

manan.dk

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Syge-og reeksamen i Biokemi (4 timer)

Januar 2003

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Enzymer

Besvarelsen skal omfatte:

1. Definitionen af et enzym samt en kortfattet beskrivelse af de energetiske forhold ved en enzymkatalyseret reaktion sammenlignet med en tilsvarende ukatalyseret reaktion (20%).
2. En beskrivelse af sammenhængen mellem substratkoncentration og reaktionshastighed for enzymer, der følger Michaelis-Menten kinetik og for enzymer, der udviser positiv kooperativitet. Endvidere ønskes en definitionen af K_m og V_{max} for Michaelis-Menten enzymer, samt en beskrivelse af disse parametres betydning (40%).
3. En redegørelse for følgende mekanismer, der kan regulere enzymeres aktivitet:
 - A) Allosteri.
 - B) Covalent modifikation.
 - C) Regulation af enzyemmængde.

For hver af ovennævnte mekanismer ønskes angivet et eksempel fra glykolysen samt en beskrivelse af den stofskiftemæssige betydning af den pågældende mekanisme (40 %).

Problemløsningsopgave 1

En sjælden arvelig sygdom skyldes mangel på enzymet adenosin deaminase i lymphocytter, som katalyserer den hydrolytiske deaminering af adenosin til inosin.

1. Opskriv med angivelse af stofnavne en reaktionsligning for omdannelsen af adenosin til inosin (25%).

Ved måling af adenosin deaminase aktiviteten i lymphocytter anvendes et spektrofotometrisk assay baseret på forskellen i den molære absorptionskoefficient ved 260 nm mellem substratet adenosin og produktet inosin. I en kuvette (lysvej 1 cm) blandes 945 μl buffer, pH 7.0 og 50 μl 1 mM adenosin. Til tiden 0 min startes reaktionen ved tilsætning af 5 μl lymphocyt ekstrakt, der indeholder 5 mg protein per ml. Reaktionsblandingsens absorbans ved 260 nm aflæses herefter til de i tabellen angivne tider:

Tid (min)	0	2	4	6	12	24	60	120
A_{260}	0.750	0.720	0.690	0.660	0.570	0.440	0.375	0.375

Den molære absorptionskoefficient ved 260 nm er $15000 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ for adenosin og $7500 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ for inosin.

2. Beregn den specifikke adenosin deaminase aktivitet ($\mu\text{mol} \times \text{min}^{-1} \times (\text{mg protein})^{-1}$) i lymphocyt ekstraktet (50%).

Mangel på adenosin deaminase fører til et nedsat immunforsvar p.g.a. et defekt immunsystem. Adenosin deaminase katalyserer også omsætningen af deoxyadenosin til deoxyinosin. Nedsat katabolisme af deoxyadenosin fører til overproduktion af dATP, som hæmmer ribonukleotid reductase. Man mener derfor, at det nedsatte immunforsvar kan skyldes mangelfuld deoxyribonukleotid syntese og dermed nedsat DNA syntese, som fører til nedsat replikation af blodets lymphocytter.

3. Beskriv reaktionen katalyseret af ribonukleotid reductase med opskrivning af en reaktionsligning og angiv reaktionens betydning for DNA syntesen (25%).

Problemløsningsopgave 2

Glucose oplagres som glykogen i musklen, hvorfra det mobiliseres igen under muskelarbejde.

1. Opskriv delreaktionerne samt nettoligningen for omdannelsen af glucose-6-phosphat til glykogen og for omdannelsen af glykogen til glucose-6-phosphat (40%).
2. Beregn energiforbruget ved den samlede proces, hvor glucose-6-phosphat omdannes til glykogen og tilbage til glucose-6-phosphat, udtrykt i form af energirige phosphatbindinger (ATP ækvivalenter) (30%).
3. Beregn ATP udbyttet for glucoses forbrænding til laktat via glykogen deponering i procent af det udbytte, der opnås ved den direkte forbrænding af glucose til laktat i musklen (30%).

Problemløsningsopgave 3

ΔG° for reaktionen: $\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \Rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i = -30.5 \text{ kJ/mol}$.

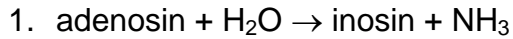
1. Beregn $\Delta G'$ for reaktionen ved 25 °C og pH 7, når $[\text{ATP}] = 5 \text{ mM}$, $[\text{ADP}] = 0.5 \text{ mM}$ og $[\text{P}_i] = 1.0 \text{ mM}$ (50%).

Phosphocreatin udgør et energilager i muskelceller.

2. Beregn $[\text{phosphocreatin}]/[\text{creatin}]$ ratio ved ligevægt i creatin kinase reaktionen ved ovennævnte temperatur, pH og koncentrationer af ATP og ADP, når ΔG° for creatin kinase reaktion forløbende mod dannelse af phosphocreatin = 2.3 kJ/mol (50%).

Facitliste

Opgave 1.



$$2. A = \varepsilon_{\text{adenosin}} \times [\text{adenosin}] + \varepsilon_{\text{inosin}} \times [\text{inosin}] = 15000 \times [\text{adenosin}] + 7500 \times [\text{inosin}] = 15000 \times (0.05 \times 10^{-3} - [\text{inosin}]) + 7500 \times [\text{inosin}] = 0.75 - 7500 \times [\text{inosin}]$$

$$\Delta A/\text{min} = 7500 \times \Delta[\text{inosin}]/\text{min} = 0.015 \times \text{min}^{-1}$$

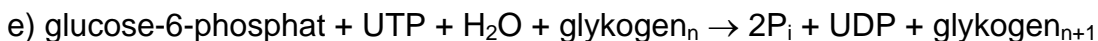
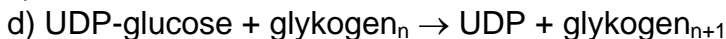
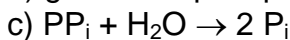
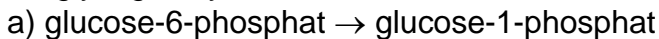
$$v_0 = 0.015/7500 = 2 \times 10^{-6} \text{ M} \times \text{min}^{-1} = 2 \times 10^{-3} \mu\text{mol} \times \text{min}^{-1} \times \text{ml}^{-1} = 2 \times 10^{-3} / (25 \times 10^{-3}) = 0.08 \mu\text{mol} \times \text{min}^{-1} \times \text{mg}^{-1}$$



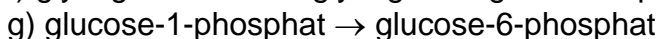
som viser nettoligningen for omdannelsen af ADP til dADP. Ribonukleotid reduktase katalyserer dannelsen af deoxyribonukleotider til DNA syntese.

Opgave 2.

1. glykogen syntese:



glykogen nedbrydning:



2. samlet fås (e + h):



3. 50%

Opgave 3.

1. $\Delta G' = \Delta G^{\circ'} + RT \ln([ADP] \times [P_i] / [ATP]) = !30.5 !22.8 = !53.3 \text{ kJ/mol.}$

$\Delta G^{\circ'} = 2.3 \text{ kJ/mol} \Rightarrow K_{\text{eq}} = 0.4. [\text{phosphocreatin}] / [\text{creatin}] = K_{\text{eq}}' \times [ATP] / [ADP] = 4.$

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Ordinær eksamen i Biokemi (4 timer)

December 2002

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Acetyl-CoA (acetyl coenzym A)

Besvarelsen skal omfatte:

1. En beskrivelse af de reaktioner, der har acetyl-CoA som produkt, herunder en angivelse af reaktionernes intracellulære lokalisation og den stofskifte-sammenhæng, reaktionerne indgår i (30%).
2. En beskrivelse af de reaktioner, der har acetyl-CoA som substrat, herunder deres placering i stofskiftet og en angivelse af deres intracellulære lokalisation (30%).
3. En redegørelse for de mekanismer, der regulerer acetyl-CoA's omsætning i leveren under faste og efter indtagelse af et kulhydratrigt måltid (40%).

Problemløsningsopgave 1.

Fructose intolerance er en sjælden arvelig, recessiv sygdom, som skyldes en defekt i genet, der koder for et enzym i omsætningen af fructose-1-phosphat.

1. Angiv navnet på det defekte enzym ved fructose intolerance og opskriv ligningen for reaktionen, det katalyserer (40%).

Symptomerne for patienter ved indtagelse af fructose er bl.a. kvalme og opkastninger. Ubehandlet kan sygdommen på længere sigt medføre leverskader og icterus (gulsot).

2. Giv en kortfattet forklaring hvorfor de ovennævnte leverskader og icterus kan opstå (30%).

Et andet symptom ved sygdommen er anfald af hypoglycæmi efter indtagelse af fructose.

3. Giv en kortfattet forklaring hvorfor denne hypoglycæmi kan opstå (30%).

Problemløsningsopgave 2

For et enzym, der følger Michaelis-Menten kinetik, måles initialhastigheden ved forskellige substratkoncentrationer. Herved fås følgende data:

[S] (mM)	0,1	0,3	1,0	3,0	10,0	30,0
v_0 (mM/min)	0,21	0,50	0,94	1,25	1,42	1,47

1. Beregn enzymets K_M og V_{max} (25%).

Forsøget gentages efter tilsætning af en reversibel hæmmer, og følgende resultater opnås:

[S] (mM)	0,1	0,3	1,0	3,0	10,0	30,0
v_0 (mM/min)	0,12	0,30	0,68	1,07	1,34	1,44

2. Angiv hvilken virkning hæmmeren har på K_M og V_{max} , og hvilken type hæmning der er tale om (25%).

3. Beregn enzymkoncentrationen i reaktionsblandingen, når enzymets turnover tal (k_{cat}) er 250/sekund (25%).

4. Beregn enzymets molekylvægt, når proteinkoncentrationen af det rene enzym i reaktionsblandingen er 5.5 $\mu\text{g/ml}$ (25%).

Problemløsningsopgave 3

Ved oprensning af transferrin fra serum appliceres 2 ml serum på en ionbyttersøjle. Efter vask af søjlen elueres denne med en saltgradient hvorunder fraktioner på 4 ml opsamles. Transferrin-holdige fraktioner identificeres med immunblot, hvorefter koncentrationen af protein og transferrin måles på fraktioner og serum. Nedenfor ses målinger for serum og fraktionen med det højeste indhold af transferrin (topfraktion):

	Protein	Transferrin
Serum	62 mg/mL	1,9 mg/mL
Topfraktion	0,8 mg/mL	0,2 mg/mL

1. Beregn udbyttet og oprensningsgraden for topfraktionen (25%).

Efter yderligere oprensning af topfraktionen opnås nu et helt rent transferrin. Tabet ved denne oprensning er 40%.

2. Beregn udbytte og oprensningsgrad fra serum frem til det rene transferrin (25%).

Transferrin er et monomert protein med molekylvægten 78.000 Da, som maksimalt kan binde 2 Fe^{3+} .

3. Beregn transferrins bindingskapacitet for Fe^{3+} i serum ($\mu\text{mol Fe}^{3+}/\text{l serum}$) (25%).

I nogle proteiner indgår en jernion i den prostetiske gruppe.

4. Angiv den prostetiske gruppe, hvori jernionen indgår i to typer af proteiner og beskriv kort jernionens betydning for de pågældende proteiners funktion (25%).

Ordinær eksamen i biokemi, december 2002

Facitliste:

Opgave 1.

1. Det defekte enzym er aldolase B, et isoenzym til aldolasen i glycolysen:
Fructose-1-phosphat \rightleftharpoons dihydroxyacetonephosphat + glyceraldehyd.
2. Ved nedsat aktivitet af aldolase B ophobes fructose-1-phosphat i leveren. Levercellerne depletteres herved for P_i , som bl.a. er substrat for ATP-dannelse ved den oxidative phosphorylering. Uden ATP gendannelse vil der opstå vævsskader som følge af energimangel og leverens funktioner, såsom bilirubinkonjugering og udskillelse til galden, kompromitteres .
3. P_i er også substrat i glycogenfosforylase reaktionen. Mangel på P_i hæmmer derfor glycogenolysen direkte. Gluconeogenesen er ATP-krævende og vil som sådan også være hæmmet, jævnfør svar til sp. 2.

Opgave 2.

1. $K_M = 0,6 \text{ mM}$ og $V_{\max} = 1,5 \text{ mM/min}$
2. K_M øges til $1,2 \text{ mM}$ og V_{\max} er uændret, hvilket betyder kompetitiv hæmning.
3. $[E]_{\text{total}} = V_{\max}/k_{\text{cat}} = 1,5 \text{ mM} / (15000 \text{ min}^{-1}) = 0,1 \text{ }\mu\text{M}$
4. Molekylvægt = $5.5 \times 10^{-6} \times 10^3 / 0.1 \times 10^{-6} = 55.000$

Opgave 3.

1. Udbytte: $(0,2 \cdot 4) / (1,9 \cdot 2) = 0,211$ (21%)
Oprensningsgrad: $(0,2/0,8) / (1,9/62) = 8.15$
2. Udbytte: $0,6 \cdot 21\% = 13\%$
3. $2 \cdot (1,9 \text{ g/l}) / (78000 \text{ g/mol}) = 50 \text{ }\mu\text{mol/l}$
4. Jernionen indgår i hæg. Hæg findes som prostetisk gruppe i ilt-bindende proteiner (hæmoglobin og myoglobin), hvor jernionen (Fe^{2+}) reversibelt kan binde et O_2 . Hæg er også prostetisk gruppe i cytochromer (og i enzymerne katalase og peroxidase), hvor jernionen reversibelt optager en elektron i redoxprocesser. Evt. kan nævnes , at jernionen findes i proteiner med et Fe-S center, som også indgår i redoxprocesser.

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Syge-og reeksamen i Biokemi (4 timer)

Juni 2002

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Reaktioner og reaktionsveje i glukosestofskiftet

Besvarelsen skal omfatte:

1.

Ligningerne med enzymnavne for de reaktioner, der har glukose-6-phosphat som substrat eller produkt. For hver reaktion ønskes tillige en angivelse af navnet på, og betydning af, de stofskifteveje, hvori den indgår. (25%)

2.

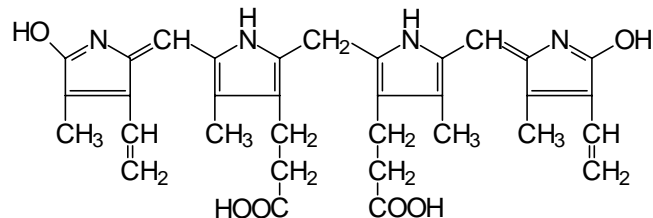
En redegørelse for de reaktioner i gluconeogenesisen fra laktat, der ikke indgår i glykolysen. (25%)

3.

En redegørelse for reguleringen af glykolysen og gluconeogenesisen i leveren ved overgang fra normal ernæringstilstand til sult. (50%)

Problemløsningsopgave 1

Ved to arvelige, godartede tilstande er symptomet en lettere gulfarvning af huden: icterus (gulstot). Gulfarvningen skyldes ophobning af den viste forbindelse, eller derivater heraf, i plasma.



1. Angiv stoffets navn, hvorfra det dannes og hvorledes det transporteres i plasma. (20%).

Ved Gilbert's syndrom skyldes ophobningen nedsat aktivitet af et enzym, UDP-glucuronosyl transferase, der katalyserer dannelsen af et derivat af stoffet.

2. Opskriv reaktionsligningen for dannelsen af derivatet, angiv i hvilket organ omdannelsen sker og hvorledes den ændrer stoffets egenskaber. (20%)
3. Begrund hvorfor den nedsatte enzymaktivitet giver anledning til en ophobning af stoffet. (20%)

Ved Dubin-Johnsons syndrom skyldes ophobningen en defekt i galdesekretions mekanismen.

4. Angiv hvilken form af stoffet, der ophobes i plasma ved Dubin-Johnsons syndrom. Angiv, med begrundelse, hvilken farve du vil forvente fæces vil have ved tilstanden. (20%)

Stoffet kan også elimineres via urinen.

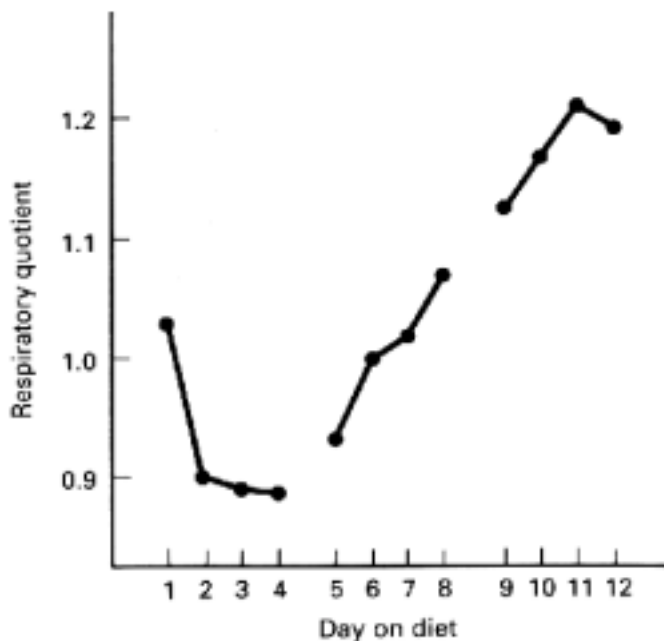
5. Angiv hvilken form af stoffet, der fortrinsvis forekommer i urinen ved de to former for gulstot (20%).

Problemløsningsopgave 2

I den velnærede tilstand med overskud af energi tilført med kosten, kan overskydende energi i form af kulhydrat omdannes til fedt.

1. Skitsér reaktionsvejen, hvorved glucose omdannes til palmitinsyre. (Der ønskes ikke en gennemgang af enkeltreaktioner.) (30%)
2. Angiv med begrundelse hvor mange molekyler glucose (bruttoformel $C_6H_{12}O_6$), der medgår til syntese af et molekyle palmitinsyre (bruttoformel $C_{16}H_{32}O_2$). (30%)

Nedenstående figur viser et forsøg udført med raske forsøgspersoner, som i de første fire dage indtog en lav-energi kost (64 kJ/kg legemsvægt), de fire efterfølgende dage en medium-energi kost (157 kJ/kg legemsvægt), og de sidste fire dage en høj-energi kost (245 kJ/kg legemsvægt). Hver dag blev prøver af deres udåndingsluft analyseret til bestemmelse af den respiratoriske kvotient (mol CO_2 produceret/mol O_2 forbrugt)



3. Giv en forklaring på hvorfor den respiratoriske kvotient under forsøget stiger til over 1.0. (40%)

Problemløsningsopgave 3

Idet det antages, at der ved oxidation af NADH og FADH₂ dannes henholdsvis 3 og 2 ATP, vil fuldstændig oxidation af et mol palmitat danne 129 mol ATP, jævnfør nedenstående regnskab:

Palmitat → palmitoyl-CoA	- 2 ATP
Palmitoyl-CoA → 8 acetyl-CoA	35 ATP
<u>8 acetyl-CoA → 16 CO₂</u>	<u>96 ATP</u>
Palmitat → 16 CO ₂	129 ATP

I det følgende antages leverens daglige ATP-behov at være 10 mol.

1. Beregn hvor mange mol palmitat, der skal oxideres til CO₂ for at dække leverens daglige ATP-behov. (15%)
2. Beregn hvor mange mol palmitat leveren skal omsætte for at dække sit energibehov, hvis palmitat udelukkende omsættes til enten: a) acetoacetat eller b) β-hydroxybutyrat, som derefter afgives til blodet. (35%)

Voksne mænd anbefales at drikke højst 3 genstande alkohol om dagen. En genstand svarer til 12 g ethanol (molmasse: 46 g/mol).

3. Beregn hvor stor en del af leverens daglige ATP-forbrug, der vil dækkes ved indtagelse af 3 genstande alkohol, hvis det antages, at ethanol i leveren omdannes til acetat, som derefter afgives til blodet. (30%)
4. Alkoholindtagelse kan føre til acidose. Nævn med begrundelse den vigtigste organiske syre, som kan forårsage denne. (20%)

Facitliste til opgaver

Opgave 1.

1. Bilirubin er et nedbrydningsprodukt fra hæm; det transporteres i blodet bundet til albumin.
2. Bilirubin + 2 UDP-glucuronsyre \rightarrow bilirubindigluconid + 2 UDP
3. Bilirubin udskilles til galden som digluconid, ved nedsat enzymaktivitet ses en øget koncentration af ukonjugeret bilirubin (mangler enzymet helt ses en fatal hyperbilirubinæmi).
4. Der ophobes konjugeret bilirubin. Fæces er lys gråfarvet, da der intet bilirubindigluconid udskilles til tarmen. Fæces normale farve skyldes urobiliner og stercobiliner, der via urobilinogen dannes i tarmen.
5. Ved Gilbert's syndrom udskilles urobilin der stammer fra urobilinogen, der er reabsorberet fra tarmen og omdannet til urobilin i nyrerne. Ved Dubin-Johnsons syndrom udskilles det vandopløselige bilirubindigluconid via nyrerne.

Opgave 2

1. Glucose \Rightarrow pyruvat \Rightarrow acetylCoA \Rightarrow malonyl CoA \Rightarrow palmitinsyre
2. Kun fire af C-atomerne i glucose kan indbygges i palmitinsyre, idet to frigives som CO₂ i pyruvat dehydrogenase reaktionen:

$$\text{pyruvat} + \text{CoA} + \text{NAD}^+ \Rightarrow \text{acetylCoA} + \text{CO}_2 + \text{NADH} + \text{H}^+$$
 Der medgår derfor ialt fire molekyler glucose til syntese af et molekyle palmitinsyre.
3. På høj-energi kost vil en del glucose omdannes til fedt (palmitat):

$$\text{C}_{24}\text{H}_{48}\text{O}_{24} \text{ (fire molekyler glucose)} + \text{O}_2 \Rightarrow \text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2 + 8 \text{ CO}_2 + 8 \text{ H}_2\text{O}.$$
 Den respiratoriske kvotient for denne omdannelse = 8. I den velnærede tilstand kan nysyntese af fedt fra kulhydrat derfor øge den respiratoriske kvotient til over 1.0. (En omsætning af glucose via pentosephosphatvejen vil også kunne øge RQ til over 1.0.)

Opgave 3

1. $(10/129) = 0,078$ mol palmitat
2. 8 acetyl-CoA \rightarrow 4 acetoacetat (0 ATP)
 8 acetyl-CoA \rightarrow 4 β -hydroxybutyrat (-12 ATP da der indgår 4 NADH)
 Palmitat \rightarrow 4 acetoacetat (33 ATP)
 Palmitat \rightarrow 4 β -hydroxybutyrat (21 ATP)
 $(10/33) = 0,303$ mol
 $(10/21) = 0,476$ mol
3. $3 \cdot 12/46 = 0,783$ mol ethanol \rightarrow 6 ATP svarende til 4,7 mol ATP eller 47% af leverens energiforsyning.
4. Mælkesyreacidose ses, idet forhøjet [NADH]/[NAD⁺]-ratio forskyder ligevægten for laktatdehydrogenase mod lactat. (Evt. kan acetatacidose nævnes).

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Ordinær eksamen i Biokemi (4 timer)

Maj 2002

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og fomelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Transport og oplagring af fedtsyrer.

Fedtsyrer forekommer i kroppen både som frie fedtsyrer og som fedtsyre-estre.

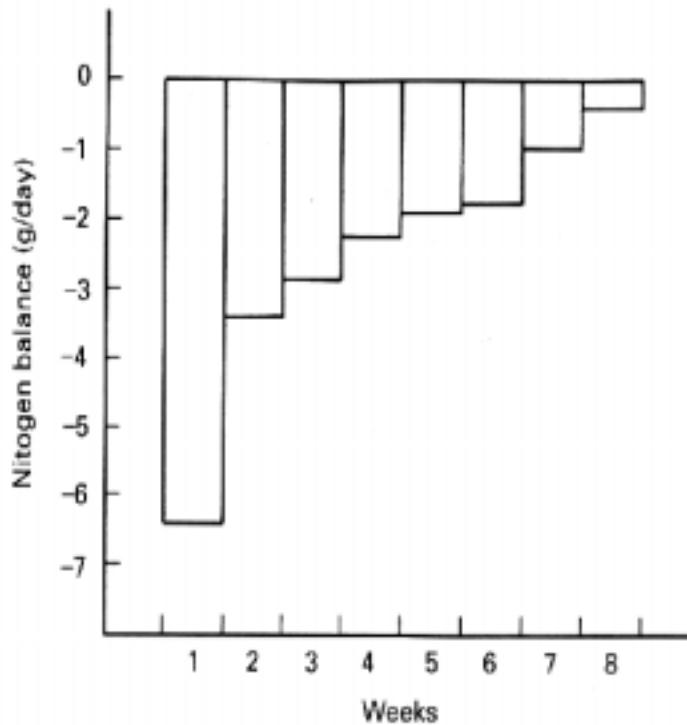
Besvarelsen skal omfatte:

1. En redegørelse for transporten af frie fedtsyrer og triacylglycerol i blodet og deres optagelse i væv. (30%)
2. En beskrivelse af enkeltreaktionerne i syntesen af triacylglycerol ud fra fedtsyrer i tarm, lever og fedtvæv, herunder energetiske forhold og vigtige kilder til de nødvendige fedtsyre- og glycerolkomponenter. (40 %)
3. En redegørelse for hvorledes syntese og nedbrydning af triacylglycerol i fedtvæv afhænger af ernæringsmæssige/hormonelle forhold. (30 %)

Problemløsningsopgave 1

Nedenstående figur viser nitrogenbalancen (g/døgn) målt i en periode på 8 uger hos en gruppe svært overvægtige forsøgspersoner, som i perioden dagligt indtog en kost udelukkende bestående af 60 g protein og 54 g kulhydrat (svarende til 2100 kJ/døgn).

