

# Biochemie: hoofdvragen

## H3 Aminozuren

- Scheidingstechnieken eiwitten

### ALGEMEEN

↳ bestuderen activiteit & structuur eiwitten

    ⇒ isoleren & zuiveren

    ↳ gebruik v. spec. eigenschappen:  
        massa, lading, binding

↳ step 1: extractie = breken weefsels / cellen

    ↳ in oplossing proteasen + buffer

    ↳ enkel proteasen ⇒ alle eiwitten weg

    ↳ buffer ⇒ afremming werking proteasen

↳ differentiële centrifugatie (een optie)

    = scheiding naar densiteit

    ↳ extract centrifugeren, versterken waaierkracht  
        vector, in opt.: partikels (slecht oplosbaar)  
        lage G ⇒ partikels sneller sedimenteren

    ↳ 100 000 - 150 000 grens, wat hierbij niet  
        neerslaat = oplosbare eiwitten

↳ step 2: zuiveren ⇒ chromatografie: kleuren

### SPECIFIEKE CHROMATOGRAFIE TECHNIEKEN

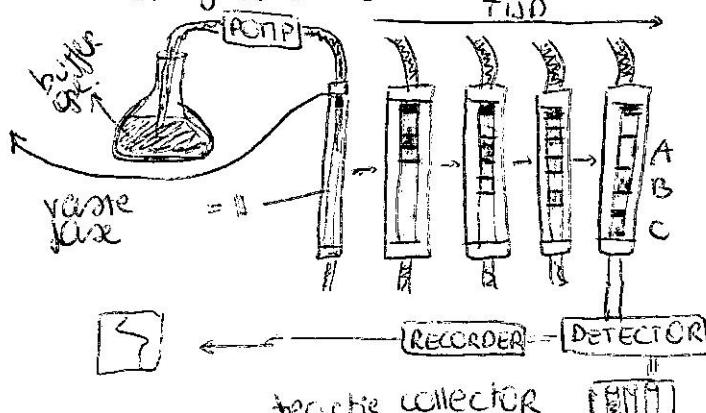
#### ① KOLON CHROMATOGRAFIE

↳ vaste (stationaire) fase: poreuze matrix, chemisch inert

↳ mobiele fase: vloeistof, beweegt door matrix  
(kan ook gas zijn)

↳ bewegingsnelheid afh. v. eigenschappen (v. B  $A < B < C$ )

↳ fractioneren → scheiden eiwitmengsel in fracties



Hoe? ⇒ volgende blz.

- ↳ Cpl met  $\neq$  proteïnen  $\rightarrow$  aangebracht via pomp boven de kolom  $\Rightarrow$  mobiele fase  $\Rightarrow$  cpl beweegt door kolom
- ↳ Opl.  $\rightarrow$  uit elkaar getrokken in 3 banden
- ↳ A trager dan B, B trager dan C
  - ↳ binnen groep A molecule niet even snel  $\Rightarrow$  band ver gevuld: cpl. steeds meer verdunt  $\cup$  groep A verdunningseffect
  - ↳ vertakking heeft op elkaar interactie met de matrix
  - ↳ in flakjes eiwitten opgeworpen
- 1st: C (snelst)  $\rightarrow$  grootste conc. eerst neemt af hierna
- B (2de snelst)  $\rightarrow$  grootste conc., neemt af hierna
- A (traagst)  $\rightarrow$  grootste conc., neemt af hierna

Opmerking: kleuren  $\neq$  zien van eiwitten  $\neq$  pigmenten, dient enkel als visualisatie

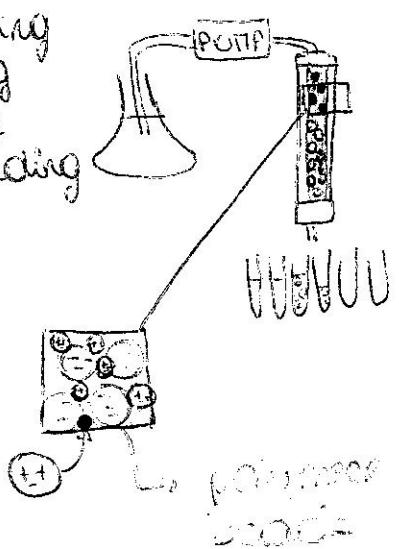
## ④ IONENUITWISSELINGS CHROMATOGRAFIE

- ↳ interactie geladen eiwitten met matrix
- ↳ matrix & synthetisch polymer met geladen groepen
- ↳ kationen uitwisseling: matrix met anionen
- ↳ anionen uitwisseling: matrix met kationen
- ↳ scheiding afh. v. pH v. Cpl.
- ↳ pH: polypeptide nettolading 0, daarbij pH verandert, verandert nettolading

Hoe?

- ↳ proteïne Cpl.  $\rightarrow$  toegevoegd aan hier kationenuitwisselaar
- ↳ proteïnen bewegen door de matrix
- ↳ snelheid afh. vid nettolading v.h. proteïne bij de gebruikte pH
- ↳ bij anionenuitw.: proteïne met neg. lading beweegt sneller (neg. interactie)

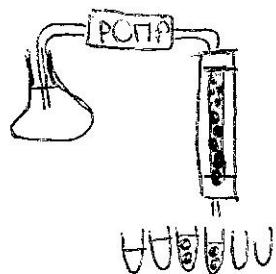
- grote + lading
- + lading
- 0 lading
- grote - lading



## ④ SIZE-EXCLUSION CHROMATOGRAPHIE

- = moleculaire-zeef chromatografie = gel filtratie
- ↳ scheiding obv grootte, interactie met matrix
- ↳ grotere eiwitten blijven sneller
- ↳ andere aanpassing polymeer beduds
- ↳ kleine partikels passen makkelijker/beter in de poriën vid beads, grootste moeilijker
- ↳ porigroottes aanpasbaar
- ↳ kleinere partikels trager want legger grote afstand af (gaar erin & eruit)

- o grootst
- o middel
- o klein

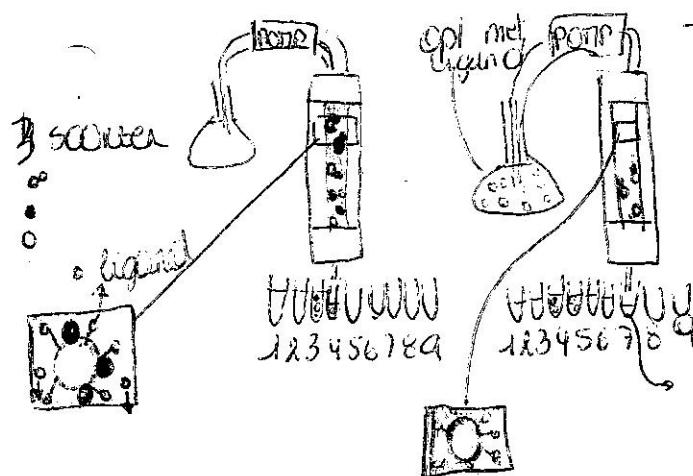


Hoe?

- ↳ op elution traject aangebildt
- ↳ w gescheiden obv grootte

## ⑤ AFFINITEITSCHROMATOGRAPHIE

- ↳ binding groepen uivalent gebonden aan matrix = ligand
- ↳ elutie door zoutc. (verwalt ligand-proteïne binding of competitie (vrq ligand vs vast ligand, maakt pas))
- ↳ toepassing: immuno-affinitetschromatografie [los]



→ matrix h ligand spec. voor bep proteïne  
Hoe?

- ↳ groene eiwit scheiden: bead actieve groene eiwit grote affiniteit => sterke binding => blijven plakken aan matrix
- ↳ binding moet sterk & specifiek zijn
- ↳ zodat enkel eiwit X bindt
- ↳ deze bindingen zijn reversibel

- ↳ buis 2: aan kolom op + ligand weven

↳ groen eiwit bindt & laat los, gedurende moment "los" kan binden aan vrq ligand (competitie)

- ↳ zout verstoort interactie OOK => zwakke bindingen verbreden

## Immuno-affinitatieschomatografie:

- ↳ Antikörper: eigenschap binden aan epitope  
(piet op eiwit, aan opp A2 en Antikörper..? herkent die spec. A2)
- ↳ support beads; Antikörper aanhänger  
→ Antikörper binden spec. eiwitten
- ↳ PRObleem?
  - ↳ weinig Antikörper vs. epitope  
kleine fractie waarvoor we Antikörper in spec. eiwit te binden

## H4 3Dimensionale structuur van eiwitten

Geen hoofd vragen

## H6 Enzymen

- Hoe werken enzymen?

### ALGEMEEN

- ↳ Enzym voorziet omgeving waarin reactie sneller is do.
  - ↳ Substraat gebonden in actieve site
    - ↳ actieve site = plaats in het enzyme waar substr. bindt & de reacties van gaan
  - ↳ interactie met spec A2<sup>c</sup> residu's
  - ↳ Vorming enzym-substraat complex (ES)
    - ↳ ES = moment waar het substraat in de actieve site o.n. enzyme gebonden zit

Enzymen beïnvloeden reactiesnelheid, niet evenwicht

- ↳ E + S  $\rightleftharpoons$  ES  $\rightleftharpoons$  EP  $\rightleftharpoons$  E + P

↳ reac**tie**w**o**rdinator, grondtoestand, t kwa**te** toestand

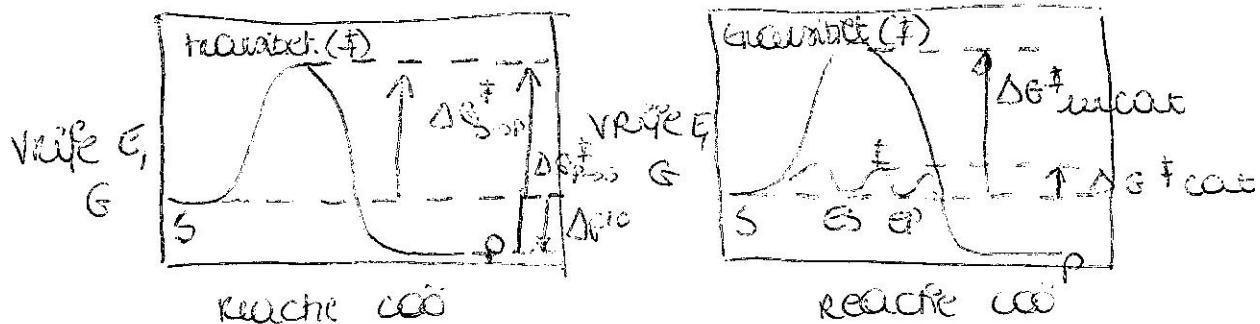
↳ Activatieve ( $\Delta G^\ddagger$ ), bepaald voor reactiesnelheid

- ↳  $\Delta G^\ddagger 0^\circ$ , bepaald voor evenwicht

④

pH = 7

- ↳ Enzym katalyseert reactie  $S \rightarrow P$ , en  $P \rightarrow S$
- ↳ Reactie intermediairen, tijdelijke chemische verbindingen
- ↳ Rate-limiting step, overgang met hoge activatie energie
- ⇒ Enzyme zorgt voor verlaging van de barrièremeer



Reactiesnelheid & evenwicht in precieze thermodynamische definities

Reactieevenwicht

- ↳ bepaald door evenwichtsverschil P & S ( $\Delta G^{\circ}$ )
- ↳ Evenwichtsconstante,  $K^{\circ} = [P]/[S]$  (st. condities)
- ↳ Relatie  $K^{\circ}, G^{\circ} \rightarrow \Delta G^{\circ} = -RT \ln K^{\circ}$
- ↳ groot verschil tss P & S : evenwicht eerder naad
- ↳ "pos" E-verschil (dus lage ΔE, neg ΔG‡)

### Reactiesnelheid

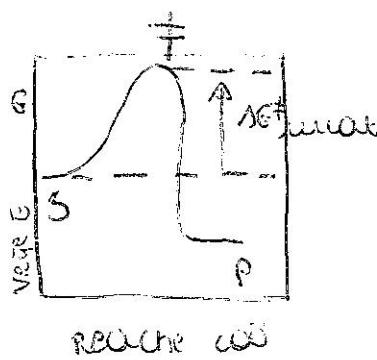
- ↳ bepaald door activatieenergie ( $\Delta E^{\#}$ )
- ↳ snelheidsregel met snelheidsconstante,  $k$ 
  - unimoleculair (1ste orde,  $k \text{ in } s^{-1}$ ) :  $V = k[S]$
  - bi-moleculair (2de orde,  $k \text{ in } M^{-1}s^{-1}$ ) :  $V = k[P][Q]$
- ↳  $k \sim$  werkend reactie (bij pH, T, ...)
- ↳ Relatie  $k, \Delta E^{\#}$ :  $k = kT/h e^{-\Delta E^{\#}/RT}$  ( $k = \text{Boltzmann}$   
 $h = \text{Planck}$ )
- ⇒ lagere activatieenergie  $\Rightarrow$  hogere snelheid

zwakke bindingen tss enzym & substraat zijn optimale in de bruikbare toestand

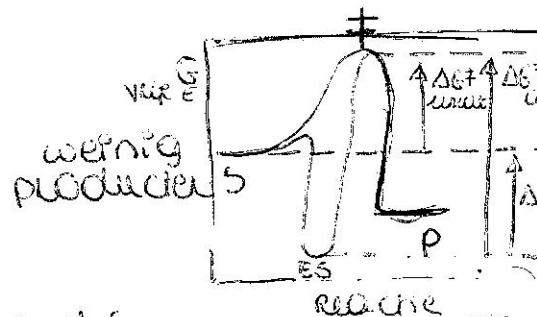
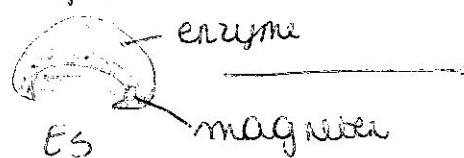
- ↳ Fisher "lock and key" complementariteit model voor enzymen

- ↳ binding s door zwakke interacties
- ↳ bindingsE ( $\Delta G_B$ ) draagt bij aan katalyse
- ↳ MAAR 'lock and key' hypothese levert slecht enzyme

### ① Geen enzyme

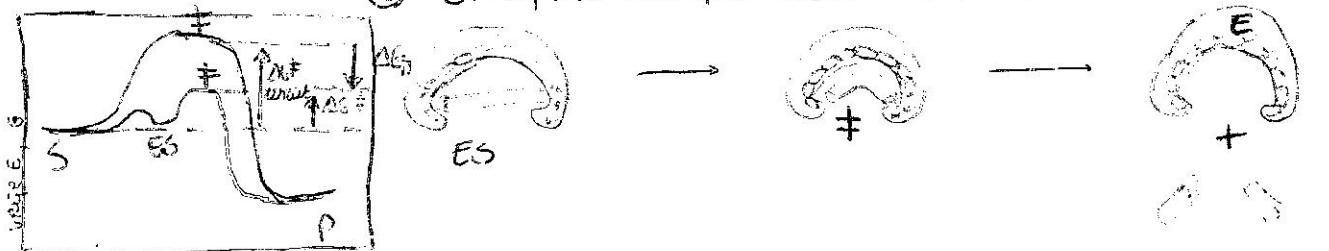


### ② Enzyme compl. met substr.



- ↳ compl. E en transietconditie S
- ↳ vaste stand, 'induced fit' mechanisme
- ↳ zwakke interacties  $\Rightarrow$  stab. transiet. S  $\Rightarrow$  meer W interacties  
 $\Rightarrow$  extra bindingsE ( $\Delta G_B$ )  $\Rightarrow$  verlengd activatietijd

### ③ Enzyme compl. met transiet.



reaction coordinate

- Snellere katalyse (werkings van enzym)

SPECIFIËKE KATALYTISCHE GROEPEN DRAGEN BIJ AAN KATALYSE

### ④ Zuur - base katalyse

↳ H<sup>+</sup> transfer

↳ stabilisatie geladen intermediairien

↳ H<sup>+</sup> van H<sub>2</sub>O of van AZ zóordep

## Specifieke en non-specifieke katalyse

Wanneer protein erbij is  
van Q naar H<sub>2</sub>O sneller is  
dan de breakdowm van

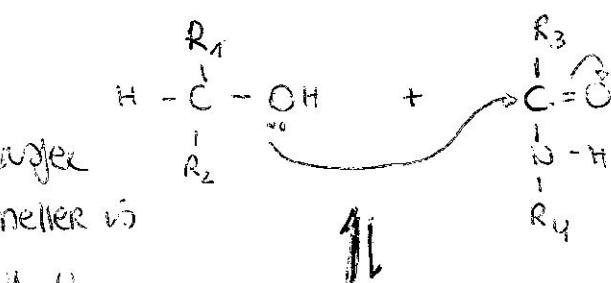
intermediere.

versnelt de aanwezig.

o. catalytische activiteit Q

- acceptor en donator niet

H<sub>2</sub>OH<sup>+</sup>



II

## Algemene en non-algemene katalyse

wanneer katalyse

groe omtrekke  
(=geplaat) intermedii.  
sneller afbreek & reactie  
vermenen

wanneer potentiële

van Q naar H<sub>2</sub>O weg

is dan de breakdowm

v. intermediaire

dan is meer ee

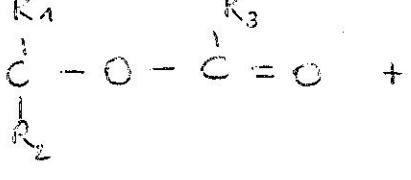
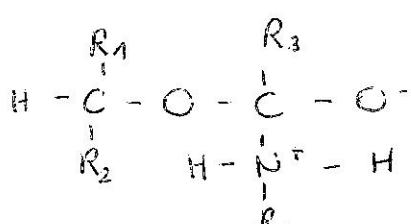
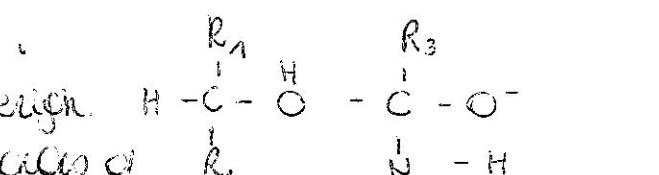
groe en gevormde

intermed. gestabiliseer

de aanwezig. v. enk

potentiële Q-acceptor

versnelt de nach



## ④ covalente katalyse

↳ A-B + X : → A-X + B → A+X: + B

↳ tijdelijke covalente binding E-S → alternatieve reactiviteit

↳ functionele groepen en/of cofactoren als nucleofiele

↳ vb. Chymotripsine

## ⑤ Netvaarion katalyse

↳ wiskrake interactie tussen metaal en S

↳ ORIENTATIE S

↳ OXIDATIE-REDUCTIE REACTIES

↳ DOKT... en zullen ful.

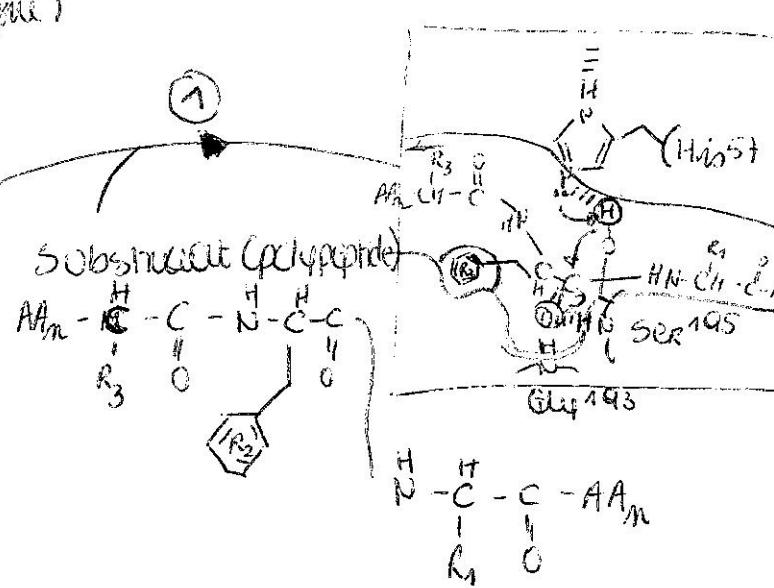
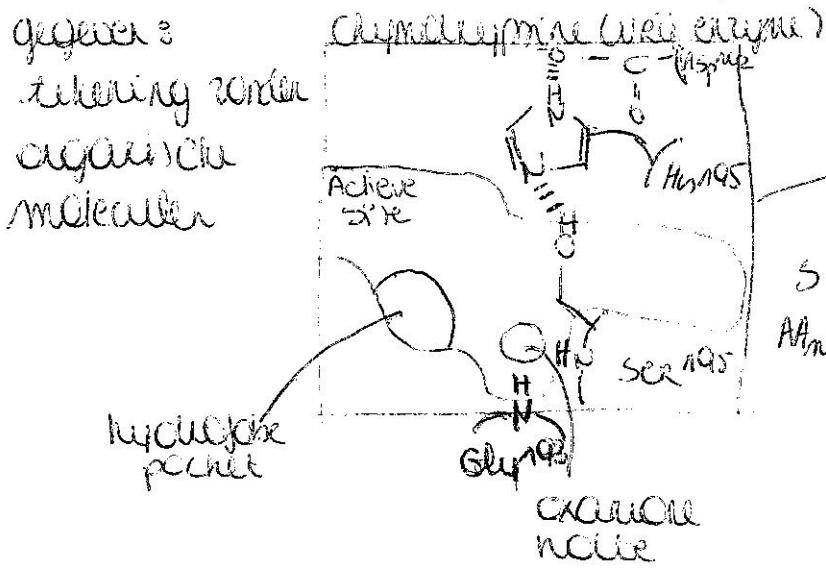
# -Werking Chymotrypsine

## ALGEMEEN

- ↳ Chymotrypsine serine protease, MW = 25, 191 Dna
- ↳ spec. voor peptidebinding naast TRP, TYR, Phe
- ↳ 3 polypeptiden, S-S bruggen
- ↳ zuur-base katalyse & covalente katalyse
- ↳ katalytische site met katalytische triade ( $\text{His}^{57}$ ,  $\text{Asp}^{102}$ ,  $\text{Ser}^{195}$ )
- ↳ hydrofobe pocket
- ↳  $\text{Ser}^{195}$  nucleofiel
- ↳ katalyse in 2 stappen:
  - ⇒ acetylering: splitsing peptidebinding, acyl esterbinding aan  $\text{Ser}^{195}$
  - ⇒ deacetylering: hydrolyse esterbinding, regeneratie enzym
- ↳ katalytische triade: → zuur-base-nucleofiel
  - interactie  $\text{His}^{57}$  -  $\text{Asp}^{102}$
  - pKa  $\text{H}^+ > 12$

bindingen aan met andere residuen om nucleofiel katalyse te bewonderen

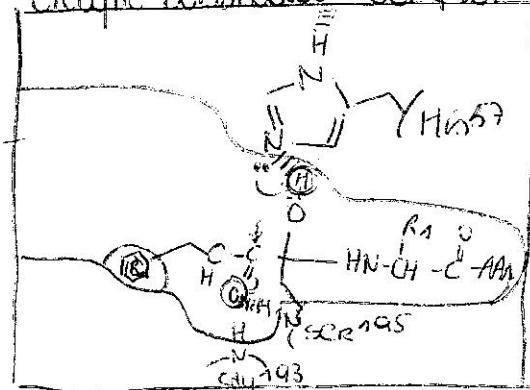
- ① Substraatbinding, R in hydrofobe pocket  
⇒ vorming ES



