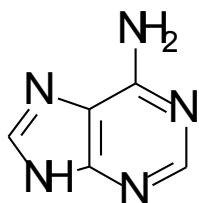
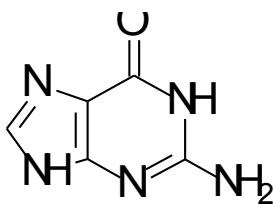


## D. NUKLEOVÉ KYSELINY

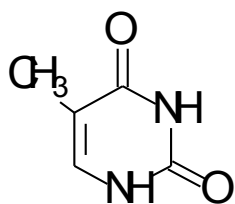
### Nukleové baze



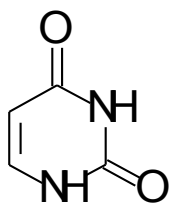
Adenin



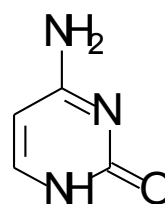
Guanin



Thymin

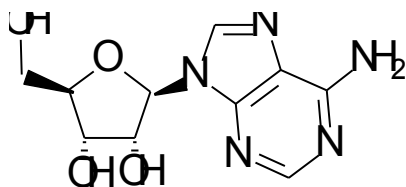


Uracil

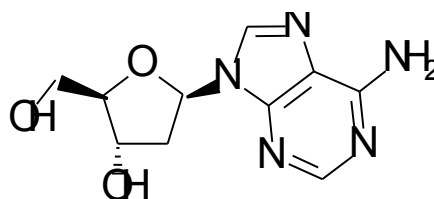


Cytosin

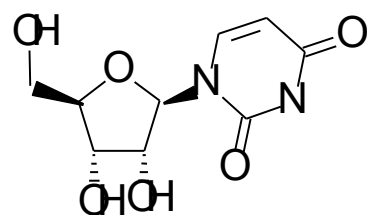
### Nukleosidy



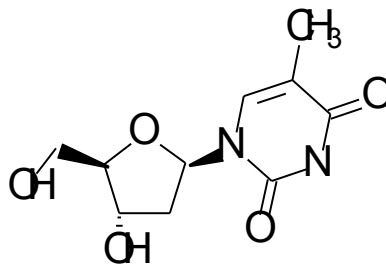
Adenosin



Deoxyadenosin



Uridin



Deoxythymidin

## Primární struktura nukleových kyselin

-struktura vazby nukleotidů: viz prezentace

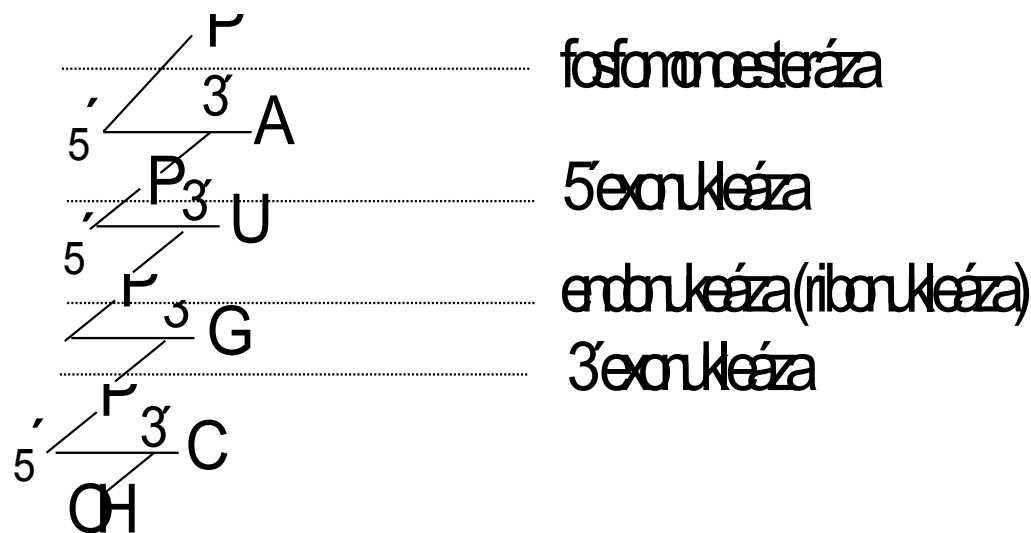
### Metody studia sekvence nukleových kyselin:

Enzymy používané k hydrolýze nukleových kyselin (mohou být specifické na DNA, RNA, nebo bez specifity):

-Fosfomonoesterázy -  
hydrolyzují terminální fosfátovou skupinu

-Fosfodiesterázy:  
hydrolyzují fosfodiesterovou vazbu:  
    exonukleázy (5'- exonukleázy uvolňují 3'P nukleosidy, 3'- exonukleázy uvolňují 5'P nukleosidy)  
    endonukleázy uvolňují oligonukleotidy, jsou obvykle substrátově specifické (deoxyribonukleáza, ribonukleáza)

-Polynukleotidkináza: Fosforyluje volnou 5'OH skupinu pentózy pomocí ATP



### Maxam-Gilbertova metoda sekvenace nukleových kyselin:

1. Označení konce nukleové kyseliny pomocí ATP ( $^{32}\text{P}$ )
2. Specifická chemická hydrolýza v místě:
  - G: působením DMS za tepla
  - G + A: působením kyseliny a DMS
  - C: působením hydrazinu v prostředí 5 M NaCl
  - C + T: působením hydrazinu
3. Elektroforéza získaných fragmentů za denaturačních podmínek (rychlost migrace je nepřímo úměrná počtu nukleotidů)
4. Skenování gelů na fosfoimageru (detekce radioaktivity)

Dnes již automatické sekvenátory v servisních laboratořích (kapilární elektroforéza s laserem indukovanou fluorescencí)

### **Sekundární struktura DNA**

Základní strukturou DNA je dvojitá šroubovice stabilizovaná vodíkovými vazbami mezi A-T a G-C.

Základní dvojitá šroubovice (**B-DNA**) obsahuje 10 pb na jednu otáčku a vzdálenost mezi dvěma následujícími pb je 0,34 nm.

Méně běžné typy:

**A-DNA** šroubovice obsahuje 11 pb/otáčka a vzdálenost mezi sousedními bazemi je 0,23 nm.

**Z-DNA** šroubovice obsahuje 12 pb/otáčka a vzdálenost mezi sousedními pb je 0,38 nm.

Genetický kód mRNA prokaryot:

UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys
UUC		UCC		UAC		UGC	
UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	STOP	UGA	STOP
UUG		UCG		UAG		UGG	Trp
CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg
CUC		CCC		CAC		CGC	
CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg
CUG		CCG		CAG		CGG	
AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser
AUC		ACC		AAC		AGC	
AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg
AUG	Met	ACG		AAG		AGG	
GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly
GUC		GCC		GAC		GGC	
GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly
GUG		GCG		GAG		GGG	

1. Napište vzorce adeninu, nukleosidu a nukleotidu od něho odvozeného.
2. Roztok obsahující AMP a GMP měl absorbanci  $A_{260} = 0.652$  a  $A_{280} = 0.284$ , vypočítejte koncentraci AMP a GMP v roztoku, jestliže pro AMP je  $\epsilon$  při 260 =  $15.4 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ,  $\epsilon$  při 280 =  $2.5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Pro GMP  $\epsilon$  při 260 =  $11.7 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ,  $\epsilon$  při 280 =  $7.7 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .
3. Napište úplnou strukturu ribodinukleotidu a deoxyribodinukleotidu složeného z A a C.
4. Vypočítejte průměrnou molekulovou hmotnost jednoho nukleotidového zbytku DNA a RNA, za předpokladu, že baze jsou přítomny v ekvimolárních koncentracích. Nezapomeňte na kondenzaci vody při vytvoření esterové vazby!  
(Molekulové hmotnosti složek: A = 135, G = 151, C = 111, U = 112, T = 126, ribóza 150, kys. fosforečná = 98).
5. Schematické znázornění sekvence RNA (zapsáno od volného 3' konce k 5' konci) je následující:  
UpCpUpApGpAp  
Napište produkty hydrolýzy této RNA pomocí následujících enzymů:
  - a) fosfomonoesteráza
  - b) fosfodiesteráza hadího jedu (3' - exonukleáza)
  - c) fosfodiesteráza ze sleziny (5' - exonukleáza)
  - d) ribonukleáza T1 (hydrolýza v místě G, vznik 3'P oligonukleotidu)
  - e) ribonukleáza U2 (hydrolýza v místě A nebo G, vznik 3'P oligonukleotidu)

6. Oligonukleotid pocházející z DNA má následující sekvenci (zapsáno od volného 5' konce k 3' konci):

pApCpTpTpApG

5' terminální nukleotid byl označen  $^{32}\text{P}$ . Jaké oligonukleotidy získáme po působení fosfodiesterázy hadího jedu (viz výše). Které z nich budou značeny  $^{32}\text{P}$ ?

Které oligonukleotidy získáme hydrolyzou pomocí deoxyribonukleázy II a které z nich budou značeny  $^{32}\text{P}$  (deoxyribonukleáza II je endonukleáza uvolňující 3'P oligonukleotidy).

7. Oligoribonukleotid X je složen z následujících bazí: 2A, 2C, U, G.

a) po působení fosfodiesterázy z hadího jedu se po krátké době uvolní pC.

