

OBSAH

ÚVOD

ČÁST VŠEOBECNÁ

I. ZAŘÍZENÍ BIOCHEMICKÝCH LABORATOŘÍ

1. ZÁKLADNÍ VYBAVENÍ (K. Šebesta)	15
2. TERMOREGULACE A KONDICIONOVÁNÍ (K. Šebesta)	16
3. MÍCHÁNÍ A TŘEPÁNÍ (O. Mikeš)	29
4. ČISTOTA ROZPOUŠTĚDEL A CHEMIKÁLIÍ (I. Rychlík)	33
5. MYTÍ LABORATORNÍHO NÁDOBÍ (I. Rychlík)	38

II. ZÁKLADNÍ PRACOVNÍ TECHNIKY

1. MLETÍ A HOMOGENISACE (K. Šebesta)	43
2. FILTRACE A ODSTŘEĐOVÁNÍ (K. Šebesta)	47
3. EXTRAKCE A ROZTŘEPÁVÁNÍ (O. Mikeš)	59
4. DIALYSA A ULTRAFILTRACE (O. Mikeš)	78
5. ODPAŘOVÁNÍ A MRAZOVÁ SUBLIMACE (O. Mikeš)	88
6. ADSORPCE (O. Mikeš)	97
7. CHROMATOGRAFIE (O. Mikeš)	101
8. MĚNIČE IONTŮ (O. Mikeš)	119
9. ELEKTROMIGRACE (B. Keil)	132
10. MECHANISACE A AUTOMATISACE LABORATORNÍCH PRACÍ (O. Mikeš)	150

III. FYSIKÁLNĚ CHEMICKÉ METODY

1. ZÁSADY PRÁCE S PŘÍSTROJI (O. Knessl)	163
2. MĚŘENÍ TEPLoty (L. Matoušek)	164
3. MĚŘENÍ pH (L. Matoušek)	171
4. MĚŘENÍ VODIVOSTI (O. Knessl)	184
5. POLAROGRAFIE (L. Matoušek)	186
6. SPEKTRÁLNÍ FOTOMETRIE A KOLORIMETRIE (O. Knessl)	187

7. POLARIMETRIE (O. Knessl)	192
8. REFRAKTOMETRIE (B. Sedláček)	193
9. MĚŘENÍ POVRCHOVÉHO NAPĚTÍ (O. Knessl)	195
10. STANOVENÍ DIFUSNÍ KONSTANTY (L. Matoušek)	198
11. ELEKTROFORESA (L. Matoušek)	199
12. VISKOSIMETRIE (L. Matoušek).....	205
13. OSMOMETRIE (B. Sedláček)	209
14. SEDIMENTAČNÍ ANALÝSA (B. Sedláček)	211
15. ROZPTYL SVĚTLA (B. Sedláček)	213
16. ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE (P. Bartl)	215
17. JINÉ METODY VÝZKUMU MAKROMOLEKULÁRNÍCH LÁTEK (B. Sedláček)	218

IV. MANOMETRICKÉ A DIFUSNÍ METODY (A. Kleinzeller)

1. WARBURGŮV MANOMETRICKÝ PŘÍSTROJ A JEHO POUŽITÍ.....	223
2. VAN SLYKEŮV MANOMETRICKÝ PŘÍSTROJ A JEHO POUŽITÍ.....	246
3. THUNBERGOVA TECHNIKA	249
4. MIKRODIFUSE A JEJÍ ANALYTICKÉ POUŽITÍ	254

V. METODY PRÁCE S ISOTOPY

1. TEORETICKÝ ÚVOD (L. Matoušek)	265
2. POUŽITÍ ISOTOPŮ V BIOCHEMII (D. Grünberger)	277
3. ISOTOP C ¹⁴ (D. Grünberger)	285
4. ISOTOP S ³⁵ (D. Grünberger)	290
5. ISOTOP P ³² (D. Grünberger)	292
6. AUTORADIOGRAFIE (D. Grünberger).....	293

