

Eksamen i biokemi - SODB16042E



14

07 juni 2019

Planlagt: 13:00 - 17:00

Eksamensnr: 14

Plads: E01-055

Side 1 af 10

Almen biokemi – opgave 1

Proteiner og aminosyrer

Proteiner nedbrydes i fordøjelseskanalen til aminosyrer, som absorberes. Efter indledende fordøjelse i mavesækken med pepsin fortsætter fordøjelsen i tarmkanalen helt til aminosyrer. De proteolytiske enzymer, trypsin, chymotrypsin, elastase og carboxypeptidase, tilføres tarmlumen som inaktive forstadier.

1. a) Forklar forskellen på endopeptidaser og exopeptidaser og angiv, hvilke af de 4 nævnte enzymer i tarmkanalen, der er henholdsvis endo- og exopeptidaser.

Endopeptidaser klipper i midten af en aminosyrekæde, mens exopeptidaser klipper enten ved den C-terminale- eller N-terminale ende. Heraf benævnes disse hhv. carboxypeptidaser og aminopeptidaser.

Trypsin, chymotrypsin, elastase er alle eksempler på endopeptidaser. Carboxypeptidase er et exopeptidase, der klipper ved den C-terminale ende.

- b) Angiv navnet på de 4 inaktive forstadier (zymogener), hvorfra de kommer samt hvorledes de inaktive zymogener omdannes til de aktive enzymer.

De 4 proteolytiske enzymer trypsin, chymotrypsin, elastase og carboxypeptidase kaldes i deres inaktive forstadier for hhv. trypsinogen, chymotrypsinogen, proelastase og procarboxypeptidase. De 4 enzymer udskilles fra pancreas.

Zymogen aktivering sker ved en proteolytisk spaltning af et peptidbinding. Når zymogenerne tilføres i tarmlumen, aktiveres først trypsinogen til trypsin af enteropeptidase, som er en endopeptidase placeret på den luminale tarmepitel. Herefter aktiverer trypsin de 3 øvrige enzymer.

Når aminosyrerne er absorberet, kan de indgå i proteinsyntese, oxideres til CO₂ eller omdannes til andre biologisk vigtige forbindelser, fx glukose eller ketonstoffer.

2. Forklar hvordan aminosyren alanin kan omdannes til glukose – herunder angivelse af samtlige irreversible trin i denne omdannelse samt hvor mange mol glukose, der kan dannes ud af 1 mol alanin.

Alanin kan omdannes til glukose ved først at blive omdannet til ketosyren pyruvat. Herfra kan pyruvat omdannes via glukoneogenese til glukose.

Alanin kan reversibelt vha. enzymet alanintransaminase omdannes til pyruvat (se spørgsmål 3a for reaktionsligning).

Omdannelse af pyruvat til glukose, glukoneogenese, indebærer 4 irreversible trin.

1) Pyruvat + CO₂ + ATP → Oxaloacetat + ADP + P vha. enzymet pyruvat carboxylase og biotin som prostetisk gruppe.

2) Oxaloacetat + GTP → Phosphoenolpyruvat + GDP + P + CO₂ vha. enzymet phosphoenolpyruvat carboxy kinase

3) Fruktose-1,6-bifosfat + H₂O → Fruktose-6-fosfat + P vha. enzymet fruktose-1,6-difosfatase

4) Glukose-6-fosfat + H₂O → Glukose + P vha. enzymet glukose-6-fosfatase (enzymet findes kun i leveren)

1 mol Glukose kan dannes ud fra 2 mol Alanin (og dermed 2 mol pyruvat.)

Når aminosyrer nedbrydes eller omdannes til glukose, vil nitrogenatomerne kunne udskilles som især urea (urinstof), men også fx ammoniumioner.

3. a) Opskriv ligningerne for reaktionerne: alanin aminotransferase, glutamat dehydrogenase, glutamin syntetase og glutaminase.

1) Alanintransaminase: Alanin + alfa-ketoglutarat ↔ Pyruvat + glutamat hvor pyridoxal-p er prostetisk gruppe.

2) Glutamat dehydrogenase: Glutamat + H₂O + NAD⁺ ↔ alfa-ketoglutarat + NADH + H⁺ + NH₄⁺

3) Glutamin syntetase: Glutamat + ATP + NH₄⁺ → Glutamin + ADP + P

4) Glutaminase: Glutamin + H₂O → Glutamat + NH₄⁺

b) Forklar, hvorledes alle disse 4 reaktioner er vigtige for udskillelsen af alanins nitrogen som ammoniumioner (NH_4^+).

