



MINISTERIET FOR
BØRN, UNDERVISNING
OG LIGESTILLING
STYRELSEN FOR
UNDERVISNING OG KVALITET

Bioteknologi A

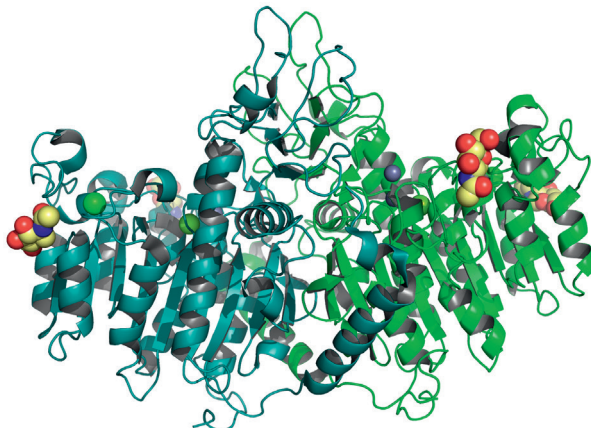
Studentereksamen

Af opgaverne 1 og 2 skal begge opgaver besvares.
Af opgaverne 3 og 4 skal en og kun en af opgaverne besvares.

Mandag den 23. maj 2016
kl. 9.00 - 14.00

Opgave 1 Human alkalisk phosphatase

Human alkalisk phosphatase er et enzym, som dannes i alle væv hos mennesket. Det består af to ens peptidkæder, og har både zinkioner og magnesiumioner som cofaktorer. Proteinets rumlige struktur ses i *figur 1*.



Figur 1. Rumlig struktur af *human alkalisk phosphatase*.

1. Beskriv de sekundære proteinstrukturer, der findes i *human alkalisk phosphatase*, og markér eksempler på disse på *bilag 1*.

Den biologiske betydning af *human alkalisk phosphatase* er endnu ikke helt klarlagt, men man ser forhøjede værdier af enzymet i blodet ved visse sygdomme. Normale værdier for aktivitet af *human alkalisk phosphatase* i blodserum er 25-100 U/L¹. Når man undersøger om patienter har et forhøjet indhold af *human alkalisk phosphatase* i blodserum, anvender man et substrat, der ved hjælp af enzymet spaltes til et gult produkt. Det gule produkt kan måles ved hjælp af spektrofotometri ved en bølgelængde på 410 nm.

Sammenhængen mellem absorbans (A) og enzymets aktivitet (ea), som måles i U/L, kan beskrives ved følgende ligning:

$$A = 3,0 \cdot 10^{-3} \frac{L}{U} \cdot ea \quad (1)$$

I en prøve af blodserum fra en patient målte man absorbansen af det gule produkt til 0,365.

2. Vurder om patienten har et forhøjet indhold af *human alkalisk phosphatase* i blodet.

¹ En U er lig med den mængde enzym, der er nødvendig for at omdanne 1 μmol af et substrat per minut.

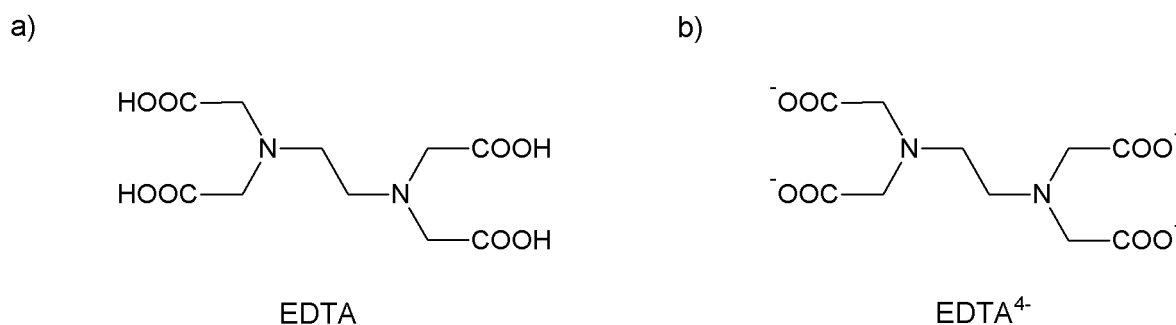
For at undersøge om *human alkalisk phosphatase* følger Michaelis-Menten kinetik, undersøgte man ved hjælp af samme målemetode sammenhængen mellem substratkoncentration og enzymets initialhastighed², se figur 2.

[S] (μM)	v ($\mu\text{M}/\text{min}$)
1,00	3,0
2,50	6,0
5,00	9,0
12,5	14
50,0	18
125	18
500	18

Figur 2. Sammenhørende værdier for koncentration af substrat og initialhastighed for *human alkalisk phosphatase*.

3. Argumentér for, at enzymet *human alkalisk phosphatase* følger Michaelis-Menten kinetik. Bestem K_M og v_{max} .

Når man skal tage blodprøver til måling af forskellige enzymers aktivitet, tilsættes ofte den kemiske forbindelse EDTA for at forhindre blodets koagulation. Når EDTA's fire carboxylsyregrupper har afgivet deres hydron betegnes stoffet EDTA^{4-} , som vist i figur 3.

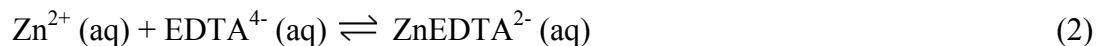


Figur 3. Kemiske strukturer af a) EDTA og b) EDTA^{4-} .

Opgaven fortsættes næste side

² Initialhastighed er det samme som begyndeshastighed.

EDTA har dog vist sig uegnet som antikoagulationsmiddel i blodprøver, hvor man vil måle aktivitet af *human alkalisk phosphatase*. Det skyldes, at enzymets katalytiske aktivitet kan hæmmes af EDTA^{4-} , der blandt andet kan indgå i ligevægt med zinkioner fra enzymets aktive center:



I en opløsning, hvor ligevægten havde indstillet sig, fandt man følgende aktuelle koncentrationer:

$$[\text{Zn}^{2+}] = 1,6 \cdot 10^{-15} \text{ M}$$

$$[\text{EDTA}^{4-}] = 2,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$$

$$[\text{ZnEDTA}^{2-}] = 9,8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$$

4. Beregn ligevægtskonstanten for reaktion (2).
5. Forklar, hvad størrelsen af ligevægtskonstanten viser om EDTA's evne til at hæmme *human alkalisk phosphatases* katalytiske aktivitet.