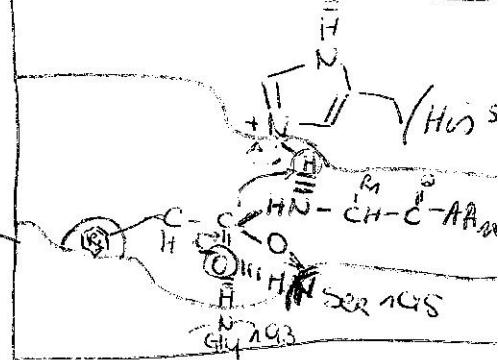
### ② Interactie Ser<sup>195</sup> - His<sup>57</sup>

- Reactie met carbonyl
- retro-hedraal intermediair
- negatieve lading op carbonyl C, stabilisatie in oxyanion hole

#### Enzym-substraat complex



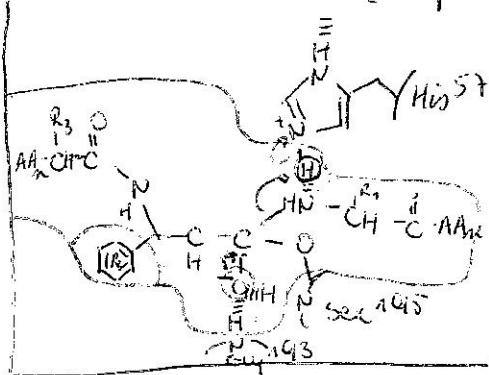
#### short-lived interm (acyling)



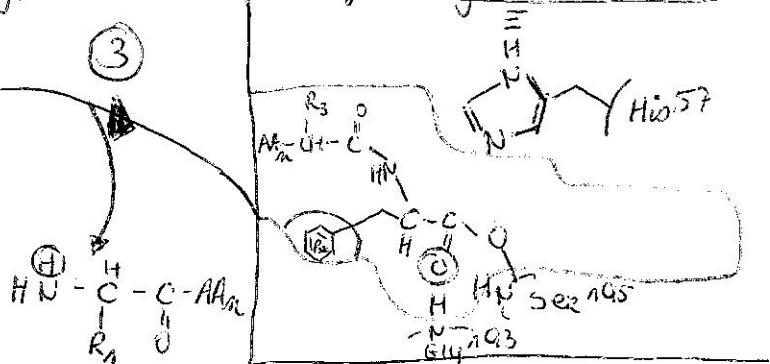
### ③ collaps tetrahedraal intermediair

- verbreken peptidebinding
- acyl-enzym ester op Ser<sup>195</sup> (wisseling)

#### short-lived interm (acylering)



#### Acyl-enzyme interm.



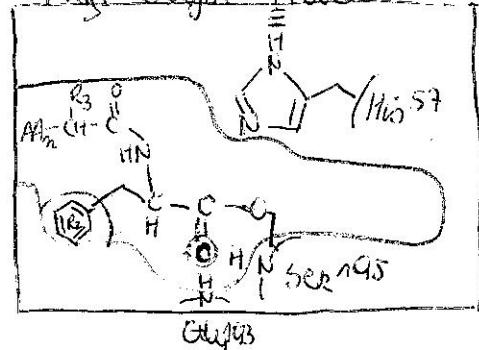
#### product

### ④ Deprotonering H<sub>2</sub>O

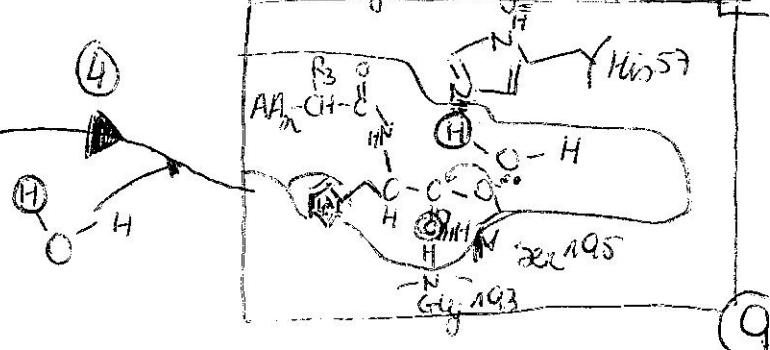
- verbreken acyl-enzym ester

→ tetrahedraal intermediair, stabilisatie in oxyanion hole

#### Acyl-enzym interm.



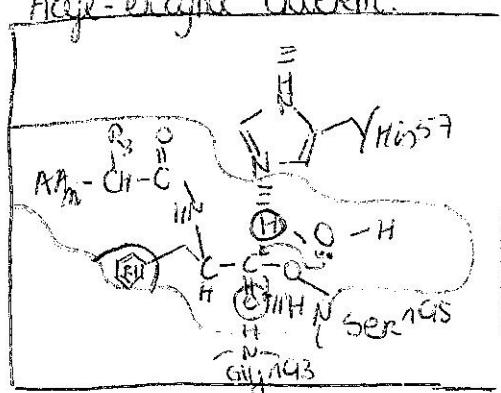
#### Acyl-enzym interm h.c.



9

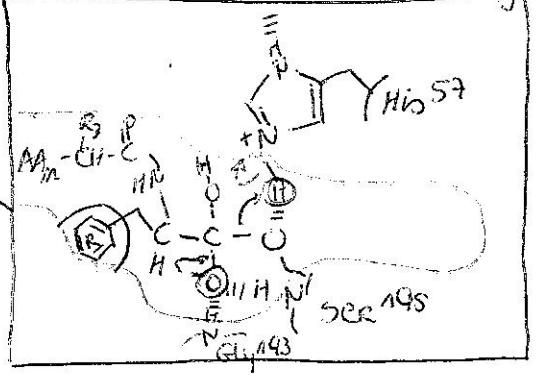
## ⑤ Colaps tetrahedraal intermediair

Acyl-enzym interm.



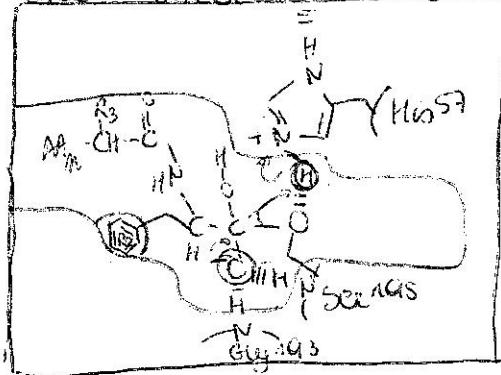
short-lived interm. (deacylering)

⑤

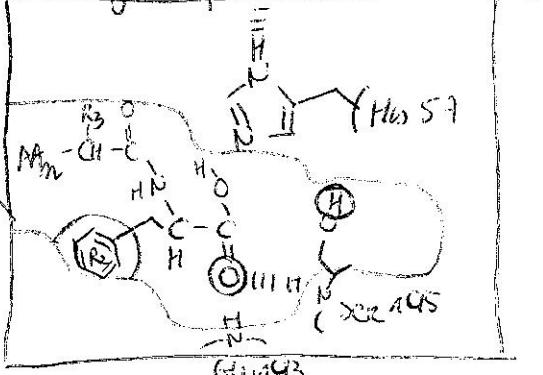


## ⑥ Vorming product &

short-lived interm (deacylering)

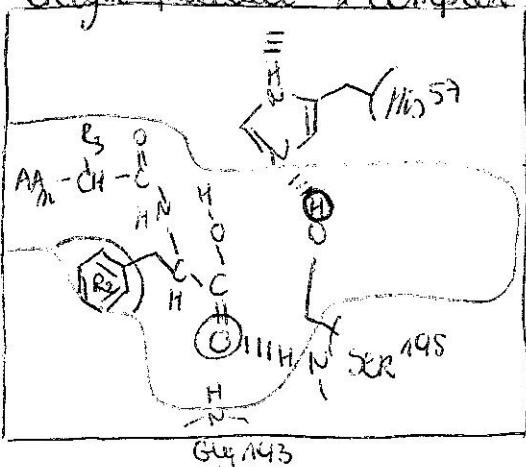


enzym-product & complex

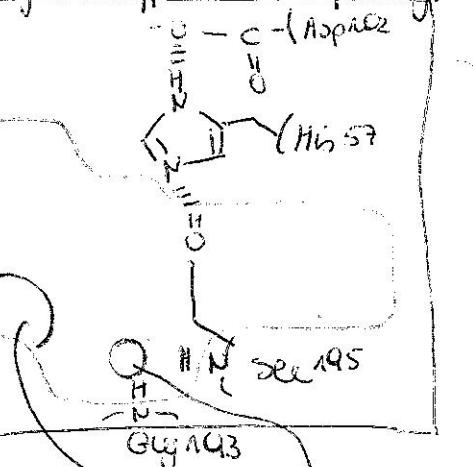


## ⑦ Dissociatie product & regeneratie enzym

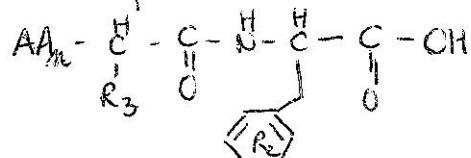
enzym-product & complex



chymotrypsine (niet enzym)



product



oxyaanion hole

hydrofobe pocket

- Op welke manier kan een enzyme van activiteit veranderen

(KORTE VRAAG)

↳ regulatieve enzymen: reguleren activiteit

↳ Regulatie:

⇒ allosterische enzymen: binding aan andere site dan de actieve site van het protein

↳ binding allosterische modulator

⇒ covalente modificatie

⇒ proteolytische modificatie

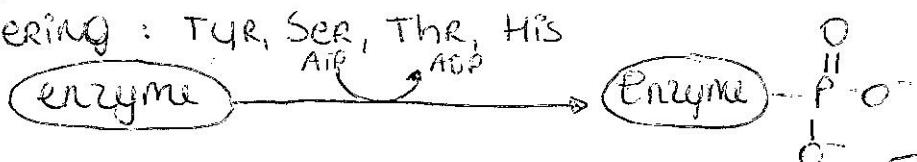
↳ over bij covalente regulatie

↳ reversible covalente wzigingen

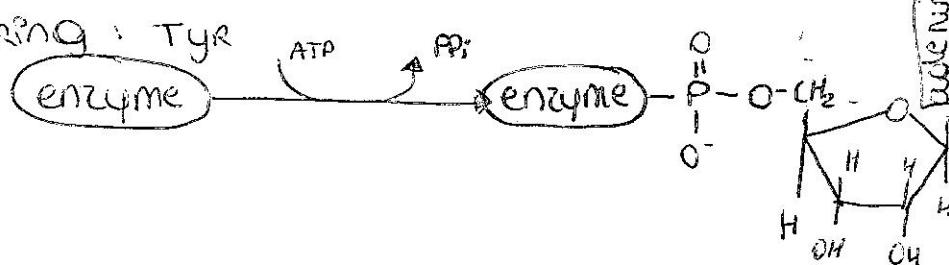
↳ enzymatische wziging

↳ fosforiyering, acetylyering, acetylering, myristoylering, ubiquitinering, --

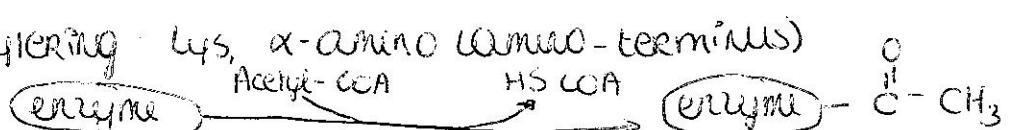
⇒ fosforiyering: Tyr, Ser, Thr, His



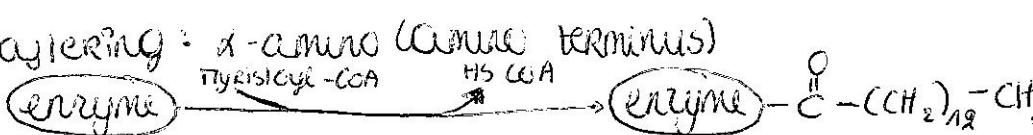
⇒ Adenylylering: Tyr



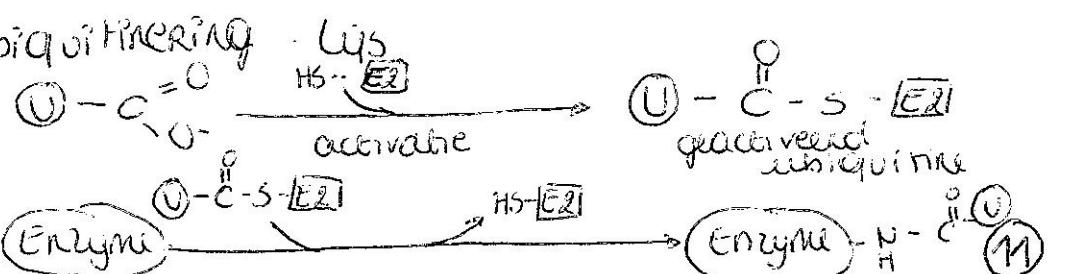
⇒ Acetylering: Lys,  $\alpha$ -amino (amide-terminus)



⇒ Myristoylering:  $\alpha$ -amino (amide terminus)



⇒ Ubiquitinering: Lys



- ↳ proteolytische Wirkung als regulierende Enzyme
- proteolytische Abreakk v.e. Enzymprecursor
- Proactive Precursor: Zymogen (= chem. inaktiv)
- Proteaser Mag & Pancreas: Chymotrypsinogen  
→ Chymotrypsin
- Trypsinogen → Trypsin
- ⇒ Blutkoagulation: Fibrinogen → Fibrin
- ⇒ Andere Erwitter: Proproteine, Proenzym

Enzyme

Chymotrypsinogen (inaktiv)



IT-Chymotrypsin (aktiv)

↓  
IT-Chymotrypsin  
Ser<sup>14</sup>-Arg<sup>15</sup> + Thr<sup>147</sup>-Asn<sup>148</sup>

α-Chymotrypsin (aktiv)

Trypsinogen (inaktiv)

↓  
Enteropeptidase  
Val-Asp<sup>40</sup>

Trypsin (aktiv)

## H11 Biologische Membranen

(erkel termen)

## H12 Signaallrausdrich

β-adrenerge Receptor: Wirkung + hoe beëindigd?

### INLEIDING

→ G-proteïne gekoppelde receptor

↳ componenten: GPCR = guanide nucleotide-binding site & protein, second messenger

→ menselijk gewoon: > 800 GPCR

→ second messenger bij β-adrenerge systeem: cAMP

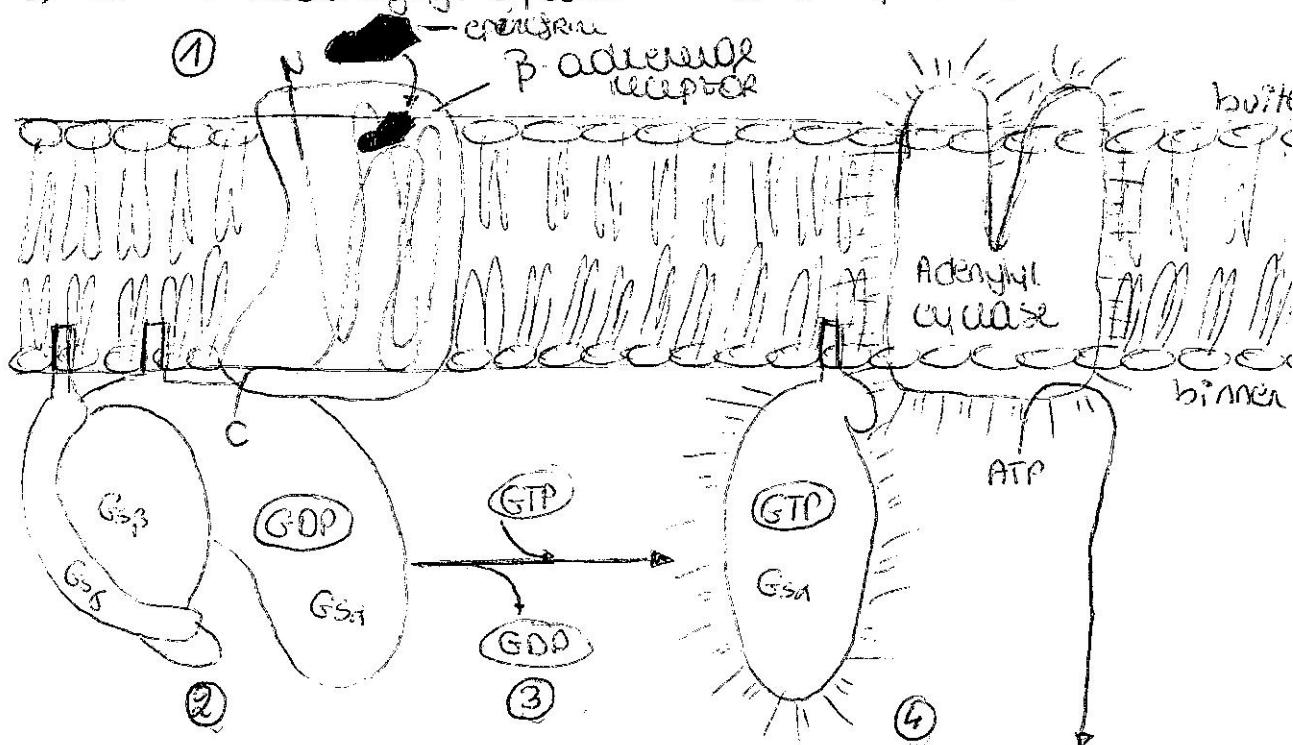
→ epinefrine (adrenaline): 'fight or flee' => vrijstellen Endo

↳ bindt aan β-adrenerge receptor (GPCR, 'serpentijn receptor')

↳ in spiercel, level 8 verweegsel  $\Rightarrow \Delta$  energie metabolisme

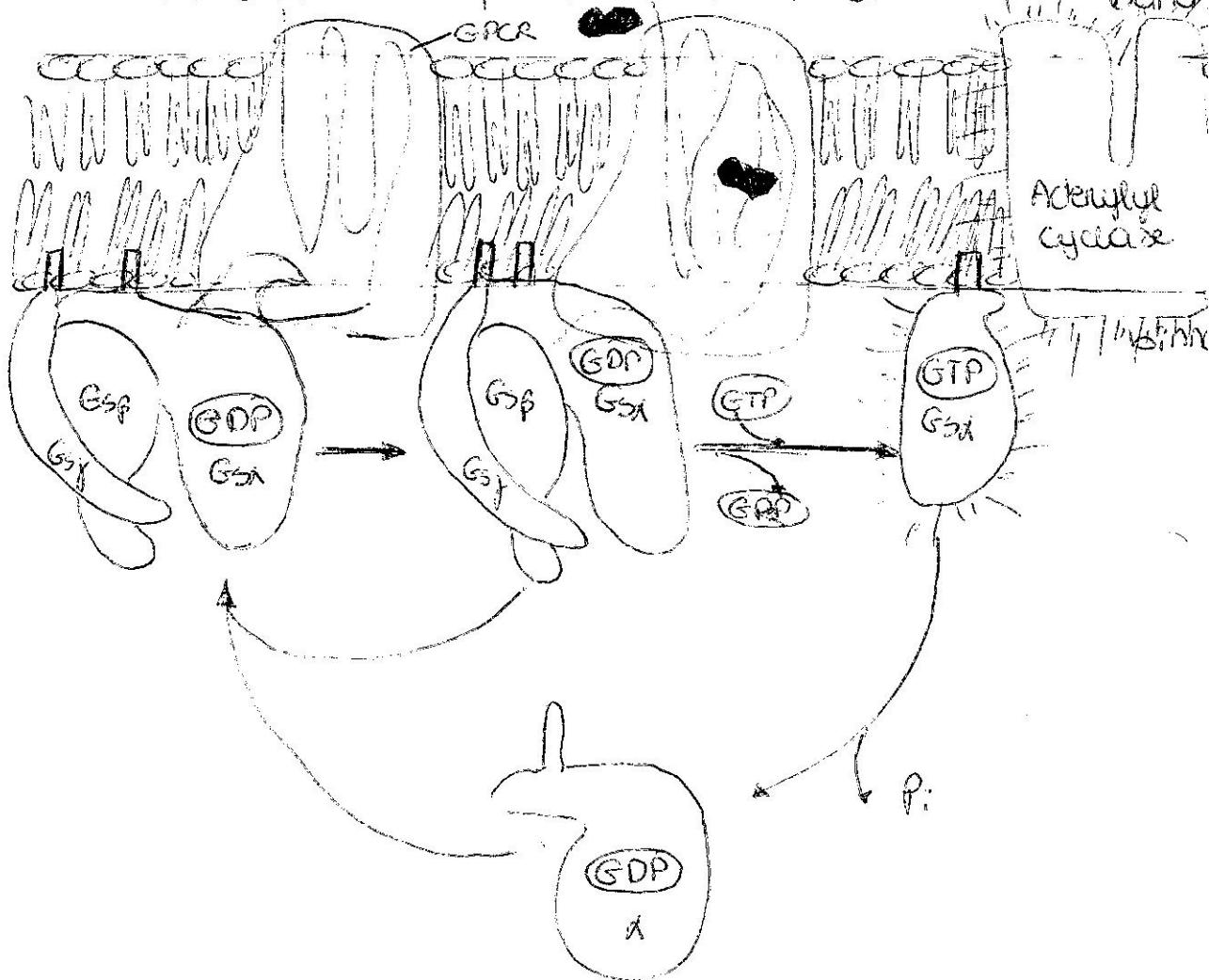
## WERKING

- $\rightarrow$  binding epinefrine  $\rightarrow \Delta$  conformatie  $\Rightarrow \dots \Rightarrow G\text{-protein}$
- $\rightarrow \dots \Rightarrow$  adenylyl cyclase  $\Rightarrow$  cAMP synthese



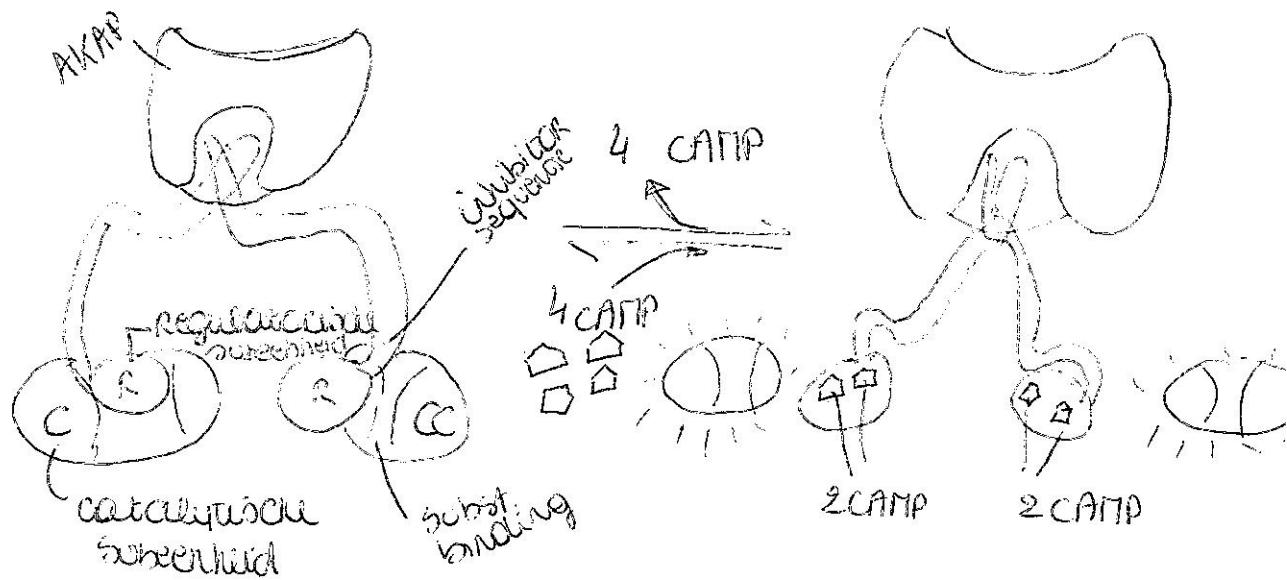
- ① Epinefrine bindt aan zijn specifieke receptor
- ② Hormoon-receptor complex veroorzaakt dat de GDP-binding aan  $G_{\alpha s}$  vervangen wordt door GTP, hierdoor wordt  $G_{\alpha s}$  5'-AMP geactiveerd.
- ③ Geactiveerd  $G_{\alpha s}$  scheert zich af van  $G_{\beta\gamma}$ , verplaatst naar adenylyl cyclase, en activeert dit. Vele  $G_{\alpha s}$  subeenheden kunnen geactiveerd worden door 1 bereikte receptor.
- ④ Adenylyl cyclase katalyseert de vorming van cAMP.
- ⑤ cAMP activeert PKA
- ⑥ Fosforylatie van cellulair proteïnen door PKA veroorzaakt de cellulair respons op epinefrine.
- ⑦ cAMP degradeert, PKA wordt hierdoor gedecoupled.