VI. ZPRACOVÁNÍ POKUSNÝCH DAT

1. ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ (O. Knessl)	301
2. CHYBY MĚŘENÍ (O. Knessl)	302
3. GRAFICKÉ ZNÁZORNĚNÍ VÝSLEDKŮ (O. Knessl)	303
4. VÝZNAMNOST VÝSLEDKŮ (STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ) (B. Keil)..	303

ČÁST SPECIÁLNÍ

VII. VLASTNOSTI BÍLKOVIN A NUKLEOVÝCH KYSELIN

1. VLASTNOSTI BÍLKOVIN (B. Keil)	311
2. VLASTNOSTI NUKLEOVÝCH KYSELIN (Z. Šormová)	330

VII

Vlastnosti bílkovin a nukleových kyselin

1. VLASTNOSTI BÍLKOVIN (B. Keil)	311
1.1. Klasifikace bílkovin	312
1.2. Chemická stavba bílkovin	315
1.3. Ionisace aminokyselin a bílkovin	321
1.4. Denaturace a asociace	323
1.5. Interakce bílkovin s ionty, hydratace, vysolování	325
1.6. Optické vlastnosti aminokyselin a bílkovin	327
2. VLASTNOSTI NUKLEOVÝCH KYSELIN (Z. Šormová)	330
2.1. Základní složky	331
2.2. Nukleosidy a nukleotidy	332
2.3. Nukleové kyseliny	336
2.4. Nukleoproteidy	337
2.5. Optické vlastnosti nukleových kyselin a jejich složek	338
2.6. Vlastnosti polymerních nukleových kyselin	342

VIII

Příprava některých biochemických preparátů

1. AMINOKYSELINY A PEPTIDY (O. Mikeš)	347
1.1. Přehled isolačních technik pro aminokyseliny	347
1.2. Přípravy jednotlivých aminokyselin	353
1.3. Štěpení racemátů na optické antipody	355
1.4. Enzymatická syntéza L-aminokyselin	355
1.5. Isolace peptidů z částečných hydrolyrátů bílkovin	356
1.6. Isolace přirozených peptidů	358
2. BÍLKOVINY (B. Keil)	360
2.1. Sledování průběhu čištění	361
2.1.1. Metody založené na specifické aktivitě	361
2.1.2. Metody fyzikálně chemické a chemické	362
2.2. Odstranění nebílkovinných složek směsi	363
2.2.1. Nízkomolekulární příměsi	363
2.2.2. Vysokomolekulární příměsi	364
2.2.3. Voda	364
2.3. Frakcionace změnou teploty a selektivní denaturací	365
2.4. Frakcionace změnou pH nebo koncentrace iontů	367
2.4.1. Volba anorganické soli	367
2.4.2. Příklady použití	370
2.5. Frakcionace organickými rozpouštědly (D. Grünberger)	374
2.5.1. Princip dělení	374
2.5.2. Výhody alkoholové frakcionace	375
2.5.3. Vývoj pracovních postupů	376
2.5.4. „Šestá“ Cohnova metoda	376
2.5.5. Další metody frakcionace	379
2.6. Frakcionace vytvořením sraženiny bílkoviny s jinou složkou (B. Keil)	381
2.7. Frakcionace chromatografické a protiproudé	382
2.8. Preparativní ultracentrifugace	384
2.9. Frakcionace v elektrickém poli	385
2.10. Krystalisace bílkovin	386
2.10.1. Typy krystalisace	386
2.10.2. Základní pracovní technika	388
2.10.3. Speciální techniky a přechovávání preparátů	391
3. SACHARIDY (A. Kleinzeller)	397
3.1. Přehled příprav	397

