase) |
| H17 |  |
| Apolipoproteïnen | = lipidebindende eiwitten; herkend door receptoren aan celoppervlak; combinatie met lipiden => chylomicrons, (V)LDL (low density lipoproteins, bad cholesterol), (V)HDL (high density lipoproteins, good cholesterol); transport van lipiden in bloed; lipoproteïne lipase: hydrolyse van triaglycerol  Notities les:   * Low density lipoproteins = bad cholesterol: massa van de structuur tov cholesterol gehalte   + Er is niet zoiets als een goeie en een slechte molecule cholesterol   + Wordt eerder geduid op de hoeveelheid, er is maar 1 molecule cholesterol |
| Ketolichaampjes | citroenzuurcyclus  Acetyl-CoA in lever  Vorming van ketolichaampjes voor transport naar andere (extrahepatisch) weefsels  Ketolichaampjes, gevormd in de lever, worden als brandstof geëxporteerd naar andere organen  3 vormen van ketolichaampjes:   * Acetoacetaat * Aceton * D-β-hydroxybutyraat   Ketolichaampjes worden over-geproduceerd in diabetes en tijdens uithongering  Notities les:   * Ketolichaampjes: geen lichaampjes, geen solide structuren * Kunnen E voorzien in andere weefsels bij bepaalde omstandigheden * Aceton: bij vasten (verstoring suikerinname) => verhoging ketolichaampjes => adem ruikt vaak zelfs naar aceton * Onevenwicht citroenzuurcyclus tussen de metabolieten => geen efficiënte afbraak acetyl-CoA => vorming ketolichaampjes => opstapeling => verzuring bloed => gevaarlijk |
| H19 |  |
| NAD+/NADH |  |
| Flavoproteïnen |  |
| Reactieve zuurstofmoleculen | Deze worden gevormd tijdens de oxidatieve fosforylering  Reductie van O2 door \*Q- 🡪 \*O2-; superoxide dismutase: reductie van \*O2- 🡪 H2O2; glutathion peroxidase: reductie van H2O2 🡪 H2O + ½ O2; regeneratie van GSH door NADPH |
| H20 |  |
| Absorptiecentrum | De absorptie van een molecule in functie van de golflengte (nm)  Spectrum van licht waarin na het doordringen door een stof bepaalde golflengten veel sterker geabsorbeerd zijn dan de overige. |
| Actiespectrum | Tonen golflengte afhankelijkheid van fotosynthese;  Wordt verkregen door experimenteel te gaan determineren welke kleur van het licht bijdraagt aan de fotosynthese |
| LHC | = ‘light harvesting complex’, bevatten chlorofyl en caroteen; LHC capteert fotonen => fotosysteem (PS); systeem dat helpt om licht door te sluizen naar de fotosystemen  Notities:   * Chlorofylmoleculen zeer nauwkeurig op zn plaats gehouden * Dit draagt bij zodat er een vlotte E-transfer kan plaatsvinden van de ene chlorofyl naar de andere chlorofyl * Dus chlorofyl in positie houden ifv zo goed mogelijk E-transfer |
| Cyclische fotofosforylering | Cyclisch e- transport tussen PSI en Cyt b6f wordt niet samengegaan met productie NADPH of O2, maar wel samengegaan met het pompen van protonen ([H+]) bij Cyt b6f en met de fosforylatie van ADP naar ATP, dit wordt de cyclische fotofosforylering genoemd. |
| ATP synthase | CF0CF1 ≈ mitochondriaal synthase; relatieve membraanoriëntatie identiek |
| Foto-‘respiratie’ | Verbruik van O2 en productie CO2 in chloroplast; gebrek specificiteit rubisco; fixatie van O2 =>2-fosfoglycolaat en 3-fosfoglyceraat; O2 fixatie bevoordeeld bij hoge temperatuur; fotorespiratie is het resultaat van rubisco’s oxygenase activiteit  Notities les:   * Rubisco = lui en slordig enzyme   + Lui?     - Capaciteit van rubisco niet vreselijk hoog 3CO2/mol\*sec   + Slordig?     - Carboxylase/oxygenase     - Kan zowel CO2 als O2 kan gebruiken     - Dit is slordig omdat het niet erg specifiek is     - Hieruit gevolg: foto-‘respiratie’ (BELANGRIJKE VRAAG) * Waarom respiratie?   + Als er O2 verbruikt wordt en CO2 wordt vrijgesteld * Foto-‘respiratie’: dit hele proces is gekoppeld aan fotosynthese + respiratie omwille van O2 verbruikt en CO2 vrijgesteld * Rubisco O2 bindt ipv CO2   + Enidiol vorm dat O2 bindt ipv CO2   + Uiteindelijk splitsing in 2 moleculen   + De ene geen 3C vorm = waste, verlies van efficiëntie want maakt maar 1 van de 3C-suikers * Belangrijk energieverlies |