

GENEXPRESSIE

VOORBEREIDENDE LES

Alle organismen op aarde zijn opgebouwd uit cellen. Ook jouw eigen lichaam bestaat uit cellen. Die cellen zien er niet allemaal hetzelfde uit. Zo is een huidcel heel compact, en heeft een zenuwcel hele lange uitlopers. Cellen 'doen' ook heel verschillende dingen. Een spiercel kan samentrekken, en een cel in het netvlies van je oog is in staat om lichtstralen op te vangen. Cellen kunnen dus verschillende vormen en functies hebben.

Alle cellen maken eiwitten. De vorm en functie van een cel hangen samen met de eiwitten die in een cel gemaakt worden. In spiercellen zorgen de eiwitten actine en myosine voor samentrekking; in de cellen van ons netvlies zorgen eiwitpigmenten voor het opvangen van licht. Welke eiwitten in een cel gemaakt worden, wordt geregeld vanuit de celkern.

In alle celkernen van één individu zit precies hetzelfde DNA. Dat DNA bevat de codes voor het maken van een heleboel verschillende eiwitten. Maar alleen de eiwitten die nodig zijn voor het functioneren van de cel worden ook daadwerkelijk gemaakt. We zeggen dan: bepaalde genen komen wel tot expressie en andere niet. Maar hoe regelt de cel dat?

Dr. Pernette Verschure is onderzoeker aan de Universiteit van Amsterdam (UvA). Zij onderzoekt samen met haar team welke processen in de cel er voor zorgen dat bepaalde genen wel tot expressie komen en andere niet. Voor dit onderzoek wordt onderzoek gedaan aan levende cellen, maar worden ook computermodellen bestudeerd. Je gaat in dit practicum, net als Pernette, onderzoek doen naar genexpressie. Je gaat kijken naar de eiwitten die actief zijn in de verschillende soorten weefsels van een vis.

Het practicum dat je gaat doen bestaat uit vier stappen:

- stukjes van verschillende weefsels van een vis verzamelen (monsters nemen)
- eiwitten uit de weefsels halen (eiwitextractie)
- eiwitten 'sorteren' van groot naar klein (gelelektroforese)
- eiwitten op gel zichtbaar maken (kleuren)

In deze voorbereidende les maak je kennis met de belangrijkste technieken van het practicum, en wordt je voorkennis opgefrist.

Veel plezier!

VERSCHILLENDE ORGANISATIENIVEAUS

1. Ga naar YouTube en zoek op *Leskist DNA*. Bekijk de film *Pernette Verschure 1*.

Pernette en haar onderzoeksteam willen weten hoe in de cel geregeld wordt dat sommige genen wel tot expressie komen en andere genen niet. Met 'tot expressie komen' wordt bedoeld dat een eiwit wordt gemaakt op basis van de code in het DNA.

2. Bekijk het schema hieronder. Zet de begrippen *translatie* en *transcriptie* bij de juiste pijl.



3. Maak de tabel hieronder af door de zinnen die niet van toepassing zijn door te strepen.

	DNA	mRNA	Eiwit
Dit molecuul bestaat uit...	aminozuren / nucleotiden	aminozuren / nucleotiden	aminozuren / nucleotiden
Zit in alle cellen hetzelfde van deze moleculen, of verschilt dat per cel?	in alle cellen hetzelfde / verschilt per cel	in alle cellen hetzelfde / verschilt per cel	in alle cellen hetzelfde / verschilt per cel

4. Pernette vertelt in het filmpje dat bepaalde delen van het DNA heel open gevouwen zijn, en andere delen juist heel compact. Leg in eigen woorden uit wat dat te maken heeft met genexpressie.

.....

.....