3.2. Kyselina dehydroaskorbová	397
3.3. Methylglyoxal	399
3.4. Jiné jednoduché cukry a jejich deriváty	400
3.5. Glykogen	400
3.6. Nízkomolekulární a vysokomolekulární amylosa	401
3.7. Amylopektin	401
4. FOSFORYLOVANÉ CUKRY (J. Černá)	402
4.1. Fosforylované hexosy	402
4.2. Fosforylované pentosy	408
4.3. Jiné fosforylované cukry	412
5. NUKLEOTIDY (Z. Šormová)	415
6. NUKLEOPROTEIDY A NUKLEOVÉ KYSELINY (Z. Šormová)	417
6.1. Desoxyribonukleoproteidy	418
6.2. Desoxyribonukleové kyseliny	419
6.3. Ribonukleoproteidy	424
6.4. Ribonukleové kyseliny	425
7. KOENZYMY (D. Grünberger)	428
7.1. Přehled příprav	428
7.2. Difosfopyridin nukleotid	429
7.3. Trifosfopyridin nukleotid	431
7.4. Koenzym A	432
8. LIPIDY A JEJICH SLOŽKY (A. Kleinzeller)	434
8.1. Kyselina linolová	434
8.2. Glyceridy	436
8.3. Lecitin	436
8.4. Serinové a ethanolaminové kefaliny	437
8.5. Krevní lipoproteidy	438
9. POMOCNÉ LÁTKY (K. Šebesta)	439
9.1. Ninhydrin	439
9.2. 2,4-Dinitrofluorbenzen	440
9.3. Fenoltaleinfosfát	441
9.4. p-Nitrofenylfosforečnan sodný	442
9.5. Sodná sůl kyseliny monojodoctové	442
9.6. Kys. o-jodosobenzoová	443
9.7. Trifenyltetrazoliumchlorid	443
9.8. Čištění kyseliny 1,2,4-aminonaftolsulfonové (eikonogenu)	444
9.9. Kyslíčnk hlinitý pro adsorpční chromatografii	444
9.10. Hydroxyd hlinitý C_7	444
9.11. Gel fosforečnanu vápenatého	445
9.12. Čištění práškové celulosy pro chromatografické účely	445
9.13. Silikagel	445
9.14. Aktivní uhlí	446

IX

Analytická stanovení

1. ZÁKLADNÍ PRVKY A IONTY (B. Keil, A. Kleinzeller)	451
1.1. Kvalitativní informace	451
1.2. Stanovení uhlíku, vodíku a síry	452
1.3. Stanovení dusíku a amoniaku	453
1.4. Stanovení fosforu	454
1.5. Stanovení anorganických iontů	456
1.5.1. Zpopelnění a způsoby extrakce anorganických iontů z biologického materiálu	456
1.5.2. Kationty	456
1.5.3. Anionty	457
2. AMINOKYSELINY (V. Tomášek)	460
2.1. Hydrolysa peptidické vazby	461
2.1.1. Kyselá hydrolysa	461
2.1.2. Alkalická hydrolysa	463
2.1.3. Racemisace aminokyselin	463
2.2. Primární standard a rutinní metody	464
2.3. Metody isotopické	465
2.3.1. Metoda zředování isotopů	465
2.3.2. Metoda isotopických derivátů	465
2.4. Metody enzymatické	467
2.5. Metody mikrobiologické	469
2.6. Metody chromatografické	469
2.6.1. Chromatografie papírová	469
2.6.2. Chromatografie sloupcová	475
2.7. Metody srážecí	477
2.8. Metody kolorimetrické	478
2.9. Stanovení hydroxyaminokyselin oxydací kyselinou jodistou	480
2.10. Aplikace na jednotlivé aminokyseliny	482
2.11. Uvádění výsledků analys	486
3. BÍLKOVINY (V. Tomášek)	488
3.1. Analýsa na základě stanovení prvků	489
3.2. Analýsa na základě stanovení specifických skupin	490
3.2.1. Folinovo reagens	490
3.2.2. Biuretová reakce	491
3.3. Stanovení váhy bílkoviny	491
3.4. Stanovení vlhkosti a popele	492

