

ENZYMER OCH VITAMINER

Översikt

(1p) Kroppens anabolism och katabolism är beroende av biologiska katalysatorer (enzymer) med speciella funktionella och strukturella enheter i det aktiva centrat. Ange två typer av funktionella eller strukturella enheter, som kan återfinnas i det aktiva centrat hos ett enzym.

Bindande aminosyrarester, katalytiskt aktiva aminosyrarester, aminosyrarester som stabiliserar övergångsstadiet, och cofaktorer.

(2p) Enzymaktivitet kan regleras på många sätt. Ange fyra principiellt olika sätt hur detta kan ske i kroppen och ange för vardera sätt hur aktiviteten kommer att påverkas.

Genpåverkan – ökning eller minskning

Nedbrytning genom aktivering av proteasomen – hämning

Alloster påverkan – finjustering av enzymaktiviteten på ett positivt eller negativt sätt, t.ex. "feed back" inhibering eller "feed forward" stimulering.

Reversibel kovalent modifiering – på eller av – t.ex. defosforylering/fosforylering eller vice versa.

Även andra svar kan godkännas såsom pH och temperatur.

(4p) Beskriv fyra principiellt olika regulatoriska principer sätt varigenom en cell kan reglera enzymaktiviteten under normala fysiologiska omständigheter. Ge för varje princip ett specifikt exempel på ett sådant enzym.

a) alloster – en molekyl/ion binder icke kovalent till ett annat ställe än i aktiva centrat på enzymmolekylen (t.ex. "feed back" och "feed forward" mekanismer; t.ex. pyruvatkinas, glykogensyntas).

b) kovalent modifiering – enzymet modifieras genom att en kovalent bindning skapas eller bryts på annat ställe än i det aktiva centrat (t.ex. fosforylering eller defosforylering, t.ex. glykogensyntas, glykogenfosforylas, FFK2).

c) genreglering – mängden av enzymet påverkas genom att genexpressionen av enzymet uppreglas eller nedregleras av olika transkriptionsfaktorer (t.ex. FFK1, pyruvatkinas, HMG-CoA-reduktas, PEPCCK, glukos-6-fosfatdehydrogenas).

d) proteolys – mängden av enzymet eller en regulatorisk faktor till enzymet påverkas genom att nedbrytningen stimuleras (t.ex. HMG-CoA-reduktas, cykliner - CDK).

e) vissa specifika enzymer kan finnas i flera olika cellulära "compartments" - mängden av enzymet i ett specifikt cellulärt "compartment" regleras av olika bindningsproteiner (t.ex. glukokinas, glyceraldehyd-3-fosfatdehydrogenas).

f) proteiner/regulatoriska subenheter kan binda till ett enzym och påverka dess aktivitet (t.ex. cykliner – CDK, G_i-GTP – adenylatcyklas/ fosfolipas C).

[g] aktiviteten regleras av tillgången på coenzym/cosubstrat (t.ex. malatdehydrogenas, laktatdehydrogenas)].

Mättnadskinetik (Michaelis-Menten-kurvan)

(2p) Enzymkinetik är centralt i hela metabolismen och beskriver hur effektivt ett substrat omvandlas till en produkt, en produkt som sedan är substrat i en nästkommande reaktion. Många av dessa enzymer liksom våra digestionsenzymer (till exempel amylas) följer Michaelis-Menten kinetik (mättnadskinetik). Förklara grafen (rita) som dessa enzymer ger upphov till. Vad betyder de ingående storheterna? Hur påverkas de olika parametrarna (V_{max} och K_M) i reaktionen om enzymkoncentrationen fördubblas? Förklara!

