

Eksamen i biokemi - SODB16042E



36

08 juni 2023

Planlagt: 09:00 - 13:00

Eksamensnr: 36

Plads: ITXM-128

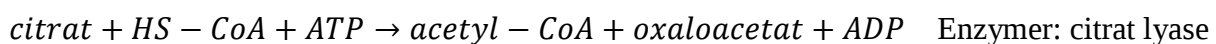
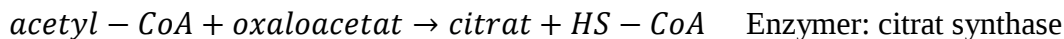
Side 1 af 10

Opgave 1 – Kolesterol og lipoproteiner

Kolesterol kan syntetiseres ud fra cytosolært acetyl-CoA.

- 1. Angiv med relevante enzymer og reaktionsligninger, hvordan cytosolært acetyl-CoA kan dannes ud fra mitokondrielt acetyl-CoA.**

- Mitokondrielt acetyl-CoA kommer af omdannelse fra pyruvat. Denne acetyl-CoA kan omdannes til cytosolært acetyl-CoA via citrat:



- På denne måde dannes cytosolært acetyl-CoA som kan bruges til at senere syntetisere kolesterol.
- 2. Angiv det hastighedsbegrænsende trin i kolesterolsyntesen, herunder enzymnavn, reaktanter og produkter samt hvorledes enzymet reguleres.**
 - Acetyl-CoA omdannes til beta-hydroxy-beta-methyl-glutaryl-CoA. Denne vil omdannes via enzymet hydroxymethylglutaryl-CoA reduktase til mevalonate, som kan videreomdannes til kolesterol:
$$\beta\text{-hydroxy-}\beta\text{-methyl-glutaryl-CoA} + 2 \text{NADPH} \rightarrow \text{mevalonat} + 2 \text{NADP}^+ + \text{HS-CoA}$$
$$\text{mevalonat} + 3 \text{ATP} \rightarrow \text{kolesterol} + 3 \text{ADP} + 3 \text{P}_i + \text{CO}_2$$
 - Det hastighedsbegrænsende trin i kolesterolsyntesen er NADPH, men også ATP, da disse er nødvendige for omdannelsen til kolesterol. Enzymet hæmmes allosterisk af kolesterol: negativ feedback.

Kolesterol kan ikke oxideres til CO₂.

- 3. Redegør for hvorledes kroppen kan skaffe sig af med kolesterol.**

- Kroppen kan selv danne kolesterol, men den kan ikke nedbryde det. Lipoproteinet HDL vil opsamle overskydende kolesterol fra perifært væv, hvor det vil omdannes til kolesterolstre ved hjælp af ACAT som er i HDL, og kolesterolstre kan transporteres inde i HDL. HDL sendes tilbage til lever, hvor den optages via endocytose. Noget af kolesterol kan også gives videre til LDL i blodbanen via LCAT enzymet på HDL, hvor LDL kan videregive kolesterolstre som er nødvendige i andre perifere væv. For at komme af med kolesterol vil lever optage indholdet i HDL, hvor kolesterol, vil blive fraseret og ført ud af kroppen via fæces.

Det antages, at syntese af kolesterol ud over acetyl-CoA og redoxcoenzymer tillige kræver 18 ATP.

- 4. Beregn hvor stor en del af den daglige ATP-produktion (sat til 100 mol), der går til syntese af 0,5 g kolesterol (molmasse 386 g/mol), og angiv om denne syntese udgør en væsentlig del af den daglige ATP-omsætning.**

$$\frac{0.5g}{386 \frac{g}{mol}} = 0.001295336788 \text{ mol}$$

$$(0.00129 \text{ mol}) * 18 \text{ ATP} = 0.02322 \text{ mol ATP}$$

$$\frac{0.0232 \text{ mol ATP}}{100 \text{ mol}} = 0.0002320000000 \text{ ATP}$$

- Kolesterol syntesen udgør en meget lille del, af den daglige ATP omsætning.

Kolesterol og triacylglycerol transporteres i blodet som lipoproteiner.