1. Giv en forklaring på den store negative nitrogenbalance i den første uge af perioden samt på nitrogenbalancens udvikling i de efterfølgende uger. (50%)

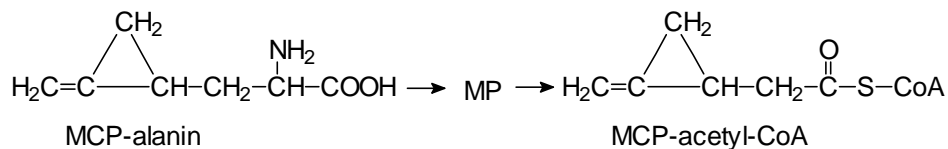


2. Beregn vægttabet efter 8 uger på ovennævnte kost, hvis det antages, at dette udelukkende skyldes enten a) fedtforbrænding eller b) proteinforbrænding. (Der kan ses bort fra ændringer i basalstofskiftet som følge af vægttabet). (50%)

Problemløsningsopgave 2

Hypoglycin (MCP-alanin) findes i de umodne frugter fra Akee træet (*Blighia sapida*) og forårsager, hvis de spises, Jamaica vomiting sickness med voldsomme opkastninger, kramper og endog koma. Den modne frugt, der ikke indeholder hypoglycin, er et hovednæringsmiddel i Caribien.

Hypoglycin omdannes i organismen, via et mellemprodukt (MP), til MCP-acetyl-CoA, der er en irreversibel hæmmer af acyl-CoA dehydrogenase.



Ved omdannelsen bliver desuden et molekyle α -ketoglutarat omdannet til glutamat og et molekyle NAD^+ omdannet til NADH . Endvidere indgår et molekyle HS-CoA som substrat, mens der dannes et molekyle CO_2 .

1. Tegn strukturformlen for MP. (25%)
2. Angiv hvilken cofaktor, der medvirker ved første trin af omdannelsen. (20%)
3. Angiv hvilken stofskiftevej der kompromitteres, når acyl-CoA dehydrogenasen hæmmes og angiv dens subcellulære lokalisation. (25 %)

Symptomerne kan ramme mange og være alvorlige i den kolde årstid, når Akee frugterne er umodne, og der er knaphed på de øvrige fødemidler. Symptomerne skyldes en voldsom hypoglykæmi på grund af, at gluconeogenesis er hæmmet.

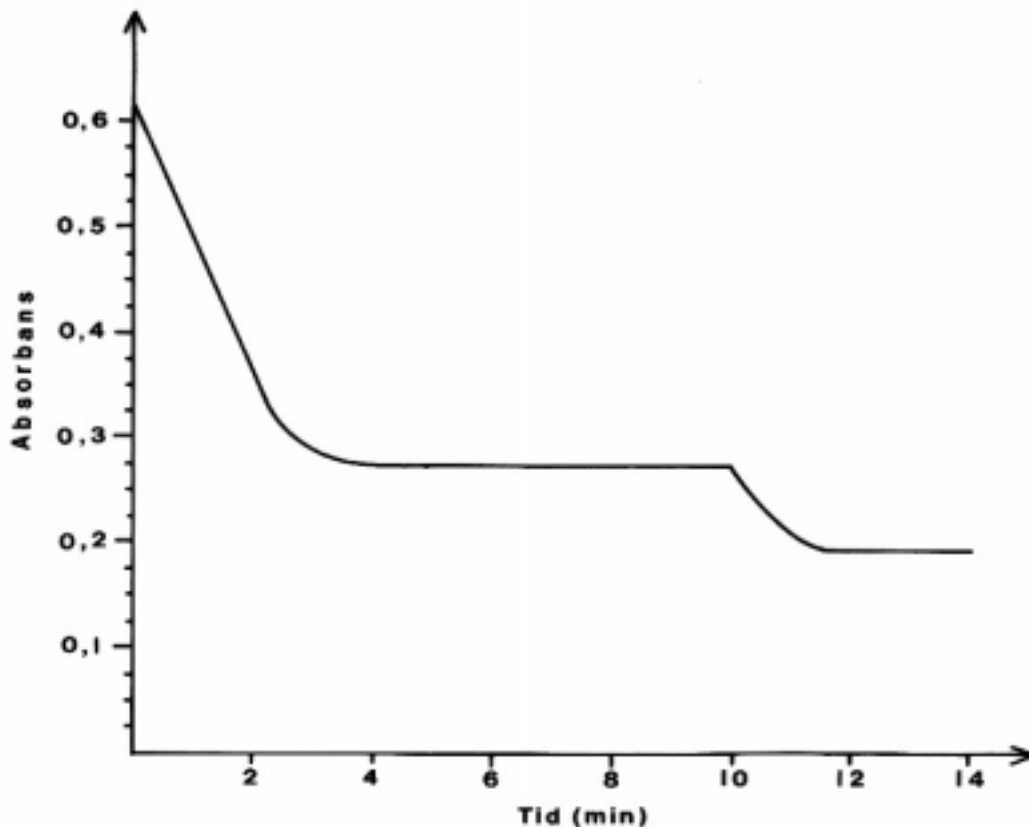
4. Beskriv hvorledes hypoglycin kan føre til hæmning af gluconeogenesis. (30%)

Problemløsningsopgave 3

Enzymet glutamat dehydrogenase katalyserer reaktionen:



I det illustrerede forsøg anvendes 0,8 ml af en substratblanding, der indeholder 0,125 mM α -ketoglutarat, 0,125 mM NADH og 0,125 mM NH_4^+ i en buffer ved pH 7. Til tiden 0 tilsættes 0,2 mL af en opløsning af glutamat dehydrogenase, hvorefter absorbansen ved 340 nm følges med tiden. Til tiden 10 min tilsættes yderligere 0,100 mM α -ketoglutarat i et negligerbart volumen. Hele forsøget foregår ved 37°C.



1. Beregn aktiviteten ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$) af glutamat dehydrogenase-opløsningen, når den molære absorptionskoefficient for NADH ved 340 nm er $6220 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ og lysvejen er 1 cm. (40%)
2. Hvad er årsagen til, at reaktionen stopper? (20%)
3. Beregn reaktionens ligevægtskonstant (K_{eq}) og ΔG° . (40%)

Facitliste til problemløsningsopgaver

Opgave 1

1. Kosten er hypokalorisk og indeholder ikke tilstrækkeligt med kulhydrat til at dække det daglige forbrug. For at fastholde et stabilt blodsukker må leveren producere glucose vha. gluconeogenese. Dette er kun muligt ved en samtidig proteinnedbrydning, fortrinsvis i muskler. De glucogene aminosyrers C-skelet kan omdannes til glucose, men N-atomerne må udskilles, hovedsagelig i form af urinstof. Efterhånden som ketonstofskiftet aktiveres, mindskes behovet for gluconeogenese og dermed også for proteinnedbrydning og tilhørende N-udskillelse.
2. Det kan antages, at forsøgspersonerne dagligt 'taber' 10000 kJ, dvs. ialt 560000 kJ for 8 uger. Dette svarer til et fedtvægttab på $560000/38000 = \text{ca. } 15 \text{ kg}$. Hvis tabet skyldes proteinforbrænding, svare det til $560000/17000 = \text{ca. } 33 \text{ kg}$

Opgave 2

1. MCP-CH₂-CO-COOH
2. Pyridoxalphosphat
3. β -oxidationen i mitochondrierne
4. Glukoneogenesisen er afhængig af en kontinuerlig ATP syntese. Den vigtigste kilde hertil er fedtsyre oxidationen, inhiberes denne stopper leverens glukoneogenese på grund af mangel på ATP.

Opgave 3

1. $\Delta A/\Delta t = 0,12/\text{min}$ (aflæst initial 0.ordenskinetik)
 $\Delta c/\Delta t = 0,12/6220 \text{ M/min} = 19 \mu\text{M}\cdot\text{min}^{-1}$
 Aktivitet af enzymopløsning = $19 \mu\text{M}\cdot\text{min}^{-1}\cdot 10^{-3} \text{ L}/0,2 \text{ mL} = 0,095 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$.
2. Ligevægt
3. Ligevægt 1 ved $A = 0,275$ svarende til $[\text{NADH}] = 0,044 \text{ mM} = [\alpha\text{KG}] = [\text{NH}_4^+]$ og $[\text{Glu}] = [\text{NAD}^+] = 0,056 \text{ mM}$. $K_{\text{eq}}' = (0,056\cdot 10^{-3} \text{ M})^2 / (0,044\cdot 10^{-3} \text{ M})^3 = 36814 \text{ M}^{-1}$
 $\ln K_{\text{eq}}' = 10,51$
 $\Delta G^{\circ'} = -27,1 \text{ kJ/mol}$
 Alternativ beregning: Ligevægt 2 ved $A = 0,195$ svarende til $[\text{NADH}] = 0,031 \text{ mM} = [\text{NH}_4^+]$, $[\alpha\text{KG}] = 0,131 \text{ mM}$ og $[\text{Glu}] = [\text{NAD}^+] = 0,069 \text{ mM}$.
 $K_{\text{eq}}' = (0,069 \text{ M})^2 / ((0,031\cdot 10^{-3} \text{ M})^2 \cdot (0,131\cdot 10^{-3} \text{ M})) = 37818 \text{ M}^{-1}$
 $\ln K_{\text{eq}}' = 10,54$
 $\Delta G^{\circ'} = -27,2 \text{ kJ/mol}$

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Syge-og reeksamen i Biokemi (4 timer)

Januar 2002

Hjælpe midler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Cholesterol

Besvarelsen skal omfatte:

1. En angivelse af udgangsstoffet for cholesterolsyntesen samt en redegørelse for syntesen af mevalonat og cholesterolsyntesens regulationen. (15%)
2. En redegørelse for funktionen af blodets forskellige lipoproteiner ved transporten af kolesterol mellem organismens organer. (40%)
3. En angivelse af de vigtigste udskilleelsesprodukter ved kolesterolmetabolismen samt en beskrivelse af disse forbindelser's betydning. (30%)
4. En klassifikation af de hormoner, som kolesterol er udgangsstof for, med angivelse af i hvilke organer, de dannes. (15%)

Problemløsningsopgave 1.

Arvelig hyperammonæmi er en sygdom forårsaget af stærkt nedsat eller helt manglende aktivitet af ét blandt flere mulige enzymer i aminosyrestofskiftet.

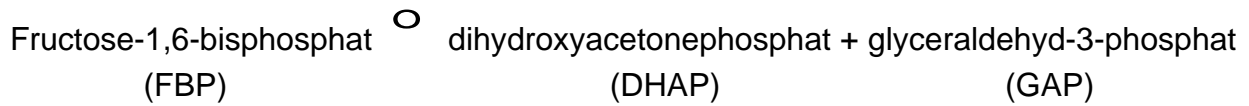
1. Beskriv kort, hvilken stofskiftevej, som primært er kompromitteret ved sygdommen, og hvorledes en patient vil være påvirket heraf. Angiv desuden en metabolit i aminosyrestofskiftet, hvis koncentration vil ligge under normalområdet i en blodprøve fra en patient med sygdommen. (30%)

Ved hyperammonæmi vil koncentrationen af glutamin i blodet være forhøjet.

2. Opskriv ligningerne for dannelse af glutamin fra glutamat og omdannelse af glutamin til glutamat med angivelse af enzymnavne. (30%)
3. Giv en forklaring på hvorfor glutaminkoncentrationen i blodet er forhøjet ved hyperammonæmi, samt hvorfor dette er hensigtsmæssigt. (40%)

Problemløsningsopgave 2.

Aldolase katalyserer reaktionen:



ΔG° for reaktionen = 22.8 kJ/mol.

1. Beregn ligevægtskonstanten, K_{eq} , ved 25°C. (30%)

Ved 25°C gælder, at $[\text{DHAP}]/[\text{GAP}] = 5$.

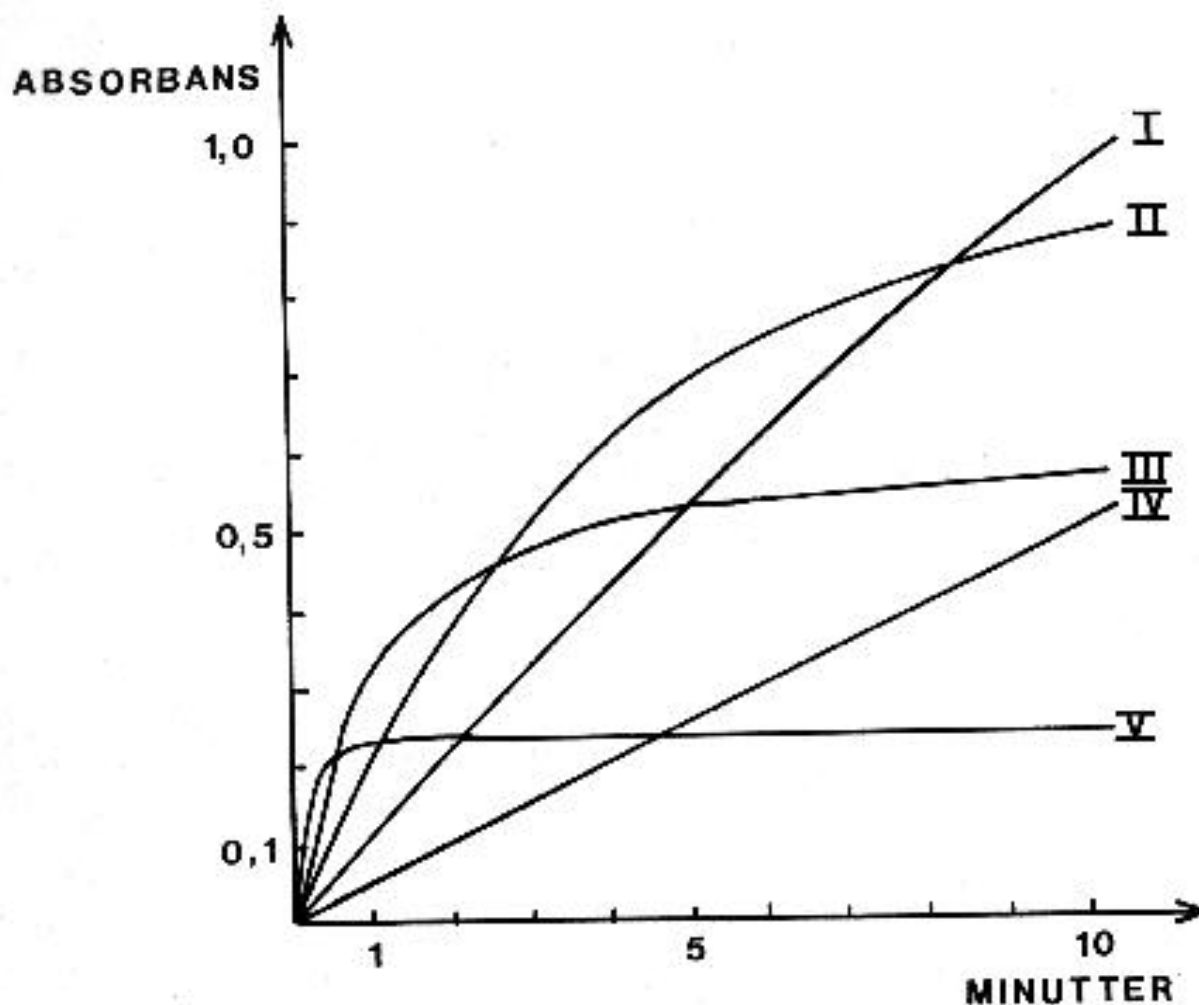
2. Beregn ligevægtskoncentrationen af FBP, når $[\text{GAP}] = 10^{-4}$ M. (30%)

3. Giv en sandsynlig forklaring på hvorfor $[\text{DHAP}]$ og $[\text{GAP}]$ i en celle er forskellige. (40%)

Problemløsningsopgave 3

For en enzymkatalyseret reaktion blev de viste reaktionsforløb registreret i 5 forsøg under identiske forsøgsbetingelser, bortset fra temperaturen, der var henholdsvis 20, 30, 40, 50, og 60 °C i de 5 forsøg.

Produktets molære absorptionskoefficient ved 405 nm er $18.500 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$



1. Angiv ved hvilken temperatur kurverne I,II,III,IV og V er registreret og begrund svaret (20%).
2. Beregn initialhastigheder ($\mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1}$) ved de 5 forskellige temperaturer og illustrer grafisk sammenhængen mellem v_0 og temperaturen (40%).
3. Beregn hastigheden ($\mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1}$) efter 2 min ved de 5 forskellige temperaturer og illustrer grafisk, hvor mange % af enzymets katalytiske evne der er tilbage efter 2 min ved de forskellige temperaturer (40%).

Svar, opg. 1.

1. Urinstof cyklus, som er den kvantitativt vigtigste udskillelsesvej for amino-grupper fra aminosyrernes omsætning. Ammoniumionen er neurotoksisk i selv små koncentrationer (normalområde 12-60 FM), og ubehandlet vil hyperammonæmi føre til coma (coma hepaticum) og død. Ved hyperammonæmi vil urinstofkoncentrationen i blodet ligge under normalområdet (2.5 – 7 mM).

2. $\text{Glutamat} + \text{NH}_4^+ + \text{ATP} \Rightarrow \text{glutamin} + \text{ADP} + \text{P}_i$; enzym: Glutamin syntetase.

$\text{Glutamin} + \text{H}_2\text{O} \Rightarrow \text{glutamat} + \text{NH}_3$; enzym: Glutaminase.

3. Glutaminkoncentrationen i blodet er forhøjet, fordi glutaminsyntesen i leveren øges ved hyperammonæmi. Dette er hensigtsmæssigt, da nyrerne optager glutaminen fra blodet og omdanner den til glutamat og NH_3 . Sidstnævnte protoniseres og udskilles med urinen. Denne alternative udskillelsesvej for aminosyrenitrogen er desuden af betydning for kroppens syre-base ligevægt (aktiveres ved acidose).

Svar, opg. 2.

1. 1.01×10^{-4} M.

2. 4.95×10^{-4} M.

3. Selvom DHAP og GAP dannes i ækvimolære mængder i aldolasereaktionen, er det kun GAP, som direkte omsættes videre i glykolysen til 1,3 bisphosphoglycerat. DHAP skal først omdannes til GAP (via triosephosphat isomerase) før den videre omsætning.

Svar, opg. 3.

1.

Kurve I: 30°; II: 40°; III: 50°; IV: 20°; V: 60°. Med stigende temperatur fås en stigende initial hastighed men ved de høje temperaturer ses en fremadskridende varme-denaturering af enzymet.

2,3.

Temperatur	20°	30°	40°	50°	60°
V_o ($\mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1}$)	2,7	6,5	13,0	21,6	48,6
V_2 ($\mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1}$)	2,7	6,5	7,6	3,8	0
% katalytisk evne	100	100	58	18	0

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Ordinær eksamen i Biokemi (4 timer)

December 2001

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Glycogen

Besvarelsen skal omfatte:

1. En beskrivelse af glycolythesen (glycolythesyntesen) (25%).
2. En beskrivelse af glycolythesen (glycolythesnedbrydningen) (25%).
3. En kort redegørelse af funktionen af glycolythesen i lever og muskel (10%).
4. En redegørelse for regulationen af glycolythesomsætningen i lever (40%).

Problemløsningsopgave 1

I en celle vil de tre hexosemonophosphater, glucose-1-phosphat, glucose-6-phosphat og fructose-6-phosphat reversibelt omdannes til hinanden ved følgende enzymatiske reaktioner:

Phosphoglucomutase: glucose-1-phosphat \rightleftharpoons glucose-6-phosphat
Phosphohexose isomerase: glucose-6-phosphat \rightleftharpoons fructose-6-phosphat

I en ligevægtsblanding af ovennævnte forbindelser ved 25°C vil glucose-1-phosphat, glucose-6-phosphat og fructose-6-phosphat findes i koncentrationer på henholdsvis 4%, 64% og 32% af den samlede hexosemonophosphatkoncentration.

1. Beregn ΔG° (kJ/mol) for de to ovennævnte reaktioner (40%).

I cellen dannes eller forbruges hexosemonophosphater i reaktioner, der er irreversible.

2. Angiv de enzymer, der katalyserer sådanne irreversible reaktioner, samt en eventuel allosterisk eller covalent regulation af enzymerne. Besvarelsen skal endvidere omfatte en angivelse af, under hvilke af nedenstående forhold (a-c) enzymerne er særligt aktive. (60%).

- a) Leverceller under forhold, hvor glucose omdannes til fedt .
- b) Leverceller ved langvarig faste.
- c) Muskelceller under intenst arbejde.

Problemløsningsopgave 2

I en undersøgelse af plasmacholesterol blandes 3 ml plasma fra en fastende person med 300 μ l af et reagens, som fælder alle lipoproteiner undtagen HDL. Blandingen centrifugeres, hvorefter supernatanten isoleres. Efter tilsætning af et enzymreagens og inkubation bestemmes cholesterolkoncentrationen i plasma og supernatant spektrofotometrisk ved 500 nm. Prøver med kendte cholesterolkoncentrationer inkuberes og måles parallelt hermed, hvorved koncentrationen af kolesterol kan beregnes.

Hos en person findes ved ovenstående procedure følgende data:

Prøve	Absorbans ved 500 nm
0,0 mM kolesterol	0,04
0,2 mM kolesterol	0,23
0,4 mM kolesterol	0,42
Plasma (20 gange fortyndet)	0,36
Supernatant (5 gange fortyndet)	0,42

1. Beregn cholesterolkoncentrationen i plasma og supernatant (30%).

Koncentrationen af VLDL-kolesterol kan beregnes, da forholdet mellem VLDL-kolesterol og triacylglycerol i plasma fra en fastende person er 0,45.

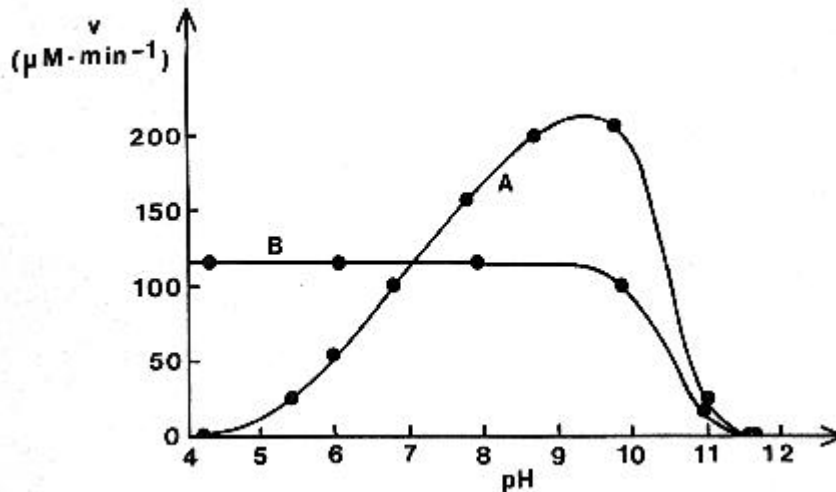
2. Beregn koncentrationen af HDL-kolesterol, LDL-kolesterol og VLDL-kolesterol i ovennævnte plasmaprøve, idet triacylglycerolkoncentrationen i denne er bestemt til 1,2 mM (30%).

Lipoproteiner kan separeres efter deres elektroforetiske mobilitet i en agarosegel.

3. Skitser hvordan man ved agarosegel elektroforese og lipidfarvning kan skelne mellem plasma fra en normal person og plasma fra en person med hyperlipidæmi forårsaget af nedsat niveau af LDL-receptorer (40%).

Problemløsningsopgave 3

På nedenstående figur viser kurve A hastigheden (v) af en enzymkatalyseret reaktion målt ved samme substratkoncentration ved de givne pH værdier. I kurve B har enzymet først været udsat for det angivne pH i et vist tidsrum, derefter er pH justeret til en og samme værdi i alle prøver, hvorefter hastighedsmålingerne i øvrigt er udført som ved kurve A.



1. Angiv enzymets pH optimum (10%).
2. Angiv ved hvilken pH værdi hastighedsmålingerne til kurve B er udført (25%).
3. Redegør for forløbet af kurve B og forklar hvilken effekt, der er ansvarlig for faldet i hastigheden ved de høje pH værdier (35%).

Faldet i hastigheden på den sure side af pH optimum kan skyldes enten en effekt på V_{\max} eller en nedsat mætning af enzymet med substrat på grund af en nedsat affinitet (effekt på K_m).

4. Beskriv hvorledes det eksperimentelt kan afgøres, om faldet i hastighed skyldes en effekt på V_{\max} eller på K_m (30%).

Opgavebesvarelse

Opgave 1

1. – 6,9 kJ/mol (mutase). + 1,7 kJ/mol (isomerase).
2.
 - a) Glucokinase
Phosphofruktokinase1 (aktiv ved høj fructose-2,6-bisphosphat),
(+evt. phosphofruktokinase 2).
 - b) Fructose-1,6-bisphosphatase (aktiv ved lav fructose-2,6-bisphosphat)
Glucose-6-phosphatase.
 - c) Glycogenphosphorylase (aktiv i phosphoryleret tilstand, hvilket opnås som følge af høj intracellulær calcium eller cAMP, b-formen aktiv ved høj AMP)
Phosphofruktokinase 1 (aktiv ved lav ATP, høj ADP/AMP)

Opgave 2.

1.
 - 6,74 mM
 - 2,00 mM
2.
 - HDL: 2,20 mM (1,1-2,0 mM)
 - VLDL 0,54 mM (0,45-1,2 mM)
 - LDL 4,00 mM (6,74-2,2-0,54)

3.

Normal person: tydeligt HDL-bånd og LDL-bånd. Ved LDL-receptormangel: ekstra kraftigt LDL-bånd.

Opgave 3.

1.
 - pH 9.5 (eller pH 10.0)
2.
 - pH 7.0
- 3.

Enzymet er stabilt ved pH værdier fra pH 4 til 9. Ved højere pH værdier sker der en base denaturering af enzymet.

4.

En eventuel effekt på affiniteten (K_m) kan undersøges ved at anvende en højere substrat koncentration ved målingerne. Ændres hastigheden ikke herved har den anvendte substrat koncentration været tilstrækkelig til at sikre substrat mætning og dermed V_{max} ved de undersøgte pH værdier. I en grundigere analyse kunne målingerne udføres ved flere forskellige substratkoncentrationer, hvorefter K_m og V_{max} kunne aflæses f.eks. ved et Lineweaver-Burk plot.

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Syge-og reeksamen i Biokemi (4 timer)

Juni 2001

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Lipogenese.

