

Hertentamen Biochemie, onderdeel Abrahams, 2e jaar MST, 7-11-2014

- Beantwoord de vragen in Nederlands of Engels.
 - Gebruik Nederlands of Engels voor technische termen.
 - Geef een beknopt antwoord in ongeveer drie tot vijf zinnen.
 - Elke vraag levert een punt op
1. Leg kort uit hoe besmetting met een retrovirus ertoe kan leiden dat tumoren ontstaan.
 2. Leg kort het principe van de P-type ionenpompen uit. Schets de diverse stadia van de pomp.
 3. Waartoe dienen de variabele domeinen van anti-lichamen?
 4. Leg aan de hand van een schets kort uit waarom Okazaki-fragmenten wel op de 'lagging strand', maar niet op de 'leading strand' voorkomen.
 5. Leg kort uit hoe het kan dat twee cellen totaal verschillende eigenschappen kunnen hebben, ondanks dat de nucleotidevolgorde van hun DNA volstrekt identiek is (denk bijvoorbeeld aan een darmcel en een spiercel van een en hetzelfde individu).

Tentamen Biochemie, onderdeel Abrahams, 2e jaar MST, 7-11-2014 Antwoorden

- Leg kort uit hoe besmetting met een retrovirus ertoe kan leiden dat tumoren ontstaan.

Een retrovirus inserteert zichzelf in het chromosomale DNA van de gastheercel. Wanneer het virus toevallig midden in een gen voor een tumorsuppressor-eiwit terecht gekomen is zal dit tumorsuppressor-eiwit niet meer gemaakt worden. Verlaging van de activiteit of concentratie van een tumorsuppressor-eiwit verhoogt de kans op het ontstaan van tumoren.

- Leg kort het principe van de P-type ionenpompen uit. Schets de diverse stadia van de pomp.

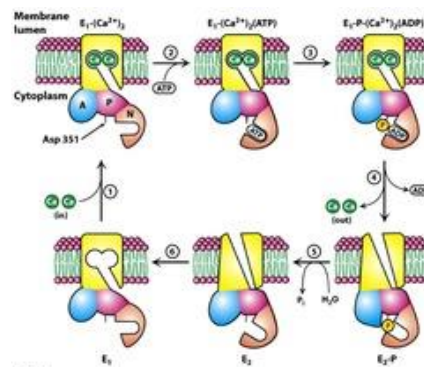
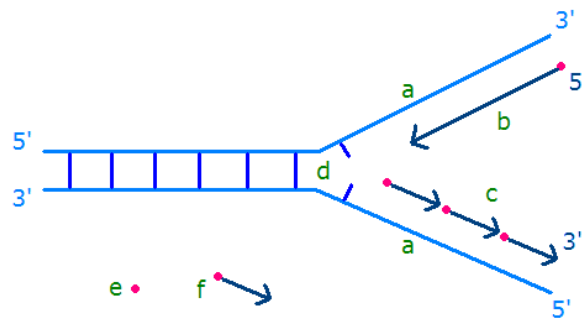


Figure 19-3
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

(i) Ionen binden vanuit cytoplasma, (ii) ATP bindt N-domein, (iii) ATP fosforyleert P-domein, (iv) ADP dissocieert weg, kanaal sluit aan binnenzijde membraan en opent aan extracellulaire zijde, ionen diffunderen naar buiten, (v) P-domein deforforyleert, (vi) kanaal sluit zich aan buenzijde en opent zich aan binnenzijde.

- Waartoe dienen de variabele domeinen van anti-lichamen?
Hier worden de antigenen gebonden. De variable domeinen bepalen de specificiteit van het antilichaam.
- Leg kort uit waarom Okazaki-fragmenten wel op de 'lagging strand', maar niet op de 'leading strand' voorkomen.



DNA wordt uitsluitend van 5' naar 3' wordt gesynthetiseerd. De leading strand smelt uit van 3' naar 5', dus de aangroeiende DNA keten kan op deze strand van 5' naar 3' kant worden gekopieerd. Echter, de 'lagging strand smelt uit van 5' naar 5', en hier moet het DNA dus steeds in kleine stukjes (de Okazaki-fragmenten) worden gesynthetiseerd. Omdat DNA synthas, anders dan DNA-afhankelijk RNA synthase, altijd een RNA primer nodig heeft, alvorens te starten, worden de Okazaki-fragmenten voorafgegaan door een korte RNA primer.

5. Leg kort uit hoe het kan dat twee cellen totaal verschillende eigenschappen kunnen hebben, ondanks dat de nucleotidevolgorde van hun DNA volstrekt identiek is (denk bijvoorbeeld aan een darmcel en een spiercel van een en hetzelfde individu).
In de twee celtypen zijn andere genen geactiveerd. Genen die in het heterochromotine (gecondenseerd DNA) liggen, zullen niet actief worden overgeschreven naar mRNA. Door de condensatie van DNA te reguleren, kunnen cellen differentieren.

Geef de Michaelis-Menten vergelijking voor de reactie $S \rightarrow P$ gekatalyseerd door enzym E in aanwezigheid van een on-competitieve remmer I . Wat betekenen de symbolen in deze vergelijking?

$$v_0 = \frac{v_{max}[S]}{K_M + \alpha'[S]} \quad K_M = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} \quad \alpha' = 1 + \frac{[I]}{K_I} \quad K_I = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$

Een ATP-hydrolyserend enzym bindt het substraat ATP met behulp van de zijketens van een serine ($R-CH_2-OH$) en een glutamaat ($R-CH_2-CH_2COOH$). Teken de structuur van ATP en geef aan hoe het ion Mg^{2+} het enzym en het substraat mogelijk verbindt.

