

## Závěrečný test z biochemického praktika

**Jak pripravime 100 ml roztoku  $\text{H}_2\text{SO}_4$  o c 4,9%, ak mame k dispozicii 0,5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .  
 $M_r(\text{H}_2\text{SO}_4) = 98 \text{ g mol}^{-1}$ .**

**Hmotnost sirovky v 4,9% roztoku:**

$$w = 0,049 = m(\text{H}_2\text{SO}_4) / m(\text{roztok})$$
$$m(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,049 * 100 = 4,9 \text{ g}$$

**Priprava tejto sirovky z roztoku, ktorý máme k dispozícii**

$$n = c * V$$
$$n = 0,5 * 0,1 = 0,05$$

$$m = n * M = 0,05 * 98 = 4,9 \text{ g}$$

To znamená, že nepotrebujeme nič riediť a roztoku, ktorého máme k dispozícii odmeráme 100 ml

**Jaká je funkcia merkaptoethanolu vo vzorkovom pufre pri SDS elektroforeze?**

Stiepi kovalentnú S-S väzbu

**Który z týchto vzorkov bude mať najväčší absorbancný pik?  $M_r(a) = 13000$ ,  $M_r(b) = 64000$ ,  
 $M_r(c) = 54000$**

Absorbancia nezávisí na  $M_r$

**100  $\mu\text{l}$  enzymatickeho preparatu premeni 8  $\mu\text{l}$  substratu za 5 min. Enzymovy preparat obsahuje 4mg/ml proteínu. Aká je špecifická aktivita preparatu?**

$$\begin{array}{l} \text{Za 5 min} \dots\dots\dots 8 \mu\text{l} \\ \text{1 min} \dots\dots\dots x \end{array}$$

$$x = 1,6 \mu\text{l}$$

$$a = 1,6 \mu\text{mol} * \text{min}^{-1} * \text{ml}^{-1}$$

$$a = (1,6 * 10^{-3} \text{ ml min}^{-1} / 4 \text{ mg ml}^{-1}) * 1 \mu\text{mol} / 1 \text{ ml} = 0,4 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$$

**Vysvetlite princíp vysol'ovania bielkovín (frakcionácie) síranom amónnym (alebo inou soľou slabej kyseliny i zásady)**

Ide o rozdelenie bielkovín na základe ich rozpustnosti vo vode. Síran amónny bielkoviny zbavuje solvátového obalu, pretože má väčšiu afinitu k voľným elektrónovým párom kyslíku vo vode, než bielkoviny. Tie keď stratia svoj solvátový obal, spolu interagujú a vyzrážajú.

**Akú bude mať hmotnostnú koncentráciu roztok, ak po zriedení 30 krát má koncentráciu 0,4 mg/ml?**

$$c = 0,4 * 30 = 12 \text{ mg/ml}$$

**Pri akých podmienkach prevádzame elektroforézu za denaturačných podmienok? :-)**

chemicky - pridáme močovinu alebo guanidín

fyzikálne chemicky - zvýšenie teploty, zmena pH (pridanie kyseliny, zásady)

**Ktoré amino kyseliny majú kladný a ktoré záporný náboj pri pI?**

pri pI nemá AK náboj, vyplýva to z definície izoelektrického bodu (pI).

Izoelektrický bod je taká hodnota pH roztoku, pri ktorom je molekula v tomto roztoku elektroneutrálna.

Z toho vyplýva, že sa nebude ani pohybovať v elektrickom poli.

**Ktoré AK sú kyslé a ktoré zásadité?**

**kyslé AK** - histidín, lyzín, glutamín, arginín, asparagín (maju dve a viac amino skupín)

**zásadité AK** - kyselina glutámová, kyselina asparagová (maju dve a viac karboxy skupín)

**Čo znamená konštantná časť v grafe reakcie Michaelis-Menteovej**

Chemická rovnováha, práve toľko produktu vzniká ako zaniká po dosiahnutí maximálnej rýchlosti reakcie.

**Čo je to maximálna rýchlosť reakcie a ako ju možno stanoviť?**

koncentráci substrátu prevedená na produkt molekulou enzýmu za časovú jednotku pri úplnej saturácii enzýmu substrátom (na všetkých aktívnych miestach enzýmu je naviazaný substrát)

Určíme ju napr. z Lineweaver-Burkovej rovnici (prevrátená Michaelis-Menteovej, lineárna závislosť)

pozn.:

$$v = \frac{V [S]}{K_M + [S]}$$

kde:

v - počátečná rýchlosť enzymovej reakcie

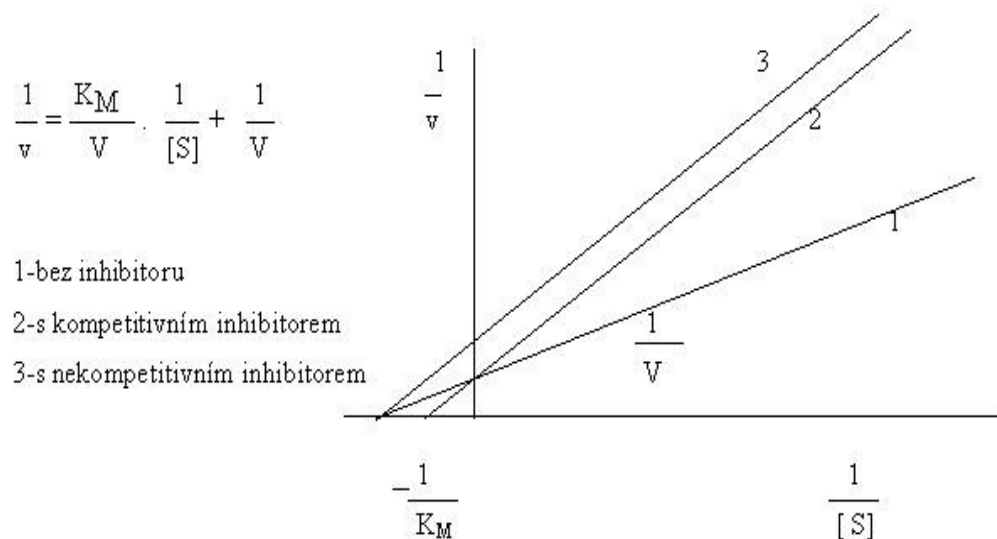
V - limitná rýchlosť reakcie

[S] - koncentrácia substrátu

$K_M$  - Michaelisova konštanta

Michaelisova konštanta je definovaná ako konštanta polovičného nasycení enzýmu a vyjadruje koncentráciu substrátu, pri ktorej prebieha reakcia polovinou limitnej rýchlosti V ( $v = V/2$ ). Je teda  $K_M$  dôležitou konštantou, majúci vztah k účinnosti daného enzýmu k substrátu. Čím je jej hodnota

nižší, tím je enzym účinnější. Při experimentálním stanovení  $K_M$  se sleduje závislost reakční rychlosti na koncentraci substrátu, přičemž rychlost se stanoví jako úbytek substrátu za časovou jednotku, případně jako časový rozdíl vhodných veličin závislých na koncentraci. Pro snadné určení  $K_M$  se provede linearizace M-M rovnice:



obr. 1. Verifikace M-M rovnice

PS: budu tam určite zakladne chemicke vypocty na koncentraciu (hmotnostnu, objemovu, molarnu), riedenie roztokov...atd.