In dit leerlingmateriaal wordt een korte samenvatting gegeven over het onderwerp Antivrieseiwitten, gebaseerd op drie artikelen, die via de links aan het einde van ieder stukje tekst verder doorgelezen kunnen worden. Aan het einde van dit document staan twee examenopgaven over dit onderwerp van de vakken biologie en scheikunde.

**De kunst van het afplakken**

Het water rond de polen is dikwijls bijna min 2 graden Celsius. De meeste vissoorten zouden als een bevroren ijslolly op gehengeld worden uit de ijszeeën. Maar de poolvissen die deze wateren bevolken, bevriezen niet. Het onderwaterleven op de Noord- en Zuidpool moet wel een bijzondere strategie hebben ontwikkeld om te overleven in de vrieskou. Hoe zit dat?

De vissen hebben een speciaal eiwit in hun bloed dat werkt als antivries. Het eiwit beschermt hen als de temperatuur zakt door de groei van ijskristallen te remmen. Een noodzaak voor het beestje. “Tijdens het eten en drinken komen er ijskristallen uit het zeewater het lijf van de vis binnen”, legt chemicus Ilja Voets uit van de Technische Universiteit Eindhoven uit. “Die ijskristallen mogen niet groter worden: dan stopt het bloed met stromen en kunnen lichaamscellen lek geprikt worden. Dan is het einde verhaal.”

**IJs in bedwang houden**

“De organismen proberen zo goed mogelijk om te gaan met kleine ijskristallen”, legt Voets uit. Antivrieseiwitten stoppen de groei van ijskristallen namelijk niet: ze houden de groei alleen in bedwang door eraan te hechten. De eiwitten heten ook wel ice-structuring proteins, omdat ze de structuur van de ijskristallen beïnvloeden. Zonder antivries groeien ijskristallen uit tot een bepaalde grootte en vorm die we met het blote oog kunnen zien.

De onderzoeksgroep van Voets kijkt naar het antivrieseiwit van de Amerikaanse winterschol en van de Amerikaanse puitaal. Van de eiwitten van deze twee vissoorten is precies bekend hoe groot ze zijn en uit welke aminozuren ze zijn opgebouwd. Maar hoe ze binden aan het ijskristal is nog een vraagteken. Er binden veel eiwitten aan één kristal, zo veel is duidelijk. Experimenten laten zien dat de eiwitten waarschijnlijk geen egale laag vormen die het hele kristal bedekken. Maar wat de gemiddelde afstand is tussen de eiwitten op het oppervlak? Of dat ze alleen binden of in paren? Zitten ze vast of kunnen ze bewegen op het ijs? Het zijn allemaal nog onbeantwoorde vragen.

Voets heeft een theorie die inzicht geeft in de puzzel. “Wij denken dat de eiwitten alleen binden aan bepaalde vlakken van het ijskristal en dat er tussen de eiwitten veel ruimte zit. Op de plek tussen twee eiwitten in gaat het kristal krommen. Die kromming is energetisch ongunstig en dat maakt dat ijskristallen pas bij lagere temperaturen groter worden.”

Maar die kromming heeft nog nooit iemand in beeld weten te brengen. “Er zijn nog geen technieken om in te zoomen op het niveau van één eiwit op een klein ijskristal”, aldus Voets. “Alles wat groter is dan grofweg één micrometer kunnen we zien, maar wij proberen door nieuwe technieken te ontwikkelen juist kleiner te gaan.”

*Bron: Antivries in het bloed (Antivries van de poolvis: nu ook handig voor mensen).*

*Auteur: Mariska van Sprundel | 23 juni 2015*

[*https://www.nemokennislink.nl/publicaties/antivries-in-het-bloed/*](https://www.nemokennislink.nl/publicaties/antivries-in-het-bloed/)

Poolvissen houden hun bloed stromend dankzij hoge concentraties antivrieseiwitten (20-35 mg/l). Die maken ze in hun alvleesklier. Ook toendra-eekhoorns gebruiken deze tactiek tijdens hun zeven maanden durende winterslaap, waarbij hun lichaamstemperatuur daalt tot -3 °C. De eiwitten verlagen het vriespunt niet, maar hechten zich aan beginnende ijskristallen. Zo voorkomen ze dat deze uitgroeien.

