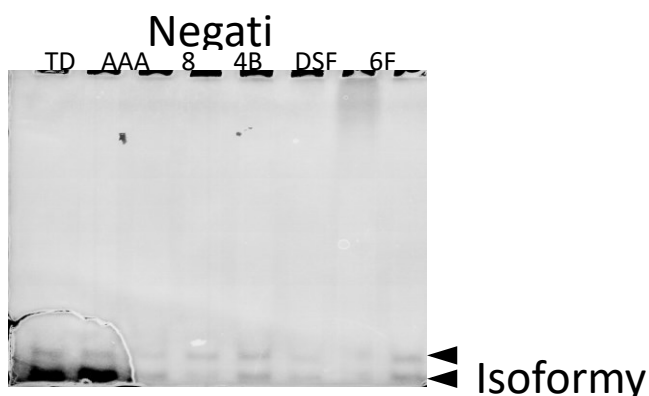
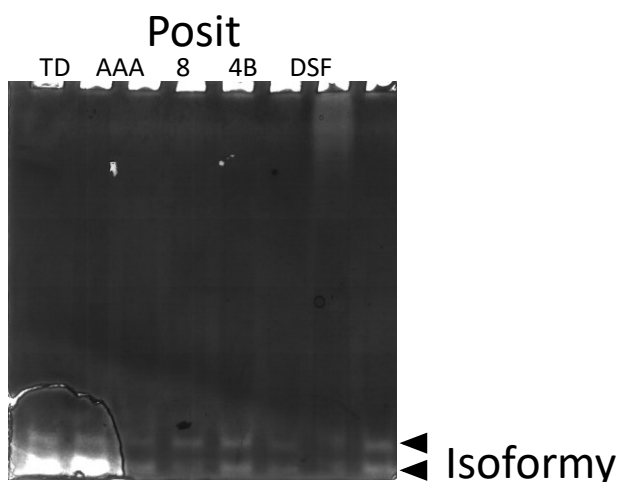


## POKROČILÉ PRAKTIKUM Z BIOCHEMIE

JMÉNO	UČO
Miroslava Velecká	499670
Jan Šimoník	473766

Úloha A: Analýza izoenzymů askorbát peroxidázy (APX) pomocí nativní PAGE a aktivity phenylalanin amoniak-lyasy (PAL)

- Srovnajte změny aktivity APX po aplikaci jednotlivých látek v závislosti na čase. Výsledek zdůvodněte:



- Enzym askorbát peroxidáza (APX) je enzym zodpovědný za detoxifikaci peroxidu vodíku u rostlin. Katalyzuje reakci:  $2 \text{ askorbát} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{ monodehydroaskorbát} + 2 \text{H}_2\text{O}$ . U vzorků infikovaných cryptogeinem můžeme pozorovat pokles aktivity APX z důvodu nekrózy. U ostatních vzorků zůstává aktivita nezměněná, jelikož nedošlo k nasátí petiolou nebo daná látka neměla vliv na aktivitu APX.
- Spočítejte aktivitu PAL v čase 24h po aplikaci neznámého vzorku v pmol/s na mg rostlinného pletiva. Výsledky vynesete do grafu, kde budou srovnány změny aktivity PAL po aplikaci neznámého vzorku s kontrolou (voda). Výsledek zdůvodněte:

D-Phe – kontrola, L-Phe – vznik kyseliny skořicové (nárůst A)

D-Phe	L-Phe
0,866	0,926
0,876	0,956

Rozdíl v Absorbanci L-D

1. 0,06
2. 0,08

Průměr: 0,07

$$c = 0,07 / (9530 \cdot 1)$$

$$c = 7.35 \text{ uM}$$

Někde chyba ve výpočtu, nutno přepočíst a uvést na mg rostlinného materiálu?

Vypočítat aktivitu v kat

$$C_{\text{produkt}} = A \cdot V / (\epsilon \cdot l)$$

$$V_{\text{reakční směs}} = 800 \text{ } \mu\text{l}$$

$$C_{\text{produkt}} = 0,03 / (9530 \cdot 1)$$

$$C_{\text{produkt}} = 3,15 \times 10^{-6} \text{ } \mu\text{mol}/\mu\text{l}$$

$$X_{\text{směs}} = 3,15 \times 10^{-6} \times 800 = 2,52 \times 10^{-3}$$

$$a_{\text{PAL}} = 2,52 \times 10^{-3} / 30 \text{ min} = 8,39 \times 10^{-5} \text{ } \mu\text{mol}/\text{min} = 1,4 \times 10^{-3} \text{ nkat}$$

Aktivita PAL byla po 24 h u našeho vzorku  $1,4 \times 10^{-3}$  nkat. Náš vzorek byla voda. Nemůžeme porovnat s jinými vzorky, jelikož nevíme, jestli i další skupiny neměly jako neznámý vzorek vodu. Hodnota molárního absorpčního koeficientu jsem převzal z:

[https://mdpires.com/d\\_attachment/molecules/molecules-24-04146/article\\_deploy/molecules-24-04146-s001.pdf?version=1573829445](https://mdpires.com/d_attachment/molecules/molecules-24-04146/article_deploy/molecules-24-04146-s001.pdf?version=1573829445)