$$V_{max} \times [S]$$

Michaelis-Menten ekvationen $v = \frac{V_{max} \times [S]}{K_M + [S]}$

$$K_M + [S]$$

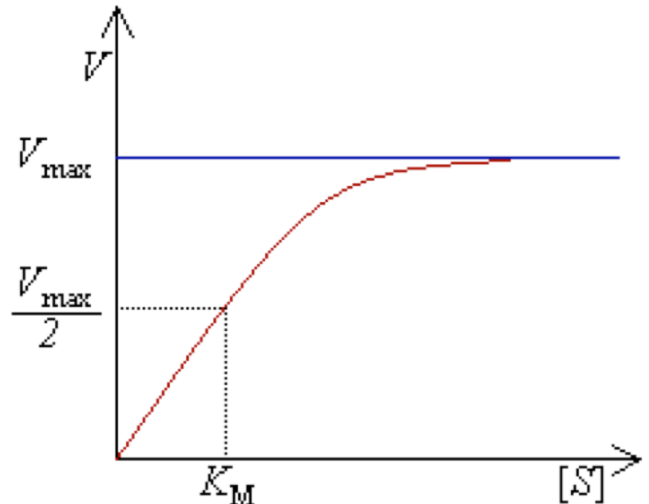
v – momentan hastighet, uttrycks oftast i mol bildad produkt/tidsenhet

V_{max} – maximala hastigheten som ett enzym kan arbeta vid under rådande omständigheter, uttrycks oftast i mol bildad produkt/tidsenhet

$[S]$ – substratkoncentrationen, uttrycks oftast i Molar (mM)

K_M – Michaelis konstant som är en kombination av hastighetskonstanter, kan sägas vara ett mått på affiniteten för ett substrat till resp. enzym. Uttrycks i Molar (mM).

Vid $V_{max} / 2$ är $[S]$ lika med K_M (erhålls ur MM-ekvationen och används för att bestämma K_M numeriskt). Dock alla parametrar löses idag med icke-linjär regressionsanalys.



Vid en fördubbling av enzymkoncentrationen fördubblas normalt hastigheten (V_{max} ; se plot). K_M (affiniteten) påverkas ej.

(1p) Beskriv kortfattat hur du experimentellt skulle avgöra om en inhibitor (hämmare) till ett enzym, som följer Michaelis-Menten-kinetik, är kompetitiv eller ickekompetitiv.

Om man vid kinetisk mätning visar att vid närvaro av inhibitorn påverkas K_M men inte V_{max} är inhibitorn kompetitiv. Om däremot V_{max} påverkas men inte K_M är inhibitorn ickekompetitiv.

(1p) Beskriv kortfattat hur du experimentellt skulle avgöra om en inhibitor (hämmare) till ett enzym, som följer Michaelis-Menten-kinetik, är kompetitiv eller icke-kompetitiv.

Om man vid kinetisk mätning visar att vid närvaro av inhibitorn påverkas K_M men inte V_{max} är inhibitorn kompetitiv. Om däremot V_{max} påverkas men inte K_M är inhibitorn ickekompetitiv.

(2p) Beskriv med ord och ett diagram med angivande av storheter (sort) hur kinetikkurvan ser ut för ett enzym som följer mättnadskinetik (Michaelis-Menten kinetik). (Tips: Tänk på enzymlaborationen under kursen.)

Se CHF: Fig. 5.10 – hyperbol kurva som asymptotiskt uppnår V_{max} ; reaktionshastighet på Y-axeln (V_0) samt substratkoncentration på X-axeln (mol/L;M).

(4p) Urokinas (uPA), som tillhör enzymklassen serinproteaser, följer så kallad mättnadskinetik (Michaelis-Mentens-kinetik). Redogör med ord och en graf för det kinetiska förloppet hos ett enzym som följer Michaelis-Mentens-kinetik (enheter på axlarna skall anges). Förklara grafen och ingående storheter i Michaelis-Mentens ekvation! (Ledtråd: tänk på digestionslaborationen).

Redogör också för vilka funktionella enheter som man kan återfinna i det aktiva centrat hos ett enzym i allmänhet eller specifikt hos ett serinproteas. (denna fråga har jag dubblat under serinproteaser)

Mättnadskinetik skall illustreras med en graf som visar en hyperbol kurva som når ett V_{max} (se fig 5.12 i CHF upplaga 4).

