

Svar til målbeskrivelserne i Molekylær
Biomedicin A, medicin 1. sem

Dexter

Indhold

1	Indledning	5
2	Kemi	6
2.1	Det periodiske system og de vigtigste grundstoffer	6
2.2	Vigtige salte, syre og baser	7
2.3	Genkende reaktionshastighed og reaktionsorden	7
2.4	Dynamisk ligevægt, ligevægtsloven	7
2.5	Reaktionsbrøk, ligevægtskonstant og Le Chatelir	8
2.6	Definition af syre og baser, samt syre-base-reaktion	8
2.7	pH-begrebet	9
2.8	Koncentrationer i stærke og ikke-stærke syre og baser	9
2.9	Koncentrationer i buffersystemer	10
2.10	pH i amfolytopløsning	10
2.11	Tegne og anvende Bjerrum-diagrammer	10
2.12	Tegne og anvende titrerkurver	10
2.13	Komplekser og ligevægte med disse	12
2.14	Saltes opløselighed i vand og syre	12
2.15	Opløselighedsprodukt	13
2.16	Osmotisk tryk, kogepunktsforhøjelses, frysepunktssænkning og formler	13
2.17	Spændingsrækken og elektrokemisk celle	14
2.18	Nernst lov, hvilespænding og ligevægtskonstant	15
2.19	Enthalpi og bindingsenthalpi	15
2.20	Ionbinding, hydrogen-bro, kovalent og London binding	16
2.21	Alifatisk og aromatisk	16

2.22	Fysiske og kemiske egenskaber for carbonhydrider, samt halogenerede forbindelser	17
2.23	Angive og læse kemiske strukturformler, og nævne funktionelle grupper	17
2.24	Alkoholer og phenoler	17
2.25	Aldehyder og ketoner	18
2.26	Carboxylsyre	18
2.27	Aminer	18
2.28	Estere og amider	18
2.29	målsætning 29 udgår indtilvidere	19
2.30	Navngivning	19
2.31	Reaktionstyper	19
2.32	Isomeri	20
2.33	Kulhydrater	20
2.34	Lipider	21
2.35	Aminosyre	21
3	Biokemi	23
3.1	Kapitel 1	23
3.1.1	Eu- og procaryoter	23
3.1.2	Vands egenskaber	23
3.1.3	Svage elektrolytters dissociationsegenskaber og pH	24
3.1.4	Henderson-Hasselbalch ligningen	24
3.1.5	Buffer-begrebet og pH kontrol i cellen	24
3.1.6	Eucaryoters opbygning	25
3.3	Kapitel 3	27
3.3.1	General struktur for alle aminosyrene	27
3.3.2	Trebogstavekode for aminosyrene	28
3.3.3	Peptidbinding, cis/tran-konformation af denne	28
3.3.4	Ladningsegenskaber og titreringskurver for aminosyre	29
3.3.5	Elektroforetisk adskildelse af aminosyre og proteiner p.g.a. pI	30
3.3.6	Aminosyrenes kemiske karakteristika	30

3.3.7	Primær, Sekundær, Tertiær og Kvartenær struktur, samt Domæner	31
3.3.8	α -helix og β -sheets	32
3.3.9	Collagen, Elastin, Keratin og Tropomyosin	32
3.3.10	Plasma lipoproteiner	35
3.3.11	Glykoprotein og glykosylering	35
3.3.12	Proteinfoldning	36
3.3.13	Protein-adskillelse: elektroforese, iso-elektrisk fokusering og ionbytnings-kromatografi	36
3.3.14	Kapilærelektroforese	37
3.3.15	Gelfiltrering og SDS-elektrofores	37
3.3.16	HPLC og affinitetskromatografi	38
3.3.17	Aminosyreanalyse og protein sekvensbestemmelse	38
3.3.18	Røntgenkrystallografi	38
3.3.19	Struktur- og funktionsstudier af proteiner	39
3.9	Kapitel 9	39
3.9.1	General opbygning af immunoglobuliner	39
3.9.2	Konstante og variable regioner på immunoglobulinerne	39
3.9.3	Immunoglobulin klasserne, forskelle og ligheder	40
3.9.4	Immunoglobulinfoldninge	40
3.9.5	Antigenbindings sites og hypervariable regioner	40
3.9.6	Protein syperfamilie	41
3.9.7	Definition af serinproteaser	41
3.9.8	Forskellige serinproteaser og betydningen af det aktive sites omgivelser	41
3.9.9	Zymogen og regulering af enzymaktivitet	42
3.9.10	Protein inhibitor	42
3.9.11	Serinproteaser og deres slægtsskab	42
3.9.12	DNA-bindende proteiner	43
3.9.13	Myoglobins opbygning	43
3.9.14	Hæmoglobins opbygning	44
3.9.15	Hæm- og myoglobins rumelige struktur	44
3.9.16	Forskelle og ligheder mellem myo- og hæmoglobin	44

3.9.17	Iltbinding i myo- og hæmoglobin, samt Hill ligningen	44
3.9.18	Hæmoglobins iltbinding	45
3.9.19	Bohr effekten	46
3.10	Kapitel 10	47
3.10.1	Klassifikation af enzymer	47
3.10.2	ΔG og $\Delta G^{\ominus'}$	47
3.10.3	Activ site	48
3.10.4	Michaelis-Menten Modellen	49
3.10.5	Michaelis-Menten-ligningen	49
3.10.6	Irreversibel og reversibel hæmning af enzymer	49
3.10.7	Allosterisk regulering af enzymer	50
3.10.8	pH og temperaturens påvirkning af enzymets aktivitet . .	51
3.12	Kapitel 12	51
3.12.1	Celle membranens opbygning	51
3.12.2	Phospholipider, med serin, cholin og ethanolamin	52
3.12.3	Lipidstrukturer: Miceller og liposomer	52
3.12.4	Fluid mosaic model, og bevægelse i membranen	54
3.12.5	Transport over membranen	55
3.12.6	ΔG for membrantransport	56
3.12.7	Aktiv og passiv transport over cellemembranen	56
3.12.8	Ionkanaler; Na^+ -kanaler og Gap junctions	56
3.12.9	Faciliteret transport – GLUT1-GLUT5	57
3.12.10	Aktiv transport; Na^+ - K^+ - og Ca^{++} -pumpen	58
3.12.11	Cotransport – sekundær aktiv transport – Na^+ -glukose sym- port	59

Kapitel 1

Indledning

Nærværende svar til målbeskrivelserne i molekylær biomedicin A, på første semester medicin, er skrevet af undertegnet, på baggrund af møder holdt i læsegruppen, *Anonyme Anatomer*. Derfor tak til gruppens medlemmer, og i særdelshed Manan Pareek og Michael.

Må svarene være til hjælp og vejledning !

Dexter

Odense den 22 maj 2004

Kapitel 2

Kemi

2.1 Det periodiske system og de vigtigste grundstoffer

vigtige grundstoffer:

P Phosphor/fosfor — indgår i DNA og ATP.

C Carbon/“Kul” — indgår i alt! DNA, aminosyre, kulhydrater, lipider – selve grundlaget for organismer.

O Oxygen/ilt — indgår i Kulhydrater, aminosyre, lipider, DNA osv.

H Hydrogen/brint — alle steder hvor der er C involveret er der også H.

S Svovl/sulfur — findes i aminosyrene cystein og methionin.

N Nitrogen/kvælstof — er væsentlige i aminosyre, og baserne i DNA.

Ca Calcium/“kalk” — findes i muskler og især i knogler.

Na Natrium — jævnt fordelt i organismen, essentiel for “membranpotentiallet”.
Ikke meget i cellen, men uden for!

K Kalium — som natrium. Dog *høj koncentration i cellen*, lav i intercellulærvæsken.

2.2 Vigtige salte, syre og baser

Salte

Navn	Formel	Ioner
Natriumchlorid	NaCl	Na ⁺ Cl ⁻

Syre

Navn	Formel
Saltsyre/Hydrogenchlorid	HCl
Saltpetersyre/Hydrogennitrat	HNO ₃
Svovlsyre/DiHydrogenSulfat	H ₂ SO ₄
Phosphorsyre	H ₃ PO ₄
Flussyre	HF
Oxonium	H ₃ O ⁺

Baser

Navn	Formel
NatriumHydroxid	NaOH
Hydroxid	OH ⁻

2.3 Genkende reaktionshastighed og reaktionsorden

En reaktion kan være af forskellige orden for en reaktant. Det betyder, at den hastighed hvormed reaktanten aftager kan opskrives som:

$$0. \text{ orden: } v_0 = k * [\text{reaktant}]^0 = k$$

$$1. \text{ orden: } v_0 = k * [\text{reaktant}]^1$$

$$2. \text{ orden: } v_0 = k * [\text{reaktant}]^2$$

Den samlede orden for reaktionen, bliver summen af del reaktions ordner.

2.4 Dynamisk ligevægt, ligevægtsloven

Ved dynamisk ligevægt af reaktionen: $A + B \rightleftharpoons C + D$, dannes der konstant lige så mange nye molekyler C og D som der reagere den modsatte vej – *reaktionen*

er lige hurtig, begge veje.

I ligevægts loven ligger at reaktionen, vil stræbe efter ligevægt. Hvis der tilføres mere C, vil der blive dannes mere A og B, så *forholdet* mellem koncentrationerne holdes konstant. Se næste om reaktionsbrøk.

2.5 Reaktionsbrøk, ligevægtskonstant og Le Chatelir

Reaktionen $aA + bB \rightleftharpoons cC + dD$, opfylder ved ligevægt (dynamisk ligevægt jvf. ovenstående), at $\frac{[C]^c*[D]^d}{[A]^a*[B]^b} = K_c$

K_c er ligevægts konstant og ved en ændring i koncentrationerne af A, B, C og/eller D vil brøken ændre sig fra K_c , reaktion vil nu løbe så koncentrationerne igen kommer til at passe med K_c .

Således:

Større tæller \rightarrow reaktionen løber mod venstre.

Større nævner \rightarrow reaktionen løber til højre.

Le Chateliers Princip siger at, et system, vil mindske konsekvenserne af et indgreb. Med andre ord, når ligevægten er blevet forstyret, vil et system straks begynde at modvirke indgrebet, så ligevægten genoprettes.

2.6 Definition af syre og baser, samt syre-base-reaktion

Syre: Et molekyle der kan afgive en proton – “H⁺-ion”

Base: Et molekyle der kan optage en proton.

Ved en syre-base reaktion sker der en proton-overførsel, fra en syre til en base.

I en hver reaktion der involverer en proton-overførsel, vil der derfor indgå en syre og en base.

2.7 pH-begrebet

Syre-base-reaktionen $\text{H}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{O}^+ + \text{OH}^-$ har ligevægten, ved 25°C , $K_v = 1,0 \cdot 10^{-14} \text{M}^2$. Ligevægten hedder: $[\text{H}_3\text{O}^+] \cdot [\text{OH}^-] = K_v$

Definitioner: $\text{pX} = -\log(X)$

$-\log(K_v) = \text{p}K_v$, $-\log[\text{OH}^-] = \text{pOH}^-$ og $-\log[\text{H}_3\text{O}^+] = \text{pH}$

Heraf ses det at pH er den negative logaritme til oxoniumion-koncentrationen.

Desuden ses at: $\text{pH} + \text{pOH}^- = \text{p}K_v \rightarrow \text{pH} + \text{pOH}^- = 14$ (ved 25°C).

Da pH er en negativ logaritmisk skal, bliver pH lavere jo mere $[\text{H}_3\text{O}^+]$ vokser.

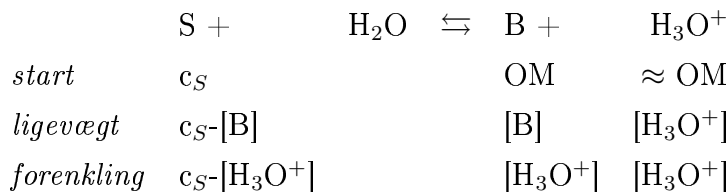
Jo mere sur en blanding er, jo lavere er pH.

2.8 Koncentrationer i stærke og ikke-stærke syre og baser

Stærke syre og baser reagere i teorien fuldstændigt, derfor er deres (ioners) koncentration i opløsningen lige den opløste mængde, ganget med en eventuel koeficient.

Hvis ligevægts konstanten er kendt, kan koncentrationerne regnes ved hjælp af ligevægts brøken. HUSK $\text{p}K_S = -\log(K_S)$. Dette gælder alle syre og baser.

For svage og middelstærke syre gælder, at reaktionen ikke forløber fuldstændigt.



Ligevægts brøken hedder: $\frac{[\text{B}] \cdot [\text{H}_3\text{O}^+]}{[\text{S}]} = K_S$, ved ligevægt gælder, jvf. ovenfor, at brøken kan omskrives til:

$$\frac{[\text{H}_3\text{O}^+]^2}{c_S - [\text{H}_3\text{O}^+]} = K_S$$

dette kan løses grafisk ved at indtaste:

$$Y = \frac{X^2}{c_S - X}$$

og derefter “trace” den værdi på grafen der er lig med K_S . c_S er selvfølgelig den formelle syrekonzentration.

Ved beregning af basekoncentrationer anvendes samme formel som ovenfor, blot udskiftes K_S med K_B og c_S med c_B .

