

Tentamen Biochemie, onderdeel Abrahams, 2e jaar MST, 26-09-2014

1. Tijdens fotosynthese ontstaat O_2 . Uit welke grondstof(fen) wordt dit O_2 gevormd? De reactie vereist energie. Hoeveel moleculen ATP worden door het thylakoïde membraan gehydrolyseerd voor de synthese van een molecuul O_2 ?
2. Uit welke twee substraten wordt ATP door het ATP synthase van de mitochondria gesynthetiseerd? Hoe komen deze substraten het mitochondrion binnen en hoe komt het ATP daar waar het nodig is: het cytoplasma?
3. Welke rol spelen kinases en phosphatasen in de meeste cellulaire regulatieprocessen?
4. Wat is het verschil tussen een stamcel en een tumorcel?
5. Een van de behandelingen die nu wordt uitgetoet om de uitbraak van het Ebolavirus onder controle te krijgen, maakt gebruik van plasma van patiënten die van deze ziekte zijn genezen. Leg het moleculaire mechanisme van deze (mogelijke) therapie kort uit.

Tentamen deel-2 (Hagen)

V-1. In de productie van ethanol uit glucose maakt gist gebruik van cofactor regeneratie. Leg kort uit wat hiermee wordt bedoeld.

De vorming van GTP in de citroenzuurcyclus is een vorm van 'substrate level phosphorylation'. Leg kort uit wat hiermee wordt bedoeld.

V-2. Geef de structuur van NAD^+ en van NADH .

V-3. Het enzym aconitase zet citraat om in iso-citraat. Beschrijf de rol van de $[\text{4Fe-4S}]$ cubaan in de katalytische reactie.

V-4. De koper-heem dinucleaire cluster in complex IV van de ademhalingsketen is een schakelkastje. Wat wordt hiermee bedoeld? Welke reacties worden door deze cluster gekatalyseerd?

V-5. Voor de synthese $\text{ADP} + \text{P}_i \rightarrow \text{ATP} + \text{H}_2\text{O}$ geldt $\Delta G'^0 = +31 \text{ kJ/mol}$.

De Faraday constante is $F = 96,5 \text{ kJ/(V}\cdot\text{mol)}$.

Hoeveel mol ATP kan een cel onder standaardcondities ongeveer maken uit de oxidatie van 1 mol NADH met zuurstof?

Waarom wordt onder fysiologische condities een veel lagere waarde gevonden?

Tentamen Biochemie, onderdeel Abrahams, 2e jaar MST, 26-09-2014

Antwoorden

1. Tijdens fotosynthese ontstaat O_2 . Uit welke grondstof(fen) wordt dit O_2 gevormd? De reactie vereist energie. Hoeveel moleculen ATP worden door het thylakoïde membraan gehydrolyseerd voor de synthese van een molecuul O_2 ?
Het O_2 wordt uit H_2O gevormd. De energie die nodig is voor het splitsen van H_2O wordt geleverd door fotonen. Er wordt geen ATP gehydrolyseerd.
2. Uit welke twee substraten wordt ATP door het ATP synthase van de mitochondria gesynthetiseerd? Hoe komen deze substraten het mitochondrion binnen en hoe komt het ATP daar waar het nodig is: het cytoplasma?
ATP wordt gevormd uit ADP en fosfaat. ADP uit het cytoplasma en ATP uit de mitochondriale matrix worden door een transporteiwit tegen elkaar uitgewisseld (een antiporter). Beide moleculen bewegen hierbij met de gradiënt mee. Ook het fosfaat wordt middels een antiporter de mitochondriale matrix ingetransporteerd
3. Welke rol spelen kinases en fosphatases in de meeste cellulaire regulatieprocessen?
Kinases kunnen worden geactiveerd, waardoor ze substraten fosforileren die weer andere processen kunnen activeren. Fosphatases verwijderen de fosfaatgroepen weer wanneer een signaalcascade moet worden gedempt.
4. Wat is het verschil tussen een stamcel en een tumorcel?
Deling van een tumorcel leidt tot het ontstaan van twee tumorcellen, terwijl deling van een stamcel over het algemeen leidt tot het ontstaan van een nieuwe stamcel en een meer gedifferentieerde cel.
5. Een van de behandelingen die nu wordt uitgetoetst om de uitbraak van het Ebolavirus onder controle te krijgen, maakt gebruik van plasma van patiënten die van deze ziekte zijn genezen. Leg het moleculaire mechanisme van deze (mogelijke) therapie kort uit.
In het plasma van genezen patiënten zullen antilichamen aanwezig zijn die specifieke non-covalente intercaties kunnen aangaan met eiwitten aan de buitenzijde van het Ebolavirus die verantwoordelijk zijn voor het binnendringen van het Ebolavirus in cellen. Door met dit proces te interfereren zullen er minder cellen worden geïnfecteerd (passieve immuniteit). Daarnaast kunnen er IgM antilichamen aanwezig zijn in het

