

TØ 2 – Introduktion til TØ

Table of contents

1 Opgave 1. Buffer-beregninger	3
1.1 Beregn bufferkomponenternes koncentrationer	3
1.2 Beregn molmængder i bufferen	3
1.3 Beregn gram af komponenterne	3
2 Opgave 2. Aminosyrers pKa	4
2.1 Identificer ioniserbare aminosyresidekæder	4
2.2 Bestem sidekædeladning over og under pKa	4
2.3 Diskuter variation af aminosyre pKa	4
3 Opgave 3. Glutathione	5
3.1 Vurder tilstedeværelse af α -aminogruppe	5
3.2 Vurder atypisk peptidbinding	5
3.3 Vurder let oxidérbar gruppe	5
3.4 Vurder tilstedeværelse af sekundær aminogruppe	5
3.5 Vurder alternativ nomenklatur	5
4 Opgave 4. Beregning af enzymkinetik	6
4.1 Beregn V_{\max} i mikromol per sekund	6
4.2 Beregn antal active sites per milligram	6
4.3 Beregn enzymets omsætningstal	6
5 Opgave 5. Analyse af Chymotrypsin i PyMOL	7
5.1 Lokalisér β -barrel domænerne	7
5.2 Undersøg den katalytiske triade	7
5.3 Forklar pseudo-2-talssymmetri	7
5.4 Find aktiveringsskæringen ved residue 16	7

I dette TØ sæt arbejdes der på at blive introduceret til TØ formatet med gruppearbejde og præsentation af løsninger på opgaver. Opgaverne drejer sig mest om repetition af viden fra tidligere kurser (Berg kapitel 1, 2 og 5) samt anvendelse af PyMOL til analyse af enzym struktur og Excel til analyse af enzym funktion.

1 Opgave 1. Buffer-beregninger

Denne opgave er repetition af Berg Biochemistry kapitel 1.

En forsker forbereder en buffer af eddikesyre og natriumacetat med en pH-værdi på 5,0. Den samlede koncentration af begge komponenter i bufferen er 250 mM, og eddikesyre har en pKa-værdi på 4,75.

1.1 Beregn bufferkomponenternes koncentrationer

Hvad er koncentrationerne af eddikesyre og natriumacetat i bufferen?

1.2 Beregn molmængder i bufferen

Hvor mange mol eddikesyre og natriumacetat er der i 2 L af bufferen?

1.3 Beregn gram af komponenterne

Hvor mange gram eddikesyre og natriumacetat er der i 2 L af bufferen?

Den molære masse af eddikesyre er 60,05 g/mol; den molære masse af natriumacetat er 82,03 g/mol.

2 Opgave 2. Aminosyrers pKa

Denne opgave er repetition af Berg Biochemistry kapitel 2.

2.1 Identificer ioniserbare aminosyresidekæder

Hvilke aminosyresidekæder kan almindeligvis fraspalte eller optage en proton under biologiske forhold og hvad er deres pKa-værdier?

2.2 Bestem sidekædeladning over og under pKa

Hvad er ladningen af en aminosyres sidekæde ved pH-værdier hhv. under og over denne pKa?

2.3 Diskuter variation af aminosyre pKa

Er en aminosyres pKa altid den samme? Hvis ikke, i hvilke situationer kan pKa ændres?

3 Opgave 3. Glutathione

Denne opgave er repetition af Berg Biochemistry kapitel 2.

Glutathione (GSH) er en antioxidant i planter, dyr, svampe og visse bakterier og archaea. Glutathione forhindrer skade på vigtige, cellulære komponenter som følge af reaktive oxygen-forbindelser som frie radikaler, peroxider og tungmetaller.

Glutathion har følgende struktur:

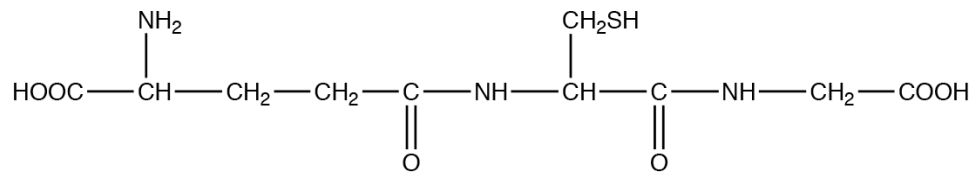


Figure 1: Glutathione

Hvilke af følgende udsagn om molekylet er korrekte?