2.9 Koncentrationer i buffersystemer

Ved koncentration bestemmelse af stoffer i buffersystem, brug bufferligningen:

$$pH = pK_S + \log\left(\frac{[B]}{[S]}\right)$$

2.10 pH i amfolytopløsning

pH i en amfolyt-opløsning er gennemsnittet mellem pK_S for amfolyttens syre, og pK_S for amfolytten. Sat på formel ser det sådan ud:

$$pH = \frac{1}{2} * (pK_S(S) + pK_S(Amf))$$

2.11 Tegne og anvende Bjerrum-diagrammer

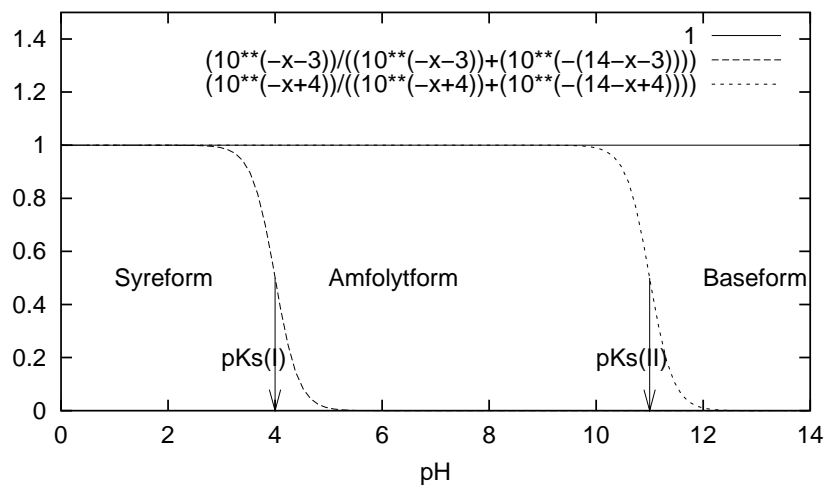
På den side af “bakken” der vender mod laveste pH, er molekylet på sin mest sure form, i forhold til den følgende form.

Syrebrøken udregnes ved:

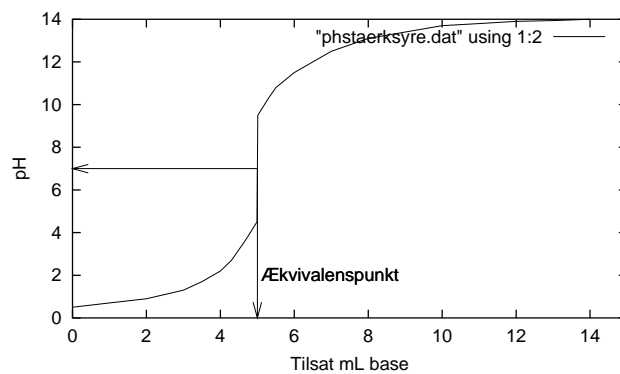
$$y_S = \frac{[S]}{[S] + [B]}$$

2.12 Tegne og anvende titrerkurver

For stærke syre, kendes på at kurven begynder ved lave pH og stiger langsomt indtil et lodret stykke, ligger ækvivalenspunktet ved den lodrette stigning.

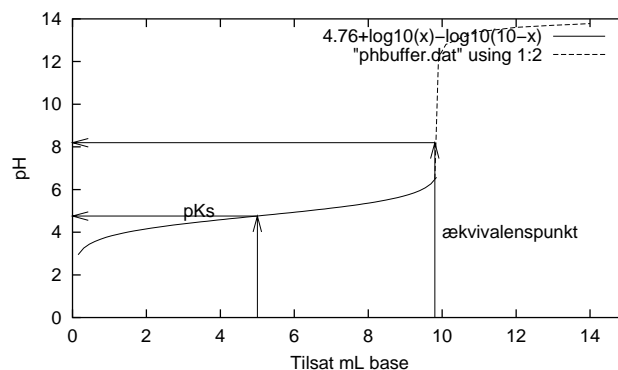


Figur 2.1: Bjerrum-diagram. Formlerne er syrebrøken omskrevet til "C". Se i øvrigt teksten



Figur 2.2: Titreringskurve for en monoprot stærk syre. se i øvrigt teksten

For svage syre - kendes på at de ikke ligner ovenstående - ligger ækvivalenspunktet stadig ved den lodrette stigning, desforuden kan pK_S aflæses, som den pH der ligger midt mellem 0 og ækvivalenspunktet.



Figur 2.3: Titreringskurve for en monoprot svag syre. kurven er forlænget med punkter, ud over bufferligningens definitions-mængde. se i øvrigt teksten

2.13 Komplekser og ligevægte med disse

En kompleksbinding er en binding mellem et metal-atom, og en såkaldt ligandt, ofte vand. Bindingen er en form for kovalent binding, men alle elektroner kommer fra liganden. Denne skal derfor have et frit elektron-par.

Komplekser kan "fjerne" stoffer fra en opløsning. Ved at binde dem komplekst "forsvinder" de, og der kan opløses mere af "stam-stoffet", dette kan være interessant ved tungt opløselige salte.

Eksempel: $A_a B_b(s) \rightleftharpoons aA(aq) + bB(aq)$, $A_a B_b$ er tungt opløseligt. ved at tilsætte Me^{x-} der reagerer: $nA(aq) + Me^{x-} \rightleftharpoons Me(A)_n^{x-}$ ser man at opløselighedsproduktet bliver mindre end K_o . Der kan derfor opløses mere stof.

2.14 Saltes opløselighed i vand og syre

Salte af stærke syre er, normalt, let opløselig i vand.

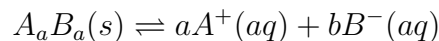
1.hpvedgruppes-salte og NH_4^+ salte er letopløselige

Salte af ikke-stærke syre er tungtopløselige

Salte af en syre kan opløses i en stærkere syre – opløselighed forstås som evnen til at reagere.

2.15 Opløselighedsprodukt

For reaktionen:



gælder at opløselighedsproduktet er: $[A^+]^a * [B^-]^b = K_o$

Dette er egentligt ligevægtsloven hvor det faste stof ($A_a B_b$) er udeladt.

2.16 Osmotisk tryk, kogepunktsforhøjelses, frysepunktssænkning og formler

Osmose: Når et stof opløses i vand mindskes vandkoncentrationen. Hvis rent vand og vand med mindre vandkoncentration adskildes af en semipermeabel membran, vil der passere mere vand fra den “vand rige” side til der “vand fattige” side end den modsatte vej (efter hånden stiger vandsøjlen i den vandfattige del, samtidig med at vand-koncentrationen stiger i samme). Det osmotisk tryk, er det tryk der skal udøves på den “vandfattige” side for at udligne denne transport.

Det osmotiske tryk kan udregnes med formlen:

$$p_{osmotisk} = [A] * R * T$$

[A] er den samlede *partikel koncentration* i vandet, og T er den absolutte temperatur. R er selvfølgelig gas-konstanten: $0.08314 \frac{L*bar}{K*mol}$

Kogepunkts forhøjelse: Når et ikke flygtigt stof, fx et salt, tilsættets til en væske stiger kogepunktet – da væskens damptryk stiger.

Kogepunktet stiger med en koefficient der er specifik for væsken, ganget sammen med den partikelkoncentrationen pr masse væske (opløsningsmiddel). Dette

kaldes den molale koncentration: $c_{molal} = \frac{\text{stofmængde}}{\text{masse opløsningsmiddel}}$

Formlen for kogepunktsstigningen ser herved sådan ud:

$$\Delta T_k = K_k * c_{molal}$$

K_k er den før omtalte væske specifikke kogepunkts-konstant.

Frysepunktssænkning: På samme måde som for kogepunkts forhøjelse, fryser en væske også først ved lavere temperature, når der opløses et stof deri. Kravet om at stoffet ikke må være flygtigt er knap så presserende nu.

Stadig bruges den molale koncentration af det opløste stof, ganget med væske specifik frysepunkts-konstant. På formel der det sådan ud:

$$-\Delta T_f = K_f * c_{molal}$$

2.17 Spændingsrækken og elektrokemisk celle

Metallerne står rangeret i *spændingsrækken* efter deres villighed til at overgå til ion-form, jo længere til venstre jo større er vilje til at være ion, jo længere til højre, jo større er viljen til uladet form.

Elektrokemisk celle, af galvanisk type, består af to delvist adskilte kar. I det ene kar er et stykke metal der står til venstre på spændingsrækken, i vandet er der ioner af samme metal, kar(A). I det andet kar er et metal der står til højre for det første metal, og i vandet er der ioner af samme, kar(B). Hver af de to kar kaldes en halv-celle. I kar(A) vil metallet gerne på ion-form, men skal af med deres elektroner. I kar(B) vil ionerne gerne optages i metallet, men de mangler elektroner. Ved at forbinde metallerne med et ledende materiale, og lade væskeren være i kontakt med hinanden løses dette problem: I kar(A) går metallerne ud i vandet, de elektroner de afgiver vandre gennem det ledende materiale over til metallet i kar(B), når metallet der modtager elektronerne, får det evnen til at binde flere af sine metalioner. For at udligne, at der er sket en spændingstransport, vandre de negative overskydende ioner fra kar(B) til kar(A), for at opretholde "den elektriske ligevægt".

2.18 Nernst lov, hvilespænding og ligevægtskonstant

Nernst lov, bruges til at udregne hvilespændingen for en elektrokemisk celle.

$$U_0 = U_0^\ominus - \frac{R * T}{z * F} * \ln(Y)$$

U_0^\ominus er standart hvilespændingen, den udregnes som forskelle mellem de to elektroder, i en elektrokemisk celle, når de er i standart tilstand. Således: $U_0^\ominus = e_h^\ominus - e_v^\ominus$.

R er gaskonstanten, Y er reaktionsbrøken, og T den absolutte temperatur.

z er det antal elektroner der overføres ved reaktionen mellem de to metaller.

F er den såkaldte Faraday konstant.

Formlen kan, for temperature omkring 25°C, omskrives til:

$$U_0 = U_0^\ominus - \frac{0.059V}{z} * \log(Y)$$

U_0^\ominus er stadig standart hvilespændingen. z er stadige antal overførte elektroner i reaktionsskemaet, og Y reaktionsbrøken.

Ved når Y=K, dvs. når der er ligevægt, så sker der ikke længere elektron-transport, og U_0 bliver derfor 0. Denne viden kan udnyttes til at finde ligevægten for systemet. ved at manipulere med formlen ovenfor, når $U_0 = 0$ får man, stadig ved 25°C:

$$\log(K) = \frac{z * U_0^\ominus}{0.059V}$$

Det er så blot at fylde ind.

2.19 Enthalpi og bindingsenthalpi

Enthalpi er et udtryk for systemets tilstand. Enthalpi-ændringen (ΔH) beskriver hvormeget energi der går *ind* i systemet ved en reaktion, regnet med fortegn. Der gælder at:

$\Delta H > 0 =$ endotermproces

$\Delta H < 0 =$ exotermproces

Bindingsenthalpi er den energi der skal til for at bryde en binding, eller hvormeget der frigives ved dannelsen af ditto.

Dobbelt- og trippelbindinger har større energi niveau.

2.20 Ionbinding, hydrogen-bro, kovalent og London binding

Ionbinding Dannes af den elektrisk tiltrækning mellem to atomer/molekyler med hver sin ioniserede ladning.

Hydrogen-bro Dannes mellem det elektropositive hydrogen og et elektronegativ O (eller N). Hydrogenen i bindingen skal være bundet til et mere elektropositivt atom, oftest O, men også N. *En inter-molekylær kraft.*

Kovalent-binding (to) Atomerne deler elektroner så de begge opnår “valensskalen” – at have fyldt den yderste skal. *En intra-molekylær kraft.*

London-binding Et sammenhold mellem molekyler der opstår p.g.a. elektron-skyens ujævne fordeling. Denne tiltrækning mellem molekylerne opstår og destrueres *meget* hurtigt. Den “hydrofobe”-kraft, da den oftes findes i upolære stoffer. *En inter-molekylær kraft.*

2.21 Alifatisk og aromatisk

Det må formodes, at navngivning er kendes på nuværende tidspunkt.

Aromatisk carbonhydrider indeholder en seksleddet ring hvor hvert carbon er knyttet til et atom “uden for” ringen, oftest H, og har en binding til de to nabo carboner, den sidste elektron bevæger sig frit over hele ringen. *Alifatiske carbonhydrider* er alt hvad der ikke er aromatisk.

2.22 Fysiske og kemiske egenskaber for carbonhydrider, samt halogenerede forbindelser

En kæde bestående af $-\text{CH}_2-$ er upolær. Hydrofobe.

De kan brænde men er ellers relativt reaktions-uvillige. Der kan dog udføres substitution og elimination. Hvis kæden indeholder en dobbeltbinding $-\text{CH}=\text{CH}-$ kan der desuden laves addition, $-\text{CH}=\text{CH}- + 2\text{H}^+ \rightarrow -\text{CH}_2-\text{CH}_2-$.

7.hovedgruppe er halogenerne, disse kan adderes eller substitueres til et carbonhydrid.

Fx. $2 \text{CH}_2=\text{CH}_2 + \text{Br}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{Br}-\text{CH}_2\text{Br}$ (Ethen til 1,1-dibromethan)

2.23 Angive og læse kemiske strukturformler, og nævne funktionelle grupper

Igen, navngivningen burde sidde der. der er en liste i noterne på side 26 over de funktionelle grupper.

2.24 Alkoholer og phenoler

Primær alkohol: $\text{HO}-\text{C}-\text{R}$ endestillet C.

PA kan oxideres til aldehyd og videre til carboxylsyre.

Sekundær alkohol: $\text{R}-\text{CH}_1\text{OH}-\text{R}^*$ midt stillet C.

