

4052BIOCH (W.R. Hagen)

Tentamen BIOCHEMIE voor MST2 op 26 oktober 2012 van 14 tot 17 uur

Plaats: Delft gebouw Technische Natuurkunde – Tentamenzaal 4.25

[weging: 16 deelvragen van gelijk gewicht]

Enzymkinetiek

- 1a Hoe luidt de Michaelis-Menten (MM) vergelijking en wat betekenen de symbolen in deze vergelijking? In welke eenheden worden de symbolen uitgedrukt?
- 1b Wat houdt de 'Steady State' aanname in MM kinetiek in? Beschrijf twee omstandigheden waaronder deze aanname niet geldt.
- 1c Als de oxidatie van ethanol door het enzym alcohol dehydrogenase wordt gekatalyseerd in aanwezigheid van 1-chloorethanol dan meten we een toename van de K_M terwijl de V_{max} niet verandert. Wat voor soort remmer is chloorethanol? Waarom? Welke gemodificeerde MM vergelijking beschrijft deze katalyse?
- 1d Wat is k_{cat} ? Is k_{cat} hetzelfde als k_2 ? Wat zijn de eenheden van k_{cat} ? Onder welke voorwaarde is de numerieke waarde van k_{cat} gelijk aan de activiteit uitgedrukt in internationale eenheden (μmol substraat omgezet per mg enzym per minuut)?

Signaaltransductie

- 2a Beschrijf de adrenaline cascade en geef voor elke stap aan of het een stoichiometrisch of een katalytisch proces betreft en of er sprake is van een conformatieverandering.
- 2b Wat is een Scatchard plot en wat wordt er met zo'n plot bepaald?
- 2c Beschrijf twee processen in de cel waarmee de door adrenaline aangezette signaaltransductie weer wordt uitgeschakeld.
- 2d Teken de structuur van cyclisch adenosine monofosfaat.

Katabolisme

- 3a De glycolyse bestaat uit een voorbereidingsfase (preparatory phase) en een oogstfase (pay-off phase). Wat wordt hiermee bedoeld? Wat is 'substrate-level phosphorylation'?
- 3b Beschrijf de rol van de [4Fe-4S] cubaancluster in (i) mitochondriaal aconitase en (ii) cytoplasmatisch aconitase.
- 3c De omzetting $\text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH} \rightarrow \text{HOOC-CH-CH-COOH}$ is een oxidatie gekatalyseerd door het enzym succinaatdehydrogenase (SDH). Wat doet SDH met de elektronen? Wat is het tweede substraat van SDH?
- 3d Teken de structuur van de redox-actieve nicotinamide base in NAD^+ en ook in NADH . Waarom heet de reductie van een stof door NADH een 'hydride transfer'?

Oxidatieve fosforylering

- 4a Wat wordt er netto in de oxidatieve fosforylering geoxideerd en wat gefosforyleerd? Welke van deze twee reacties stopt na toevoegen van de ontkoppelaar dinitrofenol en waarom?
- 4b De reactie van Fe(II) ionen in water met opgelost O_2 levert het superoxide anion radicaal $\text{O}_2^{\bullet-}$. Het enzym dat O_2 reduceert in mitochondriën heeft Fe in het actieve centrum. Hoe wordt vorming van zuurstofradicalen door dit enzym voorkomen?
- 4c Hoeveel moleculen ATP kunnen maximaal geproduceerd worden uit de reductie van één molecuul succinaat door ferrocytochroom c onder biochemische standaardcondities? Gegeven is: $E'^0(\text{succinaat/fumaraat}) = +31 \text{ mV}$; $E'^0(\text{ferrocytochroom c/ferricytochroom c}) = +280 \text{ mV}$; $\Delta G'^0(\text{ATP vorming}) = +31 \text{ kJ/mol}$; $F = 96 \text{ kJ/Vmol}$.
- 4d De fotosynthese van groene planten is afhankelijk van een enzym met een cluster van vier Mn(III/IV) ionen. Waarom vier? Schat de standaard redoxpotentialiaal van deze cluster en leg uit waarop je schatting is gebaseerd.

Einde.

4052BIOCH (W.R. Hagen)

Exam BIOCHEMISTRY for MST2 on October 26, 2012, 2-5 pm

Place: Delft, Applied Physics building – Exam room # 4.25

[rating: 4 × 4 equal-weight questions]

Enzym kinetics

- 1a Give the Michaelis-Menten (MM) equation. What do the symbols in this equation stand for? In what units are these symbols expressed?
- 1b What is the 'Steady State' assumption in MM kinetics? Describe two conditions under which this assumption does not hold.
- 1c When the oxidation of ethanol is catalyzed by the enzyme alcohol dehydrogenase in the presence of 1-chloroethanol, we measure an increase in the K_M while the V_{max} does not change. What kind of an inhibitor is chloroethanol? Why? What modified MM equation describes this catalysis?
- 1d What is k_{cat} ? Is k_{cat} identical to k_2 ? What are the units of k_{cat} ? Under what conditions is the numerical value of k_{cat} equal to the activity expressed in international units ($\mu\text{mole substrate converted per mg enzyme per minute}$)?

Signal transduction

- 2a Describe the adrenaline cascade and indicate for each step whether we are dealing with a stoichiometric or a catalytic process and whether a conformational change is involved.
- 2b What is a Scatchard plot and what can one determine from such a plot?
- 2c Describe two processes in the cell by which the signal transduction initiated by adrenaline is turned off.
- 2d Draw the structure of cyclic adenosine monophosphate.

Catabolism

- 3a Glycolysis consists of a preparatory phase and a pay-off phase. What does this mean? What is 'substrate-level phosphorylation'?
- 3b Describe the role of the [4Fe-4S] cubane cluster in (i) mitochondrial aconitase and (ii) cytoplasmic aconitase.
- 3c The conversion $\text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH} \rightarrow \text{HOOC-CH-CH-COOH}$ is an oxidation catalyzed by the enzyme succinate dehydrogenase (SDH). What does SDH do with the electrons? What is the second substrate of SDH?
- 3d Draw the structure of the redox-active nicotinamide base in NAD^+ and also in NADH. Why is the reduction of a compound by NADH called a 'hydride transfer'?

Oxidative phosphorylation

- 4a In oxidative phosphorylation what is – on balance – oxidized and what is phosphorylated? Which one of these reactions stops after addition of the uncoupler dinitrophenol and why?
- 4b The reaction of Fe(II) ions in water with dissolved O_2 affords the superoxide anion radical $\text{O}_2^{\bullet-}$. The enzyme that reduces O_2 in mitochondria has Fe in its active center. How is the formation of oxygen radicals by this enzyme avoided?
- 4c How many molecules of ATP can be maximally produced from the reduction of one molecule succinate by ferrocyanochrome c under biochemical standard conditions? Use: $E'^0(\text{succinate/fumarate}) = +31 \text{ mV}$; $E'^0(\text{ferrocyanochrome c/ferricytochrome c}) = +280 \text{ mV}$; $\Delta G'^0(\text{ATP formation}) = +31 \text{ kJ/mole}$; $F = 96 \text{ kJ/Vmole}$.
- 4d The photosynthesis of green plants is dependent on an enzyme that contains a cluster of four Mn(III/IV) ions. Why four? Make an estimate of the standard reduction potential of this cluster, and explain what your estimate is based on.

End.