Het bloed raakt in feite ‘onderkoeld’: het heeft een lagere temperatuur dan het eigenlijke vriespunt, maar is toch vloeibaar. Deze beschermtechniek is niet zonder risico. Bij schade aan een vissenhuid kan het bloed van het ene op het andere moment compleet bevriezen, en sterft de vis. Dit is te vergelijken met een fles onderkoeld water uit de vriezer. Eén keer schudden en opeens is al het water bevroren.

IJs groeit doordat bij 0 °C telkens nieuwe watermoleculen zich ordenen aan het oppervlak van een kristal. Daarbij worden andere moleculen van het ijsoppervlak ‘weggeduwd’ omdat ze niet, of niet zo goed als watermoleculen zelf, passen in het kristalrooster. Voor antivrieseiwitten (antifreeze proteins, AFP’s) geldt dit echter niet. Zij plakken juist aan het ijskristal vast en kunnen zo voorkomen dat kris- tallen verder uitgroeien. Dat kunnen ze uren en zelfs dagen volhouden. In 1969 ontdekte de Amerikaanse bio loog Art (Arthur) DeVries op Antarctica het bestaan van antivrieseiwitten in pool vissen. Sinds die eerste ontdekking zijn er vele antivrieseiwitten gevonden in vissen maar ook in insecten, planten, schimmels en bacteriën. Opvallend is dat de eiwitten sterk verschillen in aminozuursamenstelling en driedimensionale structuur. En terwijl sommige AFP’s van zeer verschil lende bronnen grote gelijkenis vertonen, hebben sommige nauw verwante vissen juist heel verschillende antivrieseiwitten. Dit komt doordat de polen in evolutietermen pas relatief kort geleden zijn bevroren (ca. 2 miljoen jaar geleden) en er blijkbaar diverse eiwitten zijn die kunnen evolueren tot AFP’s. Een overeenkomst tussen de diverse antivrieseiwitten is dat ze relatief klein zijn en een plat oppervlak hebben waarop vaak de aminozuren threonine en asparaginezuur voorkomen. In de decennia na de ontdekking van deze eiwitten was de hypothese dat ze veel waterstofbruggen vormen met watermoleculen aan het ijsoppervlak. Nu denken wetenschappers echter dat Vanderwaalskrachten een hoofdrol spelen: de eiwitten passen qua vorm vrijwel perfect op het kristaloppervlak. De meest effectieve antivrieseiwitten passen specifiek op één van de verschillende vlakken van het kristal, maar er zijn ook ‘algemenere’ AFP’s die alle of meerdere kristalvlakken afdekken en zo de kristallen in hun groei belemmeren.

Bron: Chemische feitelijkheden Antivries Auteur: Marga van Zundert, december 2011

<https://www.chemischefeitelijkheden.nl/artikelen/antivries>

### https://67a9f12c562e4385958ef41a7bba215b.objectstore.eu/assets_production/system/files/000/082/091/medium/ijs.jpg?1494922754Groeirichting

Over de exacte werking van de verschillende antivrieseiwitten valt nog veel te ontdekken. We weten dat ze aan kleine ijskristallen binden en dat ze op twee manieren de groei van die ijskristallen tegengaan. De ene manier is dat ze de temperatuur waarop ijskristallen opeens heel snel gaan groeien verlagen. De andere manier is dat ze zorgen dat die kleine kristallen niet aan elkaar gaan plakken om zo grotere kristallen te vormen.

Zo zitten watermoleculen geordend in een ijskristal. De rode bolletjes geven zuurstof (O) weer, de grijze waterstof (H). [1996 MathMol](http://www.nyu.edu/pages/mathmol/txtbk2/3D_wat_ice.htm)

Om uit te zoeken of er een verband is tussen deze twee manieren en welke manier wanneer wordt ingezet, keken Voets en haar collega’s met microscopen hoe antivrieseiwitten binden aan ijskristallen. Ze gebruikten verschillende methoden om de activiteit van de eiwitten te bepalen. Het was meteen duidelijk dat de activiteit verschilde per methode. Een eiwit dat zeer effectief opereerde in de ene methode bleek in een andere opzet nauwelijks in staat kristalvorming aan te pakken.