SA kan oxideres til ketoner.

Tertiær alkohol: $\text{R}-\text{C}(\text{R}^*)\text{OH}-\text{R}^{**}$ "kryds stillet" C.

TA Kan ikke oxideres.

Phenol: Benzen med en $-\text{OH}$ gruppe. Hvis en benzen-ring har to grupper bundet deler man i *para*- 1. og 4. C, *meta*- 1. og 3. C og *ortho*- 1. og 2. C.

Phenoler er svage syre.

2.25 Aldehyder og ketoner

Er ens på den måde, at det drejer sig om en oxo-gruppe bundet til et C-atom.

Aldehyd: R-CHO. Kan oxideres til carboxylsyre. Polær.

Keton: R-CO-R*. Kan ikke oxideres videre – uden at brænde(-). Svagt/noget polær.

2.26 Carboxylsyre

Carboxylsyre: -COOH. Kan ikke oxideres videre. Polær. Svag syre. Korresponderes base: -COO⁻.

2.27 Aminer

Primær amin: H₂N-R

Sekundær amin: R-NH-R*

Tertiær amin: R-NR*-R**

Alle aminer er noget polære og svage baser.

Korresponderende syre hedder ammoniumion: Primær ammoniumion: ⁺H₃N-R

Sekundær ammoniumion: R-NH₂⁺-R*

Tertiær ammoniumion: R-NH⁺R*-R**

2.28 Estere og amider

Er ens på den måde, at de begge er dannet ved en kondensation involverende en carboxylsyre. Estrene dannes når carboxylsyre og alkohol kondensere. Amider når carboxylsyre og aminer kondensere.

Resultatet er:

Ester: R-COO-R*. R-COOH + HO-R** → R-COO-R** + H₂O

Estre er lidt polære.

Amide: $R\text{-CON}(R^*)\text{-R}^{**}$. Dannet: $R\text{-COOH} + R'\text{-N}(R^*)\text{-R}^{**} \rightarrow R\text{-CON}(R^*)\text{-R}^{**} + R'\text{OH}$

Delvist polære.

2.29 målsætning 29 udgår indtilvidere

Måske kommer der noget.

2.30 Navngivning

Regn opgaver, dette læres ikke ved at læse, vejledning står i kemibøgerne.

2.31 Reaktionstyper

Addition: Under sprængning af en dobbelt eller tripel binding i et molekyle, adderes et atom eller mindre gruppe til molekylet.

Elimination: Under dannelse af en dobbelt eller tripel binding fjernes et atom eller en gruppe fra molekylet.

Substitution: Et atom eller mindre gruppe i et molekyle udskiftes (substitueres) med en anden gruppe eller atom.

Kondensation: To organiske molekyler bindes sammen, under fraspaltning af et mindre molekyle, ofte H_2O .

Hydrolyse: Spaltning af et organisk molekyle i to, under optagelse af vand (, oxonium eller hydroxy).

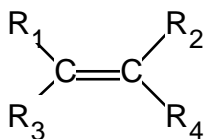
Oxidation: En stigning i molekylets oxidations-tal – desuden optages oftes et (eller flere) O-atomer.

Reduktion Et fald i molekylets oxidations-tal – optagelse af elektroner.

2.32 Isomeri

Isomere: Molekyler med samme molekyleformel, men forskellige strukturformel.

Geometrisk isomeri: En dobbelt binding vil være opbygget som på tegningen. Medmindre $R_1=R_2=R_3=R_4$ eller $R_1=R_3$ og/eller $R_2=R_4$, er der anledning til Z/E-isomeri, og måske Cis/trans-isomeri.



Figur 2.4: Cis-Trans og Z/E-tegning, se i øvrigt teksten

Z=zusammen, når de tungeste grupper sidder på samme side af dobbelt bindingen, fx hvis R_1 og R_2 , fig 2.4, var de tungeste.

E=entgegen, når de tungeste grupper sidder på hver sin side af dobbelt bindingen, fx hvis R_1 og R_4 , stadig figur 2.4 var de tungeste.

Når der er tale om carbonhydrid-kæder kan der tales som cis og tran.

Trans, når kæderne sidder på hver sin side af dobbeltbindingen, og cis når de sidder på samme side.

Hvis de letteste grupper på hver side af dobbelt bindingen er H, er der lighed mellem: Z og cis, og mellem E og trans, men kun hvis der er H på begge sider af dobbeltbindingen!

Spejlbillede isomeri: For hver asymmetrisk C-atom i et molekyle, gives der anledning til to spejlbilledformer.

Diasteriomeri Når der er mere end et asymmetrisk C-atom, tales der om Diasteriomeri. Det totale antal isomere bliver derfor: $2^{\text{antal asymmetriske C-atomer}}$.

2.33 Kulhydrater

Kulhydrater kan opskrives på molekyleformen: $C_n(H_2O)_n$, deraf navnet.

I realitet en er kulhydrater adlehyder, oftest med mange hydroxyl-gruppe. De

besidder evnen til at danne ringe, i det at Oxygenen i aldehydgruppen, kan reagere med en af carbonatomerne der sidder længere nede i kæden.

Kulhydrater er, aldehyden og hydroxyl-grupperne, hydrofile molekyler, og er oftest letopløselige i vand.

Som krystaller har de høje smelte- og kogepunkter. De brænder normalt først ved høje temperature.

2.34 Lipider

Lipider er en stærkt heterogen gruppen, som er holdt sammen af, at lipider er uopløselige i vand.

Lipider derfor upolære molekyler. Herud over er det svært at være general.

Lipider kan fx bestå af lange $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ kæder, eller aromatiske ringe.

Lipider har dog ofte lave smelte punkter, når de optræder som rent stof, og ditto kogepunkter.

2.35 Aminosyre

Aminosyre er opbygget omkring et centralt carbon-atom, det såkaldte C_α på denne sidder, foruden et hydrogen og radikalen, en amino- og en carboxylsyre-gruppe. pK_S for carboxylsyre-gruppen ligger ved relativt lav pH (<6). pK_S for ammoniumion-gruppen ligger derimod ved $\text{pH} > 8$. Ved fysiologisk pH vil aminosyre være på zwitterion-form. Se også afsnit 3.3.4 om aminosyres ladningegenskaber, side 29.

Grundet at forskellige aminosyre har forskellige radikaler er det svært at sige noget om deres vandopløselighed. Der henvises til afsnit 3.3.6 på side 30 i biokemi delen.

Aminosyre er stoffer med meget høje smelte og kogepunkter, da deres krystaller er meget stabile. Evt p.g.a. ionbindinger mellem carboxylsyre-ionen og ammoniumionen?

Om peptidbindingen se afsnittet "Peptidbinding, cis/trans-konformation af denne"

på side 28.

Kapitel 3

Biokemi

3.1 Kapitel 1

3.1.1 Eu- og procaryoter

Eucaryoter: *def: celler med cellekerne.*

Indeholder organeller (mitchondrier, golgi apparat osv.) Er væsentligt større end prokaryoter.

Procaryoter: *def: celler uden cellekerne.*

Indeholder ikke egentlige organeller. Små celler, normalt enkeltcelle individer.

3.1.2 Vands egenskaber

Vand er polært! Og det primære opløsningsmiddel i cellen.

Vands polære egenskaber skyldes den “vinklede” opbygning, og elektronegativitets forskellen mellem O og H. Vand kan derfor danne hydrogen-broer – en stærk svag binding. Dette er baggrunden for vands høje kogepunkt og “hydrofilitet” – hydrofilt er egentligt blot polaritet.

I cellen en findes vand over alt. En celle er i bund og grund, vand der er begrænset af en hydrofob membran. Desuden indgår vand som reaktant i de fleste af cellens kemiske processer.

3.1.3 Svage elektrolytters dissociationsegenskaber og pH

En elektrolyt er et stof med en ladning. Dissocierende elektrolytter er derfor syre og baser. En svag elektrolyt vil derfor være en svag syre eller base. Deres dissociations egenskaber er derfor, at de ikke dissociere fuldstændigt men, at kun en del af dem gør det (husk ligevægtsloven for svage syre).

pH er, også i biokemien $-\log[H_3O^+]$, dog ynder biokemikere omskrivning:

$$-\log[H_3O^+] \Leftrightarrow \log\left(\frac{1}{[H_3O^+]}\right)$$

Resultatet er som man ser der samme som i traditionel kemi, forklaringen fra 2.7 på side 9 kan derfor stadig bruges.

3.1.4 Henderson-Hasselbalch ligningen

Denne ligning er blot bufferligningen, i biokemien har den dog dette, letter forvirrende, navn.

$$pH = pK_S + \log\left(\frac{\text{konjugeret base}}{\text{konjugeret syre}}\right)$$

3.1.5 Buffer-begrebet og pH kontrol i cellen

Svage eller middelstærke syre og deres korresponderende base har buffer egenskaber. Da kun en lille del af de to puljer har reageret, har man en stor [S] og en tilsvarende [B], hvis der nu tilsættes stærk syre til vandet, så vil det reagere med den oprindelige base, den stærke syre vil derfor "forsvinde" og der vil blive dannet lidt mere af den svage syre (og der vil være forsvundet lige så meget af den basen). Der er dannet lige så meget svage syre som der blev tilsat stærk syre, men da samme [svage syre] ikke giver en nær så stærk pH ændring som samme [stærk syre], bliver pH udslaget ikke nær så voldsomt det ville være blevet. Jo større koncentrationerne af korresponderende syre og baser er, jo større mængder syre eller base kan systemet akkumulere uden væsentlige pH-ændringer.

pH-buffer er helt essentielle for celler, hvis pH i en celle ændre sig væsentligt, vil flere af enzymerne og processerne ikke virke, eller kun virke middelmådigt.

I cellerne og blodet er fx $\text{H}_3\text{O}^+ + \text{CO}_3^{2-} \rightleftharpoons \text{HCO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$ en væsentlig pH-buffer.

3.1.6 Eucaryoters opbygning

Eucaryoter er store celler med cellekerne. De er ca 10-60 μm i gennemsnit. I modsætning til procaryoterne indeholder eucaryoter organeller. Animalske celler har ikke cellevæg og ingen kloroplaste.

Der imod indeholder de: Cellekerne (med DNA), mitchondrier, golgi apparat, endoplasmatisk reticulum (sarkoplasmatisk reticulum i muskelceller), lysosomer og peroxisomer.

Cellenkernen er består af en dobbelt dobbelt-membran der omgrænser den del af cytoplasmaet der indeholder kromosomerne (DNA). Frit i cytoplasma eller på det endoplasmatiske reticulum findes ribosomer der translaterer mRNA til polypeptidkæder.

Endoplasmatiske reticulum består, som navnet siger, af et netværk. Dette netværk anastomosere i en god del af cellens 3-dimensionelle rum. I rER tilrettes proteiner, og de sendes ofte videre til golgi apparatet. Det er normalt fordøjelses enzymer eller sekretoriske proteiner der syntetiseres på rER. gER/sER er vigtig for produktionen af steroidhormoner.

Ufærdige enzymer sendes fra ER videre til *Golgi apparatet*. Golgi apparatet har form som en stak tallerkener. En masse cisterner "oven på" eller "efter" hinanden. Her modtages de næsten færdige, men ufunktionelle enzymer fra ER, de bliver her glykosyleret (post-kode) og/eller kløvet (aktiveret) herefter er de klar til at blive indsat i membranen, udskilt til ekstracellulær væske, eller pakket i lysosomer. Under alle omstændigheder pakkes de i en vakuole der afsnørres fra golgi og sendes til proteinernes bestemmelses sted.

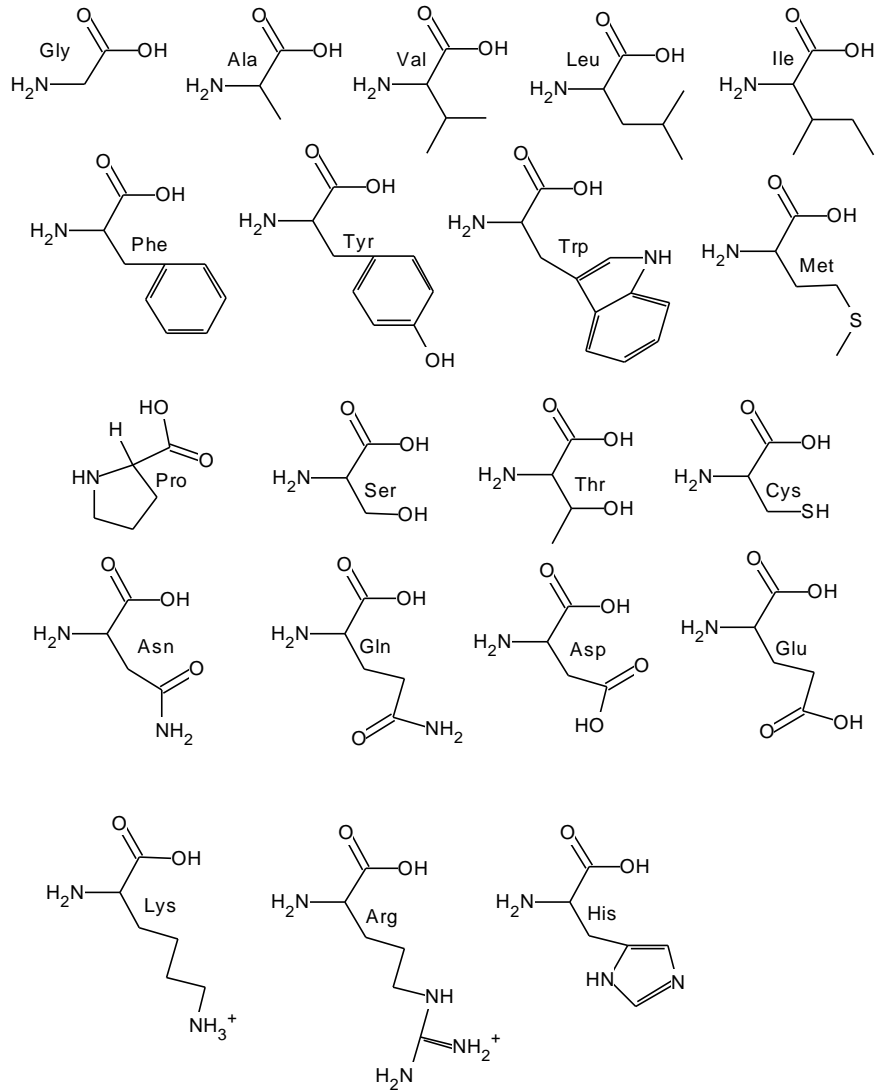
Lysosomer er små vakuoler – tiltider synlige i lysmikroskoper – der indeholder lysozymer, der er sure hydrolaser, eller blot fordøjelses enzymer. Når næring ude fra optages ved endocytose, smelter vakuolen sammen med en eller flere lysosomer, hvorved indholdet bliver nedbrudt, og herefter frigivet til cytoplasma.

