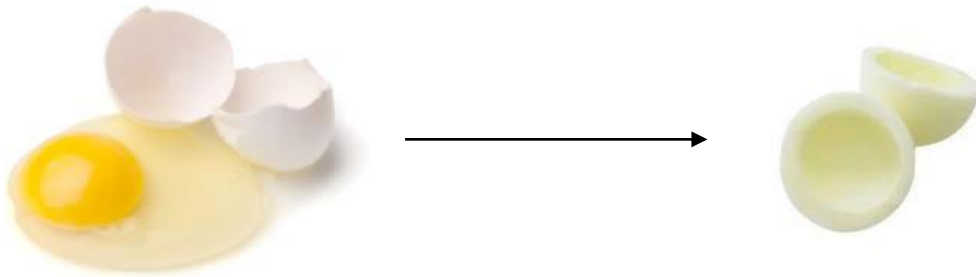
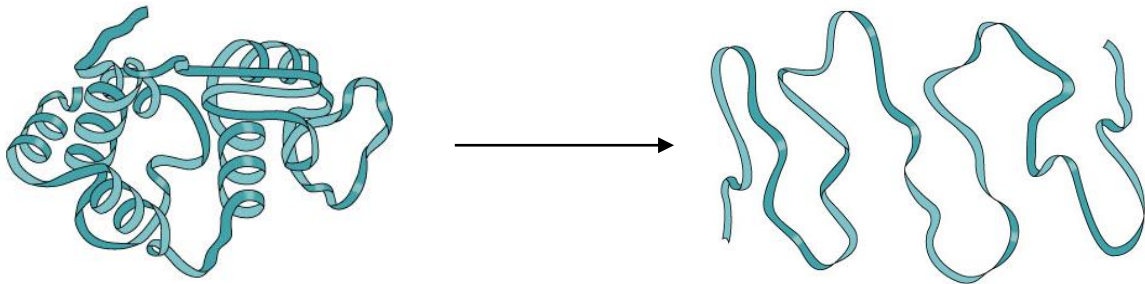