4. CUKRY A JEJICH DERIVÁTY (A. Kleinzeller)	493
4.1. Stanovení redukujících cukrů	493
4.2. Stanovení zkvasitelných cukrů	497
4.3. Specifické analytické metody	497
4.4. Stanovení po předchozím chromatografickém oddělení na papíře	499
4.5. Analytické metody pro polysacharidy	501
5. FOSFORYLOVANÉ CUKRY (J. Černá)	504
5.1. Frakcionace fosforylovaných sloučenin	504
5.2. Specifické metody stanovení	505
5.3. Papírová chromatografie	506
5.4. Papírová elektroforesa	508
5.5. Chromatografie na měničích iontů	509
6. SLOŽKY NUKLEOVÝCH KYSELIN (Z. Šormová)	511
6.1. Štěpení nukleových kyselin	511
6.1.1. Hydrolysa kyseliny desoxyribonukleové pro kvantitativní stanovení basí	512
6.1.2. Enzymatická hydrolysa kyseliny desoxyribonukleové	513
6.1.3. Kyselá hydrolysa kyseliny ribonukleové	515
6.1.4. Alkalická hydrolysa kyseliny ribonukleové	515
6.1.5. Enzymatická hydrolysa kyseliny ribonukleové	516
6.2. Dělení basí, nukleosidů a nukleotidů chromatografií na papíře	516
6.2.1. Detekce purinů a pyrimidinů a jejich derivátů na chromatogramu	517
6.2.2. Systémy rozpouštědel	519
6.2.3. Chromatografie cukrů	524
6.3. Elektroforesa složek nukleových kyselin na papíře	525
6.4. Chromatografie složek nukleových kyselin na měničích iontů	529
6.5. Metody stanovení kyseliny adenosintrifosforečné	532
7. NUKLEOVÉ KYSELINY (Z. Šormová)	537
7.1. Analytické sledování čistoty	537
7.2. Barevné reakce cukerné složky	538
7.3. Dělení a stanovení nukleových kyselin v tkáních	539
8. KOENZYMY (D. Grünberger)	542
8.1. Přehled metod	542
8.2. Difosfopyridinnukleotid	543
8.3. Trifosfopyridinnukleotid	544
8.4. Koenzym A	545
9. LIPIDY (A. Kleinzeller)	547
9.1. Extrakce lipidů z biologického materiálu	547
9.2. Základní charakteristika lipidů	549
9.3. Mastné kyseliny	551
9.4. Triglyceridy	552
9.5. Fosfolipidy a jiné složené lipidy	553
9.6. Analytické metody pro ostatní lipidické složky	555
9.7. Frakcionace lipidického materiálu	555

10. NĚKTERÉ JEDNODUCHÉ METABOLITY (D. Grünberger)	558
10.1. Přehled metod	558
10.2. Kyselina mléčná	558
10.3. Ketokyseliny	559
10.4. Kyselina citronová	560

X

Metody zjišťování struktury a obměňování bílkovin

B. Keil

1. ZJIŠŤOVÁNÍ STRUKTURY	565
1.1. Základní předpoklady pro zjišťování struktury	565
1.2. Metody stanovení N-koncových skupin	566
1.2.1. Přehled metod	567
1.2.2. Dinitrofenylační technika	573
1.2.3. Fenylothiohydantoinová technika	577
1.3. Metody stanovení C-koncových skupin	579
1.4. Zjištění jiných skupin	585
1.4.1. Stanovení kyselých a basických skupin	585
1.4.2. Stanovení SH-skupin	585
1.4.3. Stanovení neobvyklých vazeb kyseliny glutamové a isoglutaminu	586
1.5. Degradace nehydrolytické	586
1.6. Degradace hydrolytické	588
1.6.1. Stanovení stupně štěpení	589
1.6.2. Kyselá hydrolyza	590
1.6.3. Enzymatická hydrolyza	591
1.6.4. Jiné způsoby štěpení peptidické vazby	592
1.7. Dělení peptidů	594
1.8. Identifikace peptidů	603
2. OBMĚŇOVÁNÍ BÍLKOVIN	611
2.1. Vytvoření nových vlastností	611
2.2. Přehled typů chemických reakcí, použitelných pro bílkoviny	611
2.3. Enzymatické obměňování bílkovin	618