På X-axeln skall det framgå att storheten är substratkoncentration och lämplig enhet såsom mM skall anges.

Y-axeln skall visa att storheten är hastigheten v .

Halva V_{max} skall i diagrammet illustreras och översättas numeriskt till K_m (MM-konstanten), som ofta är ett mått på ett enzyms affinitet till ett substrat.

[Att fullständigt kunna redovisa MM-ekvationen är överkurs:

$$V_{max} \times [S] \text{ Michaelis-Mentens ekvationen } v = \frac{\quad}{K_m + [S]}$$

v – momentan hastighet, uttrycks oftast i mol bildad produkt / tidsenhet

V_{max} – maximala hastigheten som ett enzym kan arbeta vid under rådande omständigheter, uttrycks oftast i mol bildad produkt / tidsenhet

$[S]$ – substratkoncentrationen, uttrycks oftast i Molar (mM)

K_m – Michaelis konstant som är en kombination av hastighetskonstanter, kan sägas vara ett mått på affiniteten för ett substrat till resp. enzym. Uttrycks i Molar (mM). Vid $V_{max} / 2$ är $[S]$ lika med K_m (erhålls ur MM-ekvationen och används för att bestämma K_m numeriskt). Dock löses idag alla parametrar med icke-linjär regressionsanalys. Vid en fördubbling av enzymkoncentrationen ökar normalt hastigheten beroende på vilket intervall ökningen ligger inom. Vid låga substratkoncentrationer sker nästan en fördubbling av hastigheten, men då V_{max} redan uppnåtts sker ingen ökning av hastigheten (enzymet är mättat av substrat).]

De fyra funktionella enheterna som kan identifieras i det aktiva centrat hos ett serinproteas är:

- 1) ospecifika bindningsställe som deltar i bindningen av proteinkedjan,
- 2) specificitetsficka som bidrar med ytterligare bindning och identifierar rätt protein (skapar specificitet),
- 3) katalytisk triad (Ser, His, Asp) där det är Ser som utför den klyvande nukleofila attacken på peptidbindningen,
- 4) oxi-anjonficka, som stabiliserar och binder det instabila övergångsstadiet, d.v.s. den del av aktiva centrat som bidrar till att sänka aktiveringsenergin.

(2p) Till ditt laboratorium har du fått en leverbiopsi som du skall karaktärisera med avseende på enzymatisk aktivitet av de normala formerna av glukokinas och hexokinas. Före den kinetiska analysen kvantifierar du mängderna av de olika enzymerna (med en Western blot) för att kunna genomföra analysen med lika stora mängder enzym. Du finner då att provet innehåller femtio gånger mer glukokinas än hexokinas – du späder det förstnämnda 50 gånger för kinetisk analys. Illustrera i ett och samma Michaelis-Mentendiagram (ange storheter på axlarna) hur graferna för de två enzymerna kommer att se ut vid olika glukoskoncentrationer (från noll till koncentrationer som ger enzyymmättnad). Ange också i diagrammet var och hur man ungefärligt kan bestämma Michaelis-konstant (K_m) för de olika enzymerna.

Michaelis-Mentendiagramet (reaktionshastigheten på Y-axeln och substratkoncentrationen i mM på X-axeln) skall visa två grafer där den för glukokinas är högerförskjuten relativt hexokinas.

Substratkoncentrationen vid halva V_{max} motsvarar K_m (ofta ett mått på substrataffiniteten) – substratkoncentrationen vid halva V_{max} skall skilja ca 100 ggr (K_m skiljer ca 100 gånger [se dock kommentar nedan]) medan V_{max} för glukokinas skall vara två gånger så högt.

Hexokinas skall ligga på V_{max} vid fastblodkoncentrationer över 3-4 mM.

