1. Hoe kan je interactie tussen BIP (chaperone eiwit) en ander eiwit aantonen?
* FRET: fluorescence resonance energy transfer imaging
* Met behulp van de FRET techniek kunnen eiwit-eiwit interacties gevisualiseerd worden.
* De twee interagerende eiwitten worden gefusioneerd met twee verschillende fluorescente eiwitten. Hierbij is het belangrijk dat het emissiespectrum van fluorescent eiwit 1 in het excitatiespectrum van fluorescent eiwit 2 ligt. Als beide eiwitten dicht genoeg bij elkaar liggen, kan het uitgezonden licht van eiwit 1 gebruikt worden om eiwit twee te exciteren, dat daarna ook weer licht zal uitzenden. Dit licht heeft lagere golflengte dan wanneer er geen interactie zou zijn.
1. Chloroquine wordt gegeven bij malaria. Waarom is het na een tijd niet meer even effectief?
* Sommige cellen hebben meer ABC-transporters op hun celmembraan, waardoor ze het chloroquine efficiënter naar buiten kunnen pompen. Hierdoor hebben ze een selectief groeivoordeel en kunnen ze zich t.o.v. normale cellen wel vermenigvuldigen. Uiteindelijk zijn er meer chloroquine-resistente cellen dan normale cellen en heeft het medicijn geen effect meer.
1. Hoe wordt glucose getransporteerd doorheen de cel?
* Glucose wordt de cel in getransporteerd dankzij actief transport gedreven door een ionengradiënt, via een Na/glucose transporter. Na+ gaat van buiten naar binnen de cel, dit is met de concentratiegradiënt mee. Dankzij dit transport wordt energie geleverd voor het transport van andere moleculen tegen de concentratiegradiënt in. Na+ wordt namelijk ook weer naar buiten gepompt om de gradiënt te onderhouden. Dit gebeurt via een ATP-afhankelijke pomp. Deze pomp levert dus indirect de energie voor het transport van moleculen die co-transport ondergaan met natrium, zoals glucose. Deze vorm van transport noemt men secundair actief transport.
* De binding van natrium en glucose is co-operatief. Dit wil zeggen dat de transporter alleen open gaat wanneer zowel natrium als glucose gebonden zijn. De binding van de ene ligand induceert een conformatieverandering zodat de affiniteit voor de binding van de tweede ligand vergroot.
1. Geef drie vesiculaire pathways.
* Vesiculair transport vindt plaats tussen topologisch equivalente compartimenten. Het betreft transport van eiwitten tussen twee compartimenten via membraan-omsloten intermediairen.
* Tussen ER en Golgi
* Tussen Golgi en endosomen/lysosomen
* Tussen ER en secretoire vesikels
1. Wat is gated transport?
* Gated transport is transport door een kanaal in het membraan, bv een ionenkanaal, waarbij het membraan niet continu openstaat maar gated is, d.w.z. het opent pas na een specifieke stimulus. Deze stimulus kan elektrisch zijn (voltage gated) of mechanisch (binding van een ligand).
* Gated transport kan echter ook staan voor het transport van eiwitten tussen het cytosol en de nucleus (topologisch equivalent). Dit transport gebeurt via de nucleaire porie complexen in de nucleaire membraan. De nucleaire porie complexen zijn selectief en transporteren moleculen via actief transport. Alleen kleine moleculen kunnen via diffusie de kern betreden/verlaten.
1. Digoxine
* Digoxine is een cardiotoxine dat als geneesmiddel de hartslagfrequentie vermindert, maar de contractiekracht vergroot.
* Het digoxine kan de Na/K-ATPase pomp inhiberen. Deze pompt Na tegen de elektrochemische gradiënt in naar buiten en K naar binnen ten koste van ATP hydrolyse. Als deze pomp geïnhibeerd wordt door digoxine, neemt de Na concentratie in de cel toe. Hierdoor zal er minder Na in de cel en minder Ca uit de cel getransporteerd worden, omdat de Na/Ca exchanger uitvalt. Hierdoor neemt de intracellulaire calciumconcentratie toe. Dit verhoogt de contractiekracht.