XI

Enzymatická aktivita

I. Rychlík

1. ZÁKLADNÍ POJMY	625
1.1. Katalytická funkce enzymu	625
1.2. Specifita	625
1.3. Aktivita	625
1.4. Rychlost reakce	626
1.5. Specifická aktivita	627
1.6. Celková aktivita	627
2. ZJIŠŤOVÁNÍ OPTIMÁLNÍCH PODMÍNEK MĚŘENÍ AKTIVITY	627
2.1. Volba analytické metody	627
2.2. Teplota	629
2.3. Vliv pH na činnost enzymu	630
2.4. pH a stálost enzymu	631
2.5. Množství enzymu	632
2.6. Koncentrace substrátu	632
2.7. Množství aktivátoru resp. koenzymu	633
3. OBECNÉ PRINCIPY MĚŘENÍ AKTIVITY	634
3.1. Charakteristické vlastnosti reakcí, katalysovaných enzymy	634
3.2. Dvojí způsob měření aktivity enzymů	635
3.3. Typy kinetiky enzymatických reakcí	635
3.4. Stanovení kinetiky reakce	637
3.5. Reakce nultého řádu	637
3.6. Reakce prvního řádu	639
3.7. Reakce kineticky neurčité	642
3.8. Štěpení substrátu do určitého stupně	642
4. NĚKTERÉ PROBLÉMY STANOVENÍ AKTIVITY ENZYMŮ V TKÁNÍCH	643
4.1. Pojem skutečné a maximální aktivity enzymu	644
4.2. Vliv výběru materiálu	644
4.3. Vliv anatomické stavby a funkčního stavu orgánu	645
4.4. Relativnost výpočtu	646
4.5. Nádorová tkáň	647
5. ZPŮSOBY A PŘÍKLADY STANOVENÍ ENZYMATICKÝCH AKTIVIT	648
5.1. Uspořádání pokusu	648
5.2. Příklad stanovení optimálního pH a optimální teploty amylasy	649
5.2.1. Optimální pH pro aktivitu	650

5.2.2. Optimální pH pro stálost enzymu (amylasy)	650
5.2.3. Optimální teplota	650
5.3. Příklad stanovení optimálního množství enzymu	650
5.4. Kolorimetrické stanovení aktivity	651
5.4.1. Příklad uspořádání měření (proteasy)	651
5.4.2. Stanovení aktivity pepsinu	652
5.4.3. Stanovení aktivity trypsinu a chymotrypsinu	653
5.4.4. Stanovení aktivity amylasy	655
5.5. Titrační metody	656
5.5.1. Průběžná potenciometrická titrace (stanovení esterasové aktivity proteas)	656
5.5.2. Prostá titrace (stanovení aktivity peptidas)	656
5.6. Chromatografické metody (stanovení aktivity transaminas)	657
5.7. Manometrické metody (stanovení aktivity transaminas specifickým enzymem) ..	658
5.8. Viskosimetrické metody (stanovení aktivity amylasy)	659
5.9. Stanovení úbytku substrátu	660
5.9.1. Stanovení amylasové aktivity podle Wohlgemuta	660
5.9.2. Stanovení amylasové aktivity podle Smitha a Roeca	661
5.10. Speciální metody	662
5.10.1 Stanovení aktivity dehydrogenas v buněčných suspensích	662
5.10.2. Stanovení chymasové aktivity	663