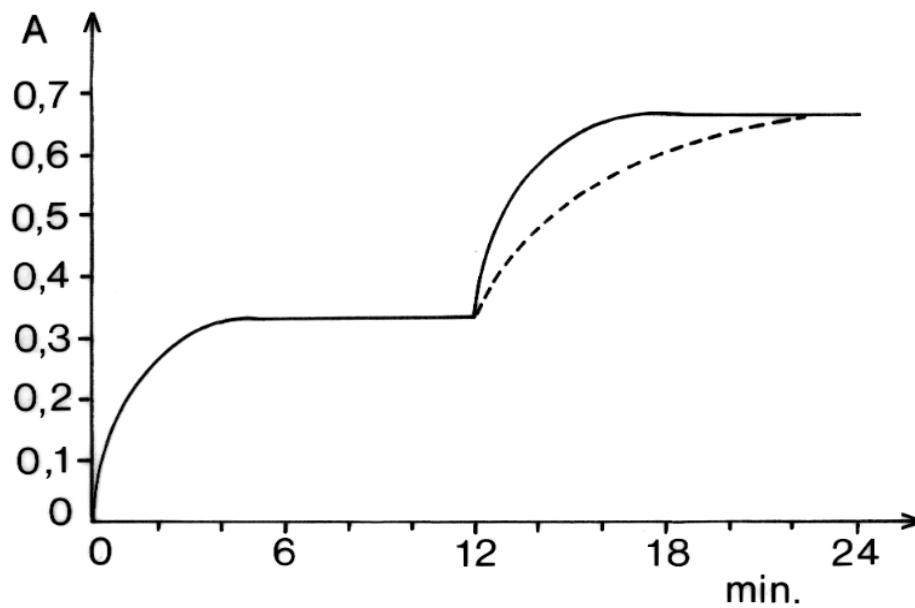
Ved indtagelse af store mængder kulhydrat, vil der ske en betydelig omdannelse af glucose til fedt.

Besvarelsen skal omfatte:

1. En kort beskrivelse af de reaktionsveje hvormed glucose kan omdannes til palmitat, herunder en angivelse af alle de enzymer, der katalyserer regulerede reaktioner, samt en beskrivelse af, hvori regulationen består (40%).
2. Den støkiometriske nettoligning for syntesen af palmitat ud fra acetyl-CoA. Desuden ønskes en beskrivelse af, hvorledes det nødvendige coenzym tilvejebringes (25%).
3. En angivelse af, hvorledes umættede fedtsyrer dannes ud fra mættede fedtsyrer (15%).
4. En beskrivelse af, hvorledes slutproduktet af lipogenesen i leveren afgives til blodet. (20%).

Problemløsningsopgave 1.

På nedenstående figur viser den **fuldt optrukne** kurve dannelsen af produkt som funktion af tiden, målt ved lysabsorption (lysvej 1 cm). Reaktionen er katalyseret af et enzym, der følger Michaelis-Menten kinetik. Substratkoncentrationen ved forsøgets start er 0,15 mM, og efter 12 minutter tilsættes ekstra substrat svarende til mængden tilstede ved forsøgets start (der kan ses bort fra volumenændring ved denne tilsætning). Produktets molære absorptionskoefficient er $2200 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.



1. Beregn initialhastigheden ($\mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1}$) (30%).
2. Beregn produktkoncentrationen (mM) efter 10 min og giv en forklaring på hvorfor reaktionen er standset (30%).
3. Redegør for mulige årsager til kurveforløbet, hvis produktkoncentrationen efter tilsætning af ekstra substrat i stedet havde fulgt den stiplede linie (40%).

Problemløsningsopgave 2.

For at bestemme glycogenindholdet i muskel koges 0,5 g muskelvæv med stærk base, hvorved fri glucose destrueres. Derefter isoleres glycogenet ved ethanoludfældning og centrifugering. Den dannede pellet, hvis rumfang er ubetydeligt, genopløses i 2 ml buffer, som indeholder et enzymreagens, der hydrolyserer glycogen til frit glucose. Efter at al glycogen er hydrolyseret, måles glucosekoncentrationen i opløsningen til 10 mM.

1. Beregn glycogenindholdet i muskelvævet ($\mu\text{mol glucoseenheder}\cdot\text{g væv}^{-1}$) (30%).
2. Beregn hvor længe en muskel med et glycogenindhold på $70 \mu\text{mol glucoseenheder}\cdot\text{g væv}^{-1}$ kan arbejde anaerobt, hvis den derved bruger $250 \mu\text{mol ATP}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g væv}^{-1}$ (20%).

Glucoseomsætningen i både muskel og lever stimuleres af fructose-2,6-bisphosphat.

3. Angiv navnet på det enzym, som stimuleres af fructose-2,6-bisphosphat (20%).

I lever bevirker adrenalin (og glucagon) et fald i niveauet af fructose-2,6-bisphosphat. I muskel bevirker adrenalin et øget niveau af fructose-2,6-bisphosphat.

4. Beskriv betydningen af denne forskel på muskel og lever (30%).

Problemløsningsopgave 3.

Et plasmaprotein, protein X, ønskes oprenset. 40 mL plasma sættes på en anionbyttersøjle bestående af DEAE-cellulose, der er positivt ladet ved det anvendte pH. Søjlen vaskes ved gennemløb af en vaskebuffer for at fjerne ikke bundne proteiner. Derpå tilsluttes en lineær saltgradient, hvorefter fraktioner på 5 mL opsamles.

1. Gør rede for princippet i anionbytterchromatografi (35%).

Tre af de opsamlede fraktioner indeholder protein X: Fraktion A, B og C. Den totale proteinkoncentration og koncentrationen af protein X måles i såvel plasma som fraktioner.

Prøve	[Total protein] (mg/mL)	[Protein X] (mg/mL)
Plasma	65	0,7
Fraktion A	12,0	1,1
Fraktion B	2,7	2,1
Fraktion C	2,0	1,4

2. Beregn udbytte og oprensingsgrad for protein X i hver af de tre fraktioner (35%).

Fraktionerne B og C blandes for yderligere oprensning. Ved dette sidste oprensningstrin mistes yderligere 60% af protein X. Til gengæld er produktet helt rent.

3. Beregn udbytte og oprensingsgrad i forhold til plasma for dette rene produkt (30%).

Løsning, opgave 1.

1.

$$v_0 = 0,7 \cdot 10^6 / 2200 \cdot 2 = 159 \mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1} \text{ (her er mulighed en betydelig variation)}$$

2.

$[P] = 0,33 \cdot 10^3 / 2200 = 0,15 \text{ mM}$. Reaktionen er standset på grund af substrat mangel. Da v_0 er den samme efter 2. substrat tilsætning kan denaturering og produkthæmning udelukkes; også den modsat rettede reaktion (ligevægt) kan udelukkes, da produkt-dannelsen efter 2. tilsætning atter bliver lig den tilsatte substrat mængde.

3.

Reaktionen standser igen på grund af substratmangel. Når hastigheden er lavere efter 2. tilsætning skyldes det denaturering og/eller produkthæmning.

Løsning, opgave 2.

1.

$$(2 \cdot 10^{-3} \text{ L} \cdot 10 \text{ mmol/L}) / 0,5 \text{ g} = 20 \mu\text{mol} / 0,5 \text{ g} = 40 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$$

2.

$$(3A70 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}) / (250 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}) = 0,84 \text{ min} \sim 50 \text{ s.}$$

3.

Phosphofruktokinase-1

4.

I lever bidrager adrenalin til øgning af blodglucose gennem glycogenolyse og gluconeogenese. Her vil faldet i fructose-2,6-bisphosphat stimulere gluconeogenesen og hæmme den modsatrettede glycolyse gennem hæmning af phosphofruktokinase-1. I muskel vil adrenalin stimulere glycogenolyse og glycolyse med det formål hurtigt at tilvejebringe ATP. Her vil øgningen i fructose-2,6-bisphosphat stimulere den glycolytiske omsætning gennem aktivering af phosphofruktokinase-1.

Løsning, opgave 3.

1.

En anionbyttersøjle binder negativt ladede proteiner. Før saltgradienten vil positivt ladede og neutrale (og svagt negativt ladede) proteiner vaskes ud af søjlen. Efterhånden som saltkoncentrationen øges vil proteiner med stigende negativ ladning elueres.

2.

	Protein X (mg)	Udbytte(%)	Andel	Opr. grad
Plasma	28	100	0,0108	1
Fraktion A	5,5	20	0,092	8,5
Fraktion B	10,5	38	0,78	72
Fraktion C	7,0	25	0,70	65

3.

$$\text{Udbytte: } 0,4 \cdot (38 + 25) = 25,2\%$$

$$\text{Oprensingsgrad} = 1 / 0,0108 = 93$$

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Ordinær eksamen i Biokemi (4 timer)

Maj 2001

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Pyruvat.

Besvarelsen skal indeholde:

1. Ligninger for fem af de vigtigste reaktioner, som har pyruvat som substrat eller produkt. For hver af reaktionerne ønskes en angivelse af enzymnavn, reaktionens subcellulære lokalisation og reversibilitet under fysiologiske forhold, samt eventuelt medvirkende coenzym/prostetiske grupper. (40%)
2. En beskrivelse af hver af disse fem reaktioners stofskiftemæssige betydning og regulation. (Der ønskes ikke en gennemgang af alle enkeltreaktioner i stofskiftevejene). (60%)

Problemløsningsopgave 1

1. Opskriv en ligning for reaktionen katalyseret af glucose-6-phosphatase og angiv dens organmæssige og subcellulære lokalisation. (30%)

Patienter med den arvelige von Gierke's sygdom har ingen eller stærkt nedsat aktivitet af glucose-6-phosphatase.

2. Beskriv kort, hvilke kulhydratstofsletteveje, som primært vil være kompromitteret ved von Gierke's sygdom, og hvorledes en patient vil være påvirket heraf. Angiv desuden i relation hertil mindst to metabolitter i kulhydratstofsletteet, hvis koncentration i en blodprøve fra en patient med sygdommen vil ligge uden for normalområdet. (40%)
3. Også lipidstofsletteet er kompromitteret hos patienter med von Gierke's sygdom. Angiv en forklaring herpå. Angiv desuden i relation hertil mindst to metabolitter i lipidstofsletteet, hvis koncentration i en blodprøve fra en patient med sygdommen vil ligge uden for normalområdet. (30%)

Problemløsningsopgave 2

1. Opskriv ligningen for reaktionen katalyseret af phosphofruktokinase-1 (PFK-1) og beregn ligevægtskonstanten ved 25°C, når ΔG° for reaktionen = -14.2 kJ/mol. (50%)

I et vævsekstrakt fra rottehjerte fandtes følgende metabolitkoncentrationer:

Metabolit	Vævskoncentration (mM)
Fructose-6-phosphat	0.090
Fructose-1,6-bisphosphat	0.020
ATP	11.5
ADP	1.30

2. Beregn, om PFK-1 reaktionen er i ligevægt og diskuter resultatet på baggrund af enzymets rolle i energistofsletteet. (50%)

Problemløsningsopgave 3.

For et enzym, der katalyserer en hydrolyse, målt de i tabellen anførte produktkoncentrationer (mM) som funktion af tiden i forsøg, udført ved 5 forskellige substratkoncentrationer.

Tid (min)	Sub.konc. 5,0 mM	Sub.konc. 2,5 mM	Sub.konc. 1,25 mM	Sub.konc. 0,5 mM	Sub.konc. 0,25 mM
0	0	0	0	0	0
0,5	0,35	0,25	0,17	0,09	0,05
1,0	0,70	0,50	0,33	0,18	0,10
1,5	1,05	0,75	0,50	0,27	0,15
2,5	1,85	1,35	0,75	0,36	0,18
5,0	2,90	1,85	1,00	0,42	0,21
7,5	3,88	2,23	1,15	0,45	0,22
10	4,50	2,40	1,22	0,48	0,24
15	4,95	2,48	1,24	0,50	0,25

1. Vis at enzymet følger Michaelis-Menten kinetik og bestem V_{\max} ($\text{mM} \cdot \text{min}^{-1}$) og K_m (40%).
2. Beskriv kort, hvorledes V_{\max} og K_m i princippet kan bestemmes ud fra en enkelt af progresskurverne under forudsætning af, at enzymet er stabilt i måleperioden, at ligevægten er fuldstændig forskudt mod spaltning af substratet, samt at produktet ikke hæmmer reaktionen (30%).
3. Beregn ved hvilken substratkoncentration initialhastigheden (v_0) vil være 90% af V_{\max} (30%).

Løsninger til ordinær eksamen i Biokemi, maj 2001.

Opgave 1.

- 1) Glucose-6-phosphat + H₂O → glucose + P_i
Reaktionen foregår primært i lever (+ en mindre del i nyrer og tarm) i det endoplasmatiske retikulum.
- 2) Glycogenolyse og gluconeogenese. Patienter vil være hypoglycæmiske efter meget kort tids faste, d.v.s. deres [blodglucose] vil ligge under normalområdet. De gluconeogenetiske forstadier laktat og pyruvat (jvf. Coricyklus) vil ophobes og være tilsvarende forhøjede i blodet.
- 3) Hypoglycæmi => lav insulin/glucagon-ratio => mobilisering af depotfedt (hormon-sensitiv lipase aktiveret) som ved en langvarig faste => forhøjet koncentrationen i blodet af frie fedtsyrer. Sidstnævnte vil resultere i en kraftig ketonstofdannelse i leveren, hvorfor patienter også vil være ketotiske. Sammen med hyperlactæmien kan dette forårsage acidose. Også TAG -og kolesterol syntesen i leveren forøges med hyperlipæmi og hypercholesterolæmi til følge.

Opgave 2.

- 1) Fructose-6-phosphat + ATP → fructose-1,6-bisphosphat + ADP
 $\Delta G^{\circ} = -RT \ln K'_{eq} \Rightarrow K'_{eq} = 1/\exp(\Delta G^{\circ}/RT) = 308.$
- 2) $[f-1,6-bp][ADP]/([f-6-p][ATP]) = 0.020 \times 1.30/(0.090 \times 11.5) = 2.51 \times 10^{-2}$, d.v.s. reaktionen er ikke i ligevægt. Dette er forventeligt, da PFK-1 reaktionen er én af de irreversible glycolytiske reaktioner, som er allosterisk/hormonelt reguleret.

Opgave 3.

- 1) Afsættes samhørende værdier af v_0 og [S] f.eks. som de reciprokke værdier i et Lineweaver-Burke plot fås en ret linie. Udfra skæringspunkterne med hhv. x- og y-aksen bestemmes K_m til 2 mM og V_{max} til 0,83 mM · min⁻¹.
- 2) På et hvert punkt af progresskurven kan substratkoncentrationen beregnes ved at trække produktkoncentrationen fra den initiale substratkoncentration. Hastigheden i punktet beregnes som hældningen af tangenten i punktet. Udfra samhørende værdier af v og [S] bestemmes K_m og V_{max} som ovenfor.
- 3) $v_0 = 0,83 \cdot 0,9 = 0,75 \text{ mM} \cdot \text{min}^{-1}$; $0,75 = 0,83 \cdot S / S + 2$; $S = 18,75 \text{ mM}$

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Syge- og reeksamen i Biokemi (4 timer)

Januar 2001

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Hæmoglobin og gastransport.

Besvarelsen skal indeholde:

1. En beskrivelse af hæmoglobins molekylære struktur (20%).
2. En beskrivelse af hæmoglobins oxygenbinding, herunder en skitsering af oxygenbindingskurven, samt betydningen af Bohr-effekten, tilstedeværelsen af 2,3- bisphosphoglycerat og dannelsen af carbaminoforbindelser (30%).
3. En angivelse af udgangsstoffer for, og regulation af, syntesen af hæm (10%).
4. En redegørelse for omsætningen af hæm (20%).
5. En angivelse af, med begrundelse, hvilke former for vitamin- og mineralmangel, som typisk kan forårsage anæmi (20%).

Problemløsningsopgave 1

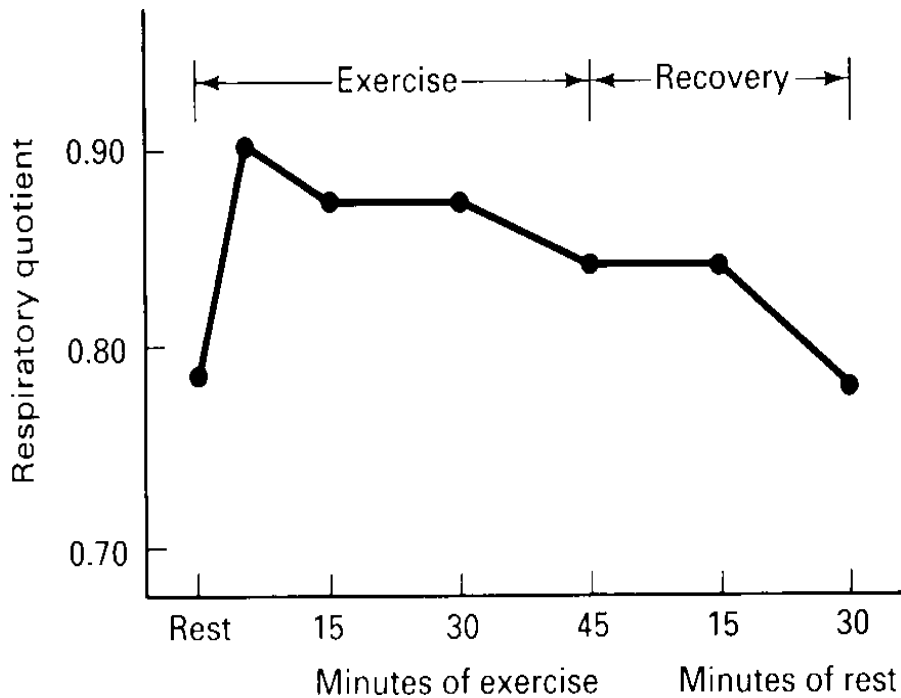
Koncentrationen af phosphokreatin ønskes bestemt i en muskelbiopsi: Vævet lynfryses og knuses, hvorefter de metaboliske processer inaktiveres ved tilsætning af syre. De lavmolekylære metabolitter ekstraheres, og ekstraktet neutraliseres, hvorved det fortyndes yderligere så slutkoncentrationen i ekstraktet bliver $0,02 \text{ g væv} \cdot \text{ml}^{-1}$.

For at måle phosphokreatin koncentrationen i $0,25 \text{ ml}$ prøve (ekstrakt) tilsættes $0,75 \text{ ml}$ buffer indeholdende glucose, NADP^+ , glucose 6-phosphat dehydrogenase og hexokinase. Efter henstand, når absorbansen er blevet konstant, aflæses den til $0,410$ ved 340 nm (1 cm kuvette). Der tilsættes nu $100 \mu\text{l}$ af en blanding af kreatin kinase og ADP. Efter reaktionen er løbet til ende aflæses absorbansen til $0,853$.

1. Opskriv de reaktioner, der forløber i reaktionsblandingen (35%).
2. Beregn phosphokreatin koncentrationen i musklen ($\mu\text{mol} \cdot \text{g væv}^{-1}$). Den molære absorptionskoefficient for NADPH ved 340 nm er $6220 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (35%).
3. Beskriv en analyseprocedure, baseret på absorptionsmåling ved 340 nm , hvorved koncentrationen af ATP og phosphokreatin kan bestemmes i en og samme prøveblanding (30%).

Problemløsningsopgave 2

Nedenstående figur viser ændringerne i den respiratoriske kvotient (mol CO₂ produceret/mol O₂ forbrugt) hos en rask forsøgsperson før, under og efter udførelse af et middelsvært muskelarbejde (som f.eks. motionsløb).



1. Gør rede for baggrunden for ændringerne i den respiratoriske kvotient under overgangen fra hvile til arbejde, under arbejdet, og under hvile efter arbejdet (40%).
2. Angiv med begrundelse den maksimale værdi, som den respiratoriske kvotient under normale forhold kan antage (30%).
3. Angiv med begrundelse under hvilke normale fysiologiske forhold den respiratoriske kvotient er henholdsvis størst og mindst (30%).

Problemløsningsopgave 3

For en enzymkatalyseret reaktion målt de i tabellen anførte initialhastigheder med og uden tilsætning af en reversibel hæmmer.

Substratkoncentration (mM)	0,25	0,50	1,00	5,00
v_0 uden hæmmer ($\mu\text{M}\cdot\text{min}^{-1}$)	5,5	8,6	13,0	19,8
v_0 med hæmmer ($\mu\text{M}\cdot\text{min}^{-1}$)	4,8	7,4	9,7	13,1

1. Vis ved hjælp af en lineær afbildning, at enzymet følger Michaelis-Menten kinetik. Bestem desuden K_m og V_{max} (40%).
2. Vis ved hjælp af afbildningen, hvilken type hæmning, der er tale om (25%).

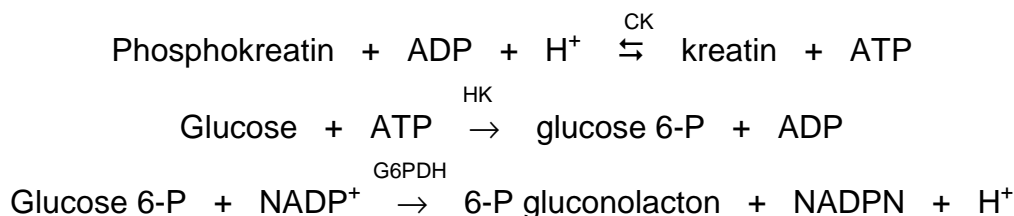
Ved substratkoncentrationen 0,25 mM vil der i forsøget uden hæmmer efter 10 min være dannet 45 μM produkt.

3. Beregn substratkoncentrationen efter 10 min, samt forholdet mellem hastighederne til tiden 0 og 10 min, idet ændringen i hastigheden alene skyldes ændring i enzymets mætning (35%).

Facit januar 2001.

Opgave 1.

1.



2.

17 $\mu\text{mol} \cdot \text{g væv}^{-1}$

3.

Glucose, NADP^+ og glucose 6-P dehydrogenase blandes og absorbansen ved 340 nm aflæses. ATP måles ved at tilsætte hexokinase og aflæse absorbansen når reaktionen er løbet til ende. Herefter måles phosphokreatin som ovenfor beskrevet.

Opgave 2.

1.

Under hvile inden muskelarbejdet er $\text{RQ} < 0.8$ fordi organismen overvejende får sit energibehov dækket ved fedtforbrænding. Den bratte stigning i RQ ved arbejdets begyndelse afspejler musklernes skift til kulhydratforbrænding for at dække det øgede energibehov. Det gradvise fald i RQ under det længerevarende arbejde (45 min) afspejler tømningen af musklernes glycolydepot og den tilsvarende forøgelse af fedtforbrændingen. Efter muskelarbejdet fortsætter RQ med at falde, da musklerne nu udelukkende forbrænder fedt.

2.

RQ kan maksimalt antage værdien 1.0, svarende til at hele organismen forbrænder kulhydrat: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 \Rightarrow 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$, dvs. $\text{RQ} = 6/6 = 1.0$.

3.

Under normale fysiologiske forhold vil RQ nå den maksimale værdi efter indtagelse af et kulhydrat-rigt måltid. Den minimale værdi ($\text{RQ} = 0.7$) vil ses, når fedtforbrændingen er maksimal, d.v.s. ved længerevarende faste eller ved længerevarende fysisk arbejde (såsom marathondøb).

Opgave 3.

1.

Der fås en ret linie i en lineær transformeret Michaelis-Menten kurve; f.eks. en Lineweaver-Burk afbildning. K_m aflæses til 0,8 mM uden hæmmer, og til 0,5 mM med hæmmer. V_{max} aflæses til $22 \mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1}$ uden hæmmer, og til $14,3 \mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1}$ med hæmmer.

2.

Hæmmeren er unkompetitiv, K_m og V_{max} formindskes begge (i samme forhold).

3.

$[\text{S}]$ efter 10 min = 0,205 mM
 v efter 10 min = $4,5 \mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1}$
 v efter 10 min / $v_0 = 0,82$.

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Ordinær eksamen i Biokemi (4 timer)

December 2000

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelsene skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelsene skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Ketonstoffer

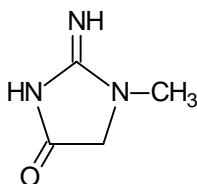
Besvarelsen skal omfatte:

1. En redegørelse for syntesen af ketonstofferne (30 %).
2. En redegørelse for ketonstoffernes betydning ved faste og ved insulin afhængig diabetes mellitus; herunder samspillet mellem organismens forskellige organer (50%).
3. En redegørelse for de reaktioner hvorved ketonstofferne omdannes til intermediære i det energiproducerende stofskifte (20%).

Problemløsningsopgave 1

Indtagelse af 20 g kreatin dagligt i 5-7 dage øger præstationsevnen ved udførelse af gentagne højintensive arbejdsbelastninger (citat: E.A. Richter, Kreatin - et præstationsfremmende kosttilskud af medicinsk interesse, Ugeskrift for læger, 10 april 2000).

1. Beskriv kreatins fysiologiske betydning i musklerne (30%).
2. Kreatin syntetiseres ud fra glycin og guanidinogruppen fra arginin, hvorefter det dannede guanidinoacetat påsættes en methylgruppe. Beskriv kort denne methyleringsproces (30%).
3. Den aktive form af kreatin omdannes ved en ikke-enzymkatalyseret reaktion til det nedenfor viste stof. Angiv stoffets navn, og angiv, hvorledes det elimineres (20%).



4. Hvorledes kan et kosttilskud af kreatin tænkes at øge præstationsevnen, som ovenfor beskrevet (20%).

Problemløsningsopgave 2

Tyndtarmens epithelceller (enterocytter) får en stor del af deres energibehov dækket ved omsætning af glutamin til alanin. Glutaminen kan optages enten fra tarmlumen efter et proteinholdigt måltid eller fra blodet. Den dannede alanin afgives til blodet.

1. Skitsér omsætningsvejen for omdannelsen af glutamin til alanin i tyndtarmens epithelceller, og beregn det maksimalt opnåelige energiudbytte ved denne omsætning (mol ATP/mol glutamin) (40%).
2. Angiv biproduktet (foruden kuldioxid) ved ovennævnte omsætning, og beskriv dets videre omsætning i organismen (30%).

Tyndtarmens epithelceller er mitotisk aktive celler, som også anvender glutamin som NH_2 -donor i andre reaktioner.

3. Giv et eksempel på en sådan reaktion, og angiv i hvilken stofskiftevej, den pågældende reaktion indgår (30%).

Problemløsningsopgave 3

Erythrocytternes stofskifte har som formål af tilvejebringe ATP, NADPH samt at opretholde et passende niveau af 2,3-bisphosphoglycerat (2,3-BPG).