→ G<sub>s</sub>, stimulatorisch G-proteïne, functioneert als 'moleculaire switch', GTP als substraat



- ① G<sub>s</sub> met GDP-binding is niet geactiveerd; het kan adenylyl cyclase niet activeren
- ② Contact tussen G<sub>s</sub> en hormoon-receptorcomplex veroorzaakt verwisseling van GDP-binding door GTP
- ③ G<sub>s</sub> met GTP-binding dissociëert in α en βγ sub-eenheden. G<sub>s</sub>α + GTP wordt geactiveerd, dit kan adenylyl cyclase activeren.
- ④ GTP-binding met G<sub>s</sub>α wordt gehydrolyseerd door de intrinsieke proteïne GTPase, G<sub>s</sub>α deactiveert zichzelf. De inactieve α-subeenheid komt terug samen met de βγ-subeenheid.

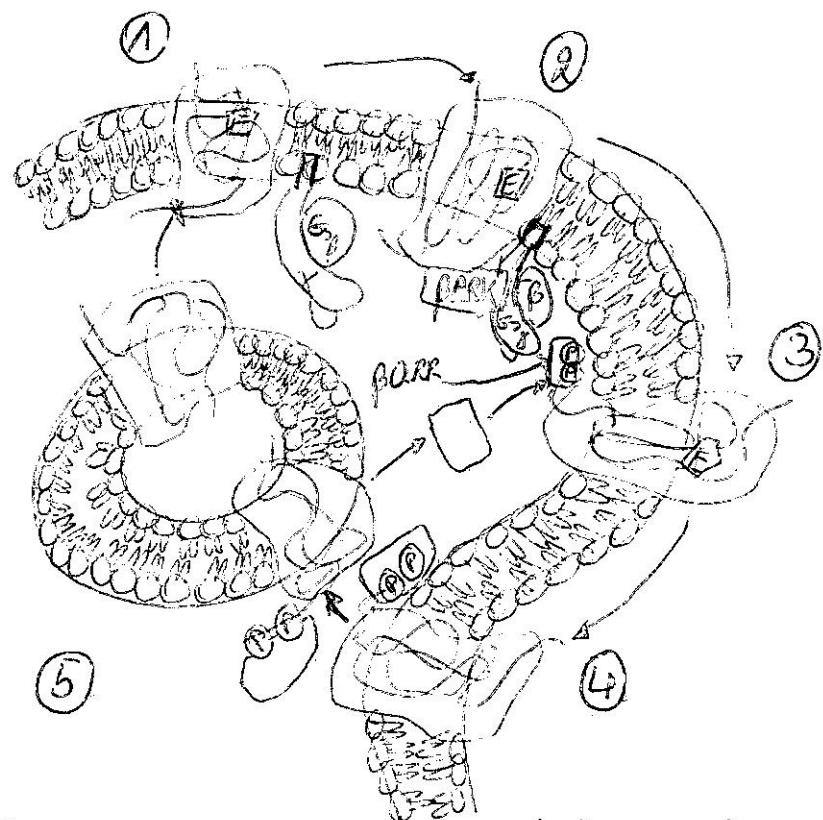
- proteïne kinase A (PKA), cAMP activeert, door vrijstelling  
v. auto-inhiberende subeenheden
- PKA fosforyleert eiwitten
- consensussequentie: X R [RK] X [ST] B



- amplificatie
  - PKA activeert fosforylase b kinase
  - Fosforylase b kinase activeert glycogeen fosforylase
  - ... → 10.000x
  - ↳ sterke amplificatie waarbij 1 enkel adrenaline molecuul gebruikt / verbruikt wordt
  - ⇒ vrijstelling veel suiker

## DESENSITISATIE

- adhv fosforlyering & associatie met arrestine
- desensitisatie = onderbreken signaal, in aanwezigheid v. stimulus
- $\beta$ -adrenerge receptor kinase ( $\beta$ ARK), fosforlyeert Ser (C-terminus)  $\Rightarrow$   $\beta$ -arrestine ( $\beta$ ARR)  $\Rightarrow$  endocytose



- ① Binding van epinefrine (E) op  $\beta$ -adrenerge Receptor veroorzaakt dissociatie van  $G\beta\gamma$  van  $G\alpha$
- ②  $G\beta\gamma$  rekruiteert  $\beta$ ARK naar het membraan, waarmee het SER-residu's fosforyleert aan de C-terminus van de receptor.
- ③  $\beta$  arrestine ( $\beta$ ar) bindt aan het gefosforyleerde C-terminus domineert via receptor.
- ④ Receptor-arrestine complex treedt nu in binnendoor endocytose.
- ⑤ In de endocytose vesikel, dissociert arrestine. De receptor wordt gedeglycosideerd en teruggebracht naar het celopp.

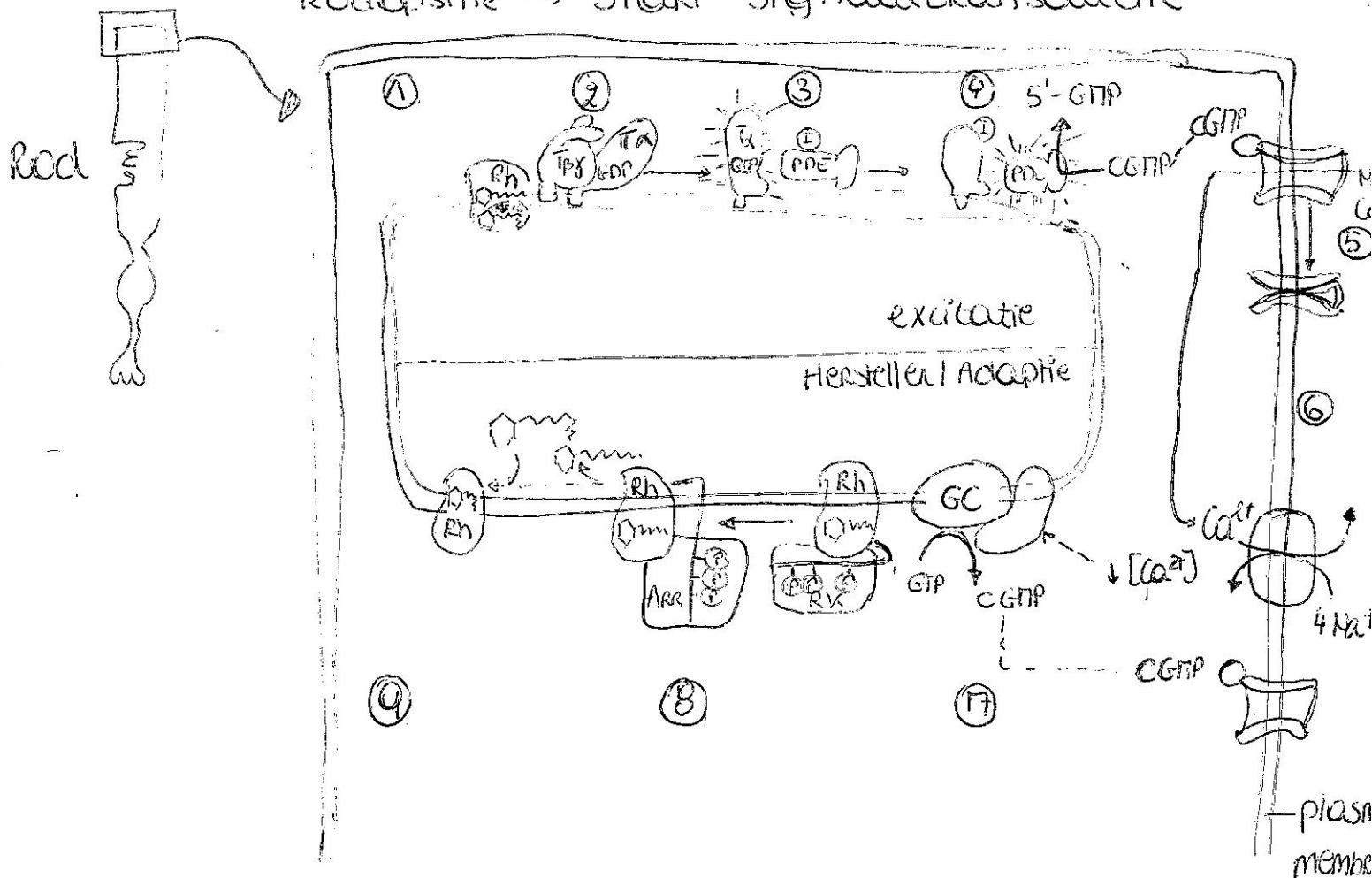
# GPCR in lichtpercepcie + ugen met geur- & smaakpercept

## INLEIDING

- shaftjes: intensiteitspercepcie
- regeltjes: kleurpercepcie
- zotan:  $\Delta [cGMP] \rightarrow \Delta \text{Na}^+/\text{Ca}^{2+} \rightarrow \Delta V_m \uparrow$   
Hyperpolarisatie
- Rodopsine, 40 kDa, 7 TM helices
- CHROMOFOOR = 11-cis-Retinal covalent aan opsine
- ZOTAN: 11-cis-Retinal  $\rightarrow$  all-trans-Retinal

## MECHANISME

- ZOTAN: 11-cis-Retinal  $\rightarrow$  all-trans-Retinal  $\rightarrow$   $\Delta$  conform
- Rodopsine  $\rightarrow$  start signaaltransductie



- ① Lichtabsorptie converteert 11-cis-Retinal in all-trans-Retinal, hierdoor wordt Rodopsine geactiveerd

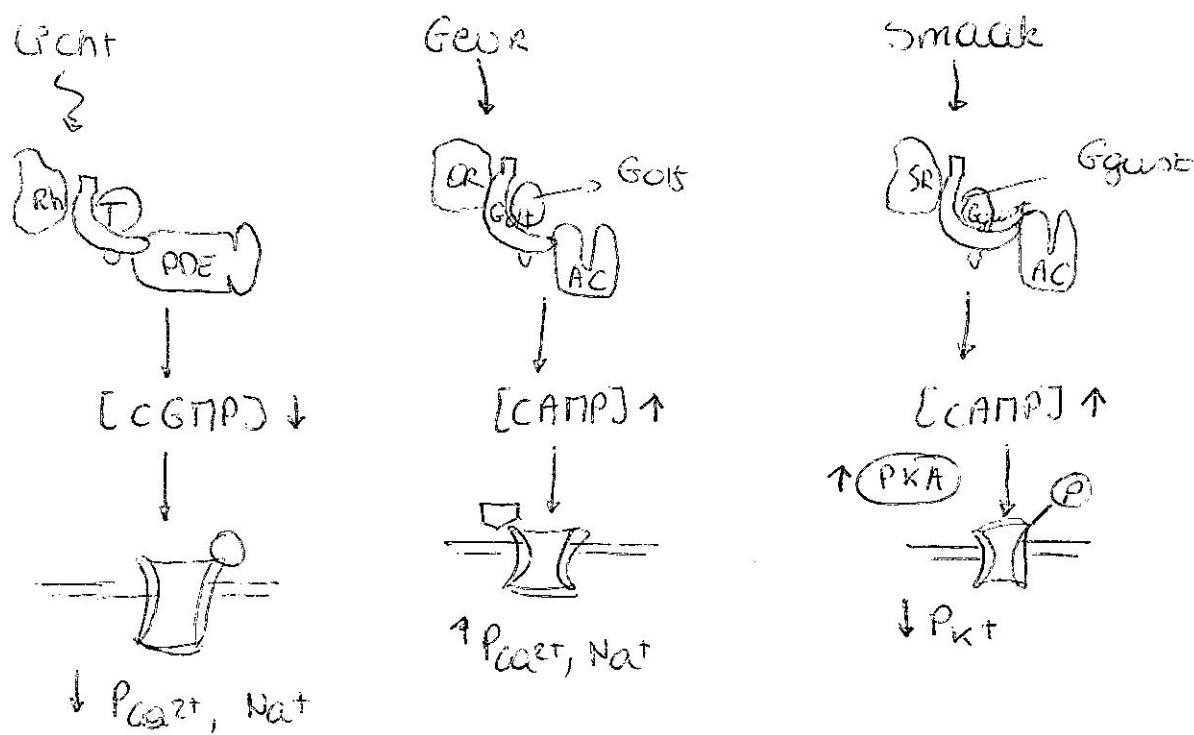
- ② Geactiveerd rodopsine katalyseert de vervanging GDP in GTP op transducine ( $T\gamma$ ), hierna dissociert het in  $T\alpha$ -GTP en  $T\beta\gamma$ .
- ③  $T\alpha$ -GTP activeert cGMP phosphodiesterase (PDE) door zijn inhiberende subeenheid te binden en te verwijderen.
- ④ Geactiveerd PDE reduceert  $[cGMP]$  tot lager dan het niveau nodig om de kationkanalen open te houden.
- ⑤ Kationkanalen sluiten,  $\text{Na}^+ & \text{Ca}^{2+}$  hierdoor niet kunnen stromen; het membraan is gehyperpolariseerd. Dit signaal is naar de hersenen gestuurd.
- ⑥  $\text{Ca}^{2+}$  wordt continu naar buiten gedreven door de  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Na}^+$  uitwisselaar,  $[\text{Ca}^{2+}]$  daalt in het cytosol.
- ⑦ Reductie van  $[\text{Ca}^{2+}]$  activeert guanylyl cyclase (GC) en inhibeert PDE;  $[cGMP]$  stijgt tot "donker" level, de kationkanalen gaan opnieuw open en  $V_m$  komt terug op prestimulus level.
- ⑧ Rodopsine kinase (RK) fosforificeert "bleached" rodopsine ( $\text{Ca}^{2+}$ ) stimuleert deze reactie. Arrestine (ARR) bindt gefosforificeerd C-terminus dit viaagt veert rodopsine.
- ⑨ Traag dissoiveert arrestine, rodopsine is gedegradeerd en all-trans-retinal is verwanger door MUS. Rodopsine is klaar voor een nieuwe lichtdetectiecyclus.

### EXTRA

- Signaaltransductie strategieën & kegelhopen gelijkaardig
- Kegelhopen: 3 versies v. opsine  $\rightarrow$   $\neq$  omgeving voor MUS-retin
- Kleurenblindheid: mutaties opsine  $\rightarrow$  verlies pigment gevoeligheid / gewijzigde kleurwaarneming

## VERGELIJKING NIET GEUR- & SMAAK PERCEPTE

- olfactieve neuronen, cilia in extracellulaire mucuslagen membraan met olfactieve receptoren (GPCR)
- ≠ receptoren, integratie geur patronen ⇒ uitgebreid geurbereik
- G-proteïne gekoppelde reactie: associatie geurendecul Receptor ⇒ G<sub>olf</sub>-α ⇒ adenylyl cyclase ⇒ Δ [cAMP]  
⇒ opening Ca<sup>2+</sup> kanaal ⇒ opening Cl<sup>-</sup> kanaal ⇒ Δ V<sub>m</sub> (depolarisatie)
- gemeenschappelijke eigenschappen:
  - ⇌ TN segmenter, Δ conformatie na ligand binding  
⇒ interactor trimeren G-proteïne
  - Activatie effector enzym → Δ zde bodschapper  
→ Δ fosforylering of Δ ionentransport
  - Zelf-inactivatie via Ser, Thr fosforylering



## Receptor Tyrosine Kinase + Ub. Insulíne

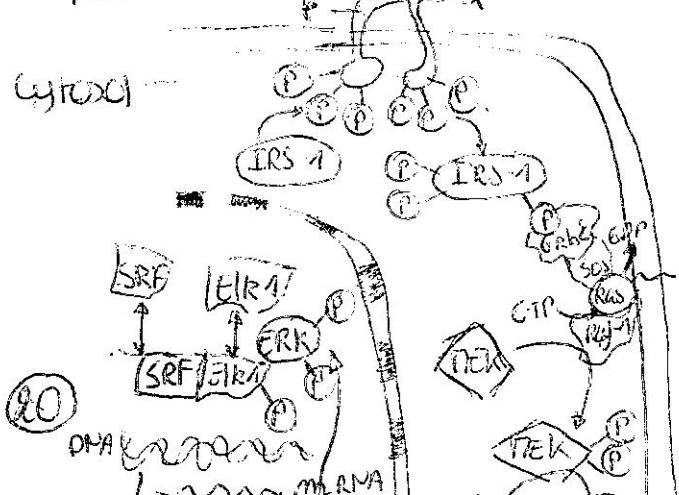
### INLEIDING

- PT eiwitten met extracellulaire receptor domein & intracellulaire Tyr kinase domein
- STRUCTUUR: 2x subeenheden (insulíne-binding), 2x PT eenheden Tyr-kinase
- ACTIVATIE: insulíne → kinase → autofosforolyking  $\beta$ T<sub>C</sub>  
⇒ opening actieve site ⇒ Substraat fosforolyking

### MECHANISME

- stimulatie vid insulíne receptor initieert een cascade van proteíne fosforylatie reacties
- ↳ Geactiveerde insulíne receptor fosforolykeert 1 insulíne receptor substraat eiwit (IRS-1)
    - ⇒ P-Tyr op IRS-1 bindt SH2 domein v Grb2
    - ⇒ SH3 domein v Grb2 bindt PRO- rige zone v Sos
    - ⇒ Sos katalyseert GTP binding op Ras (monomeric proteíne)
  - ⇒ Ras fosforolykeert proteíne kinase Raf-1
  - ⇒ Raf-1 fosforolykeert proteíne kinase MEK
  - ⇒ MEK fosforolykeert proteíne kinase ERK
  - ⇒ ERK activeert transkriptie factoren
  - ⇒ Δ genexpressie
  - ↳ ERK, MEK, Raf-1: MAPK kinaser (= mitogen activated protein kinases)

insulíne  $\Rightarrow$  MAPK cascade pathway

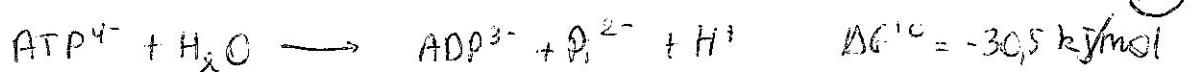
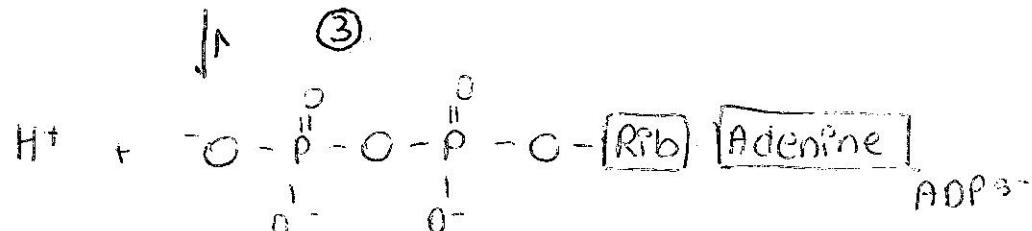
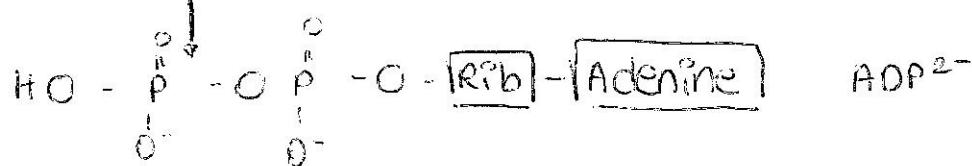
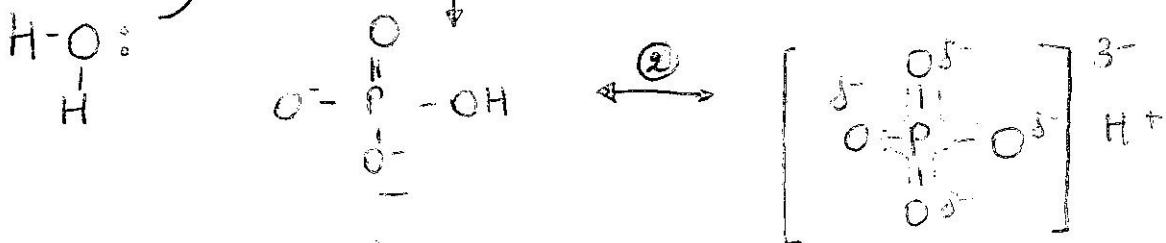
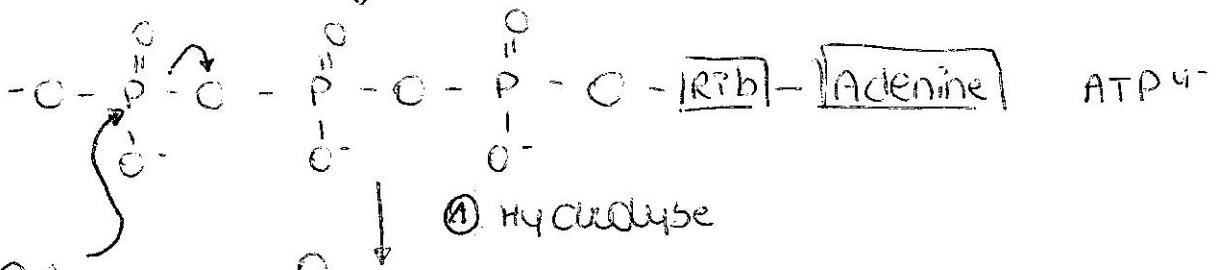
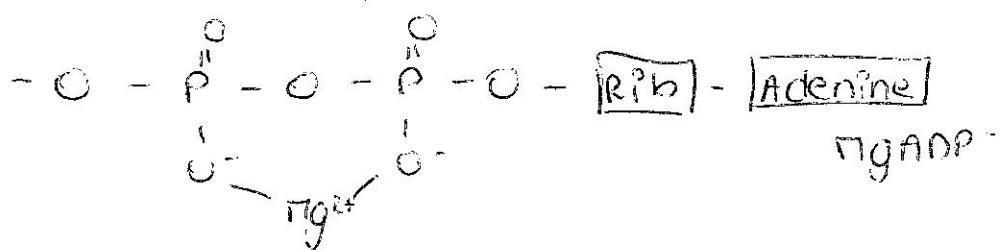
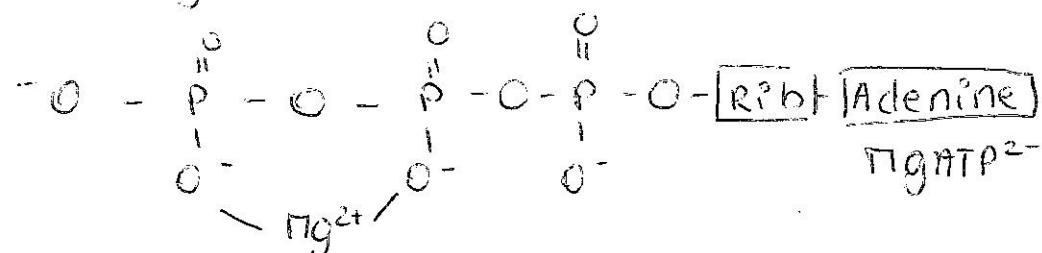
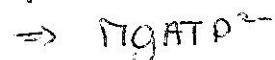