Da kun glutamat vha. glutamat dehydrogenase kan frigive sit ammoniumion, må alanin transamineres og overfører sit nitrogen således glutamat fås (reaktion 1). Herefter kan glutamat frigøre sit ammoniumion (reaktion 2). Da frie ammoniumioner ikke kan cirkulere i blodet, må ammoniumion inkorporeres i glutamin (reaktion 3), da glutamin kan cirkulere i blodet på sin vej fra leveren til nyrerne. Når glutamin er transporteret til nyren, vil glutamin frigøre sit ammoniumion vha. glutamin synthetase (reaktion 4). Herefter udskilles ammoniumioner i urinen.

Almen biokemi – opgave 2

Laktatforbrænding

Ved intenst muskelarbejde vil der kunne ophobes store mængder laktat i blodet, som efterfølgende enten tilbagedannes til glukose ved glukoneogenese eller oxideres til CO₂ via tricarboxylsyrecyklus.

1. Gør rede for musklers anaerobe omdannelse af glykogen til laktat, herunder ATP-forbrugende reaktioner, ATP-producerende reaktioner samt netto ATP-udbytte.

Muskler mobiliserer glykogen under muskelarbejde og producerer laktat som slutprodukt under intenst muskelarbejde. Denne proces betegnes anaerob glykolyse. Glykogen mobiliseres, hvorefter et par reaktioner dannes fruktose-6-p. Fruktose-6-p omdannes til fruktose-1,6-bi-p under forbrug af 1 ATP:

Fruktose-6-P + ATP → Fruktose-1,6-bi-p + ADP + P vha. enzymet fosfofruktokinase.

Fruktose-1,6-bi-P omdannes derefter til Glyceraldehyd-3-p og dihydroxyacetone-P (DHAP). Eftersom DHAP reversibelt omdannes til Glyceraldehyd-3-p, skal produkter og substrater fra dette trin og frem ganges med 2.

Reaktionen mellem 1,3-di-P-glycerate og 3-p-glycerate producerer ATP:

$2x$ 1,3-di-P-glycerate + $2x$ ADP + $2x$ P ↔ $2x$ 3-p-glycerate + $2x$ ATP
vha. enzymet 3-phosphoglycerate kinase

Efter et par trin omdannes phosphoenolpyruvat til pyruvat ved produktion af ATP og katalyseret af enzymet pyruvatkinase:

$2x$ Phosphoenolpyruvat + $2x$ ADP + $2x$ P → $2x$ Pyruvat + $2x$ ATP

Slutvis omsættes 2 pyruvat til 2 laktat uden forbrug eller produktion af ATP og vha. enzymet laktat dehydrogenase.

Det samlede ATP-udbytte for den anaerob glykolyse med glykogen som udgangspunkt er +3ATP. (Til forskel fra den aerobe glykolyse, hvor ATP udbyttet er +2ATP og +2NADH)

2. Beregn, hvor mange sekunder en muskel kan arbejde anaerobt på sit glykogenlager, hvis dette lager er på 70 mmol/kg og musklens ATP-omsætnings-hastighed er 250 mmol·kg⁻¹·min⁻¹.

$$\frac{250 \frac{\text{mmol}}{\text{kg} \cdot \text{min}}}{70 \frac{\text{mmol}}{\text{kg}}} = \frac{1}{3,57 \text{ min}} = 0,28 \text{ min}$$

0,28 min omregnes til sekunder:

$$0,28 \cdot 60 \text{ sek} = 16,8 \text{ sekunder}$$

En muskel arbejder 16,8 sekunder anaerobt på sit glykogenlager.

3. Gør rede for den fuldstændige oxidation af laktat til CO₂ med angivelse af antal dannede NADH og FADH₂ samt det totale ATP-udbytte.

Processen, hvorved laktat kan oxideres fuldstændigt til CO₂, opdeles i 3 trin: Omdannelse af laktat til pyruvat, oxidation af pyruvat og videre oxidation af acetyl-CoA i TCA-cyklus:

1) Trin: Laktat + NAD⁺ ↔ Pyruvat + NADH + H⁺ katalyseret af laktat dehydrogenase

Trin 1 giver 1 NADH, svarende til 2,5 ATP.

2) Trin: Omdannelse af pyruvat til acetyl-CoA via pyruvatdehydrogenase kompleks. I denne reaktion indgår de prostetiske grupper TPP, Lipoat og FAD.



Trin 2 giver 1 NADH, svarende til 2,5 ATP.

3) Trin: Acetyl-CoA's oxidation i citronsyre-cyklus:



Trin 3 giver 3x 2,5ATP = 7,5 ATP (3xNADH), 1 FADH₂ = 1,5 ATP og 1 ATP. I alt giver trin 3 = 10 ATP.

Den fuldstændige oxidation af laktat til CO₂ giver 15 ATP.

Oral biokemi - opgave 3

a) I den anaerobe dentale plak (biofilm) kan nedbrydning af aminosyren arginin og decarboxylering af ornithin give anledning til reaktioner, som påvirker pH. Redegør for disse reaktioner, og angiv i hvilken retning dette kan påvirke pH i det omgivende miljø i plakken.

