

Tentamen BIOCHEMIE

(MST-BCH-0708FWN dinsdag 29 januari 2008)

Enzymkinetiek en Signaaltransductie

- 1a Geef twee redenen waarom de snelheid v_0 van een enzymgekatalyseerde reactie $S \rightarrow P$ wordt gemeten op $t = 0$.
- 1b Hoe luidt de Michaelis-Menten (MM) vergelijking en wat is de betekenis van de verschillende symbolen in de vergelijking?
- 1c Voor twee reversibele remmers R_A en R_B geldt $K_i(R_A) > K_i(R_B)$. Wat is de sterkste remmer en waarom?
- 1d Schets (of leg uit in woorden) de grafiek van de MM vergelijking in afwezigheid en aanwezigheid van een irreversibele remmer.
- 1e Beschrijf kort de rol van het G-eiwit in de adrenaline-signaalcascade en gebruik daarbij de volgende woorden: (i) conformatie; (ii) stoichiometrisch of katalytisch; (iii) zelf-inactivering.

Citroenzuurcyclus en Bioenergetica

- 2a De citroenzuurcyclus is een redoxproces. Wat wordt er gereduceerd? Waarom wordt de citroenzuurcyclus gevoed met acetylCoA en niet met acetaat?
- 2b Welk enzym uit de citroenzuurcyclus is tegelijk een enzym uit de ademhalingsketen? Welk metaal bevat dit enzym?
- 2c Wat is de E^0 van de waterstofelectrode? En wat is de E'^0 van de waterstofelectrode?
- 2d In welk opzicht verschillen de optische spectra van NAD^+ en NADH ?
- 2e Teken de structuur van adenosine difosfaat (ADP). Als je dit niet kan, teken dan de schematische structuur.

Oxidatieve Fosforylering en Fotofosforylering

- 3a Noem de verschillende protonenpompende complexen van de ademhalingsketen. Welke van deze complexen lijkt sprekend op de protonpomp van de fotosynthese?
- 3b Wat wordt er geoxideerd en wat gereduceerd door de ademhalingsketen van mitochondriën? Wat wordt er geoxideerd en wat gereduceerd door de fotosynthese van chloroplasten?
- 3c Dinitrofenol ontkoppelt de oxidatieve fosforylering. Hoe?
- 3d Waarom hebben mensen het element koper nodig in hun voeding?
- 3e Gegevens $\Delta G^{\circ} = 30 \text{ kJ/mol}$ voor de synthese van ATP uit ADP en fosfaat; de faradayconstante $F = 96 \text{ kJ/V}\cdot\text{mol}$; $E^{\circ} = +15 \text{ mV}$ voor het koppel succinaat/fumaraat en $E^{\circ} = +830 \text{ mV}$ voor $\text{H}_2\text{O}/\text{O}_2$. Hoeveel moleculen ATP kan ik maken door de verbranding van één molecuul succinaat onder standaardcondities?

UITWERKING Tentamen BIOCHEMIE

(MST-BCH-0708FWN dinsdag 29 januari 2008)

Enzymkinetiek en Signaaltransductie

- 1a Geef twee redenen waarom de snelheid v_0 van een enzymgekatalyseerde reactie $S \rightarrow P$ wordt gemeten op $t = 0$.
(i) Als er nog geen product P is gevormd, hoeven we de terugreactie $P \rightarrow ES$ met reactieconstante k_{-2} niet mee te nemen in de afleiding van de MM vergelijking. (ii) Geen productremming
- 1b Hoe luidt de Michaelis-Menten (MM) vergelijking en wat is de betekenis van de verschillende symbolen in de vergelijking?
 $v_0 = (V_{max}[S]) / (K_M + [S])$ met v_0 is reactiesnelheid; V_{max} is maximale snelheid; $[S]$ is substraatconcentratie; K_M is Michaelis-Mentenconstante gedefinieerd als $K_M = (k_2 + k_{-1}) / k_1$ of $K_M = [S]$ waarvoor $v_0 = V_{max} / 2$.
- 1c Voor twee reversibele remmers R_A en R_B geldt $K_I(R_A) > K_I(R_B)$. Wat is de sterkste remmer en waarom?
 K_I is een dissociatieconstante; de kleinste constante geeft de beste binding en dus de beste remming. Bijvoorbeeld voor competitieve remmer: $\alpha = 1 + [I] / K_I$ en voor een bepaalde remmerconcentratie $[I]$ geeft een kleinere K_I een grotere α .
- 1d Schets (of leg uit in woorden) de grafiek van de MM vergelijking in afwezigheid en aanwezigheid van een irreversibele remmer.
Een irreversibele (=onomkeerbare) remmer neemt (een deel van) actief enzym weg. De MM grafiek wordt dus in zijn geheel lager: De waargenomen V_{max} neemt af.
- 1e Beschrijf kort de rol van het G-eiwit in de adrenaline-signaalcascade en gebruik daarbij de volgende woorden: (i) conformatie; (ii) stoichiometrisch of katalytisch; (iii) zelf-inactivering.
Adrenaline bindt aan transmembraanreceptor \rightarrow conformatieverandering receptor \rightarrow conformatieverandering G-eiwit (stoichiometrisch) \rightarrow K_D voor GDP neemt toe en K_D voor GTP neemt af \rightarrow GDP wordt vervangen door GTP; G-eiwit diffundeert langs membraan naar adenylate cyclase en activeert dit enzym (stoichiometrisch) \rightarrow AC maakt cAMP uit ATP (katalytisch); G-eiwit heeft (lage) intrinsieke GTP hydrolyseactiviteit waardoor na verloop van tijd GTP wordt omgezet in GDP en het G-eiwit is dan zelf-geinactiveerd.