1. Beskriv hvilke stofskifteveje, erythrocytten anvender for at danne ATP, NADPH og 2,3-BPG, samt betydningen af disse stoffer for erythrocytten (35%).

En arvelig sygdom skyldes nedsat funktion af enzymet glucose-6-phosphat dehydrogenase i erythrocytter.

2. Hvilke symptomer kunne man forvente hos en patient med denne defekt? (15%)

For at måle aktiviteten af dette enzym sættes 2990 μl af en reaktionsblanding indeholdende glucose-6-phosphat og NADP^+ til en kuvette med lysvej på 1 cm. Herefter tilsættes 10 μl af den prøve, man vil måle på, hvorefter absorbansændringen ved 340 nm følges med tiden.

3. Beregn aktiviteten i prøven i $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$, hvis absorbansen stiger med $0,100 \cdot \text{min}^{-1}$ og den molære absorptionskoefficient for NADPH er $6220 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (30%)

En anden arvelig sygdom skyldes nedsat funktion af pyruvat kinase i erythrocytterne.

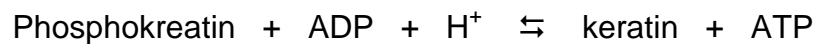
4. Beskriv, hvorledes man ved at følge absorbansændringen ved 340 nm kan måle aktiviteten af pyruvat kinase i en prøve, herunder hvilke komponenter reaktionsblandingen skal indeholde (20%).

Facit december 2000.

Opgave 1.

1.

Den phosphorylerede form af kreatin, phosphokreatin, virker som energibuffer i muskler. Phosphokreatin kan via kreatin kinase reaktionen phosphorylerer ADP til ATP:



Under muskel kontraktionen forbruges ATP og reaktionen er vigtig for at opretholde ATP koncentrationen og hermed evnen til kontraktion under kortvarigt hårdt anaerobt arbejde. Mængden af phosphokreatin i muskler rækker til 5-10 sekunders forbrug under maksimal belastning. Under hvile gendannes phosphokreatin ved den modsatte rettede reaktion.

2.

Methyl gruppen kommer fra C-1 donoren S-Adenosylmethionin der herved omdannes til S-adenosylhomocystein. Efter fraspaltning af adenosin gendannes methionin ved methylering med methyl-THF.

3.

Kreatinin. Kreatinin dannes udfra phosphokreatin (og kreatin) med en konstant hastighed, afhængig af muskelmassen. Kreatinin udskilles med urinen.

4.

Indtagelsen af store mængder kreatin øger musklernes indhold af kreatin og dermed koncentrationen af phosphokreatin.

Opgave 2.

1.

Glutamin hydrolyseres til glutamat af glutaminase. Glutamat transamineres med pyruvat til α -ketoglutarat og alanin (sidstnævnte afgives til blodet). α -ketoglutarat omsættes i TCA-cyklus til malat og videre til pyruvat (katalyseret af malatenzymet). Energiudbytte per omsat molekyle glutamin: 1 NADH (α -ketoglutarat dehydrogenase) + 1GTP (succinat thiokinase) + 1 FADH₂ (succinat dehydrogenase) + 1 NADPH (malatenzymet), teoretisk set svarende til maksimalt 9 ATP/glutamin. Som alternativ omsætningsvej fra malat til pyruvat kan nævnes: malat => oxaloacetat => PEP => pyruvat. Dette vil ikke ændre energiudbyttet.

2.

Glutaminase reaktionen frisætter ammoniumioner, som afgives til portveneblodet. P.g.a. deres neurotoksicitet optages de hurtigt af leveren, hvor de indgår i urinstof syntesen eller evt. i en ny syntese af glutamin ved glutamin syntetase.

3.

Mitotisk aktive celler har behov for nukleotider til DNA-syntese. Glutamin indgår som NH₂-donor i syntesen af carbamoylphosphat (katalyseret af carbamoylphosphat syntetase II, ikke at forveksle med enzymet i urinstofsyntesen), som er udgangsstof i syntesen af pyrimidinnukleotider. Glutamin indgår også som NH₂-donor i 3 reaktioner i syntesen af puriner (f.eks. glutamin PRPP amidotransferase reaktionen).

Opgave 3.

1.

Glycolyse; ATP til ionpumper. Pentosephosphat pathway; NADPH til gendannelse af GSH. 1,3-bisphosphoglycerat fra glycolysen \rightarrow 2,3-bisphosphoglycerat (enzym: mutase) allosterisk effektor der binder sig til deoxyhæmoglobin

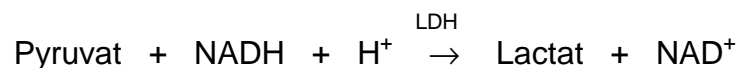
2.

Anæmi.

3.

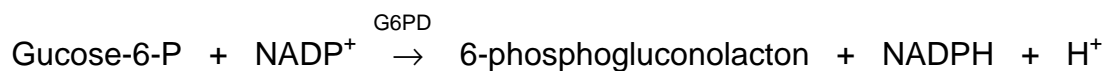
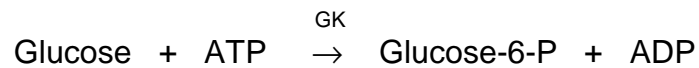
$4,82 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$.

4.



Her registreres faldet i absorbansen ved 340 nm.

Alternativt kan det dannede ATP måles ved følgende reaktioner:



Her registreres en øgning i absorbansen ved 340 nm.

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Syge- og reeksamen i Biokemi (4 timer)

Juni 2000

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelsene skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelsene skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

ESSAYOPGAVE

Leverens rolle i energiomsætningen

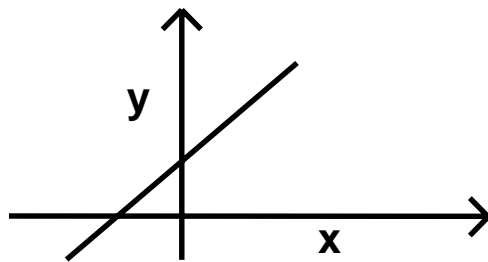
Besvarelsen skal omfatte:

1. En redegørelse for leverens rolle i opretholdelsen af organismens energihomeostase under forskellige fysiologiske forhold. (25%)
2. En kortfattet beskrivelse af de implicerede reaktionsveje samt en redegørelse for disses regulation. (75%)

Problemløsningsopgave 1.

Efter udførelse af en række målinger af initialhastigheder ved forskellige substratkoncentrationer kan de kinetiske parametre K_m og V_{max} for et Michaelis-Menten enzym bestemmes ved hjælp af en graf som vist i figur 1.

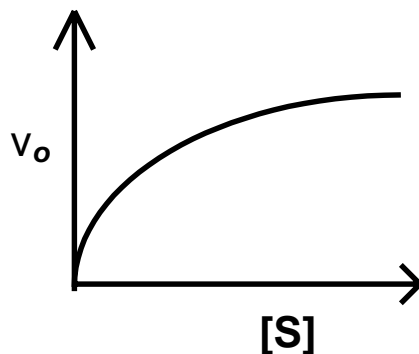
figur 1



1. Angiv enheder for x-aksen og y-aksen samt hvorledes K_m og V_{max} kan bestemmes v.h.a. grafen. (25%)
2. Angiv hvorledes tilstedeværelsen af a) en kompetitiv hæmmer og b) en fordobling af enzymkoncentrationen, vil påvirke grafen. (25%)

Figur 2 viser den typiske sammenhæng mellem substratkoncentrationen $[S]$ og initialhastigheden v_o for et Michaelis-Menten enzym. For et regulatorisk enzym, som udviser kooperativitet og allosteri, vil sammenhængen mellem $[S]$ og v_o være forskellig fra den i figur 2 afbildede.

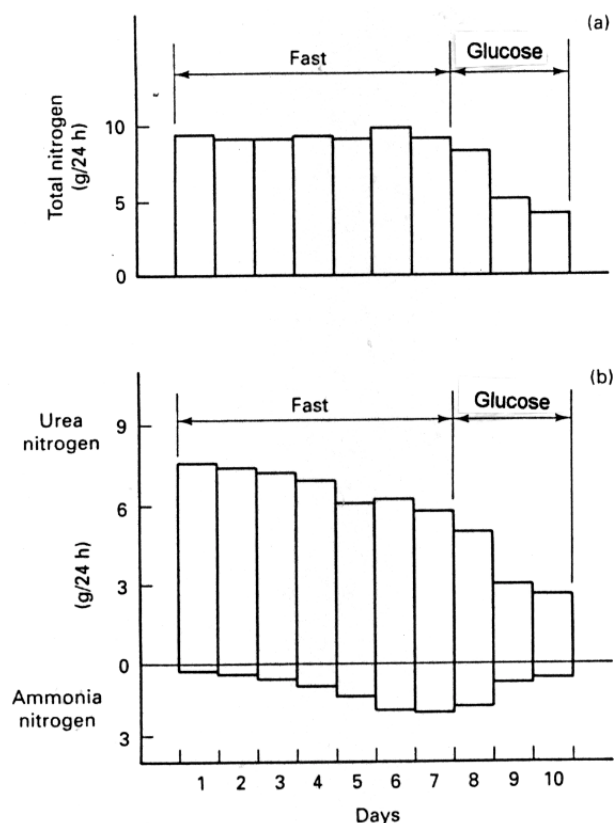
figur 2



3. Skitsér hvorledes en tilsvarende kurve ser ud for et enzym der udviser positiv kooperativitet og giv en forklaring på betydningen af positiv kooperativitet. (25%)
4. Skitsér hvorledes tilstedeværelsen af henholdsvis en negativ og en positiv allosterisk effektor kan påvirke sammenhængen mellem $[S]$ og v_o for et enzym, der udviser positiv kooperativitet. (25%)

Problemløsningsopgave 2.

I et forsøg med en voksen rask forsøgsperson måltet døgnnitrogenudskillelsen over en periode på 10 dage. De første 7 dage fastede forsøgspersonen fuldstændigt, og herefter indtog vedkommende kulhydrat (100 g/døgn i form af glucose) som eneste energikilde de sidste 3 dage. Den øverste figur (a) viser den totale døgnnitrogenudskillelse (g/24 timer). Den nederste figur viser døgnnitrogenudskillelsen fordelt på henholdsvis urinstof (urea) og ammoniak (ammonia).



1. Giv en forklaring på ændringen i den totale døgnnitrogenudskillelse efter overgangen fra total faste til kulhydratindtagelse. (30%)
2. Beskriv reaktionen, der er ansvarlig for udskillelsen af ammoniak i urinen, angiv enzymnavnet og reaktionens fysiologiske betydning. (35%)
3. Giv en forklaring på ændringerne i døgnudskillelsen af ammoniak under fasten og efter indtagelsen af kulhydrat. (35%)

Problemløsningsopgave 3

Ved bestemmelse af aspartat aminotransferase i serum blandes 2500 μl buffer indeholdende aspartat, malat dehydrogenase, 100 μl NADH opløsning (4,2 mM) og 200 μl serum i en kuvette med 1 cm's lysvej.

Efter præinkubation tilsættes yderligere 200 μl 2-oxoglutarat (α -ketoglutarat), hvorpå reaktionen følges kontinuert spektrofotometrisk ved 340 nm. NADH's molære absorptionskoefficient ved 340 nm er $6.200 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

1. Opskriv reaktionsligningerne for de reaktioner, der sker i kuvetten (20 %).
2. Hvad er absorbansen i reaktionsblandingen ved forsøgets start (30%)?
3. Hvad bliver absorbansændringen pr. minut ved en serumkoncentration af aspartat aminotransferase på $0,050 \text{ units} \cdot \text{ml}^{-1}$ (units = $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}$), som er øvre grænse for normalniveauet i serum (30 %)?
4. Giv en begrundelse for at enzymerne aspartat aminotransferase og malatdehydrogenase er vigtige for leverens urinstofproduktion (20 %).

Syge-reeksamen juni 2000: Facit.

Opgave 1

1.

Michaelis-Menten ligningen kan lineariseres på forskellige måder, f.eks. ved det dobbelt-reciprokke (*Lineweaver-Burk*) plot, hvor $1/v_0$ afbildes mod $1/[S]$. Skæringspunkterne med x-aksen og y-aksen vil her give henhv. $-1/K_m$ og $1/V_{max}$. En anden mulighed er *Hanes*-plottet, hvor $[S]/v_0$ afbildes mod $[S]$; de tilsvarende skæringspunkter giver her henhv. $-K_m$ og K_m/V_{max} .

2.

I det dobbelt-reciprokke plot vil en kompetitiv hæmmer forskyde skæringspunktet med x-aksen mod højre, mens skæringen med y-aksen er uændret. En fordobling af enzymkonc. vil rykke skæringspunktet med y-aksen nedad (til det halve), men vil ikke påvirke skæringen med x-aksen. I *Hanes*-plottet vil en komp. hæmmer parallelforskyde linien mod venstre. En fordobling af enzymkonc. vil rykke skæringspunktet nedad (til det halve) uden at ændre skæringen med x-aksen.

3.

Sammenlignet med Michaelis-Menten kurven vil positiv kooperativitet højreforskyde kurven og gøre den s-formet (*sigmoid*). Ved positiv kooperativitet er enzymet mere følsomt over for små variationer i substratkonc. på kurvens midterste stejle stykke, som ofte vil ligge i det fysiologisk relevante område for $[S]$.

4.

En negativ allosterisk effektor vil højreforskyde kurven og forøge *sigmoiditeten*; en positiv effektor vil venstreforskyde kurven og formindske *sigmoiditeten*.

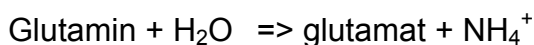
Opgave 2.

1.

Under total faste er døgnnitrogenudskillelsen relativ høj p.g.a. forøget proteinnedbrydning. Denne er nødvendig, da aminosyrer er vigtige substrater for opretholdelse af [blodglukose] v.h.a. glukoneogenese (alanin cyklus). Indtagelse af selv moderate mængder kulhydrat mindsker behovet for glukoneogenese og proteinnedbrydningen og dermed nitrogenudskillelsen falder derfor til basalniveauet (omtales ofte i lærebøger som 'protein sparing effect of carbohydrate').

2.

Enzymet *glutaminase* katalyserer reaktionen:



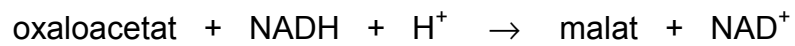
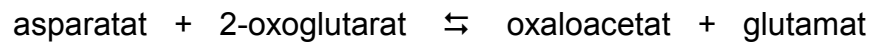
Enzymet findes bl.a. i nyrerne, hvor den frisatte ammoniak i form af NH_4^+ udskilles med urinen. Reaktionen repræsenterer en alternativ nitrogenudskillelsesform til urinstof. Da ammoniak (i modsætning til urinstof) protoniseres til NH_4^+ inden udskillelsen, er reaktionen også vigtig for opretholdelse af blodets syre-base ligevægt.

3.

Under en længerevarende faste ses en gradvis forøgelse af konc. af ketonstoffer i blodet (ketose), der som karboxylsyrer vil surgøre blodet (ketoacidose). En forøget glutaminaseaktivitet og udskillelse af ammoniak i nyrerne vil modvirke acidosen. Efter kulhydratindtagelse falder ketonstof dannelsen i leveren drastisk. Når acidosen mindskes, mindskes også behovet for nitrogenudskillelse i form af ammoniak.

Opgave 3.

1.



2.

Absorptionen i kuvetten: = 0,868

3.

$\Delta A/\text{min} = 0,021$

4.

De katalyserer gendannelsen af asparatat fra fumarat (Fumarat \rightarrow malat \rightarrow oxaloacetat \rightarrow asparatat).

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Ordinær eksamen i Biokemi (4 timer)

Maj 2000

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelsenerne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelsenerne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

ESSAYOPGAVE

Enzymhæmning samt fordøjelse og absorption af lipider.

Er malabsorption af fedt svaret på fedme?

Fedme forekommer med så hastigt stigende prævalens, at WHO har karakteriseret udviklingen som epidemisk. Antallet af adipositas-patienter med komplikationer øges år efter år, og da professionel diætetisk behandling ikke udbydes i primær sektoren, er interessen for nye medikamenter stor. Med registreringen af en hæmmer, Orlistat, af pancreaslipasen er der introduceret en ny generation af lægemidler, som er skræddersyet til at påvirke såvel energibalance som spiseadfærd. (Uddrag af en artikel af Arne V. Astrup i ugeskrift for læger, 1. november 1999).

Besvarelsen skal indeholde:

1. En redegørelse for, hvorledes aktiviteten af et enzym kan reduceres af såvel irreversible som reversible hæmmere og en angivelse af, hvorledes de forskellige typer af reversible hæmmere påvirker enzymets K_m og V_{max} (30%).
2. En redegørelse for pancreaslipasens virkning (15%).
3. En redegørelse for fordøjelse og absorption af triacylglycerol, herunder dannelsen af chylomicroner (35%).
4. Ved behandling med Orlistat anbefales vitamintilskud. Angiv årsagen til vitaminmangel, hvilke vitaminer der bør gives som tilskud, og beskriv kort de symptomer mangel på disse vitaminer kan tænkes at medføre (20%).

Problemløsningsopgave 1

Når lipasehæmmeren Orlistat (se essayopgaven) administreres i forbindelse med en velafbalanceret, let hypokalorisk, diæt vil 30% af det indtagne triacylglycerol udskilles uomdannet.

1. Beregn hvor mange kJ der "spares" ved Orlistat behandling når en overvægtig patient sættes på en diæt der indeholder 10.000 kJ per dag og hvor 30% af energien kommer fra fedt (25%).
2. Beregn hvor mange gram triacylglycerol der dagligt vil udskilles med fæces under behandlingen (25%).

Orlistat er blevet kaldt fedt-antabus.

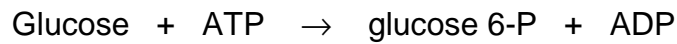
3. Beskriv hvorledes Orlistat kan tænkes at påvirke patienternes spiseadfærd (15%).

Orlistat absorberes ikke fra tarmen. Dette er afgørende for lægemiddelets kliniske anvendelse, idet Orlistat kan hæmme alle humane triacylglycerol lipaser.

4. Angiv funktion og lokalisation af de øvrige humane triacylglycerol lipaser (35%).

Problemløsningsopgave 2

Glucosephosphoryleringen katalyseret af hexokinase (K_m for glucose: 0,01 mM) og glucokinase (K_m for glucose: 10 mM) kan måles spektrofotometrisk ved en koblet målemetode med hjælpeenzymene glucose 6-phosphat dehydrogenase og lactonase:



Til en bufferblanding på 1,95 ml indeholdende de nødvendige substrater, coenzym og hjælpeenzym sættes 0,05 ml af et vævsekstrakt med hexokinase. Glucose-koncentrationen er 0,5 mM i reaktionsblandingen og absorptionsændringen ved 340 nm, der er lineær med tiden, registreres til 0,10 pr min.

1. Beregn hexokinase aktiviteten i vævsekstraktet ($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$). Den molære absorptionskoefficient for NADPH ved 340 nm er $6.200 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (30%).

Måling af glucosephosphoryleringshastigheden ved både 0,5 og 200 mM glucose kan med god tilnærmelse bruges til at beregne aktiviteten af begge de to enzymer i ekstrakter fra væv hvor både hexokinase og glucokinase findes.

2. Giv en begrundelse for ovenstående antagelse er korrekt (30%).

I et leverekstrakt måles glucosephosphoryleringshastigheden ved 200 mM glucose til $1,6 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g væv}^{-1}$ og ved 0,5 mM glucose til $0,3 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g væv}^{-1}$.

3. Angiv aktiviteten ($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g væv}^{-1}$) af hexokinase og glucokinase i levervævet (20%).
4. Beskriv hvorledes målemetodens følsomhed kan fordobles ved tilsætning af endnu et hjælpeenzym (20%).

Problemløsningsopgave 3

Ved oprensning af et enzym fra et vævsekstrakt fandt man følgende data

	Volumen ml	Protein mg·ml ⁻¹	Aktivitet μmol·min ⁻¹ ·ml ⁻¹
Vævsekstrakt	10	60,7	72,8
Oprenset fraktion	2	0,13	24,8

Ved sodium dodecylsulfat-polyacrylamidgelelektroforese (SDS-PAGE) af den oprensede fraktion fandt man et enkelt bånd svarende til molmassen 72.000 Da.

1. Skitsér hvorledes molmassen kan bestemmes ved SDS-PAGE (20%).
2. Beregn udbytte og oprensningsgrad for enzymet i den oprensede fraktion (30%).
3. Hvordan vil man forvente, at udbytte og oprensningsgrad ville ændre sig ved yderligere forsøg på oprensning set i lyset af resultatet af gelelektroforesen (20%)?
4. Beregn enzymets turnoveral (k_{cat}) (30%).

Facit problemløsningsopgaver maj 2000

Opgave 1

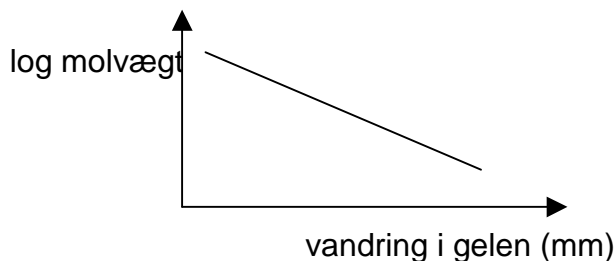
1. 900 kJ
2. 24 g
3. De gastrointestinale bivirkninger (fedtede afføringer og olielignende udflåd) er knyttet til måltidernes fedtindhold så hvis patienten spiser fedtholdig mad følger bivirkningerne umiddelbart. Behandlingen lærer ligeledes patienten hvilke fødemidler der indeholder skjult fedt.
4. Lipoprotein lipase fra kapillærernes endothelcellemembran, der nedbryder triacylglycerol i cirkulerende chylomicroner og VLDL, til fedtsyre og glycerol. Hormon sensitiv lipase i adipocytter, der nedbryder fedtvævet triacylglycerol til fedtsyre og glycerol.

Opgave 2.

1. $0,645 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$.
2. Ved $[S] = 0,5 \text{ mM}$ er v_0/V_{max} for HK 0,98; for GK 0,048.
Ved $[S] = 200 \text{ mM}$ er v_0/V_{max} for HK 1,00; for GK 0,95.
3. HK aktiviteten: $0,3 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g væv}^{-1}$. GK aktiviteten: $1,3 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g væv}^{-1}$.
4. Ved tilsætning af 6-phosphogluconat dehydrogenase dannes af endnu et molekyle NADPH:

Opgave 3.

1.



2. Udbytte: 6,8 %; Oprensningsgrad: 159
3. Oprensningsgraden vil være uændret; udbyttet vil falde.
4. $k_{\text{cat}} = 13.740 \text{ min}^{-1}$.

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Syge- og reeksamen i Biokemi (4 timer)

Januar 2000

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

ESSAYOPGAVE

Energivitaminerne: thiamin, riboflavin, niacin og pyridoxin

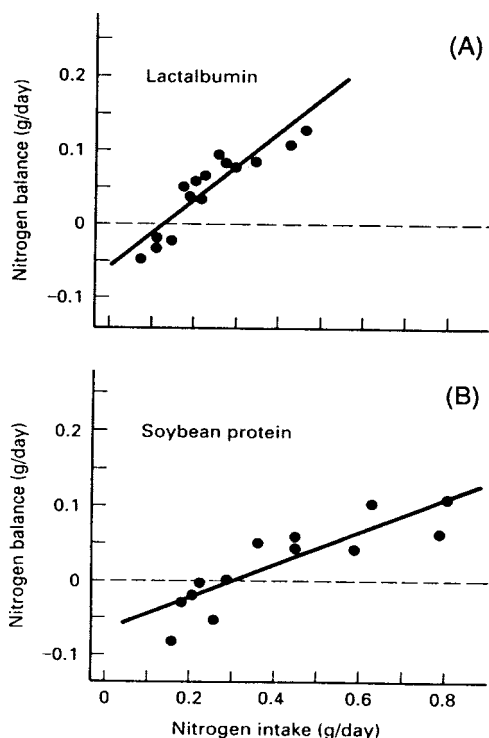
Vitaminerne thiamin (B₁), riboflavin (B₂), niacin (B₃) og pyridoxin (B₆) har stor betydning for reaktioner i det intermediære stofskifte.

Besvarelsen skal omfatte:

1. En beskrivelse af den aktive form af hvert af vitaminerne samt af hvilke typer reaktioner de medvirker i som coenzym/prosthetisk gruppe (30%).
2. En kortfattet gennemgang af de enkelte reaktioner i kulhydrat-, lipid-, aminosyre- og ethanolomsætningen hvori vitaminerne indgår (30%).
3. En redegørelse for reguleringen af den reaktion, der forbinder glycolyse og TCA-cyklus og hvori 3 af vitaminerne indgår (20 %).
4. Angivelse af de vigtigste kilder i kosten til disse 4 vitaminer samt af mangelsymptomer og risikogrupper i Danmark (20%).

Problemløsningsopgave 1

I forsøget vist på nedenstående figur målt nitrogenbalancen (gram nitrogen/dag) for to grupper af unge aber under vækst, som fik tilført forskellige mængder af protein (gram nitrogen/dag). Alle aberne i begge grupper fik tilført tilstrækkeligt med energi i form af kulhydrat. Som protein indtog aberne i den ene gruppe mælkeproteinet lactalbumin (A) og i den anden gruppe sojabønneprotein (B).



1. Definér nitrogenbalance og giv eksempler på fysiologiske tilstande hvor nitrogenbalancen er nul, positiv og negativ (40%).
2. Giv en forklaring på hvorfor hældningen af de rette linier i A og B er forskellig.(30%)
3. Skitsér hvorledes sammenhængen mellem stigende indtag af protein og nitrogenbalance ville være i et tilsvarende forsøg med voksne aber og forklar kurvens form. (30%)

Problemløsningsopgave 2

Sidste trin i glykolyzen, omdannelsen af phosphoenolpyruvat (PEP) til pyruvat, katalyseres af enzymet pyruvat kinase. Aktiviteten af pyruvat kinase i et lever-ekstrakt måles ved kobling til laktat dehydrogenase reaktionen. Reaktionsforløbet følges ved at registrere faldet i absorptionen ved 340 nm.

Til 0,02 ml leverekstrakt i en kuvette sættes 0,96 ml buffer indeholdende ADP og laktat dehydrogenase. Absorbansen ved 340 nm aflæses til 0,150 hvorefter der tilsættes 0,02 ml 7,5 mM NADH.