[OBS! Kinetikkurvan för glukokinas följer egentligen inte MM-kinetik då den är sigmoid och därför skall man egentligen inte tala om K_m utan om koncentrationen då enzymet är "till hälften mättat". I detta teoretiska exempel godkänns dock en hyperbol kurva.]

Serinproteaser

(2p) Redogör för de fyra funktionella enheterna, som bygger upp det aktiva centrat i ett serinproteas.

- a) ospecifika bindningsställen som känner igen en proteinkedja;
- b) specificitetsficka som bidrar med bindningsenergi för att förankra ett specifikt substrat;
- c) katalytisk triad (Ser-His-Asp) – där Ser utför den nukleofila attacken,
- d) oxianjonficka där specifika glycinrester stabiliserar övergångstillståndet – oxianjonen.

(2p) För att en spermie skall kunna penetrera ett ägg och befruktning skall kunna ske krävs ett enzym *acrosin* som är ett serinproteas. Redogör för vilka strukturella och funktionella enheter man kan hitta i enzyms aktiva centrum i allmänhet och/eller specifikt hos serinproteaser.

- a) ospecifika bindningsställen för proteinkedjor,
- b) substratigenkänningsficka (skapar extra bindningsställen och därmed specificitet),
- c) katalytiska aktiva aminosyrarester (Ser, His, Asp; katalytisk triad hos serinproteaser),
- d) oxianjonficka eller motsvarande som stabiliserar "transition state" (övergångsstadiet), samt
- e) hos många enzymer, men ej serinproteaser, bindningsställe för cofaktor (metall och/eller coenzym).

(ca 2p från översta frågan i dokumentet) Redogör också för vilka funktionella enheter som man kan återfinna i det aktiva centrat hos ett enzym i allmänhet eller specifikt hos ett serinproteas. (denna fråga har jag dubblat under serinproteaser)

De fyra funktionella enheterna som kan identifieras i det aktiva centrat hos ett serinproteas är:

- 1) ospecifika bindningsställe som deltar i bindningen av proteinkedjan,
- 2) specificitetsficka som bidrar med ytterligare bindning och identifierar rätt protein (skapar specificitet),
- 3) katalytisk triad (Ser, His, Asp) där det är Ser som utför den klyvande nukleofila attacken på peptidbindningen,
- 4) oxi-anjonficka, som stabiliserar och binder det instabila övergångsstadiet, d.v.s. den del av aktiva centrat som bidrar till att sänka aktiveringsenergin.

(3p) Med utgångspunkt från en beskrivning av det aktiva centrats strukturella och funktionella organisation hos serinproteaser, inklusive trypsin, ge en mekanistisk förklaring till hur SPINK1 normalt kan tänkas inhibera trypsins funktion. Med samma utgångspunkt ge en mekanistisk förklaring till hur en potentiell mutation (föreslå en specifik mutation) i SPINK1 kan tänkas slå ut dess inhibitoriska effekt.

Aktiva centralt hos ett serinproteaser innehåller följande fyra strukturella och funktionella enheter:

- 1) ospecifika bindningsställen som binder till en proteinkedja,
- 2) substratigenkänningsficka som bidrar med ytterligare bindningsställen och igenkänning av peptidbindningen som specifikt skall klyvas),
- 3) de katalytiskt aktiva aminosyraresterna som bygger upp en katalytisk triad bestående av Ser-His-Asp,
- 4) samt en oxianjonficka som sänker aktiveringsenergin genom att den bidrar till bindningsställen som stabiliserar det tetraediska övergångsstadiet.

SPINK1 är en proteininhibitor som fungerar som substratanalog till trypsin. Vissa av dessa substratanaloger fungerar precis som normala substrat men det lossnar mycket långsammare.

Vissa proteininhibitorer som serpiner fungerar dock på ett sådant sätt att de binder till enzymet efter den nukleofila attacken varefter de inte alls lossnar eller genomgår en sådan konformationsförändring efter klyvningen att de inte lossnar.