## H13 Bioenergetica & metabolisme

Waarom is ATP-molecule energetisch voordeilig? (4)

- ① - hydrolyse  $\Rightarrow$  oppheffen elektrostatische afstoting
  - ② - resonantie stabilisatie van  $P_i^{\cdot-}$
  - ③ - ionisatie van  $ADP^{2-} \rightarrow ADP^{3-}$
  - ④ -  $ADP^{3-}$  en  $P_i^{2-}$  grotere solvatatie (watermantel) dan  $ATP^{4-}$

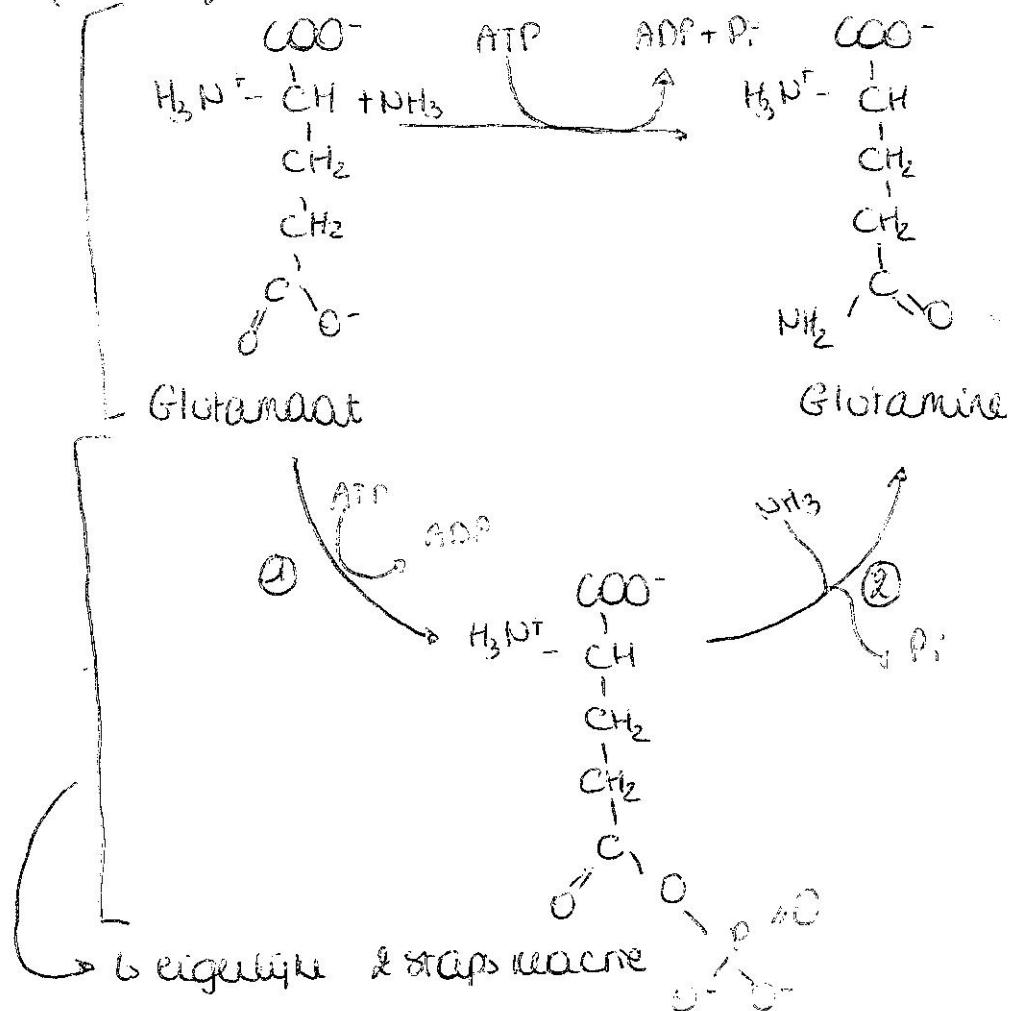
Eigelijke substraat voor meeste enzymatische reacties



- ↳ ATP levert E door guanidintransfer, dit doet simpelere hydrolyse
- ↳ ATP cycl. reacties meestal in 2 stappen
  - ① - fosforyl (A), of pyrofosforyl (PP<sub>i</sub>)-GDP, of AMP overdraait (covalent)  
→ verhoogt vrije E gelukkig
  - ② - verwijderen van de GDP

Uit:

↳ geschiedt als 1 stap



- ↳ fosfaatbevattende verbindingen arbitrair ingedeeld in 'hoge energie' en 'lage energie'
- energiewinst (?) afh. v. verschil in vrije E v substraten & producten

## H14 - Glycolyse, gluconeogenese en de pentosefestaat

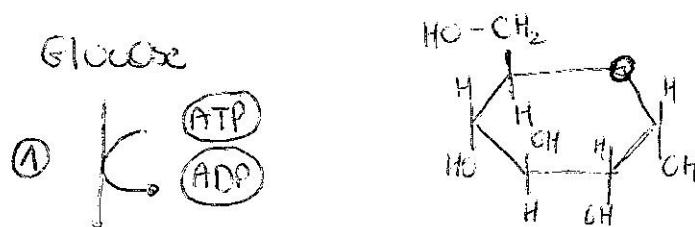
## Glycolyse

- meest universele energie route
  - enige E-bron voor sommige celtypen (erythrocyten, herten)
  - ... en talrijke anaerobe organismen

## PATHWAY 2: faser

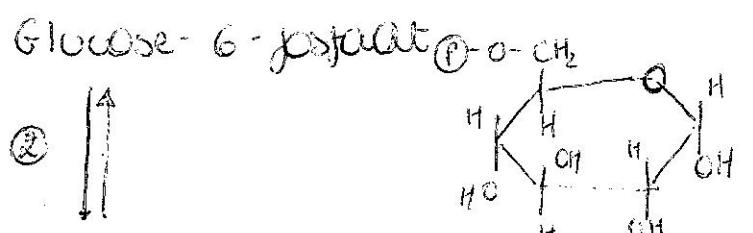
## Woorde en leesjase

- fosforeylering glucose (6 C) (+ATP)
  - isomerisatie tot fructose 6-fosfaat
  - fosforlyering (+ATP)
  - splitsing (2x3C)
  - isomerisatie

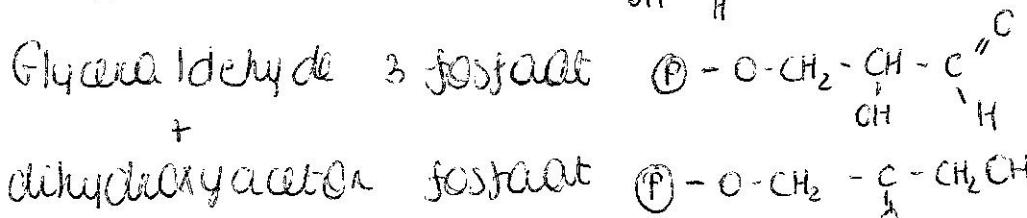
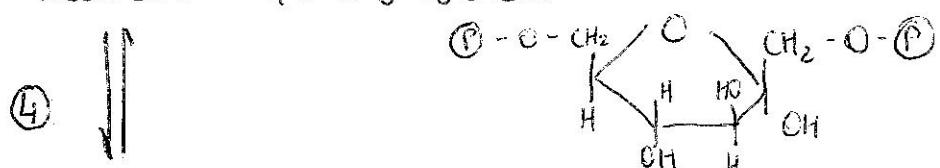
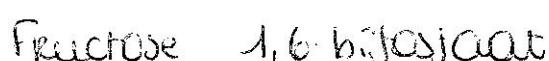
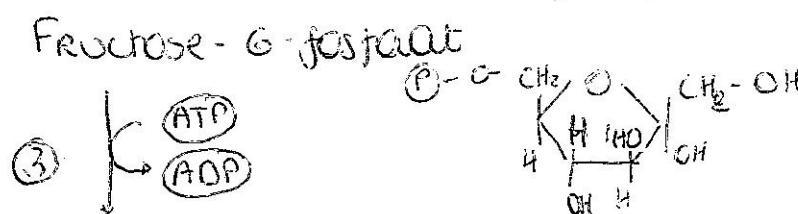


E van ATP gevraagd is:

- toenemende  $\Delta G$
- hexosen  $\Rightarrow$  glycer-
- aldehyde 3-karbo-



- ① Hexokinase
- ② fosfoglycerate kinase
- ③ fosfoglyceratase
- ④ Aldolase
- ⑤ Triose phosphate isomerase



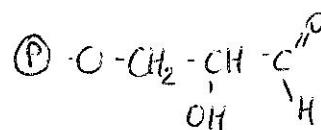
## Pay-off fase:

→ Oxidatie en fosforyleer (+NAD<sup>+</sup>) + P<sub>i</sub>)

→ conversie naar pyruvaat

Glyceraldehyde 3-fosfaat

+



dihydroxyacetone fosfaat

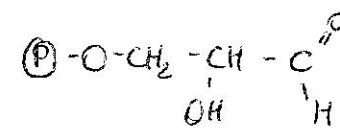


$\textcircled{5}$

||

$\textcircled{5}$  triose fosfaat isomerase

Glyceraldehyde 3-fosfaat (2)



$\textcircled{6}$

||

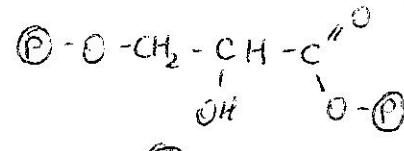
$2\text{Pi}$

$2\text{NAD}^+$

$2\text{NADH} + \text{H}^+$

$\textcircled{6}$  glyceraldehyde 3-fosfaat dehydrogenase

1,3-bisfosfoglycaat (2)



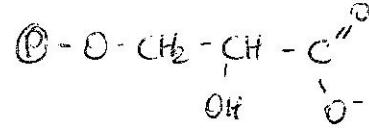
$\textcircled{7}$

||

$\text{ATP}$

$\textcircled{7}$  fosfoglyceraat kinase

3-fosfoglycaat (2)

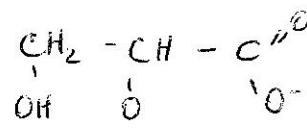


$\textcircled{8}$

||

$\textcircled{8}$  fosfoglycaat mutase

$\alpha$ -ketoglycaat (2)



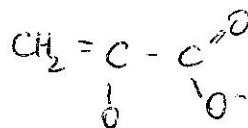
$\textcircled{9}$

||

$2\text{H}_2\text{O}$

$\textcircled{9}$  enolase

fosfoenolpyruvaat (2)



$\textcircled{10}$

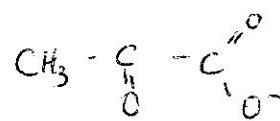
||

$\text{XADP}$

$\text{XATP}$

$\textcircled{10}$  pyruvaat kinase

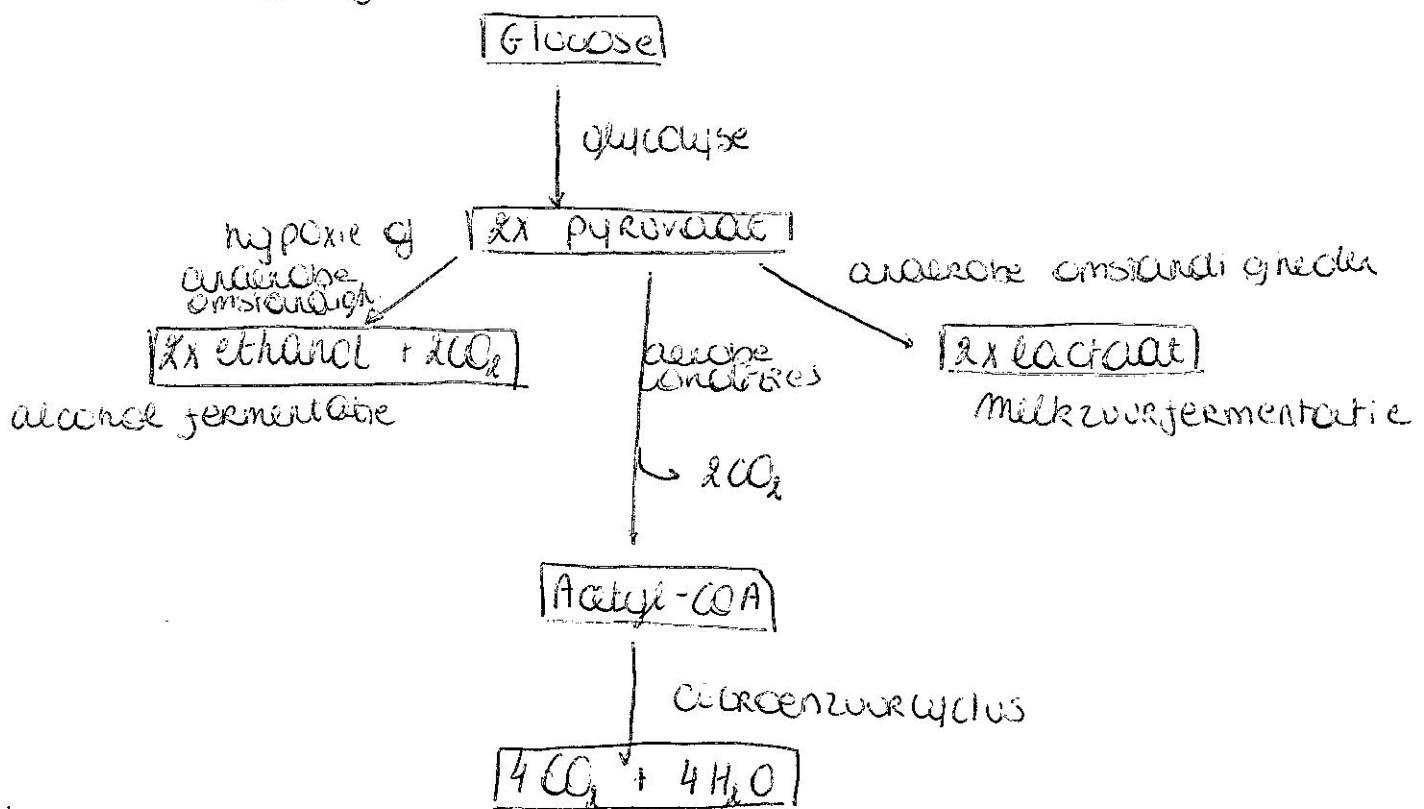
pyruvaat (2)



- oxidatie glyceraldehyde 3-fosfaat
- vorming v. ATP en NADH
- energiebalans  $\Delta G^{\circ} = -85 \text{ kJ/mol}$
- ΔPH door vrijkomen protonen

### Metabolisch "lot" van pyruaat

- ① - volledige oxidatie v. pyruaat tot  $\text{CO}_2$  en  $\text{H}_2\text{O}$
- ② - reductie tot melkzuur
- ③ - fermentatie tot alcohol



④ ATP is nodig in de voorbereidingsfase vid glycose Hexokinase

- vooraan D-glycose als substraat, maar ook D-fructose
- 8 D-mannose
- gebruikt  $11 \text{ ATP}^{2-}$
- geïnduceerde  $\beta^2$

⑤ Glycose kan ook gevormd uit andere moleculen  
→ D-Glucose, D-galactose, sucrose, lactose, ...

## ④ pyruaat bestemming in anaerobe condities & fermentatie

### - Melkzuur fermentatie

↳ pyruaat = terminale  $e^-$  acceptor

↳ lactaat dehydrogenase

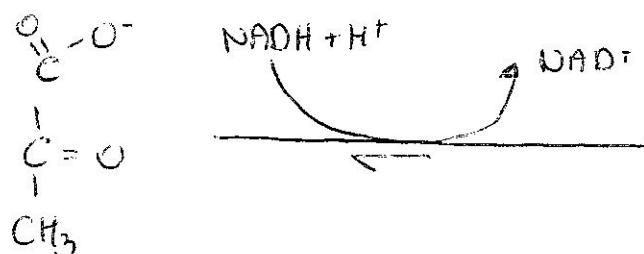
→ reduceert pyruaat tot L-melkzuur (lactaat)

↳ fermentatie

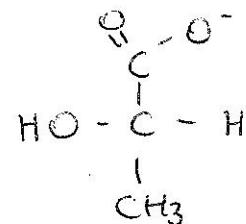
→ extractie van energie (ATP)

→ zonder  $O_2$  verbruik

↳ in erythrocyten, sommige micro-organismen, conroches v. spieren



pyruaat



L-lactaat

### - Alcohol fermentatie

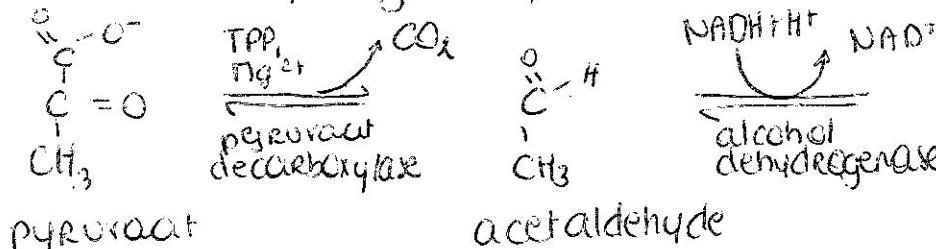
↳ ethanol = gered. product

↳ in gist & micro-organismen

↳ fermenteren v. glucose tot ethanol

↳ pyruaat decarboxylase ?, decarboxyleert pyruaat

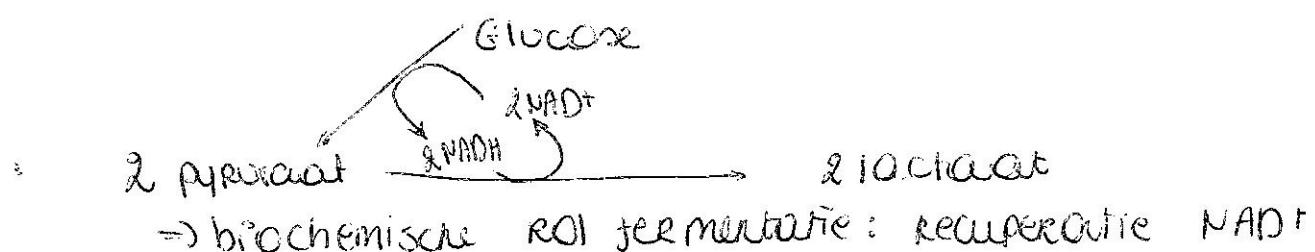
↳ alcohol dehydrogenase, reduceert acetaldehyde



pyruaat

acetaldehyde

ethanol



# Gluconeogenese

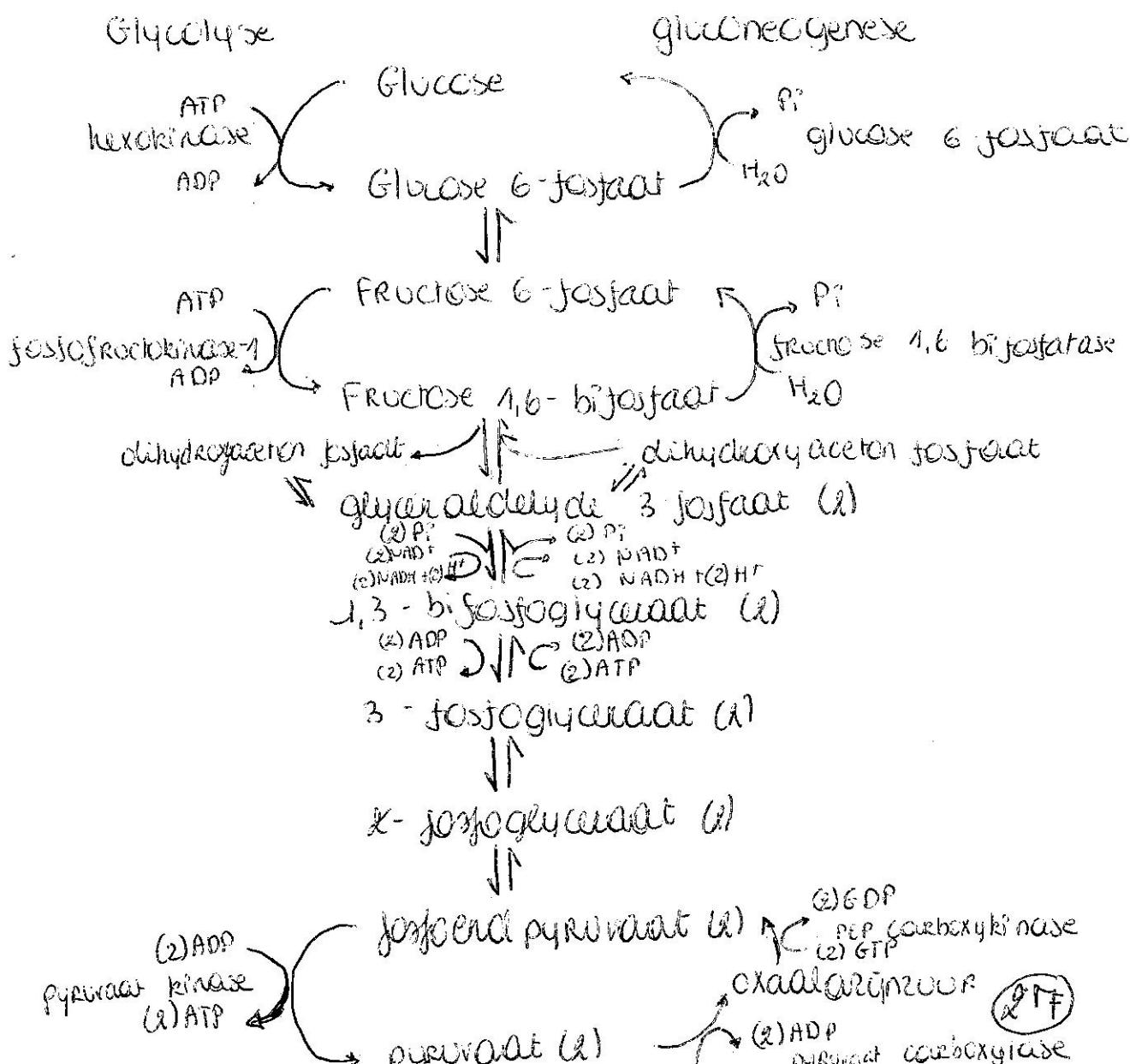
## INTRODUCING

- synthese glucose uit niet-suiker precursors
- planten, dieren, schimmels, micro-organismen
- dieren ook in lever