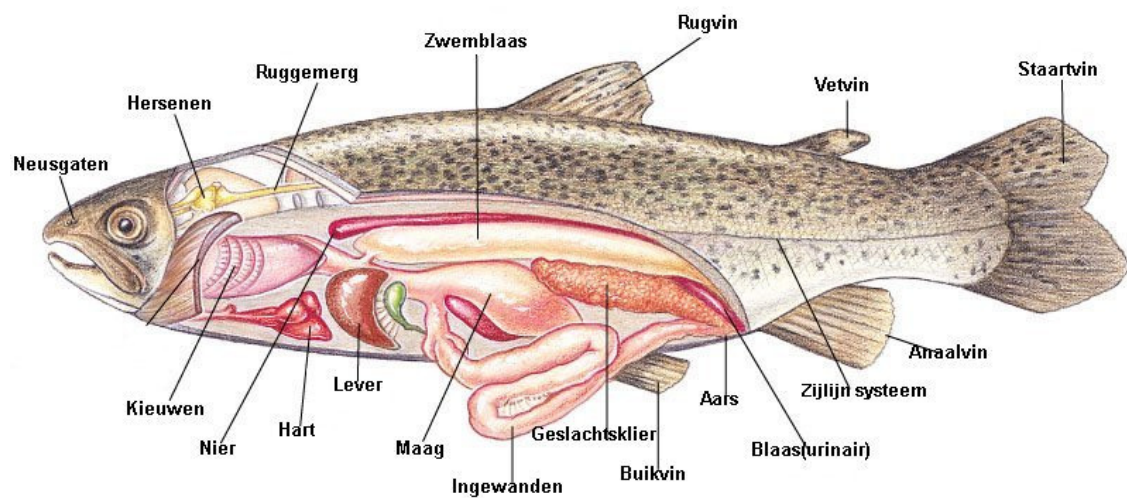
.....

5. Pernette noemt in het filmpje vier 'niveaus' waarop DNA meer of minder gevouwen kan zijn. Hieronder worden die vier niveaus kort beschreven. Zet ze in volgorde van klein naar groot (noteer de letters).

- Delen van chromosomen die niet actief zijn liggen meer aan de rand van de celkern.
- Eiwitbolletjes, waar het DNA omheen gevouwen is, hebben acetyl- of methylgroepen.
- Er zitten enzymgroepen op de nucleotiden van het DNA.
- Onder de microscoop zie je dat bepaalde delen van het chromosoom compact zijn, en andere delen een meer open structuur hebben.

MONSTERS NEMEN

Het practicum dat je gaat uitvoeren is specifiek ontwikkeld voor het identificeren van de spiereiwitten actine en myosine. Deze eiwitten komen voor in de spieren van mensen en andere zoogdieren, maar dus ook in de spieren van vissen. De precieze aminozuurvolgorde kan van soort tot soort wel een beetje verschillen.



Figuur 1. De ingewanden van een regenboogforel.

6. In verschillende organen van een vis zit spierweefsel, en komen we dus de eiwitten actine en myosine tegen. Geef van de organen in de tabel aan of ze veel, weinig of geen spierweefsel bevatten. Let op: met 'filet' wordt het deel van de vis bedoeld dat je meestal eet.

orgaan	bevat veel / weinig / geen spierweefsel
darm	
filet	
hart	
huid	
lever	
maag	
ogen	

EIWITEXTRACTIE

7. Tijdens het practicum gaan jullie een vis ontleden (zie figuur 1), en monsters nemen van verschillende organen. Het is belangrijk dat je het mes waarmee je snijdt steeds schoonmaakt tussen het nemen van de monsters door. Waarom?

.....

.....

8. Om de eiwitten uit de monsters te isoleren voeg je een speciaal mengsel toe: Laemmli sample buffer. Een van de bestanddelen in de buffer is SDS, een stof die cellen kapot maakt. Waarom moeten de cellen kapot gemaakt worden?

.....

.....

GELEKTROFORESE

Gelelektroforese is een techniek waarmee je moleculen, zoals DNA of eiwitten, kan scheiden op grootte. Je 'sorteert' de moleculen als het ware van groot naar klein. Jullie gaan deze techniek ook gebruiken tijdens het practicum (zie figuur 2).



Figuur 2. Een opstelling voor gelelektroforese.