Trypsin klyver efter basiska aminosyrarester (Lys och Arg) en mutation i SPINK1 som resulterar i ett aminosyrautbyte av t.ex. någon essentiell basisk aminosyrarest skulle kunna leda till utslagen inhibitorisk effekt (andra rimliga och motiverade förslag kan också godkännas).

Vitaminer & cofaktorer

(2p) Vitamin B12 deltar i två kända kemiska reaktioner i kroppen. Vilka?

Vitamin B12 behövs framförallt i delande celler för att omvandla N5-metyl-THF till THF.

Dessutom behövs vitamin B12 för metabolismen av uddakolsfettsyror [och mer specifikt i omvandlingen av propionylCoA].

(1,5p) Beskriv den principiella uppbyggnaden av NAD⁺ samt redogör för vilken specifik coenzymatisk funktion som NAD⁺ har i olika extranukleära enzymatiska reaktioner.

Se fig. 28.14 i CHF 4:e upplagan.

NAD⁺ deltar i redoxreaktioner och mera specifikt genom att vara elektron- och vätebindande.

(1p) Vad har cofaktorerna NAD och FAD gemensamt med avseende på struktur och funktion?

Båda är dinukleotider med fosfat-ribos-adenin som en nukleotid, och båda hjälper till att katalysera elektronöverföringar.

Om vitaminer från en tenta:

Vitaminer tillhör gruppen av essentiella ämnen, det vill säga ämnen som vi måste få i oss med kosten då vi inte kan bilda dem själva eller inte kan bilda dem i tillräcklig utsträckning. Till skillnad från många andra essentiella ämnen såsom essentiella fettsyror och aminosyror, behövs väldigt små mängder av vitaminer varför de inte inräknas bland våra huvudnäringsämnen.

Kemiskt indelas vitaminer i två huvudgrupper, vattenlösliga (till exempel vitamin B och C) eller fettlösliga (vitamin A, D, E och K). Vitaminer är vanligen små organiska molekyler som i kroppen ofta kemiskt modifieras för att de skall kunna utföra sin funktion som hjälpmolekyler (så kallade coenzymer) till många enzymer. I andra fall verkar de utöva ett skydd mot oxidativ stress eller fungera som reduktionsmedel för att regenerera enzymer som oxiderats i den enzymatiska katalysen.

Många välkända sjukdomar är associerade med vitaminbrist såsom skörbjugg, anemi, pellagra, Beriberi och koagulationsrubbningar. Många har därför vuxit upp med en vitaminburk på bordet. Om man dock äter en blandad normalkost och inte alltför ensidigt är det tveksamt om man behöver extra tillskott annat än under vissa speciella faser i livet då behovet kan öka eller om man lider av någon genetisk förändring. Ett för stort intag av vitaminer har till och med rapporterats kunna orsaka cancer.

Fettlösliga vitaminer såsom A, D, E och K absorberas på många olika sätt, bland annat enligt de principer som gäller för upptaget av fettsyror och kolesterol från tarmlumen. Vattenlösliga vitaminer såsom C-vitamin och folater absorberas enligt samma principer som gäller för många aminosyror respektive peptider när de absorberas från tarmlumen efter en måltid.

...senare samma tenta: Vid plötslig ökad dödlighet bland vissa fåglar och fiskar har man många gånger misstänkt att detta beror på brist på vitaminet tiamin. Vid tiaminbrist hos människa kan man drabbas av Beriberi (beror på ensidig tiaminfattig kost) och Wernicke-Korsakoffs syndrom (hos alkoholister som äter dåligt). Tiamin i modifierad form behövs bland annat för att den reversibla delen av HMP-shunten (hexos- monofosfat-shunten) skall fungera, men också för att flera för energibildningen centrala enzymkomplex skall fungera.

(1p) Beskriv med text och en enkel skiss de olika cellulära principer varigenom fettlösliga vitaminer kan upptas. (För ledtråd: se texten ovan.)