Denaturatie: macroscopisch

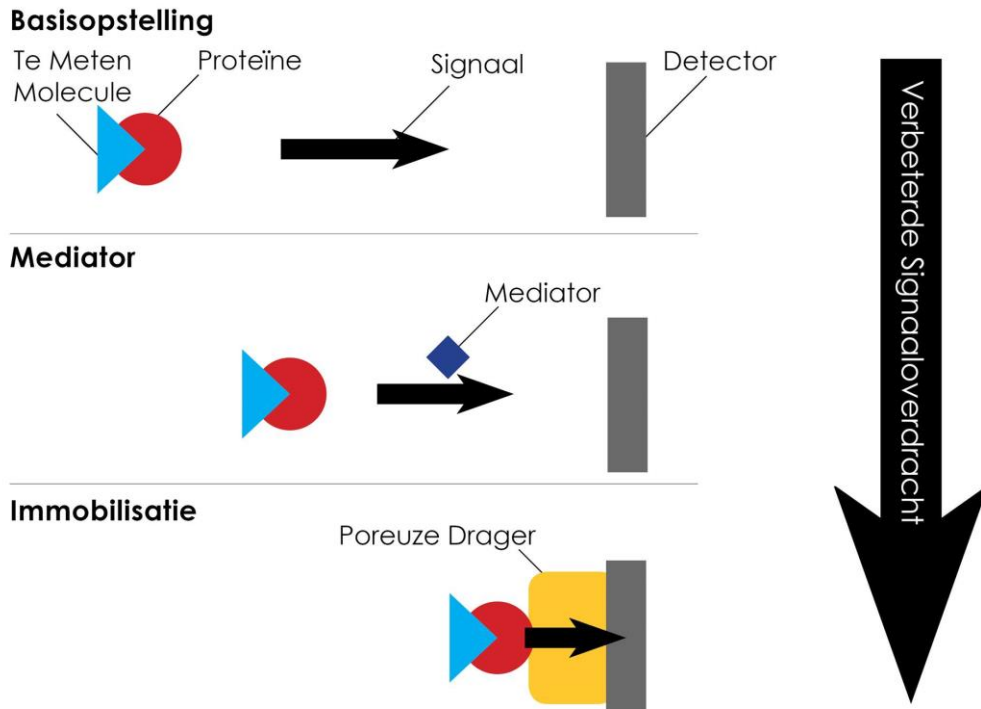


Denaturatie: microscopisch



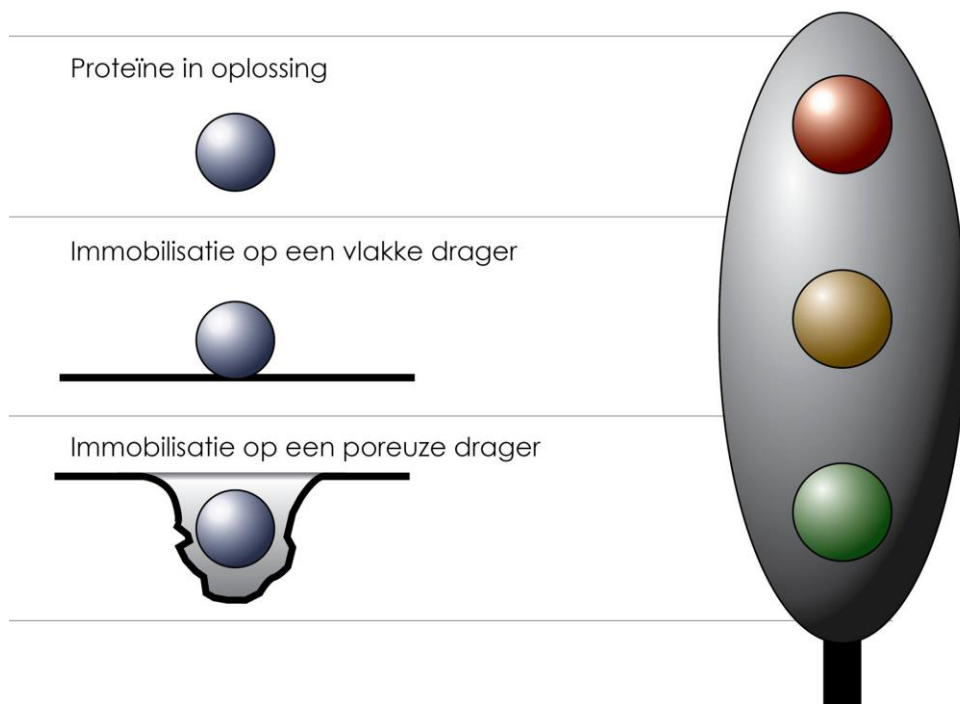
Deze afbeeldingen geeft weer hoe denaturatie zich uit op macroscopische (boven) en microscopische schaal (onder).

*Citaat: 'Net zoals het eiwit in een kippenei van vloeibaar tot vast verandert bij opwarming, veranderen ook de eiwitten in je lichaam onder invloed van bv. temperatuur. Een eiwitmolecule ziet er namelijk uit als een touw. In stabiele vorm is dit touw stevig opgerold tot een bolletje. Verandering van temperatuur of zuurtegraad kan er echter voor zorgen dat dit bolletje afrolt. Hierdoor verliest het eiwit zijn activiteit en wordt de biosensor waardeloos. Dit afrollen wordt ook denaturatie genoemd.'*