De verklaring ligt in de manier waarop de ijskristallen worden opgewekt in de verschillende technieken. Dat bepaalt de groeirichting van het kristal en omdat een ijskristal niet vanuit iedere hoek bezien dezelfde vorm heeft, past niet ieder eiwit even goed op iedere kant van een kristal. Wil je de activiteit van een antivrieseiwit bepalen, dan spelen de omstandigheden waaronder het ijskristal groeit een cruciale rol. Zaken als de snelheid waarmee de temperatuur daalt, de grootte van het temperatuurverschil en de lengte van de ‘bevroren’ periode bepalen welk mechanisme nodig is.



Niet alleen poolvissen maken hun eigen antivries. De larven van deze vuurkever (Dandroides canadensis) produceren maar liefst dertien verschillende antivrieseiwitten. Een daarvan, DAFP-1, gebruikte Ilja Voets in haar onderzoek.

[bugguide.net](http://bugguide.net/images/cache/WKQ/K2K/WKQK2K0KBK2QY0BQRS2QHSUQZSEQLSXK1KXKLSUQY05K1KLKO00K6KKKC0EQNKLKUK8QB0QKNKKKO0EQPKRK10KKV0.jpg)

### Synthetisch antivries

Het is daarom niet verwonderlijk dat er veel verschillende antivrieseiwitten bestaan. Sommige dieren moeten snelle, maar heel grote temperatuurschommelingen kunnen doorstaan, terwijl andere vooral heel lang in ijskoude, maar stabiele condities moeten overleven. Dat vraagt om verschillende manieren om ijsvorming te bestrijden en te controleren. De belangrijkste conclusie van de onderzoekers is dan ook dat je per specifieke toepassing moet zoeken naar het meest geschikte eiwit. En als je synthetische materialen ontwerpt met antivrieseiwitten als inspiratiebron draait het niet alleen om het omhullen van een ijskristal. Je moet ook goed bedenken wat de omgevingscondities zijn van het materiaal. Als je die meeneemt is de kans op een succesvol synthetisch antivriesmiddel veel groter.

BRON: Nemo\_Het ene antivries is het andere niet (Groeicondities van ijskristallen bepalen welk antivrieseiwit het best werkt) Auteur: Esther Thole | 4 maart 2016 <https://www.nemokennislink.nl/publicaties/het-ene-antivries-is-het-andere-niet/>

**Antivrieseiwitten**

De Amerikaanse onderzoeker Arthur DeVries ontdekte dat poolvissen

aanpassingen hebben die voorkómen dat ze bevriezen in het ijskoude

water. In afbeelding 1 is een

antarctisch baarsje omringd door ijskristallen weergegeven.

# afbeelding 1

Rond Antarctica, waar de watertemperatuur gemiddeld -1,9 ºC is, vormen zich ijskristallen in het water. In dit ijskoude water zijn aangepaste vissen te vinden, met antivrieseiwitten in hun lichaam. Zonder deze

antivrieseiwitten zouden in het lichaam van deze koudbloedige vissen

ijskristallen ontstaan die schade aanrichten doordat ze membranen van cellen kapot prikken.

IJsvorming in het bloedplasma kan leiden tot osmotische problemen voor de bloedcellen, omdat ijskristallen veel minder zout bevatten dan

vloeibaar water.

2p **10** Wordt het bloedplasma bij ijsvorming hyper- of hypotoon ten opzichte van het cytoplasma van de bloedcellen? En wat is het gevolg van deze

osmotische verandering voor de bloedcellen? het bloedplasma wordt de bloedcellen

1. hypertoon knappen
2. hypertoon krimpen
3. hypotoon knappen
4. hypotoon krimpen

IJskristallen in de bloedsomloop blijven klein dankzij antivrieseiwitten. De kristalletjes accumuleren in de milt van de vis, waardoor schade aan de haarvaten beperkt wordt.