5. Gør rede for omsætningen af VLDL fra dannelse til endelig eliminering. Besvarelsen skal omfatte:

- **Opbygning**
 - **Oprindelsesvæv**
 - **Videreomsætning, herunder afledte lipoproteiner**
 - **Endelig eliminering fra blodet**
- VLDL (very low density lipoprotein) dannes i leveren. Den består udenpå af kolesterol, fosfolipider og protein B100. Indeni VLDL er der TAG, kolesterolstre og fedtopløselige vitaminer (K,E,D,A). VLDL føres fra lever og ud i blodet, hvor den får tilført APO C og B fra HDL, som også sidder på ydersiden af VLDL. VLDL når kapillærerne i fedtvæv og muskelvæv, hvor der i endothelet er forankret lipoproteinlipase (LPL), som binder til APO C. Dette muliggør, at LPL kan nedbryde TAG via hydrolyse til 3 FFA og glycerol. De tre FFA optages i fedtvæv eller muskelvæv, hvorimod glycerol sendes via blodet tilbage til leveren. VLDL bliver gjort mindre, og APO C frigives tilbage til HDL. Eftersom VLDL afgiver sit noget af sit indhold, og vil benævnes IDL (intermediær denisty lipoprotein). IDL vil sendes til leveren, hvor den genkendes af LDL receptor i leveren via APO B. De resterende 25% af IDL kan optages i perifært væv. Leveren vil nedbryde 50% af IDL, som den optager, og frigiver APO B til HDL. Det resterende IDL vil omdannes til LDL (low density lipoprotein). LDL kan cirkulere i blodet i dagevis. Den har et højt indhold har kolesterolstre. Denne skal med tiden gøres mindre, for at perifært væv kan optage den ved at binde til B100 ellers kan den nedbrydes af makrofager. Makrofagerne kan blive store pga optagelse af LDL og omdannes til skumceller, som kan give arteriosklerose med tiden.

Opgave 2 – Kroppens samlede ATP-omsætning

Under antagelse af at oxidation af NADH og FADH₂ i respirationskæden producerer henholdsvis 2,5 og 1,5 ATP, kan man beregne, at oxidation af glukose og palmitat giver henholdsvis 32 ATP og 106 ATP.:

Glukose $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{O}_2 \rightarrow 6 \text{CO}_2 + 6 \text{H}_2\text{O} + 32 \text{ATP}$

Palmitat $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2 + 23 \text{O}_2 \rightarrow 16 \text{CO}_2 + 16 \text{H}_2\text{O} + 106 \text{ATP}$

1. Angiv for glukose og palmitat, hvor store en andel af denne ATP, der kommer fra TCA-cyklus (citratcyklus).

- For palmitat dannes der 80 ATP i TCA cyklus, da der fra palmitat dannes 8 acetyl-CoA som kan indgå i TCA cyklus. En TCA cyklus giver 10 ATP.

$$\frac{80}{106} * 100\% = 75.5\%$$

Det betyder, at 75.5% af ATP produktionen fra oxidation palmitat kommer fra TCA cyklus.

- Fra 1 mol glukose dannes to mol acetyl-CoA, som begge indgår i TCA cyklus. Derfor dannes 20 ATP i TCA cyklus ud af de i alt 32 ATP fra oxidationen af glukose:

$$\frac{20}{32} * 100\% = 62.5\%$$

Det betyder, at 62.5% af ATP produktionen fra oxidation af glukose kommer fra TCA cyklus.

En voksen kvinde omsætter dagligt 70 g fedt, 210 g kulhydrat, 75 g protein og ingen alkohol.

2. Beregn kvindens daglige ATP-produktion, idet det antages, at al fedt er palmitat (molmasse 256 g/mol), al kulhydrat er polysakkarid (molmasse 162 g/mol glukoseenhed) og ATP-udbyttet for protein er 0,17 mol ATP/g.

$$\begin{array}{l}
 \frac{70 \text{ g}}{256 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \\
 \xrightarrow{\text{at 5 digits}} \\
 0.27 \text{ mol} \cdot 106 \text{ ATP} \\
 \\
 \frac{210 \text{ g}}{162 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \\
 \xrightarrow{\text{at 5 digits}} \\
 1.296 \text{ mol} \cdot 32 \text{ ATP} \\
 \\
 75 \text{ g} \cdot 0.17 \frac{\text{mol ATP}}{\text{g}} \\
 \\
 28.62 + 41.472 + 12.75 \\
 \\
 \hline
 82.842
 \end{array}$$

- Kvindens daglige ATP-produktion er 82.842 mol ATP.

Egentlig bør man benytte triacylglycerol som fedt i stedet for palmitat, men fejlen er ikke ret stor.

- Beregn ATP-udbyttet i mol ATP/g tripalmitoylglycerol (molmasse 806 g/mol), idet ATP-udbyttet for oxidation af glycerol er 18,5 ATP, og sammenlign værdien med det tilsvarende tal for palmitat.