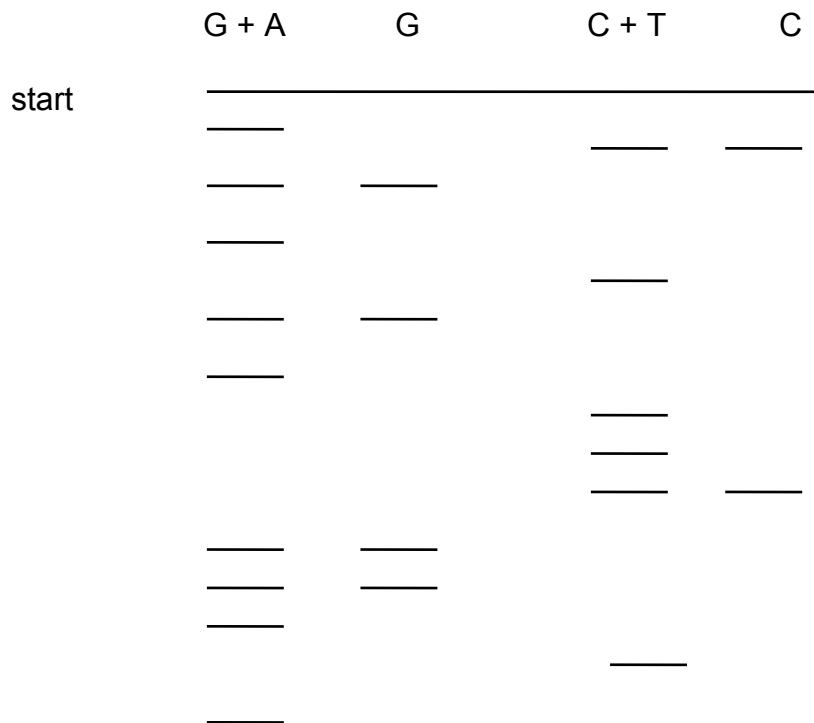
b) hydrolyzou pomocí pankreatické ribonukleázy získáme C, dinukleotid obsahující A a C a dále trinukleotid obsahující A, G a U.

(penkreatická ribonukleáza je endonukleáza a působí v místě C a U za vzniku 3'P oligonukleotidů).

c) hydrolyzou pomocí ribonukleázy T2 (hydrolyza v místě A za vzniku 3'P oligonukleotidů) získáme pAp, dinukleotid obsahující U a C a trinukleotid obsahující A, G a C.

Určete sekvenci oligoribonukleotidu

8. Udejte sekvenci oligodesoxyribonukleotidu stanovovanou Maxam-Gilbertovou metodou. Na fosfoimageru byl získán následující obraz:



9. Při replikaci řetězce DNA --AGCGTAG-- byl vytvořen komplementární řetězec. Napište jeho sekvenci. Jaká bude sekvence mRNA vytvořená při transkripci?

10. Napište sekvenci komplementární k uvedenému řetězci DNA, vyhledejte úseky obsahující palindrom.

a/ GATCAA, b/ TGGAAC, c/ GAATTC, d/ ACGCGT, e/ CGGCCG, f/ TACCAT

11. Vypočítejte molekulovou hmotnost jednoho průměrného páru bazí (molekulová hmotnost A = 135, T = 126, G = 151, C = 111, deoxyribóza 134, kys. fosforečná 98. Nezapomeňte na odštěpení vody při tvorbě esterové vazby). Jaká je molekulová hmotnost molekuly DNA o délce 1  $\mu\text{m}$  v Da a hmotnost v gramech? (vzdálenost mezi dvěma následujícími pb je 0,34 nm, relativní molekulová hmotnost jednoho páru bazí je v průměru 617,5)

12. Jaterní buňka krysy obsahuje  $10^{-11}$  g DNA. Tato DNA je rovnoměrně rozdělena do 42 chromosomů buňky.

a) Jaká je molekulová hmotnost DNA (1 chromosom obsahuje jednu molekulu DNA).

b) Vypočítejte počet párů bazí DNA obsažené v jednom chromosomu a jeho délku (vzdálenost mezi dvěma následujícími pb je 0,34 nm, molekulová hmotnost jednoho páru bazí je v průměru 617,5).

13. Molární složení guaninu + cytosinu v DNA určité bakterie je 67,2%. Jaký je poměr mezi purinovými a pyrimidinovými bazemi? Jaké je molární složení v procentech jednotlivých bazí této DNA.

14. Při analýze byla zjištěna změna v aminokyselinovém složení bílkoviny, jejíž gen byl mutován. Vyberte z následujících změn ty případy, které jsou výsledkem mutace provedené změnou jedné baze.

Phe  $\rightarrow$  Leu    Lys  $\rightarrow$  Ala    Ala  $\rightarrow$  Thr    Phe  $\rightarrow$  Lys    Ile  $\rightarrow$  Leu

His  $\rightarrow$  Glu    Pro  $\rightarrow$  Ser

15. DNA fága lambda vzniklá deleční mutací má délku 13,6  $\mu\text{m}$  namísto 16,49  $\mu\text{m}$ .

a) Vypočítejte, kolik pb tomuto mutantovi chybí

b) Jaký je rozdíl v molekulové hmotnosti a hmotnosti v gramech obou DNA

c) Část, u které byla provedena delece odpovídá sekvenci kódující protein P. Jaká je molekulová hmotnost tohoto proteinu. Průměrná molekulová hmotnost aminokyseliny je 140.

16. Směs nukleosidtrifosfátů značených  $^{32}\text{P}$  na  $\gamma$ -fosfátu byla inkubována s RNAPolymerázou: Po určité době byla zjištěna inkorporace 100 molekul značeného fosfátu do výsledného produktu. Tentýž pokus byl proveden se směsí nukleosidtrifosfátů značených na fosfátu  $\alpha$ . Byla zjištěna inkorporace  $3 \cdot 10^4$  molekul fosfátu do značeného produktu.

Jaký počet řetězců RNA byl syntezován a jaká je jejich průměrná délka?

17. Aminokyselinová sekvence C-terminální oblasti bílkoviny a odpovídající kódující sekvence DNA jsou následující:

Phe –Glu –Ile –Leu –Glu –Arg –Arg

TTT GAG ATT CTG GAG CGG CGG

Popište mutace, které by mohly vnést do této sekvence restriční místo TT/CGAA a jiné restriční místo A/GATCT a to za podmínky, že nedojde ke změně sekvence aminokyselin ve vzniklém peptidu.

18. DNA bakteriofága má následující složení bazí: C 19%, A 25%, T 33% a G 23%.

a) Co je na této DNA neobvyklé a čím se dá její struktura charakterizovat

b) Tato DNA byla použita jako matrice *in vitro* při reakci katalyzované DNA polymerázou. Jaké bude složení bazí této nově syntezované DNA?

c) pokud by množství nasintezované DNA bylo stejné jako je množství matrice, jaké je celkové složení bazí (to je DNA matrice + DNA syntezované *in vitro*)

d) mRNA syntezovaná jakožto odpověď na infekci fágem má následující složení: C 18%, A 25% U 34% G 23%. Který řetězec DNA byl použit pro syntézu RNA?

19. Byla provedena syntéza polynukleotidu mRNA *in vitro* za použití 90% UTP a 10% CTP. Tyto polymerní molekuly byly poté použity pro syntézu polypeptidu za přítomnosti všech 20 t-RNA. Syntezované polypeptidy byly hydrolyzovány a jejich celkové aminokyselinové složení bylo následující: 81% Phe, 1% Pro, 9% Ser, 9% Leu.

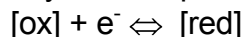
Vypočítejte frekvenci všech kodonů a zdůvodněte odpovídající aminokyselinové složení polypeptidů.

20. Při pokusu byla enzymově připravena glutaminyl-tRNA značená na glutaminu. Poté byla tato látka chemicky desaminována za vzniku glutamyl-tRNA. Tato tRNA byla přidána do bezbuněčné směsi připravené z *E. coli* a zbavené mRNA. Ke směsi byl přidán uměle připravený polymer obsahující ekvimolární koncentraci G a A. Kolik procent glutamátu bude obsahovat syntezovaný polypeptid?

21. Při stanovení primární struktury enzymu bylo zjištěno, že se skládá z 250 aminokyselin. Jaký je minimální počet nukleotidů strukturálního genu tohoto enzymu? Při bodové mutaci tohoto strukturálního genu došlo k náhradě jednoho serinu glutamátem. Tento fakt se projevil ztrátou enzymové aktivity. Co z tohoto faktu lze vyvodit?

## G. REDOXNÍ REAKCE

Pro redukci látky obecně platí



tento děj charakterizuje redoxní potenciál  $E'$  (v biochemii definován při pH 7)

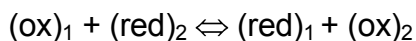
$$E' = E^{\circ'} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{ox}]}{[\text{red}]}$$

standardní      aktuální  
redox pot.      koncentrace složek

Pravidlo: Tabulková hodnota redoxního potenciálu vždy odpovídá směru **redukce** dané složky. Hodnota redoxního potenciálu pro směr **oxidace** má opačné znaménko.

$$F = 96500 \text{ C.mol}^{-1} R; R = 8,314 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$$

Reakce mezi dvěma redoxními systémy:



Pokud je systém **v rovnováze**, platí  $\Delta G' = 0$  a  $E_1 = E_2$

$$E^{\circ'}_1 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{ox}_1]}{[\text{red}_1]} = E^{\circ'}_2 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{ox}_2]}{[\text{red}_2]}$$

$$E^{\circ'}_1 - E^{\circ'}_2 = \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{ox}_2][\text{red}_1]}{[\text{red}_2][\text{ox}_1]}$$

$$K_{\text{eq}} = \frac{[\text{ox}_2][\text{red}_1]}{[\text{ox}_1][\text{red}_2]} \Rightarrow E^{\circ'}_1 - E^{\circ'}_2 = \frac{RT}{nF} \ln K_{\text{eq}}$$

$$\Delta G^{\circ'} = -RT \ln K_{\text{eq}}$$

$$E^{\circ'}_1 - E^{\circ'}_2 = \frac{\Delta G^{\circ'}}{nF}$$

$$\Delta G^{\circ'} = -nF \Delta E^{\circ'}$$

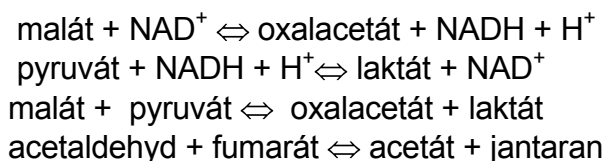


Tabulka. Hodnoty standardních redoxpotenciálů některých důležitých redoxních párů při pH 7:

oxidovaná/redukovaná forma	$E^{\circ}$ [V]
acetát/acetaldehyd	-0,580
NAD <sup>+</sup> /NADH	-0,320
NADP <sup>+</sup> /NADPH	-0,324
acetaldehyd/ethanol	-0,197
pyruvát/laktát	-0,185
oxalacetát/malát	-0,166
ubichinon/ubihydrochinon	+0,100
2cyt b(ox)/2cyt b(red)	+0,030
fumaran/jantaran	+0,031
2cyt c(ox)/2cyt c(red)	+0,235
2cyt a(ox)/2cyt a(red)	+0,385
½ O <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O	+0,816

1. Vypočítejte redoxní potenciál  $E'$  směsi NAD/NADH, je-li koncentrace NAD 1 mmol.l<sup>-1</sup>, NADH 10 mmol.l<sup>-1</sup>.