plasma van genezen patiënten die zich specifiek aan virus-geïnfecteerde cellen kunnen hechten, en zo het complement systeem kunnen activeren. Het complement systeem kan dan deze geïnfecteerde cellen middels het 'Membrane Attack Complex' aanvallen en doden.

ANTWOORDEN tentamen deel-2 (Hagen)

V-1. In de productie van ethanol uit glucose maakt gist gebruik van cofactor regeneratie. Leg kort uit wat hiermee wordt bedoeld.

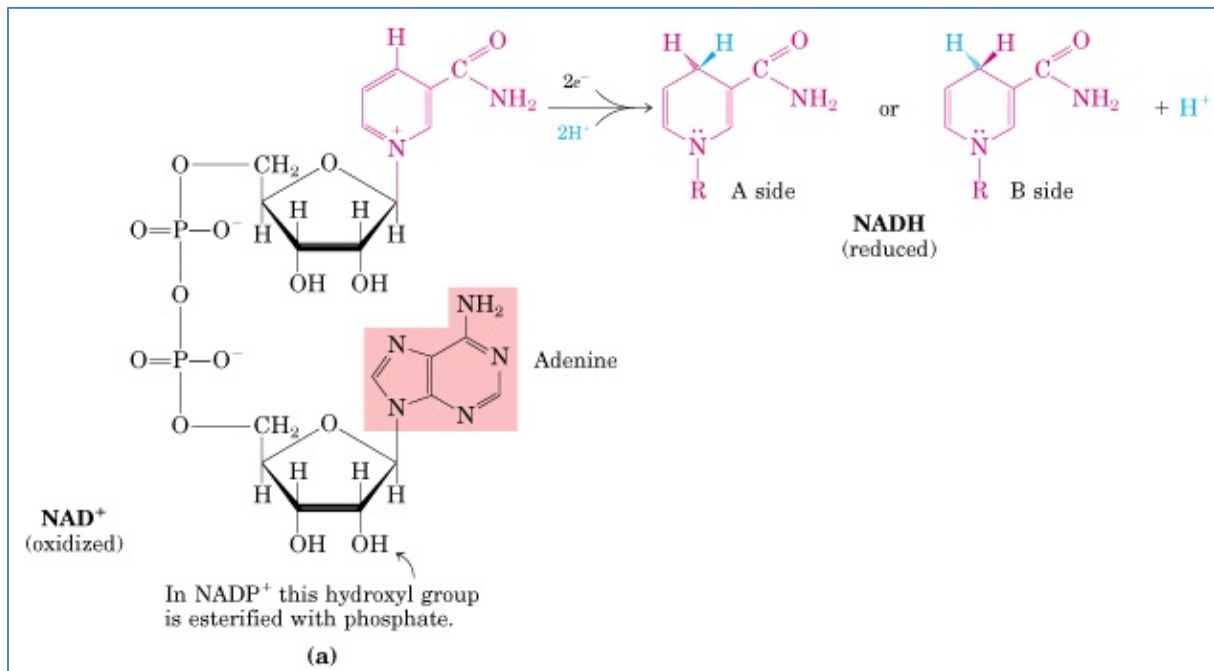
De vorming van GTP in de citroenzuurcyclus is een vorm van 'substrate level phosphorylation'. Leg kort uit wat hiermee wordt bedoeld.