In afbeelding 2 is de enkelvoudige

bloedsomloop van een vis vereenvoudigd

weergegeven.

IJskristallen in het bloed ontstaan vooral in de

haarvaten van het darmkanaal.

# afbeelding 2

Vier bloedvaten van de vis zijn:

* 1. haarvaten van de kieuwen
	2. leverslagader
	3. miltslagader
	4. poortader

2p **11** Welke van deze bloedvaten passeert een ijskristal achtereenvolgens op

de kortste route van de darmhaarvaten tot de milt? Noteer die nummers in de juiste volgorde.

Een ijskristal ontstaat meestal uit een zoutdeeltje en een paar

watermoleculen. Het ijskristal groeit daarna doordat er steeds meer

watermoleculen aan vasthechten. Antivrieseiwitten binden vermoedelijk

aan de ijskristallen door de vorming van waterstofbruggen en verhinderen vervolgens de groei van het ijskristal. De mogelijke werking van

antivrieseiwitten is schematisch weergegeven in afbeelding 3.

# Afbeelding met diagram, schets, wit  Automatisch gegenereerde beschrijvingafbeelding 3

De werking van het antivrieseiwit in afbeelding 3 kan worden verklaard door de moleculaire eigenschappen van dit eiwit.

2p **12** Licht toe dat dit antivrieseiwit zowel een hydrofiele als een hydrofobe zijde nodig heeft om functioneel te kunnen zijn.

Antivrieseiwitten (AFGP’s, van ‘antifreeze glycoprotein’) komen veel voor in poolvissen. AFGP’s worden gemaakt door de alvleesklier en worden

afgegeven aan de darminhoud, waarna het ongebruikte deel van deze AFGP’s vanuit de darm wordt opgenomen in het bloed. Biologen uit de onderzoeksgroep van DeVries vermoeden dat het gen voor het

antivrieseiwit stapsgewijs is ontstaan uit het trypsinogeen-gen.

Een kopie van het trypsinogeen-gen heeft eerst een aantal exonen

verloren en vervolgens zijn de basen die coderen voor het aminozuur-

stukje Thr-Ala-Ala vele malen ingevoegd. Door deze veranderingen is in het nieuw gevormde AFGP-gen op een nieuwe plek een stopcodon

ontstaan.

Een klein deel van de coderende streng van het AFGP-gen met daarin het stopcodon is weergegeven in afbeelding 4. Daaronder is het homologe

(overeenkomstige) deel van het trypsinogeen-gen afgebeeld.

# afbeelding 4

AFGP-gen: 5’ -….GGTGACACTGGCAGCCCTCTGGTGT….- 3’

trypsinogeen-gen: 5’ -….GGTGACTCCGGCAGCCCTCTGGTGT….- 3’

2p **13** Noteer de drie nucleotiden die coderen voor het stopcodon in het AFGP- gen en verklaar dat diezelfde drie nucleotiden in het trypsinogeen-gen

geen stopcodon zijn.

Het AFGP-gen bevat ook de code voor een signaalpeptide. Een

signaalpeptide bevindt zich aan het begin van de eiwitketen. Als de synthese van het eiwit aan de ribosomen is voltooid, bepaalt het

signaalpeptide waar het eiwit terechtkomt. AFGP wordt uiteindelijk via exocytose uitgescheiden.

2p **14** Komt AFGP na synthese terecht in het ER of in het grondplasma? En welk organel verzorgt het versturen van de blaasjes met AFGP naar de

celmembraan?

AFGP komt terecht in organel dat verstuurt

* + 1. grondplasma golgi-systeem
		2. grondplasma lysosoom
		3. ER golgi-systeem
		4. ER lysosoom

Zowel trypsinogeen als AFGP komt in het darmkanaal van de Antarctische vissen terecht. Trypsinogeen wordt in het darmkanaal omgezet in

trypsine.

2p **15**  Welke functie heeft trypsine in het darmkanaal?

* Welke functie heeft AFGP in het darmkanaal?