2. Srovnáním standardních redox potenciálů určete, zda reakce bude mít tendenci probíhat doleva nebo doprava:



3. Vypočítejte rovnovážnou konstantu reakce ze standardního redox potenciálu  $E^{\circ}$  (t=25°C)



4. Vypočítejte, jaký musí být poměr koncentrací NAD/NADH, aby reakce:



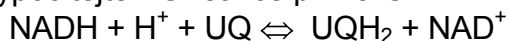
byla při 25°C v rovnováze, je-li poměr koncentrací pyruvát/laktát = 1.

5. Vypočítejte  $\Delta G$  reakce:



je-li koncentrace NAD 10 mmol.l<sup>-1</sup>, NADH 1 mmol.l<sup>-1</sup>, jantaranu 10 mmol.l<sup>-1</sup>, fumaranu 5 mmol.l<sup>-1</sup>, t=25°C.

6. Vypočítejte  $\Delta G$  reakce při 25°C



je-li koncentrace NAD 100krát vyšší než koncentrace NADH a koncentrace UQH<sub>2</sub> 2krát vyšší než koncentrace UQ.

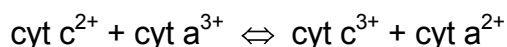
$$E^{\circ'}(\text{UQ}/\text{UQH}_2) = +0,104 \text{ V}, E^{\circ'}(\text{NAD}^+/\text{NADH}) = -0,320 \text{ V}$$

7. Určete  $\Delta G^{\circ'}$  reakce:



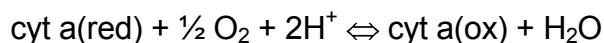
$E^{\circ'}(\text{acetát}/\text{acetaldehyd}) = -0,580 \text{ V}$ ,  $E^{\circ'}(\text{jantaran}/\text{fumarán}) = 0,030 \text{ V}$ . V jakém směru bude reakce probíhat?

8. Určete  $\Delta G^{\circ'}$  reakce:



$E^{\circ'}(\text{cyt } c^{3+} / \text{cyt } c^{2+}) = +0,235 \text{ V}$ ,  $E^{\circ'}(\text{cyt } a^{3+} / \text{cyt } a^{2+}) = +0,385 \text{ V}$ . V jakém směru bude reakce probíhat?

9. Vypočítejte  $\Delta G^{\circ'}$  reakce:



$E^{\circ'}(\text{cyt } a(\text{ox})/\text{cyt } a(\text{red})) = 0,385 \text{ V}$ ,  $E_o(\frac{1}{2} \text{O}_2 / \text{H}_2\text{O}) = 0,816 \text{ V}$ . Je-li  $\Delta G^{\circ'}$  syntézy ATP z ADP a P<sub>i</sub> +30 kJ.mol<sup>-1</sup>, kolik molekul ATP může vzniknout při této reakci za standardních podmínek?

10. Vypočítejte, jaký je poměr koncentrací NAD/NADH u ethanolického kvašení v rovnováze, pokud by koncentrace ethanolu byla 5% a koncentrace acetaldehydu 0,5 mmol.l<sup>-1</sup>. Hustota roztoku alkoholu = 1 g.ml<sup>-1</sup>.



$$E_o(\text{acetaldehyd}/\text{ethanol}) = -0,197 \text{ V}; E_o(\text{NAD}^+/\text{NADH}) = -0,320 \text{ V}.$$

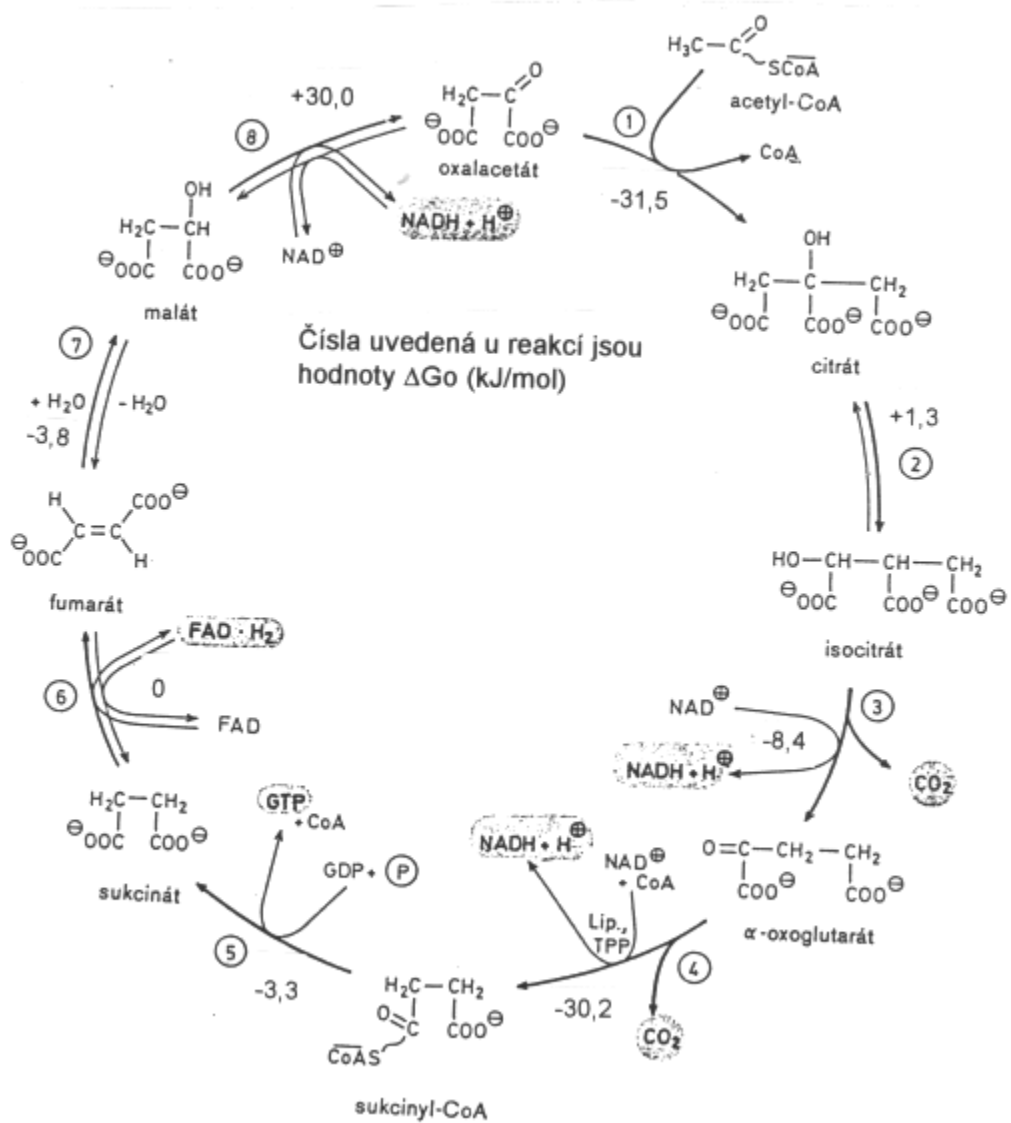
11. Dokažte pomocí výpočtu  $\Delta G^{\circ'}$ , zda při oxidaci acetaldehydu na acetát je vhodnějším koenzymem NAD nebo FAD.



Při výpočtu berte v úvahu situaci, kdy poměr reduk. koenzym/oxid. koenzym = 1/100 a koncentrace acetaldehydu a acetátu je ekvimolární.

$$E^{\circ'}(\text{acetát}/\text{acetaldehyd}) = -0,580 \text{ V}, E^{\circ'}(\text{NAD}^+/\text{NADH}) = -0,320 \text{ V}, E^{\circ'}(\text{FAD}/\text{FADH}_2) = 0,000 \text{ V}.$$

## H. CITRÁTOVÝ CYKLUS



1. Srovnajte  $\Delta G^{\circ}$  reakcí citrátového cyklu. Které reakce mají tendenci probíhat obráceným směrem a jakým způsobem dochází k posunu reakcí žádoucím směrem?