1. Beregn absorbansen i kuvetten (lysvej 1 cm) efter tilsætning af NADH ($\epsilon = 6220 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) (20%).

Reaktionen startes ved tilsætning af phosphoenolpyruvat .

2. Opskriv ligningerne for de reaktioner der forløber i kuvetten efter tilsætning af phosphoenolpyruvat (20%).

I tre måleserier undersøges substratkoncentrationens indflydelse på hastigheden uden tilsætning (I), med tilsætning af fructose 1,6 bis-phosphat (II) og med tilsætning af alanin (III). Følgende resultater opnås:

PEP mM	I v_o $\mu\text{M}/\text{min}$	II v_o $\mu\text{M}/\text{min}$	III v_o $\mu\text{M}/\text{min}$
0,05	0,08	1,9	0,04
0,10	0,16	6,4	0,10
0,25	0,48	11,3	0,30
0,50	1,3	12,9	0,64
1,0	3,2	14,5	1,6
1,5	8,0	15,4	3,5
2,0	12,0	15,8	5,6
3,0	16,0	16,0	9,6
5,0	16,0	16,0	12,9

3. Afsæt måleværdierne for serie I et koordinatsystem, giv en forklaring på kurvens form og angiv hvor mange gange koncentrationen af phosphoenolpyruvat skal øges for at øge initialhastigheden fra $0,1 \cong V_{\max}$ til $0,9 \cong V_{\max}$ (30%). (opgaven fortsættes næste side)

4. Angiv hvilken type effektor af pyruvat kinase, fructose 1,6 bis-phosphat og alanin tilhører (30%).

Problemløsningsopgave 3

For at undersøge effekten af hypoxi på et organ, blev leveren udtaget fra en rotte. Derefter blev vævsprøver herfra udtaget efter 0, 1 og 2 minutter. Alle enzymprocesser blev standset ved at anbringe vævsprøverne i flydende nitrogen, pulverisere dem og tilsætte perchlorsyre.

Følgende metabolitkoncentrationer blev bestemt i $\mu\text{mol/g}$ våd vægt:

<u>Metabolit</u>	<u>0 min</u>	<u>1 min</u>	<u>2 min</u>
ATP	2,6	1,3	0,4
ADP	0,8	1,5	1,2
AMP	0,1	0,7	1,9

1. Giv en forklaring på ændringerne i metabolitkoncentrationerne (40 %).
2. Hvilke muligheder har henholdsvis lever og muskel for at danne ATP under hypoxi (30%).
3. Angiv hvorledes regulatoriske enzymer i kulhydratstofskiftet påvirkes af den øgede AMP-koncentration under hypoxi (30 %).

Forslag til besvarelse af problemløsningsopgaver ved syge- reeksamen i biokemi januar 2000.

Opgave 1.

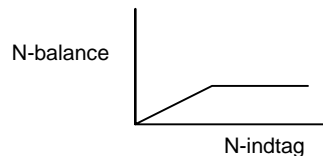
1.

$N\text{-balance} = N_{\text{ind}} - N_{\text{ud}}$. Positiv: vækst og genoptræning; negativ: underernæring; velnærede udvoksede individer er i N-ligevægt.

2.

Lactalbumin har en højere biologisk værdi end soyabønne protein.

3.



Opgave 2.

1.

1,080.

2.

$\text{PEP} + \text{ADP} \rightarrow 6 \text{ pyruvat} + \text{ATP}$

$\text{Pyruvat} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{Lactat} + \text{NAD}^+$

3.

Positiv kooperativitet; 4 gange.

4.

Positiv, hhv. negativ allosterisk effektor.

Opgave 3.

1.

ATP forbrugende reaktioner til opretholdelse af cellulære funktioner. Adenylatkinasen vil med tiden opdanne alt ATP og ADP til AMP.

2.

Anaerob glycogen nedbrydning og for muskler desuden kreatinkinase reaktionen.

3.

Glycogenphosphorylase og phosphofruktokinase aktiveres af AMP.

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Ordinær eksamen i Biokemi (4 timer)

December 1999

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

ESSAYOPGAVE

Faste.

Besvarelsen skal indeholde:

1. En beskrivelse af det metaboliske samspil mellem lever, hjerne, muskler og fedtvæv under det tidlige, såvel som under et længerevarende fasteforløb. (Der ønskes ikke under dette punkt en gennemgang af de enkelte enzymatiske reaktioner i metabolismen). (50%).
2. En beskrivelse af de reaktioner i lever og fedtvæv hvis enzymer under faste er reguleret ved allosteriske effektorer og/eller kovalent modifikation; samt en beskrivelse af, hvori denne regulering består. (50%).

Problemløsningsopgave 1

D-tagatose er en D-fructose isomer, som fødemiddelproducenterne stiller store forventninger til som kunstigt sødemiddel. Stoffet har samme sødeevne som sucrose, men har en meget lavere næringsværdi. I modsætning til de kendte kunstige sødemidler "fylder" det som sucrose og vil derfor være velegnet i f.eks. kage- og chokoladeprodukter.

1. Angiv energiindholdet (forbrændingsvarmen) i D-tagatose (kJ/g) (20%).

Den lavere næringsværdi skyldes malabsorption, idet kun 25% absorberes i tyndtarmen. Det absorberede D-tagatose omsættes i leveren på samme måde som D-fructose.

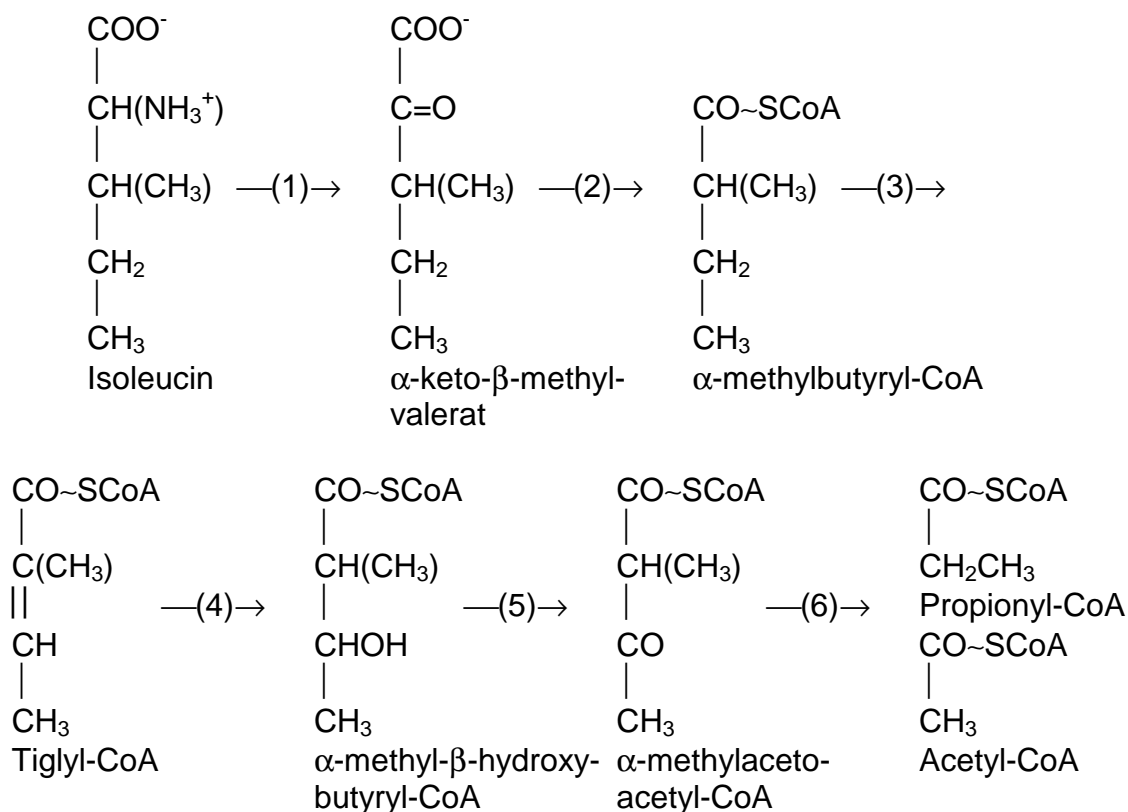
2. Beskriv kort de to første reaktioner i nedbrydningen af D-fructose (20%).

Den ikke absorberede D-tagatose føres til tyktarmen hvor 1/3 forgæres af tarmbakterier og resten udskilles med fæces. Forgæringsprodukterne kan i en vis udstrækning optages fra tarmen og omsættes. Energiindholdet i de optagne forgæringsprodukter kan sættes til halvdelen af D-tagatoses energiindhold.

3. Beregn hvor mange kJ der "spares" hvis 30 g sucrose dagligt erstattes med 30 g D-tagatose, som er den største mængde der kan tolereres uden uacceptable gastrointestinale symptomer (40%).
4. Angiv skønsmæssigt hvor mange procent af det totale daglige energiforbrug den "sparede" mængde udgør for en kvindelig studerende, der vejer 60 kg og har et normalt aktivitetsniveau (20%).

Problemløsningsopgave 2

Aminosyren isoleucin omsættes ved enzymatiske reaktioner, som er velkendte fra andre dele af det intermediære stofskifte:



Reaktion (1) katalyseres af en aminotransferase.

Reaktion (2) katalyseres af en 2-oxosyredehydrogenase (α -ketosyredehydrogenase), som fungerer på samme måde som pyruvatdehydrogenasekomplekset med hensyn til mekanisme og coenzym.

Reaktionerne (3)-(6) er de samme, som indgår i β -oxidationen af fedtsyrer.

1. Angiv de manglende substrater, produkter samt coenzym/prosthetiske grupper for de 6 reaktioner (40%).
2. Isoleucin er både en ketogen og en glucogen aminosyre. Skitser ad hvilke veje isoleucin kan danne henholdsvis glucose og acetoacetat og angiv, hvor mange mol glucose og acetoacetat, der kan dannes af ét mol isoleucin (40%).
3. Angiv betydningen af B12-vitamin (cobalamin) for omsætningen af isoleucin. (20%).

Problemløsningsopgave 3

1. Phosphoryleringen af glucose katalyseres af hexokinase. Opskriv reaktionen og beregn ΔG° , når der for nedenstående to reaktioner gælder: (50%)



En blanding indeholdende 1 mM ATP og 1 mM glucose inkuberes med hexokinase ved 25 °C og pH 7,0.

2. Beregn ligevægtskoncentrationerne af glucose, ATP, glucose-6-fosfat og ADP i blandingen. (50%)
Opgaven kan løses uden brug af en andengradsligning. Den kan imidlertid også løses ved en andengradsligning af typen $ax^2 + bx + c = 0$, hvor det gælder:

$$x = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}$$

Forslag til besvarelse af problemløsningsopgaver ved ordinær eksamen i biokemi december 1999.

Opgave 1.

1.

17-18 kJ/g.

2.

fructose + ATP \rightarrow fructose-1-P + ADP

fructose-1-P \rightarrow glyceraldehyd + dihydroxyacetonephosphat

3.

326 kJ

4.

3-4%

Opgave 2.

1.

(1) α -ketoglutarat, glutamat, pyridoxalphosphat.

(2) NAD^+ + CoA, $\text{NADH} + \text{H}^+ + \text{CO}_2$, TTP, lipoat, FAD.

(3) FAD, FADH_2 , FAD.

(4) H_2O .

(5) NAD^+ , $\text{NADH} + \text{H}^+$.

(6) CoA.

2.

PropionylCoA \rightarrow succinylCoA \rightarrow oxaloacetat \rightarrow PEP \rightarrow glucose.

Acetyl CoA \rightarrow HMG CoA \rightarrow acetoacetate.

Der vil kunne dannes $\frac{1}{2}$ mol glucose og $\frac{1}{2}$ mol acetoacetat.

3.

B12 er coenzym i omdannelsen af L-methylmalonylCoA til succinylCoA.

Opgave 3.

1.

-16,7 kJ/mol.

2.

$[\text{ADP}] = [\text{G-6-P}] = 0,97 \text{ mM}$ og $[\text{Glu}] = [\text{ATP}] = 0,03 \text{ mM}$.

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Syge- og reeksamen i Biokemi (4 timer)

Juni 1999

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Triacylglycerol

Besvarelsen skal omfatte:

1. En beskrivelse af enkeltrinene i triacylglycerolsyntesen i tarmmucosa, lever og fedtvæv med angivelse af de vigtigste kilder til de nødvendige fedtsyre- og glycerolkomponenter. Der ønskes ikke en beskrivelse af fedtsyresyntesen. (50 %)
2. En redegørelse for afgivelse af triacylglycerol fra tarmmucosa, lever og fedtvæv og en beskrivelse af udskillelsesprodukternes sammensætning og transport i blodet. (40 %)
3. En angivelse af den hormonale regulering af TAG metabolismen i de nævnte væv. (10 %)

Problemløsningsopgave 1.

Såvel dehydrogenaser som mono-oxygenaser er klassificeret som oxido-reduktaser.

1. Opskriv den generelle reaktion for en mono-oxygenase (hydroxylase) og for en dehydrogenase. (30 %)
2. Hvilke af nedenstående forbindelse er i den humane organisme substrat i en dehydrogenase katalyseret reaktion og hvilke er substrat i en mono-oxygenase (hydroxylase) katalyseret reaktion. (Overfør svaret til NCR- papiret som X1;Y2 etc.). (30 %)

Substrat	1: Dehydrogenase	2: Mono-oxygenase
A: 3- hydroxy-acyl-CoA		
B: retinol		
C: laktat		
D: phenylalanin		
E: glycerol-phosphat		
F: ethanol		
G: β -hydroxybutyrat		
H: progesteron		

3. Opskriv med angivelse af coenzym/prostetisk gruppe reaktioner, der katalyseret af en oxido-reduktase omdanner
 - a) glycerol-phosphat
 - b) phenylalanin(20 %)
4. Angiv hvilke reaktioner i TCA-cyclus, der er katalyseret af en alkoholdehydrogenase (oxidation af en -OH gruppe). (20 %)

Problemløsningsopgave 2.

Et væsentligt kriterium for anvendelse af et "fix-time" assay til måling af enzymaktivitet er, at progress-kurven er tilnærmelsesvis lineær i hele inkubationsperioden.

Dette kriterium undersøges for en reaktionsblanding bestående af 1000 μl substratopløsning (220 μM) hvortil der til tiden 0 min sættes 100 μl enzymopløsning. Efter 10 min inkubation standses reaktionen ved tilsætning af 200 μl H_2SO_4 (2 M) og en absorbans på 1,00 måles i en kuvette med en lysvej på 1 cm. Den molære absorptionskoefficient for produktet i reaktionsblandingen er $29500 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$. En reaktionsblanding, hvor H_2SO_4 er sat til inden, der er tilsat enzym, har ingen absorption ved den anvendte bølgelængde.

1. Beregn, hvor meget v/V_{max} har ændret sig efter de 10 min inkubation, hvis det antages, at denne ændring alene skyldes ændring i substratkoncentrationen og vurder om linearitetskriteriet holder, hvis afvigelsen skal være mindre end 5%. K_m er 20 μM . (40 %)
2. Beregn hvor mange enheder $\times \text{ml}^{-1}$ ($\mu\text{mol} \times \text{min}^{-1} \times \text{ml}^{-1}$) enzymopløsningen indeholder. (30%)
3. Angiv yderligere tre mulige årsager til afvigelse fra linearitet end ændring i substratkoncentration. (30%)

Problemløsningsopgave 3.

Enzymerne pyruvat carboxylase og acetyl-CoA carboxylase spiller begge en central rolle i stofskiftet.

1. Opskriv de reaktioner som de to enzymer katalyserer med angivelse af coenzymer/prostetiske grupper og subcellulær lokalisation. (30%)
2. Angiv de reaktionsveje i leveren hvori de to enzymer indgår og angiv under hvilke ernæringsmæssige forhold de er mest aktive. (20%)
3. Definer anaplerose og angiv pyruvat carboxylases betydning for denne. (20%)
4. Carboxylaser overfører en C_1 -enhed i sin mest oxiderede form. Beskriv hvorledes C_1 -enheder overføres i deres mest reducerede form. (30%)

Løsningsforslag til problemløsningsopgaver ved Syge- og reeksamen i Biokemi, juni 1999

Opgave 1.

- Ad. 1 $RH + O_2 + AH_2 \Rightarrow ROH + H_2O + A$
 $ROH + A \Rightarrow RO + AH_2$
- Ad. 2 A1; B1; C1; D2; E1; F1 (F2); G1; H2
- Ad. 3 a) $Glycerol-P + NAD^+ \rightleftharpoons dihydroxyacetone-P + NADH + H^+$
(Cytoplasmatisk)
 $Glycerol-P + ubiquinone \Rightarrow DHAP + red. Ubiquinone$ (mitochondrielt)
b) $Phe + O_2 + NADPH + H^+ \Rightarrow Tyr + H_2O + NADP^+$
tetrahydrobiopterin er coenzym i denne reaktion
- Ad. 4 De to reaktioner, der er katalyseret af henholdsvis isocitrat-dehydrogenase og malat-dehydrogenase

Opgave 2.

- ad. 1 v/V_{max} (til $t = 0$ min) = 0,91
 v/V_{max} (til $t = 10$ min) = 0,89
 $0,89/0,91 = 0,97$ (< 5 % afvigelse).
- Ad. 2 $48,5 \times 10^{-3}$ enheder $\times ml^{-1}$
- Ad. 3 Enzymdenaturering; Produkthæmning; Reversibilitet.

Opgave 3.

- Ad.1 Pyruvat carboxylase: $pyruvat + HCO_3^- + ATP \rightarrow oxaloacetat + ADP + P_i$
biotin; mitochondriematrix
Acetyl-CoA carboxylase: $acetyl-CoA + HCO_3^- + ATP \rightarrow malonyl-CoA + ADP + P_i$
biotin; cytosol
- Ad.2 Efter kulhydratrigt måltid:
Acetyl-CoA carboxylase aktiv. Indledende trin i de-novo fedtsyresyntesen.
Under faste:
Pyruvat carboxylase aktiv. Trin i gluconeogenesen.
- Ad. 3 Anaplerose:
Nettosyntese af TCA-intermediære hvis mængden af disse er utilstrækkelig.
Pyruvat carboxylase er et vigtigt anaplerotisk enzym, idet mangel på TCA-intermediære fører til ophobning af acetyl-CoA, som er allosterisk aktivator af pyruvatcarboxylasen.
- Ad. 4 C_1 -enheder i den mest reducerede form, nemlig CH_3 -grupper, overføres af forbindelserne: (N^5-) methyl-FH₄ og S-adenosyl-methionin (SAM).
 $Methyl-FH_4 + homocystein \rightarrow FH_4 + methionin$
Vitamin B₁₂ er coenzym i denne reaktion.
Methionin kan omdannes til SAM, som er methyl donor ved dannelsen af en lang række methylerede produkter, fx methylerede proteiner og nukleinsyrer, phosphatidylcholin, adrenalin og creatin.
 $SAM + R-H \rightarrow S-adenosyl-homocystein + R-CH_3$

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Ordinær eksamen i Biokemi (4 timer)

Maj 1999

Hjælpe midler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Ammoniumioner

Besvarelsen skal omfatte:

1. En beskrivelse af de reaktioner i musklen som er nødvendige for at få transporteret aminosyre- nitrogen (fra proteinnedbrydning) og NH_4^+ (frisat ved nedbrydning af nucleotider) til henholdsvis lever og nyre. For hver reaktion ønskes angivet enzymnavn og coenzym/prostetisk gruppe. (30 %)
2. En beskrivelse af de reaktioner i lever og nyre, som omsætter de fra muskel leverede ammoniumgrupper. For hver reaktion ønskes tillige angivet ^{a)} enzymnavn, ^{b)} coenzym/prostetisk gruppe, ^{c)} reversibilitet under fysiologiske forhold samt ^{d)} reaktionens fysiologiske betydning. (40 %)
3. En beskrivelse af reaktionerne i urinstofcyclus, herunder en angivelse af energetiske forhold og subcellulær lokalisation, samt en forklaring på hvorledes begge nitrogenatomer i urinstof kan stamme fra glutamat. (30 %)

Problemløsningsopgave 1.

Alkohol (ethanol) omsætningen foregår udelukkende i leveren:

1. Beskriv de to reaktioner hvorved ethanol omsættes til acetat. (20%)
2. Det har vist sig, at mange asiatiske folkeslag med lav alkoholtolerance har en arvelig variant af det enzym, der kan hæmmes med farmakaet Antabus. Denne variant af enzymet har en ændret K_m -værdi for substratet. Forklar den lave alkoholtolerance. (20%)
3. K_m for ethanol er 1 mM. Promille grænsen ved bilkørsel er 0,5 promille (vægt/volumen). Vis, at selv ved denne ethanol-koncentration forløber omsætningen med tilnærmelsesvis maksimal hastighed (ethanols molekylvægt er 46 g mol^{-1}). (15%)
4. Første trin i nedbrydningen af methanol katalyseres af det samme enzym, som det der nedbryder ethanol, men produktet er langt mere giftigt. Forklar det biokemiske rationale for indgift af ethanol ved methanolforgiftning. (20%).
5. Beskriv hvorledes indtagelsen af større mængder alkohol kan føre til lactat acidose (25%).

Problemløsningsopgave 2.

De futile cykler (substrat cykler) kan tænkes at have en regulatorisk funktion i stofskiftet, idet de kan forstærke metaboliske signaler.

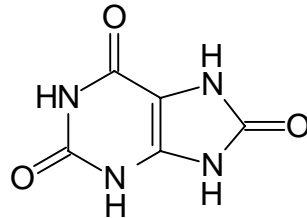
Med 25% recykling i reaktionen fra fructose-6-phosphat til fructose-1,6-bisphosphat vil nettohastigheden være 75% af den hastighed hvormed phosphofruktokinase omdanner fructose-6-phosphat.

1. a) Hvis en allosterisk modulator aktiverer phosphofruktokinasen med 50% og hæmmer fructose-1,6-bisphosphatasen med 50%, beregn da hvor mange gange nettohastigheden for dannelsen af fructose-1,6-bisphosphat vil forøges. (30%)

b) Beregn hvor mange gange den samme allosteriske modulator vil forøge nettohastigheden hvis recyklingen var 60%. (10%)
2. Beskriv to andre futile cykler i glycolysen/gluconeogenesisen. (40%)
3. Hvilken anden rolle end regulatorisk kunne futile cykler tænkes at have? (20%)

Problemløsningsopgave 3.

Lesch-Nyhan syndrom og urinsur gigt er to lidelser, som begge er karakteriseret ved udskillelse af store mængder af nedenstående forbindelse



1. Angiv navnet på forbindelsen. (10 %)

Årsagen til de to lidelser er forskellig. Gigt skyldes hyppigst en øget purin syntese forårsaget af manglende "feed back" regulering. Lesch-Nyhan syndrom skyldes mangel på enzymet hypoxanthin-guanine phosphoribosyl transferase (HGPRT)

2. Redegør for regulation af purinsyntesen og hvorfor mangel på regulation giver en forøget udskillelse af den viste komponent. (25 %)
3. Opskriv reaktionen katalyseret af HGPRT og redegør for dens funktion. (25 %)

Allopurinol er et velkendt gigtmiddel. Det oxideres til alloxantin, og det reagerer med phosphoribosylpyrophosphat, hvorved der dannes et nukleotid.

4. Forklar ud fra de givne oplysninger, hvorfor allopurinol kan anvendes til behandling af gigt. (25 %)

Der kendes flere eksempler på, at en defekt i en metabolisk "pathway" frembyder problemer i en anden "pathway".

5. Forklar hvorfor glucose-6-phosphatase mangel (von Gierke's syndrom) resulterer i en øget de novo nukleotid syntese i leveren. (15 %)

Besvarelse af problemløsningsopgaver ved ordinær eksamen i biokemi; maj 1999-

Problemløsningsopgave 1:

ad.1 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{NAD}^+ \leftrightarrow \text{CH}_3\text{CHO} + \text{NADH} + \text{H}^+$; (alkohol dehydrogenase).

$\text{CH}_3\text{CHO} + \text{NAD}^+ \leftrightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + \text{NADH} + \text{H}^+$ (aldehyd dehydrogenase). .

Ad. 2 Den genetiske variant har en meget høj K_m værdi for acetaldehyd.

Ad. 3 [alkohol] er ca. 11 gange højere end K_m .

Ad. 4 Ethanol virker som konkurrerende substrat.

Ad. 5 Ved det høje NADH/NAD^+ forhold forskydes ligevægten pyruvat \leftrightarrow lactat mod lactat

Problemløsningsopgave 2:

Ad. 1 a) 1,8 gange; b) 3 gange.

Ad. 2 $\text{glucose} + \text{ATP} \Rightarrow \text{glucose-6-P} + \text{ADP}$ (glucokinase)

$\text{glucose-6-P} + \text{H}_2\text{O} \Rightarrow \text{glucose} + \text{P}_i$ (glucose-6-phosphatase)

$\text{PEP} + \text{ADP} \Rightarrow \text{pyruvat} + \text{ATP}$ (pyruvat kinase)

$\text{pyruvat} + \text{CO}_2 + \text{ATP} \Rightarrow \text{oxaloacetat} + \text{ADP} + \text{P}_i$ (pyruvat carboxylase)

$\text{oxaloacetat} + \text{GTP} \Rightarrow \text{PEP} + \text{CO}_2 + \text{GDP} + \text{P}_i$ (PEP carboxykinase)

Ad. 3 Thermogenese.

Problemløsningsopgave 3:

Ad. 1 Urinsyre

Ad. 2 AMP,IMP og GMP hæmmer PRPP syntesen. Mangel på denne => exessive mængder af hypoxanthin ->xanthin -> urinsyre.

Ad. 3 Hypoxantin/Guanin + PRPP => XMP/GMP

Ad. 4 Hæmning af xantinoxidasen , forbrug af PRPP og hæmning af de novo purinsyntesen

Ad. 5 Via pentosephosphatshunten vil Glc-6-P -> ribose-5-P, som danner PRPP.