## CORI-cyclus

- (over)actieve spieren verbruiken glucoseen
- ⇒ productie lactaat ↑
- ⇒ transport naar lever
- ⇒ synthese v. glucose
- ⇒ transport naar spier

## PATHWAY



→ gluconeogenese ≠ omgekeerde glycolyse

- 3 "bypass" reacties

↳ 3 reacties v. glycolyse (niet veel irreversibel (-ΔG))

↳ regulatie op unieke enzymatische reacties

→ ΔVRE E 20 groot negatief → reacties onomkeerbaar

↳ "bypass" nodig

bypass ondertussen kost veel E : 2 enzymen nodig

## H16 - Citroenzuurcyclus

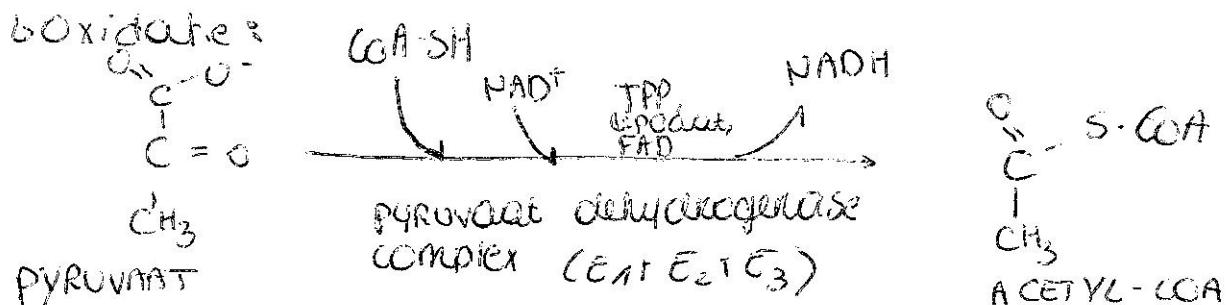
### Pyruvaat dehydrogenase

↳ in aerobe organismen ⇒ afbraak v. C-skeletten  
(suiker, vetzuren & Aan) tot acetyl-CoA



↳ pyruvaat dehydrogenase (PDT, enzymcomplex)

→ irreversibele oxidative decarboxylering  
(verwijdering CO<sub>2</sub>) v. pyruvaat



PDT gebruikt 5 ω-ENZYKEN

↳ pyruvaat dehydrogenase

→ oxidative decarboxylering

→ 3 enzymen + 5 ω-enzymen

- TPP: thiamine pyrophaat ⇒ dekarboxyleringen

- FAD → oxidatie-reductie reacties

- Coenzyme A ( $\text{CoA-SH}$ ) → 'activering' acyl groep
- $\text{NAD}^+$  →  $e^-$  acceptor
- Lipaal →  $e^-/\text{acyl carrier}$

↳ CO-enzymen komen voort uit vitamines (H6)

- thiamine ( $\cong \text{vit B}_1$ ) ⇒ TPP
- riboflavine ( $\cong \text{vit B}_2$ ) ⇒ FAD
- niacine ⇒ NAD<sup>+</sup>
- pantothaan (vit B<sub>5</sub>) ⇒ CoA

PDH HEFT 3 ≠ ENZYMEN

- ↳ pyruaat dehydrogenase ( $E_1$ )
  - met TPP

↳ dihydrolipoyl transacetylase ( $E_2$ )

- covalente aanhechting v lipaal (Lys)
- ⇒ lange flexibele arm
- 3 functionele domeinen
- flexibele linkers

↳ dihydrolipoyl dehydrogenase ( $E_3$ )

- met FAD

↳ elk enzym in meer drie kopien

↳ regulatorische eruitlenen (kinase, fosfoproteïne fosfataas)

SUBSTRATE CHANNELING: INTERMEDIAIREN BLIJVEN AAN ENZYMOOPP.

↳ pyruaat dehydrogenase

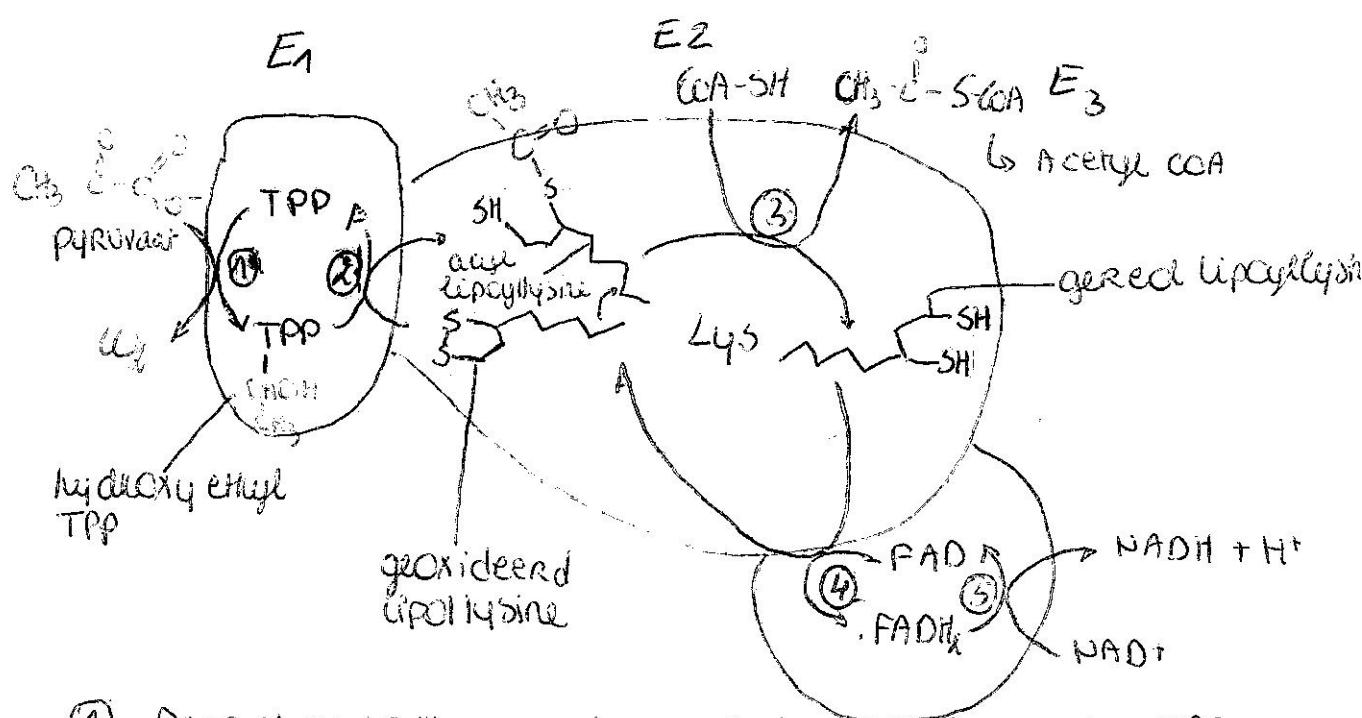
- 5 eenenvoudige reacties

→ substraat channeling

- ↳ TPP = product met ethanol erop, w substraat
  - v volgende reactie zonder enzyme te verlaten en w rechtstreeks overgedragen

⇒ telking → stoppen op achterzijde

↓  
E aanwollen



- ① Decarboxylatie, hydroxyethyl koppeling aan TPP  
Snelheidsbeperkend, sustraatspecifiek
- ② Oxidatie hydroxyethyl groep, Reductie v. lipocaat (-S-S → -SH SH), acetyle thioester op lipoyllysine
- ③ Overdracht v. acetyle naar CoA → acetyle CoA
- ④ Reductie v. FADH<sub>2</sub>, oxidatie lipocaat
- ⑤ Reductie v. NAD<sup>+</sup>

## Citroenzuurcyclus

↳ locatie: na glycolyse, voor oxidatieve fosforisering  
SAMEN = celulaire respiratie

### Mechanisme

#### Acetyl-CoA

↳ 8 reacties in mitochondriale matrix

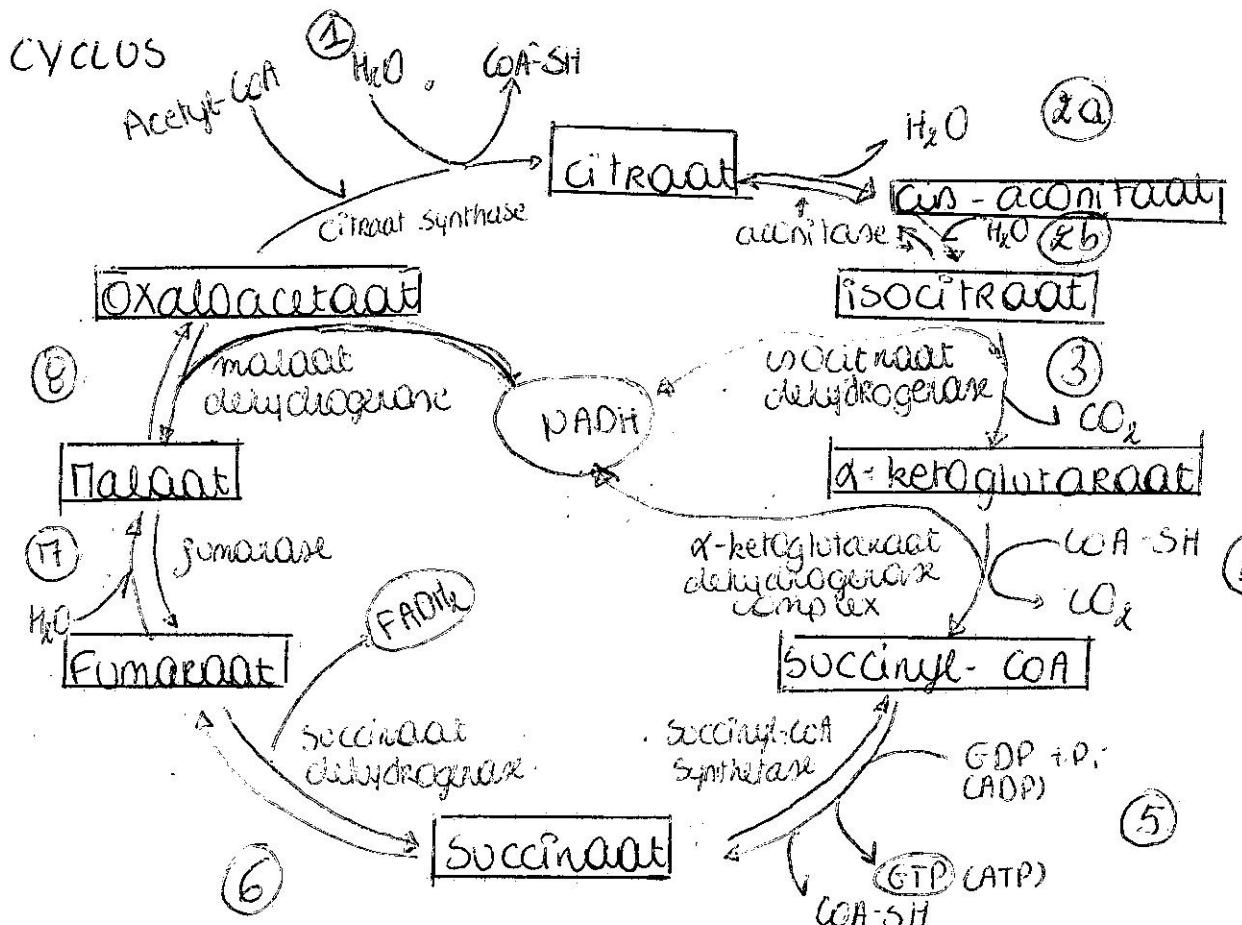
- ① koppeling acetyle (2C) aan oxaalzuur (4C)  
⇒ CITROENZUUR (6C)
- ② omzetting naar isocitraat
- ③ oxidatieve decarboxylering ⇒ CO<sub>2</sub>, NADH,  
 $\alpha$ -ketogiraczuur (5C)
- ④ oxidatieve decarboxylering ⇒ CO<sub>2</sub>, NADH, succinyl-CoA
- ⑤, ⑥, ⑦, ⑧ regeneratie ⇒ oxaalzuur, GTP, FADH<sub>2</sub>, NAD<sup>+</sup>

↳ oxidaatijnzuur aanwezig in hoge concentraties

⇒  $\text{CO}_2$

⇒ 3 NADH, FADH<sub>2</sub>, GTP

⇒ preme.scr moleculen



① Condensatie

② Dehydratatie

③ Hydratatie

④ Oxi.dative decarboxylering

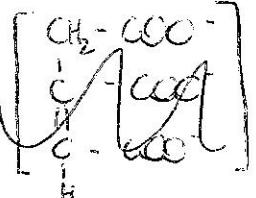
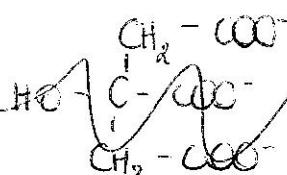
⑤ Oxi.dative decarboxylering

⑥ Substr. level fosforylatie

⑦ Dehydratatie

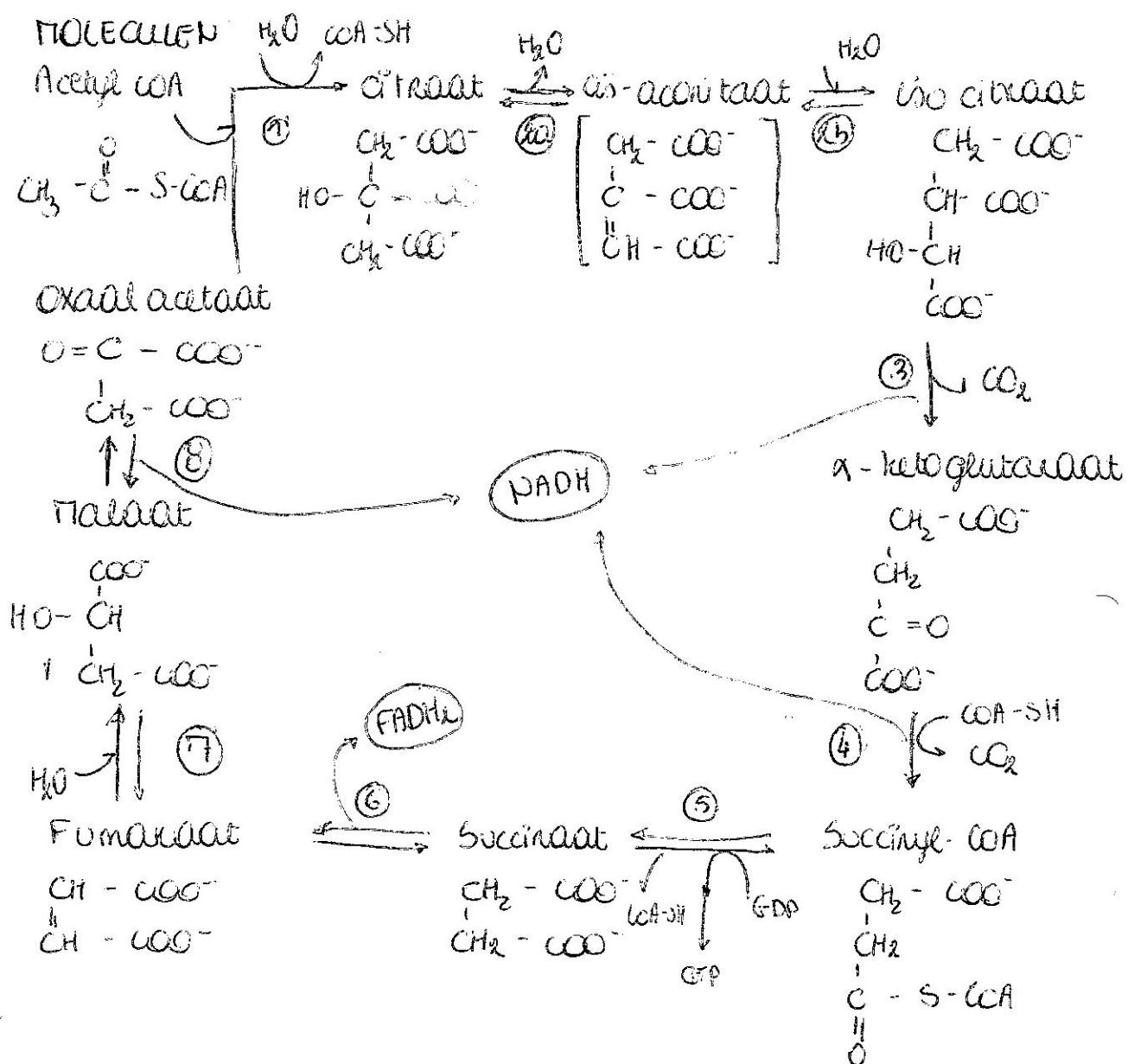
⑧ Hydratatie

⑨ oxi.dative decarboxylering



Opm:

↳ aconitaat bestaat maar nooit apart in de cel  
bekijken ([ ]) ⇒ geen separ. oclusievlid 2a, 2b



### AMFIBOLISCHE ROUTE

- ↳ ROL in anabolisme & katabolisme
- ↳ α-ketoglutarat & oxalaatzuur  $\Rightarrow$  Azo
- ↳ Oxalaat  $\Rightarrow$  glucose (gluconeogenese)
- ↳ Succinyl-CoA  $\Rightarrow$  porfyrinen, heme

## REGULATIE

### b) 2 niveaus:

→ pyruvaat  $\Rightarrow$  acetyl-CoA

→ acetyl-CoA + oxaloaanhydruur  $\Rightarrow$  citraat

b) regulatie gebeurt allosterisch (lijkt niet op substraat-PDH complex)

### 3 covalent

→ allosterische inhibitie v PDH

- bij voldoende E (ATP, NADH)

- 'brandstoffer' (acetyl-CoA, verzuren)

→ covalente regulatie v PDH

- fosforlyering kinase, see in E1) / defosforlyering

- allosterische activatie kinase door ATP

## Pyruvaat

$\downarrow$        $\otimes$  ATP, acetyl-CoA, NADH, verzuuren  
                 $\bullet$  ATP, CoA, NAD<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>

## acetyl-CoA

$\downarrow$        $\otimes$  NADH, succinyl-CoA, citraat, ATP

$\bullet$  ADP

## Citraat

## isocitraat

$\downarrow$        $\otimes$  ATP  
                 $\bullet$  Ca<sup>2+</sup>, ADP

## $\alpha$ -ketoglutaat

$\downarrow$        $\otimes$  succinyl-CoA, NADH  
                 $\bullet$  Ca<sup>2+</sup>

## Succinyl-CoA

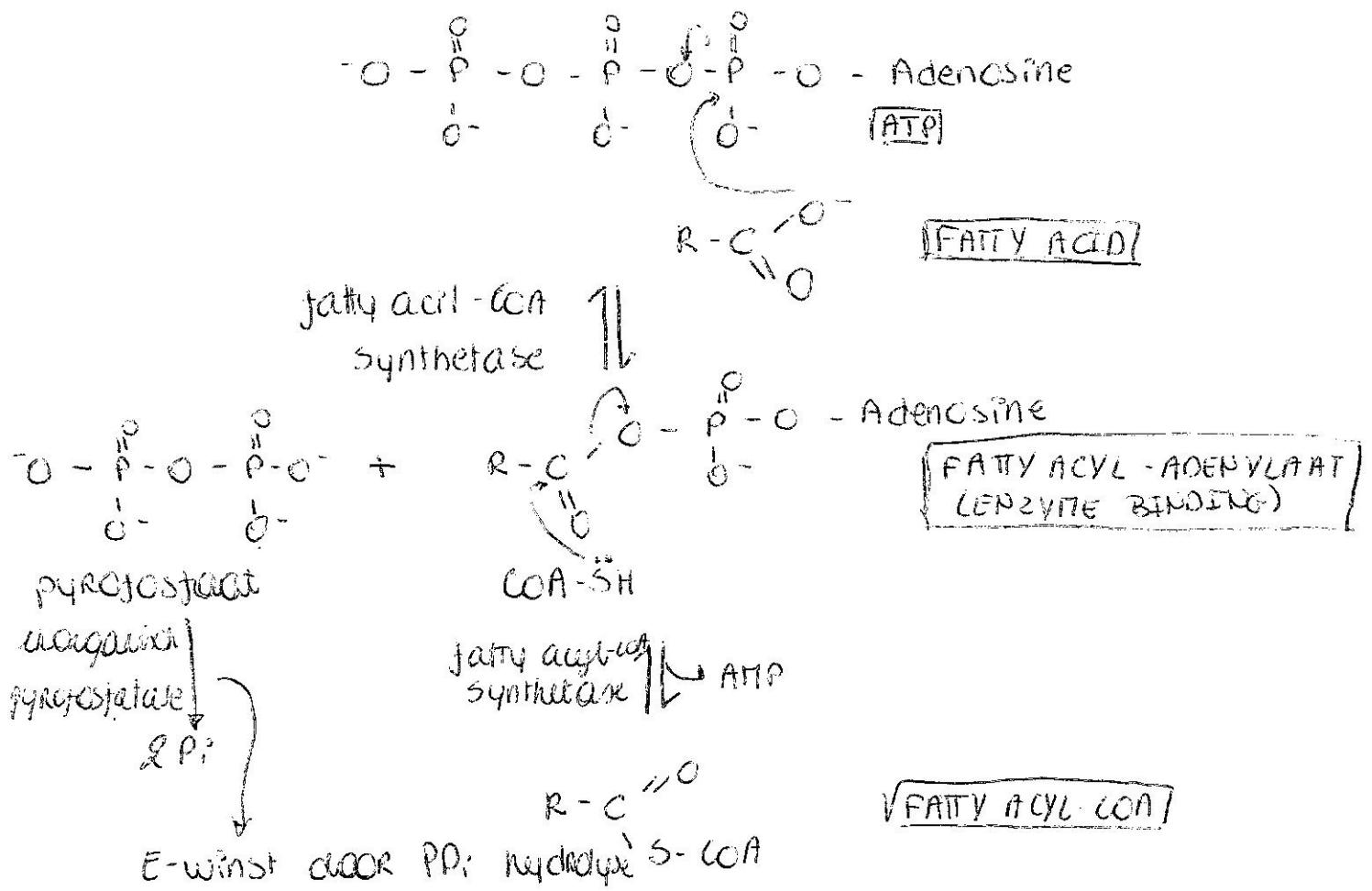
...