2. V kterém místě citrátového cyklu dochází k dekarboxylaci :

Přeměna: a) citrátu na akonitát, b) isocitrátu na oxoglutarát, c) malátu na oxalacetát, d) oxalsukcinátu na 2-oxoglutarát, e) 2-oxoglutarátu na sukcinyl-CoA

3. V kterém místě citrátového cyklu dochází k oxidaci substrátu

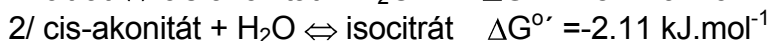
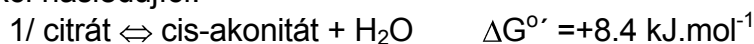
Přeměna

a) sukcinátu na fumarát b) 2-oxoglutarátu na sukcinyl-CoA

c) fumarátu na malát d) oxalacetátu na citrát e) acetylkoenzym A na citrát

4. Napište bilanční rovnici přeměny oxoglutarátu na sukcinát v citrátové, cyklu.

5. Jaké jsou rovnovážné relativní koncentrace isocitrátu, citrátu a cis-akonitátu, je-li  $\Delta G^{\circ}$  reakcí následující:



6. Napište bilanční rovnice přeměny těchto látek v Krebsově cyklu do stadia oxalacetátu:

a) citrát

b) jantaran

c) malát

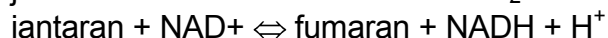
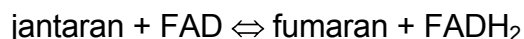
Napište vzorce uvedených karboxylových kyselin.

7. Jaká je distribuce uhlíku  $^{14}\text{C}$  na oxalacetátu po přidání pyruvátu značeného na a) C1, b) na C2, c) na C3

k enzymům Krebsova cyklu a k pyruvát dekarboxylase?

8. K enzymům Krebsova cyklu byla přidán acetylCoA značený  $^{13}\text{C}$  na methylové skupině. Dokažte, jaká bude distribuce radioaktivity ve vzniklém citrátu a jaká ve vzniklém isocitrátu

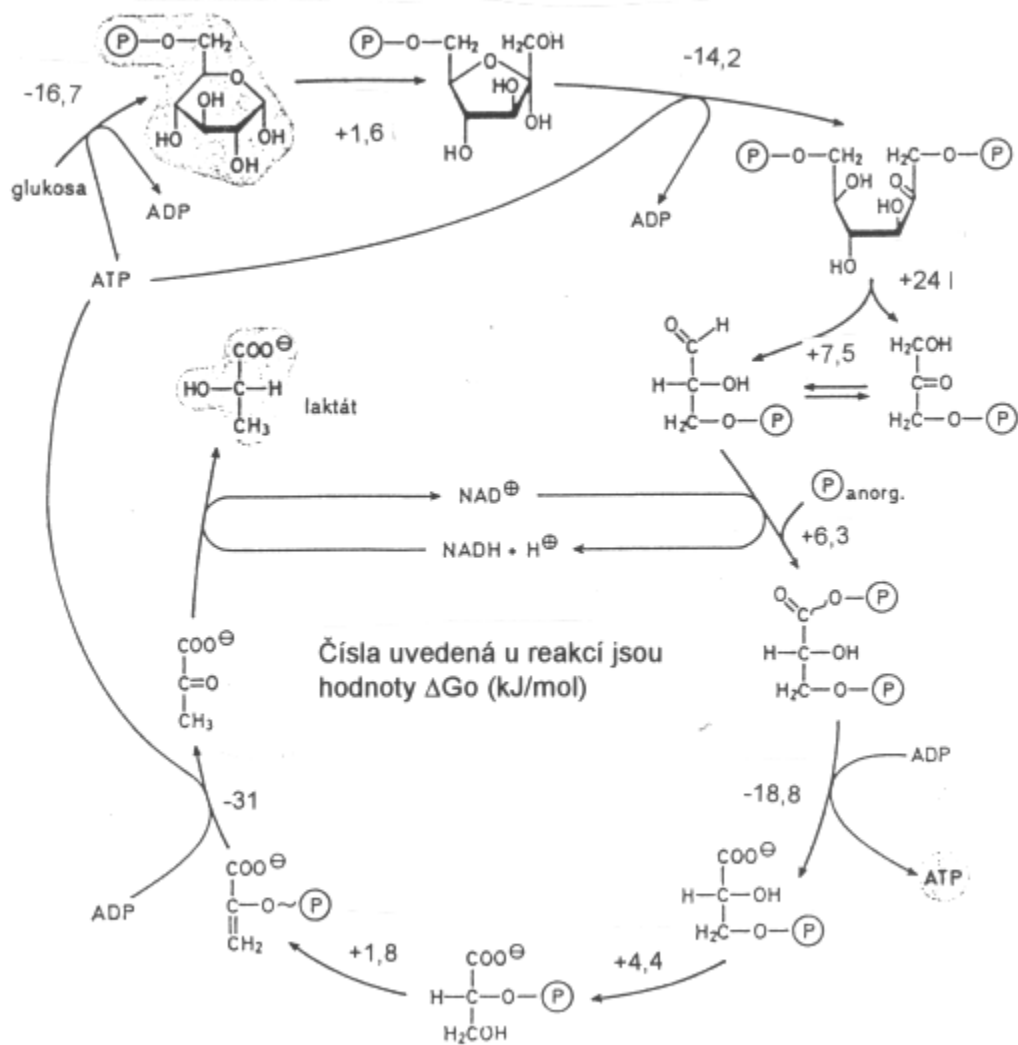
9. Na základě hodnoty  $\Delta G^{\circ}$  vypočtené ze standardních redoxpotenciálů zdůvodněte, proč oxidace jantaranu na fumaran v Krebsově cyklu probíhá za účasti FAD jako koenzymu a nikoliv  $\text{NAD}^+$ .



$$E^{\circ} (\text{FAD}/\text{FADH}_2) = 0,000 \text{ V}$$

10. Navrhněte hypotetický cyklus analogický Krebsově cyklu, kde by jako počáteční krok byla reakce acetylCoA s oxoglutarátem namísto s oxalacetátem.

# I. GLYKOLÝZA

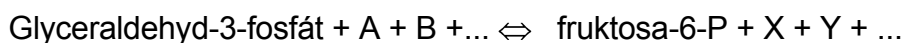


1. Napište vzorce: kys. 1,3 bis fosfoglycerové, fosfoenolpyruvátu. K aldolase byl přidán fruktosa 1,6 bis fosfát značený na C2. Jaká bude distribuce radioaktivity ve vzniklé triose?

2. K enzymům anaerobní glykolysy byla přidána kys. 3-fosfoglycerová značená na uhlíku C2. Zvratem anaerobní glykolysy byl z této kyseliny syntezován fruktosa-1,6-bis fosfát. Jaká bude distribuce radioaktivity v tomto fruktosa-1,6 bis fosfátu?

3. Fruktosa 1,6-bisfosfát byl značen fosfátem  $^{32}\text{P}$  na uhlíku číslo 1. Prokažte, zda se tento značený fosfát objeví ve formě ATP, pokud anaerobní glykolýza proběhla do stadia kys. 3-fosfoglycerové.

4. Napište bilanční rovnici přeměny glyceraldehyd-3-P na fruktosa-6-P v procesu glukoneogeneze:



5. Napište bilanční rovnici přeměny fruktosa-6-fosfátu na kys. 3-fosfoglycerovou v procesu anaerobní glykolýzy.



6. Látka A je produktem anaerobní glykolýzy. Její redukcí NADH vzniká látka B. Transaminací látky A vzniká látka C. Napište názvy a vzorce látek A,B,C.

7. Napište bilanční rovnici přeměny fruktosy na pyruvát v procesu anaerobní glykolysy za předpokladu: a) fosforylace fruktosy hexokinasou



b) fosforylace fruktosy fruktokinasou



8.. Napište bilanční rovnici přeměny fruktosa-1,6-bisfosfátu na fosfoenolpyruvát při anaerobní glykolýze

a) v přítomnosti NAD,  $\text{P}_i$  a ADP

b) v přítomnosti  $\text{NAD}^+$ , ADP, arseničnanu

9. Glukosa byla značena  $^{14}\text{C}$ . Jaká bude distribuce značeného uhlíku v pyruvátu po přeměně značené glukosy v procesu anaerobní glykolýzy.

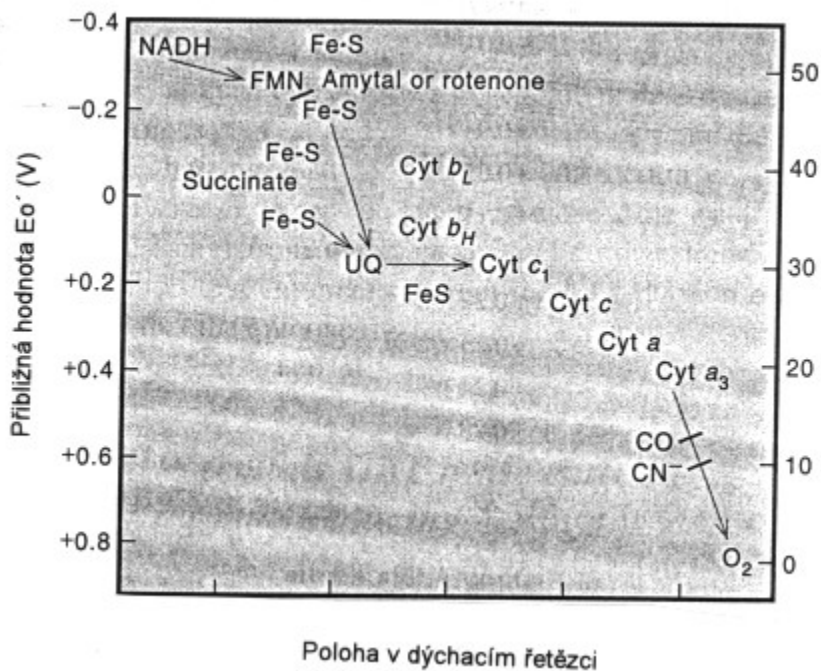
a) v případě značení na C1

b) v případě značení na C6

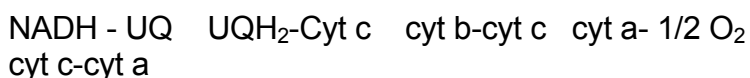
(izomerace glyceraldehdyfosfátu na dihydroxyacetonfosfát je velmi rychlá vzhledem k následujícímu kroku).