1. Voor- en nadelen multi-foton laser confocale microscopie tov SEM
* Confocale laser microscopie is een techniek waarbij een specimen belicht wordt met laserlicht van een bepaalde golflengte. Dit licht wordt gefocusserd op een bepaalde plaats en diepte, we noemen dat punt het focale punt. Alle punten op diezelfde diepte in het specimen vormen dan samen het focale vlak. Het specimen zal na belichting licht uitzenden van een lagere golflengte. Dit licht wordt opgevangen door een detector. Het licht zal zich tevens focusseren in de detector, dit noemen we het confocaal punt.
* Multi-foton laser confocale microscopie maakt gebruik van laserlicht waarbij de excitatiegolflengte tweemaal zo groot is als de excitatiegolflengte van het gebruikte fluorochroom. Als in het focaal vlak twee excitatiefotonen samenkomen, kunnen die met elkaar interfereren, waardoor ze samen het fluorochroom zullen exciteren. Het specimen zal vervolgens fluorescent licht emitteren, dat bijna uitsluitend in het confocaal vlak valt. Hierdoor bekomt men een zeer scherp beeld.
* Bij scanning electronenmicroscopie wordt een elektronenbundel eerst door een condensorlens geconvergeerd, waarna de bundel weer wordt gedivergeerd en vervolgens opnieuw geconvergeerd door een objectieflens. De elektronen bereiken het specimen en worden erop afgeketst. De reflecterende elektronen worden dan opgevangen door een detector en vormen een beeld.
* VOORDELEN: het laserlicht heeft een diep penetrerend vermogen zodat er dikkere structuren kunnen bekeken worden. Daarnaast is het licht minder energetisch waardoor de techniek toegankelijk is voor levende cellen, hetgeen niet het geval is bij SEM. Ook is de preparatie van specimen veel minder complex en is er minder risico op artefacten.
* NADELEN: het kan niet toegepast worden op dikke specimen (> 150 micrometer).
1. Hoe kan je fluïditeit van een membraan aantonen?
* Membranen zijn fluïde structuren, waarin de eiwitten zowel om hun eigen as kunnen bewegen (= rotationele diffusie) als lateraal doorheen het membraan (laterale diffusie). Deze laterale diffusie kan op drie manieren experimenteel aangetoond worden.
* Heterokaryons: men kan experimenteel een heterokaryon vormen door een muizencel en mensencel, die vooraf zijn gelabeld met fluorescente AL tegen resp muis- en mensspecifieke mebraaneiwitten, te laten fuseren. Aanvankelijk zijn de muis en mens AL elk aan een helft van het membraan van het heterokaryon te vinden. Na een tijdje bevinden deze zich verspreid door elkaar in het membraan.
* FRAP: fluorescence recovery after photobleaching. Membraaneiwitten worden gelabeld met fluorescente merkers. Op een bepaalde plaats wordt het membraan kort “gebleachet” met een laser, waardoor de fluorescente merkers worden uitgedoofd. Na een tijd zien we toch terug fluorescentie op deze plaats in het membraan, dit owv laterale diffusie van membraan eiwitten.
* FLIP: fluorescence loss in photobleaching. Hierbij worden de membraaneiwitten ook fluorescent gelerkt. Nu wordt 1 plaats in het membraan voortdurend “gebleachet” door een laser. Na een tijd is alle fluorescentie uitgedoofd, omdat dan alle eiwitten die plaats al een keer zijn gepasseerd door diffusie.
1. Ontstaan Zellweger syndroom?
* Peroxisomen zijn organellen die oxidatiereaties aangaan, waarbij waterstofperoxide wordt gevormd. Catalase gebruikt vervolgens waterstofperoxides om andere substraten te oxideren, waardoor verschillende stoffen onschadelijk gemaakt worden. Ook staan de peroxisomen in voor het verkorten van vetzuurketens.
* De peroxisomale eiwitten worden vanuit het cytosol in de peroxisomen geïmporteerd. Hierbij zijn peroxines betrokken, membraan translocators waarlangs eiwitten de peroxisomen kunnen betreden.
* Het syndroom ontstaat door een mutatie in een van de specifieke eiwittransporters voor peroxisomen. Hierdoor kunnen de peroxisomale eiwitten niet in de peroxisomen geraken. Dit leidt tot lege, dysfunctionele peroxisomen. Hierdoor kunnen bepaalde toxines/schadelijke stoffen niet geneutraliseerd worden. Dit leidt tot hersen-, lever- en nierdysfuncties.