A-1. Cofactor regeneratie slaat meestal op het terugwinnen van NAD(P)H uit NAD(P)⁺ of NAD(P)⁺ uit NAD(P)H. In de glycolyse (glucose naar pyruvaat) wordt in de 6^e stap NADH gevormd uit NAD⁺. Om bij afwezigheid van zuurstof uitputting van NAD⁺ (en daarmee het stoppen van de glycolyse) te voorkomen wordt vervolgens pyruvaat via acetaldehyde gereduceerd naar ethanol en in deze laatste stap wordt NADH geoxideerd naar NAD⁺.

Substrate level phosphorylation is de vorming van XTP uit XDP en P_i zonder gebruik te maken van een protonengradiënt.

V-2. Geef de structuur van NAD⁺ en van NADH.

A-2:



V-3. Het enzym aconitase zet citraat om in iso-citraat. Beschrijf de rol van de [4Fe-4S] cubaan in de katalytische reactie.

A-3. Iedere Fe is gebonden aan 3 S²⁻ van de cluster. 3 van de 4 Fe zijn bovendien gebonden aan de thiolaatzijgroep van cysteines in het aconitase enzym. De 4^e Fe werkt als Lewiszuurkatalysator. Deze Fe coordineert zuurstof van 1 van de twee equivalente -CH₂COO⁻ groepen waardoor het pro-chirale citraat chiraal wordt. De 4^e Fe coordineert bovendien zuurstof van de -OH groep. Deze -OH wordt samen met een -H op het naastliggende C onttrokken als water (vorming van C=C). Na een conformatieverandering van het aconitase wordt het watermolecuul weer geaddeerd maar nu komt de -OH aan de naastliggende C: iso-citraat.

V-4. De koper-heem dinucleaire cluster in complex IV van de ademhalingsketen is een schakelkastje. Wat wordt hiermee bedoeld? Welke reacties worden door deze cluster gekatalyseerd?

A-4. Cu^{2+} en heem- Fe^{3+} kunnen ieder 1 electron opnemen onder vorming van Cu^{1+} en heem- Fe^{2+} . Deze electronen komen via cytochroom c één voor één het complex IV binnen. Na oplading van de dinucleaire cluster met 2 electronen wordt O_2 gebonden en met 2 H^+ omgezet in H_2O_2 dat sterk gebonden blijft aan de cluster. Na collectie van weer 1 + 1 electronen wordt het H_2O_2 met nog 2 H^+ verder gereduceerd tot $2\text{H}_2\text{O}$. De dinucleaire cluster werkt dus als een schakelkastje waarin tweemaal 1 + 1 electron doorgegeven wordt als een electronenpaar.

V-5. Voor de synthese $\text{ADP} + \text{Pi} \rightarrow \text{ATP} + \text{H}_2\text{O}$ geldt $\Delta G'^0 = +31 \text{ kJ/mol}$.

De Faraday constante is $F = 96,5 \text{ kJ}/(\text{V}\cdot\text{mol})$.

Hoeveel mol ATP kan een cel onder standaardcondities ongeveer maken uit de oxidatie van 1 mol NADH met zuurstof?

Waarom wordt onder fysiologische condities een veel lagere waarde gevonden?

A-5. Voor redoxreacties geldt: $\Delta G'^0 = -n F \Delta E'^0$. Let op: de laatste Δ slaat op een *verschil* in standaardreductiepotentiaal van twee koppels.

$$E'^0 (\text{NADH}/\text{NAD}^+) = -0.320 \text{ V}$$

$$E'^0 (\text{H}_2\text{O}/\text{O}_2) = +0.830 \text{ V}$$

Gerefereerd wordt in de vraag naar 1 mol NADH; dus $n = 2$

$$\Delta G'^0 = -2 \cdot 96,5 \cdot (+0.830 - -0.320) \approx -220 \text{ kJ/mol}$$

$$|\sim -220 / +31| \approx 7 \text{ ATP}$$

Onder fysiologische condities zijn de concentraties niet 1 M dus moeten we werken met $\Delta G = \Delta G'^0 + RT \ln (K_{\text{eq}})$. Het belangrijkste effect is een lagere stoichiometrie van ATP-vorming per NADH-oxidatie.