10. Jaká bude rovnovážná koncentrace fruktosa-1,6-bisfosfátu, glyceralddehyd-3-fosfátu a dihydroxyacetonfosfátu, jestliže fruktosa-1,6-bisfosfát  $1 \text{ mmol.l}^{-1}$  byl inkubován s aldolasou ( $\Delta G^{\circ} = + 24 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ).
11. Zdůvodněte, proč při anaerobní glykolyse musí být glukosa-6-fosfát izomerován na fruktosa-6-fosfát. Vezměte v úvahu reakční mechanismus aldolasové reakce. Proč tato reakce probíhá s fruktosa-1,6-bisfosfátem a nikoliv s glukosa-1,6-bis fosfátem?
12. Glukosa značená  $^{14}\text{C}$  na C1 byla přidána do směsi obsahující enzymy pentosového cyklu. Jaký je osud radioaktivně značeného uhlíku při přeměně na dvě molekuly triosy ?
13. K enzymům anaerobní glykolysy byla přidána kys. 3-fosfoglycerová značená na uhlíku karboxylové skupiny. Zvratem anaerobní glykolysy byl z této kyseliny syntezován fruktosa-1,6-bisfosfát. Jaká bude distribuce radioaktivity v tomto fruktosa-1,6-bisfosfátu.
14. Na základě velikosti  $\Delta G^{\circ}$  odhadněte, které reakce nemohou při glukoneogenezi probíhat zvratem anaerobní glykolysy. Jakým způsobem jsou tyto reakce obcházeny? (Jedna z reakcí probíhá přes nepříznivé  $\Delta G^{\circ}$ . Odhadněte proč.)
15. Určité bakteriální mutanty mají nefunkční triosafosfát izomerázu. Vysvětlete, proč je tato mutace letální pro organismus fermentující glukosu výlučně cestou anaerobní glykolýzy.
16. Vysoké koncentrace pyruvátu inhibují izoenzym laktátdehydrogenasy srdečního svalu, nikoli však izoenzym ze svalu kosterního. Jaké by byly důsledky tohoto efektu, kdyby srdeční sval obsahoval pouze izoenzym totožný s izoenzymem kosterního svalu. Jaké by byly obrácené důsledky, kdyby kosterní sval obsahoval izoenzym totožný s izoenzymem srdečním?
17. Při glukoneogenezi je termodynamická bariéra tvorby fosfoenolpyruvátu obcházena tvorbou oxalacetátu (koenzym biotin). Napište obě dvě rovnice použité k obchvatu pyruvát kinázové reakce a vypočítejte  $\Delta G^{\circ}$  souhrnné reakce. (Předpokládejte, že GTP je termodynamicky ekvivalentní ATP).

## J. RESPIRAČNÍ ŘETĚZEC



1. Rozdělte jednotlivé složky respiračního řetězce na jednoelektronové a dvouelektronové přenašeče. Napište redoxní rovnice mezi uvedenými partnery a všimněte si, kde vystupuje jako reakční partner H<sup>+</sup>.



2. Vypočítejte  $\Delta G^{o'}$  reakce mezi:

- NADH + UQ
- jantaran + UQ
- cyt b(red) + cyt c(ox)
- cyt c(red) +  $\frac{1}{2}$  O<sub>2</sub>

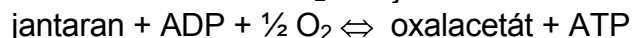
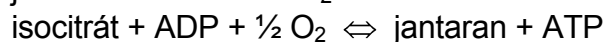
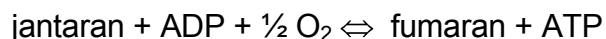
Na základě velikosti  $\Delta G^{o'}$  odhadněte, při které reakci je kryta energetická spotřeba vzniku jedné molekuly ATP ( $\Delta G^{o'} = -30 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ ).

3. Vypočítejte  $\Delta G^{o'}$  oxidace NADH kyslíkem v respiračním řetězci. Kolik molů ATP by teoreticky vzniklo za standartních podmínek ( $\Delta G^{o'} = -30 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ ). Jestliže namísto kyslíku



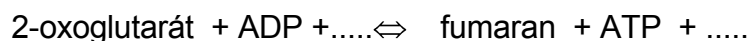
použijeme umělého akceptoru hexakynoželezitanu ( $E^{\circ} = +0,360 \text{ V}$ ), jaká bude změna standardní volné energie reakce a kolik molů ATP vznikne?

4. Doplňte bilanční rovnici přeměny následujících látek v Krebsově cyklu a v respiračním řetězci:

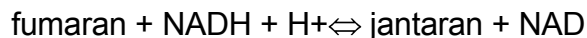


5. Po přidavku inhibitoru respirace antimycinu k systému respiračního řetězce mitochondrií byla zjištěno úplné zredukování ubichinonu, cytochromu b a úplné zoxidování cytochromů c, aa<sub>3</sub>. Zakreslete místo zásahu tohoto inhibitoru.

6. Doplňte bilanční rovnici přeměny fumaranu na oxalacetát za spolupráce enzymů Krebsova cyklu a respiračního řetězce:



7. Vypočítejte  $\Delta G^{\circ}$  reakce při 25°C



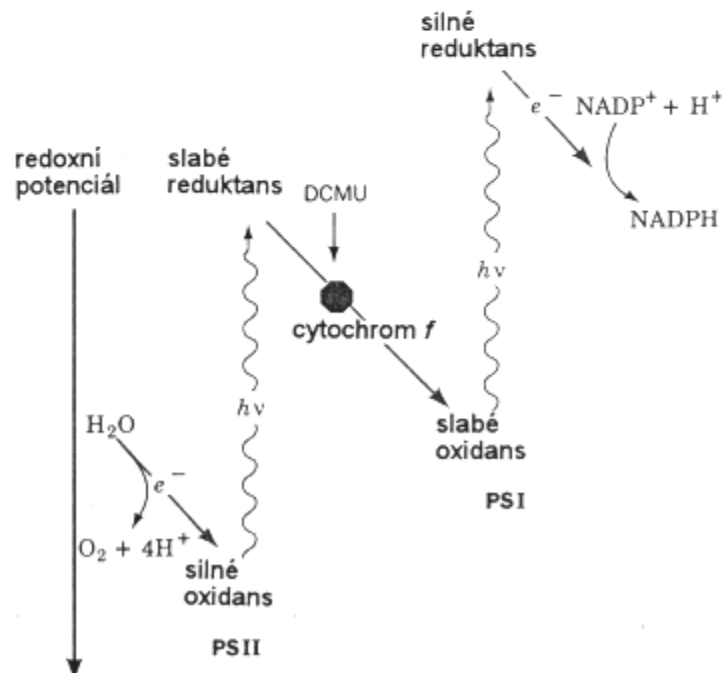
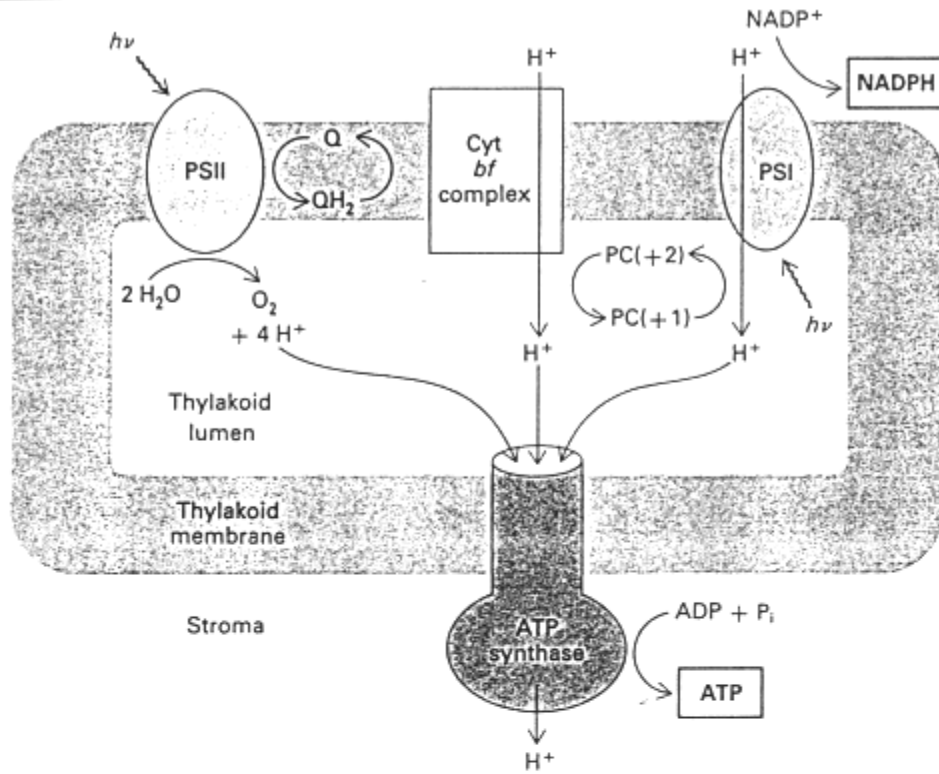
víte-li, že:  $E^{\circ} (\text{NAD}/\text{NADH}) = -0,320 \text{ V}$ ,  $E^{\circ} (\text{fum}/\text{jan}) = +0,030 \text{ V}$

Bylo by možné, aby za standardních podmínek byla tato reakce využita k syntéze ATP? (hydrolyza ATP:  $\Delta G^{\circ} = -30 \text{ kJ/mol}$ )

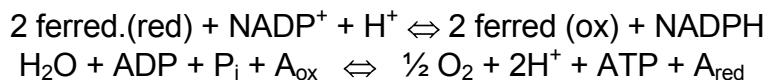
Zakreslete úseky respiračního řetězce, které se podílejí na této oxidaci NADH.

