

Antwoorden aanvullende toets Fa103 d.d. 14 april 2009

Vraag 1

- a. Indien het medium bestaat uit alleen verzadigde vetzuren zal het membraan van een bacterie worden opgebouwd uit verzadigde vetzuren. Dit zorgt ervoor dat de T_m stijgt en het membraan minder vloeibaar wordt. Dit leidt uiteindelijk tot het niet kunnen delen waardoor de bacterie niet kan groeien bij kamertemperatuur. (5 punten)
- b. Kweken bij een hogere temperatuur. (5 punten)

Vraag 2

Ja, transcriptiereactie 2 en 3. Het hybride-eiwit bevat het DNA bindend domein van de oestrogeen receptor. Dit domein herkent selectief het ORE en kan hieraan binden. Het zal niet binden aan het construct met de GRE. Geactiveerde transcriptie is dus niet mogelijk in reacties 5 t/m 8. Voor geactiveerde transcriptie is ligand-binding noodzakelijk. Het hybride-eiwit bevat het ligand-bindend domein van de glucocorticoid receptor. Cortisol kan dus aan het hybride-eiwit binden en zorgen voor geactiveerde transcriptie. In transcriptiereactie 2 en 3 is cortisol aanwezig. (10 punten)

Vraag 3

- a. Bij een frameshiftmutatie zal vanaf het punt van de mutatie (1 base erbij of een eraf), het "reading frame" totaal veranderd zijn met als gevolg een wanordelijke boodschap in triplets en dus in aminozuurvolgorde en uiteindelijk een niet functioneel polypeptide. Bij een puntmutatie is slechts 1 triplet veranderd, 1 aminozuur, dus zal de rest van het polypeptide normaal zijn (of als het de derde base van een triplet betreft is de kans groot dat exact hetzelfde aminozuur wordt ingebouwd en het polypeptide onveranderd is, tenzij het om een stopcodon gaat en de synthese van de polypeptide keten stopt. Ook is het mogelijk dat, ondanks dat het maar om 1 aminozuur gaat, de mutatie toch een niet functioneel eiwit oplevert. (6 punten)
- b. Indien een + mutatie (1 base erbij) kort erna gevolgd wordt door een – mutatie (1 base eraf) dan heffen de mutaties elkaar op en zal er een vrijwel normaal (= pseudo wild-type) ontstaan. Hetzelfde geldt voor 3 keer een – mutatie of 3 keer een + mutatie vlak na elkaar. (4 punten)

Vraag 4

DNA-strengen zijn gewonden om histonen. Door acetylering van de histonen wordt de promotor-regio toegankelijk en kan de transcriptie in gang worden zet. Histon-deacetylases (HDAC's) verwijderen acetylgroepen van de histonen (=deactyleren). Deacetylering inactieveert de transcriptie weer. (5 punten)

HDAC-remmers inhiberen die enzymactiviteit van histondeactylases, waardoor de histonen hun acetylgroepen behouden. Het gevolg hiervan is een verhoogde toegankelijkheid van het DNA en daardoor een veranderde activiteit van een deel van de genen. Op deze manier kunnen genen worden geactiveerd die de celdeling en de geprogrammeerde celdood (apoptose) reguleren. (5 punten)

Vraag 5

Adrenaline kan zowel α -adrenerge als β -adrenerge receptoren activeren. Deze receptoren hebben verschillende intracellulaire signaaltransductie routes die leiden tot respectievelijk contractie en relaxatie.

α_1 -Adrenerge receptoren koppelen aan G_p -eiwitten die na activatie het enzym fosfolipase C (PLC) stimuleren. PLC splitst PIP_2 in IP_3 en DAG. IP_3 maakt Ca^{2+} vrij, dat bindt aan calmoduline. Het Ca^{2+} -calmoduline-complex bindt aan MLCK (myosine light chain kinase) hetgeen leidt tot contractie.

β -adrenerge receptoren koppelen aan G_s -eiwitten die na activatie het enzym adenylcyclase (AC) stimuleren. AC zet ATP om in cAMP, dat MLCK remt en leidt tot relaxatie. Via activatie van PKA leidt cAMP ook tot daling van Ca^{2+} door fosforylering van Ca^{2+} kanalen. (10 punten)

Vraag 6

Het genproduct van SMYD3 (een eiwit) speelt een rol bij de transcriptionele regulatie van het telomerase-gen. Dit betekent dat het SMYD3-eiwit de transcriptie van het telomerase-gen kan stimuleren of remmen. Bij kanker is de expressie van telomerase vaak verhoogd (zodat de kankercel kan blijven delen zonder dat de te korte telomeren leiden tot vroegtijdige apoptose, immers telomerase verlengt de telomeren). Aangezien gegeven is dat SMYD3 tot verhoogde expressie komt bij kanker, moet het zo zijn dat het SMYD3-eiwit de transcriptie van het telomerase-gen stimuleert (en aldus bijdraagt aan de tumorgroei). (10 punten)

Vraag 7

a. A= indirect actief transport (gefaciliteerde diffusie)

B= gefaciliteerde diffusie (via GLUT)

C= actief transport (3 punten)

b. De glucoseconcentratie is het hoogste in de epitheelcel. Via het indirect actief transport vindt transport van glucose plaats tegen de concentratiegradiënt in. Via de GLUT-transporter verlaat glucose de epitheelcel weer met de concentratiegradiënt mee. Beide vormen van transport leiden tot een hoge glucoseconcentratie in de cel t.o.v. de omgeving. (3 punten)

c. Door behandeling met digoxine verdwijnt de drijvende kracht achter het indirect actief transport van glucose. Glucose zal dus niet meer de cel in worden getransporteerd. De glucosewaarde in de extracellulaire vloeistof zal door de behandeling dalen. (4 punten)

Vraag 8

Hoge glucoseconcentratie stimuleert de productie van fibronectine in controle cellen. Dit kan worden tegengegaan met JAK2 antisense en Stat1 antisense. Met behulp van de antisense methode kan mRNA coderend voor JAK2 of Stat1 worden geblokkeerd zodat hiervan geen translatie kan optreden en het desbetreffende eiwit niet kan worden gevormd. Conclusie uit het experiment is dus dat zowel JAK2 als Stat1 betrokken zijn bij de intracellulaire signaaltransductie leidend tot de synthese en afgifte van het eiwit fibronectine. (2 punten)

Het JAK/Stat signaaltransductie systeem dient kort beschreven te worden (8 punten, zie werkcollege proteïn kinases).

Vraag 9 (2 punten)

D

Vraag 10 (2 punten)

B

Vraag 11 (2 punten)

B

Vraag 12 (2 punten)

C