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I
Syge- og reeksamen i Biokemi (4 timer)
Januar 1999

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 5 sider (1-5) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Hust at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Acyl-derivater

Besvarelsen skal indeholde

1. En beskrivelse af de enkeltreaktioner, hvori acetyl-CoA indgår som enten substrat eller produkt. For hver reaktion ønskes enzymnavn, reaktionens reversibilitet under fysiologiske forhold, cofaktor (coenzym og prostetiske grupper) og organ- samt subcellulære lokalisation angivet. Desuden ønskes for hver reaktion angivet dens betydning i stofskiftet. (40 %)
2. En angivelse af, hvilke af de under 1. nævnte reaktioner, der er kovalent og/eller allosterisk reguleret og en beskrivelse af, hvori denne regulering består. (30%)
3. En redegørelse for transporten af acyl-CoA forbindelser over mitochondriemembranen, samt dennes regulering i leveren. (30%)

Problemløsningsopgave 1

I levervæv er hastigheden af glycogensyntesen ud fra UDP-glukose bestemt af forholdet mellem den aktive a-form og den mindre aktive b-form af glycogensyntase, samt af allosteriske regulatorer.

Glycogensyntesehastigheden ønskedes bestemt i et 10% leverhomogenat. Til 0,2 ml homogenat sættes 0,8 ml buffer indeholdende glycogen-primer og UDP-[¹⁴C]-glukose med en specifik radioaktivitet på 500 cpm/nmol. Efter 20 min reaktionstid blev 0,1 ml af blandingen sat på filtrerpapir, som straks derefter blev skyllet i kold ethanol. Herved standsedes reaktionen og glycogenet fældede ud på filtret, mens det ikke indbyggede UDP-[¹⁴C]-glukose vaskedes væk. Radioaktiviteten på filtret blev målt til 10.000 cpm.

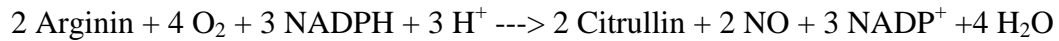
1. Beregn aktiviteten af glykogensyntase i $\mu\text{mol glukoserester} \times \text{min}^{-1} \times \text{g}^{-1}$. (40%)

I leverhomogenatet fandtes halvdelen af glycogensyntasen at være på a-form og resten på b-form.

2. Angiv hvorledes glykogensyntesehastigheden ændres, når der til reaktionsblandingen sættes: (30 %)
 - a) proteinkinase + ATP,
 - b) phosphoprotein-phosphatase eller
 - c) glukose 6-phosphat.
3. Angiv hvilke mekanismer, der ligger til grund for disse ændringer. (30%)

Problemløsningsopgave 2

Nitrogenoxid (NO) er et frit radikal. Det syntetiseres ved to på hinanden følgende reaktioner, som begge er katalyseret af en oxido-reductase, NO-synthase, som findes i flere væv, bl. a. i glatte muskelceller. Enzymet katalyserer nedenstående netto proces.



1. Opskriv reaktionsligningen for en reaktion katalyseret af en monooxygenase (hydroxylase). (25%)
2. Opskriv den reaktionscyklus, der er involveret i gendannelsen af arginin fra citrullin og glutamat. (40 %)

NO har bl. a. en kardilaterende funktion og er det aktive stof, der frisættes fra nitroglycerin, som anvendes til behandling af angina pectoris. Nitroglycerin omsættes i plasmaet efter en 1. ordens reaktion med en halveringstid på 5 min.

3.
 - a. Beregn hastighedskonstanten for nitroglycerins omsætning. (10 %)
 - b. Beregn hvor lang tid det efter ophør af behandlingen vil tage organismen at fjerne 80 % af nitroglycerinet. (25%)

Problemløsningsopgave 3.

Alkalisk phosphatase katalyserer spaltningen af phosphatestre. Et meget anvendt substrat ved bestemmelse af enzymets aktivitet er p-nitrophenylphosphat, da produktet p-nitrophenol er stærkt gult i basisk opløsning og let kan bestemmes spektrofotometrisk ($\epsilon = 18.500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ved 405 nm).

I en måleserie med et oprenset enzym i tre forskellige molære koncentrationer opnås nedenstående initialhastigheder når substratkoncentrationen varieres. Måleserien ved den højeste enzymkoncentration foretages også ved tilstedeværelse af 10 mM KH_2PO_4 (P_i).

[S] (mM)	[E] (nM)	v_0 ($\mu\text{M min}^{-1}$)
0,04	0,5	4,2
	1,0	8,6
	2,0	16,7
	2,0+ P_i	4,4
0,08	0,5	6,6
	1,0	13,0
	2,0	26,5
	2,0+ P_i	8,1
0,16	0,5	9,1
	1,0	18,7
	2,0	35,3
	2,0+ P_i	14,3
0,32	0,5	11,6
	1,0	23,5
	2,0	45,5
	2,0+ P_i	22,7
1	0,5	15,0
	1,0	30,5
	2,0	60,4
	2,0+ P_i	38,5
2	0,5	14,9
	1,0	30,0
	2,0	60,2
	2,0+ P_i	47,6

1. Skitser initialhastighedens afhængighed af enzymkoncentrationen ved forskellige substratkoncentrationer. (10%)
2. Beregn k_{kat} . (30%)
3. Før bevis for at KH_2PO_4 er en kompetitiv inhibitor. (30%)

OPGAVEN FORTSÆTTES PÅ NÆSTE SIDE

Til 900 μl 2 mM p-nitrophenylphosphat i en alkalisk buffer sættes 100 μl alkalisk phosphatase opløsning. Reaktionen stoppes efter hhv. 0, 4 og 8 min ved tilsætning af 1000 μl 0,2 M NaOH og absorbansen ved 405 nm aflæses i en kuvette med en lysvej på 1 cm:

t_{min}	A_{405}
0	0,010
4	0,380
8	0,750

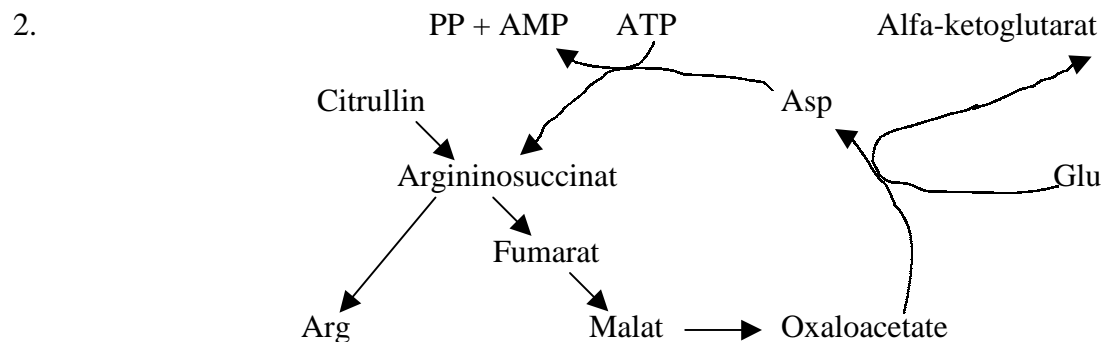
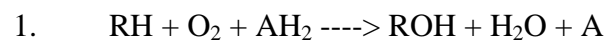
4. Beregn enzymaktiviteten i opløsningen af alkalisk phosphatase ($\mu\text{mol produkt min}^{-1} \text{ ml}^{-1}$). (30%)

Forslag til besvarelse af problemløsningsopgave ved Syge-og reeksamen i biokemi 25. jan 1999

Problemløsningsopgave 1.

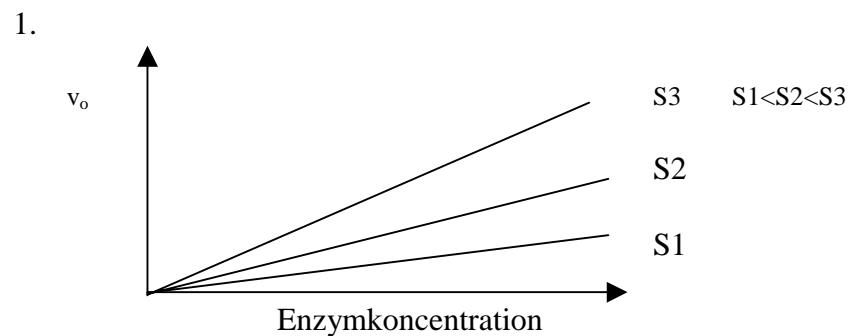
1. $0,50 \mu\text{mol glc-rester} \times \text{min}^{-1} \times \text{g}^{-1}$
2. Glykogensyntese hastigheden henholdsvis a) reduceres ; b) øges; c) øges).
3. Proteinkinase katalyserer phosphoryleringen af glycogensyntase ved hjælp af ATP, hvilket mindsker aktiviteten af syntasen, hvorved glycogensyntasehastigheden nedsættes.
Phosphoprotein-phosphatase katalyserer fraspaltningen af phosphat fra glycogensyntasen ved hydrolyse. Herved stiger aktiviteten og glycogensyntesehastigheden øges.
Glucose- 6-phosphat aktiverer allosterisk den ikke aktive phosphorylerede form af glycogensyntasen, hvorved syntesehastigheden stiger,

Problemløsningsopgave 2.



3. a) $0,139 \text{ min}^{-1}$
b) $t = 11,6 \text{ min}$

Problemløsningsopgave 3.



2. $k_{\text{kat}} = 30200 \text{ min}^{-1}$.
3. Løses lettest grafisk ved Hanes eller Lineweaver-Burk plot, hvor V_{max} findes uændret $60 \mu\text{M min}^{-1}$ medens k_m øges fra $0,1 \text{ mM}$ til $0,5 \text{ mM}$ ved tilstedeværelse af inhibatoren. De kinetiske konstanter kan også findes ved at løse to sæt ligninger med to ubekendte.

4. $0,100 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ ml}^{-1}$.

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Ordinær eksamen i Biokemi (4 timer)

December 1998

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 5 sider (1-5) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Enzymer.

Besvarelsen skal indeholde

1. En angivelse af efter hvilket princip enzymer klassificeres og en definition af katalyse samt beskrivelse af enzymeres indvirkning på aktiveringsenergien. (15%)
2. En redegørelse for, hvordan pH og temperatur påvirker hastigheden af en enzymkatalyseret reaktion. (15 %)
3. En redegørelse for de forskellige mekanismer, der kan regulere enzymeres aktivitet:
 - a. Allosteriske regulationsmekanismer
 - b. Kovalent modifikation
 - c. Begrænset proteolyse (aktivering af zymogen)

For hver af de nævnte mekanismer ønskes **et** eksempel med angivelse af den stofskiftemæssige betydning af den pågældende mekanisme. (40 %)

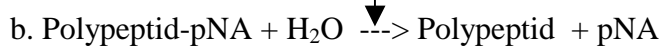
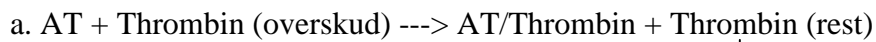
4. En definition af coenzym og prostetisk gruppe og en angivelse af to coenzymer og to prostetiske grupper, hvori vitaminer indgår, samt navnene på disse. For hvert coenzym/prostetisk gruppe ønskes **et** eksempel på en reaktion, hvori de indgår. (30%)

Problemløsningsopgave 1.

Antithrombin (AT) oprenses fra plasma ved affinitetskromatografi. Udbytte og oprensninggrad ønskes bestemt.

10 ml plasma sættes på en kolonne. Efter oprensningen (elueringen) fandtes AT i 3 fraktioner (a,b,c), hver med et volumen på 5 ml.

AT- koncentrationen i plasma og fraktioner bestemtes ved hjælp af standardopløsninger ved følgende reaktioner:



Hydrolysen af polypeptidet er katalyseret af frit Thrombin. Det frisatte pNA absorberer lys af bølgelængden 405 nm.

Standard/Prøve	A ₄₀₅
AT: 0,000 U/ml	0,500
AT: 0,050 U/ml	0,400
AT: 0,100 U/ml	0,300
AT: 0,150 U/ml	0,220
AT: 0,200 U/ml	0,125
Fraktion a	0,450
Fraktion b	0,250
Fraktion c	0,350
Plasma	0,200

De 3 fraktioner og plasma var fortyndet 100 gange

1. Beregn koncentrationen af Antithrombin i plasma og i de 3 fraktioner. (20%)
2. Beregn udbyttet efter oprensningen. (30%)

Proteinkoncentrationen i plasma bestemtes til 65 mg/ml og i fraktion b til 0,25 mg/ml.

3. Beregn oprensningsgraden i fraktion b. (30%)

Flere af koagulationssystemets proteiner er afhængig af K-vitamin.

4. Hvilken funktion har vitamin K? (20 %)

Problemløsningsopgave 2.

Megaloblastær anæmi skyldes folsyre eller vitamin B₁₂ (cyanocobalamin) mangel.

1. Angiv de to reaktioner, hvor cobalamin deltager som coenzym og angiv folsyres rolle i den ene af disse reaktioner. (20 %)
2. Redegør for optagelsen af vitamin B₁₂ i tarmen og angiv kilder til vitaminet i kosten. (20%)

Vitamin B₁₂ er i blodet bundet til proteinet transcobalamin, men frigives ved tilsætning af varm alkohol. Hos en person med anæmi målttes koncentrationen af vitamin B₁₂ i serum ved en radioisotopmetode.

Hvert af to reagensglas indeholdende 1000 µl af henholdsvis en vitamin B₁₂ standard og patientserum tilsattes 100 µl 10⁻¹⁰ M ⁵⁷Co-vitamin B₁₂ med en specific radioaktivitet på 6,9 x 10¹⁷ dpm/mol. Derefter tilsattes varm ethanol.

Ved hjælp af standarden blev den specifikke radioaktivitet af ⁵⁷Co-vitamin B₁₂ i ethanol ekstraktet fra patientserum fundet at være 6,9 x 10¹⁶ dpm/mol.

3. Beregn vitamin B₁₂ koncentrationen i patientserum. (40%)

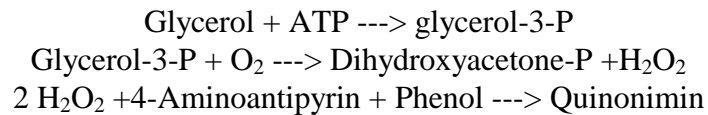
Den hyppigste årsag til vitamin B₁₂ mangel er absorptionsforstyrrelser. En time efter indtagelse af et måltid indeholdende 1 mg cobalamin injiceredes ⁵⁷Co-cobalamin intravenøst og døgnurin opsamledes.

4. Forklar hvorfor radioaktivitetsmængden i en døgnurin er lavere hos en person med nedsat evne til at absorbere vitamin B₁₂ end hos en normal person. (20%)

Problemløsningsopgave 3.

Triacylglycerol i plasma bestemmes ved at måle koncentrationen af glycerol efter behandling med lipase.

Den frisatte glycerol bestemmes enzymatisk ved en række koblede reaktioner, der resulterer i dannelsen af et farvet produkt, Quinonimin, der kan måles spektrofotometrisk:



1. Opskriv reaktionsligningen for total hydrolyse af triacylglycerol og angiv navn og vævslokalisering for de humane lipaser. (25 %)

For at bestemme triacylglycerolkoncentrationen i plasma blandedes 10 μl plasma, glycerolstandard eller vand med 1000 μl enzymreagens, der indeholdt: Lipase, glycerolkinase, glycerolphosphat oxidase, peroxidase samt de nødvendige substrater. Efter at reaktionen var løbet til ende aflæstes absorbansen:

Standard/Prøve	Absorbans
Blind (H_2O)	0,015
Standard: 0,5 mM	0,135
Standard: 1,0 mM	0,255
Standard: 2,0 mM	0,495
Plasma	0,375

2. Beregn triacylglycerolkoncentrationen i plasma. (25%)

Enzymreagentet til triacylglycerolbestemmelsen indeholdt desuden en detergent.

3. Hvorfor er det nødvendigt at have en detergent tilstede i reaktionsblandingen. (25 %)

Triacylglycerolbestemmelser anvendes bl.a. til beregning af VLDL-cholesterolkoncentrationen, idet plasma fra en fastende person kan antages at have et fast forhold mellem koncentrationen af VLDL-triacylglycerol og koncentrationen af VLDL-cholesterol.

4. Forklar hvorfor det er afgørende, at plasmaprøven stammer fra en fastende person, når triacylglycerolbestemmelsen skal anvendes som ovenfor beskrevet. (25 %)

Ordinær eksamen i biokemi december 1998

Problemløsningsopgave 1.

1. 2,5; 12,5; 7,5 og 15,8 U/ml.
2. 71%
3. 206
4. K-vitamin er ansvarlig for carboxylering af glutamat sidekæder i prothrombin.

Problemløsningsopgave 2.

1. a) Homocystein + CH₃-FH₄ -----> Methionin + FH₄
Cobalamin
b) Methyl-malonyl-CoA -----> Succinyl-CoA

Tetrahydrofolsyre fungerer som transportør af C-1 forbindelser.

2. Vitamin B₁₂ bindes til et protein, intrinsic factor (IF), som syntetiseres i og secerneret fra ventriklen. I ileum findes receptorer for (IF). Efter binding af IF til receptorerne optages vitamin B₁₂. Vitamin B₁₂ findes i æg, lever og magert kød og ikke i planter.
3. $9,00 \times 10^{-11}$ M
4. I en normal person er det optagne Vitamin B₁₂ bundet til transcobalamin og størsteparten af det indsprøjtede radioaktive Vitamin B₁₂ udskilles. Hos en patient, der vanskeligt kan optage Vitamin B₁₂ fra tarmen vil en stor del af det indsprøjtede radioaktive Vitamin B₁₂ blive bundet til transcobalamin og kun lidt vil udskilles i urinen.

Problemløsningsopgave 3.

1. Triacylglycerol + 3 H₂O → Glycerol + 3 RCOOH
Pancreas-lipase, tarm; Lipoprotein-lipase, endothel celler; Hormon sensitiv lipase, fedtvæv.
2. 1,5 mM.
3. Triacylglycerol forekommer ikke frit i plasma, men transporteres i lipoproteiner som skal solubiliseres inden lipasen kan virke.
4. Er prøven ikke taget fra en fastende vil chylomikron-triacylglycerol, fra det med føden indtagne lipid, blive medbestemt.

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I
Syge- og reeksamen i Biokemi (4 timer)
Juni 1998

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtingen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Erythrocytten

Besvarelsen skal indeholde:

1. En kort beskrivelse af glucoses omsætningsveje i erythrocytten samt en redegørelse for hvilke produkter fra disse reaktionsveje, der har betydning for opretholdelse af erythrocyttens struktur og funktion. (Der ønskes ikke en gennemgang af de enkelte reaktioner i omsætningsvejene). (30 %)
2. En kortfattet beskrivelse af oxygentransporten herunder oxygenbindingskooperativiteten og betydning af 2,3-bisphosphoglycerat. Desuden ønskes en beskrivelse af Bohr effekten. (40 %)
3. En beskrivelse af de vigtigste reaktioner i nedbrydningen af hæg og leverens rolle i udskillelsen af dets nedbrydningsprodukt. (30 %)

Problemløsningsopgave 1

Koncentrationen af ATP ønskes bestemt i en rottemuskel. Efter udtagning af en biopsi, lynfrysning og inaktivering af de metaboliske processer ved syrefældning, ekstraheres de lavmolekylære metabolitter, hvorved de fortyndes 20 gange (0,05 g væv/ ml).

Til 0,1 ml af ekstraktet i en kuvette sættes 0,9 ml buffer indeholdende glucose, NADP og glucose-6-phosphat dehydrogenase, hvorefter ATP koncentrationen bestemmes ved tilsætning af 10 μ l hexokinase. Absorptionsstigningen ved 340 nm er 0,190, efter at reaktionen er løbet til ende (lysvej: 1 cm; NADPH=s molære absorptionskoefficient: $6220 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

1. Skriv ligningerne for de reaktioner, der foregår i kuvetten. (30%)
2. Beregn ATP koncentrationen i musklen ($\mu\text{mol/g}$ muskel). (40%)

I musklen findes endnu en Aenergirig \rightleftharpoons fosfatforbindelse, hvis koncentration kan bestemmes i samme kuvette ved tilsætning af endnu et enzym.

3. Angiv navnet på enzymet og skriv ligningen for den reaktion som det katalyserer. (30%)

Problemløsningsopgave 2

Phenylalanin er en essentiel aminosyre, hvorfra en række andre nitrogenholdige komponenter, heriblandt catecholaminer og thyroideahormoner, dannes.

1. Angiv
 - a. navnene på catecholaminerne (20%) og
 - b. hovedtrækkene i syntesen af thyroideahormonerne. (30 %)

Langt den overvejende del af thyroideahormonerne transporteres i plasmaet bundet til det thyroxinbindende globulin (TBG).

I nedenstående tabel er angivet dette proteins plasmakoncentration, molvægt og antal thyroxin, der bindes pr proteinmolekyle, samt associationskonstant (K_a) for bindingen af thyroxin (T_4)

Protein	Plasmakoncentration, mg/l	Proteinets molvægt, g/mol	Mol T_4 bundet pr mol protein	K_a , M^{-1}
TBG	16,2	54 000	1	10^{10}

En plasmaoprøve inkuberes med radioaktivt mærket T_4 . Den volumenforøgelse der sker derved kan betragtes som negligeabel. To prøver udtaget med 1 times mellemrum viser, at forholdet mellem frit og protein bundet T_4 er ens i de to prøver. Koncentrationen af frit T_4 er 45×10^{-12} M.

2. Beregn koncentrationen i plasma af TBG-bundet T_4 , samt den del af TBG, der under disse forhold har bundet T_4 . (50%)

Problemløsningsopgave 3

Det er muligt at koble enzymer kovalent til et uopløseligt bæremedie via deres aminosyresidekæder. De således immobiliserede enzymer kan bevare deres katalytiske aktivitet og udviser ofte stor stabilitet. Substratet blandes med det immobiliserede enzym, og når processen er forløbet, kan enzymet filtreres fra og genanvendes.

Metoden anvendes bl.a. til behandling af mælk, så den kan tåles af mennesker med lactose intolerance.

1. Angiv hvilket enzym der skal kobles til bæremediet i ovennævnte eksempel samt den enzymatiske reaktions produkter. (25%)

For at forhindre at enzymer inaktiveres under koblingen til bæremediet, gennemføres koblingen ofte i tilstedeværelse af en kompetitiv inhibitor af enzymet.

2. Redegør for rationalet bag denne fremgangsmåde og angiv hvorledes inhibitoren kan fjernes efter koblingen. (25%)

Til bæremediet er der koblet 10 g enzym (molvægt: 160.000 Da; k_{cat} : 4800 min^{-1} ; K_m : 1,5 mM).

3. Beregn hvor mange mol lactose der maksimalt kan omsættes pr min. (25 %)
4. Beregn hvor lang tid det vil tage at fjerne 75% af lactosen fra 200 liter mælk med en lactose koncentration på 0,15 M. (25%)

Besvarelse til opgavehæftet: **Juni 1998**

Problemløsningsopgave 1

- ad 1. $\text{Glukose} + \text{ATP} \rightarrow \text{Glukose-6-P} + \text{ADP}$
 $\text{Glukose-6-P} + \text{NADP}^+ \rightarrow 6 \text{ P-gluconolakton} + \text{NADPH} + \text{H}^+$
den sidste reaktion er katalyseret af glucose-6-phosphat dehydrogenase
- ad 2. 6,17 $\mu\text{mol/g}$
- ad 3. Creatinkinase
 $\text{ADP} + \text{Creatin-P} \rightarrow \text{ATP} + \text{Creatin}$

Problemløsningsopgave 2

- Ad 1. a) adrenalin, noradrenalin og DOPAmin.
b) 2I^- oxideres til I_2 , som reagerer med tyrosyl-rester i proteinet thyroglobulin i foliklerne. En di- eller monoiod hydroxy phenyl gruppe fraspaltes og condenserer med en diiodtyrosylrest et andet sted i aminosyrekæden. Under indvirkning af det thyroidea stimulerende hormon (TSH) secernerer proteinet fra foliklerne, hvorefter proteinet i cellerne bliver nedbrudt ved proteolyse og thyroxin og triiodthyronin frisættes.
- Ad 2. $[\text{TBG}_{\text{total}}] = 0,30 \times 10^{-6} \text{ M}$
 $[\text{T}_4\text{-TBG}] = 0,093 \times 10^{-6} \text{ M}$
Dvs at 31 % af TBG har bundet T_4 ved ligevægt.

Problemløsningsopgave 3

- ad 1. Lactase; glucose og galactose.
- ad 2. Ved blokering med inhibitoren forhindres de, at koblingen til bæremediet sker via aminosyresidekæder i eller nær enzymets aktive sæde. Inhibitoren fjernes ved vask med substratet.
- ad 3. 0,30 mol/ min
- ad 4. 75 min.

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Ordinær eksamen i Biokemi (4 timer)

Maj 1998

Hjælpe midler: Ingen udover det udlånte materiale (stofskefteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskriveres på det udlånte NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark aflæveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle aflånte ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de aflånte ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

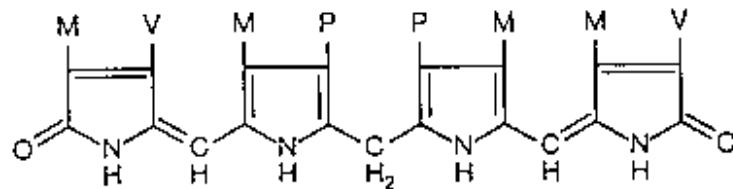
Glycogen og stivelse

Besvarelsen skal omfatte:

1. En redegørelse for fordøjelsen af stivelse med angivelse af de deltagende enzymer og disses dannelsessted samt funktionelle lokalisation. (30 %)
2. En redegørelse for glycogens nedbrydningen til glucose eller glucosederivater i lever og muskel med angivelse af de deltagende enzymer. (30 %)
3. En redegørelse for funktionen af glycogen i lever og muskel. (10 %)
4. En redegørelse for regulationen af glycogennedbrydningen i lever. (30 %)

Problemløsningsopgave 1

Gulsot (icterus) kan skyldes ophobning af et stof i plasma. Ophobningen kan f.eks. skyldes en kraftig hemolyse. Stoffets formel er vist nedenfor.



M = methyl; P = propionyl (β -carboxyethyl); V = vinyl

M = methyl; P = propionyl (β -carboxyethyl); V = vinyl

1. Angiv stoffets navn og angiv hvorledes det transporteres i plasma. (25%)

Gulsot kan også skyldes en obstruktion af galdegangen; derved ophobes et derivat af stoffet i plasma.