## K. FOTOSYNTÉZA

### Světelná fáze

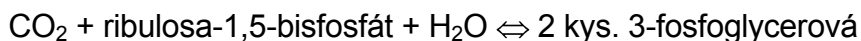


Souhrnná rovnice:

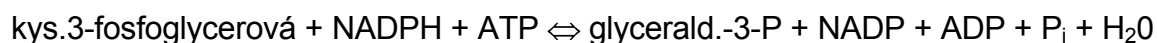


### Temnostní fáze (Calvinův cyklus)

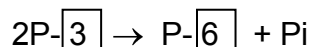
fixace:



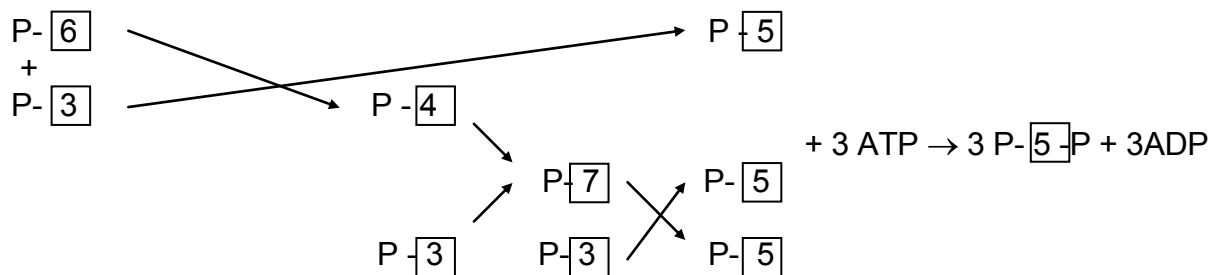
redukce:



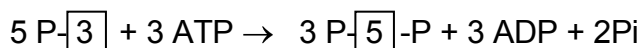
syntéza hexózy:



regenerace:



souhrnná rovnice:



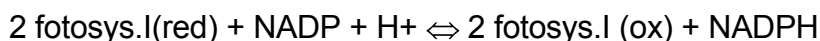
1. Napište souhrnnou rovnici světelné fáze fotosynthesy ve fotosystému I, fotosystému II a souhrnnou rovnici při propojení obou fotosystémů. Pokuste se napsat souhrnnou rovnici temné fáze fotosynthesy s oxidem uhličitým na jedné straně a s triosofosfátem na straně druhé. Vodu nutnou pro hydrolyzu ATP zanedbejte.

2. Vypočítejte  $E_o$  a  $\Delta G^{o'}$  reakce mezi redukováným ferredoxinem a NADP při fotosynthese ( $E^{o'}$  ferredoxinu = -0,43 V).

3. K enzymům temné fáze fotosyntézy (fixace  $\text{CO}_2$ ) byl přidán ribulosa-1,5-bisfosfát a  $^{14}\text{CO}_2$ . Jaká bude distribuce radioaktivity v kyselině 3-fosfoglycerové? Jaká bude distribuce radioaktivity v tomto případě, pokud byl přidán neznačený  $\text{CO}_2$  a ribulosa-1,5bisfosfát značený na C5?

4. Srovnajte proces redukce kys. 3-fosfoglycerové na glyceraldehyd-3-fosfát při fotosyntéze a vratný proces oxidace glyceraldehyd-3-fosfátu při anaerobní glykolyse. V čem se oba procesy liší?

5. Fotosystém I má v základním stavu standardní redox potenciál  $E^{\circ'} = +0,460 \text{ V}$ . Po absorpci světelného kvanta se jeho potenciál změní na  $E^{\circ'} = -0,600 \text{ V}$ . Vypočítejte rovnovážný poměr koncentrací NADPH/NADP v reakci:



s fotosystémem I v základním a excitovaném stavu. Poměr koncentrací oxidovaného a redukovaného fotosystému je roven 1,  $t = 25^\circ\text{C}$ .

6. Dokažte výpočtem  $\Delta G$ , zda redukovaný ferredoxin ( $E^{\circ'} = -0,430 \text{ V}$ ) je při fotosyntéze schopen redukovat NADP ( $E^{\circ'} = -0,324 \text{ V}$ ), pokud poměr koncentrací NADPH/NADP je při  $25^\circ\text{C}$  roven 100. Výchozí poměr redukovaného a oxidovaného ferredoxinu je roven 1. Napište rovnici této reakce.

7. Jeden z používaných herbicidů diuron je známým inhibitorem fotosyntézy. Tento inhibitor blokuje syntézu NADPH v chloroplastech, přičemž plastochinon se zcela zredukuje. Zakreslete pravděpodobné místo zásahu.

8. Určité primitivní fotosyntetizující bakterie žijící poblíž podmořských sopek obsahují bakteriochlorofyl a fotosystém II. Produktem této fotosyntézy je síra. Vysvětlete pomocí schématu rovnice.

## VÝSLEDKY ÚLOH

D

2.  $A_{260} = [\text{AMP}] \cdot \epsilon_{260}(\text{AMP}) + [\text{GMP}] \cdot \epsilon_{260}(\text{GMP})$

$A_{280} = [\text{AMP}] \cdot \epsilon_{280}(\text{AMP}) + [\text{GMP}] \cdot \epsilon_{280}(\text{GMP})$

$[\text{GMP}] = 3,07 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ ,  $[\text{AMP}] = 1,90 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$

4. RNA 321, DNA 309

5. a/ UpCpUpApGpA

b/ Up+ CpUpApGpAp, Up+Cp+UpApGpAp, Up+Cp+Up+ApGpAp atd.

c/ UpCpUpApG+pAp, UpCpUpA+pG+pAp, UpCpU+pA+pG+pAp atd.

d/ UpCpUpA+pGpAp

e/ UpCpU+pA+pG+pAp

6. fosfodiesteráza hadího jedu:  $^{32}\text{pApCpTpTpA+pG}$ ,  $^{32}\text{pApCpTpT+pA+pG}$ ,  $^{32}\text{pApCpT+pT+pA+pG}$ ,  $^{32}\text{pApC+pT+pT+pA+pG}$  (poslední dinukleotid nechá nerozštěpený)

deoxyribonukleáza II:  $^{32}\text{pAp+CpTpTpApG}$ ,  $^{32}\text{pApCp+TpTpApG}$ ,  $^{32}\text{pApCpTp+TpApG}$ ,  $^{32}\text{pApCpTpTp+ApG}$ ,  $^{32}\text{pApCpTpTpAp+G}$  a další

6. a) pC...je na volném 3' konci RNA

b) pankreatická ribonukleáza rozštěpí polynukleotid (psáno od 5' konce k 3' konci) za U a C

možnosti: ACAGUC

ACGAUC

GAUACC

AGUACC

c) A bude na začátku

možnosti: AGCAUC...vyřazeno z důvodů b)

**ACGAUC**

AGCACU...nesplňuje podmínku a)

ACGACU...nesplňuje podmínku a)

řešení:(pApCpGpApUpC)

8. (-ATAGGCTTAGTACCA-)

9. -TCGCATC-, -UCGCAUC-

10. a/ GATCAA palindrom:GATC  
CTAGTT CTAG

b/ TGGAAC palindrom není

ACCTTG

c/ GAATTC celé palindrom

CTTAAG

d/ ACGCGT celé palindrom

TGCGCA

e/ CGGCCG celé palindrom

GCCGGC

f/ TACCAT palindrom není

ATGGTA

11.  $617,5$ ;  $1,82 \cdot 10^6$  Da,  $3,02 \cdot 10^{-18}$  g
12. a)  $1,43 \cdot 10^{11}$  Da  
b)  $2,32 \cdot 10^8$  pb, 0,079 m
13. 67,2% G+C, 32,8% A + T, molární poměr purinových a pyrimidinových bazí je 1:1, molární složení: 33,6 % G, 33,6% C, 16,4% A, 16,4% T
14. Phe→Leu, Ala→Thr, Ile→Leu, Pro→Ser-
15. a) 8500 pb  
b) rozdíl v molekulové hmotnosti je  $5,25 \cdot 10^6$  Da, což je  $8,72 \cdot 10^{-18}$  g  
c) 2833 kodonů a tedy aminokyselin, což je  $3,97 \cdot 10^5$  Da
16. 100 řetězců, průměrná délka 300 bazí (za předpokladu, že polymerace proběhne v obou pokusech stejně)
17. **TTC GAA** pro Phe a Glu,  
TTT **GAG ATC TTG** GAG CGG CGG nebo TTT **GAG ATC TTA** GAG CGG CGG
18. a) jednoduchá šroubovice  
b) G 19%, T 25%, A 33%, C 23%  
c) G 21%, T 29%, A 29%, C 21%  
d) nový řetězec DNA
19. frekvence kodonů:
- |     |              |       |     |
|-----|--------------|-------|-----|
| UUU | 0,9.0,9.0,9= | 72,9% | Phe |
| UUC | 0,9.0,9.0,1= | 8,1%  | Phe |
| UCU |              | 8,1%  | Ser |
| CUU |              | 8,1%  | Leu |
| UCC |              | 0,9%  | Ser |
| CUC |              | 0,9%  | Leu |
| CCU |              | 0,9%  | Pro |
| CCC |              | 0,1%  | Pro |
- Po součtu dostáváme teoretické aminokyselinové složení shodné s experimentálním.
20. frekvence kodonů:
- |     |       |     |
|-----|-------|-----|
| GGG | 12,5% | Gly |
| GAA | 12,5% | Glu |
| AGA | 12,5% | Arg |
| AAG | 12,5% | Lys |
| GGA | 12,5% | Gly |
| GAG | 12,5% | Glu |
| AGG | 12,5% | Arg |
| AAA | 12,5% | Lys |
- Syntezovaný polypeptid bude obsahovat 25% glutamátu.
21. strukturní gen: 750 nukleotidů (+ iniciační a terminační kodony)  
serin je v aktivním centru