Citroenzuurcyclus en Bioenergetica

- 2a De citroenzuurcyclus is een redoxproces. Wat wordt er gereduceerd? Waarom wordt de citroenzuurcyclus gevoed met acetylCoA en niet met acetaat?
(i) NAD^+ ; (ii) acetaat is niet reactief; thioestervorming met HS-CoA maakt het veel reactiever.
- 2b Welk enzym uit de citroenzuurcyclus is tegelijk een enzym uit de ademhalingsketen? Welk metaal bevat dit enzym?
(i) succinaatdehydrogenase of complex-II; (ii) Fe in ijzer-zwavel clusters.
- 2c Wat is de E^0 van de waterstofelectrode? En wat is de E'^0 van de waterstofelectrode?
 $E^0 \equiv 0.000$ Volt; $E'^0 \approx -0.414$ Volt (i.e bij pH 7, 25 °C en 1 atm druk).
- 2d In welk opzicht verschillen de optische spectra van NAD^+ en NADH?
NADH heeft een extra absorptieband in het nabije UV (bij 340 nm).
- 2e Teken de structuur van adenosine difosfaat (ADP). Als je dit niet kan, teken dan de schematische structuur.
Zie boek Lehninger.

Oxidatieve Fosforylering en Fotofosforylering

- 3a Noem de verschillende protonenpompende complexen van de ademhalingsketen. Welke van deze complexen lijkt sprekend op de protonpomp van de fotosynthese?
(i) Alleen complex I, III, and IV pompen protonen; (ii) Het complex III (bc_1 complex) heeft een equivalent in de fotosynthese (bf_6 complex).
- 3b Wat wordt er geoxideerd en wat gereduceerd door de ademhalingsketen van mitochondriën? Wat wordt er geoxideerd en wat gereduceerd door de fotosynthese van chloroplasten?
*Ademhalingsketen: NADH wordt geoxideerd en O_2 wordt gereduceerd;
Fotosynthese van chloroplasten: H_2O wordt geoxideerd en $NADP^+$ wordt gereduceerd.*
- 3c Dinitrofenol ontkoppelt de oxidatieve fosforylering. Hoe?
De $-OH$ groep kan makkelijk een proton afstaan. Dinitrofenolaat is negatief geladen en goed water-oplosbaar. Als het een proton opneemt wordt het ongeladen dinitrofenol. Dit kan door de membraan diffunderen en aan de andere kant in de waterfase weer dinitrofenolaat worden door een proton af te staan. Netto resultaat is protontransport over het membraan. DNP kan dus een protongradient vernietigen.
- 3d Waarom hebben mensen het element koper nodig in hun voeding?
In complex IV (cytochrom c oxidase) zit een Cu-Cu dimeer voor electrontransport en een Fe-Cu dimeer voor de $2 \times 2 e^-$ reductie van O_2 tot water.
- 3e Gegeven is $\Delta G'^0 = 30$ kJ/mol voor de synthese van ATP uit ADP en fosfaat; de faradayconstante $F = 96$ kJ/V·mol; $E'^0 = +15$ mV voor het koppel succinaat/fumaraat en $E'^0 = +830$ mV voor H_2O/O_2 . Hoeveel moleculen ATP kan ik maken door de verbranding van één molecuul succinaat onder standaardcondities?
*Succinaat is een organisch molecuul \rightarrow twee-electron oxidatie $\rightarrow n=2$;
 $\Delta G'^0 = -nF\Delta E'^0 = -2 \times 96 \times (0.830 - 0.015) = -156.5$ kJ/mol. Synthese van ATP kost 30 kJ/mol, dus we kunnen (bij 100% efficiency) $156.5/30 \approx 5.2$ ATP's maken.*