Mitchondrier er cellens kraftværk. De består af en lille "celle" på størrelse med en gennemsnitlig procaryot. Den er omgivet af en dobbelt dobbelt-membran.

Hvor den ydre svare meget nøje til cellenmembranen, mens den indre på mange måder mere minder om eucaryoternes. Den indre membran er stærkt foldet ind i mitchondrien. I mitchondrien foregår den særdeles vigtige krebs' cyklus udvinder energi (ATP) af glucose.

3.3 Kapitel 3

3.3.1 General struktur for alle aminosyre



Figur 3.1: Stregformlen for de normalt forekommende aminosyre

3.3.2 Trebogstavekode for aminosyrene

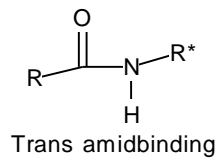
Glycin	=	gly
Alanin	=	ala
Valin	=	val
Leucin	=	leu
Isoleucin	=	ile
Prolin	=	pro
Phenylalanin	=	phe
Tyrosin	=	tyr
Tryptophan	=	trp
Methionin	=	met
Serin	=	ser
Threonin	=	thr
Cystein	=	cys
Aspargin	=	asn
Glutamin	=	gln
Aspartat	=	asp
Glutamat	=	glu
Lysin	=	lys
Argenin	=	arg
Histidin	=	his

3.3.3 Peptidbinding, cis/tran-konformation af denne

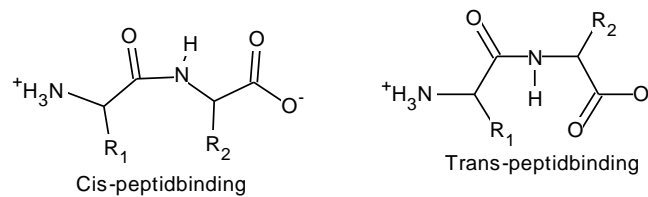
Peptid-bindingen har delvis karakter af en dobbeltbinding. Den kan derfor antage cis og trans tilstand.

I cis-konformation sidder det dobbeltbundne O- og nitrogenens H-atom på samme side, herved kommer også sidekæderne til at sidde på samme side.

I trans-konformationen sidder O og H på hver sin side, og lige så gør sidekæderne. Trans er den normale tilstand, cis kan dog også forefindes når sidekæderne er pro.



Figur 3.2: Amid-binding

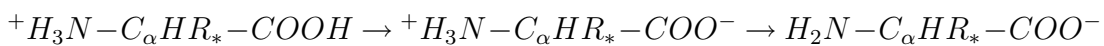


Figur 3.3: Cis- og Tran-konformationen af peptidbindinger

3.3.4 Ladningsegenskaber og titreringskurver for aminosyre

På nær de ladede aminosyre¹, svinger alle aminosyrene mellem ladningerne +1, ved laveste pH, og -1, ved højeste pH.

Reaktionen er:



Der kan findes pK_S for alle trinene. Når aminosyrens indre ladninger opvejer hinanden, kaldes den en zwitterion, her er aminosyren udad til elektrisk neutralt. Den pH hvor aa'en optræder på zwitterion-form, kaldes aminosyrens isoelektriske punkt, pI.

Grafen, x-akse=pH, y-akse=tilsat base, for "almindelige" aminosyre, vil have et flat stykke, det er væsentligt at huske, at dette trin repræsenterer et stort spring opad i pH! Grafen vil ligene en trappe med et trin.

Når mol-forholdet mellem aminosyren og den ækvivalente base er 1:1, vil aminosyren være på zwitter-ionform (pI).

Ud fra dette gælder at:

pH < pI = aminosyren er positivt ladet

pH = pI = aminosyren er udadtil neutralt pH > pI = aminosyren er negativt

¹Asp, Glu, Lys, Arg og His

ladet

Til at udregne forholdet mellem to trin i reaktionsligningen kan man bruge, bufferligningen, eller Henderson-Hessbal-ligningen:

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log\left(\frac{[\text{base}]}{[\text{syre}]}\right)$$

For de 5 aminosyre med sidekæder der har syre-base-egenskaber, er forholdet lidt anderledes. Grafen har stadig et plateau, men nu er det først når forholdet mellem base og aminosyre er 2:1. pI er stadig når forholdet er 1:1. Og samme regel som ovenfor gælder om ladningen.

3.3.5 Elektroforetisk adskildelse af aminosyre og proteiner p.g.a. pI

Da en aa der befinder sig ved en $\text{pH} < \text{pI}$ vil være positiv, vil den under elektroforese vandre mod katoden (-), omvendt hvis $\text{pH} > \text{pI}$.

Da de forskellige aminosyre har forskellige pI, vil deres ladning, under samme pH-forhold variere imellem dem. De vil derfor blive tiltrukket forskelligt til polerne. Ved $\text{pH} = \text{pI}$ for en aminosyre, vil den slet ikke blive tiltrukket til nogen pol, da den er udadtil neutral.

Da proteiner er opbygget af aminosyre, har de også muligheden for at indeholde en ladning. På samme måde som for aminosyre, har de derfor også en pI hvor deres indre ladninger opvejer hinanden. De samme regler som for aa gælder.

Man kan derfor også adskille proteiner under elektroforese. Hvis elektroforesen udføres ved $\text{pH} < \text{pI}$ vandre proteinet mod den negative pol(katoden), med en hastighed der er afhængig af dens størrelse og ladning. Ved $\text{pH} = \text{pI}$ vandre proteinet ikke. Ved $\text{pH} > \text{pI}$ tiltrækkes proteinet til anoden(+).

3.3.6 Aminosyrenes kemiske karakteristika

Hydrofobe: Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Prolin, Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan og Methionin

Hydrofile: Serin, Threonin, Cystein, Aspargin, Glutamin, Aspartat, Glutamat, Lysin, Argenin og Histidin

Glycin er ikke nævnt i nogen af de ovenstående. Da den har fået tildelt både vandopløselighed og en fedtopløselighed på 0!

Alkoholer: Serin og Threonin

Svovlholdige: Methionin og Cystein - to cystein kan reager og danne en "svovl-brid", dette er medvirkende til at holde proteiner sammen.

AA med syre-egenskaber, ved fysiologisk pH: Lysin, Argenin og Histidin. Herudover kan Tyrosin og Cystein, også fungere som proton-donore.

Basiske aa, positivt ladet ved fysiologisk pH: Lysin, Argenin og Histidin

Sure aa, negativt ladet ved fysiologisk pH: Glutamat og Aspartat

Prolin: indeholder, som den eneste, ikke en aminogruppe, men en amidgruppe. Desuden kan dennes peptidbindinger findes i cis-onformation.

3.3.7 Primær, Sekundær, Tertiær og Kvartenær struktur, samt Domæner

Primær struktur Aminosyrerækkefølgen, og kovalente interaktioner i polypeptidkæden.

Sekundær struktur Den lokale konformation af polypeptidkæden, *uden* sidekæder. Men med beskrivelse af forekomsten af α -helixer, β -sheets, og "uorganiserede" områder.

(I organiserede sekundær strukturelementer, er alle ψ -vinkler indbyrdes lige store, og lige så med alle ϕ -vinklerne)

Tertiær struktur Den globale konformation af polypeptidkæden. Inklusiv sidekædernes placering, og de sekundære strukturelementers indbyrdes placering. Evt. prostetiske grupper.

Kvartenær struktur Polypeptidkædens non-kovalente interaktioner med andre polypeptidkæder. Der er hovedsagligt hydrofobe-interaktioner.

Domæne Dele af polypeptidet, der er foldet op til en kompakt enhed, med en hydrofob kerne og en hydrofil skal, kun forbundet med resten af polypeptidet, med en streng der ikke behøver at besidde en veldefineret sekundær struktur.

3.3.8 α -helix og β -sheets

α -helix

I naturen altid højredrejet. 3,6 aminosyre pr omgang. Bliver holdt sammen af hydrogen broer mellem hvert 4. aminosyre. Sidekæderne stikker ud fra spiralen. Indgår ofte i globulære proteiner og enzymer. Ofte at finde i det aktive site.

beta-sheet

“Linjer” af aminosyre ligger ved siden af hinanden, enten parallelt eller antiparallelt. Holdes sammen af hydrogenbroer. Sidekæderne stikker skiftevis op fra planet og ned fra planet.

Findes ofte i strukturproteiner.

3.3.9 Collagen, Elastin, Keratin og Tropomyosin

Collagen Består af ca. 33% Gly og ca. 25% Prolin og Hydroxiprolin (Hyp).

Hydroxiprolin er unik for kollagen.

En polypeptidkæde kun bestående af prolin danner en særlig struktur, en polyprolin type II kæde, den danner en helinx med 3 aminosyre pr omdrejning. I den strukturelt vigtigste del af collagen består peptidkæden af $\frac{1}{3}$ glycin og $\frac{1}{3}$ prolin eller hydroxiprolin, sekundær strukturen bliver derfor som i en poliprolinkæde. I denne del af kæden hentager sekvenserne Gly-X-Pro og GLY-Hyp-Y sig op til 200 gange, optagende 600 af de ca 1000 aa i peptidet.

Tre collagen peptidkæder snor sig sammen, dannende en super-helix, på det punkt hvor der er tætteste på hinanden sidder der glysin, og prolinerne vender så de

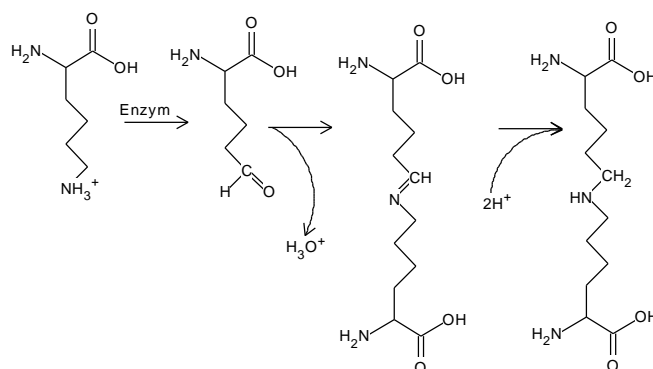
kan danne hydrogen broer med de to andre kæder (modsat α -helixen hvor hydrogenbroer sker mellem dele af samme polypeptidkæde. Jvf aa pr omdrejning og sekvens, dette gør at kæderne kan komme utroligt tæt på hinanden og holdes særdeles godt sammen.

Desuden dannes der allysin- bindinger, se under elastin og figur 3.4, både i super-helixen og mellem tætliggende super-helixer.

Grundet denne tætte bindingen både i og mellem super-helixerne, opnår kollagen en utrolig stor trækstyrke.

Elastin Har ikke en veldefineret sekundær struktur. Polypeptidkæderne ligger uordetligt ved siden af hinanden, med mulighed for stor mobilitet for sidekæderne. Kæderne forbindes ved hjælp af allysin-bindinger og desmoisin-bindinger. På grund af den "løse" struktur, får elastin sine elastiske egenskaber

Allysin: Enzymet *Lysin amino oxidase* omdanner lysin til allysin, den er specifik for sekvenserne: -Lys-Ala-Ala-Lys- og -Lys-Ala-Ala-Ala-Lys-.



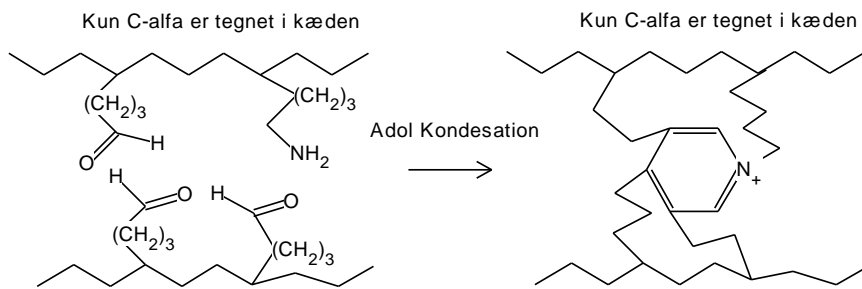
Figur 3.4: Dannelsen af allysin-bro

Som det ses af figuren 3.4, oxideres en lysin sidekæde til: $C\alpha-(CH_2)_3-CHO$ (aldehyd), den reagerer herefter spontant med en anden lysin, og danner en $C\alpha-(CH_2)_3-CH=N-(CH_2)_4-C\alpha$, denne optager to protoner og danner: $C\alpha-(CH_2)_4-NH-(CH_2)_4-C\alpha$

Desmoisin Hvis de to sekvenser -Allysin-Ala-Ala-Ala-Lys- og -Allysin-

Ala-Ala-Allysin- kommer i nærheden af hinanden, reager de til et heterocyklisk-ring, kaldet et *Desmoisin*.