Antivrieseiwitten worden gevonden in vissen rondom de Zuidpool, maar

ook bij vissen in de noordelijke ijszeeën. Onderzoekers nemen aan dat dit een analoge ontwikkeling is.

2p **16** Leg uit dat een homologe oorsprong van alle AFGP’s onwaarschijnlijk is.

# Chillen bij – 60 °C

Sommige kevers, zoals de *Upis ceramboides*, kunnen in poolgebieden een temperatuur van **** 60°C overleven. Dat hebben ze onder andere te danken aan twee mechanismen die bevriezing van het water in hun lichaam

voorkomen.

## Mechanisme 1: ijs-bindende eiwitten

Sommige poolkevers maken speciale eiwitten (AFP’s) aan. De AFP-moleculen binden met waterstofbruggen aan kleine ijskristallen en

voorkomen zo het uitgroeien tot grotere ijskristallen die cellen en/of organen zouden beschadigen.

Een goed gekarakteriseerde AFP van een kever is TmAFP (zie figuur 1). AFP’s van andere kevers

CC

lijken hierop: karakteristiek zijn de windingen van

telkens 12 aminozuren. De aminozuurvolgorde van iedere winding kan worden weergegeven met de

codering TCTxSxxCxxAx. In deze codering wordt

C

elk aminozuur weergegeven met één letter

(zie Binas-tabel 67H) en is een x gebruikt voor een willekeurig aminozuur.

## figuur 1

schematische weergave van een gedeelte van TmAFP

C

TCT C

TCT C

TCT C

TCT

4p **1** Geef het gedeelte ~ TCT ~ in een structuurformule weer en geef weer hoe een molecuul water aan dit gedeelte gebonden zit.

C

In de zich vormende AFP worden tussen de SH groepen van opeenvolgende cysteïne-eenheden covalente bindingen gevormd, de zogeheten zwavel-bruggen. Deze reactie is een redoxreactie, die hieronder onvolledig is weergegeven.

C S

SH T-C-T

SH

C

2 H+

S

T-C-T

2p **2** Leg uit of voor de vorming van de zwavelbruggen de SH groepen met een

 oxidator of met een reductor moeten reageren.

## Mechanisme 2: ijs-bindende suikers

Behalve de ijs-bindende eiwitten hebben de kevers een tweede

beschermingsmechanisme. Op de celmembranen van bepaalde cellen

van de kevers bevinden zich moleculen van een polysacharide, waarin de monosachariden mannose (afgekort Man) en xylose (afgekort Xyl) elkaar afwisselen (zie figuur 2). Deze moleculen verhinderen de vorming van

ijskristallen tussen de cellen.

## figuur 2

OH

CH2OH

O OH HO

Man

OH

O

O

O

Xyl

*n*

Bij het onderzoek werd de polysacharide onder invloed van een enzym bij pH = 7,5 volledig gehydrolyseerd. De ontstane oplossing bleek het

beschermende effect tegen bevriezing niet te bezitten.

Op de uitwerkbijlage is de structuurformule van zo’n polysacharide weergegeven.

3p **3** Geef op de uitwerkbijlage de reactievergelijking in structuurformules van de volledige hydrolyse van deze polysacharide.

In de oplossing die ontstond na de hydrolyse waren ook vrije vetzuren aanwezig. Een onderzoeker vermoedde dat moleculen van de

polysacharide veresterd zijn met één of meerdere moleculen van de vetzuren. Hij stelde de volgende hypothese op: “Moleculen van de

antivriesstof bevinden zich in de vloeistof buiten de cel. Deze moleculen zijn verankerd in het celmembraan door de staarten van één of meerdere vetzuren.”

Op de uitwerkbijlage staat een celmembraan schematisch weergegeven.

2p **4** Geef schematisch op de uitwerkbijlage weer hoe een molecuul van de

antivriesstof volgens deze onderzoeker in het celmembraan verankerd is.

Geef het polysacharide-gedeelte weer als Geef het vetzuur-gedeelte weer als

Geef de verestering weer als 

**Uitwerkbijlage**