- ATP-udbyttet i mol ATP/g tripalmitoylglycerol:

$$\begin{array}{l}
 \frac{18.5 \text{ ATP}}{806 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \\
 \\
 \hline
 0.02295285360 \frac{\text{mol ATP}}{\text{g}}
 \end{array}$$

- ATP-udbyttet i mol ATP/g for palmitat:

$$\frac{106 \text{ ATP}}{256 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}$$

at 5 digits →

$$\frac{53 \text{ mol ATP}}{128 \text{ g}}$$

$$\frac{0.41406 \text{ mol ATP}}{\text{g}}$$

- Det kan ses ud fra beregningerne at udbyttet for palmitat i ATP/g er større sammenlignet ved brug af tripalmitylglycerol.

4.

a) Beregn hvor meget ATP kvinden vil bruge på ureasyntese, hvis alt protein-N bliver til urea og ATP-forbruget til ureasyntesen er 4 ATP/urea. Det antages, at proteinet indeholder 16 % nitrogen og molmassen af nitrogen er 14 g/mol.

- 2 N svare til 1 mol urea. Jeg starter med at finde 16% af de 75g protein. Dernæst kan jeg udregne, hvor mange mol nitrogen der skal til for 1 mol urea. Til sidst udregner jeg ATP forbruget på ureasyntesen for alt protein N.

$$\frac{(75 \cdot 16)}{100}$$

$$12 \text{ g}$$

$$\frac{12 \text{ g}}{14 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}$$

at 5 digits →

$$\frac{6 \text{ mol}}{7}$$

$$0.85714 \text{ mol}$$

$$\frac{0.857 \text{ mol}}{2}$$

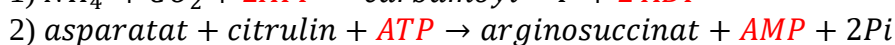
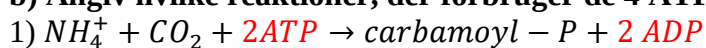
$$0.4285000000 \text{ mol}$$

$$0.43 \text{ mol} \cdot 4 \text{ ATP}$$

$$1.72 \text{ mol ATP}$$

- Når alt protein bliver til urea vil der bruges 1.72 mol ATP

b) Angiv hvilke reaktioner, der forbruger de 4 ATP.

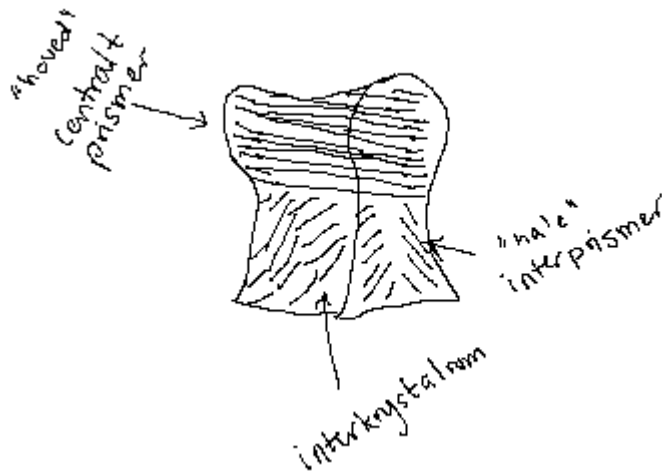


- I anden reaktion bliver $\text{ATP} \rightarrow \text{AMP}$, som svare til i alt et forbrug på 2 ATP. Derfor vil det i alt koste 4 ATP tilsammen.

Opgave 3

Biofilmdannelse på tandoverfladen og kritisk pH

1. **Beskriv i korte træk den ultrastrukturelle opbygning af tandemaljen, herunder dens kemiske sammensætning og angiv et eksempel på en hyppigt forekommende ionsubstitution.**
 - Tandemaljen består af 96% uorganisk materiale i form af hydroxyapatit, som har den kemiske formel $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, samt består tandemaljen af 4% organisk materiale, hvortil 3% er vand og de resterende 1% består af non amelogeniner: enamelin, ameloblastin og tuftelin.
 - En hydroxykrystal består af enhedsceller, som er den mindste strukturelle enhed, der beskriver den tredimensionelle opbygning af det givne minerals kemiske formel. Det er altså et teoretisk begreb. En enhedcelle i hydroxyapatit krystaller er rombeformet. Selve hydroxyapatit krystaller har en heksagonal struktur. Den første del af emaljen er aprismatisk og det samme er gældende for det yderste del af emaljen. Emaljen består yderligere af prismer og interprismer. Central består emaljen af prismer, som er tæt pakket og lejret parallelt i prismens longitudinelle akse. Interprismer vil afbøje med 65-70 grader fra prismerne. Her vil man også se interkrystalrummet, hvortil man har porevolumen som består af det organiske materiale.