## H17 - Vetzuurkatabolisme

### Carnitine Shuttle

- vetzuuroxidatie in mitochondriale matrix
  - vetzuren < 12C ⇒ rechtstreeks door membraan
  - vetzuren > 14C ⇒ activering in carnitine shuttle
    - ↳ 3 stappen

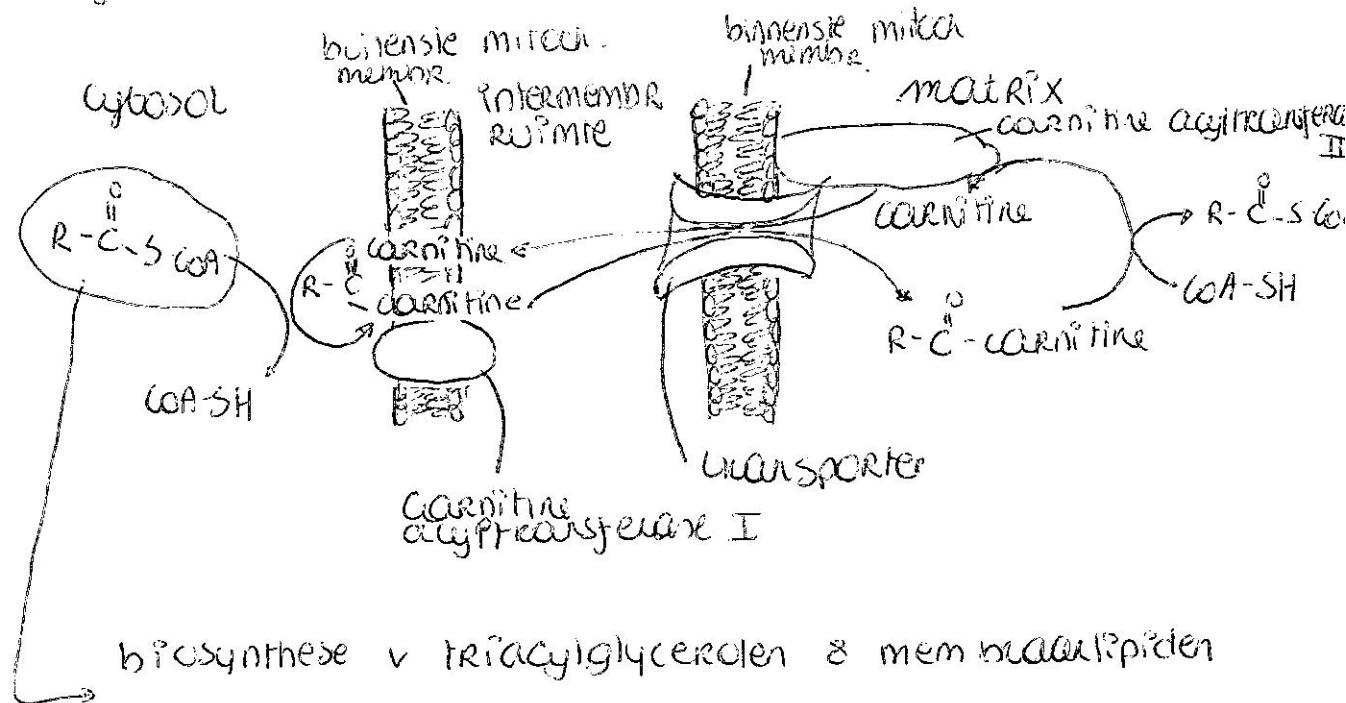
- ① esterificatie met CoA ⇒ fatty acyl-CoA synthetase in mitochondriale membraan (3 stappen reacie)



- ② transesterificatie naar carnitine door carnitine acyltransferase in mitochondriale buitenmembraan
  - transport naar intermembraane ruimte via 'porines'

- ③ transport door binnenmembraan door gefaciliteerde diffusie en transesterificatie naar CoA

2 gescheiden 'pools' v. FA-COA met ≠ metabolisch 'hot'



biosynthese v. triacylglycerolen & membraanlipiden

Waarom niet COA + verzuur door intermembranaire ruimte?

⇒ nu zijn er 2 pools gescheiden v. elkaar

in cytoplasma: biosynthese aanvankl lipidsorten

in matrix: oxidatieve afbraak, energie winning

## VETSTUROXIDATIE

### INTRODUCTIE

6 voordelen in vetopslag: hoog 'energiegehalte', inert, weinig gebonden  $H_2O$ , beperkte osmotische activiteit

6 voordeel in vetopslag: hoog 'energiegehalte', inert, weinig gebonden  $H_2O$ , beperkte osmotische activiteit

6 voordelen in vetopslag: hoog 'energiegehalte', inert, weinig gebonden  $H_2O$ , beperkte osmotische activiteit

6 voordelen in vetopslag: hoog 'energiegehalte', inert, weinig gebonden  $H_2O$ , beperkte osmotische activiteit

6 voordelen in vetopslag: hoog 'energiegehalte', inert, weinig gebonden  $H_2O$ , beperkte osmotische activiteit

6 voordelen in vetopslag: hoog 'energiegehalte', inert, weinig gebonden  $H_2O$ , beperkte osmotische activiteit

### MECHANISME

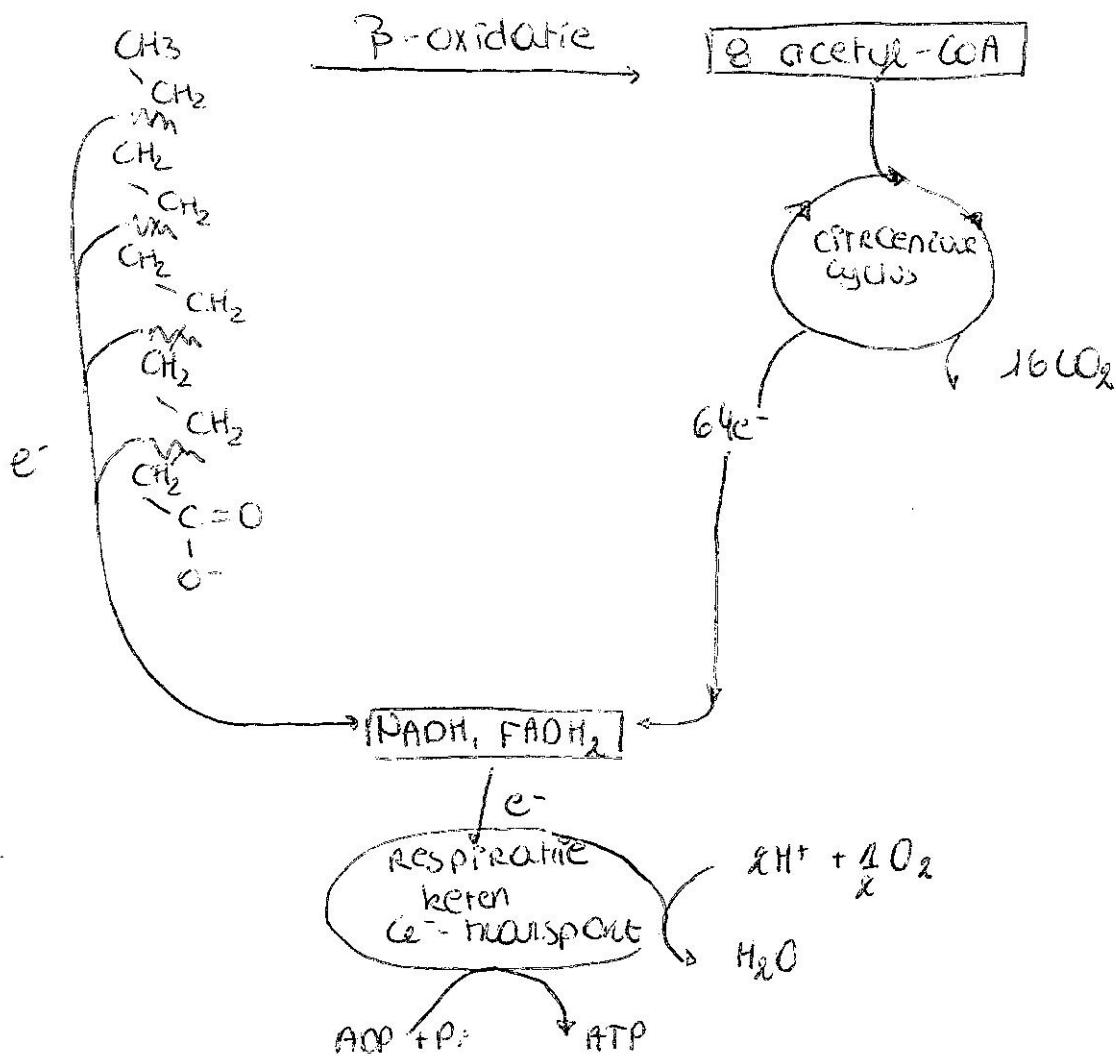
6 vettewereldstof in 3 fasen

① -  $\beta$ -oxidatieve verwijdering v. 2C-eenheden

$\Rightarrow$  synthese v. acetyl-CoA

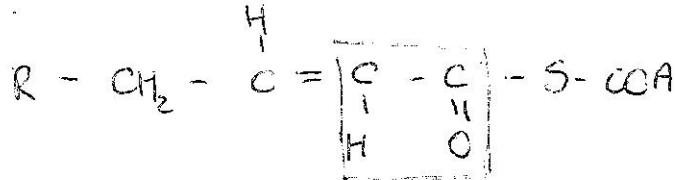
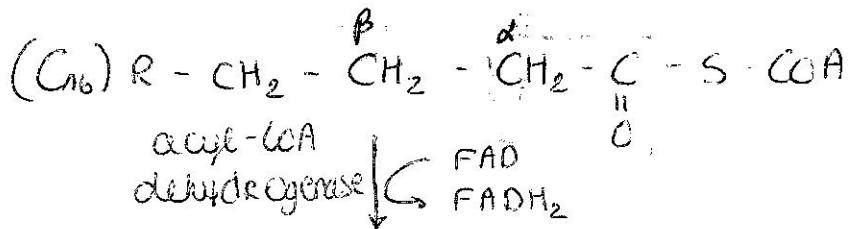
② - TCA-cyclus  $\Rightarrow$  e<sup>-</sup> en CO<sub>2</sub>

③ - Respiratie  $\Rightarrow$  vorming v. ATP

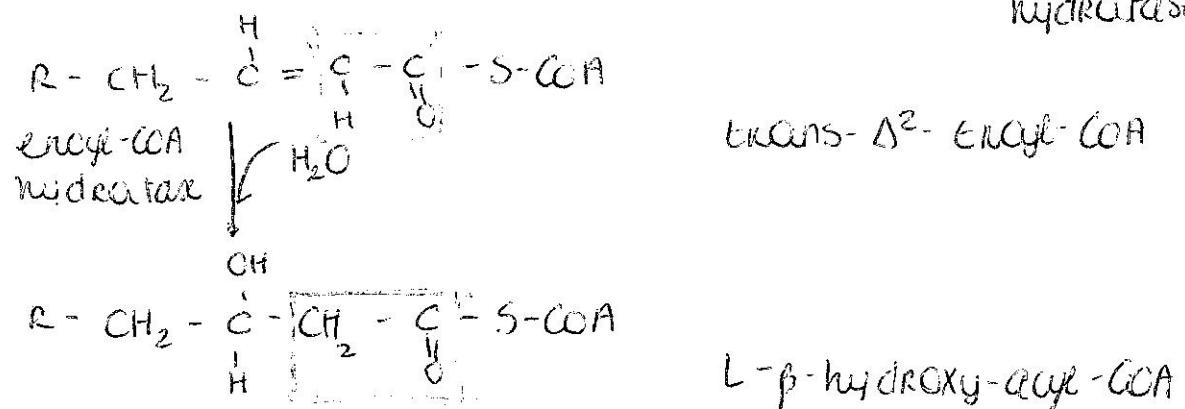


$\beta$ -oxidatie in 4 stappen

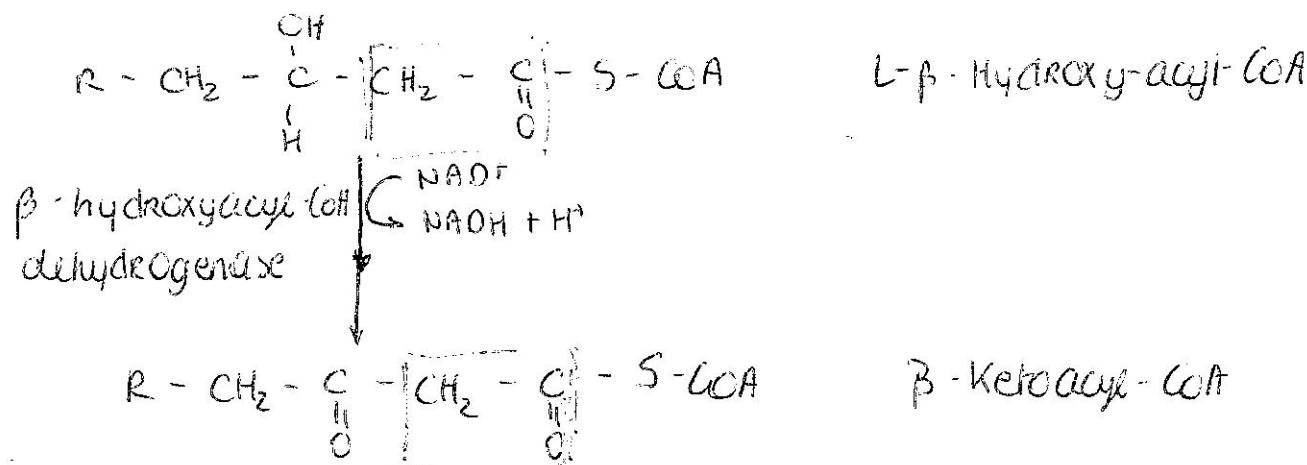
- ① - Dehydrogenatie met vorming v. trans dubbele binding  
 - door acyl-CoA dehydrogenase, flavoproteïne met FAD  
 - gebonden aan mitochondriale binnenmembranen



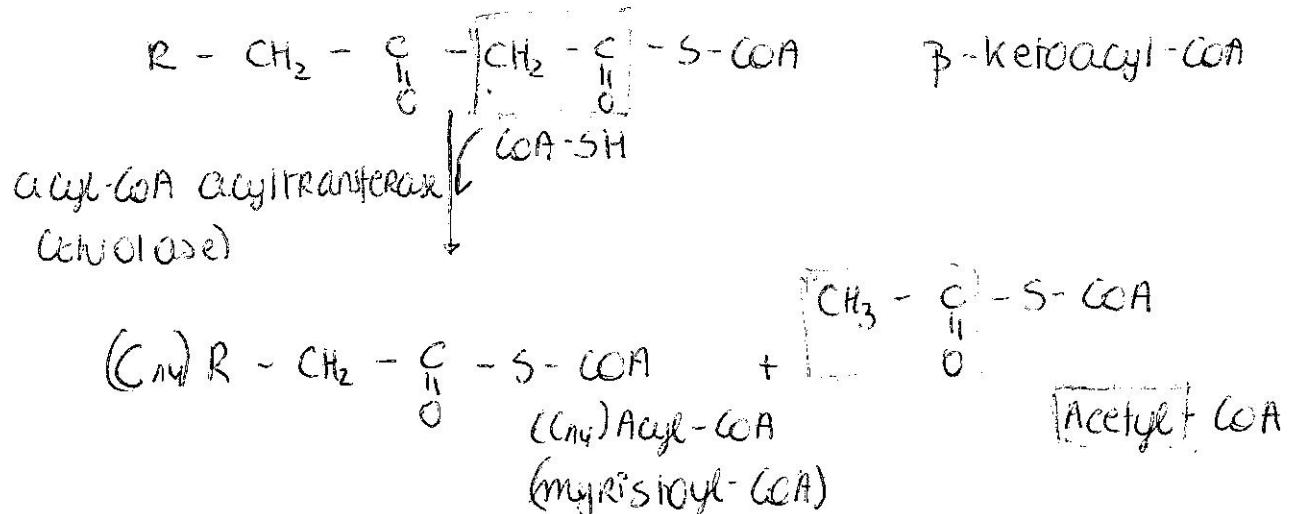
② - toevoeging v.  $\text{H}_2\text{O}$  aan de dubbele binding door enoyl-  
hydratase



③ - Dehydrogenatie door  $\beta$ -hydroxyacyl-COA dehydrogenase  
-  $\text{NAD}^+$  als cofactor

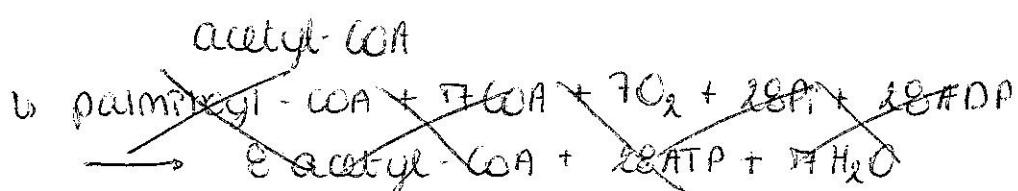
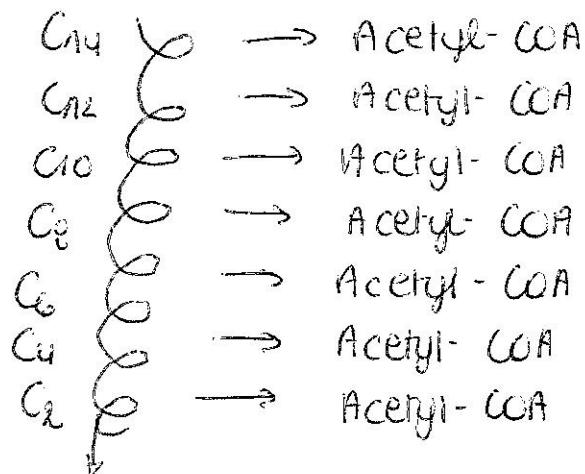


④ - Thioester vorming met CoA-SH door acyl-CoA acetyl-  
transferase (= thiolase)  
- = 'thiolase'



↳ Reacties 2-4 voor FA  $\rightarrow$  A<sub>2</sub>C; gekatalyseerd door multienzym complex : trifunctional protein (TFP)  
 → hetero-octamer :  $\alpha_4\beta_4$   $\rightarrow$  'substraat claimring'

↳ Omzetting v palmitaat (A<sub>6</sub>O) tot 8-acetyl-COA



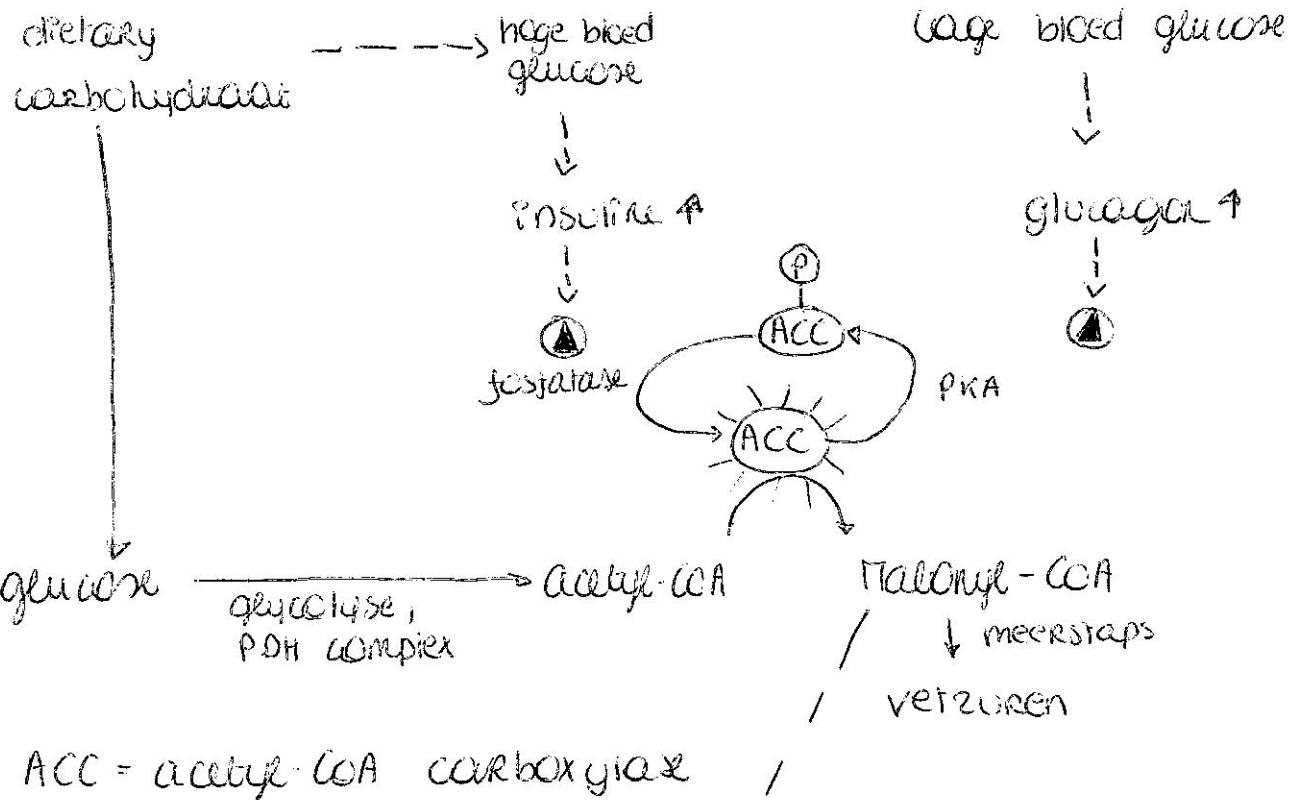
$\Rightarrow$  Uitgietwaart: 60%

## REGULATIE

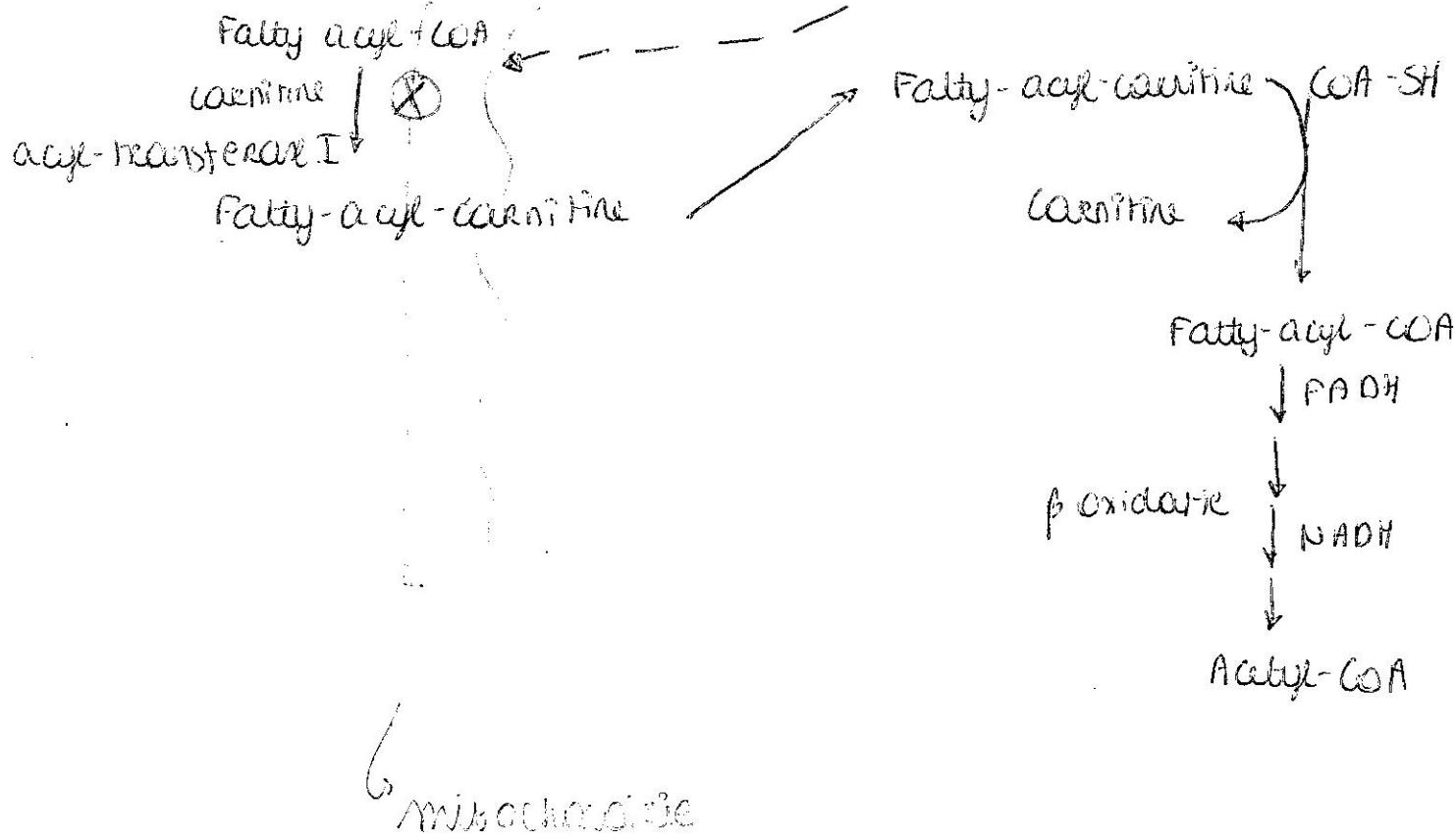
Cytosolisch verzuur-CoA  $\swarrow$   $\beta$ -oxidatie (mitochondrium)  
 triacylglycerol & fosfolipiden synthese (cytoplasma)

