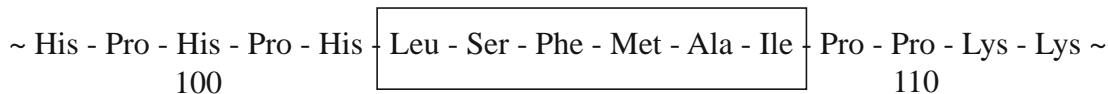


Hechting caseïne aan chymosine

Melk bevat ongeveer 4% eiwit waarvan het eiwit caseïne het grootste deel uitmaakt. De aanwezigheid van caseïne is onmisbaar voor het maken van kaas. Bij de bereiding van kaas worden zuursel en stremsel aan melk toegevoegd. Zuursel is een mengsel van verschillende soorten melkzuurbacteriën die lactose omzetten tot melkzuur (2-hydroxypropaanzuur).

- 3p **18** Geef met behulp van molecuulformules de reactievergelijking voor de omzetting van lactose tot melkzuur. Behalve lactose is nog een tweede stof nodig bij deze omzetting. Maak gebruik van Binas-tabel 67A.

Stremsel bevat het enzym chymosine. Onder invloed van chymosine vindt hydrolyse plaats van een deel van de aanwezige caseïnemoleculen. Hierdoor wordt de melk dikker en ontstaat via een aantal bewerkingen kaas. Hieronder zijn de aminozuren 98 tot en met 112 van een molecuul caseïne weergegeven. Het omkaderde gedeelte van een molecuul caseïne bevindt zich tijdens de hydrolyse in de holte van het enzym, waar de reactie optreedt: het zogenoemde actieve centrum. In een molecuul caseïne wordt de peptidebinding tussen fenylalanine (Phe) op plaats 105 en methionine (Met) op plaats 106 verbroken.



Van aminozuur 1 is de aminogroep nog aanwezig.

- 4p **19** Geef de reactievergelijking voor de hydrolyse van het fragment ~Phe–Met~. Gebruik structuurformules voor de koolstofverbindingen. Maak gebruik van Binas-tabel 67C.

Bij een onderzoek naar de hechting van caseïnemoleculen aan chymosine is een aantal peptiden gesynthetiseerd. Deze peptiden zijn gebruikt als substraat voor het enzym.

Peptiden worden gemaakt uit aminozuren. Als men één soort dipeptide, bijvoorbeeld Ala-Ile, wil maken uit een mengsel van beide aminozuren, kunnen naast Ala-Ile nog andere dipeptiden ontstaan.

- 2p **20** Geef de afkortingen van de dipeptiden die, behalve Ala–Ile, ontstaan als men dipeptiden maakt uit een mengsel van Ala en Ile.

Als eerste peptide werd het gedeelte van caseïne gemaakt dat zich in het actieve centrum bevindt: Leu-Ser-Phe-Met-Ala-Ile. Voor de synthese van dit peptide ging men als volgt te werk:

- 1 Men laat een oplossing van Ile reageren met een bepaald slecht oplosbaar polymeer. Daarbij reageren de carbonzurgroepen van Ile met de hydroxylgroepen van het polymeer. Er ontstaat een vaste stof die schematisch kan worden aangeduid als Ile-Polymeer.
- 2 In een ander reactievat laat men de aminogroep van Ala reageren met een andere stof, waardoor de aminogroep niet meer beschikbaar is voor reacties met een ander aminozuur. Dit wordt aangegeven als X-Ala. Het is mogelijk om X te verwijderen, zodat de oorspronkelijke aminogroep weer ontstaat.
- 3 Het vaste Ile-Polymeer laat men reageren met een oplossing met een overmaat X-Ala. Daarbij ontstaat X-Ala-Ile-Polymeer.
- 4 Deze stof ondergaat een aantal bewerkingen, zodat X-Met-Ala-Ile-Polymeer ontstaat.
- 5 Als deze stappen worden herhaald met de opeenvolgende aminozuren, kunnen de gewenste polypeptiden worden gesynthetiseerd.