Fettsyror och kolesterol kan i tarmen tas upp från tarmlumen med hjälp av fri diffusion som är beroende av en koncentrationsgradient och m.h.a. av faciliterad diffusion (FATP och NPC1-L1) som också drivs av en koncentrationsgradient.

(2p) Redogör i detalj för de olika cellulära principerna varigenom de vattenlösliga vitaminerna C-vitamin och folater kan upptas. (För ledtråd: se den inledande tematexten.)

C-vitamin absorberas enligt samma princip som många aminosyror. De senare upptas med hjälp av olika aminosyratransportörer och symport med natriumjoner; en natriumjongradient skapas m.h.a. ett Na⁺/K⁺-ATPas lokaliserat i basalmembranet.

Folater absorberas enligt samma princip som di- och tripeptider. De senare absorberas m.h.a. ett transportprotein (PepT1) och principen sekundär aktiv transport (symport med vätejoner). Vätejoner pumpas ut i tarmlumen m.h.a. en H⁺/Na⁺-jon-antiport som drivs m.h.a. ett i basalmembranet lokaliserat Na⁺/K⁺-ATPas.

(3p) Redogör för strukturella uppbyggnad och organisation av kollagen typ1 genom användande av strukturnivåer (1-4) för proteiner. Beskriv också två posttranslateriska förändringar som kollagen måste genomgå innan de blir ett strukturellt proteinelement (tropokollagen) som kan bygga upp till exempel en hälsena. Beskriv också C-vitaminets roll i biosyntesen av kollagenproteiner.

Se Biochemistry Harvey & Ferrier (fig. 4.5, 4.1, 4.6, 4.7 och 4.8). Primär: repetitiva tripletter av aminosyrorna (Gly-X-Y); där X ofta är Pro och Y ofta Hyp/Hyl. Sekundär: vänstervriden helix med tre aminosyrarester/varv. Tertiär: fibrös – långsträckt tredimensionell struktur. Kvartär: tre proteinkedjor tvinnade i högervarv sammanhålls m.h.a. hydrofob interaktion och vätebindningar.

Posttranslateriska modifieringar: avklyvning av signalpeptiden på vardera proteinkedjan, hydroxylering av vissa Pro- och Lys-rester, glykosylering av vissa Hyl-rester, bildning av disulfidbryggor inom och mellan de tre proteinkedjorna i C-terminalen, tvinning av de tre proteinkedjorna, bildning av disulfidbryggor i N-terminalerna, extracellulär avklyvning av N- och C-terminalerna leder till bildning av tropokollagen. Därefter oxidering av vissa Lys-rester till allysin samt kovalent korsbindning mellan vissa Lys och allysinrester.

Enzymerna prolylhydroxylas och lysylhydroxylas, som katalyserar bildningen av Hyp resp. Hyl, innehåller som cofaktor Fe²⁺. Vid katalysen oxideras Fe²⁺ till Fe³⁺ varvid enzymet inaktiveras. C-vitamin behövs för att reducera järnjonen. [Vid C-vitaminbrist fås nedsatt förmåga till bildning av Hyp och Hyl, som behövs för att sammanhållande vätebindningar skall kunna uppstå, och för att proteinet skall kunna glykosyleras; glykosylering behövs för att flera tropokollagenmolekyler skall kunna aggregeras och kovalent korsbindning skall kunna ske].

(1p) C-vitamin, liksom även E-vitamin, anses också vara av betydelse när det gäller försvaret mot oxidativ stress. Även glutation, men på ett helt annat sätt, deltar också indirekt i bland annat försvaret mot oxidativ stress. Beskriv kortfattat hur de två vitaminerna anses kunna hjälpa till i försvaret mot oxidativ stress (tänk på kolesterolprojektet).

