

## 2. Arvelig immundefekt

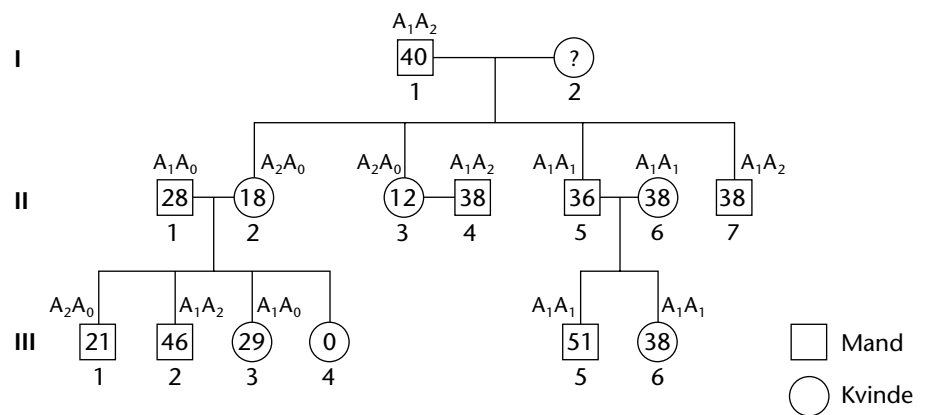
A. En arvelig immundefekt hos mennesket skyldes mangel på enzymet ADA, *adenosin-deaminase*. Der findes tre alleler, som hver koder for en variant af ADA-enzymet, se *figur 1*. Man har bestemt aminosyresekvensen i disse enzymer. Analysen af enzymerne viste, at ADA 1 og ADA 2 kun adskiller sig ved en enkelt aminosyre, idet alanin er erstattet af valin.

$A_1$ - og  $A_2$ -allelerne koder for enzymer med normal enzymaktivitet, mens  $A_0$  koder for et ikke-fungerende enzym.

*Figur 2* viser et stamtræ over en familie, hvor alle tre alleler og også sygdommen forekommer. De enkelte personers relative enzymaktivitet er angivet i symbolerne. En relativ enzymaktivitet på 30 og derover anses for normal, da den giver et normalt fungerende immunforsvar.

Enzymaktiviteten for I-2 er aldrig blevet bestemt.

Allel	Enzymvariant
$A_1$	ADA 1
$A_2$	ADA 2
$A_0$	ADA 0



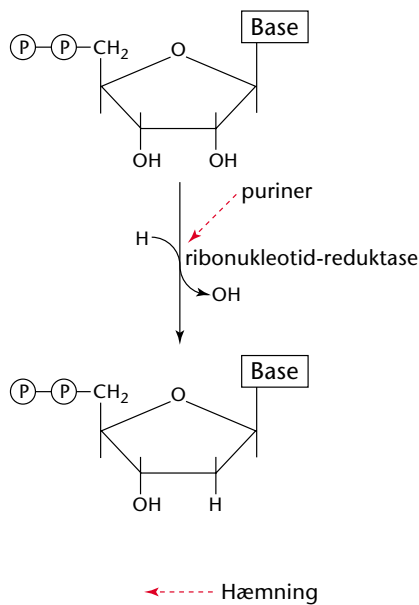
*Figur 1.*

*Figur 2.* Stamtræ over en familie, hvor ADA-mangel forekommer.

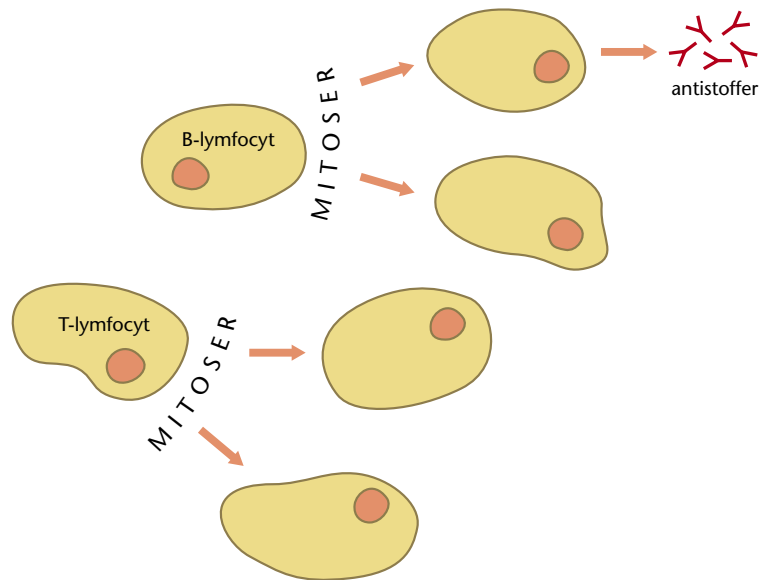
- Hvilken mutation kan føre til den nævnte ændring i aminosyresekvensen?
- Giv en mulig forklaring på, at enzymvarianterne ADA 1 og ADA 2 kan have samme aktivitet trods forskellen i aminosyresammensætning.
- Analyser *figur 2*. Angiv genotypen for I-2 og III-4, og forklar forskellen i enzymaktivitet hos personerne II-2 og II-5.

B. ADA, *adenosin-deaminase* er nødvendig for nedbrydning af puriner i cellerne. Hvis ADA er inaktivt, ophobes purinerne i cellerne. Puriner er giftige i høje koncentrationer, bl.a. fordi de hæmmer enzymet ribonukleotid-reduktase, se *figur 3*. Dette skader især celler i deling, der syntetiserer DNA. Personer med ADA-mangel rammes ofte hårdt af infektioner, der normalt ville være harmløse. Som behandling har man forsøgt:

- Injektion med ADA.
- Injektion med IgG.
- Knoglemarvstransplantation.



Figur 3. Syntese af DNA-nukleotider.

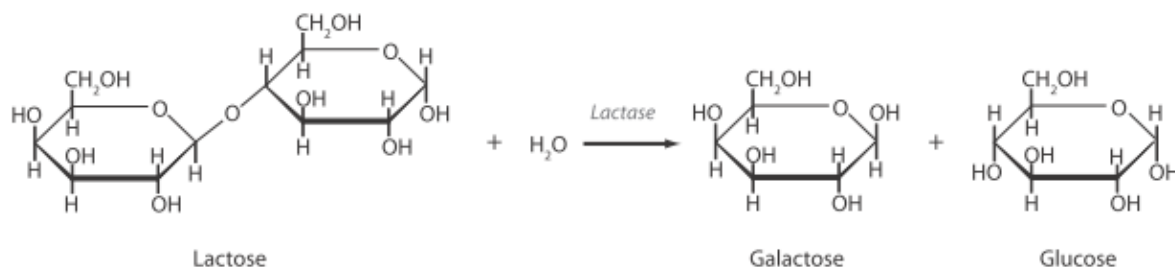


Figur 4. Deling og differentiering af B- og T-lymfocytter.

- Beskriv processen vist i *figur 3*, og forklar, hvorfor ADA-mangel kan medføre, at DNA-dannelsen hæmmes.
- Forklar, hvorfor personer med ADA-mangel ofte rammes hårdt af infektioner. Inddrag *figur 3* og *figur 4*.
- Vurder fordele og ulemper ved de tre nævnte behandlingsformer.

## Bioteknologi eksamen. opgave 1. Maj 25, 2013

Mennesker er i stand til at nedbryde lactose (mælkesukker) som børn. I store dele af verden mister den voksne befolkning dog helt eller delvist denne evne og bliver lactoseintolerante. Lactoseintolerante får i større eller mindre grad maveproblemer og diarré, hvis de indtager mælk.

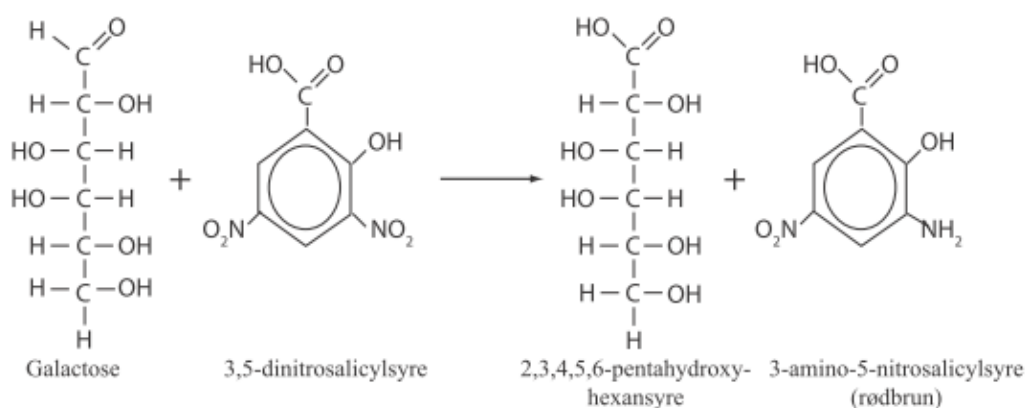


Figur 1. Nedbrydningen af lactose.

1. Angiv hvilken enzymklasse *lactase* tilhører.

Koncentrationen af lactose i mælk kan bestemmes ved en spektrofotometrisk metode. Først behandles mælken med *lactase*, så lactose nedbrydes til glucose og galactose som vist i *figur 1*.

Glucose og galactose kan ved reaktion med 3,5-dinitrosalicylsyre danne den rødbrune forbindelse 3-amino-5-nitrosalicylsyre, der absorberer lys ved 540 nm, vist i *figur 2*.



Figur 2. Princippet for reaktion mellem galactose og 3,5-dinitrosalicylsyre. Reaktionen er ikke afstemt. Glucose reagerer på tilsvarende vis.

2. Argumenter for at der er tale om en oxidation af galactose i reaktionen vist på *figur 2*.

I et forsøg lod man en række standardopløsninger af galactose og glucose reagere med 3,5-dinitro-salicylsyre. Absorbans af opløsningerne blev målt ved 540 nm, se *figur 3*.

Samlet koncentration af galactose og glucose (mM)	Absorbans
0	0
2,0	0,198
4,0	0,397
6,0	0,595
8,0	0,794
10,0	0,992

Figur 3. Sammenhørende værdier for den samlede koncentration af galactose og glucose og absorptions ved 540 nm. Kuvettebredde 1,0 cm.

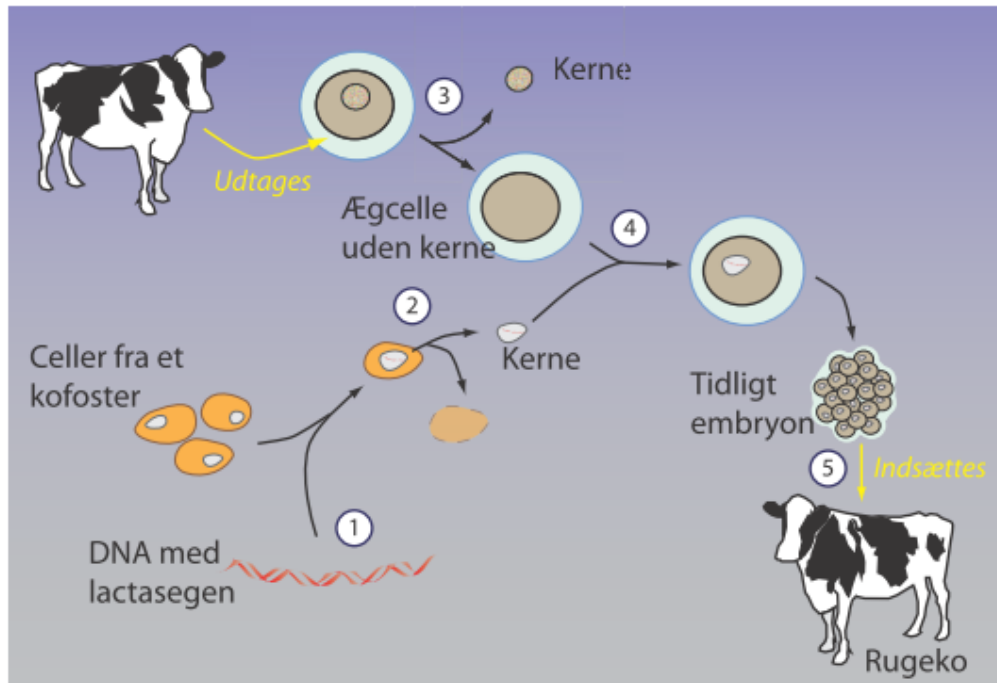
3. Eftersom måleresultaterne fra ovenstående forsøg vist i figur 3 er i overensstemmelse med Lambert-Beers lov.

Efterfølgende blev mælk behandlet med *lactase* og fortyndet 100 gange med vand. Derefter reagerede den fortyndede mælk med 3,5-dinitrosalicylsyre, og absorptions blev målt ved 540 nm i en kuvette med en bredde på 1,0 cm. Absorptions blev målt til 0,513.

4. Bestem koncentrationen af lactose i mælken. Resultatet angives i mM.

Forskere har fremstillet en ko, der producerer mælk med et lavt indhold af lactose. Princippet i metoden er at indsætte et ekstra gen for *lactase* i en celle fra et kofoster. Den transformerede celle anvendes til fremstilling af en genmodificeret ko, se figur 4.

Den genmodificerede ko producerer *lactase* i yveret, og dermed nedbrydes lactose i mælken.



Figur 4. Fremstilling af en genmodificeret ko.

5. Skriv en kort figurtekst til figur 4, der beskriver hvordan en genmodificeret ko kan fremstilles.

En anden metode til at producere mælk med lavt indhold af lactose er ved hjælp af en genmodificeret skimmelsvamp. Et gen for *lactase* er fundet i en bakterie, der lever i Grønland. Genet er oprenset og indsat i en skimmelsvamp, der nu kan producere *lactase* i store mængder. Lactaseenzymet er aktivt selv ved lave temperaturer og kan tilsættes almindelig mælk, så lactose nedbrydes. Mælken kan på den måde anvendes af lactoseintolerante personer.

6. Diskuter fordele og ulemper ved de to metoder nævnt ovenfor til produktion af mælk med lavt lactoseindhold.