2. Opskriv reaktionsligningen for dannelsen af derivatet og angiv i hvilket organ omdannelsen sker og hvorledes den ændrer stoffets egenskaber. (25%)
3. Beskriv hvilken forskel i fæces farve du vil forvente ved de to former for gulsot. (25%)

Stoffet kan også elimineres via urinen.

4. Angiv hvilke derivater af stoffet der fortrinsvis forekommer i urinen ved de to former for gulsot. (25%)

Problemløsningsopgave 2

Udveksling af metabolitter mellem organismens forskellige organer skyldes til dels vævsspecifik mangel af et enkelt enzym i en metabolisk reaktionsvej. I nedenstående tabel er der listet en række enzymer.

1. Sæt kryds ud for det/de organ/er, hvor det pågældende enzym findes med betydelig aktivitet. Overfør derefter bogstavkoden for hvert af dine svar på et ark af det udleverede NCR-papir. (50 %)

Enzym	Muskel	Lever	Nyre
Glucose-6-phosphatase	A1	A2	A3
Hydroxy-methyl-glutaryl CoA synthase	B1	B2	B3
Acetoacetate : succinyl CoA CoA transferase	C1	C2	-
Glutamat-dehydrogenase	D1	D2	D3
Glutamin synthetase	E1	E2	E3
Glutaminase	F1	F2	F3
Arginase (i urinstof-cyclus)	G1	G2	G3

Hydroxy-methyl-glutaryl CoA synthase findes lokaliseret forskellige steder i cellen.

1. Angiv enzymets subcellulære lokaliseringer og slutprodukterne i de to reaktions-veje, hvori enzymet katalyserer en reaktion. (20 %)

Det regulerede trin i den ene af de to reaktionsveje katalyseres af hydroxy-methyl-glutaryl CoA reductase

2. Redegør for denne regulering. (30%)

Problemløsningsopgave 3

Aktiviteten af hexokinase og glucokinase kan bestemmes spektrofotometrisk ved en koblet reaktion.

1. Opskriv den reaktion som katalyseres af de 2 kinaser, samt den reaktion der skal inkluderes for at måle aktiviteten spektrofotometrisk. (30%)

Den samlede glucosephosphoryleringshastighed bestemmes i et 10 % (vægt/volumen) leverhomogenat ved tilsætning af 0,3 ml homogenat til en kuvette (lysvej 1 cm) med 2,7 ml reaktionsblanding, der indeholder de reaktionskomponenter, der er nødvendige for den spektrofotometriske bestemmelse og en glukosekoncentration på 0,5 M. Absorbansændringen var 0,100 pr min og konstant i hele måleperioden. (Produktets molære absorptionskoefficient er $6220 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ved den anvendte bølgelængde).

2. Beregn aktiviteten af glucokinase i $\mu\text{mol}/\text{min}$ i 1 g lever, idet den maximale aktivitet af hexokinase i forvejen er målt til $0,1 \mu\text{mol}/\text{min}$ i 1 g lever. (30%)
3. Redegør for den hormonelle regulation af glucokinase aktiviteten. (20%)

Hexokinase koncentrationen er $0,74 \mu\text{g}$ enzym/g lever og dets molvægt er 100.000 Da.

4. Beregn k_{cat} for hexokinase. (20%)

Besvarelse til opgavehæftet: **Maj 1998**

Problemløsningsopgave 1

- ad 1. **Bilirubin der transporteres bundet til albumin.**
- ad 2. **bilirubin + 2 UDP-glucuronate → bilirubin diglucuronide + 2 UDP**
Omdannelsen sker i lever og konjugatet er, i modsætning til bilirubin, vandopløseligt.
- ad 3. **Ved hemolyse: mørk brunfarvet; ved obstruktion: lys grefarvet.**
- ad 4. Ved hemolyse udskilles urobilin; ved obstruktion bilirubin diglucuronide.

Problemløsningsopgave 2

- Ad 1. A2, A3 - B2 - C1 - D2 - E1,E2 - F3, (F2) - G2
- Ad 2. Lokalisation: Mitochondrier -> ketonstoffer
Endoplasmatisk reticulum -> kolesterol
- Ad 3. Mængden af enzymet er hormonalt reguleret af insulin og de novo syntesen er hæmmet af kolesterol
Aktiviteten af enzymet er reguleret ved kovalent modification: phosphorylering hæmmer aktiviteten; aktiviteten er hæmmet ved ophobning af kolesterol (feed backregulering).

Problemløsningsopgave 3

- ad 1. Glukose + ATP -> Glukose-6-P + ADP
Glukose-6-P + NADP⁺ -> 6 P-gluconolakton + NADPH + H⁺
den sidste reaktion er katalyseret af glucose-6-phosphat dehydrogenase
- ad 2. 1,5 μmol/min i 1 g lever
- ad 3. I leveren stimulerer insulin syntesen af glukokinase.
- ad 4. $13500 \text{ min}^{-1} = 225 \text{ sec}^{-1}$

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Syge- og reeksamen i Biokemi (4 timer)

Januar 1998

Hjælpe midler: Ingen udover det udlånte materiale (stofskefteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 5 sider (1-5) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udlånte NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Hust at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Glucose-6-phosphat

Besvarelsen skal omfatte:

1. Ligninger for de reaktioner, der har glucose 6-phosphat som substrat eller produkt, med angivelse af enzymnavne og eventuelle medvirkende coenzymmer. For hver reaktion ønskes tillige en angivelse af reaktionens reversibilitet under fysiologiske forhold og organlokalisering. (40 %)
2. En angivelse af navne og betydning af de reaktionsveje, hvori glucose-6-phosphat indgår. (Der ønskes ikke en gennemgang af reaktionerne i reaktionsvejene). (20 %)
3. En redegørelse for gluconeogenesens regulation og organlokalisering. (40%)

Problemløsningsopgave 1

Alanin er en central aminosyre i organismens nitrogenomsætning.

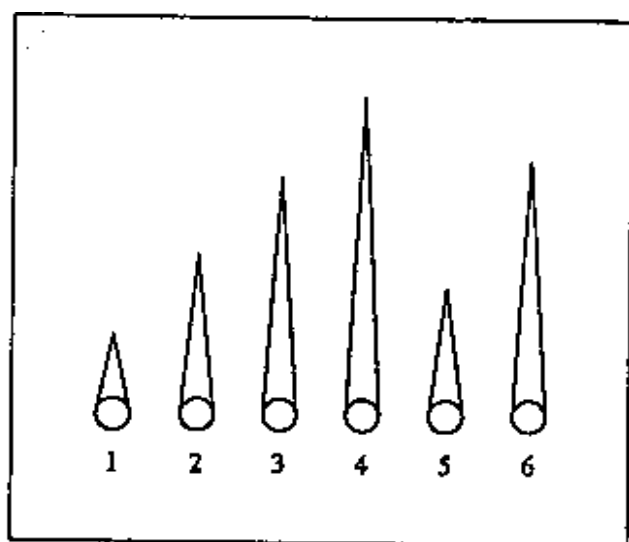
1. Opskriv med enzym og prostetisk gruppe den reaktion, som er ansvarlig for omdannelsen af alanin til pyruvat. (20%)
2. Beskriv kort alanins rolle for transporten af NH_2 - grupper i organismen. (25%)
3. Hvor meget energi, udtrykt i mol ATP, medgår der til urinstofproduktion ved forbrænding af 60 g protein. Protein antages at indeholde 16 vægt % nitrogen (nitrogens atomvægt er 14 g/mol). (25%)
4. Hvor mange g glycogen skal omsættes i leveren for at skaffe energi til produktion af 1 mol urinstof, såfremt glycogenomsætningen forløber fuldstændigt til CO_2 og H_2O (Glucoses molekylvægt er 180 g/mol, og et mol NAD(P)H og FADH antages at ækvivalere med henholdsvis 3 og 2 mol ATP). (30%)

Problemløsningsopgave 2

Plasmaproteiner er en heterogen gruppe proteiner med forskellig funktion.

1. Angiv mindst tre funktionelt forskellige grupper af proteiner i plasma, og angiv funktionen af hver af disse grupper. (20%)

Transferrin er et jern bindende protein i plasma, hvis koncentration ønskes bestemt ved hjælp af en immunoelektroforetisk teknik. Ved denne er højden af immunoprecipitatet proportional med mængden af appliceret antigen. Figuren viser resultatet af en sådan analyse.



I hul 1, 2, 3 og 4 er der appliceret 10 μl af henholdsvis 0,25; 0,50; 0,75 og 1,00 μM transferrinopløsning, og i hul 5 og 6 er der appliceret 10 μl plasmaprøve fortyndet henholdsvis 100 og 50 gange.

2. Beregn ud fra disse resultater koncentrationen af transferrin i plasma (30%)

OPGAVEN FORTSÆTTER PÅ NÆSTE SIDE

3. En opløsning af jernfrit transferrin tilsættes et højt molært overskud af radioaktivt Fe^{3+} (specifik radioaktivitet 1000 dpm/nmol). Det dannede jerntransferrinkompleks adskilles fra frit jern og opløsningen analyseres for indhold af protein og radioaktivitet. Proteinkoncentrationen var 0,07 mg/ml og radioaktiviteten 1760 dpm/ml. Beregn hvor mange Fe^{3+} -atomer, der er bundet per molekyle transferrin, når molekylvægten af dette er 79500 g/mol. (30%)

4. Angiv funktionen af jernioner i såvel hæmoglobin som i cytochromer. (20%)

Problemløsningsopgave 3

Koncentrationen af ADP ønskes bestemt i rottemuskel. Efter udtagning af en muskelbiopsi (1 g), lynfrysning og efterfølgende syrefældning for inaktivering af de metaboliske processer, ekstraheres de lavmolekylære metabolitter, hvorved de fortyndes 10 gange (0,1 g væv/ml).

Til måling af ADP koncentrationen i 0,3 ml prøve (ekstrakt) tilsættes 0,7 ml af en buffer indeholdende phosphoenolpyruvat, laktat dehydrogenase og NADH. Absorbansen ved 340 nm måles til 0,930 (lysvej 1 cm). Der tilsættes 10 μ l pyruvatkinase og efter at reaktionen er løbet til ende aflæses absorbansen til 0,760.

1. Opskriv de reaktioner der foregår i reaktionsblandingen. (30 %)
2. Beregn ADP koncentrationen i muskel (μ mol/g væv). Den molære absorptionskoefficient for NADH ved 340 nm er $6220 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$. (40%)
3. Beskriv en analyseprocedure baseret på absorbansmåling ved 340 nm, hvorved koncentrationen af pyruvat, ADP og AMP kan bestemmes i en og samme prøveblanding. (30%)

Løsning til opgavehæftet:

Problemløsningsopgave 1

1. Ala + 2-oxoglutarat \leftrightarrow Pyruvat + Glu (enz: Alanin aminotransaminase, prostetisk gruppe: pyridoxalphosphat)
2. Ala's rolle er at transportere NH_4^+ fra muskel til lever.
3. 0,343 mol urinstof \Rightarrow 1,372 mol ATP
4. 1 mol urinstof \Rightarrow 4 mol ATP

Glycogen \Rightarrow CO_2 og H_2O \Rightarrow 39 ATP (37 ATP) \Rightarrow 16,61 g (17,51 g) glycogen

Problemløsningsopgave 2

1. a) Transportproteiner: transporterer lipofile komponenter og metaller mellem de forskellige organer.
b) Immunoglobuliner: er ansvarlige for bortskaffelse af artsfremmede makromolekyler via complementsystemet.
c) proteolytiske enzymer i koagulations- fibrinolyse og complementsystemerne.

koagulationsproteinerne: reducerer blødningers udbredelse ved dannelse af fibrin, som er stabiliserer blodproppen i blødningsområdet.

fibrinolyse systemet: opløser blodproppen ved at hydrolysere fibrinet.

2. 40 mM.
3. 2 Fe^{3+} /mol transferrin.
4. Fe^{2+} i hæmoglobin er nødvendig for O_2 transporten, $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ valensskiftet i cytochromerne er ansvarlig for elektrontransporten.

Problemløsningsopgave 3

1. a) $\text{ADP} + \text{PEP} \rightarrow \text{Pyruvat} + \text{ATP}$
b) $\text{Pyruvat} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{Lactat} + \text{NAD}^+$
2. 0,92 $\mu\text{mol/g}$ væv
3. a) $\text{AMP} + \text{ATP} \leftrightarrow 2 \text{ADP}$
b) $2 \text{PEP} + 2 \text{ADP} \rightarrow 2 \text{Pyr} + 2 \text{ATP}$
c) $2 \text{Pyr} + 2 \text{NADH} + 2 \text{H}^+ \rightarrow 2 \text{Lactat} + 2 \text{NAD}^+$

Til assayblandingen som ovenfor, men uden lactat dehydrogenase tilsættes enzymer i nedennævnte rækkefølge. Efter hver tilsætning skal reaktionen løbe til ende, hvorefter absorbansen ved 340 nm aflæses.

Pyr måles ved at tilsætte lactat dehydrogenase. Derefter kan ADP måles ved at tilsætte pyruvat kinase, og endelig kan AMP måles ved at tilsætte adenylat kinase (myokinase).

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Ordinær eksamen i Biokemi (4 timer)

December 1997

Hjælpe midler: Ingen udover det udlånte materiale (stofskefteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udlånte NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark aflæveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepenn på et hårdt underlag.

Hust at

- 1) mærke alle aflånte ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de aflånte ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Pyruvat

Besvarelsen skal omfatte:

1. **Ligninger for mindst 5 forskellige reaktioner, hvori pyruvat indgår som enten substrat eller produkt. For hver af reaktionerne ønskes enzymnavn, reaktionens reversibilitet under fysiologiske forhold, coenzymmer, prostetiske grupper og subcellulær lokalisation angivet. Desuden ønskes for hver af reaktionerne angivet dens betydning i stofskiftet. (40%)**
2. **En angivelse af hvilke af de opskrevne reaktioner, der i leveren er covalent og allosterisk reguleret, og en beskrivelse af, hvori denne regulering består. (40%)**
3. **En angivelse af de vitaminer, der indgår som coenzymmer og prostetiske grupper i de opskrevne reaktioner. (20%)**

Problemløsningsopgave 1.

To rene enzymer, der følger Michaelis- Menten kinetik, har forskellig affinitet overfor det samme substrat.

1. Skitser, hvorledes progreskurven for disse to reaktioner forløber, hvis enzymernes koncentration er valgt således, at samme V_{\max} ville opnås ved måling af enzymernes aktivitet. Enzymernes K_m værdier er som vist i nedenstående tabel og substratkoncentrationen er 10 mM. (30%)

Enzymnummer	Specifik aktivitet, U/mg	K_m , mM
1	25	0,5
2	500	10

De to enzymer har en specifik aktivitet som angivet i ovenstående tabel.

2. Hvad skal vægtmængdeforholdet mellem de to enzymer være, for at man opnår samme V_{\max} ? (10%)

k_{cat} (turnover number) for reaktionen katalyseret af enzym nummer 1 er 16200 min^{-1} .

3. Beregn molekylvægten af enzym nummer 1. (30%)

k_{cat} (turnover number) for reaktionen katalyseret af enzym nummer 2 er 7 gange højere end k_{cat} for reaktionen katalyseret af enzym nummer 1.

4. Ved hvilken substratkoncentration vil den samme molære koncentration af enzym 1 og 2 omsætte substratet med samme hastighed? (30%)

Problemløsningsopgave 2.

Efter en uge på proteinfri kost, hvor den gennemsnitlige nitrogenudskillelse hos en gruppe forsøgspersoner var 3,0 g N/døgn via urinen og 0,5 g N/døgn via fæces, suppleres kosten med 60 g protein/døgn mærket med ^{15}N i glycin (nitrogen udgør gennemsnitligt 16 % af proteinernes molekylvægt). Herefter er nitrogenudskillelsen i fæces 1,8 g N/døgn og i urin 7,0 g N/døgn.

1. Hvor stor en procentdel af det indtagne protein optages i tarmen, og hvad er proteinets biologiske værdi? (40 %)
2. Fra hvilken fødegruppe kan dette protein stamme? (10%)

Glycin er substrat i en række reaktioner.

3. Opskriv navnene på tre strukturelt forskellige forbindelser, der dannes ud fra glycin og som ikke er en aminosyre, et protein eller et peptid. (30 %)

I det nitrogen der udskilles med urinen det første døgn, efter at kosten er blevet suppleret med protein, er den andel som ^{15}N udgør af det totale antal nitrogenatomer 10 x lavere end i kostens protein.

4. Hvad skyldes denne fortynding? (20 %)

Problemløsningsopgave 3.

Cholesterol i serum kan bestemmes ved hjælp af enzymet cholesterol oxidase der katalyserer følgende reaktion:



Cholestenone har et absorptionsmaximum ved 240 nm med en molær absorptionskoefficient på $15500 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$.

Til 995 μl reaktionsmedie sættes 5 μl serum og absorbansen ved 240 nm aflæses til 0,300. Der tilsættes nu et negligebelt volumen af en cholesterol oxidase opløsning og efter at reaktionen er løbet til ende aflæses absorbansen til 0,490.

1. Beregn koncentrationen af frit kolesterol i serum (25%).

For at kunne bestemme total koncentrationen af kolesterol i serum er det nødvendigt at tilætte endnu et enzym.

2. Hvilken reaktion katalyserer dette hjælpeenzym (25%) ?

Efter tilsætning af et negligebelt volumen af nævnte enzym aflæses, når reaktionen er løbet til ende, en absorbans på 0,930.

3. Beregn total koncentrationen af kolesterol i serum (25%).

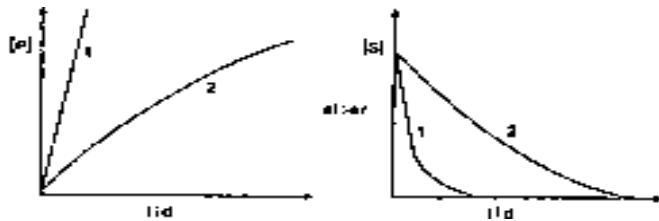
Cholesterolbestemmelsen forløber i en reaktionsblanding, der foruden buffersalte indeholder et detergent.

4. Hvorfor er det nødvendigt at have et detergent tilstede i reaktionsblandingen (25%) ?

Løsning til opgavehæfte.

Problemløsningsopgave 1.

1.



2. Der skal være 20 gange så meget af enzym 1 som af enzym 2.

3. M_w for enzym 1 = 648×10^3 g/mol

4. $[S] = 1,08$ mM

Problemløsningsopgave 2.

1. I tarmen optages 86,5%

BV = 52%

2. Korn, frugt og grøntsager

3. Creatin, galdesalte, puriner, protoporphyriner.

4. Aminosyrerne i det indtagne protein opblandes med aminosyrerne fra kroppens omsatte proteiner.

Problemløsningsopgave 3.

1. 2,45 mM

2. Cholesterolstre + $H_2O \rightarrow$ Cholesterol + fedtsyrer

3. 8,12 mM

4. For at opløse lipoproteinerne så kolesterol og cholesterolstre, der findes bag en ydre protein og phospholipidskal, bliver tilgængelige for enzymerne.

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Syge- og reeksamen i Biokemi (4 timer)

Juli 1997

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (2-5) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Hust at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Fordøjelse, absorption og metabolisme af kulhydrater.

Besvarelsen skal omfatte:

1. En angivelse af hvor stor en del af den samlede energitilførsel kulhydraterne ca. udgør, deres kalorieindhold (kJ/g), samt en angivelse af de kvantitativt vigtigste kulhydrater i kosten. En redegørelse for, hvorledes hvert af disse kulhydrater nedbrydes i fordøjelseskanalen, samt disse nedbrydningsprodukters transport fra tarmlumen til blodet. (40 %)
2. En redegørelse for glucoseomsætningen i lever, muskel og fedtvæv efter indtagelse af et kulhydratrigt måltid. Redegørelsen skal indeholde en beskrivelse af den hormonale regulering. (40 %)
3. En beskrivelse af formålet med glucoseomsætningen i de røde blodlegemer (20 %).

Problemløsningsopgave 1.

Myristinsyre er en mættet fedtsyre med 14 kulstofatomer. Den findes i komælks triacylglyceroler, men ikke i fedtlagrene hos mennesket.

1. Opskriv med angivelse af deltagende coenzymer de processer i leveren, der fører til, at kulstofatomerne i myristinsyre kan genfindes i triacylglycerol som 1-palmitoyl-2-oleyl-3-stearoyl-glycerol. Palmitinsyre har 16 kulstofatomer, og stearinsyre og oliesyre hver 18 kulstofatomer (50 %).
2. Beskriv hvorledes triacylglycerol i VLDL nedbrydes og gendannes i fedtvæv. (50 %)

Problemløsningsopgave 2.

Plasma indeholder to enzymer, A og B. De katalyserer begge omdannelsen af substratet S. I forsøg på at oprense de to enzymer, benytter man sig af, at de har forskellig isoelektrisk pH, som er 5,5 for A og 8,5 for B. Desuden er K_m for A 10 gange større end K_m for B med hensyn til S. Den katalytiske konstant for B er $2 \times 10^2 \text{ sec}^{-1}$.

1. Diskuter hvilket pH-område, der bør anvendes, hvis man ønsker at separere A og B ved kolonnekromatografi på en anionbytter. (10 %)

Man kan også benytte sig af affinitetskromatografi, hvor substratet S er ligand.

2. Angiv med begrundelse, hvilke af de to enzymer det vil være vanskeligst at eluere fra en kolonne indeholdende kovalent bundet S. (10 %)

Efter to på hinanden følgende oprensningstrin af enzymerne fra plasma opnås følgende resultater:

Oprensningstrin	Volumen, ml	[Protein], mg/ml	Aktivitet af A, U/ml	Aktivitet af B, U/ml
Plasma	100	70	4,2	1,05
I	20	5,0	10,0	1,25
II	1	0,2	0,00	16,0

3. Beregn oprensningsgraden af A efter trin I. (25 %)
4. Beregn udbyttet af B efter trin II. (25 %)

Anvendelse af forskellige kvalitative metoder viser, at B er rent efter trin II.

5. Beregn molekylvægten af B. (30 %)

Problemløsningsopgave 3.

Aktiviteten af en række af organismens enzymer er reguleret ved covalent modifikation.

1. Angiv hvilke af følgende enzymer der aktiveres, og hvilke der hæmmes ved phosphorylering. (40 %)

Enzym	Aktiveres	Hæmmes
Glycogen synthase		
Glycogen phosphorylase		
AcetylCoA carboxylase		
Hormonfølsom lipase		
Pyruvat dehydrogenase		
HMG-CoA reductase		
Phosphorylase kinase		

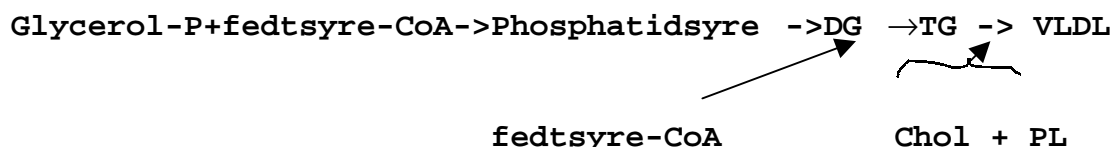
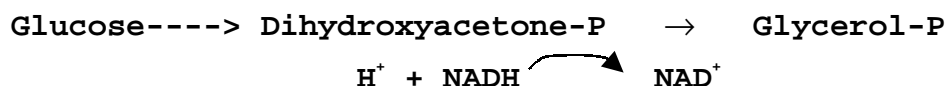
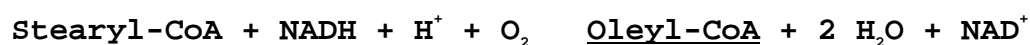
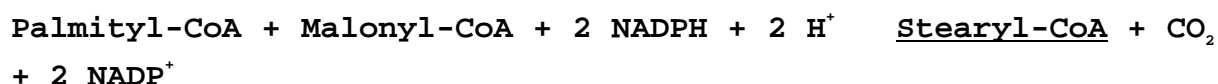
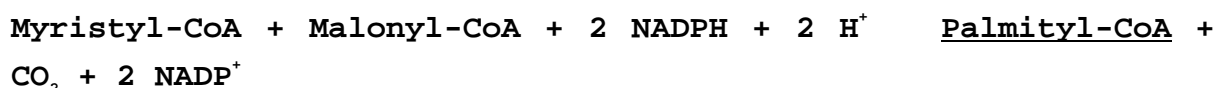
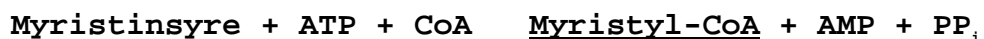
Phosphorylering af et af ovennævnte enzymer medfører en koncentrationsændring af en metabolit, som influerer på aktiviteten af carnitin-acyl-transferase 1.

2. Angiv hvilket enzym, det drejer sig om og forklar hvorledes aktiviteten påvirkes. (30 %)
3. Beskriv hvorledes koncentrationen af fructose-2,6-bisphosphat reguleres i relation til en covalent modifikation, og hvorledes den påvirker aktiviteten af 6-phosphofructo-1-kinase. (30 %)

Besvarelse af problemløsningsopgaver til Syge-og reeksamen, juli 1997.

Problemløsningsopgave 1

1. Den optagne myristinsyre skal aktiveres, kædeforlænges og desatureres:



2. Triacylglyceroler i VLDL (fra leveren), der indeholder forskellige acyl-grupper hydrolyseres af lipoprotein-lipasen i fedtvævet kapilærendothelet og de frie fedtsyrer optages af fedtcellerne sammen med evt 2-monoacylglycerol. I fedtvævet katalyserer en esterase frisætningen af fedtsyren fra 2-monoacylglycerol. Fedtsyrerne aktiveres og kobles til glycerol, som angivet under 1. Glycerol kan ikke phosphoryleres og omsættes i fedtvævet.

Problemløsningsopgave 2.

1. Der bør vælges et $5,5 < \text{pH} < 10$. Afgrænsningen i det høje område reducerer risikoen for denaturering. Uanset hvilket pH der vælges inden for dette område og uanset om elueringen foregår ved at variere saltkoncentrationen eller pH vil B elueres før A. Vælges et pH hvor nettoladningen på B vil være

positiv, d.v.s. $pH < 8,5$, vil B ikke bindes til kolonnen, men "løbe" lige igennem med startbufferen.