Båda vitaminerna innehåller en aromatisk ring som kan ta åt sig en udda elektron och delokalisera den över en större molekylär yta varvid vitaminerna själva blir radikaler men mycket mera stabila och mindre skadliga radikaler än t.ex. superoxidanjonen eller hydroxyradikal.

(2p) Redogör för hanteringen av vitamin B12 i tarmen (från födoingtag till och med absorptionen in i enterocyterna). Redogör även för viktiga celltyper i detta sammanhang, samt ange var och hur absorptionen sker i matsmältningskanalen.

Vitamin B12 frigörs från olika proteiner i magens sura miljö eller finns i fri form. Intrinsic factor (IF), som bildas i magens parietalceller, kommer i duodenum neutrala, till lätt basiska, miljö kunna binda till B12.

IF-B12-komplexet binder sedan till specifika receptorer i ileum. Receptor-IF-B12-komplexet tas därefter upp genom endocytos på ett likartat sätt som t.ex. LDL.

(2p) Ett derivat av det koboltinnehållande vitaminet B12 behövs för att en av kroppens svavelinnehållande aminosyror skall kunna bildas endogent i en specifik reaktion. Med utgångspunkt från S-adenosyl-homocystein (SAH), redogör för den svavelinnehållande aminosyrans biosyntes (bildning) som kräver vitamin B12. Samtliga substrat och produkter samt enzymnamn för den vitamin B12-krävande reaktionen skall anges.

- a) SAH + H₂O → L-homocystein + adenosin [enzym: hydrolas]
- b) L-homocystein + N⁵-metyltetrahydrofolat → metionin + tetrahydrofolat (THF)
(enzymnamn: metioninsyntas som kräver metylcobalamin – B12).

(1p) Brist på vitamin B12 kan leda till anemi (brist på röda blodkroppar). Med utgångspunkt från den B12-krävande reaktionen (se föregående fråga) förklara på ett översiktligt sätt varför anemi kan uppstå vid en eventuell B12-brist.

Olika former av THF som bildas i den s.k. enkolpoolen behövs för att bilda puriner och TMP.

Vid B12-brist kan THF ej regenereras från N⁵-metyltetrahydrofolat och de olika formerna av THF som behövs för att bilda puriner och TMP kan ej bildas; detta påverkar i förlängningen celledelningen vilket i sin tur kan leda till megaloblastanemi.

(4p) Två mitokondriella enzymkomplex kräver förutom tiamin flera andra vitaminer/vitaminderivat/coenzym för att de skall fungera. För ett valfritt tiaminberoende enzymkomplex, redogör för tiamins specifika funktion och form samt vilka andra vitaminer/coenzym som behövs för att komplexet skall kunna fungera och regenereras efter en enzymatisk runda. (Som alternativt till tiamins specifika funktion och form kan nettoreaktionen i hela komplexet beskrivas.) Beskriv också kortfattat vad den funktionella vinsten anses vara med att ordna enzymerna i form av komplex, kontra att ha dem som enskilda enzymer.

Exempel på tiamin-beroende enzymkomplex involverade i energibildningen är pyruvatdehydrogenas (PDH)-komplexet och alfa-ketoglutarat-dehydrogenaskomplexet. Specifik reaktion för PDH-komplexet:

pyruvat + tiaminpyrofosfat (TPP) → acetyl-TPP + CO₂ (hela reaktionen i komplexet: pyruvat + CoA + NAD⁺ → acetyl CoA + CO₂ + NADH + H⁺).

Komplexen kräver förutom TPP, liponsyra, FAD (flavin), CoA (pantotensyra) och NAD⁺ (niacin).

[Som alternativt svar kan reaktionen som katalyseras av alfa-KG-dehydrogenasomplexet beskrivas].

Att anordna enzymer och coenzym i form av komplex anses leda till minskade diffusionstider och minskad möjlighet till sidoreaktioner relativt om alla enzymer och coenzym befinner sig var för sig.