3.1 Vurder tilstedeværelse af α -aminogruppe

Det indeholder en α -aminogruppe.

3.2 Vurder atypisk peptidbinding

Der findes en kobling mellem to aminosyrer, der adskiller sig fra den almindelige peptidbinding.

3.3 Vurder let oxidérbar gruppe

Der findes en let oxidérbar gruppe.

3.4 Vurder tilstedeværelse af sekundær aminogruppe

Der findes to sekundære aminogruyper.

3.5 Vurder alternativ nomenklatur

Man kunne også beskrive stoffet som Glu-Cys-Gly.

Bemærk at der kan være mere end ét rigtigt svar. Argumentér for hvert af de 5 tilfælde, både dem, du mener er korrekte og dem, du mener er forkerte.

4 Opgave 4. Beregning af enzymkinetik

Denne opgave er repetition af Berg Biochemistry kapitel 5.

Hydrolysen af pyrofosfat til orthofosfat driver biosyntetiske reaktioner såsom DNA-syntese. Denne hydrolytiske reaktion katalyseres i *E. coli* af en pyrofosfatase, der har en masse på 120 kDa og består af seks identiske underenheder. For dette enzym defineres en aktivitetseenhed som den mængde enzym, der hydrolyserer 10 μmol pyrofosfat på 15 minutter ved 37 °C under standard assaybetingelser. Det oprensede enzym har et V_{max} på 2800 enheder pr. milligram enzym.

4.1 Beregn V_{max} i mikromol per sekund

Hvor mange mikromol substrat hydrolyseres pr. sekund pr. milligram enzym, når substratkoncentrationen er meget større end K_M ? Med andre ord, hvad er V_{max} for den katalyserede reaktion? Angiv mængde hydrolyseret substrat i μmol .

4.2 Beregn antal active sites per milligram

Hvor mange mikromol active sites er der i 1 mg enzym? Antag, at hver underenhed har ét active site. Angives i μmol .

4.3 Beregn enzymets omsætningstal

Hvad er enzymets omsætningstal i s^{-1} ?

5 Opgave 5. Analyse af Chymotrypsin i PyMOL

I denne opgave skal vi bruge PyMOL til at kigge på strukturen af chymotrypsin, som beskrives på s. 223-226 i Berg Biochemistry 10. udgave. Åbn filen `chymotrypsin.pse`, pse-filer er PyMOL session filer, som du kan dobbeltklikke på for at åbne filen i PyMOL såfremt programmet er installeret.

5.1 Lokalisér β -barrel domænerne

Chymotrypsin består af to β -barrels kaldet domæne 1 og 2 vist med henholdsvis blå og rødt. Lokalisér de to domæner og prøv at tænde og slukke for dem med knapperne *Domain 1* og *Domain 2* i listen til højre. Hvad karakteriserer en β -barrel?

5.2 Undersøg den katalytiske triade

Den katalytiske triade bestående af Ser195, His57 og Asp102 befinder sig i området mellem de to domæner og er vist med grønne streger (sticks) i objektet *Triad*. Tryk F2 for at se disse aminosyrer tæt på. Hvilken rolle spiller disse for enzymet? Prøv også at identificere andre elementer i strukturen ved at tænde og slukke for dem.

5.3 Forklar pseudo-2-talssymmetri

De to domæner ligner meget hinanden og er arrangeret med en såkaldt *pseudo-2-talssymmetri*. Tryk F1 på keyboardet for at se ned langs denne akse og F3 og F4 for at se ned langs hvert domæne. Hvad tror du en *pseudo-2-talssymmetri* er?

5.4 Find aktiveringsskæringen ved residue 16

Når chymotrypsinogen aktiveres til chymotrypsin så bliver molekylet kløvet to steder for at producere kæderne, der her hedder A, B og C (se figur 7.17, s. 224 i Berg Biochemistry 10. udgave). Stykket, der forsvinder mellem kæde B og C er vist med prikker i strukturen (*Loop*) og er ikke så vigtigt for aktivering. Derimod er skæringen ved residue 16 kritisk. Find residue 16 og forklar hvorfor denne aminosyre er vigtig for aktivering af chymotrypsin.

OBS: Mac-brugere skal **holde fn-tasten nede** når de trykker på F1, F2, F3 osv, da disse taster også bruges til at styre skærmens lysstyrke etc. på MacBooks.