- En hyppig ionsubstitution er med fluoridioner, hvor der er sket en demineralisering af emaljen, kan fluoridioner indgå i iongitteret under remineralisering. Dette er positivt, da fluorid er mere tungtopløseligt, og derfor også har en lavere kritisk pH, hvor der skal større syrepåvirkning til, før der sker demineralisering igen. Fluorid kommer fra eksterne kilder såsom tandpasta.
2. **Forklar hvordan der først dannes en pelikel og efterfølgende en biofilm på den rensede emaljeoverflade.**

- Efter at tanden er børstet ren, vil tandoverfladen have en negativ ladning grundet phosphationen, som vender udad. Til phosphationen vil positive calciumioner fra spytet blive tiltrukket, hvormed overfladen nu får en positiv ladning. Til den nu positive overflade tiltrækkes først negative spytproteinerne sure prolinrige proteiner og statheriner. Senere tiltrækkes MUC5B og histatin fra spytet. Yderligere vil der senere bindes flere spytproteiner såsom lysozymer, sIgA og peroxidase til pelliclen. Pelliclen er en tynd gelatinøs, proteinrig og bakteriefri struktur. Det består altså af et polylag af proteiner. Grundet dens negative ladning vil pelliclen frastøde 90% af bakterierne grundet hydrostatisk frastødningskræfter. Dog er det muligt for de resterende 10% af bakterier fra det gule kompleks at danne først en reversibel binding og dermed dannes en biofilm.
- De orale bakterier kan finde en balance mellem de hydrostatisk frastødningskræfter og Van der Waals kræfter, hvortil de har en afstand på 10nm fra tandoverfladen. Denne binding er svag og reversibel. Den kan med tiden blive stabiliseret ved at binde til calciumioner, samt binde til receptorer på proteinerne, hvorved der dannes en polymerbro. Denne binding er stærk og irreversibel. Efterhånden kan andre bakterier binde til de nedbundne bakterier via co-adhærence eller binde til hinanden uden at binde til en overflade via co-aggregation. Efterhånden dannes der ECM, som gør biofilmen mere stabil, og tykkere, hvorved levevilkårene for bakterier forbedres.

3. Redegør for hvad der forstås under begrebet kritisk pH med hensyn til hydroxylapatit (mht. HAp) og forklar hvorfor værdien for biofilmvæskens kritiske pH mht. HAp er lavere end spyttets.

- Den kritiske pH defineres ved at en opløsning er mættet, og mineralet er i ligevægt mellem dens faste form og dens opløselige vandige form. Det betyder at ionaktivitetsproduktet er lig med opløselighedsproduktet med hensyn til HAp: $I_{HAp} = K_{spHAp}$ og mætningsgrad = 1. En biofilm fungerer som et gelfilter og har ionbytter effekt. Det betyder, at ionerne kan opkoncentreres i biofilmen og tiltrækkes yderligere fra spytet. Derved vil ionaktivitetsproduktet stige, og den kritiske pH falde. Den kritiske pH i biofilm med hensyn til HAp er pH=5, hvorimod den kritiske pH i spyt er pH=5.5. Det betyder, at der skal større syrepåvirkning til, før pH falder under kritiske pH i biofilmen.