Het enzym succinaat dehydrogenase bevat o.a. een flavine en een $[4Fe-4S]$ cubaan. Wat is de functie van de flavine en wat is de functie van de cubaan?

Geef kort antwoord op de volgende vragen: wat is een protonengradiënt; wat is het doel/nut van een protonengradiënt; wat is de moleculaire basis van een protonengradiënt (i.e. hoe maakt een ademhalingsketencomplex een protonengradiënt)?

Wat wordt er in de fotosynthese van planten netto geoxydeerd en wat wordt er netto gereduceerd? Wat is de rol van mangaan in dit proces?

ANSWERS re-exam Biochemistry (Hagen) MST-2, 07-Nov-2014

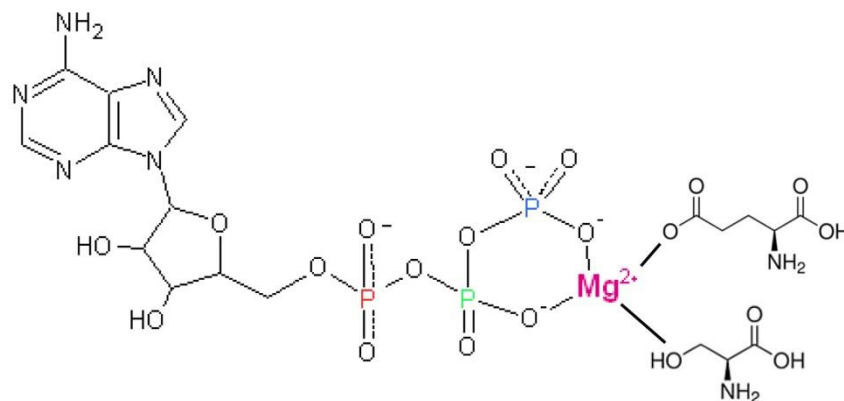
Give the Michaelis-Menten equation for the reaction $S \rightarrow P$ catalyzed by enzyme E in the presence of un-competitive inhibitor I . What is the meaning of the symbols in this equation?

$$v_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_M + \alpha'[S]} \quad K_M = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} \quad \alpha' = 1 + \frac{[I]}{K_I} \quad K_I = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$

v_0 is initial rate ($t=0$); V_{max} is maximal rate ($[S] \rightarrow \infty$); $[S]$ is substrate concentration; K_M is MM constant ($K_M = [S]$ if $v_0 = V_{max}/2$); k_i are individual reaction-rate constants; α' is inhibition constant for an UN-competitive inhibitor; $[I]$ is inhibitor concentration; K_I is dissociation constant of the ESI complex.

An ATP-hydrolysing enzyme binds the substrate ATP with the aid of the side chains of a serine ($R-CH_2-OH$) and a glutamate ($R-CH_2-CH_2COOH$). Draw the structure of ATP and indicate how the ion Mg^{2+} could bind the enzyme and the substrate together.

For example:



The enzyme succinate dehydrogenase contains (among other things) a flavin and a [4Fe-4S] cubane. What is the role of the flavin and what is the role of the cubane?

Succinate dehydrogenase is both an enzyme in the citric acid cycle and a complex (complex II) in the respiratory chain. Flavin is (in) the active center; it oxidizes the substrate, succinate (into fumarate), and thus it takes up 2 reduction equivalents. The 'switch box' flavin passes the 2 electrons 1 by 1 to the metal centers in the enzyme. The cubane is 1 of these metal centers and therefore has as only function the transfer of 1 electron ('wire'). Complex II is not a transmembrane protein and

therefore cannot pump protons. The electrons are eventually transferred 1 by 1 to coenzyme Q₁₀.

Give a brief answer to the following questions: what is a proton gradient; what is the goal/use of a proton gradient; what is the molecular basis of a proton gradient (i.e. how does a respiratory-chain complex make a proton gradient)?

(i) A proton gradient is an H⁺ concentration difference over a membrane;
(ii) A proton gradient is an intermediate form of energy storage; it makes it possible to eventually use energy, which is released in redox reactions by the respiratory chain, for the energy-requiring, non-redox condensation reaction (ADP + P_i → ATP + H₂O) of the ATP synthase.
(iii) Reduction of a redox group is frequently associated with the take-up of protons (pK_a(OX) << pK_a(RED)). For the build-up of a proton gradient over the (mitochondrial inner)membrane a chain of metal centers is required with a typical distance of circa 10 Å between two centers. This distance warrants an electron to move sufficiently fast from a center to the next center. Concomitantly a proton moves along via (de)protonatable side chains of amino acids in between the centers (= a proton channel). At the end of the chain of centers in a respiratory-chain complex the proton leaves the membrane and enters the water phase; the electron moves along to the next complex.

Overall, in the photosynthesis of plants: what is oxidized and what is reduced? What is the role of manganese in this process?

H₂O is oxidized to O₂.

NAD(P)⁺ is reduced to NAD(P)H

(alternatively: CO₂ is reduced to sugar)

Mn₄Ca is a switch box for 4e⁻ → e⁻+e⁻+e⁻+e⁻. There are 4 Mn(III/IV) in the oxygen evolving complex: the oxidation of H₂O affords 4 electrons; these are transferred 1 by 1 to the reaction center (photosystem II).