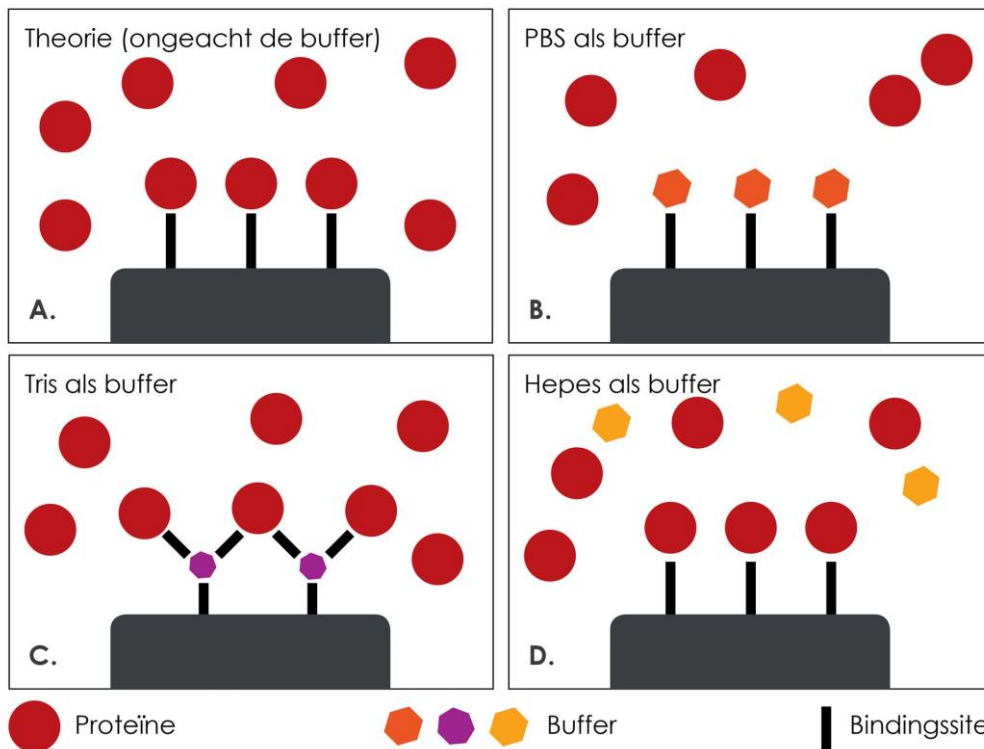
Er zijn drie mogelijkheden om het signaal van het eiwit tot de drager te krijgen: een eenvoudige basisopstelling, het toevoegen van een mediator of het immobiliseren van de eiwitten. Deze laatste optie geeft de beste signaaloverdracht.

*Citaat: 'Mediatormoleculen brengen het signaal van bij het eiwit tot bij de detector, zoals een postbode dat zou doen. In dit onderzoek wordt echter een nieuwe strategie uitgevoerd, nl. immobilisatie. Als mediators postbodes zijn, dan is immobilisatie te vergelijken met een e-mail sturen. Het is sneller en je bent minder afhankelijk van de werking van de postbode/mediator (en of die onderweg al eens graag een babbeltje slaat).'*



De drie opties voor het gebruik van eiwitten in biosensoren: in oplossing, geïmmobiliseerd op een vlakke drager en geïmmobiliseerd op een poreuze drager. De laatste is de meest geschikte oplossing voor het creëren van een stabiele biosensor.

*Citaat: 'Zie het als het lijmen van een bolletje touw op een stuk karton. Op die manier wordt afrollen moeilijker. Wanneer je dat bolletje touw echter vastlijmt in een kartonnen doosje, dat ongeveer even groot is als het bolletje touw, wordt afrollen nog moeilijker.'*



Schematische weergave van de combinatie van buffers en immobilisatie als strategieën. A.: weergave van wat we theoretisch gezien verwachtten: elk eiwit bindt aan het oppervlak via de bindingssites van het oppervlak; B.: PBS als buffer: binding met het oppervlak wordt verhinderd, omdat de buffermoleculen de bindingssites bezetten; C.: Tris als buffer: de buffermoleculen binden met het oppervlak, maar creëren zo meer aantrekkelijke bindingssites voor de eiwitten, waardoor meer eiwitten geïmmobiliseerd worden; D.: Hepes als buffer: bezetting identiek aan figuur A, aangezien de buffermoleculen geen interactie vertonen met de eiwitten of de bindingssites.

Citaat: *'Na uitproberen van de drie buffers bleek PBS de minst geschikte buffer te zijn. Deze interageert namelijk te intens met het oppervlak, waardoor alle bindingssites voor het eiwit bezet werden. Hepes daarentegen, interageert helemaal niet met het oppervlak, maar stabiliseert het eiwit ook niet. De meest geschikte buffer is daarom Tris, ook al reageert deze wel met het oppervlak. Door die interactie vormt Tris namelijk betere bindingssites voor het eiwit, waardoor dit sterker interageert met het oppervlak.'*