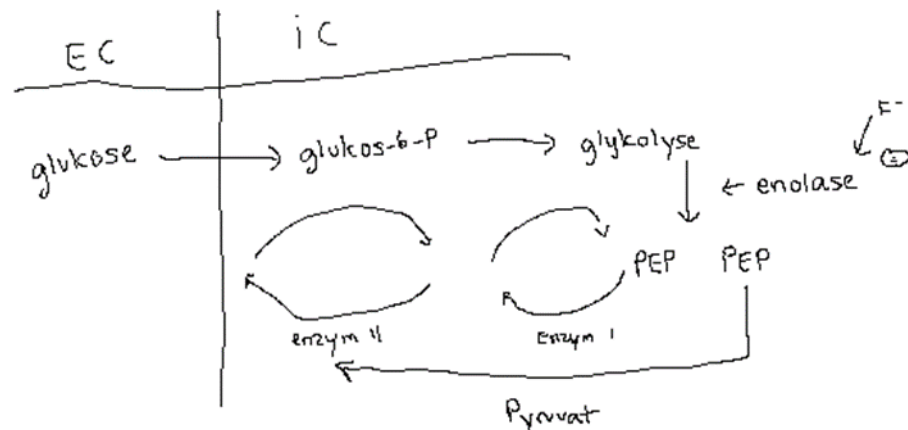
Opgave 4

Bakteriel glukoseoptagelse og anaerob glukosemetabolisme

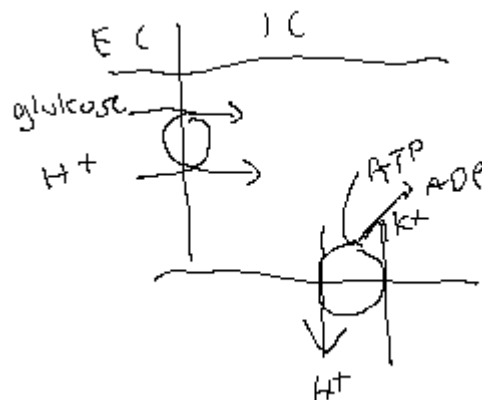
Bakterier i den anaerobe dentale biofilm kan benytte forskellige transportsystemer til optagelse af kulhydrater som eksempelvis glukose.

1. Redegør for to processer, som bakterier kan anvende til optagelse af glukose henholdsvis ved neutrale og sure pH-forhold i biofilmen.

- Ved neutral pH vil glukose optages via PTS (phosphotransportsystem). Her vil glukose transporteres ind og samtidigt blive phosphoryleret via enzymkompleks II. Denne fosfat kommer oprindeligt fra PEP. Glukose-6-P vil via glykolyse omdannes til to PEP, hvortil enzymet enolase er nødvendig for omdannelsen. Den ene PEP, får fjernet sin fosfat via et enzym og denne fosfat vil via enzymkompleks I føres videre til enzymkompleks II. Denne fosfat kan bruges til igen at påsættes på et nyt glukosemolekyle som transporteres ind. Det andet PEP kan omdannes til pyruvat, og indgå i metabolismen, hvortil der dannes energi.



- Ved sure pH forhold vil glukose transporteres ind via proton motive force (PMF). Dette transportsystem udnytter H^+ koncentration der er høj ekstracellulært og lav intracellulært, hvortil glukose kan via symport kan transporteres ind i cellen sammen med H^+ . For at bakterien ikke bliver for sure inden i, vil de aktivt pumpe H^+ ud via antiport med K^+ ind i cellen, som koster 1 ATP. Glukose kan dernæst indgå i bakteriens metabolisme.



2. Spyt kan levere fluoridioner (F^-) til den dentale biofilm. Forklar hvordan fluoridioner kan påvirke den bakterielle glukoseoptagelse.

- I PTS systemet kan fluorid binde til magnesium ioner, hvortil magnesium ikke er tilgængelig til at aktivere enolase, som omdanner glukosemolekylet under glykolysen til $2xPEP$. PEP koncentrationen falder, og kan ikke donere sit ene phosphorylation, som udnyttes af enzymkomplekserne til transport og phosphorylering af glukosemolekyler ind i cellen.
- I PMF kan fluorid binde til H^+ , og danne HF, hvorfor at koncentrationsgradienten af H^+ falder, som transportsystemet er afhængig af. Der vil derfor blive transporteret mindre glukose ind i cellen.

3. Nogle bakterier nedbryder glukose til organiske syrer som slutprodukter i den anaerobe biofilm. Beskriv hvilke syrer der hovedsageligt dannes ved henholdsvis overskud og underskud af glukose i biofilmen.

- Ved høj kulhydrattilgængelighed vil der ligeledes være høje koncentrationer af fructose-1,6-di-P og 3-P-glyceraldehyd. Fructose-1,6-di-P vil stimulere laktat dehydrogenasen, hvorfor pyruvat omdannes til laktat: $2 \text{ pyruvat} + 2 \text{ NADH} \rightleftharpoons 2 \text{ laktat} + 2 \text{ NAD}^+$. Laktat er 10 gange stærkere syre end andre lav molekylære syre. Yderligere vil 3-P-glyceraldehyd hæmme pyruvatformiatlyasen.
- Ved lav kulhydrattilgængelighed vil koncentrationer af fructose-1,6-di-P og 3-P-glyceraldehyd være lave, hvorfor at pyruvatformiatlyasen ikke er hæmmet. Der dannes 3 lav molekylære syre ved denne nedbrydelse, dog er disse organiske syre mindre stærke. Omdannelse til de tre organiske syre er hhv: formiat, acetat og ethanol. Denne reaktion høster 1 ekstra ATP:

