

Biofysica - Encyclopedia Academia

 tuyaux.winak.be/index.php/Biofysica

Biofysica

Richting Eysica

Jaar 2BFYS, 1BWIS

Bespreking

Prof. S. Van Doorslaer laat onder het jaar een werkje maken met voordracht dat reeds op de helft van de punten staat. Het examen zelf is een volledig schriftelijk open-boek examen.

Puntenverdeling

Komt nog.

Examenvragen

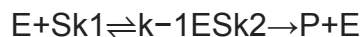
Academiejaar 2019-2020 1^{ste} zit

1. We beschouwen een simpel model voor het coronavirus. We beschouwen twee populaties, vatbare mensen die het virus nog niet hebben gehad en zieke mensen, respectievelijk NGNG en NZNZ. Door onderling contact kunnen vatbare mensen ziek worden, er worden kinderen geboren die bij de groep vatbaren worden gerekend. Mensen verdwijnen uit de groep zieken door genezing of sterfte (mensen die genezen zijn worden niet terug bij de vatbare groep gerekend). Door inenting kunnen mensen ook niet meer vatbaar zijn voor het virus.
 1. Stel een stelsel van gekoppelde differentiaalvergelijkingen op waarin de evolutie van de populaties weergegeven wordt.
 2. Geef een uitdrukking voor de populaties in een evenwichtssituatie, waarbij het niet zo is dat $NZ, st=0$ NZ, st=0.
 3. Heeft inenting een invloed op NGNG bij evenwicht? Leg uit.
2. Stel dat bij het model van de vorige vraag door zieke vakantiegangers die ziek thuiskomen de situatie uit evenwicht gehaald wordt.
 1. Beschrijf wiskundig wat dit inhoudt.
 2. Onder welke voorwaarde is er sprake van oscillaties?
3. Leg met behulp van de thermodynamica uit waarom het geen goed idee is om gedistilleerd water in de aderen van een zoogdier te spuiten.

Academiejaar 2014-2015 1^{ste} zit

1. (0.5pt) Het tryptamine-derivaat PDAT heeft een effect op de werking van het enzyme indolethylamine-N-methyltransferase (INMT). INMT speelt een rol in prostaatkanker. In de onderstaande figuur wordt de kinetiek van deze reactie getoond in de afwezigheid (vierkantje) en aanwezigheid (driehoekske) van 100μM PDAT. [Bestand:Biofys1.jpg](#)

2. (2pt) We gaan uit van de standaard Michaelis-Mentenkinetiek
 $E + S \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} ES \xrightarrow{k_2} P + E$



met de gekende uitdrukking voor de reactiesnelheid

$$v = \frac{k_2 c_E \text{ totcsKM} + c_s(1)}{1 + \frac{c_s}{K_M} + \frac{c_P}{K_P}}$$

$$v = \frac{k_2 c_E \text{ totcsKM} + c_s(1)}{1 + \frac{c_s}{K_M} + \frac{c_P}{K_P}}$$

1. Leid voor deze kinetiek een uitdrukking af voor cscs in functie van de tijd. Hint: maak gebruik van vergelijking (1) en je mag cEScES als verwaarloosbaar veronderstellen.
2. Indien $c_S(0) \gg K_M$ en $c_P(0) \gg K_P$, dan is de afname van de substraatconcentratie ongeveer lineair in de tijd. Toon dit aan m.b.v. de uitdrukking die je voor vraag (a) bekomen hebt. Interpreteer het resultaat.
3. (3pt) Bij contaminatie van het lichaam met ^{137}Cs verlaat het cesium het lichaam als volgt: er kan ^{137}Cs van het bloed (1) naar het weefsel (2) migreren (met snelheidsconstante k_{12}) en verlaten met snelheidsconstante k_{21} . Vanuit het bloed kan het cesium ook het lichaam verlaten (via de nieren en urine) met een snelheidsconstante k . Bij aanvang van de contaminatie hebben we enkel ^{137}Cs in het bloed.
 1. Stel voor dit systeem het stelsel van differentiaalvergelijkingen op voor het aantal mol ^{137}Cs in het bloed (n_1) en in het weefsel (n_2)
 2. Treden er oscillaties op in dit systeem?
 3. Leid de uitdrukking voor n_1 in functie van de tijd en snelheidsconstanten af.
4. (1.5pt) Stel, een collega vraagt advies over de volgende onderzoeksresultaten. Hij is geïnteresseerd in het effect van nanodeeltjes op biomoleculen en heeft fluorescentiespectra opgenomen (a) van een oplossing met zilvernano-deeltjes, (b) van een oplossing met het enzyme albumine en (c) van een oplossing van albumine en zilvernano-deeltjes (dit laatste voor verschillende concentraties van de zilvernano-deeltjes). Het enzyme bevat tryptofaan dat diep in het apolaire binnenste van het eiwit zit. In de volgende figuur zie je de meetresultaten. Hoe zou jij deze meetresultaten interpreteren? Suggereer op basis van de spectroscopische technieken die we in de cursus gezien hebben nog een extra experiment dat je collega zou kunnen uitvoeren om beter te begrijpen wat er gebeurt (en verklaar waarom je dit aanbeveelt). [Bestand:Biofys2.jpg](#)

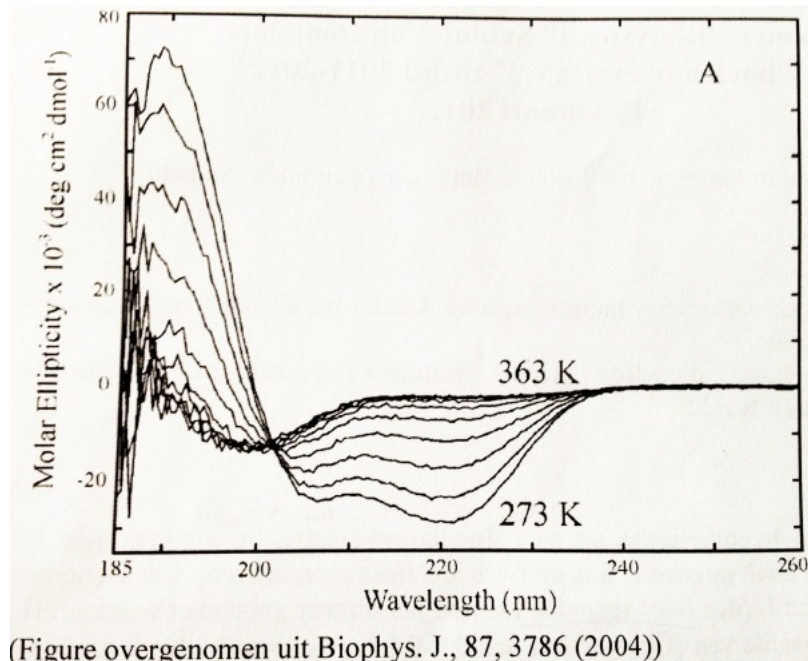
5. (1pt) Chroomkationen hebben de eigenschap gemakkelijk met biomoleculen te associëren. Dit is ook de reden waarom de sterk cancerogene hoogvalente chroomionen (zoals Cr^{6+}) zo gemakkelijk opgenomen worden door onze cellen. Er wordt dan ook veel onderzoek gedaan naar de binding van chroomionen aan biomoleculen. In de onderstaande figuur zie je een Hilldiagram voor de binding van Cr^{3+} aan een eiwit dat een rol speelt in diabetes. De parameter y is hier equivalent aan wat we in de cursus met θ hebben aangeduid. Welk type coöperativiteit herken je? Hoe groot is de Hill-coëfficiënt? [Bestand:Biofys3.jpg](#)
6. (1pt) Een tekort aan antriumionen in het lichaam heeft een effect op de neurale werking. Welk effect verwacht je op de actiepotentiaal bij natriumdeficiëntie? Leg dit uit aan de hand van de thermodynamica.
7. (1pt) We veronderstellen dat we twee reacties hebben
- $$\text{A} + \text{B} \rightarrow \text{P} + \text{Q} \quad (1) \quad \text{C} + \text{D} \rightarrow \text{X} + \text{Y} \quad (2)$$
- $$\text{A} + \text{B} \rightarrow \text{P} + \text{Q} \quad (1) \quad \text{C} + \text{D} \rightarrow \text{X} + \text{Y} \quad (2)$$

We doen een gedachtenexperiment en veronderstellen dat de som van de energie van X en Y gelijk is aan de som van de energie van P en Q. Reactie (2) is exergonisch en traag, reactie (1) is endergonisch, maar de reactie is sneller. Schets het energieprofiel voor deze twee reacties.

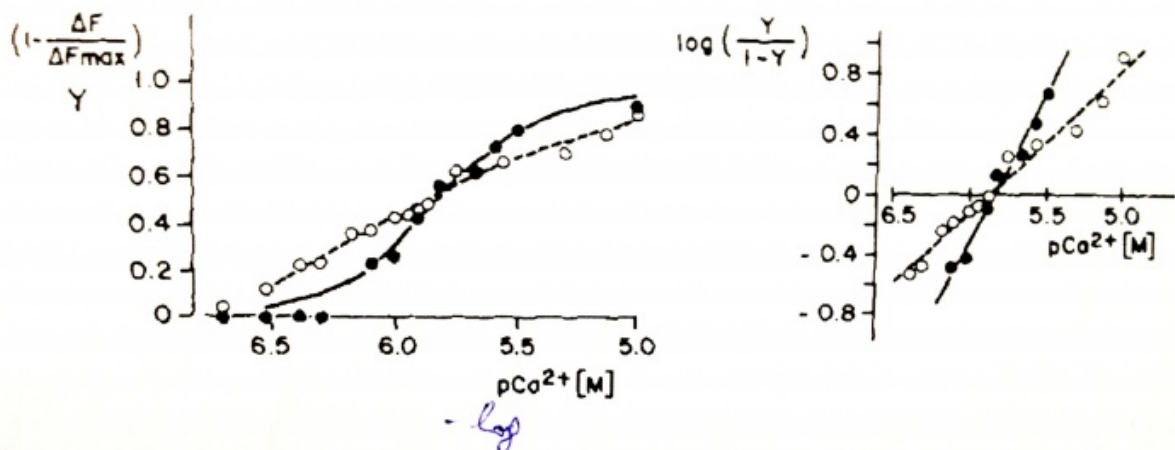
Academiejaar 2011-2012 1^{ste} zit

1. We beschouwen een klassieke enzymatische reactie waarbij we de substraatconcentratie heel hoog veronderstellen. **Hoeveel trager verloopt diezelfde reactie wanneer de substraatconcentratie gelijkgesteld wordt aan $K_m/2$?** (1p)
2. Beschouw een hypothetische set van drie homo-dimerische eiwitten (dat wil zeggen dat elk eiwit opgebouwd is uit twee identieke monomeren). (2,5p)
 1. Elk monomeer bindt een ligand L (dus twee liganden kunnen per dimeer gebonden worden). Het blijkt dat de waarde van $[L]$ waarvoor een $\theta = 0.5$ bereikt wordt (dus verzadiging van 50%) gelijk is voor alle eiwitten, maar dat er toch een duidelijk verschil tussen de eiwitten is. **Je hebt de verhouding van de concentraties $[L]$ waarvoor de verzadiging 99% en 1% bereikt wordt (dus $[L]_{99}/[L]_1$ gemeten en vindt voor eiwit A 10000, eiwit B 1000 en eiwit C 100000. Je collega is niet onder de indruk en wil weten wat de Hill-coëfficiënten voor de drie eiwitten zijn.** Je mag aannemen dat de Hill-coëfficiënten constant zijn voor het $[L]_1$ tot $[L]_{99}$ gebied.
 2. Een andere collega is nog steeds niet tevreden en wil weten **wat voor coöperativiteitssituaties optreden voor binding van L aan eiwitten A, B en C.** Help hem verder.

3. Hieronder zie je het CD spectrum van een eiwit gemeten in functie van de temperatuur. **Wat gebeurt er met de structuur van het eiwit naarmate de temperatuur verandert? Welke structurele componenten hebben we vooral?** (1p)



4. Je ziet hieronder een plot van de binding van Ca^{2+} aan het eiwit ATPase. De binding van Ca^{2+} wordt gedetecteerd via fluorescentiespectroscopie en daar kan een Hillgrafiek mee opgesteld worden. Het ATPase was geïncubeerd met $50 \mu\text{M}$ Ca^{2+} (O) en met 1mM Ca^{2+} (•). **Bepaal uit onderstaande grafiek de Hillcoëfficiënt voor de twee gevallen. Welk type van coöperativiteit hebben we?** (1p)



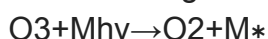
Figuur aangepast uit J. Biol. Chem., 256, 2940 (1981)

5. We beschouwen een visvijver waarin twee vissoorten A en B aanwezig zijn. De vis B leeft van vis A en hun geboortecijfer wordt er direct door bepaald. De vissen A krijgen de tijd niet om een natuurlijke dood te sterven. Ze worden of opgegeten door de vissen B of gevangen door de mens. De vissen B sterven eveneens geen natuurlijke dood. Ze worden gevangen door de mens.

1. **Stel voor deze visvijver het stelsel van differentiaalvergelijkingen op en bepaal de stationaire situatie/**

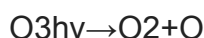
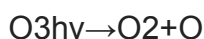
2. **De eigenaar vindt op een bepaald moment dat er teveel vissen A zijn. Daarom vraagt hij de vissers om meer vissen A te vangen en een aantal van de gevangen vissen B weer terug in de vijver te spijten. Is dit op lange termijn een goed idee? Waarom (niet)? (2p)**

6. Heel wat reacties met biologische moleculen zijn licht-geïnduceerd. In sommige gevallen zijn ze nuttig, zoals bij fotosynthese, maar heel vaak kunnen ze schadelijk zijn. Daarbij horen de licht-geïnduceerde omzetting van verschillende moleculen naar reactieve radicalen die dan weer verschillende biomoleculen kunnen aanvallen en beschadigen. Een voorbeeld van een dergelijke reactie is:



(1)

Deze reactie bestaat eigenlijk uit de volgende reactiestappen



(2)



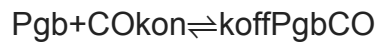
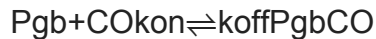
(3)

O is daarbij het extreem reactieve en kortlevende radicaal, M een biomolecule, b.v. een eiwit, dat door het reactieve O kan aangevallen worden en omgezet in een afgefunctioneerde molecule M^* .

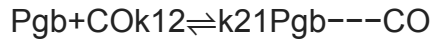
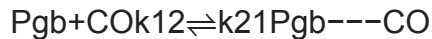
Leid nu, in analogie met de werkwijze voor enzymkinetiek, de uitdrukkingen voor de bewegingsvergelijkingen af en bepaal de uitdrukking voor de geobserveerde snelheid van reactie (1). De snelheid van reactie (2) hangt af van de hoeveelheid geabsorbeerde fotonen en kan voor de afleiding gelijkgesteld worden aan een waarde I_a (1,5p)

7. **Beschrijf in thermodynamische termen wat er gebeurt als een eencellig zoetwaterdiertje in zout water gebracht wordt, waarbij we veronderstellen dat de celwand het zout niet doorlaat maar wel water doorlaat. (1p)**

1. Het heembevattende protoglobine (Pgb) is het oudste globine-eiwit dat momenteel bekend is. Het ijzeratoom van de heemgroep kan CO binden. Experimenteel kunnen de reactieconstanten k_{on} en k_{off} bepaald worden voor de CO-bindingsreactie

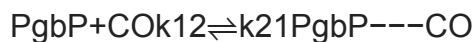
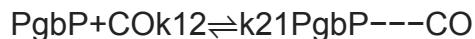
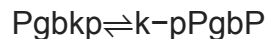
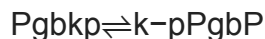


1. Het bleek al vlog dat de CO-binding eigenlijk in twee stappen gebeurt. CO dringt eerst de eiwitholte waarin de heemgroep zit binnen (aangeduid als toestand $Pgb^{---}CO$) en bindt dan pas op het ijzeratoom, volgens het schema:



1. Bepaal hoe de schijnbare reactieconstanten k_{on} en k_{off} kunnen uitgedrukt worden in functie van de echte reactieconstanten k_{12} , k_{21} , k_{23} , k_{32} . Geef ook geldige eenheden voor k_{12} , k_{21} , k_{23} en k_{32} .

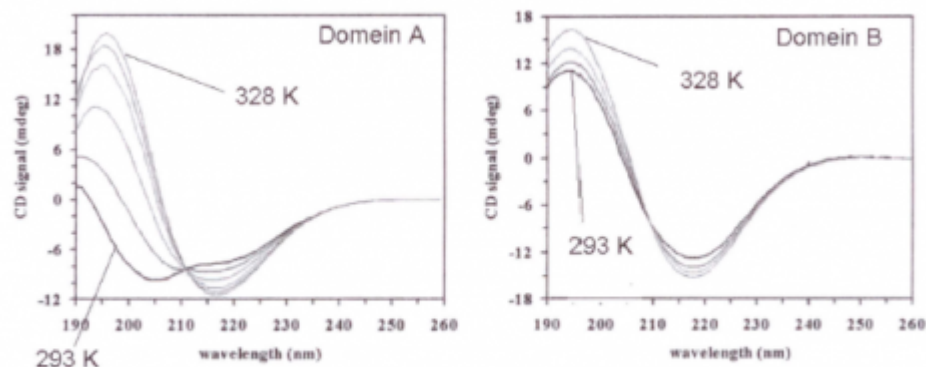
2. Voor sommige varianten van Pgb bleek dat er eerst een intern ligand van het heemijzer moest verwijderd worden vooraleer CO binding kan optreden, dus



Waarbij Pgb de variant is met de interne ligand op het heemijzeratoom en $PgbPPgbP$ met de bindingspositie vrij. \\\

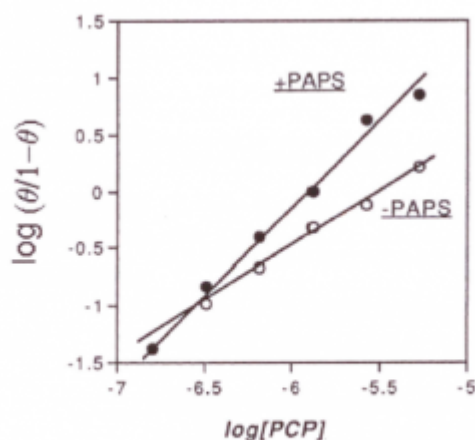
Bepaal hoe de schijnbare reactieconstanten k_{on} en k_{off} kunnen uitgedrukt worden in functie van de echte reactieconstanten k_{12} , k_{21} , k_{23} , k_{32} , k_{PkP} en $k-Pk-P$. Hoe kan je deze reactievorm gemakkelijk onderscheiden van deze uit punt a?

2. In zijdedraad zijn verschillende gebieden te onderscheiden met verschillen in hun eiwitontvouwingspatroon. In de onderstaande figuren vind je de temperatuursafhankelijke CD spectra terug van twee zulke gebieden.
- Besprek het verschil in secundaire eiwitstructuur tussen deze twee gebieden bij 293K en vergelijk hun temperatuursafhankelijkheid.



Figuur: CD spectra van domeinen A en B van een zijdedraad in functie van de temperatuur (figuur aangepast uit J.M. Kenney et al., Eur. J. Biochem., 269, 4159 (2002))

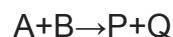
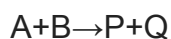
3. Fenolsulfotransferasen (FST) spelen een belangrijke rol in detoxificatie van cancerogene producten en in het metabolisme (dus verwerken) van medicamenten. Meer bepaald verestert het eiwit een brede waaier van producten met behulp van sulfaat (dat aanwezig is onder de vorm van 3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfaat (PASP)). Men kan het coöperativiteitsgedrag van de binding van de inhibitor PCP (Pentachlorophenol) bestuderen. In de onderstaande grafiek vind je de Hill diagrammen weer voor binding van PCP aan FST met of zonder PASP. Welke types coöperativiteit herken je? Als je weet dat FST Trp in de nabijheid van de bindingsplaatsen voor PCP heeft, hoe hebben de onderzoekers dan onderstaande curven bekomen (welke spectroscopische methode werd gebruikt, wat meten ze juist)?



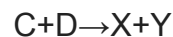
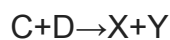
Figuur: Hill diagram voor binding van de inhibitor PCP aan FST met en zonder toevoeging van PAPS (aangepast overgenomen uit J. D. Beckmann et al., Chemico-Biological Interactions, 109, 93 (1998))

}

4. De interactie van een elandpopulatie met een wolvenpopulatie is de klassieke buit-roofdier interactie. Stel, in analogie met het haas-lynx systeem dat we hebben gezien in de cursus, het stelsel gekoppelde vergelijkingen op dat deze populaties beschrijft zowel voor het geïsoleerde eland-wolfsysteem als voor de situatie waarbij de mens jacht maakt op zowel de wolven als elanden. Bespreek hoe deze menselijke jachtactiviteiten de stationaire populaties van de wolf en eland beïnvloeden en wat het effect van de jacht is wanneer het systeem uit evenwicht wordt gebracht.
5. ATC-ase is een regulerend enzyme dat aan het begin van het reactiepad in de biosynthese van pyrimidinenucleotiden staat. ATC-ase kan aspartaat als substraat gebruiken. Het enzyme wordt geactiveerd door ATP en geremd door CTP (cytidinetrifosfaat). Zowel ATP als CTP hebben een invloed op K_m voor het substraat aspartaat, maar niet op v_{max} . In de afwezigheid van ATP of CTP is 5mM de concentratie aan aspartaat die nodig is om de helft van de maximale reactiesnelheid te bereiken. $\text{\textbf{Schets het verloop van } v \text{ in functie van aspartaat voor ATC-ase en duid aan hoe de additie van CTP en ATP het verloop van } v \text{ verandert.}}$
6. We veronderstellen dat we twee reacties hebben:



(1)



(2)

We doen een gedachteexperiment en veronderstellen dat de som van de energie van X en Y gelijk is aan de om van de energie van P en Q. Reactie (2) is exergonisch, reactie (1) endergonisch. De snelheidsconstante van (1) is groter dan die voor reactie (2). Schets het energieprofiel voor deze twee reacties. Veronderstel nu dat (1) en (2) evenwichtsreacties zouden zijn. Welk geval heeft dan de snelste terugreactie en waarom?

1. In de cursus hebben we voorbeelden van enzymatische kinetiek gezien. In biologische reacties gaat het echter niet altijd om deze types van enzymatische kinetiek. Soms hebben tussenproducten een invloed op de reactie. Een mogelijk geval is het volgende:

Veronderstellen we de nettoreactie: $2A \xrightarrow{k} C + D$

waarbij de reactie eigenlijk is opgebouwd uit

$A \xrightarrow{k_1} B$ trage reactie

$A + B \xrightarrow{k_2} C + D$ snelle reactie

$A + B \xrightarrow{k_2} C + D$ snelle reactie

$A + B \xrightarrow{k_2} C + D$ snelle reactie

Leid nu, in analogie met de werkwijze die we voor de enzymkinetiek gebruikt hebben, de uitdrukkingen af voor dc_A/dt , dc_B/dt en dc_C/dt .

Van welk species kan je de concentratie als quasi-stationair beschouwen en waarom? Gebruik die quasi-stationariteit om te bewijzen dat $d(c_A + 2c_B)/dt = 0$

Intoduceren we nu $x(t)$, de zogenaamde omzettingsvariabele:

$x(0) = 0$

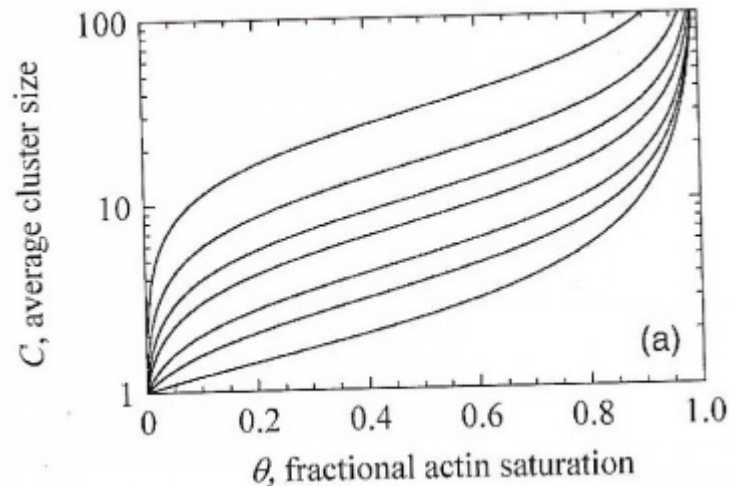
$x(0) = 0$

Leid nu de uitdrukking voor dx/dt af en integreer die om een uitdrukking voor $x(t)$ te krijgen.

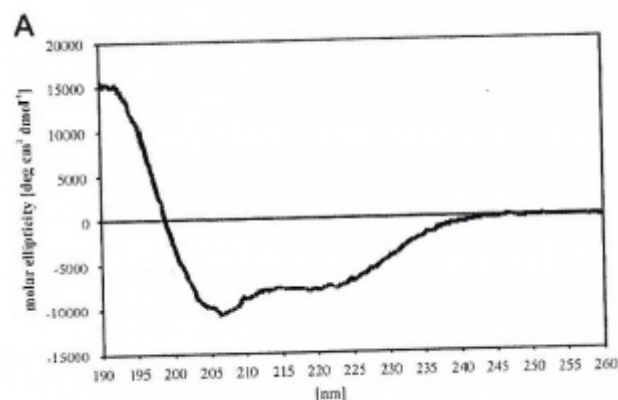
Schets het verloop van deze functie $x(t)$?

Veronderstel nu anderzijds dat de reactie $2A \xrightarrow{k} C + D$ niet uit twee stappen zou bestaan (dus dat $2A$ direct in $C + D$ zou worden omgezet). Leid voor dit geval de uitdrukking voor $x(t)$ af. Kan je tussen de twee gevallen (met of zonder tussenstap) differentiëren?

2. Het coöperativiteitsgedrag van de binding van cofilinclusters aan actinevezels van spieren werden onlangs bestudeerd. Hieronder vind je een simulatie van het bindingsgedrag van deze clusters. Welk type coöperativiteit werd hier gesimuleerd? Aan wat merk je dat? Wat is het verschil tussen de onderste en de bovenste grafiek?



3. Hieronder zie je het CD spectrum voor een zink-vingereiwit. Wat zegt dit spectrum je over de structuur van het eiwit?

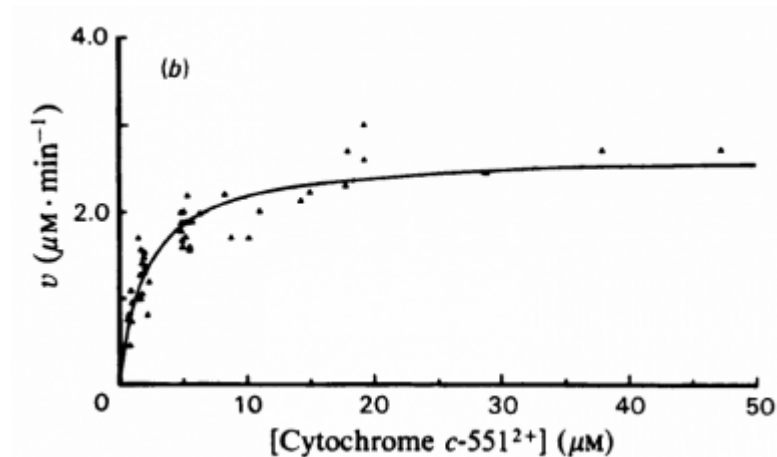


4. We veronderstellen een gesloten zeegebied waar een vissoort samen met een zeehondenpopulatie leeft. De vissen vormen het voedsel voor de zeehonden. Dit zeegebied is echter verontreinigd met PCB's die zowel voor de vissen als voor de zeehonden schadelijk zijn (kvsNvkvsNv is het aantal vissen per jaar dat aan PCB vergiftiging sterft, kZsNZkZsNZ het aantal zeehonden dat per jaar aan PCB vergiftiging sterft). Stel, in analogie met het haas-lynx systeem dat we in de cursus gezien hebben, het stelsel gekoppelde vergelijkingen opdat deze populaties beschrijft. Je mag aannemen dat de vissen enkel sterven door PCB vergiftiging of door prooi aan de zeehonden. De zeehonden kunnen naast PCB ook een natuurlijke dood sterven.
- Geef de voorwaarde waaraan voldaan moet zijn, opdat in dit systeem oscillaties optreden.

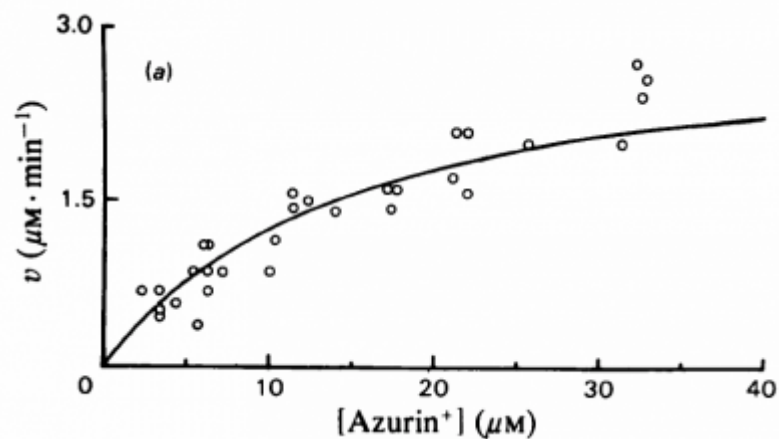
5. Voor de reactie $\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ADP} + \text{fosfaat}$, geldt dat ze exergonisch is. Welke relatie bestaat er dan tussen de chemische potentialen van de verschillende individuele moleculen in de reactie?

Academiejaar 2007-2008 1^{ste} zit extra

1. Van het enzyme cytochrome oxidase is bekend dat het zowel de oxidatie van cytochroom c-551 (een ijzerhoudend eiwit) als de oxidatie van azurin (een koperhoudend eiwit) kan catalyseren. De afzonderlijke oxidatiereacties kunnen perfect door een Michaelis-Menten reactie beschreven worden. In de onderstaande figuren staan de Michaelis-Menten grafieken voor beide reacties. We noemen de enzymatische oxidatie van cytochroom c551 ENZYMEREACTIE 1, die van azurin ENZYMEREACTIE 2."



Figuur 1. Michaelis Menten kinetiek voor de ENZYMEREACTIE 1 (enzymeconcentratie 20 nM)



Figuur 2. Michaelis Menten kinetiek voor de ENZYMEREACTIE 2 (enzymeconcentratie 20 nM)

Schat de verhouding van K_{m1}/K_{m2} af (K_{m1} en K_{m2} zijn de Michaelis-Menten constanten van de respectievelijke enzymereacties 1 en 2).

Nu voegt men tegelijkertijd azurin en cytochroom c-551 bij het enzyme (men zal dus een competitie tussen twee enzymatische reacties krijgen). De experimentele observaties worden weergegeven in Figuur 3.

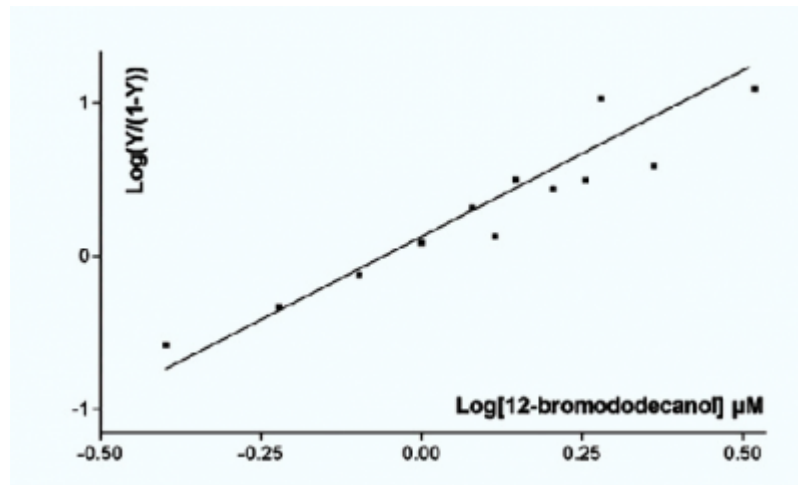
Fout bij het aanmaken van de miniatuuraafbeelding: Bestand is zoek

Figuur 3. Grafiek die de snelheid van enzymereactie 2 als functie van de concentratie van cytochrome c-551 weergeeft. De waarden 20 μM , 45 μM en 90 μM

bij de 3 rechten komen overeen met de concentratie van azurin

Leidt formeel de uitdrukking voor $1/v_2$ in functie van de concentratie van cytochroom c-551 af (v_2 is de reactiesnelheid van enzymreactie 2). Uit deze uitdrukking moet natuurlijk direct de lineaire afhankelijkheid van de concentratie van cytochroom c-551 blijken. Toon ook aan dat de uitdrukking inderdaad de geobserveerde afhankelijkheid van $1/v_2$ van de concentratie van azurin voorspelt. Welke vorm van inhibitie beschrijven we hier eigenlijk ? Wat is het essentiële verschil met het standaardvoorbeeld van dit type inhibitie dat we in de cursus besproken hebben ?

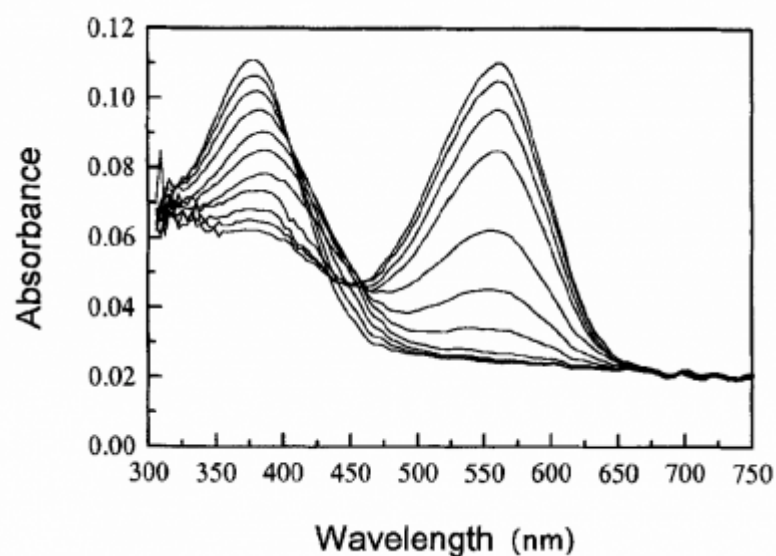
2. Het chemosensorisch eiwit (CSP) van de mot *Mamestra brassicae* heeft een vermoedelijke functie als chemische signaaltransducer. Dit betekent dat het verschillende chemische molekulen kan binden, waarbij het een conformationele verandering ondergaat dat de trigger voor een verder chemisch of elektrisch proces is. Xstralendiffractie studies hebben aangetoond dat dit eiwit drie moleculen 12-bromododecanol kan binden. In de onderstaande figuur vind je de afhankelijkheid van de verzadigingsgraad Y (in cursus aangeduid als $\theta\theta$) van de concentratie aan ligand. [V. Camanacci, et al, PNAS, 100, 5069 (2003)]



Figuur 4. Hill diagram voor CSP van mot *Mamestra brassicae* voor binding van 12-bromododecanol.

1. Wat kan je uit de figuur besluiten over de coöperativiteit van het systeem ?
2. De onderstaande figuur werd bekomen door de vermindering van de tryptofaanfluorescentie te meten in functie van de concentratie van 12-bromododecanol. Wat zijn de mogelijke processen die verantwoordelijk zijn voor deze signaalverandering ?
3. Er zitten maar twee tryptofanen in het eiwit en het eiwit is klein (dus bindingsplaatsen en tryptofanen kunnen dicht bij elkaar zitten). De onderzoekers zullen dan ook heel voorzichtig moeten zijn bij de interpretatie van hun fluorescentieresultaten. Geef minstens twee modellen die zeker tegenover elkaar zullen moeten afgewogen worden in de analyse van de experimentele data. Behoort het model waarbij de volledige tryptofaanfluorescentie maar door 1 van de liganden beïnvloed wordt tot één van deze mogelijkheden ? Waarom (niet) ?
3. De ionenbalans in ons lichaam is cruciaal. Verklaar wat het effect op neuronale cellen zou zijn indien we ze zouden brengen in oplossing met een concentratie aan KNO_3 ver boven de normale isotonische waarde die gevonden wordt in het lichaam. Wat zou het effect zijn indien je het experiment zou herhalen met een cesiumzout als je aanneemt dat er geen Cs^+Cs^+ ionenkanalen zijn ?

4. Tijdens de voorstelling van de werkjes, hebben enkele van jullie collega's gesproken over de fysica van het oog. Hierbij hebben ze opsine vermeld, een eiwit dat door binding met retinal rhodopsine vormt. In sommige bacteriën vind men aanverwante eiwitten terug (bacterio-opsine dat met retinal bacterio-rhodopsine vormt). In de onderstaande figuur zie je de verandering van het UV/Vis spectrum wanneer aan een micelle-oplossing van retinal, bacterio-opsine wordt toegevoegd (een micelle-oplossing is te vergelijken met een zeepoplossing, die in dit geval het retinal zal omgeven en waaruit retinal maar langzaam kan diffunderen.). Het absorptiemaximum van ongebonden retinal ligt bij 380 nm, dat van gebonden retinal bij ongeveer 560 nm. Uit de onderstaande grafiek besluiten de onderzoekers dat het proces van retinalbinding aan opsine over tenminste 1 intermediaire toestand moet verlopen. Kan je verklaren waarom ze dit besluiten ?



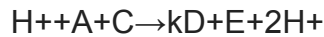
Figuur 5: verandering van het absorptiesignaal van retinal in functie van de tijd voor het hierboven beschreven experiment. uit P. Booth et al., Eur. J. Biochem., 246, 674 (1997)

Academiejaar 2005-2006 1^{ste} zit

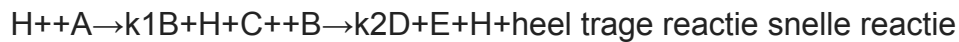
Groep 1

1. 5 pt) In de cursus hebben we voorbeelden van enzymatische kinetiek gezien. Er bestaat echter ook zo iets als autocatalyse, waarbij er tijdens de reactie een product gevormd wordt dat de reactie kan versnellen. Dit komt in biologische reacties ook vrij vaak voor. Een mogelijk geval van autocatalyse is het volgende:

Veronderstellen we de reactie



waarbij de reactie eigenlijk is opgebouwd uit de deelreacties



Leid nu, in analogie met de werkwijze voor enzymkinetiek, de uitdrukkingen af voor $\frac{dc_A}{dt}$, $\frac{dc_H}{dt}$ en $\frac{dc_H}{dt}$.

De concentratie van welk species kan je als quasi-stationair beschouwen en waarom? Gebruik dit om te bewijzen dat $\frac{d(c_A + c_H)}{dt} = 0$.

Voor het laatste geldt dat

$$c_A(t) = c_A(0) - x(t)$$

$$c_A(t) = c_A(0) - x(t)$$

$$c_{H^+}(t) = c_{H^+}(0) + x(t)$$

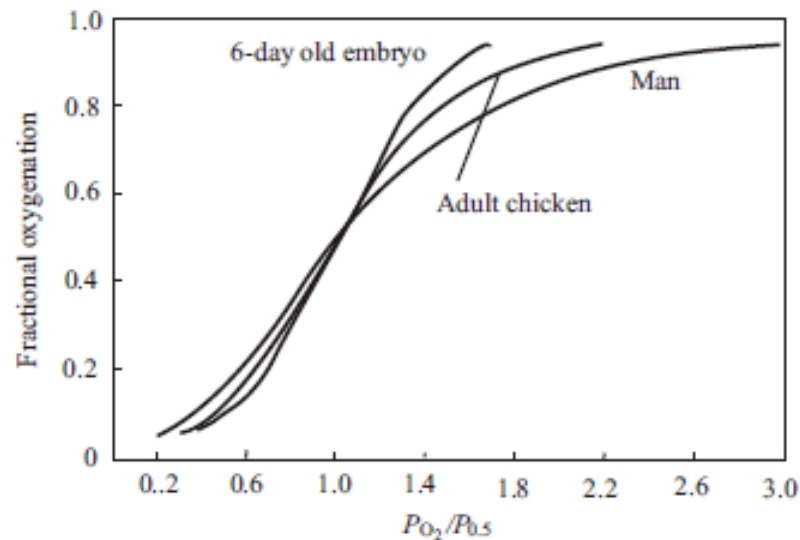
$$c_{H^+}(t) = c_{H^+}(0) + x(t)$$

waarbij $x(t)$ de zogenaamde omzettingsvariabele is en $x(0) = 0$.

Leid nu de uitdrukking voor $\frac{dx}{dt}$ af en integreer die om een uitdrukking voor $x(t)$ te krijgen.

Hoe ziet de functie $x(t)$ eruit voor een geval waarbij $c_A(0) \gg c_H(0)$ groot is (bv. $= 10^7$)? Hoe verklaar je dit in termen van de reactie?

2. (2 pt)



In de curve op de figuur wordt de verzadigingsgraad van hemoglobine van volwassen en 6-dagen oude embryo's van kippen vergeleken met die van menselijk hemoglobine [A.F. Riggs, J.Exp. Biol, 201, 1073 (1998)]

Wat leren deze curves ons over de coöperativiteit van zuurstofbinding in de drie hemoglobines en hoe kan je dit afleiden uit de grafiek?

Het hemoglobine van alle vertebraten bezet 4 heemgroepen. Voor hemoglobine van 6-dagen oude embryo's van kippen wordt een Hill coëfficiënt van 6.5 gevonden. Waarom is dit een verrassend resultaat? Kan je een mogelijke verklaring suggereren?

3. (1,5 pt)

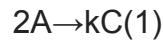
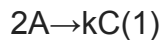
Fout bij het aanmaken van de miniatuurafbeelding: Bestand is zoek

In de mens wordt het anti-malaria middel chloroquine (CQ) gemetaboliseerd naar een groot metaboliet, N-desetylchloroquine (DCQ). Deze reactie wordt beïnvloed door isovormen van menselijk cytochrome P_{450} . De Figuur toont de DCQ vorming uit CQ in condities waarbij telkens een andere P_{450} isovorm aanwezig is (open cirkels: CYP-A, open vierkant: CYP-B, gevuld vierkant: CYP-C) [D. Projean et al, Drug metabolism and Disposition, 31, 748 (2003)].

Wat kan je afleiden uit de figuur aangaande de relatieve grootte van de v_{max} en K_{M} voor de drie verschillende gevallen? Stel dat de reactie in aanwezigheid van CYP-A de reactie zonder inhibitie is (dus standaard Michaelis-Menten reactie) en dat de geobserveerde veranderingen voor één van de andere reacties te wijten is aan inhibitie volgens één van de standaardtypes die we in de les besproken hebben. Welke reactie is dit dan en wat voor type inhibitie hebben we? Verantwoord je antwoord.

4. (1,5 pt)(Vraag is verloren gegaan)

1. In de cursus hebben we voorbeelden van enzymatische kinetiek gezien. In biologische reacties gaat het echter niet altijd om deze types van enzymatische kinetiek. Soms hebben tussenproducten een invloed op de reactie. Een mogelijk geval is het volgende: veronderstellen we de nettoreactie:



waarbij de reactie eigenlijk is opgebouwd uit



Leid nu, in analogie met de werkwijze voor enzymkinetiek, de uitdrukkingen af voor $\frac{dc_A}{dt}$, $\frac{dc_B}{dt}$ en $\frac{dc_C}{dt}$.

De concentratie van welk species kan je als quasi-stationair beschouwen? Gebruik dit om te bewijzen dat $\frac{d(c_A + 2c_C)}{dt} = 0$.

Introduceren we nu $x(t)$, de zogenaamde omzettingsvariabele:

$$c_C(t) = c_C(0) + x(t)$$

$$c_C(t) = c_C(0) + x(t)$$

$$c_A(t) = c_A(0) - 2x(t)$$

$$c_A(t) = c_A(0) - 2x(t)$$

$$\text{en } x(0) = 0$$

Leid nu de uitdrukking voor $\frac{dx}{dt}$ af en integreer die om een uitdrukking voor $x(t)$ te krijgen.

2. Wat voor een verloop heeft de functie $x(t)$?

Veronderstel nu anderzijds dat de reactie (1) niet uit twee stappen zou bestaan (dus dat $2A \rightarrow C$ direct zou omgezet worden). Leidt voor dit geval de uitdrukking voor $x(t)$ af. Kan je tussen de twee gevallen (met of zonder tussenstap) differentiëren?

Academiejahr 2004-2005 1^{ste} zit

1. De snelheidswet voor de reversibele Michaelis-Menten kinetiek



wordt algemeen gegeven door

$$v = v_{\max} \frac{cs}{K_M + cs + K_P} \quad (1)$$

$$v = v_{\max} \frac{cs}{K_M + cs + K_P} \quad (1)$$

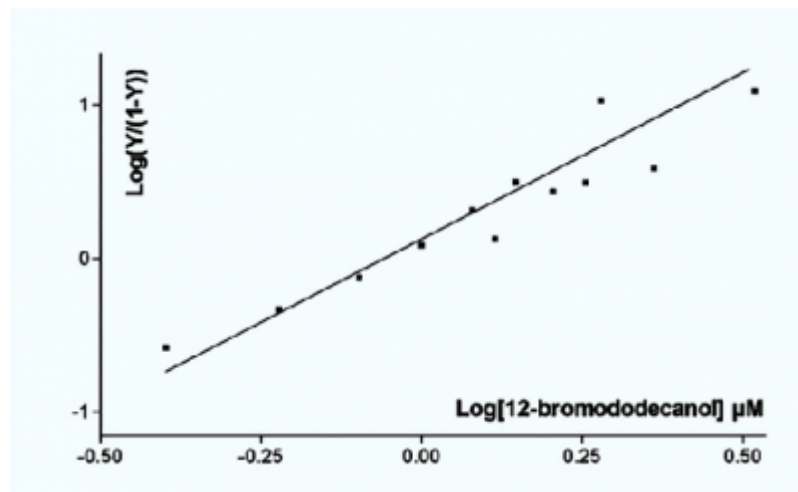
met $K_P = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$ en $K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$.

2. v_{max}

v_{max}

en K_{MKM} zijn gedefinieerd in de cursus.

1. Bewijs dat uitdrukking (1) inderdaad de kinetiek van bovenstaande reactie beschrijft. Hoe kan je KPPK interpreteren?
3. Het chemosensorisch eiwit (CSP) van de mot *Mamestra brassicae* heeft een vermoedelijke functie als chemische signaaltransducer. Dit betekent dat het verschillende chemische moleculen kan binden, waarbij het een conformationele verandering ondergaat dat de trigger voor een verder chemisch of elektrisch proces is. X-stralen diffractie studies hebben aangetoond dat dit eiwit drie moleculen 12-bromododecanol kan binden. In de figuur vind je de afhankelijkheid van de verzadigingsgraad Y (in de cursus aangeduid als Θ) van de concentratie aan ligand. [V.Camanacci, *et al*, PNAS, 100, 5069 (2003)]



1. Wat kan je uit de figuur besluiten over de coöperativiteit van het systeem?
2. De Figuur werd bekomen door de vermindering van de tryptofaanfluorescentie te meten in functie van de concentratie van 12-bromododecanol. Wat zijn de mogelijke processen die verantwoordelijk zijn voor deze signaalverandering?
3. Er zitten maar twee tryptofanen in het eiwit en het eiwit is klein (dus bindingsplaatsen en tryptofanen kunnen dicht bij elkaar zitten). De onderzoekers zullen dan ook heel voorzichtig moeten zijn bij de interpretatie van hun fluorescentieresultaten. Geef drie modellen die zeker tegenover elkaar zullen moeten afgewogen worden in de analyse van de experimentele data. Is het model waarbij de tryptofaanfluorescentie maar door 1 van de liganden beïnvloed wordt één van deze mogelijkheden? Waarom (niet)?

4. We beschouwen een ecologisch systeem van een vissoort en een kleine kreeftensoort. De vissen leven van de kreeften en hun geboortecijfer wordt er direct door bepaald. De kreeften krijgen de tijd niet om een natuurlijke dood te sterven. Ze worden of opgegeten door de vissen of gevangen door de mens. De vissen zijn giftig voor de mens en worden daarom niet opgegeten. Ze sterven een natuurlijke dood.
1. Stel voor dit ecologisch systeem het stelsel van differentiaalvergelijkingen op.
 2. Om meer kreeften te kunnen vangen voegen de vissers medicijnen, die de vruchtbaarheid van de kreeften verhogen, toe aan het water. Is dit op lange termijn een goed idee? Waarom (niet)?
5. De concentraties aan zouten en opgeloste stoffen en de osmotische druk binnen een cel is sterk afhankelijk van de omgeving. Celmembranen zijn doorlaatbaar voor water, via de ionenkanalen kunnen verschillende ionen de cel binnendringen en ionenpompen zorgen voor een actief ionentransport. Dit is ook zo voor de cellen in ons lichaam. Het direct inspuiten van een waterige oplossing met een K^+ concentratie ver boven de isotonische waarde zal een drastisch effect hebben op onze cellen. Wat zal het effect zijn op de neuronen? Wat zal het effect op de neuronen zijn van het inspuiten van een oplossing met een heel hoge suikerconcentratie (veel hoger dan in de cel)?