2. S binder B med større affinitet en A. A vil derfor lettere kunne elueres fra kolonnen.

3. 33,3 gange

4. 15,2 %

5. 150.000 g/mol

Problemløsningsopgave 3.

1.

Enzyme	Aktiveres	Hæmmes
Glycogen synthase		x
Glycogen phosphorylase	x	
AcetylCoA carboxylase		x
Hormonfølsom lipase	x	
Pyruvat dehydrogenase		x
HMG-CoA reductase		x
Phosphorylase kinase	x	

2. Når acetylCoA carboxylase phosphoryleres hæmmes syntesen af malonyl-CoA, hvorved koncentrationen af dette falder. Dette bevirker en aktivering af CAT-1.

3. c-AMP afhængig protein kinase katalyserer phosphoryleringen af det multifunktionelle enzym, phosphofructo-2 kinase/fructose-2,6- P_2 -ase. Ved phosphoryleringen aktiveres fructose-2,6- P_2 -asen og kinasen hæmmes. Derved falder koncentrationen af F-2,6- P_2 , som er en positiv allosterisk regulator af phosphofructo-1-kinase reaktionen; altså vil aktiviteten af phosphofructo-1-kinase falde.

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I

Ordinær eksamen i Biokemi (4 timer)

Juni 1997

Hjælpemidler: Ingen udover det udleverede materiale (stofskifteskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (2-5) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udleverede NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afleveres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Hust at

- 1) mærke alle afleverede ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de afleverede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

Extracellulære proteolytiske enzymer.

Besvarelsen skal omfatte:

1. En redegørelse for fordøjelsen af protein i mave og tarm, herunder deltagende enzymer og disses aktivering, principielle specificitet, dannelsessted samt funktionel lokalisation. Desuden en angivelse af navn og kemisk natur af det/de hormon/er, som kontrollerer proteinfordøjelsen i tarmen. (40 %)
2. En beskrivelse af omdannelsen af fibrinogen til fibrin, samt lyseringen af fibrinpolymeren. Enzymnavne ønskes angivet. (20 %)
3. En angivelse af Ca^{2+} 's funktion i blodkoagulationen. (20 %)
4. En angivelse af vitamin K's betydning for blodkoagulationen, samt hvordan en vitamin K mangel kan opstå. (10 %)
5. En angivelse af principperne for hæmning af blodkoagulationen *in vitro* og *in vivo*. (10 %)

Problemløsningsopgave 1

1. Angiv navn og lokalisation på det enzym, der spalter laktose. Angiv desuden navnet på det syndrom, der opstår ved mangel på enzymet. (20 %)
2. Beskriv syntesen af 1 mol laktose ud fra 2 mol glucose i mælkekirtlen og beregn ATP forbruget. (50%)
3. Redegør for om en patient med galaktosæmi nødvendigvis har nedsat evne til at danne laktose. (30 %)

Problemløsningsopgave 2.

Ved en kompetitiv hæmning af en enzymatisk reaktion, der følger Michaelis-Menten kinetik, er K_m øget med en faktor X , hvorved K_m' for den hæmmede reaktion bliver

$X \cdot K_m$. Faktoren $X = 1 + [I]/K_i$, hvor $[I]$ er hæmmerkoncentrationen og K_i er dissociationskonstanten for enzym-hæmmer komplekset (EI).

1. Angiv hvorledes K_i og K_m kan bestemmes. (20%)

For at stabilisere et enzym under oprensning er det nødvendigt at tilsætte en kompetitiv hæmmer i en koncentration på 10 μM . Uden at fjerne hæmmeren ønskes enzymets konstanter overfor et bestemt substrat bestemt. Ved forskellige enzymfortyndinger (fortyndingerne foretages med buffer uden hæmmer) blev nedenstående værdier for V_{\max} og K_m' bestemt.

Enzymkoncentration en i målesystemet, nM	Hæmmerkoncentration en i målesystemet, μM	V_{\max} U/l måleblanding	K_m' μM
1	1	10	70
0,5	0,5	5	50
0,25	0,25	2,5	40

2. Beregn (grafisk/numerisk) K_i og enzymets K_m samt dets katalytiske konstant ("turnover number") overfor det valgte substrat. (40%)
3. Beregn hvor stor en andel af enzymet, der er bundet til hæmmeren under oprensningen. (40%)

MILLIMETERPAPIR KAN UDLEVERES

Problemløsningsopgave 3.

En 30-årig mand indlægges efter i længere tid at have lidt af abdominale kramper, diarré og træthed. Han er 185 cm høj og vejer ved indlæggelsen 50 kg. En intestinal biopsi afslører, at han har coeliac (gluten-sensitiv enteropaty). Han sættes på en glutenfri diæt indeholdende 13000 kJ/døgn fordelt med 15 energi% fra protein, 55 energi% fra kulhydrat og 30 energi% fra fedt.

1. Beregn tørstofindholdet i g i den foreskrevne diæt. (20 %)
2. Definer biologisk værdi og diskuter om proteiner med forskellig biologisk værdi har samme eller forskelligt energiindhold. (25%)

Patientens daglige minimumenergibehov ved behandlingens start er 6000 kJ/døgn (BMR + lav aktivitet). Med den foreskrevne diæt kommer patienten i nitrogenbalance. Af den overskydende energi anvendes halvdelen til syntese og transport.

3. Beregn hvor meget patienten maksimalt vil tage på i vægt i løbet af de første 7 dage af behandlingen, når det antages, at den resterende energimængde lagres som fedt. (fedtvæv indholder 15 vægt% vand og 85 vægt% fedt). (30%)
4. Skitser grafisk og begrund hvordan den ugentlige vægtforøgelsen vil ændres med tiden, når den foreskrevne diæt og det angivne aktivitetsniveau forbliver uændret. (25%)

Forslag til besvarelse af problemløsningsopgaver: Biokemieksamen
d. 3. juni 97

Problemløsningsopgave 1.

1. Laktase (β -galactosidase); tarmepithelet; laktoseintolerans.

2. $\text{Glc} + \text{ATP} \rightarrow \text{Glc-6-P} + \text{ADP}$

▼ $\text{Glc-6-P} \rightarrow \text{Glc-1-P}$

$\text{Glc-1-P} + \text{UTP} \rightarrow \text{UDP-Glc} + \text{PP}$

$\text{UDP-Glc} \rightarrow \text{UDP-Gal}$

$\text{UDP-Gal} + \text{Glc} \rightarrow \text{Laktose} + \text{UDP}$

summen: $2 \text{ Glc} + \text{UTP} + \text{ATP} \rightarrow \text{laktose} + \text{UDP} + \text{ADP} + 2\text{P}$; syntesen kræver 2 ATP.

3. En patient med galaktosæmi kan ikke omsætte galaktose. Defekten ligger som regel i Gal-1-UDP-Glc uridyltransferase. Den kan dog også skyldes en defekt i Gal-kinasen. Da ingen af enzymerne anvendes ved syntesen af laktose vil denne ikke være påvirket ved galaktosæmi.

Problemløsningsopgave 2.

1. Når K_m' afsættes på et kurvepapir som funktion af hæmmerkoncentrationen vil skæring med Y akse angive K_m og K_i kan beregnes ved at dividere K_m med hældningskoefficienten. Numerisk kan K_i bestemmes ved at måle K_m og K_m' i to serier af forsøg, hvori kendt koncentration af hæmmeren er tilstede i den ene.

2. $K_m = 30 \mu\text{M}$; $K_i = 0,75 \mu\text{M}$; $k_{\text{cat}} = 167 \text{ sec}^{-1}$.

3. 93 %.

Problemløsningsopgave 3.

1. protein: ca 100 g; kulhydrat: ca 400 g; fedt: ca 100 g (fødemidlernes energiindhold varierer en smule i forskellige lærebøger)

2. Den andel af det absorberede protein, der tilbageholdes. (Nogle lærebøger definerer fejlagtigt BV som den andel af det indtagne protein, der tilbageholdes). Proteinets energiindhold har intet med den biologiske værdi at gøre og vil derfor være den samme for alle proteiner.

3. Vægtforøgelsen de første 7 dage: maksimalt 721 g

4. Efterhånden som personen tager på i vægt anvendes en større andel af energiindtaget til BMR + aktivitet og en mindre til vægtforøgelse.

Vægtforøgelse



LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I**Syge- og reeksamen i Biokemi (4 timer)****Januar 1997**

Hjælpe midler: Ingen udover det udlånte materiale (stofskefeskema og formelsamling) og regnemaskine.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 5 sider (1-5) med ialt 1 essayopgave og 3 problemløsningsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/problemløsningsopgaver, 50/50. De 3 problemløsningsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskrives på det udlånte NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark aflæres, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at

- 1) mærke alle aflånte ark med eksamensnummeret
- 2) nummerere de aflånte ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay.

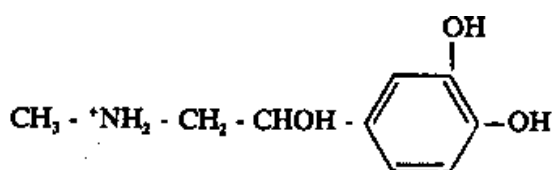
Fedtstoffer: fordøjelse, absorption og metabolisme.

Besvarelsen skal indeholde:

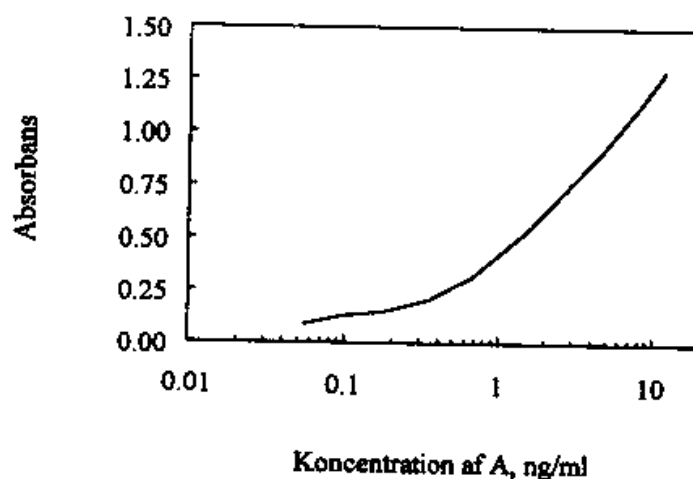
1. En beskrivelse af hovedtrækkene i fordøjelse og absorption af lipider og en redegørelse for forekomst og betydning af forskellige lipaser i den intestinale fordøjelse. (20%)
2. En beskrivelse af det enterohepatiske kredsløb af kolesterol og galdesyre (galdesalte), herunder galdesyrenes konjugering til glycin og taurin. (20%)
3. En angivelse af de forskellige transportformer af lipid i blodet og en inddeling af lipoproteinerne på grundlag af deres densitet samt en redegørelse for deres opbygning og funktion. (30%)
4. En redegørelse for insulins, glucagons og adrenalins virkning på fedtomsætningen i fedtvævet. (30%)

Problemløsningsopgave 1

En yngre kvinde konsulterede sin læge, da hun følte vedvarende uro i kroppen og svedte meget. Ved lægeundersøgelsen viste det sig, at hendes blodtryk var forhøjet. En blodprøve blev taget med det formål at udføre forskellige analyser. Koncentrationer af nedenstående forbindelse A målt med en ELISA metode (enzyme-linked immunosorption assay) og nedenstående standardkurve optegnedes. Absorbansen af reaktionsblandingen, som indeholdt blodprøven målt til 1.250. En senere undersøgelse viste tilstedeværelse af en tumor i kvindens organisme.



Forbindelse A (molekylvægt 183 g/mol). Normal plasma koncentration 5×10^{-10} M.



1. Angiv navnet på forbindelse A og udgangsstoffet for dets syntese. Angiv desuden, hvilke andre forbindelser, der dannes ud fra samme udgangsstof. (40 %)
2. Beregn den molære koncentrationen af forbindelse A i kvindens blod og angiv det mest sandsynlige organ for tumorens tilstedeværelse. (30 %)

Analyse af blodprøven viste desuden, at glucosekoncentrationen lå udenfor normalområdet.

3. Angiv om glucosekoncentrationen var højere eller lavere end normalområdet og forklar kort, hvorledes forbindelse A har forårsaget den konstaterede ændring. (30 %)

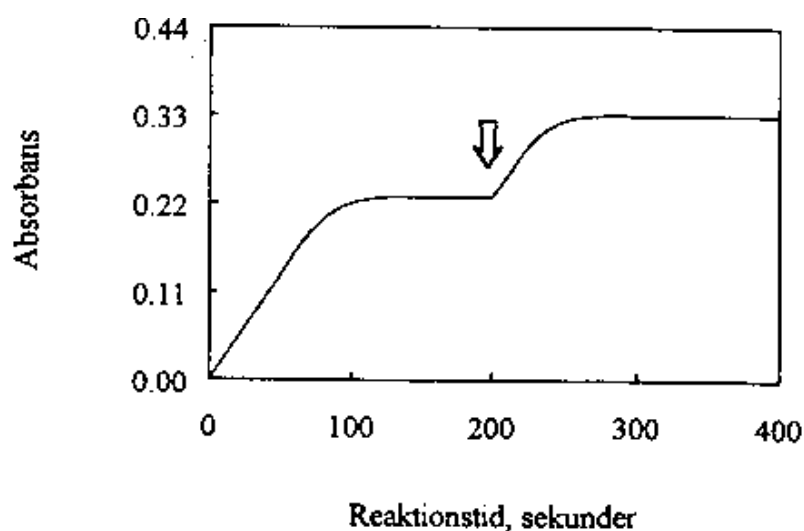
Problemløsningsopgave 2

Foruden at være en bestanddel i proteinerne deltager asparaginsyre i flere reaktioner af vital betydning for organismen.

1. Opskriv bruttoligningerne for dannelsen af aspartat (asparaginsyre, $\text{COOHCHNH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$) ud fra glucose, CO_2 og NH_4^+ ifølge nettoligningen:
 $\text{glucose} + 2 \text{CO}_2 + 2 \text{NH}_4^+ \rightarrow 2 \text{aspartat} + 2 \text{H}_2\text{O}$. (30%)
2. Beregn det eventuelle energiforbrug - eller udbytte - i form af mol ATP/mol aspartat ved ovennævnte dannelse af aspartat. Det kan antages, at 1 NAD(P)H ækvivalerer 3 ATP. (40%)
3. Angiv mindst to eksempler på reaktioner, hvor aspartat fungerer som aminogruppe-donor. (30%)

Problemløsningsopgave 3

En reaktion følges spektrofotometrisk ved 25 °C i en kuvette med en lysvej på 1 cm. Reaktionsblandingen indeholder 0.1 mM β -hydroxybutyrat og 0.2 mM NAD^+ . Til tiden 0 min tilsættes den substrat specifikke oxidoreduktase, således at koncentrationen af denne i reaktionsblandingen bliver 0.025 IU/ml (enzymenheder/ml). Reaktionen standser efter en vis inkubationstid, hvorefter der i et negligabelt volumen tilsættes yderligere 0.1 μmol β -hydroxybutyrat/ml reaktionsblanding (markeret med pil). Derved opnås en tidskurve (progresskurve) som vist på figuren.



1. Opskriv reaktionsligningen for den katalyserede reaktion, og beregn hvor lang tid det vil tage at omsætte 0.005 mM af substratet, hvis det antages, at reaktionen forløber med maximal hastighed (V_{max}). (30%)
2. Reaktionen følger en Michaelis-Menten kinetik. Diskuter årsagen/årsagerne til, at reaktionen standser. (30%)
3. Beregn energiforbrug/udbytte (ΔG°) for reaktionen. Absorptionskoefficienten for NADH er $6220 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. (40%)

Problemløsningsopgave 1

1. Stoffet A er adrenalin (epinephrin). Udgangsstoffet er phenylalanin. Derfra dannes desuden (phenylpyruvat), tyrosin, dopa, dopamin, melanin og noradrenalin.
2. 546×10^{-10} M. Binyremarven.
3. Glucosekoncentrationen vil væk्रे forhøjet pga glycoɡennedbrydning i leveren og sandsynligvis også pga gluconeogenese i leveren.

Problemløsningsopgave 2

1. $\text{glucose} \rightarrow 2 \text{ pyruvat} \xrightarrow{2 \text{ CO}_2} 2 \text{ oxaloacetat} \rightarrow 2 \text{ aspartat}$
 $2 \text{ glutamat} \leftarrow 2 \text{ 2-oxo-glutarat} \rightarrow 2 \text{ NH}_4^+$

2. 0 ATP

3. Transaminering med 2-oxoglutarat under dannelse af glutamat og oxaloacetat (aspartat aminotransferase).

Dannelse af argininosuccinat ud fra aspartat og citrullin (argininosuccinat synthetase i urinstofcyklus).

Desuden er aspartat aminogruppe-donor i to reaktioner i purinsyntesen (N-1 i purin ringen og aminering af IMP til AMP).

Problemløsningsopgave 3

1. $\beta\text{-hydroxybutyrat} + \text{NAD}^+ \rightleftharpoons \text{acetoacetat} + \text{NADH} + \text{H}^+$

0,2 min.

2. Substratet er brugt op eller at reaktionen har nået ligevægt.

3. En absorbans på 0,228 svarer til, at der når reaktionen stopper er dannet 0,0367 mM NADH svarende til 0,0367 mM acetoacetat. Der er således stadig 0,063 mM β -hydroxybutyrat og 0,163 mM NAD^+ til stede. Når reaktionen standser efter, at der er tilsat ekstra substrat er der dannet 0,053 mM NADH (og acetoacetat) og koncentrationen af β -hydroxybutyrat og NAD^+ er nu begge 0,147 mM. Reaktionen stopper således ikke pga substratmangel men pga ligevægt.

$$\Delta G^{\circ'} = 5.05 \text{ kJ/mol}$$

LÆGEVIDENSKABELIG EMBEDSEKSAMEN FASE I**Ordinær eksamen i Biokemi (4 timer)****December 1996**

Hjælpe midler: Ingen udover det udlånte materiale (stofski fteskema og formel saml ing) og regnemaski ne.

Opgavesættet indeholder 1 forside og 4 sider (1-4) med ialt 1 essayopgave og 3 probl eml øsn ingsopgaver.

I karakteren for prøven vægtes essayopgave/probl eml øsn ingsopgaver, 50/50. De 3 probl eml øsn ingsopgaver vægtes ens, og vægtningen indenfor den enkelte opgave fremgår af de angivne procenter.

Besvarelserne skal være begrundede, og eventuelle mellemregninger skal angives.

Besvarelserne skal renskriveres på det udlånte NCR-papir, uden at de tre ark skilles fra hinanden. De to første ark afl everes, det tredje ark kan beholdes. Skriv tydeligt og tryk så kraftigt, at der også er klar skrift på kopierne. Dette kan f.eks. opnås ved, at man skriver med kuglepen på et hårdt underlag.

Husk at 1) mærke alle afl everede ark med eksamensnummeret
2) nummerere de afl everede ark fortløbende (side 1, 2 etc.).

Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Essay

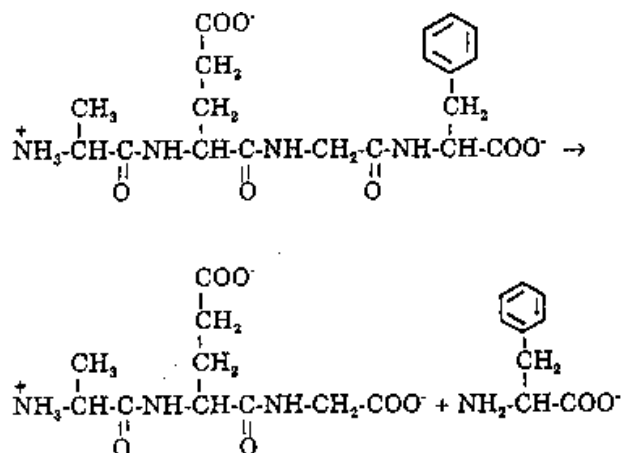
Glutamat og alfa-ketoglutarat (2-oxoglutarat).

Besvarelsen skal omfatte:

1. Ligninger for de seks reaktioner, som har glutamat eller alfa-ketoglutarat som substrat eller produkt med angivelse af enzymnavne og eventuelt medvirkende coenzymmer/prostetiske grupper. (40%)
2. En redegørelse for de stofskiftemæssige sammenhænge, hvori disse reaktioner indgår. (60%)

Problemløsningsopgave 1

Et enzym katalyserer nedenstående reaktion.



1. Angiv benævnelse og klassificering for et sådant enzym. (20 %)

Den beskrevne reaktion forløber med et absorptionsfald ($\Delta A/\text{min}$), som følges spektrofotometrisk i en kuvette med en lysvej på 1 cm. Reaktionen følger Michaelis-Menten kinetik med en $K_m = 15 \text{ mM}$ og under de givne forsøgsbetingelser er $V_{\text{max}} = 149 \mu\text{M}/\text{min}$.

2. Beregn det initiale absorptionsfald, når substratkoncentrationen er 5 mM og absorptionskoefficienten for den pågældende peptidbinding er $2000 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$. (30 %)
3. Forsøget gentages med en hæmmer tilstede. Herved bestemmes K_m' og V_{max}' til henholdsvis 30 mM og $149 \mu\text{M}/\text{min}$. Angiv hæmningstypen. (20 %)
4. Beregn hvor stor en procentdel af enzyimmolekyler, der initialt har bundet substrat ved en substratkoncentration på 5 mM, med og uden hæmmeren tilstede. (30 %)

Problemløsningsopgave 2

Phosphofructo-1-kinase er et enzym i glycolysen.

1. Opskriv reaktionen katalyseret af phosphofructo-1-kinase og beregn dens ligevægtskonstant ved 25 °C, når $\Delta G^{\circ} = -14.2$ kJ/mol. (50%)
2. I et muskelekstrakt fandtes følgende metabolitkoncentrationer: [fructose-6-phosphat] = 0.10 mM, [fructose-1,6-bisphosphat] = 0.020 mM, [ATP] = 9.0 mM og [ADP] = 1.5 mM. Angiv med begrundelse (mellemregninger anføres), om phosphofructo-1-kinase reaktionen kan antages at være i ligevægt i musklen og diskuter kort det fundne resultat. (50%)

Problemløsningsopgave 3

Ved forbrænding af 1 g kulhydrat i form af glucose frigives der 15.8 kJ.

- 1. Organismen oplagrer i visse tilfælde overskud af kulhydrat som fedt. Forklar om den frigivne energi (forbrændingsvarmen) vil være den samme, forhøjet eller formindsket, hvis en given mængde glucose ved forbrænding til CO_2 og H_2O først omdannes til fedtstof (palmitinsyre). (40%)**
- 2. Beregn nyttevirkningen (energi anvendt til ATP produktion/ energi frigivet ved glucoseforbrænding) i % ved forbrænding af glucose til CO_2 og H_2O via de to nedennævne reaktionsveje (a og b). Molvægten for glucose er 180 g/mol. En energimængde på 60 kJ frigives for hvert mol ATP, der hydrolyseres til ADP og P_i og henholdsvis 2 og 3 mol ATP dannes for hvert mol FADH_2 og NADH/NADPH der oxideres. (60%)**
 - a: Glucose \rightarrow CO_2 og H_2O**
 - b: Glucose \rightarrow palmitinsyre \rightarrow CO_2 og H_2O**

Problemløsningsopgave 1:

1. Carboxypeptidase. Hydrolaser.
2. 0.0745/min.
3. En kompetitiv hæmmer.
4. 24.5 % og 14.3 %.

Problemløsningsopgave 2:

1. Fructose-6-phosphat + ATP → fructose-1,6-bisphosphat + ADP

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_{eq} \Rightarrow K_{eq} = \exp(-14200 / (-8.314 \times 298)) = 308.$$

2. Ved ligevægt gælder, at $K_{eq} = \frac{[\text{fructose-1,6-bisphosphat}] \times [\text{ADP}]}{[\text{fructose-6-phosphat}] \times [\text{ATP}]}$. Indsættes de aktuelle metabolit koncentrationer fx: $(0.020 \times 1.5) / (0.10 \times 9) = 0.033$. Da $0.033 \ll 308$ er reaktionen langt fra ligevægt. Dette stemmer godt overens med at phosphofructo-1-kinase er et vigtigt regulatorisk enzym i glykolysen.

Problemløsningsopgave 3:

1. Forbrændingsvarmen er uafhængig af hvilke reaktionsveje, der følges og er derfor den samme uanset Glc oxideres direkte eller først omdannes til fedtsyrer.

2a. $\text{Glucose} \rightarrow 2 \text{ pyruvat} + 2 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow (2\text{CO}_2 + 2 \text{ H}_2\text{O} + 2 \text{ acetylCoA}) + 2 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow 6 \text{ CO}_2 + 6 \text{ H}_2\text{O} \Rightarrow 38 \text{ (36) ATP/mol glucose}$

$38 \text{ (36)} \times 60/180 = 12.67 \text{ (12.00) kJ/g Glc}$; Nyttevirkningen $12.67 \text{ (12)}/15.80 = 0.80 \text{ (0.76)} \Rightarrow 80\% \text{ (76\%)}$

2b. $2 \text{ acetylCoA (mitochondrier)} \rightarrow 2 \text{ acetylCoA (cytosol)} \Rightarrow -2 \text{ ATP}$

Syntese af palmitinsyre fra acetylCoA kræver $(3 \times 7 \times 2 + 7) = 49 \text{ ATP}$

Nedbrydning af palmitinsyre til acetylCoA giver $(3 \times 7 + 2 \times 7 - 2) = 33 \text{ ATP}$

$2 \text{ Acetyl CoA} \rightarrow 2/8 \text{ palmitinsyre} \rightarrow 2 \text{ acetyl CoA} \Rightarrow 2/8(-49 + 33) = -4 \text{ ATP}$

$2 \text{ AcetylCoA (mitochondrier)} \rightarrow 2 \text{ acetylCoA (cytosol)} \rightarrow 2/8 \text{ palmitinsyre} \rightarrow 2 \text{ acetyl CoA (mitochondrier)}$ kræver ialt 6 ATP. Dvs. $(38 - 6) \times 60/180 = 10,7 \text{ kJ/g Glc}$ eller $((36 - 6) \times 60/180 = 10 \text{ kJ/g Glc}$; Nyttevirkningen $10.7 \text{ (10)}/15.8 = 0.67 \text{ (0.63)} \Rightarrow 67\% \text{ (63\%)}$