G

1.  $E = -0,35$  V
2. doleva, doprava, doleva, doprava

3. Při výpočtu  $\Delta E^0$  odečítá od redoxního potenciálu složky, která vystupuje na levé straně rovnice v oxidované podobě, redoxní potenciál složky, která je zde v podobě redukované.  
 $+29,7 \text{ kJ/mol}$ ,  $6,13 \cdot 10^{-6}$
4.  $[\text{laktát}]/[\text{pyruvát}]=1$   
 $\Delta E^0 = E^0_{\text{LAK}^-} - E^0_{\text{NAD}} = -0,185 - (-0,32) = 0,135 \text{ V}$   
 $\Delta E^0 = (R \cdot T/n \cdot F) \cdot \ln([\text{laktát}] \cdot [\text{NAD}^+]/[\text{pyruvát}] \cdot [\text{NADH}])$   
 $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}] = 3,71 \cdot 10^4$
5.  $\Delta E^0 = -0,32 - (-0,031) = -0,351 \text{ V}$   
 $\Delta G^0 = 67,7 \text{ kJ/mol}$   
 $\Delta G = \Delta G^0 + R \cdot T \cdot \ln([\text{fumarán}] \cdot [\text{NADH}]/[\text{jantarán}] \cdot [\text{NAD}^+]) = +60,3 \text{ kJ/mol}$
6.  $\Delta E^0 = 0,104 - (-0,32) = 0,424 \text{ V}$   
 $\Delta G^0 = -81,8 \text{ kJ/mol}$   
 $\Delta G = \Delta G^0 + R \cdot T \cdot \ln([\text{UQH}_2] \cdot [\text{NAD}^+]/[\text{UQ}] \cdot [\text{NADH}]) = -68,7 \text{ kJ/mol}$
7.  $\Delta E^0 = 0,03 - (-0,58) = 0,61 \text{ V}$   
 $\Delta G^0 = -117,7 \text{ kJ/mol}$   
 Reakce probíhá doprava.
8.  $\Delta G^0 = -14,5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$   
 Reakce probíhá doprava.
9.  $\Delta G^0 = -83 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 2-3 molekuly ATP
10.  $[\text{alkohol}] = (5/46,0829)/0,1 = 1,0854 \text{ mol/l}$   
 $\Delta E^0 = 0,123 \text{ V}$   
 $\Delta G^0 = -23,74 \text{ kJ/mol}$   
 $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}^+] = 6,71$
11.  $\text{NAD}^+$ :  
 $\Delta E^0 = 0,26 \text{ V}$ ,  $\Delta G^0 = -50,2 \text{ kJ/mol}$ ,  $\Delta G = -61,6 \text{ kJ/mol}$   
 FAD:  
 $\Delta E^0 = 0,58 \text{ V}$ ,  $\Delta G^0 = 111,9 \text{ kJ/mol}$ ,  $\Delta G = 100,5 \text{ kJ/mol}$

H

1. malát +  $\text{NAD}^+$  → oxalacetát + NADH +  $\text{H}^+$   
 citrát → isocitrát
2. b,e
3. a,b
4. oxoglutarát +  $\text{NAD}^+$  + GDP + P → jantarán +  $\text{CO}_2$  + NADH +  $\text{H}^+$  + GTP
5.  $K_1 = 0,0336397$   
 $K_2 = 2,3444484$   
 citrát → isocitrát,  $\Delta G^0 = 6,29 \text{ kJ/mol}$ ,  $K = 0,0788666$   
 $\text{cis-akonitát/citrát} = 0,0336$ ,  $\text{isocitrát/cis-akonitát} = 2,3444$ ,  $\text{isocitrát/citrát} = 0,07887$   
 $[\text{citrát}] = 1$ ,  $[\text{isocitrát}] = 0,07887$ ,  $[\text{cis-akonitát}] = 0,03364$ , tedy 0,079:1:0,034
6. postupným sčítáním reaktantů a produktů dostaneme bilanční rovnice:

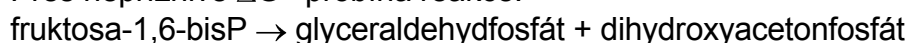
- a) citrát + 3 NAD<sup>+</sup> + GDP + P + FAD + H<sub>2</sub>O → oxalacetát + 2CO<sub>2</sub> + 3 NADH + 3H<sup>+</sup> +  
+ GTP + FADH<sub>2</sub>
- b) jantaran + FAD + H<sub>2</sub>O + NAD<sup>+</sup> → oxalacetát + FADH<sub>2</sub> + NADH + H<sup>+</sup>
- c) malát + NAD<sup>+</sup> → oxalacetát + NADH + H<sup>+</sup>
7. U tohoto typu úloh se uvažuje pouze první průchod cyklem trikarbonových kyselin, v dalších krocích by se značený <sup>14</sup>C objevoval i v jiných pozicích.
- a) uvolní se jako <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>
- b) C1 oxalacetátu
- c) C2 a C4 oxalacetátu
2. v citrátu na C2  
v isocitrátu na C2 a C4
8. reakce s FAD: ΔG<sup>0</sup>=5,98 kJ/mol  
reakce s NAD<sup>+</sup>: ΔG<sup>0</sup>=67,7 kJ/mol
- 10.
- I
1. C2 obou trios
  2. 2,5
  3. ne
  4. 2 glyceraldehyd-3-P + H<sub>2</sub>O → fruktosa-6-P + P
  5. fruktosa-6-P + 2 P + ADP + 2 NAD<sup>+</sup> → 2 kys.3-P-glycerová + ATP + 2 NADH + 2 H<sup>+</sup>  
1NADH je ekvivalentní 3ATP  
fruktosa-6-P + 8 P + 7 ADP → 2 kys.3-P-glycerová + 7 ATP
  6. pyruvát, laktát, alanin
  7. a) hexokinasa  
fruktosa + 2 ATP + 2 NAD<sup>+</sup> + 2 P + 4 ADP → 2 pyruvát + 2 ADP + 2 NADH + 2 H<sup>+</sup>  
+ 4 ATP  
fruktosa + 8 ADP + 8 P → 2 pyruvát + 8 ATP
  - b) fruktokinasa  
fruktosa + 2 ATP + 2 NAD<sup>+</sup> + 2 P + 4 ADP → 2 pyruvát + 2 ADP + 2 NADH + 2 H<sup>+</sup>  
+ 4 ATP  
fruktosa + 8 ADP + 8 P → 2 pyruvát + 8 ATP
  8. a) fruktosa-1,6-bisP + 2 NAD<sup>+</sup> + 2 P + 2 ADP → 2 fosfoenolpyruvát + 2 NADH + 2H<sup>+</sup>  
+ 2 ATP + 2 H<sub>2</sub>O  
b) neproběhne, nevzniká ATP (arseničan nahrazuje v reakcích fosfát, ale estery s arseničnanem okamžitě hydrolyzují)  
fruktosa-1,6-bisP + 2 NAD<sup>+</sup> + 2 HAsO<sub>4</sub><sup>2-</sup> + 2 H<sub>2</sub>O → 2 fosfoenolpyruvát + 2 NADH  
+ 2H<sup>+</sup> + 2 HAsO<sub>4</sub><sup>2-</sup> + 2 H<sub>2</sub>O
  9. methylová skupina v obou případech
  10. 0,22 GAP a DHAP, 0,78 mM FBF
  11. mechanismus aldolové kondenzace
  12. odštěpí se jako <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>



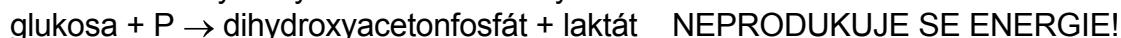
13. C3, C4

14. i) fruktosa-1,6-bisP + ADP → fruktosa-6-P + ATP NEPROBÍHÁ ( $\Delta G^{\circ} = +14,2 \text{ kJ/mol}$ )  
 ve skutečnosti:  
 fruktosa-1,6-bisP + H<sub>2</sub>O → fruktosa-6-P + P FRUKTOSABISFOSFATASA
- ii) glukosa-6-P + ADP → glukosa + ATP NEPROBÍHÁ ( $\Delta G^{\circ} = 16,7 \text{ kJ/mol}$ )  
 ve skutečnosti:  
 glukosa-6-P + H<sub>2</sub>O → glukosa + P GLUKOSA-6-FOSFATASA
- iii) pyruvát + ATP → fosfoenolpyruvát + ADP NEPROBÍHÁ ( $\Delta G^{\circ} = +31 \text{ kJ/mol}$ )  
 ve skutečnosti:  
 a) fosfoenolpyruvátsynthetasa (bakterie)  
 b) pyruvát + ATP + CO<sub>2</sub> → oxalacetát + ADP + P  
 oxalacetát + GTP → fosfoenolpyruvát + GDP + CO<sub>2</sub>

Přes nepříznivé  $\Delta G^{\circ}$  probíhá reakce:



15. hromadí se dihydroxyacetonfosfát dle výsledné bilanční rovnice:

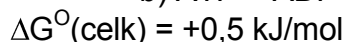
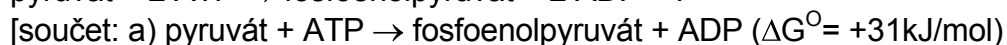


16. LDH srdečního svalu (izoenzym H<sub>4</sub>) je vhodnější pro oxidaci laktátu na pyruvát. Pokud by se zde uplatnila LDH kosterního svalu, mohl by se v srdečním svalu hromadit laktát.

LDH kosterního svalu (izoenzym M<sub>4</sub>) je lépe uzpůsobena pro oxidaci pyruvátu na laktát, což umožňuje kosternímu svalu pracovat na "kyslíkový dluh". Při nedostatku kyslíku se hromadí NADH vznikající při anaerobní glykolýze a likviduje se redukcí pyruvátu na laktát (únava). Svalové buňky předávají laktát do krve, následně může být v játrech přeměněn na glukosu.