Som det ses på figuren 3.5, kræver det at *lysin amino oxidase* første har ændret tre af de fire lysin sidekæder til allysin, derefter sker resten af reaktionen spontant som en kondensation, under fraspaltning af vand.



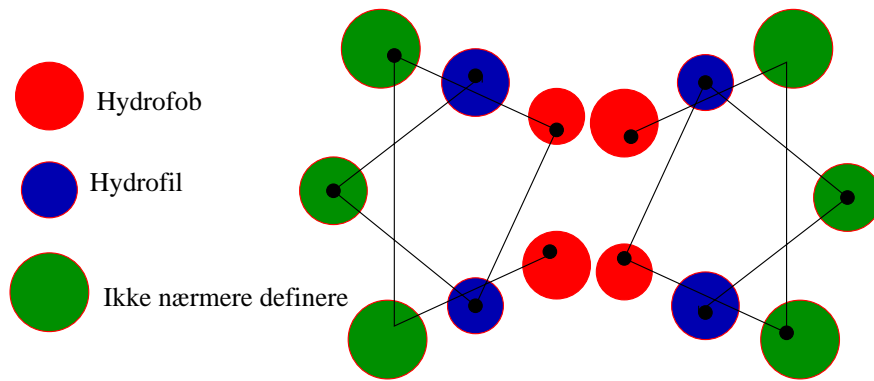
Figur 3.5: Dannelsen af desmoisin

Keratin: Keratins polypeptidkæde indeholder en hydrofob aminosyre på hver tredje plads, oftest valin. Princippet i sekvensen kan opskrives som: U- X_1 - X_2 -U-P- X_3 -P, hvor U= upolær aa, P= polær aa og X_x = tilfældig aa. Sammenholdt med at en α -helix har 3,6 aminosyre pr omgang, betyder det, at den α -helix der dannes, vil have en hydrofob linje på den ene side, værende to aminosyre bred. Linjen vil på hver side være grænset af en polære linje.

Linjen vil sno sig op af helixen, med en meget langstrakt snoning.

Grundet denne upolære "ryg" kan to eller tre keration-polypeptidkæder interagere og holde sig sammen. De vil danne en super-helix der følger den upolære linje på de to eller tre subunits

Tropomyosin er opbygget på efter samme model som keratin, dog er det altid kun to kæder der binder sig sammen. Ved keratin kan det være to *eller* tre.



Figur 3.6: Skematisk billede af keration/tropomyosin-’zipperen’

3.3.10 Plasma lipoproteiner

Lipoproteiner består af et apoprotein og lipid ti sammen giver der holoproteinet. Proteinerne besidder en hydrofob og en hydrofil del. Den hydrofobe er i kontakt med lipiderne. Den hydrofile dele bevirker at fedtdåben kan holdes opløst i vande. Et lipoprotein er i en forstand en emulgeret fedtdråbe.

Det yderste lag på lipoproteinet består af apoproteiner og amphifile lipider, det indre af lipoproteinet består af de hydrofobe lipider der skal transporteres.

Til de forskellige klasse (HDL, LDL, IDL, VLDL) høre forskellige apoproteiner. Især apoB tilhørende LDL lipoproteiner er speciel, det er en af organismens længste proteiner, og den sidder ikke genne den yderste sfære, men snor sig mellem de andre apoproteiner og de amphifile lipider.

3.3.11 Glykoprotein og glykosylering

Glykoprotein: Polypeptidkæde/protein der er blevet udstyret med en eller flere kulhydrater.

N-bundet: Når kulhydraten er bundet til amin-gruppen i asparbins sidekæde. kaldes også *type I binding*.

O-bundet: Når kulhydraten er bundet til hydroxyl-gruppen i enten serin eller threonin. Kaldes også *type II binding*.

Der findes enkelte andre bindinger:

Type III binding: Variant af type II, når kulhydraten er bundet til 5-hydroxylysin.

Type IV binding: Variant af type II, når kulhydraten er bundet til 4-hydroxiprolin.

Type V binding: Når kulhydraten er bundet til cystein.

Type VI binding: Kulhydraten er fæstet til N-terminalen på proteinet.

3.3.12 Proteinfoldning

Når polypeptidkæden under translationen forlader ribosomet, begynder det at folde. Proteinets struktur er formentlig den laveste energiform den kan optræde på, den vil derfor selv nå denne til form, hvis det ikke skal tage urimeligt lang tid kan det være nødvendigt at katalysere dele af processen.

Foldningen af proteinet er betinget af hydrofobe interaktioner og sekundært dannelsen af cysteinbroer.

For at undgå at forkerte dele af polypeptidkæden interagere hydrofobt, dannes der chaperoner, disse hindre fx to tidligt dannede hydrofobe områder i at binde sammen, hvis "meningen" er, at hydrofob del 1 bindes sammen med, en endnu ikke translateret hydrofob del 3.

I bl.a. E. Coli findes en undergruppe af chaperoner, der direkte fremmer den korrekte foldning af polypeptidkæden, kaldet chaperoniner.

Under foldningen er der også enzymer der spalter forkerte cystein-broer. De formodes, at fungerer efter det princip, at de spalter alle de cystein-broer de kan komme til, da korrekte cystein-broer befinder sig inder i proteinet, og uden for enzymernes kataklystiske virkning.

3.3.13 Protein-adskillelse: elektroforese, iso-elektrisk fokusering og ionbytnings-kromatografi

Elektroforese: ved elektroforese fastholdes en pH på ca 8.5. Dette er over pI for de fleste plasmaproteiner, de er derfor negativt ladet. Hvis de andbringes i et spændingsfelt, vil de vandre mod anoden med en hastighed bestemt af deres størrelse og ladning.

Iso-elektrisk fokusering: Princippet er det samme, som for elektroforese, pro-

teinerne andbringes i et spændingsfelt, og vil vandre mod en af polerne. Men her stiger eller falder pH-værdien i substratet frem mod polen, på et tidspunkt nås pI for proteinet, og det er her ikke længere ladet, hvorfor det ikke vandre længere.

Ionbytnings-kromatografi: Substratet vaskes igennem med proteiner opløst i vand. Proteinerne binder sig til substratet p.g.a. dennes ladning. Negativt substrat binder kationer, og positivt substrat binder anioner. Herefter vaskes substratet igennem med væsker med stigende pH, herved frigøres proteinerne igen, ligefremt proportionalt med deres ladning/tilhæftning til substratet.

3.3.14 Kapilærelektroforese

Elektroforesen foregår i et rør med et elektroforetisk medium, med forbundet katode og anode. Rørets kiselvæg er negativt ladet, men dækket af store, og dermed immobile, kationer. Selve mediet er rigt på kationer, som vil frastødes fra væggen/anoden, de kan derfor kun bevæge sig mod katoden. Dette er grundlaget for, at der i røret dannes et elektro-osmotisk-flow.

Prøven tilsættes ved anoden, hvis prøven indeholder både neutrale, kat- og anioner, vil de positivt ladede molekyler bevæge sig mod katoden, med den største hastighed, efterfulgt af de neutrale og tilsidst anionerne.

Det kan virke overraskende, at alle molekyler bevæger sig mod katoden, men det elektro-osmotisk-flow er så kraftigt at det kan overvinde selv negativt ladede molekyler.

3.3.15 Gelfiltrering og SDS-elektrofores

SDS-elektroforese: I modsætning til almindelige elektroforese der er baseret på proteinets egen ladning, er SDS-elektroforese baseret på en tilført ladning der er bestemt af proteinets størrelse, og “overdøver” proteinets egen ladning. Molekylet SDS er negativt ladet, proteinet får på denne måde en negativ ladning der er proportional med polypeptidkædens længde – proteinet denatureres under processen – proteinet vandre mod anoden.

På denne måde er vandingslængden en funktion af polypeptidkædens længde.

Gelfiltrering: Substratet er et porøst materiale, der danner rum i alle størrelser. De store proteiner kan kun være i de store rum, men de små overalt. Når det mættede substrat vaskes igennem, vil proteinerne blive afgivet som funktion af deres størrelse, begyndende med de største.

3.3.16 HPLC og affinitetskromatografi

HPLC: "almindelige HPLC" fungerer efter samme princip som ionbytnings-kromatografi, dog med den væsentlige forskel, at mediet er så tæt pakket, at der skal tryk på for at drive opløsningen igennem, både når det skal mættes og når det skal udvaskes. "Revers-phase-HPLC" fungerer ved at fange hydrofobe aminosyre, disse udvaskes igen ved at vaske igen med vand blandet med stigende koncentrationer af et organisk opløsningsmiddel.

Affinitets-kromatografi

3.3.17 Aminosyreanalyse og protein sekvensbestemmelse

Ved *Edmann reaktion* reagerer proteinet/polypeptidkæden med "*Phenylisothiocyanat*" på denne måde fjernes den første aminosyre fra pp-kædens NH_2 -terminal. Denne aminosyrederivat kan nu bestemmes, og processen kan gentages. Det er dog et problem at gentage den mere end 30 til 40 gange.

Ved *aminosyreanalyse* hydrolyseres proteinet herved frigøres aa'erne, og andelen af de forskellige aa, kan nu bestemmes, fx ved hjælp af fluorescensreaktioner.

3.3.18 Røntgenkristallografi

Det springende punkt i denne proces er fremskaffelsen af en krystal af det ønskede protein. Dette kan volde vanskeligheder, da de fleste proteiner gennem evolutionen er blevet forfinet til at kunne optræde i store koncentrationer uden at udkrystallisere. En krystal af et protein kan derfor ofte have karakter af en tyk gel.

Når disse problemer er overstået, anbringes krystallen under strålekanonen, og afbøjningerne "måles". Atomene forstærker stålen proportionalt med deres antal af elektroner. Interferens afhænger af atomernes indbyrdes placering.

Disse oplysninger behandles matematisk.

3.3.19 Struktur- og funktionsstudier af proteiner

Spektroskopiske metoder bruges til funktions- og strukturstudier af proteiner.

3.9 Kapitel 9

3.9.1 General opbygning af immunoglobuliner

Immunoglobuliner er opbygget af to (ens) lette og to (ens) tunge polypeptid kæder. Opbygningen er som et Y, hvor alle linjer er dobbelt. Foden af Y'et udgøres af C-terminalen af de tunge kæder, disse følges ad op gennem stiklen, til "krydset" her er de holdt sammen af to cystein-broer. De to tunge kæder løber nu fra hinanden og ud i armene. Armene dannes af halvdelen af den tunge kæde plus den lette kæde. Den lette og tunge kæde er holdt sammen af en cystein-bro beliggende N-terminalt for krydset. Enden af armene er N-terminalen for alle fire polypeptidkæder. Det er også her det antigen-bindende site er lokaliseret.

3.9.2 Konstante og variable regioner på immunoglobulinerne

Immunoglobuliner inddelles i fire områder, læst fra N-terminalen: Den variable region (begge), første konstante region (begge), anden konstante region (tung) og tredje konstante region (tung).

Den første benævnes V_L på den lette kæde, og V_H på den tunge. Ligeledes den næste der hedder C_L på den lette. Men da den tunge kæde har flere konstante regioner nummereres de: C_{H1} , C_{H2} og C_{H3} .

C_{H2} og C_{H3} er, som nævnt, foden i Ig, og har ingen kontakt med den lette kæde, det er derfor også, dem der bestemmer immunoglobulin-klassen (γ , μ , ϵ , α og δ)

3.9.3 Immunoglobulin klasserne, forskelle og ligheder

Der findes fem immunoglobulin klasser, adskilt på baggrund af deres tunge kæde: IgG (γ), IgM (μ), IgA (α), IgE (ε) og IgD (δ). De er alle opbygget efter det generelle princip, beskrevet i afsnit 3.9.1. Forskellene er deres V_x regioner, da disse bestemmer deres antigenspecificitet, og at nogle af klasserne ikke optræder som den normale monomer.

IgG: Det meste specifikke antistof. Rammer meget præcist, det tager dage før denne er i ordentlige produktion. Monomer

IgM: Det meste primitive antistof. Har langt fra altid en stor affinitet, men da den optræder som en pentamer, opnår den alligevel stor affinitet. Den er kroppens første humerale forsvar mod indtrængere.

IgA: "snyt-antistof" udskildes på slimhinder. Munden, luftvejene osv. Den optræder som en dimer. Desuden er "skæfterne" omviklet med et molekyle der skal lette udskillensen.

IgD: Monomer, er aktiv i bekæmpelsen af parasitter.

IgE: Er involveret i allergiske reaktioner. Monomer.

3.9.4 Immunoglobulinfoldning

Igs tertiære/kvartære struktur er, som navnet siger, næsten globulær. Hver af de før nævnte regioner V_L , V_H , C_L , C_{H1} , C_{H2} og C_{H3} danner en speciel struktur, hvor 7 til 9 polypeptid-stykker indgår. Det er selvfølgelig dele af den samme streng. De danner 2 stk. anti-paralle β -sheets. De ligger oven på hinanden. De forskellige områder interagerer nu med deres tilsvarende stykke på en anden kæde. Også her holdes de sammen ved kræfterne mellem β -pladerne.

