

2017 januari examen

Vraag 1 Een mengsel eiwitten gegeven, met van elk eiwit de AZ samenstelling, oplobaarheid in $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, hydrofobiciteit en al dan niet aanwezigheid van een MBP tag gegeven.

- Op welke manier zou jij een eiwit uit dit mengsel opzuiveren? Motiveer je keuze. Wat gebeurt er tijdens de verschillende stappen met de eiwitten.
- Indien je zuivere oplossingen zou krijgen die enkel eiwit A, enkel eiwit B, enkel eiwit C, enz. bevat, kan je dan aan de hand van één ijklijn van de absorbanties bij 280nm de concentraties van de zuivere eiwitten in de oplossing te weten komen? Indien wel: verklaar. Indien niet: verklaar en leg uit welke hoe het beter zou kunnen. (Antw.: Nee. Absorbantie bij 280nm is afhankelijk van aromatische aminozuren en is dus afhankelijk van de samenstelling van een eiwit. Beter wordt de biureetreactie toegepast waarbij alleen het aantal peptidebindingen verantwoordelijk is voor de kleuring. Deze absorbantiemeting zal dus niet afhankelijk zijn van de AZ samenstelling.)
- Wat is de MBP tag? Geef twee toepassingen voor deze tag.

Vraag 2 Een chromatogram van IEC gegeven waarop de curves van 3 verschillende eiwitten gegeven zijn in functie van de pH van de kolom.

- Waarvoor en wanneer wordt IEC gebruikt?
- Duidt de positieve en de negatieve pool aan op de tekening zoals het op de kolom zou zijn in deze situatie.

Twee lege grafieken gegeven voor een pH A waarbij eiwit 1 zijn pI al is gepasseerd en eiwit 2 en 3 nog niet en voor een pH B waar alledrie de eiwitten hun pI al zijn gepasseerd. Ook is het verloop van een elutie met stijgende zoutconcentratie getekend op de grafieken.

- Teken de drie pieken van de eiwitten in functie van de stijgende zoutconcentratie bij die pH.

Vraag 3 Een chromatogram wordt gegeven met daarnaast gegevens over startbuffer, elutiebuffer en de eiwitten waarvan de pieken zichtbaar zijn.

- Met welke techniek kwam dit chromatogram tot stand? Waaruit kan je dat afleiden? (Antw.: HIC want er wordt gestart bij hoge [zout] en geëluëerd bij lage [zout].)
- Bespreek hoe de elutie gebeurt bij dit soort chromatografie en op welke manier juist de eiwitten loskomen van de kolom.
- Als er Triton-X-140 (0,2%) wordt toegevoegd, welk effect heeft dit dan op de elutiepieken?

Vraag 4

- Wat is de GST tag?

- Bij welke soort chromatografie wordt de GST tag gebruikt?
- Bespreek de performantieparameters van dit soort chromatografie. Wanneer kan je deze techniek het beste gebruiken?

Vraag 5 Situeer volgende begrippen:

- HEPES
- Dithiotreitol
- Expression proteomics
- Natieve gelelektroforese
- (Laatste ben ik vergeten)

Revision #1

Created 2 December 2021 15:48:46 by Jasper G.

Updated 3 December 2021 22:10:58 by Jasper G.