17. I) pyruvát + ATP + CO<sub>2</sub> → oxalacetát + ADP + P  
 II) oxalacetát + GTP → fosfoenolpyruvát + CO<sub>2</sub> + GDP

Souhrnná reakce:



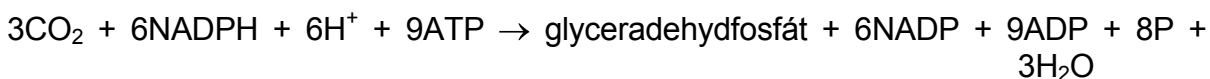
J

1. jedoelektronové: cyt c, cyt b, cyt a, UQ  
 dvoelektronové: NADH  
 $\text{NADH} + \text{H}^+ + \text{UQ} \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{UQH}_2$   
 $\text{UQH}_2 + \text{cyt c (ox)} \rightarrow \text{UQH} \cdot + \text{H}^+ + \text{cyt c (red)}$   
 $\text{UQH}_2 + 2 \text{ cyt c (ox)} \rightarrow \text{UQ} + 2\text{H}^+ + 2 \text{ cyt c (red)}$   
 $\text{cyt c (red)} + \text{cyt b (ox)} \rightarrow \text{cyt c (ox)} + \text{cyt b (red)}$   
 $2 \text{ cyt a (red)} + 1/2 \text{ O}_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow 2 \text{ cyt a (ox)} + \text{H}_2\text{O}$   
 $\text{cyt c (red)} + \text{cyt a (ox)} \rightarrow \text{cyt c (ox)} + \text{cyt a (red)}$

2. Ve vzorci  $\Delta G^{\circ} = -n \cdot F \cdot \Delta E^{\circ}$  se při výpočtu  $\Delta E^{\circ}$  odečítá od redoxního potenciálu složky, která vystupuje na levé straně rovnice v oxidované podobě, redoxní potenciál složky, která je zde v podobě redukována.
- a)  $\text{NADH} + \text{H}^+ + \text{UQ} \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{UQH}_2$   
 $E^{\circ}_{\text{NAD}^+} = -0,32\text{V}$   
 $E^{\circ}_{\text{UQ}} = +0,10\text{V}$   
 $\Delta G^{\circ} = -n \cdot F \cdot \Delta E^{\circ} = -2 \cdot 96500 \cdot (0,10 - (-0,32)) = -81,06 \text{ kJ/mol}$   
 Kryta energetická spotřeba vzniku dvou ATP.
- b) jantaran + UQ → fumarát + UQH<sub>2</sub>  
 $E^{\circ}_{\text{fum}} = 0,031\text{V}$   
 $E^{\circ}_{\text{UQ}} = 0,10\text{V}$   
 $\Delta G^{\circ} = -n \cdot F \cdot \Delta E^{\circ} = -2 \cdot 96500 \cdot (0,10 - 0,031) = -13,317 \text{ kJ/mol}$
- c) 2 cyt b (red) + 2 cyt c (ox) → 2 cyt b (ox) + 2 cyt c (red)  
 $\Delta G^{\circ} = -n \cdot F \cdot \Delta E^{\circ} = -2 \cdot 96500 \cdot (0,235 - 0,03) = -39,57 \text{ kJ/mol}$   
 Kryta energetická spotřeba vzniku jednoho ATP.
- d) 2 cyt c (red) + 1/2 O<sub>2</sub> + 2H<sup>+</sup> → 2 cyt c (ox) + H<sub>2</sub>O  
 $\Delta G^{\circ} = -n \cdot F \cdot \Delta E^{\circ} = -2 \cdot 96500 \cdot (0,816 - 0,235) = -112,13 \text{ kJ/mol}$   
 Kryta energetická spotřeba vzniku tří ATP.
3. a)  $\text{NADH} + 1/2 \text{O}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$   
 $\Delta G^{\circ} = -n \cdot F \cdot \Delta E^{\circ} = -2 \cdot 96500 \cdot (0,816 - (-0,32)) = -219,25 \text{ kJ/mol}$   
 Teoreticky by vzniklo 7,3 molů ATP.
- b)  $\text{NADH} + 2 [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2 [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$   
 $\Delta G^{\circ} = -n \cdot F \cdot \Delta E^{\circ} = -2 \cdot 96500 \cdot (0,36 - (-0,32)) = -131,24 \text{ kJ/mol}$   
 Teoreticky by vzniklo 4,4 molů ATP.
4. jantaran + 2 ADP + 1/2 O<sub>2</sub> → fumaran + 2 ATP + H<sub>2</sub>O + 2P  
 isocitrát + 7 ADP + 7P + O<sub>2</sub> → jantaran + 2 CO<sub>2</sub> + 7 ATP + 2 H<sub>2</sub>O  
 jantaran + 5 ADP + 5P + O<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O → oxalacetát + 5 ATP + 2 H<sub>2</sub>O
5. Antimycin je inhibítozem komplexu III, zasahuje v místě cytochromu bc<sub>1</sub>.
6. fumaran + 3 ADP + 3P + 1/2 O<sub>2</sub> → oxalacetát + 3 ATP + H<sub>2</sub>O  
 2-oxoglutarát + 6 ADP + 6P + O<sub>2</sub> → fumaran + 6 ATP + CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O
7.  $\Delta G^{\circ} = -n \cdot F \cdot \Delta E^{\circ} = -2 \cdot 96500 \cdot (0,03 - (-0,32)) = -67,55 \text{ kJ/mol}$   
 Tato reakce by mohla být využita k syntéze 2,2 molů ATP.

## K

1. souhrnná rovnice pro fotosystém I:  
 $2 \text{PSI}^* (\text{red}) + \text{NADP}^+ + \text{H}^+ \rightarrow 2 \text{PSI} (\text{ox}) + \text{NADPH}$   
 souhrnná rovnice pro fotosystém II:  
 $4 \text{PSII} (\text{ox}) + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 4 \text{PSII} (\text{red}) + \text{O}_2 + 4 \text{H}^+$   
 souhrnná rovnice pro oba fotosystémy:  
 $2 \text{H}_2\text{O} + 2 \text{NADP}^+ \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2 \text{NADPH}$   
 temná fáze fotosyntézy:



2.  $2 \text{ ferredoxin (red)} + \text{NADP} + \text{H}^+ \rightarrow 2 \text{ ferredoxin (ox)} + \text{NADPH}$   
 $\Delta G^\circ = -21 \text{ kJ/mol}$   
 $\Delta E^\circ = 0,106 \text{ V}$
3. na C1 v prvním případě, na C3 ve druhém případě
4. lokalizace: chloroplasty (NADPH) X cytoplazma (NADH)
5.  $2 \text{ fotosystém I (red)} + \text{NADP} + \text{H}^+ \rightarrow 2 \text{ fotosystém I (ox)} + \text{NADPH}$   
 $\Delta E^\circ_{\text{NADP}} = -0,324 \text{ V}$   
základní stav:  
 $\Delta G^\circ = -n \cdot F \cdot \Delta E^\circ = -2 \cdot 96500 \cdot (-0,324 - 0,46)$   
 $\Delta G^\circ = 151,312 \text{ kJ/mol} = -R \cdot T \cdot \ln\left(\frac{[\text{fot I (ox)}]^2 \cdot [\text{NADPH}]}{[\text{fot I (red)}]^2 \cdot [\text{NADP}]}\right)$   
 $\frac{[\text{NADPH}]}{[\text{NADP}]} = 2,995 \cdot 10^{-27}$   
excitovaný stav:  
 $\Delta G^\circ = -n \cdot F \cdot \Delta E^\circ = -2 \cdot 96500 \cdot (-0,324 - (-0,60))$   
 $\Delta G^\circ = -53,268 \text{ kJ/mol} = -R \cdot T \cdot \ln K$   
 $\frac{[\text{fot I (ox)}]^2 \cdot [\text{NADPH}]}{[\text{fot I (red)}]^2 \cdot [\text{NADP}]} = 2,175 \cdot 10^9$   
 $\frac{[\text{NADPH}]}{[\text{NADP}]} = 2,175 \cdot 10^9$
6.  $2 \text{ ferredoxin (red)} + \text{NADP} + \text{H}^+ \rightarrow 2 \text{ ferredoxin (ox)} + \text{NADPH}$   
 $\Delta G^\circ = -n \cdot F \cdot \Delta E^\circ = -2 \cdot 96500 \cdot (-0,324 - (-0,43)) = -20,46 \text{ kJ/mol}$   
 $\Delta G = \Delta G^\circ + R \cdot T \cdot \ln\left(\frac{[\text{ferr(ox)}]^2 \cdot [\text{NADPH}]}{[\text{ferr(red)}]^2 \cdot [\text{NADP}]}\right)$   
 $\Delta G = -20460 + 8,31 \cdot 298 \cdot \ln(100) = -9056 \text{ J/mol} \dots \text{samovolný průběh}$   
poměr v rovnováze:  $\text{ferr(ox)/ferr(red)} = 6,2$   
Redukovaný ferredoxin je schopen redukovat NADP, dokud se poměr  $\text{ferr(ox)/ferr(red)}$  nezmění z 1 na 6,2.
7. diuron zasahuje v místě komplexu  $b_6f$
8. Jedná se o zelené sírné bakterie (rod Chlorobium) patřící mezi obligátně fototrofní organismy. Jsou inhibovány vyšší tenzí  $\text{O}_2$ .  
rovnice fotosyntézy:  $2\text{H}_2\text{S} + \text{CO}_2 \rightarrow \{\text{CH}_2\text{O}\} + \text{H}_2\text{O} + 2\text{S}$ , kde  $\{\text{CH}_2\text{O}\}$  je např.cukr