3.9.5 Antigenbindings sites og hypervariable regioner

Som tidligere nævnt er immunoglobuliners antigen binde områder lokaliseret i enden af Y'ets arme. I en rummeligstruktur vil alle sites være placeret på den ene halvkugle af immunoglobulinet.

Hypervariable regioner: områder i V_L og V_H der indeholder få aminosyre,

med høj mutationsrate, bestemmer antigen-specificiteten.

3.9.6 Protein superfamilie

Proteiner, hvis gener stammer fra samme oprindelige gen.

De vil derfor indeholde sammenlignelige baserækkefølger, aminosyresekvenser og struktur elementer.

3.9.7 Definition af serinproteaser

Hydrolyserende enzymer, der hæmmes irreversibelt af Diisopropylflourophosphat (DFP)

3.9.8 Forskellige serinproteaser og betydningen af det aktive sites omgivelser

Herunder vil de tre oftest nævnte “fordøjelses”-serinproteaser blive nævnt. Ud fra forklaringen om deres spaltnings specificitet, burde man kunne udlede en ide hvilken betydning det aktive sites omgivelser har.

Chymotrypsin: Spalter polypeptidkæder før en stor hydrofob aminosyre. Dette skyldes at den har en dyb hydrofob “lomme” lige ved det aktive site. Hvis en stor hydrofob sidegruppe fra en polypeptidkæde, kommer herved, bliver kæden holdt fast og spaltet.

Trypsin: Spalter før basiske aminosyre (lysin, argenin og histidin), da der i bunden af “lommen” (chymotrypsin, trypsin og elastin stammer fra samme oprindelige enzym) er en negativ ladning, som holder den positive, basiske aminosyre-sidegruppe fast.

Elastase: Kløver før små hydrofobe aminosyre. “Lommen” er, som ved chymotrypsin, hydrofob, men ikke nær så dyb.

3.9.9 Zymogen og regulering af enzymaktivitet

Zymogen: et zymogen er et endnu ikke funktionsdygtigt enzym, det skal fx spaltes før det virker.

Serinproteaser produceres alle som zymogener. Dette giver den fordel, at de kan produceres i stort tal og være tilstede hvor der kan blive brug for dem, men uden at blive aktiveret for det er nødvendigt. Et godt eksempel er enzymerne til blodkoagulation, disse findes i stor koncentration i blodet – på deres zymogen-form. Først når der går hul på blodbanen spaltes de til den aktive form, og udføre deres opgave, at koagulere blodet.

3.9.10 Protein inhibitor

En protein inhibitor er et protein der hæmmer et enzyms arbejde – eller terminere det.

De hæmmere som organismer selv danner mod deres egne serinproteaser, kaldes *serpiner*, akronym for *Serinprotease Inhibitor*.

3.9.11 Serinproteaser og deres slægtsskab

Alle serinproteaser stammer fra det samme oprindelige gen! Dette ses når man kigger på generne for de forskellige serinproteaser.

Det ses, at de tre vigtige aminosyre Ser₁₉₅, His₉₇ og Asp₁₀₂² altid ligger i hver deres respektive exons – for enkelte geners vedkommende, er et af disse exons evt. blevet delt af et stykke introns.

Aminosyresekvenshomologi: Da serinproteaserne stammer fra samme oprindelige gen, kan man begynde at sammeligne de forskellige polypeptidkæder.

Aminosyresekvenshomologi, er når den samme rækkefølge af aminosyre optræder i forskellige serinproteaser

²disse numre passer ikke nødvendigvis i alle serinproteaser, men da disse aa indgår i det aktive site, er de navngivet som ovenstående!

3.9.12 DNA-bindende proteiner

Tre typer af DNA-bindende proteiner skal her beskrives. Det drejer sig om Helix-turn-helix, zinkfingeren og leucin-zipperen.

Helix-turn-helin: Består, som navnet siger, af to α -helixer og en streng der binder dem sammen. HTH'en binder sig til DNA-rygraden, ved hjælp af positive aminosyre på den ene af de to helixer. De positive aminosyre interagerer med de negative fosfat-syre imellem deoxyriboserne.

HTH'en kan også danne en dimer, specificiteten stiger da.

Zinkfingeren: Indeholder som navnet siger et zink-atom. Dette bliver holdt fast af to cystein- og to histidin-sidekæder. Disse to zink-bindende grupper er adskilt med 12 aminosyre. Strukturen indholder også en α -helix der kan interagerer med nucleotiderne i DNA, og binde sig til specifikke gener.

Leucin-zipperen: Består af en α -helix, der på hver 7 plads har leucin. Da der er 3,6 aa pr omgang, kommer alle leucinerne til at ligge på samme side af helixen. Her vil de danne et hydrofobt område, der kan interagerer med et ditto på en anden helix – og herved opstår “zipperen” når to af disse “leucin bekendte α -helixer” lyner sig sammen. Selve zipperne er ikke det DNA-bindende i molekylet, det sieder længere ned på α -helixer, men ved at bruge en leucin-zipper, kan to helixer bindes sammen så de kan danne en “saks” omkring DNAet. Zipperne kan bestå af 4 til 5 leucin. Mindre end 4 er for lidt, og mere end 5 er overflødigt. Leucin-zipperen sidder ved polypeptidkædens C-terminal.

3.9.13 Myoglobins opbygning

Myoglobin består af en polypeptid kæde. Med 8 α -helix kæder.

Proteinets overflade er hovedsageligt dækket af hydrofile aminosyre, da molekylet ikke har en kvartenær struktur. Det indre af molekylet er derimod hydrofob. Den lomme, hvori hæm-gruppen sidder er også hydrofob, dette holder hæm-gruppen fast i lomme.

3.9.14 Hæmoglobins opbygning

Hæmoglobin består, i modsætning til myoglobin, af 4 kæder. Disse holdes sammen af hydrofobe interaktioner mellem polypeptidkæderne.

Hos normale "voksne" mennesker er det 2 α - og 2 β -kæder (HbA₁), og en lille smule bestående af to α - og to δ -kæder (HbA₂). Hos fostre er det stadig to α -kæder, men i stedet for β -kæden er en γ kæde. Det første stykke tid efter undfangelsen optræder desuden to andre kæder nemlig: ζ - og ε -kæder.

3.9.15 Hæm- og myoglobins rumelige struktur

Som tidligere nævnt består myoglobin af 8 α -helixer, ligeledes gør de forskellige subunits i hæmoglobin. Myoglobin er hydrofil på hele dens overflade, hvorimod hæmoglobin underenhederne kun er hydrofile på en del af deres overflade. Resten er hydrofob og bruges til at holde sammen på den kvartenære struktur.

3.9.16 Forskelle og ligheder mellem myo- og hæmoglobin

I højgrad kan det være relevant at gennemlæse afsnit 3.9.15 igen. En vigtigste lighed er, at begge indeholder en eller flere hæmgrupper, holdt fast ved hydrofobe krafter. Ved hæm-gruppen sidder, hos begge molekyler en proximal histidin og en distal histidin, se mere afsnit 3.9.18. Desuden besidder de begge evnen til at binde ilt.

Mange af forskellene er allerede nævnt. Myoglobin er hydrofil på det meste af overfladen, hæmoglobin kun på en del af den. Myoglobin har kun tertiær struktur, hæmoglobin har en kvartenær.

3.9.17 Iltbinding i myo- og hæmoglobin, samt Hill ligningen

Det er, som tidligere skrevet, hæmgruppen i de to molekyler der binder iltet. Dette sker da Fe²⁺ kan optage 6 ligander, når den sieder i porfyrin-ringen bliver

den holdt på plads ved at danne 4 ligandbindinger til denne ring. Når hæggruppen andbringes i hæg- eller myoglobin, etableres yderligere en ligand-bindinger, nemlig til det proximale histidin.

For hægoglobin gælder at det ikke er lige svært at binde ilt til alle fire subunits. Det er sværest at binde til den første, men når denne har bundet et ilt molekyle, forkommer en konformations ændring, der "trækker" i det andre subunits, så disse for nemmere ved at binde ilt. Jo flere subunits der er mættet, jo nemmere er det at få mættet de sidste.

Hill ligningen: Fortæller om et enzyms(proteines) grad af kooperativitet, og for myo- og hægoglobin også om iltbindingen/iltmætningen ved et bestemt (partial)tryk af ilt.

Ligningen kan opskrives på denne måde:

$$Y = \frac{(pO_2)^n}{(pO_2)^n + (P_{50})^n}$$

Y er mængden af mættede sites, ud af det samlede antal mætbare sites.

P_{50} er det ilt-(partial)tryk hvor $Y = 0,5$

n er graden af kooperativitet. Hvis:

$n > 1 \rightarrow$ positiv kooperativitet

$n = 1 \rightarrow$ ingen kooperativitet

$n < 1 \rightarrow$ negativ kooperativitet

Det forstås herfra, at myoglobin må have $n = 1$ da den kun består af en polypeptidkæde. Hvorimod hægoglobin, ud fra det før nævntet, må have $n > 1$.

Kooperativitet: *en subunits evne til at påvirke de andre subunits', i et enzym, evne til at binde substrat, når denne selv har bundet.*

3.9.18 Hægoglobins iltbinding

Som nævnt i afsnit 3.9.17, er jern-ionen i hæggruppen bundet til porfyrin-ringen og det proximale histidin. Jern-atomet er dog for stort til at kunne side i ringet plan, så den sieder uden for ringen i retning mod det proximale histidin. Der er desuden andre frastødende krafter der ville blive ufavorable, hvis jern-atomet skulle bibeholde sin afstand i histidinen og sidde i ringen.

Når der bindes ilt til jern-ionen, som den 6. ligandt, mindskes atomets størrelse, det kan nu være i porfyrin-ringen. Herved trækkes det proximale histidin tættere på ringen og med den, den helix (F) som histidinen er fæstet i, dette fremkalder ændringen i hæmoglobins konformation. Denne ændring spreder sig til en anden kæde, i det α_1 og β_2 høre sammen, tilsvarende for α_2 og β_1 .

Bindeledet mellem kæderne er FG bøjningen, der ved saltbindinger står i forbindelse med C kæden. Den saltbro der er vigtig i FG···C forbindelse. Det er en binding mellem en negativ carboxylsyre i β -kæden og en positiv guanidinium i α -kæden. Desuden er der en binding mere mellem α - og β -kæden, nemlig mellem en negativ carboxylsyre i β -kæden og en primær-ammonium-gruppe i α -kæden. Denne binding indeholder en for Bohr effekten særdeles vigtig imidazol-gruppe. Desuden optræder en binding mellem α_1 og α_2 , denne binding involvere også en positiv guanidinium. Alle bindinger indholdende positive guanidiner, er væsentlige for Bohr effektens rektion i retning mod deoxyformen, af hæmoglobin.

T-form: *tens – spændt/anspændt. Den form enzymet indtager når det ikke har bundet substrat. Deoxyformen af hæmoglobin.*

R-form: *relaxed – afslappet/afspændt. Den form enzymet indtager når det har bundet substrat. Oxyformen af hæmoglobin.*

I henhold til det, at der kooperativitet må der eksistere mindst en mellemform af R og T.

3.9.19 Bohr effekten

Bohr effekten beskriver den kendsgerning, at der kan opskrives en reaktionsskema for forholdet mellem deoxy- og oxyformen af hæmoglobin der hedder:



n afhænger af miljøet.

Det ses ud fra denne ligevægt, at under sure forhold vil Hb have tendens til at overgå til deoxyformen. Hvor imod affiniteten for O_2 vil stige med faldende pH (jvf. Le Chateliers princip, der vil ske forskydning mod højre i skemaet).

Bohr effekten er særdeles praktisk, i det at ude i kapillærerne hvor iltens skal

afgives, er der lav pH som følge af CO_2 udskilt fra cellerne, herved falder hæmoglobins affinitet for ilt, og dette frigives til blodvæsken, hvorfra det diffunderer ud i cellerne. I lungerne hvor pH er højere, da kulsyre-anhydriden er frigivet til luften, stiger affiniteten praktisk nok igen.

Grunden til at H^+ fremmer T-formen, er de i forrige afsnit nævnte salt-bindinger mellem α - og β -kæden. I R-form, eller når "kooperativiteten er i gang" er disse bindinger brudt, og den primære ammoniumion er omdannet til en primær amin, og imidazol-gruppen er uladet – har afgivet protoner. I T-form er disse grupper positiv, og har da optaget en proton igen, jvf. reaktionsskemaet, forklare dette protonens indvirkning.

3.10 Kapitel 10

3.10.1 Klassifikation af enzymer

Enzymer deles i seks hoved grupper:

Oxidoreductaser Katalysere redox-processer. Dehydrogenase mf.

Transferaser Transport enzymer, flytter rundt på grupper på eller mellem molekyler.

Undergruppen *Kineaser* flytter phosphor-grupper.

Hydrolaser Hydrolysere bindinger – fordøjelses enzymer, fx peptidaser.

Lyaser Tilføjer eller fjerner: H_2O , NH_3 eller CO_2 .

Isomeraser Transformere et stof om til en af dens isomere.

Ligasaser Syntetisere stof, under forbrug af ATP.

3.10.2 ΔG og $\Delta G^{\ominus'}$

En proces kan kun forløbe når den samlede entropi for systemet og omgivelserne er voksende. Denne relation kan sættes op på denne måde: $\Delta S = \Delta S_{system} + \Delta S_{omgivelser} > 0$, ud af dette ser man, at entropien i et "område" godt kan

være faldende, bare den *samlede* mængde entropi er voksende.