* Ook de biosynthese van het plasmalogen, een belangrijke functie van de peroxisomen, is verstoord. Plasmalogens zijn de belangrijkste fosfolipiden in myeline. Het syndroom leidt tot demyelinatie van axonen en bijgevolg neurologische stoornissen.
1. Foton laser confocale microscopie uitleggen
* Confocale laser microscopie is een techniek waarbij een specimen belicht wordt met laserlicht van een bepaalde golflengte. Dit licht wordt gefocusserd op een bepaalde plaats en diepte, we noemen dat punt het focale punt. Alle punten op diezelfde diepte in het specimen vormen dan samen het focale vlak. Het specimen zal na belichting licht uitzenden van een lagere golflengte. Dit licht wordt opgevangen door een detector. Het licht zal zich tevens focusseren in de detector, dit noemen we het confocaal punt. Met behulp van het licht dat door de detector opgevangen wordt, wordt er een beeld gevormd.

Multi-foton laser confocale microscopie maakt gebruik van laserlicht waarbij de excitatiegolflengte tweemaal zo groot is als de excitatiegolflengte van het gebruikte fluorochroom. Als in het focaal vlak twee excitatiefotonen samenkomen, kunnen die met elkaar interfereren, waardoor ze samen het fluorochroom zullen exciteren. Het specimen zal vervolgens fluorescent licht emitteren, dat bijna uitsluitend in het confocaal vlak valt. Hierdoor bekomt men een zeer scherp beeld.

1. Hoe worden kankercellen resistent en welk membraan speelt daar een rol in?
* Plasmamembraan
* Kankercellen hebben soms meer MDR-eiwitten in hun plasmamembraan dan normale cellen. MDR-eiwitten zijn ABC transporter eiwitten die chemotherapeutica naar buiten transporteren. Omdat kankercellen er meer hebben dan normale cellen, worden de medicijnen efficiënter naar buiten gepompt. Hierdoor heeft de cel meer kans op overleven. Kankercellen hebben hierbij een selectief groeivoordeel t.o.v. normale cellen en kunnen zich vermenigvuldigen.
1. Grafiek van amplificatie (ze zeggen uiteraard niet dat het amplificatie moet voorstellen): leg uit en blablabla
* Amplificatie is het mechanisme dat ervoor zorgt dat signaaloverdracht in neuronen kan plaatsvinden.
* Een zenuwimpuls (“actiepotentiaal”) wordt geïnitieerd door depolarisatie op een bepaalde plaats in het plasmamembraan. Hierdoor wordt het membraan plaatselijk positief geladen. Als deze depolarisatie een drempelwaarde overschrijdt, gaan er “voltage-gated” natrium kanalen open waardoor natrium de cel binnenstroomt. De influx van natrium leidt tot verdere depolarisatie, waardoor er steeds meer kanalen opengaan: zelf-amplificatie.
* Als de elektrische drijfkracht verdwijnt, worden de natrium kanalen inactief.
* Ondertussen worden er “voltage-gated” kalium kanalen geopend, zodat kalium uit de cellen stroomt. Dit zorgt ervoor dat de membraanpotentiaal zich weer herstelt. Pas nadat dit is gebeurd, kunnen de natrium kanalen weer geactiveerd worden.
1. Hoe gebeurt selectiviteit van een K+ kanaal
* Een K-kanaal is een ionenkanaal en heeft een porie die bestaat uit 4 subunits. Deze subunits vormen een vestibule en selectiviteitsfilter.
* De kaliumionen worden in de vestibule gestabiliseerd door interactie met het negatieve uiteinde van de pore helix. Deze helix trekt de kaliumionen naar de selectiviteitsfilter. Daar zitten carbonyl-zuurstofatomen klaar. Wanneer de kaliumionen de porie binnengaan, worden ze gehydrateerd, maar het verlies aan energie wordt gecompenseerd door een interactie met de carbonylgroepen. De zuurstofatomen zijn net zo gepositioneerd dat ze alleen met kalium kunnen binden.