Carnitine shuttle is 'rate limiting', & regulatorische step.  
 → malonyl-CoA (vetzuursynthese)  $\Rightarrow$  remt carnitine shuttle

## VETZUUR SYNTHESE



## VETZUUR $\beta$ -OXIDATIE



## H18 - Aminozuur oxidatie & ureum synthese

AZN in de lever

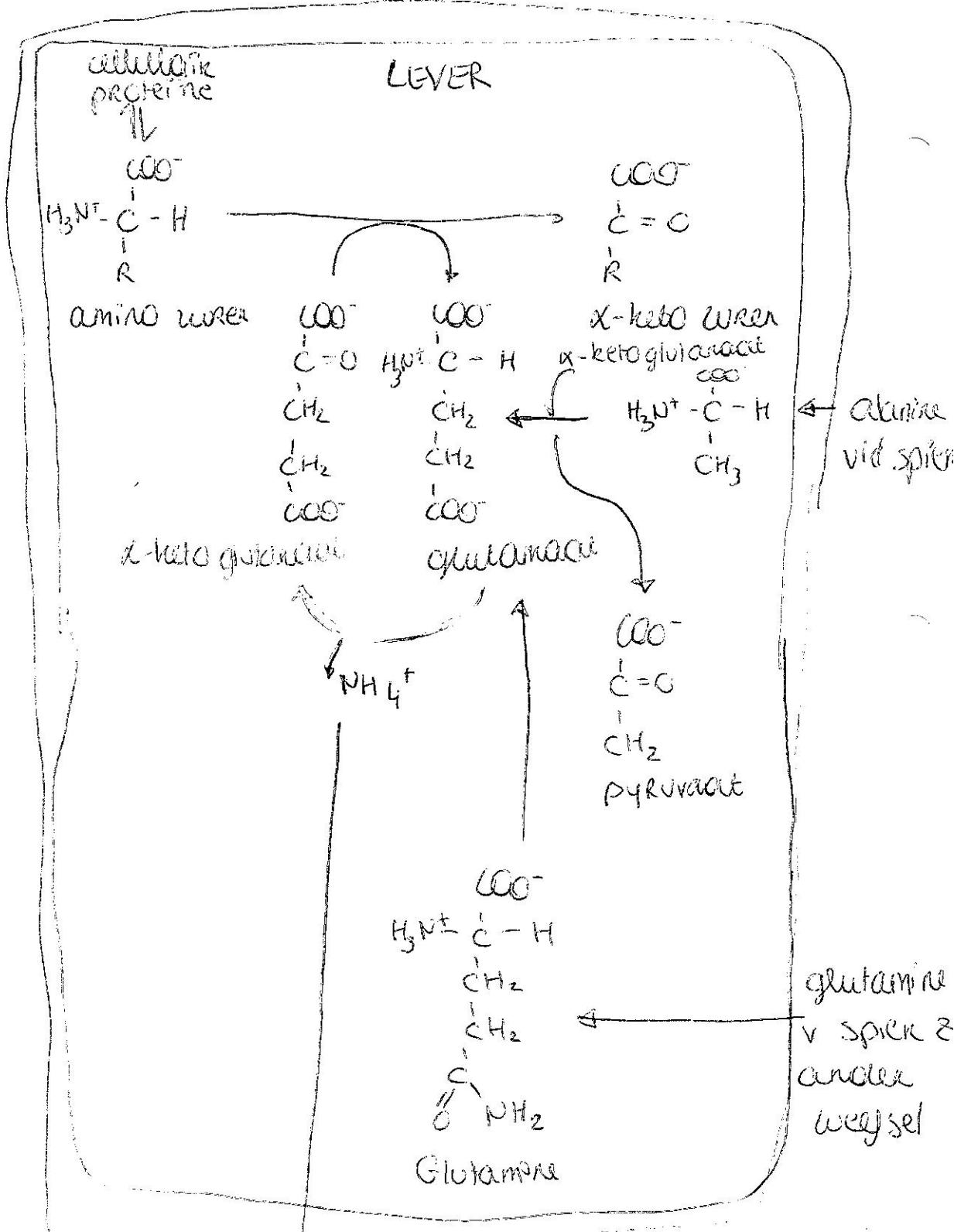
④ Glutamaat, glutamine, alanine

↳ rol als "collecting points"

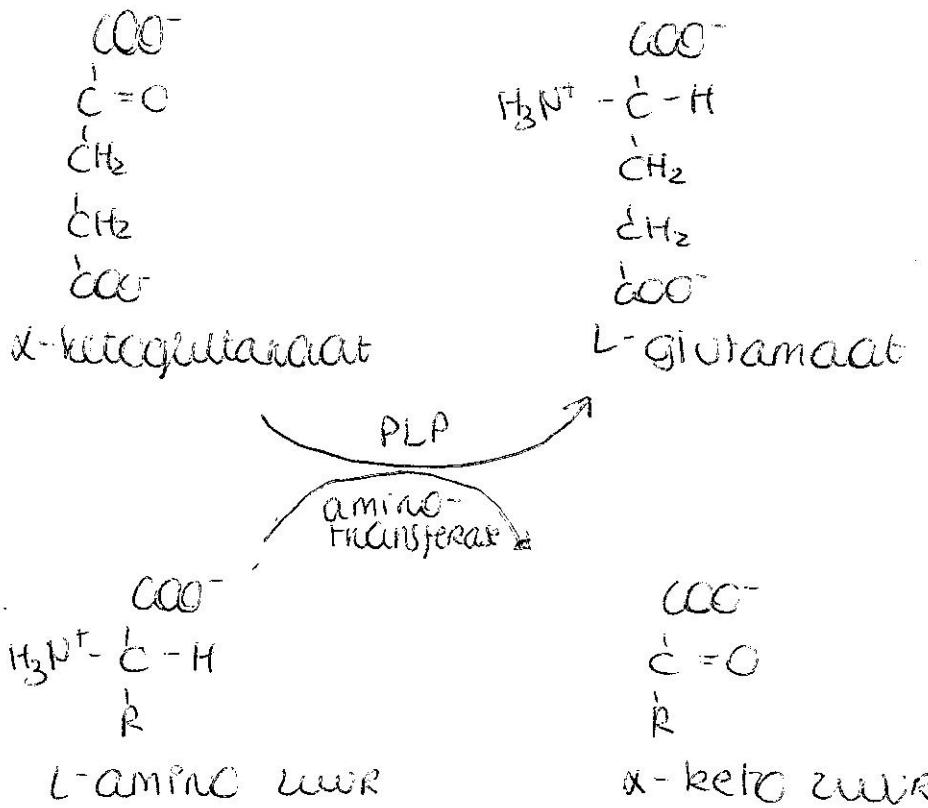
↳ AZN gemetaboliseerd in de lever

↳ glutamine: transport aminogroepen

⇒ lever



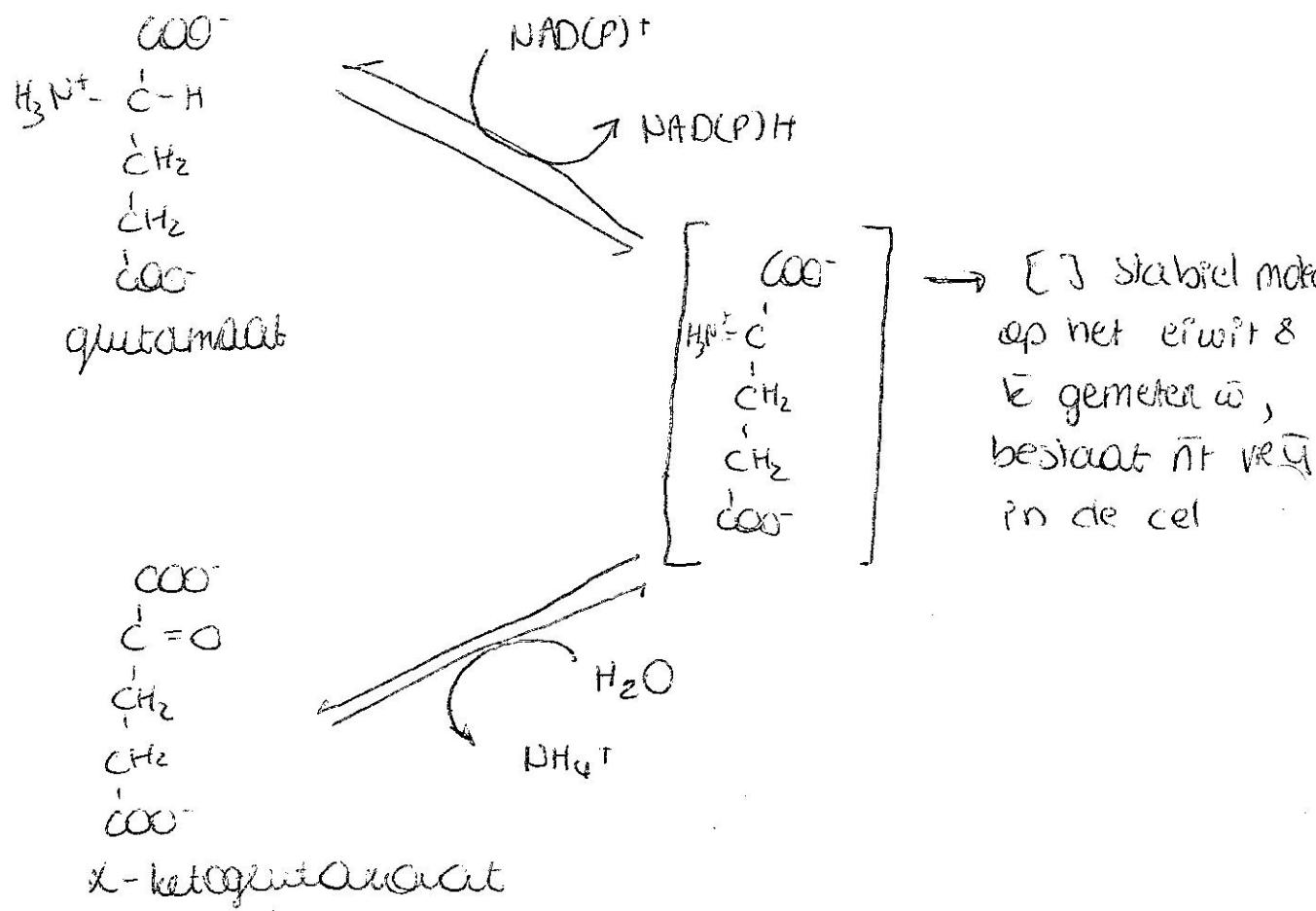
- ④ Transfer  $\alpha$ -amino groep naar  $\alpha$ -ketoglutaat  
 ↳ Aminotransferase (transaminase)  
 → verwijderen amino groep  
 → overdracht naar  $\alpha$ -ketogluconaat  $\Rightarrow$  verlammelen  
 aminogroep op L-glutamaat  
 → isoformen voor  $\neq$  AZn  
 → cofactor: pyridoxaal fosfaat (PLP) (vit B6)  
 → intermediaire aminogroep drager



$\rightarrow$  aminotransferaser: belangrijk in medische diagnoses  
 $\rightarrow$  voorkomen in bloed geeft weefsel (hart, lever)  
 schade aan organen

- ⑤ Glutamaat stelt in lever een aminogroep vrij in de vorm van ammonium ( $\text{NH}_4^+$ )  
 ↳ L-Glutamaat  
 → van cytoplasma naar mitochondriën  
 $\Rightarrow$  oxidatieve deaminatie, door glutamaat dehydrogena-

↳ aminotransferase + deaminatie = trans-deaminatie  
 → NAD<sup>+</sup> of NADP<sup>+</sup> als co-acteur



④ Glutamine transporteert ammonium door het bloed

↳ Ammonium is roxisch

→ transport van niet-lever weefsels via glutamine uit glutamaat)

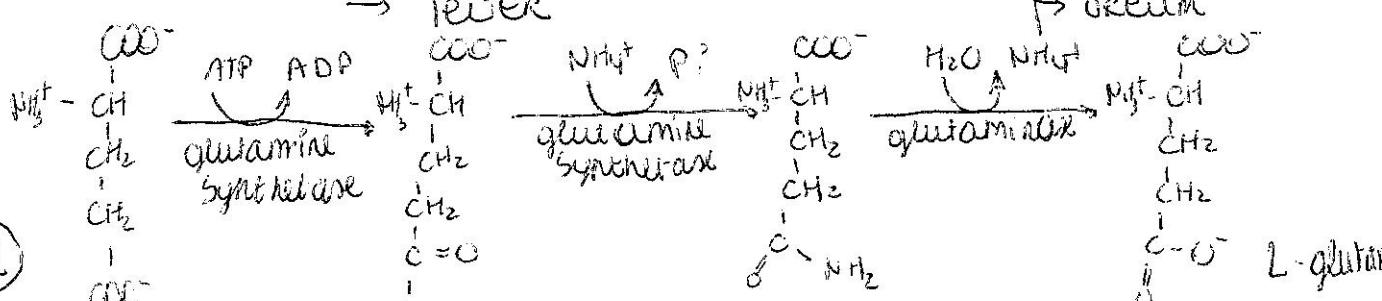
→ glutamine synthetase koppelt  $\text{NH}_4^+$  aan glutamaat

→ glutaminase stelt  $\text{NH}_4^+$  vrij in lever, nieren & darmen

↳  $\text{NH}_4^+$  in lever omgezet tot ureum

↳  $\text{NH}_4^+$  uit nieren & darmen → bloedbaan

→ lever



1-Glutamat  $\rightleftharpoons$   $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$  + glutineel koppel L- glutamine

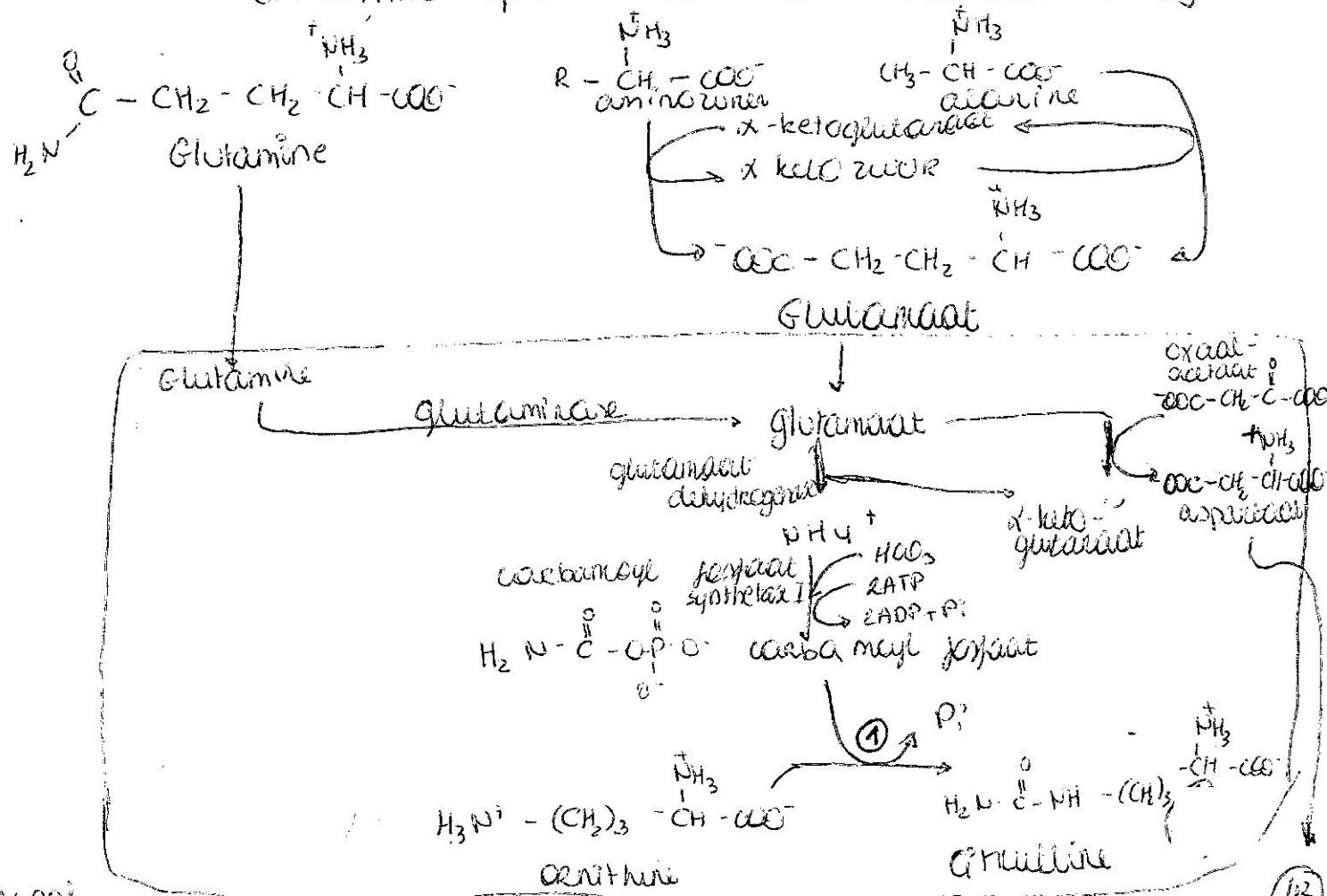
- \* Alanine transporteert  $\text{NH}_4^+$  v/d skeletspieren  $\rightarrow$  lever
- $\hookrightarrow$  Glucose-alanine cyclus
  - afbraak v/ Azo voor E in spieren
  - $\rightarrow$  aminogroep v/ glutamaat naar pyruvaat  
(alanine aminotransferase)
  - $\rightarrow$  alanine
  - $\rightarrow$  via her biced naar de lever
  - $\rightarrow$  gluconeogenese: pyruvaat  $\Rightarrow$  glucose
  - $\rightarrow$  E- voor zinning o/ spieren

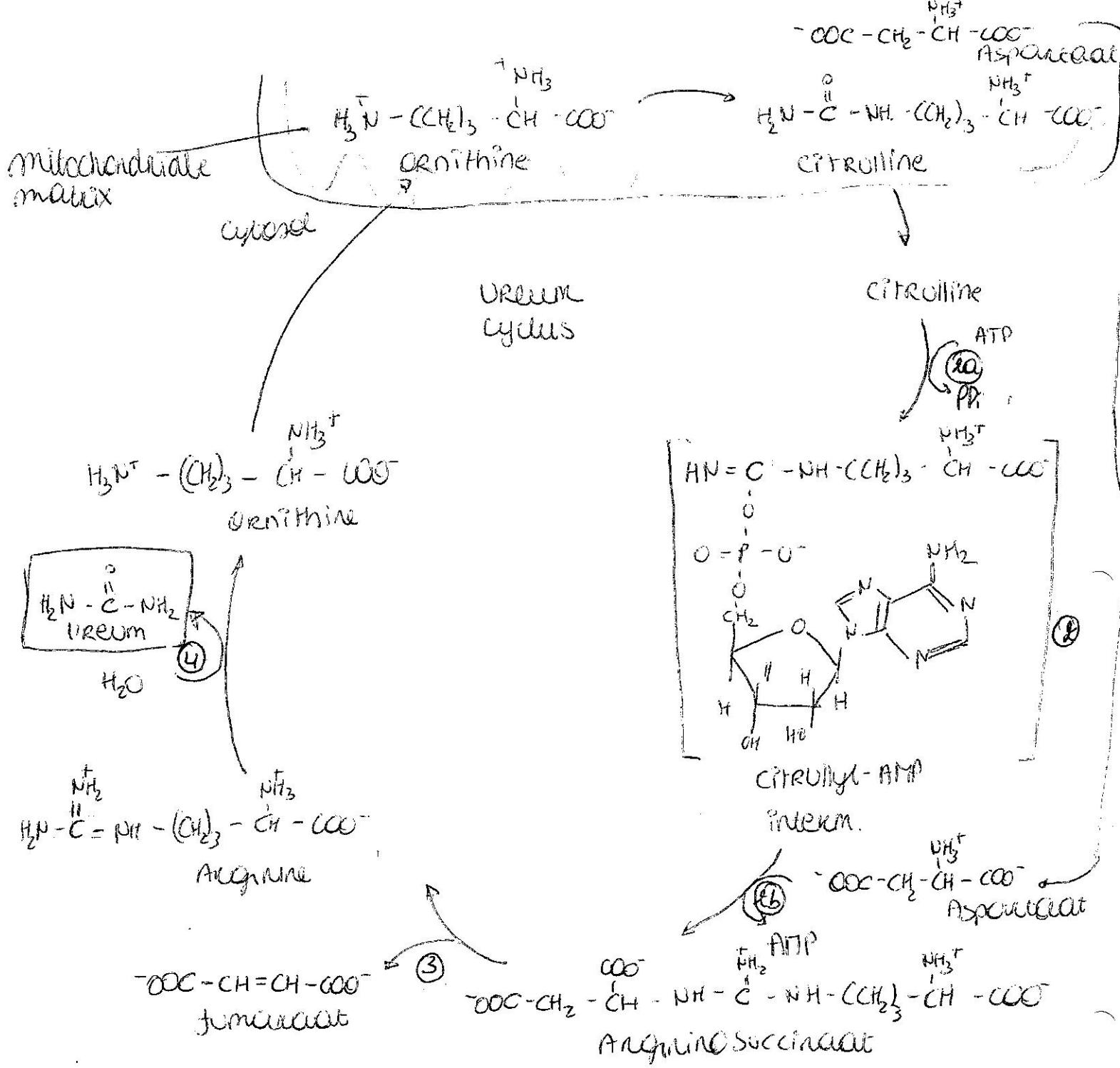
## Ureumcyclus

$\rightarrow$  urectele organismen secreteren ureum

- ① Ureum  $\hookrightarrow$  geproduceerd uit  $\text{NH}_4^+$  in 5 enzymatische stappen

- ② Vorming v/ carbamoyl fosfaat, uit  $\text{NH}_4^+$  &  $\text{HCO}_3^-$ ; citrulline synthase (ornithine transcarbamoylase)





② reductie  $-\text{NH}_2$  groep v. asparaat (argininosuccinaat synthetase)

③ splitsing argininosuccinaat (argininosuccinase)

④ arginase splitsit arginine tot ornithine & ureum

⑤ citroenzuurcyclus & ureumcyclus zijn gekoppeld

⇒ Krebs cyclus

- gen. interm.