Het groeiende polypeptide blijft tijdens deze bewerkingen gebonden aan het polymeer.

- 4p **21** Geef een globale beschrijving van de handelingen die men moet verrichten in stap 4 om uit het ontstane mengsel uit stap 3 het gevormde X-Ala-Ile-Polymeer om te zetten tot X-Met-Ala-Ile-Polymeer.

Het gebruikte polymeer bevat hydroxylgroepen, waardoor de carbonzurgroepen van de aminozuren met het polymeer kunnen reageren.

- 2p **22** Geef met behulp van structuurformules de vergelijking van de reactie van een oplossing van Ile met een polymeer dat hydroxylgroepen bevat. Noteer het polymeer hierbij als HO-Polymeer.

Aan het eind van de synthese moet het ontstane polypeptide worden losgemaakt van het polymeer. Hierbij treedt een hydrolyse op, waarbij het gewenste polypeptide vrijkomt.

- 2p **23** Leg uit waarom men liever geen polymeer gebruikt met aminogroepen in plaats van hydroxylgroepen.

Bij het onderzoek naar de hechting van caseïnemoleculen aan chymosine, werd gemeten hoe snel de verschillende polypeptiden werden gehydrolyseerd door chymosine. Voor dit onderzoek werd een buffer met pH = 4,7 gemaakt.

- 2p **24** Leg uit welke oplossingen kunnen worden gebruikt om een buffer met pH = 4,7 te maken. Gebruik een gegeven uit Binas-tabel 49.

Voor de snelheid s van de reactie van het enzym E met een substraat S geldt bij dit onderzoek de volgende vergelijking:

$$s = k \cdot [E] \cdot [S].$$

In tabel 1 is voor een aantal van de onderzochte polypeptiden de waarde van k vermeld. De metingen zijn uitgevoerd bij pH = 4,7.

tabel 1

exp.	substraat	k
1	Leu-Ser-Phe-Met-Ala-Ile	22
2	His-Leu-Ser-Phe-Met-Ala-Ile	31
3	Pro-His-Leu-Ser-Phe-Met-Ala-Ile	104
4	His-Pro-His-Leu-Ser-Phe-Met-Ala-Ile-Pro-Pro	990
5	Pro-His-Pro-His-Leu-Ser-Phe-Met-Ala-Ile-Pro-Pro	$2,0 \cdot 10^3$
6	His-Pro-His-Pro-His-Leu-Ser-Phe-Met-Ala-Ile-Pro-Pro	$2,7 \cdot 10^3$
7	His-Pro-His-Pro-His-Leu-Ser-Phe-Met-Ala-Ile-Pro-Pro-Lys	$2,5 \cdot 10^3$
8	His-Pro-His-Pro-His-Leu-Ser-Phe-Met-Ala-Ile-Pro-Pro-Lys-Lys	$2,2 \cdot 10^3$

De onderzoekers trokken uit het gehele onderzoek de conclusie dat sommige aminozuureenheden net buiten het actieve centrum een rol spelen bij de mate van hechting van het polypeptide in het actieve centrum van het enzym. De onderzoekers formuleerden de hypothese dat één van de mogelijke verklaringen voor een goede hechting van een substraat bij pH = 4,7 is, dat één of meerdere van de aanwezige zijgroepen van de aminozuurresten Lys en His een H^+ hebben opgenomen.

- 1p **25** Geef de structuurformule van de zijgroep van Lys bij pH = 4,7.

Uit de tabel kan tevens worden afgeleid, dat een andere aminozuureenheid dan Lys en His eveneens een positieve invloed heeft op de reactiesnelheid.

- 3p **26** Leg met behulp van de gegevens in tabel 1 uit welke andere aminozuureenheid blijkbaar een positieve invloed heeft op de reactiesnelheid. Gebruik in je antwoord de nummers van minstens vier proeven.