Arginin deaminase pathway (arginin nedbrydning) er basedannende og ATP dannende:

Arginin + H₂O → Citrulline + NH₃ (basedannende)

Citrulline + P → Ornithin + Carbamoyl-P

Carbamoyl-P + ADP + P → ATP + CO₂ + NH₃ (basedannende og ATP dannende)

Den heraf dannede ornithin kan nu decarboxyleres. Decarboxylering fremmes under sure forhold, for netop at modvirke surt pH. Dette opnås, idet decarboxylering fjerner syre gruppen, CO₂, så der netto dannes base.

Ornithin → Putrescin + CO₂

Altså kan det siges, at arginin nedbrydning samt decarboxylering af ornithin øger pH værdien altså i en basisk retning.

b) Ureaseaktivitet er relativt høj i den dentale plak. Angiv hvor denne enzymaktivitet stammer fra og i hvilken retning urea nedbrydning kan påvirke pH i det omgivende miljø i plakken.

Ureaseaktivitet er nedbrydning af urea, som opstår som følge af bakteriernes nedbrydning af de mange proteiner i plak, eksempelvis pellicel proteinerne, der stammer fra spyt. Nedbrydning af proteinerne er til fordel for bakteriernes egen vækst.

Urease reaktionen udtrykkes således:

Urea → 2 NH₃ + CO₂

Af ligningen kan det ses, at ved urease aktivitet dannes 2 ammoniak. Urea nedbrydning øger derfor pH.

c) Angiv navnet på 2 organiske syrer, som kan dannes ved anaerob nedbrydning af kulhydrat i den dentale plak.

Eddikesyre, smøresyre og myresyre. Disse organiske syrer dannes ved lavt sukker tilgængelighed.

Oral biokemi - opgave 4

Spyt har en række egenskaber og komponenter, der kan modvirke cariesudvikling.

a) Beskriv i korte træk, hvorledes spyt sandsynligvis begrænser det totale antal bakterier, der kan indgå i biofilmdannelse på emaljeoverfladen minutter til timer efter tanden er blevet rensset.

Minutter til timer efter tanden er blevet rensset, dannes pelliclen. Pelliclen er et polylag af spytproteiner (statherin og sure prolinrige proteiner), der giver pelliclen en negativ overflade. Da bakterierens overflade ligeledes er negativ, sker der en elektrostatisk frastødning, hvorved 90 % af den initiale kolonisering hæmmes. Heraf er spyt, med sit bidrag af proteiner, med til at hæmme bakteriekolonisation. Spyt vil desuden gennem oral clearance, fortynde bakterierne i mundhulen, som skylles væk med spyttet. Således indgår færre bakterier i biofilm dannelse.

b) Angiv 3 antimikrobielle organiske komponenter (proteiner) i spyt, som kan virke hæmmende på bakteriel vækst eller vedhæftning til den dannede biofilm.

1) sIgA = agglutinerer bakterier således de klumpes sammen og elimineres ved synkning. Dette forhindrer bakterieadhæsion.

2) Lactoferrin = hæmmer bakterievækst, ved at binde til jern, og dermed gør mindre jern tilgængeligt for bakterierne. Jern fungerer som næring for bakterier.

3) Lysozym = er mest rettet imod gram-positive bakterier, der har et tykt peptidoglykanlag i cellevæggen.

c) Beskriv hvorledes spyt kan modvirke demineralisering af emalje ved at begrænse pH fald under anaerob sukrosemetabolisme i biofilmen.

Spyt kan modvirke demineralisering af emalje ved 3 måder:

1) Spyttets buffersystemer, særligt bicarbonat bufferen, er med til at modvirke lavt pH. Bicarbonat bufferen fungerer ved, at H⁺ binder til

bicarbonat og danner kulsyre, som gennem spyttets kulsyreanhydrase spaltes til CO₂ og H₂O.

2) Spyttets oral sukker clearance, herved fortyndes sukker koncentrationen og mindre sukker er tilgængeligt for bakterierne, således bakterierne forhindres i at danne laktat, som fremmer demineralisering ved lavt pH.

3) Nitrogen metabolisme, som hydrolyse af urea er med til at begrænse pH fald. (se spørgsmål 3b for ureaseaktivitet)

d) Beskriv hvordan spyt efter endt syreproduktion i biofilmen kan bidrage til remineralisering af demineraliserede emaljeområder.

Spyttet vil, med sit indhold af fosfat- og calciumioner, medføre at den kritiske pH værdi sænkes, da denne er lavere, desto større koncentrationen af calcium og fosfat er. Dette har en fordel for remineralisering, idet der ikke skal et ligeså højt pH stigning, før pH værdien overskrider den kritiske pH værdi og når til remineralisering.