Dette kan være svært at holde rede på, derfor er der udviklet et begreb kaldet Gibbs frie energi, der fortæller om en reaktion kan forløbe:

$$\Delta G = \Delta G^{\ominus'} + RT \ln \left(\frac{[C][D]}{[A][B]} \right) = \Delta G^{\ominus'} + RT \ln(Y)$$

ovenstående gælder for reaktionen: "A + B → C + D". R er gaskonstanten: $8.314 \frac{J}{mol \cdot K}$. T er den absolutte temperatur. Endelige er $\Delta G^{\ominus'}$ gibbs frie energi i standard tilstanden, udregnet på denne måde, alle koncentrationer er én molær:

$$\Delta G^{\ominus'} = -RT \ln \left(\frac{[C]_{eq}[D]_{eq}}{[A]_{eq}[B]_{eq}} \right) = -RT \ln(K_{eq})$$

Det hedder $\Delta G^{\ominus'}$ da man arbejder ved pH 7, modsat kemi hvor det er pH 0, ΔG^{\ominus}
Hvis :

$\Delta G < 0$ forløber reaktionen spontant

$\Delta G = 0$ er reaktionen i ligevægt

$\Delta G > 0$ kan reaktionen ikke forløbe

Det skal dog siges, at processer kan kobles, således, at en proces med $\Delta G > 0$ kan forløbe, blot at det bliver opfyldt at: " $\Delta G_1 + \Delta G_2 < 0$ ". I cellen vil der normalt blive koblet med ATP.

3.10.3 Activ site

Def.: Activ site Det sted på enzymet, hvor substratet bindes og transformeres.

Mange ting kan holde substratet fast i AS. Hydrofobe interaktioner eller iontiltrækning kan være nogle af forklaringerne.

Den egentlige fysiske tilpasning mellem substrat og enzym, sker dog næppe før end substratet bindes. Ikke som i "Nøgle-teorien" hvor enzymet er fysisk tilpasset substratet på forhånd. Mere sandsynligt tilpasser substratet og enzymet sig under bindingen til hinanden. En hvis forud defineret struktur, findes dog nok, som en del af substrat specificiteten.

3.10.4 Michaelis-Menten Modellen

Den enzymatisk katalyserede proces af omdannelsen af substrat til produkt sker i to trin: $E + S \xrightleftharpoons[k_2]{k_1} ES \xrightarrow{k_3} E + P$. Det ses, at V_{max} for enzymet er afhængig af k_3 . Det viser sig, at V_{max} er proportional med k_3 , efter formelen: $V_{max} = k_3 * [E]$. V_{max} er den højeste hastighed substratet bliver omsat med, ved den bestemt enzym koncentration, alle sites er ved den koncentration mættet, og mere substrat øger ikke hastigheden.

K_3 kaldes k_{cat} Michaelis-Menten modellen gælder for de fleste enzym-processer, bl.a. ikke allosterisk styrede enzymprocesser.

3.10.5 Michaelis-Menten-ligningen

Michaelis-Menten-ligningen angiver den såkaldte "initial hastighed". I ligningen indgår tre parametre: " V_{max} " – den absolut højeste hastighed substratet kan omsættes med ved denne enzymkoncentration. " K_M " der angiver enzymets affinitet for substratet. K_M er den substrat koncentration, hvor $V = \frac{1}{2} * V_{max}$, det ses derfor at jo lavere K_M jo hurtigere er enzymet til at blive mættet med substrat. Til sidst indgår substrat koncentrationen, "[S]", i ligningen. Sat på formel ser sådan ud:

$$V_0 = \frac{V_{max} * [S]}{K_M + [S]}$$

Hvis $[S] \gg K_M$ kan reaktionen antages at virke som 0. orden m.h.t. [S].

Hvis $[S] \ll K_M$ kan reaktionen antages at virke som 1. orden m.h.t. [S].

$\frac{k_{cat}}{K_M}$ kan bruges til at finde et enzyms foretrukne substrat mellem forskellige, lignende, substrater.

3.10.6 Irreversibel og reversibel hæmning af enzymer

Irreversibel hæmning: Ved denne type hæmning, binder hæmmeren sig til enzymet med en kovalent binding. Hæmmeren frigives ikke igen fra det aktive site, selv hvis det fjernes fra opløsningen. Det er uigenkaldeligt fæstnet til enzymet, og sidder i vejen for substratet. Hæmningen af Serinproteaser med DFP, er en

irreversibel hæmning. Der findes kovalent bundne hæmmere der frigives igen, da bindingen ikke er helt stabil.

Reversibel hæmning: Deles i tre grupper: “Kompetitiv”, “un-kompetitiv” og “non-kompetitiv”.

Kompetitiv: “konkurrere” med substratet og pladsen i det aktive site. Kompetitive hæmmere katalyseres ikke men “optager” bare pladsen. En kompetitiv hæmmer har en lighed med substratet. Ved at øge mængden af substrat, kan dette udkonkurrere hæmmeren, den samme V_{max} er derfor opnåelig, det kræver blot højere substrat koncentration. Der imod ændres K_m (affiniteten for substratet), med en faktor: $(1 + \frac{[I]}{K_1})$. Da man skal have en højere substrat koncentration for at opnå $\frac{1}{2} * V_{max}$. Den samlede formel for at udregne den *tilsyneladende* K_m , bliver:

$$K'_m = K_m * \left(1 + \frac{[I]}{K_1} \right)$$

[I] er koncentrationen af hæmmeren, og K_1 er “hæmmer konstanten” for hæmmerne.

Et Lineweaver-Burk-plot af enzymaktiviteten, bliver mere stejlt, jo mere hæmmer der er tilsat. Fast skæring med y-aksen.

un-kompetitiv: Binder sig til Enzym-substrat-komplekset. V_{max} og K_m falder parallelt.

non-kompetitiv Binder sig lige godt til både enzymet og enzym-substrat-komplekset. På denne måde “fjernes” der enzymer fra opløsningen, V_{max} falder derfor. Dette sker med en faktor $a = 1 + \frac{[I]}{K_1}$, hvor [I] er hæmmer koncentrationen og K_1 er hæmmer konstanten for hæmmerne.

Et Lineweaver-Burk-plot af enzymaktiviteten bliver stejlere, skæringen med x-aksen er fast, y-skæringen bevæger sig opad. Mere substrat kan har ingen indflydelse på hæmningen.

3.10.7 Allosterisk regulering af enzymer

Ved allosterisk regulering forståes, hæmmer eller fremmere der binder sig til enzymet, men på et andet sted end ved det aktive site. De indvirker på enzymet ved at ændre dets tertiære eller kvartenære struktur. Hæmmerne så enzymet får

svære ved at binde substratet, og fremmerne/aktivatore så det bliver nemmere for enzymet at binde substratet (samme ide som under kooperativitet, dog er det ikke subunits der påvirker hinanden, men en "gruppe" der tilhæfter sig et inhibitor site eller et activator site på én subunit og ændre denne).

Se afsnit 3.12.10 på side 58, under Ca^{++} -pumpen for en eksempel på en aktivator.

3.10.8 pH og temperaturens påvirkning af enzymets aktivitet

Enzymer er proteiner, ændringer i pH vil derfor ændre i enzymets samlede ladning. Ændringer kan/vil få betydning for enzymets kvartenære struktur, hvilket kan gøre dette nemmere eller svære for enzymets at binde substratet. Dette vil herved enten fremme eller hæmme enzymets aktivitet. Enzymer har stærkt varierende pH-optimum, fra hydrolaser i marven ved lav pH, til lipaser i tarmen under næsten basiske forhold.

Temperaturen kan, som pH, både fremme og hæmme enzymet. De fleste enzymerne i den menneskelige krop har et temperatur-optimum, på ca. 37°C . Jo længer under dette optimum temperaturen ligger, jo langsommere virker er katalysen (V_{max}). Nogle få grader over temperatur-optimumet denaturere enzymet, og den katalytiske effekt er hermed ødelagt.

3.12 Kapitel 12

3.12.1 Celle membranens opbygning

Celle membranen er opbygget af: "lipid (herunder phospholipid, sphingomyelin og kolesterol) og protein ("rene", glyco- og liposylerede proteiner)".

Lipiderne danne selve membranen. Dette er hovedsageligt phospholipiderne, men kolesterol stabiliser membranen, desuden findes, afhængig af membrantypen, større eller mindre andele af andre lipidtyper der i blandt sphingomyelin.

Alt kulhydrat i membranen er bundet, enten som glycolipider eller som glyco-

proteiner. Proteinerne i membranen kan sidde som “transmembranale/integralt”, “bundet via et andet membranproteine”, “elektro-statiske fastholdt” eller “ankeret via et lipid- eller hydrofob peptid-anker”

Ved *integrale membranproteiner* løber peptidkædeden gennem membranen en eller flere gange, så proteinet har domæner på begge sider af membranen, den del der er i membranen er hydrofob.

Hvis proteinet derimod falstholdes *elektro-statisk* har det en positivt ladet del, som kan tiltække, og tiltrækkes af, den negative overflade på membranen. Membranen er negative qua phosphorsyrens ladning i phospholipiderne.

Proteinerne kan også være *bundet til et andet membranproteine*, det ankerende proteine er da bundet til membranen, på en af de andre nævnte måder.

Endelig kan proteinet også være bundet i membranen med et *hydrofobt anker*, dette kan enten være en del af proteinet selv der er hydrofob, og derfor kan opløses i membranen og holde proteinet fast, eller det kan være én, eller lipidkæder, der er kovalent bundet til proteinet, og som binder den til membranen.

3.12.2 Phospholipider, med serin, cholin og ethanolin

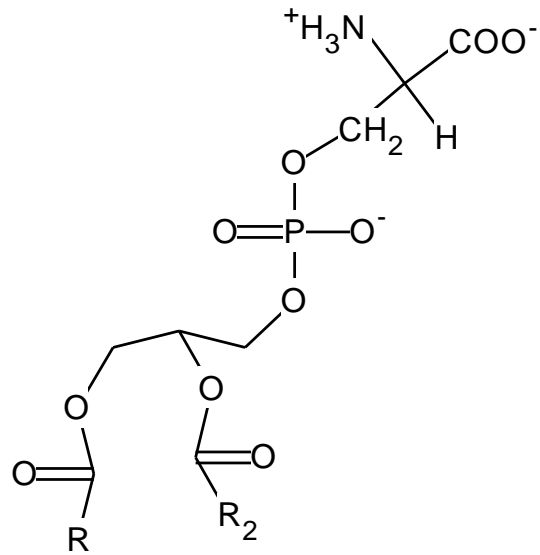
En phospholipid er bygget op af to carbonhydrid-kæder, en glycerol, en phosphorsyre og en hydrophil-gruppe.

De upolære kæder er esterficeret til glycerolens to første carbonatomer, og phosphorsyren til den sidste. Desuden er den hydrofile-gruppe, esterficeret til phosphorsyren.

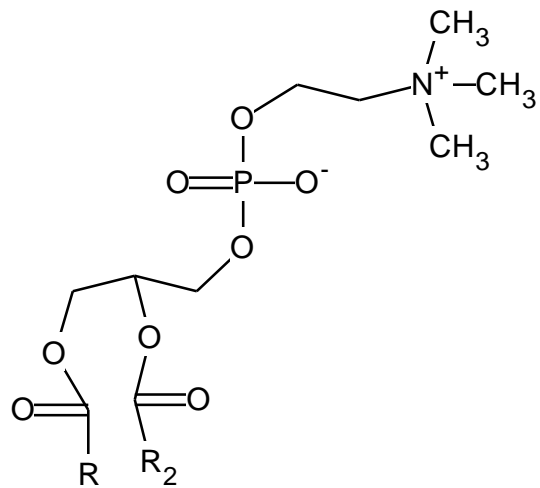
3.12.3 Lipidstrukturer: Miceller og liposomer

Hvis forholdet mellem hovedet og halens bredde er lille, har fedtstofferne større tendens til at danne miceller, er det omvendt stort, vil der være stor tendens til liposomer og membraner.

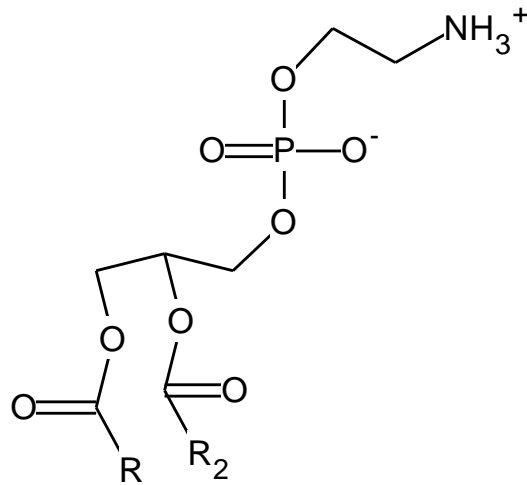
Man kan forestille sig, at molekyler hvor hovedet er stort i forhold til halens bredde, fx ioniserede fedtsyre, er kile-formet, med hovedet i den brede ende. Disse vil spontant danne en lille micell, med deres hydrofobe haler filtret sammen. Mod-



Figur 3.7: Phosphatidylserin.



Figur 3.8: Phosphatidylcholin.