(5p) Med utgångspunkt från alanin beskriv bildningen av PRPP med angivande av

huvuds substrat och huvudprodukt, det vill säga följ kolskelettets väg från Ala till och med bildningen av PRPP. För två vitaminkrävande reaktioner i denna biosyntes, där vitaminerna/ vitaminderivatet sitter kovalent bundet till enzymet, skall reaktionen beskrivas i detalj med angivande av samtliga substrat och produkter samt enzymnamn och coenzym. OBS på pingpong står att det ska finnas ett fel i detta svar.

Alanin → pyruvat → oxaloacetat!malat! → // malat → oxaloacetat → PEP → 2-fosfoglycerat → 3-fosfoglycerat → 1,3-BPG !glyceraldehyd-3-P ← → HMP-) det finnshunten → ribulos-5-P !ribos-5-P → PRPP.

a) Alanin + alfa-KG → pyruvat + Glu
(enzymnamn: ALAT; coenzym pyridoxalfosfat/pyridoxin).

b) Pyruvat + CO₂ + ATP → oxaloacetat + ADP + Pi
(enzymnamn: pyruvatkarboxylas; vitamin biotin).

c) även andra vitamin-/coenzym-krävande reaktioner kan ge poäng.

(2p) Förklara vad man vet om folsyrens och A-vitaminets betydelse för utveckling under embryonaltiden.

Folsyra behövs för att neuralröret skall kunna slutas på normalt sätt.

Vid för lågt intag av folsyra i kosten ökar risken för spina bifida.

Höga nivåer av A-vitamin är teratogena och kan orsaka missbildningar i embryot.

(0,5p) Vitamin B12 absorberas huvudsakligen i

- a. magsäcken
- b. ileum
- c. colon
- d. jejunum
- e. duodenum

Svar: B

1p) Redogör med hjälp av samtliga substrat och produkter samt enzymnamn (som alternativ till enzymnamn beskriv de strukturella förändringar som enzymet katalyserar) för den specifika askorbatkrävande reaktionen i den metabola väg som leder fram till att adrenalin bildas som slutprodukt. (OBS – hela metabola vägen som leder fram till att adrenalin kan bildas skall ej beskrivas!)

Dopamin + O₂ + askorbat!noradrenalin + dehydroaskorbat + H₂O (enzymnamn: dopamin!-hydroxylas).

Övrigt

5 (2p) De flesta proteiner genomgår olika typer av posttranslatoriska modifieringar. En nyligen identifierad sådan är citrullinering, som katalyseras av olika peptidylarginindeaminaser. Modifieringen innebär att en argininrest i en proteinkedja kan omvandlas till aminosyraresten citrullin. Denna modifiering är nödvändig för vissa proteiners funktion involverade bland annat i hårbildning och hjärnans utveckling. Om okontrollerad citrullinering sker av proteiner påverkas dessa proteiners struktur på ett sådant sätt att antikroppar kan bildas och man har bland annat funnit sådana antikroppar och citrullinerade proteiner i stor mängd vid Reumatoid artrit, men också i samband med multipel skleros (MS) och Alzheimers sjukdom.

Redogör med ord och strukturformel för hur aminosyraresten arginin och citrullin skiljer sig åt. Om en argininrest i ett protein är felaktigt omvandlat till citrullin, hur kan detta påverka de kemiska bindingarna som finns i anknytning till argininresten. Motivera ditt svar!

Ledtråd: för att komma fram till korrekt molekylär förändring tänk på enzymnamnet och på vilka molekylära förändringar som sker i ureacykeln när citrullin bildas i denna.

Citrullineringen innebär att en aminogrupp på den basiska aminosyran arginins sidokedja ersätts med en karbonylgrupp [syret kommer från en vattenmolekyl]. En basisk aminosyra som arginin kan delta i starka jonbindningar men också i svagare vätebindningar. Deamineringen medför att aminosyran blir mera hydrofob. Den deaminerade resten kan inte delta i jonbindningar. Däremot kan den fortfarande delta i vätebindningar.