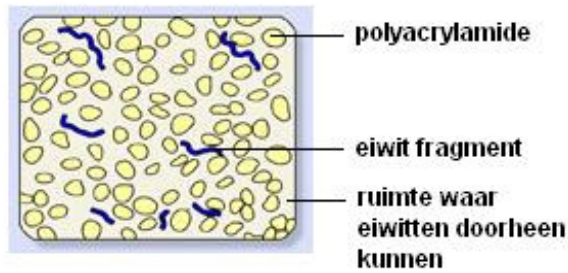
9. Bij eiwitten worden vier soorten structuren onderscheiden: de primaire, secundaire, tertiaire en soms ook quataire structuur. Zet hieronder de juiste naam bij de juiste structuur.

structuur...	hiermee wordt bedoeld...
secundair	de alfahelices en bètasheets die ontstaan door waterstofbruggen
	de driedimensionale structuur van één aminozuurketen
	de volgorde van de aminozuren
	verschillende aminozuurketens vormen samen één eiwit

10. Voordat de eiwitten uit de monsters op de gel worden gebracht, worden ze eerst verhit. Hierdoor worden een heleboel chemische bindingen verbroken en verandert de ruimtelijke structuur van de eiwitten: het worden lange sliertjes. Welke structuren zijn dan verdwenen?

.....

Nadat de eiwitten verhit zijn, worden ze op een gel van polyacrylamide gebracht. Zo'n gel bestaat uit een dun laagje polyacrylamide, waarin een heleboel poriën zitten. Die poriën vormen kleine kanaaltjes waar de eiwitten (aminozuurketens) doorheen kunnen bewegen (zie figuur 3).



Figuur 3. Een schematische afbeelding van de structuur van een polyacrylamide gel (detail).

11. Welke eiwitten bewegen het snelst door de gel, korte aminozuurketens of lange aminozuurketens?

.....

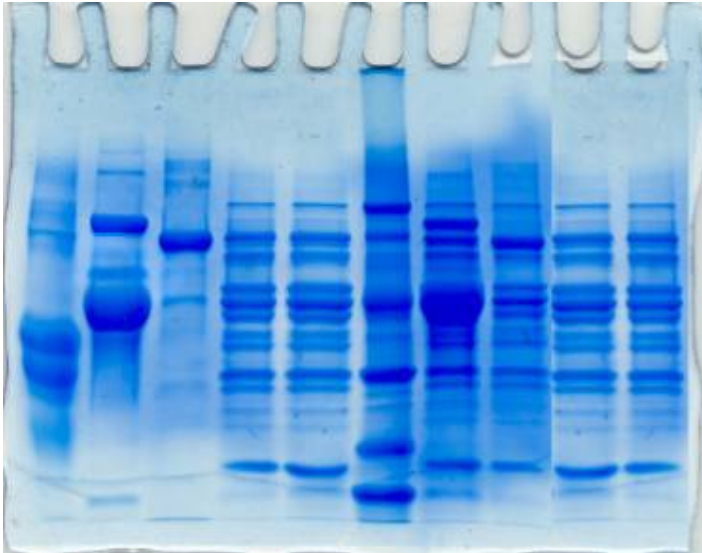
.....

12. De eiwitten gaan pas door de gel heen 'lopen' als er stroom op wordt gezet. De eiwitten bewegen altijd van de negatieve naar de positieve pool. Welke lading hebben de eiwitten zelf dan zichtbaar?

.....

KLEUREN

Na elektroforese wordt een kleurstof toegevoegd die de eiwitten kleurt. Als alles goed gegaan is zie je een bandenpatroon (een soort streepjescode) zoals in de afbeelding hieronder.



Figuur 4. Een gel met tien eiwitprofielen. Aan de bovenkant van de foto zie je tien uitsparingen in de gel: dat zijn de 'slotjes' waar de monsters in gepipetteerd zijn. De eiwitten (de blauwe bandjes) zijn vervolgens naar beneden gemigreerd.

13. Waar bevinden zich de kleinste eiwitten: boven in de gel of juist onderin? En waar de grootste? Geef dat in de foto aan.

.....

14. Wat zou er gebeuren als je de gelelektroforese langer dan de aangegeven tijd laat lopen?

.....

15. Wat zou er gebeuren als je de elektrodes van de elektroforesetank omwisselt?

.....

Je hebt nu kennis gemaakt met de belangrijkste technieken van het practicum. In de volgende les ga je echt aan de slag. Alvast veel plezier!