Figur 3.9: Phosphatidylethanolamin

sat vil molekyler hvor hoved og hale er ca lige bredt, fx phospholipider, være mere cylinderformet, disse vil danne plane flader, eller stor dobbelt lagede liposomer, hvor krumningen er lang i forhold til deres form.

3.12.4 Fluid mosaic model, og bevægelse i membranen

I denne moden anskues membranen som et hav, hvor lipiderne og membranproteinerne flyder rundt. Dette lipidhav skal anskues som værende 2D, idet at molekylerne i havet kan foretage bevægelser i "havet" man kan ikke komme op af det. Det er desuden sandsynligt at mosaikken kan udbygges, i det at dele af membranen kan have forskellige egenskaber, fx have et højere indhold af bestemte typer lipid.

Bevægelser i membranen

Lipiderne, og membranproteinerne, har som nævnt mulighed for at bevæge sig i membranens laterale plan – i lipidhavets plan. Desuden kan de dreje sig om sig selv, og for lipidernes vedkommende, kan de lange upolære kæder vride sig. Alle disse bevægelser er hurtige bevægelser, og der er normalt intet der hindrer dem i at ske.

Derimod er bevægelsen mellem de to membranlag i dobbeltmembranen, særlig

langsom! Her skal (phospho-)lipidernes polære hoved passerer en tyk upolær fase, hvilket er ufavorabelt rent energimæssigt. Jvf også afsnit 3.12.6.

3.12.5 Transport over membranen

Cellemembranens apolære miljø tillader, selvfølgelig, andre upolære molekyler at passere, så som gasser (O_2 , CO_2 osv.) Desuden tillades andre små polære molekyler at diffundere, dette sker dog med meget lav hastighed. For at afhjælpe dette findes der i membranen transportproteiner. Disse faciliterer transporten af stof over membranen, med koncentrationsgradienten, uden energi forbrug. Disse transportzymer fungerer som alle andre enzymer, med stigende substrat koncentration, vokser transporthastigheden hurtigt indtil en bestemt V_{max} . Modsat den rene diffusion, hvor diffusionshastigheden stiger jævnt som følge af voksende substratkoncentration.

Transportzymerne kan fx være ionkanaler der tillader ioner at passere, med væsentligt højere hastighed end hvis de skulle passere ved diffusion alene. Grundet deres lave opløselighed i lipidfasen.

Mindende om disse ion-kanaler, findes en særlig kategori af de såkaldte *ionophorer*, nemlig de kanal-dannende. Her skal *Gramicidin* forklares nærmere. Den er en dimer af to α -helixer, disse sætter sig på hver sin side af dobbelt-membranen, og bindes sammen ved N-terminalerne, på denne måde danner de en kanal gennem membranen hvor igennem ioner kan passere. Gramicidin har lav ion-specificitet. Der vil på denne måde være fri passage mellem inder og yder siden af cellen, og koncentrations forskellen vel blive udlignet.

En anden ionophor er *Valinomycin*. Denne tilhøre en helt anden kategori end gramicidin, idet den bevæger sig i membranen. Den indfanger en K^+ på den side, hvor koncentrationen er højest, og vandre så gennem lipidfasen, hvorefter kalium-ionen frigives på den side med lavest koncentration.

3.12.6 ΔG for membrantransport

ΔG for en hvilken som helst membrantransport kan udregnes med følgende formel:

$$\Delta G = RT * \ln \left(\frac{C_2}{C_1} \right) + Z\mathcal{F}\Delta\Psi$$

C_x er koncentrationer på hver side af membran. C_2 er koncentrationen på den side transporten sker til.

R er gaskonstanten, $8,314 \frac{J}{mol * K}$. T er den absolutte temperatur.

Z er den transporterede partikels ladning – ved uladede stoffer er denne nul, og sidste led falder væk.

\mathcal{F} er Faraday konstanten = $96 \frac{kJ}{volt * mol}$

Endelig er $\Delta\Psi$ spændings forskellen mellem de to koncentrationer.

Hvis:

$\Delta G > 0 \rightarrow$ sker der ingen spontan transport.

$\Delta G = 0 \rightarrow$ ligevægt, der vil ikke ske en nettotransport over membranen.

$\Delta G < 0 \rightarrow$ transport at stoffet vil ske spontant.

3.12.7 Aktiv og passiv transport over cellemembranen

Passiv transport: “diffusion”, enten som faciliteret transport eller reel diffusion.

ΔG for processen er negativ, d.v.s. en spontan transport, ikke energikrævende.

Aktiv transport: modsat den passive. Her transporteres stofferne *mod* deres koncentrations gradient. ΔG for processen er positiv, det kræver derfor energi at få processen til at forløbe. I celler ofte ATP.

3.12.8 Ionkanaler; Na^+ -kaler og Gap junctions

Ionkanaler består ofte af flere transmembranale α -helixer. De danner, når kanalen er åben, en forbindelse mellem de to vandfyldte rum på hver side af membranen. Det indvendige af kanalen er beklædt med aminosyre, hvis type afgøre kanalen specificitet. Kanalerne er relativt specifikke. Åbningen og lukningen af en kanal kan være styret enten af en ændring i membran-potentialet, eller binding af et

stof, agonist, til kanalen. Passagen gennem kanalen sker ved diffusion i vandfasen, og sker derfor med koncentrationsgradienten.

Na⁺-kanaler: høre til gruppen der åbnes ved ændring i membran potentialet. Består af fire ens dele, der hver består af 6 transmembranale α -helixer. Én af de 6 α -helixer i hver homolog, har en positiv aa på hver 3. plads, denne kæde ændres måske ved ændringer i membranpotentialet, og virker herved som spændingsreceptor, og åbner/lukker kanalen. Størrelsen på åbningen gennem kanalen, kan dog ikke forklare hele kanalens specificitet for Na⁺. Kanalen tillader Na⁺ af passerer fra den ene til den anden side, med næsten samme hastighed som den diffunderer i en ren opløsning. Hvorimod K⁺ kun passerer langsomt.

Gap junctions – Nexus: forbinder to celler, hen over der intercellulære rum. Den består af to homologer, en i hver celle, de mødes mellem de to celler. Hver del er opbygget af 6 segmenter – oligomere kaldet *connexin*. Når kanalen er lukket, ligger oligomeren parallelt, hvorimod de er “vredet” lidt i forhold til hinanden når kanalen er åben. Nexus er normalt åbent, og forbinder cellerne til ét rum, for små molekyler og ioner – via diffusion, forstås. Nexus lukker hvis en celle er ved at dø (stigning i [Ca⁺⁺] i cytosolen eller en forsuring af samme), eller ved ændringer i membran-potentialet.

3.12.9 Faciliteret transport – GLUT1-GLUT5

Som nævnte i afsnit 3.12.5 er faciliteret transport, “diffusion hjulpet af enzymer”. For at fremme diffusionen af stoffer der ellers ville passere plasma-lemma alt for langsomt. Det transport enzymerne sidder i membran og eksporterer stof fra den ene til den anden side, med koncentrationsgradienten, uden brug af energi — de katalyserer diffusionen/transporten om man vil. Det er væsentligt at huske, at hvis koncentrationen “vender”, så vil transporten også, disse enzymer er *IKKE* retningspecifikke!

Transport enzymerne har høj affinitet for deres substrat, og mindre eller ingen for andre stoffer. Transport enzymerne udviser samme “enzym-kinetik” som alle andre enzymer. Transporten af stof fra den ene til den anden side bliver højere med stigende substrat koncentration, indtil et bestemt V_{max} , svarende til at alle

enzymene er mættet.

GLUT1 til GLUT5: står for glukose tranportere 1 til 5. Det er en superfamilie af transmembranle enzymer der transporterer glukose (og andre kulhydrater) over cellemembranen. Normalt ude fra og ind i cellen; GLUT2 transporter måske glukose ude af leverceller til blodsystemet. Alle GLUT-enzymene har en 12 aminosyre lang hydrofob sekvens, der formodes at holde enzymet fast i membranen.

3.12.10 Aktiv transport; Na^+ - K^+ - og Ca^{++} -pumpen

Aktiv transport minder på mange måder om faciliteret transport: det udføres af transport enzymer, det udviser enzym-reaktions-kinetik, det har specifikt substrat og det kan hæmmes. Men på et punkt adskiller de sig væsentligt fra hinanden, aktiv transport sker mod koncentrationsgradienten under forbrug af energi!

Aktiv transport deles i to grupper: *Primær aktiv transport* hvor hydrolysen af ATP er energikilden, og *Sekundær aktiv transport* hvor en antiport af enten Na^+ eller H^+ driver "pumpen".

Na^+ - K^+ -pumpen er en *primær aktiv transport*, da den bruger ATP som energikilde, den kaldes derfor også " Na^+ - K^+ -ATPase". Den tilhører en gruppe der kaldes $E_1 - E_2$ -reaktioner, da enzymet skifter konformation og affinitet under processen. Enzymet består af fire subunits, to α og to β , α 'erne er transmembranale. I "start-stillingen"³ er enzymet i konformation E_1 det har et aktivt site rettet mod det cytoplasmatiske matrix, dette site har høj affinitet for Na^+ , desuden har den et site for hydrolyse af ATP. Efter bindingen af 3Na^+ , binder enzymet også ATP og Mg^+ (en faktor for ATP-hydrolyse). α -enheden bliver phosphoryleret og enzymet skifter konformation til E_2 -konformationen. Denne har lav affinitet for Na^+ , så disse frigives fra sitet. Men ikke til cytosolen igen, for qua konformationsændringen, vender sitet nu ud mod det ekstracellulære rum. E_2 -konformationen har høj affinitet for K^+ , så 2 af disse bindes til sitet efter natrium-ionernes frigivelse. Enzymet dephosphoryleres nu igen, og vender herved tilbage til E_1 -konformationen, som havde lav affinitet for K^+ , men høj for Na^+ . Samtidig er sitet igen vendt

³Enzymet arbejder konstant, så en "start-position" er en tænkt ide

mod cytosolen, så hertil frigives de to kalium-ioner, og processen kan fortsætte. På denne måde opbygges en potentiale-forskel mellem sider på membranen, da 3 Na^+ ryge ud og 2 K^+ ind, for hver tur øges forskelen med $+1(e)$.

Na^+ - K^+ -pumpen er også forklaringen på den lave intracellulære koncentration af Na^+ , men høje koncentration af K^+ , vica versa for ekstracellulær koncentrationerne.

Ca^{++} -pumpen minder i høj grad om Na^+ - K^+ -ATPasen. Der er tale om en pumpe af typen $E_1 - E_2$, som flytter Ca^{++} ud af cellen, mod koncentrationsgradienten, under forbrug af ATP.

I konformation E_1 vender sitet ind mod cytosolen, og har høj affinitet for Ca^{++} . Når der er bundet 2 calcium-ioner, bindes der ATP og Mg^+ til enzymet, ganske som for Na^+ - K^+ -pumpen. ATP hydrolyseres til ADP og frigives sammen med Mg^+ igen, men enzymet er blevet phosphoryleret og har skiftet til E_2 -konformation. I den konformation har sitet kontakt med ekstracellulær-væsken, og der er meget lav affinitet for Ca^{++} , de 2 calcium-ioner frigives derfor. Enzymet dephosphoryleres og vender herved tilbage til E_1 -konformationen.

Denne pumpe sikre den lave koncentration af Ca^{++} i cellerne. Frigivelse af Ca^{++} til den cytoplasmatiske matrix en signal, med vidt forskellige betydninger i forskellige celler.

Ved høje koncentrationer af calcium-ioner i cellen, binder de sig til et signalstof kaldet calmodin, når dette stof har bundet Ca^{++} binder det sig til Ca^{++} -pumpen og øger affiniteten for calcium-ioner, pumpen bliver da mere effektiv, og får hurtigere genoprettet den normale koncentration af Ca^{++} . Ved denne lave koncentration dissocier calmodin-komplekset igen, og aktivatorens virkning på enzymet ophøre. Jvf også afsnit 3.10.7 på side 50.

3.12.11 Cotransport – sekundær aktiv transport – Na^+ -glukose symport

Som nævnt i forrige afsnit, kan aktiv transport også basseres på en udnyttelse af Na^+ - eller H^+ -koncentrationsgradienten, til at transportere stof ind i cellen. Det er stadig enzymer der er tale om, og de samme ting som for andre aktiv trans-

port enzymer gælder, men nu kommer energien ikke fra hydrolyse af ATP, men fra diffusionen af en af de to ioners diffusion med koncentrationsgradienten.

Na⁺-glucose-symport er et godt eksempel. Her flyttes glucose fra ekstracellulær væske over i cellen, hvilket er mod koncentrationsgradienten, da den cellulære koncentration af glucoser er højere end uden for. For at skaffe energi til dette lader enzymet Na⁺ strømme igennem (med sin koncentrationsgradient), og takket være koncentrationsforskellen af Na⁺ mellem de to rum, kan denne "faciliterede diffusion" drive transporten af glucose mod dennes koncentrationsgradient.

Processen kan tænkes at være: Na⁺ og glucose binder sig til transport enzymet. Bindingen af natrium-ionen, medføre en konformationsændring af enzymet, hvorved stofferne bringes i kontakt med cytosolen. Da koncentrationen af Na⁺ i cytosolen er lav, diffunderer natriumionen væk fra enzymet, der mister sin affinitet for glucose, som herved også frigives. Enzymet "vipper" nu tilbage til ydersiden og er klar til at modtage nye "passagerer".

Det er klart, at denne transport er afhængig af, at Na⁺-K⁺-pumpen ikke stopper, da Na⁺-koncentrationsgradienten hurtigt vil blive udlignet og transporten stoppet.