- brengt grote PTKA tss mitochondriën & cytosel

- link tss pathways tussen aminozuur & C-skelet  
↳ AZ is verwekt

44

## H-19 - Oxidatieve fosforivering

Oxidatieve fosforivering - multi enzym complex als e<sup>-</sup> carrier

④ COMPLEX I = NADH: ubiquinon oxidoreductase

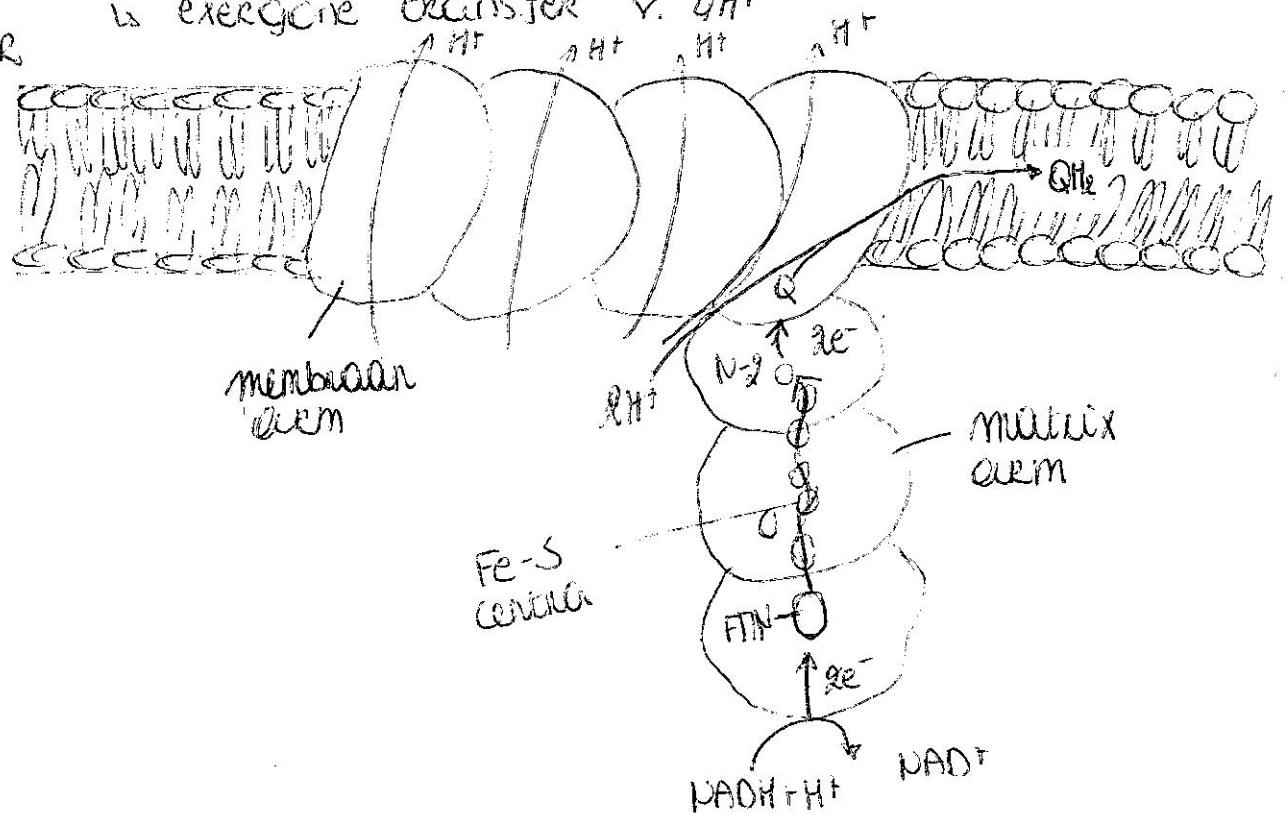
→ NADH dehydrogenase: NADH → ubiquinon

→ L-vormig eiwitcomplex met: 42 polypeptiden, FMN, 6 Fe-S eiwitten

→ katalyseert 2 gekoppelde reacties:

↳ exogene elektrotransfer v.  $\text{H}^+$  +  $\text{H}^+$  naar Q →  $\text{QH}_2$

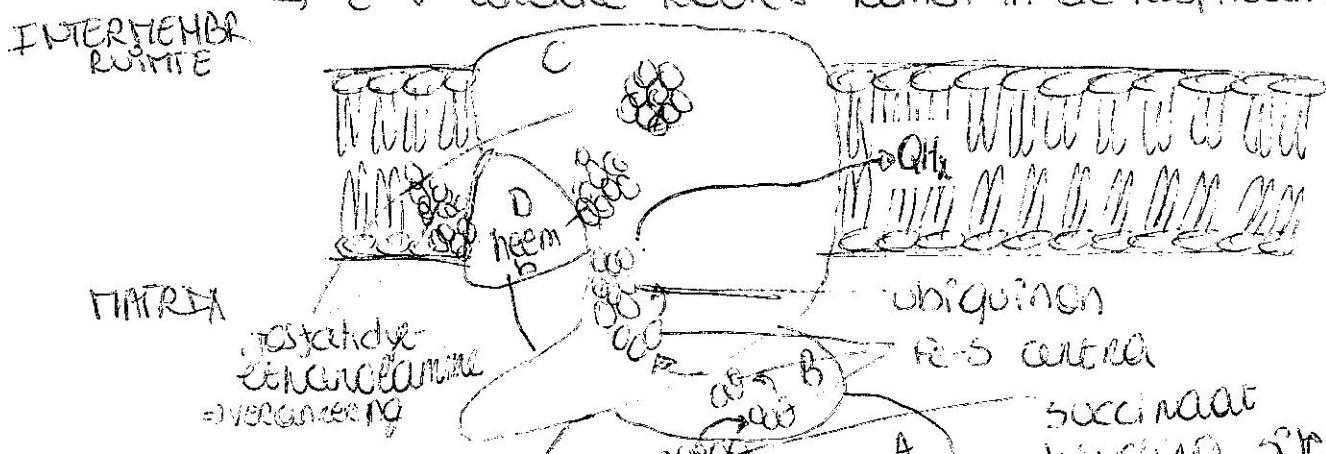
↳ exogene elektrotransfer v.  $4\text{H}^+$



④ COMPLEX II = succinaat dehydrogenase: succinaat → ubiquinon

→ 4 eiwitten, 5 prosthetische groepen, bindingsplaats voor Q

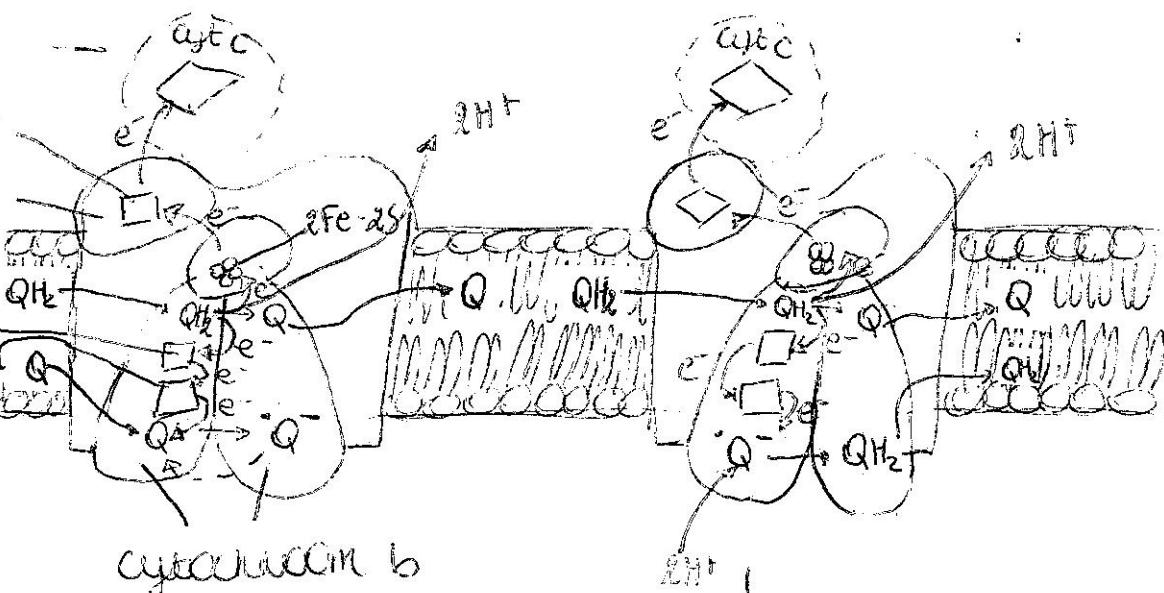
→ e<sup>-</sup> v andere routes komen in de respiratieketen via C



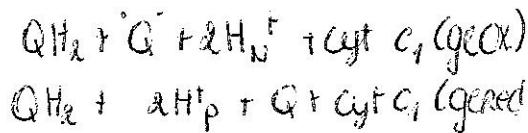
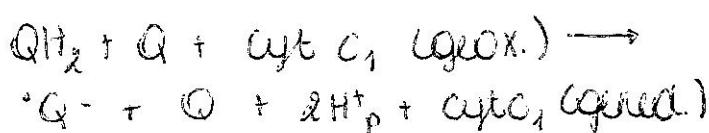
- ④ COMPLEX III = cytochrome bc<sub>1</sub> complex: ubiquinon  $\rightarrow$  cytochrome c  
 ↳ transport v. e<sup>-</sup> u QH<sub>2</sub> naat cyt c = Q-cytus  
 ↳ koppeling v. 2e<sup>-</sup> carrier (QH<sub>2</sub>) aan 1e<sup>-</sup> carriers  
 (cytochrome)

↳ cytochrome c = oplostbaar eiwit

INTERMEMBR  
RUIMTE  
(PZIJDE) heem c



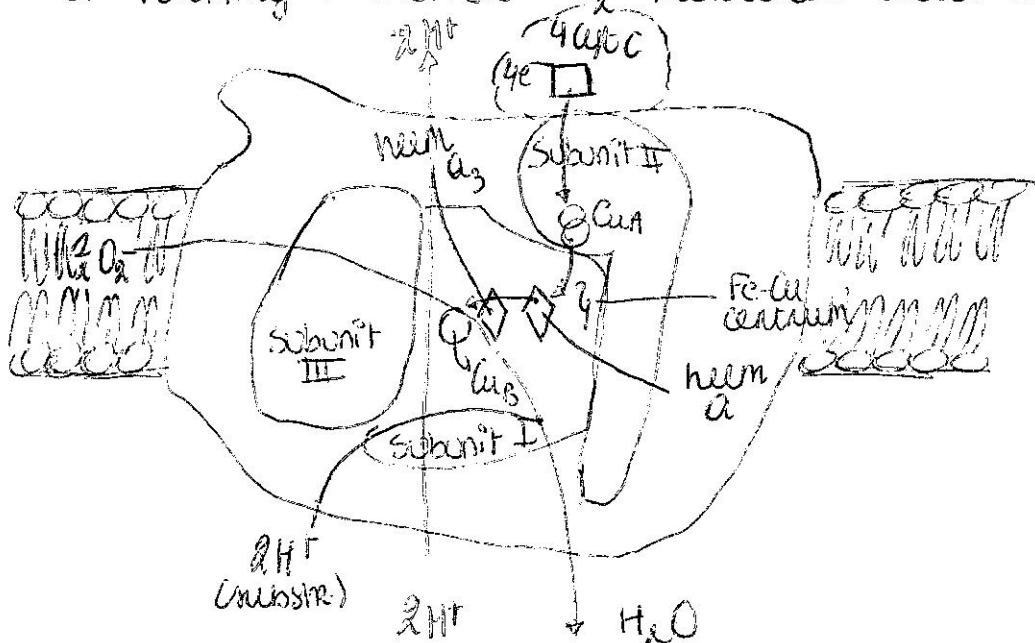
MATRIX  
(N-ZIJDE)



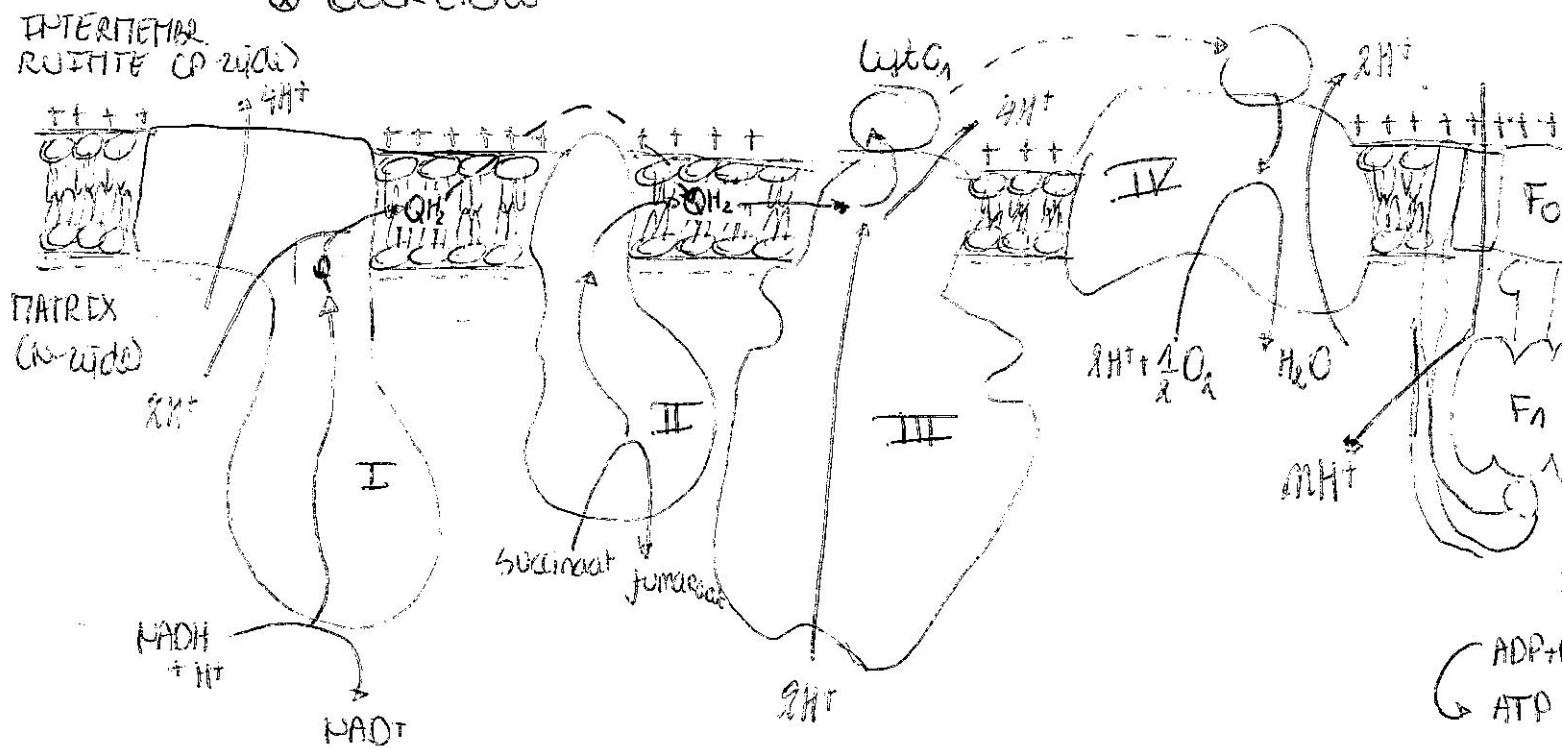
- ⑤ COMPLEX IV = cytochrome oxidase: cytochrome c  $\rightarrow$  O<sub>2</sub>  
 ↳ 13 subeenheden, Cu-Fe complex, Cyt a, Cyt a<sub>3</sub>  
 ↳ e<sup>-</sup> v. cyt c  $\rightarrow$  Cu<sub>A</sub>  $\rightarrow$  Cyt a  $\rightarrow$  Cyt a<sub>3</sub>  $\rightarrow$  Cu<sub>B</sub>  $\rightarrow$  O<sub>2</sub>  
 ↳ vorming v. actieve O<sub>2</sub> molecule (radicaler)

INTERMEMBR  
RUIMTE  
(PZIJDE)

MATRIX  
(N-ZIJDE)



## ④ OVERZICHT



### ④ extra vlieg van membraangebonden carriers

⇒ ubiquinon (coenzyme Q, Q)

↳ lipidoplosbare benzocouquinon

≈ plasticoquinon in planten

≈ menaquinon in bacteriën

↳ overdracht v. 1Q of 2e<sup>-</sup>

↳ IPPofiel → e<sup>-</sup>'shuttle'

↳ transfer v. e<sup>-</sup> en H<sup>+</sup>

⇒ koppeling e<sup>-</sup> & H<sup>+</sup> flow

⇒ cytochrome

↳ eiwitten met gebonden heem groep, met Fe

↳ absorptie in visueel spectrum, redox-status afh.

↳ ≠ types (a, b, c, ...)

↳ redoxpotentiaal afh. v. associatie met eiwit

$\Rightarrow$  Fe-S proteinen

↳ Fe in Assoziation mit anorganische S. g. S. von Ag

6 Rieske Fe-S elowt: Fe coordinated like His

is redox potential of reoxidation

## ATP-Synthase

=> proton- motive fóra: chemische potentiaal ( $\text{H}^+$ ) en  
elektrische potentiaal (ladingsverschil)

$\approx 200 \text{ kg / "md" e}$

$E$  e-tensor  $\omega$  in prorogradient geconserved

### ⇒ Osmotische Theorie

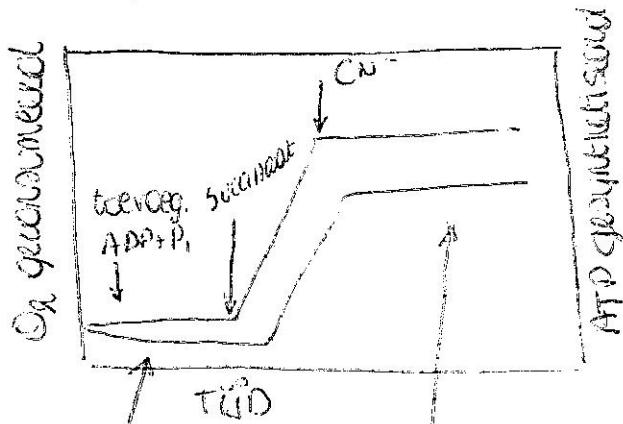
## 6 biochemische Mechanismen v. ATP-Synthase

↳ ATP synthase 'gekoppeld' aan 'passieve' terugvloeiing v. H<sub>+</sub>

is oxidatieve fosforylering obligaat gekoppeld

⇒ geen ATP-synthese ⇒ geen e- overdracht

## experiment



geen  $O_2$  verbruik

ATP-Synthase 1Codel  
Substr

Remming v.

e<sup>-</sup> transport

bicknell Q

## VERBRAUCH ATP Synthese

CP-werkt in CP complex I

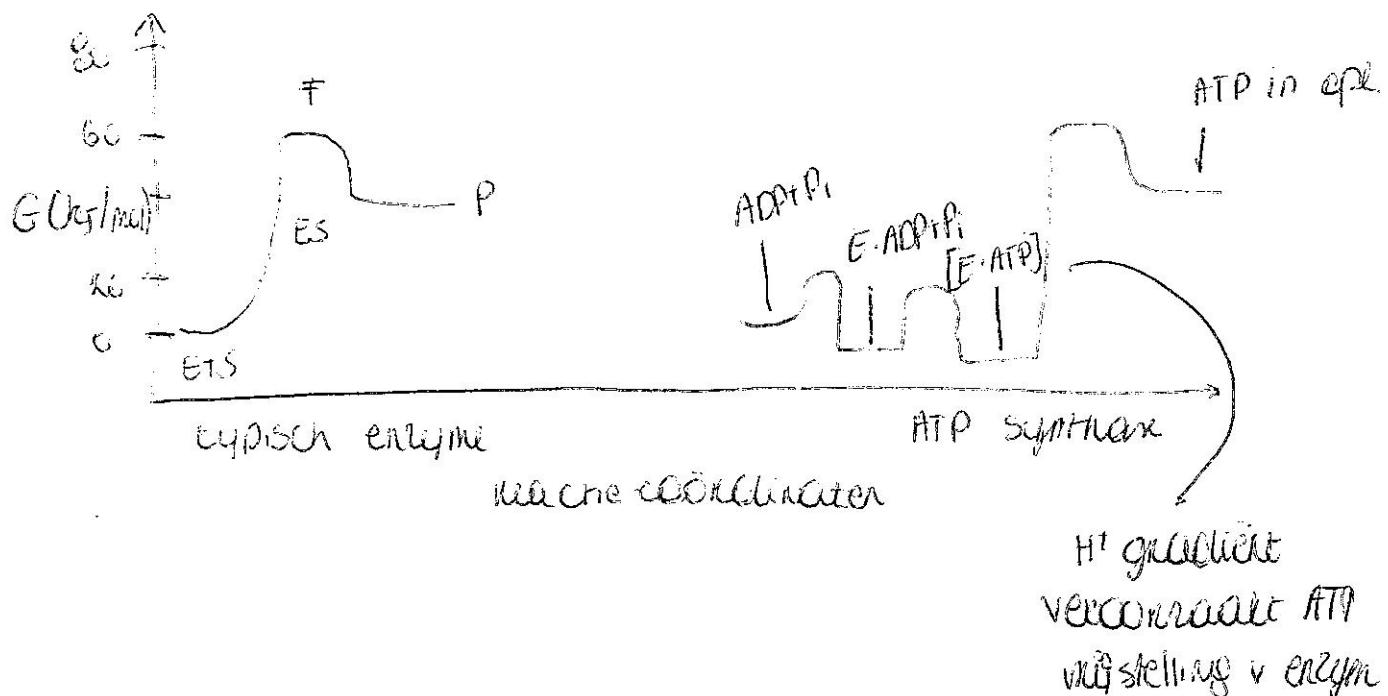
## ⑧ ATP synthase

- ↳ mitochondriaal ATP-synthase (complex V) is een F-type ATPase
- ↳ F<sub>1</sub> essentieel voor ATP synthase / ATPase activiteit
- ↳ F<sub>C</sub> ("C" van citromyicine gevoeligheid), H<sup>+</sup> porse



⇒ protonengradient werkt voor vrijstelling ATP + enzymcap  
Uitdrukking binding)

↳ actiemechanisme



H<sub>2</sub>O-fotosynthese & koolhydraatsynthese in planten