XII

Technika práce s buněčnou strukturou

J. Říman

1. TKÁŇOVÉ ŘEZY	669
2. BUNĚČNÉ SUSPENSE	672
3. TKÁŇOVÉ HOMOGENÁTY	675
3.1. Principy homogenace.....	675
3.2. Hodnocení homogenátu.....	676
3.3. Rostlinný homogenát	677
3.4. Mikrobiální homogenát	678
4. DEFINOVANÉ BUNĚČNÉ STRUKTURÁLNÍ FRAKCE	680
4.1. Obecné připomínky k izolaci buněčných součástí	680
4.2. Základní typy buněčných částí	681
4.3. Isolace buněčných součástí z jater diferenciálním odstředěním spojeným s gradientovou technikou	682
4.3.1. Základní pracovní postup	682
4.3.2. Isolace mikrosomat.....	684
4.3.3. Isolace jadérek	684
4.3.4. Isolace sekretorických granul	684
4.3.5. Poznámky k odstředovací technice	684
4.4. Isolace jader ve vodných prostředích	686
4.5. Isolace jader v nevodných prostředích Behrensovou technikou	687
4.6. Isolace rostlinných mitochondrií	688
4.7. Isolace chloroplastů	688
4.8. Isolace součástí bakteriálních buněk.....	689
4.9. Identifikace buněčných struktur	691
4.9.1. Pozorování morfologická	691
4.9.2. Pozorování biochemická	693
4.9.3. Pozorování biologická	694
4.10 Kvantitativní hodnocení izolovaných frakcí	694
5. ODŠTĚPOVÁNÍ ENZYMŮ OD BUNĚČNÝCH STRUKTUR	695
6. TKÁŇOVÉ KAŠE.....	698

VIII. PŘÍPRAVA NĚKTERÝCH BIOCHEMICKÝCH PREPARÁTŮ

1. AMINOKYSELINY A PEPTIDY (O. Mikeš).....	347
2. BÍLKOVINY (B. Keil, D. Grünberger)	360
3. SACHARIDY (A. Kleinzeller)	397
4. FOSFORYLOVANÉ CUKRY (J. Černá).....	402
5. NUKLEOTIDY (Z. Šormová).....	415
6. NUKLEOPROTEIDY A NUKLEOVÉ KYSELINY (Z. Šormová)	417
7. KOENZYMY (D. Grünberger)	428
8. LIPIDY A JEJICH SLOŽKY (A. Kleinzeller)	434
9. POMOCNÉ LÁTKY (K. Šebesta).....	439

IX. ANALYTICKÁ STANOVENÍ

1. ZÁKLADNÍ PRVKY A IONTY (A. Kleinzeller, B. Keil)	451
2. AMINOKYSELINY (V. Tomášek).....	460
3. BÍLKOVINY (V. Tomášek)	488
4. CUKRY A JEJICH DERIVÁTY (A. Kleinzeller).....	493
5. FOSFORYLOVANÉ CUKRY (J. Černá).....	504
6. SLOŽKY NUKLEOVÝCH KYSELIN (Z. Šormová)	511
7. NUKLEOVÉ KYSELINY (Z. Šormová)	537
8. KOENZYMY (D. Grünberger)	542
9. LIPIDY (A. Kleinzeller)	547
10. NĚKTERÉ JEDNODUCHÉ METABOLITY (D. Grünberger).....	558

X. METODY ZJIŠŤOVÁNÍ STRUKTURY A OBMĚŇOVÁNÍ BÍLKOVIN (B. Keil)

1. ZJIŠŤOVÁNÍ STRUKTURY	565
2. OBMĚŇOVÁNÍ BÍLKOVIN	611

XI. ENZYMATICKÁ AKTIVITA (I. Rychlík)

1. ZÁKLADNÍ POJMY.....	625
2. ZJIŠŤOVÁNÍ OPTIMÁLNÍCH PODMÍNEK MĚŘENÍ AKTIVITY	627
3. OBECNÉ PRINCIPY MĚŘENÍ AKTIVITY	634
4. NĚKTERÉ PROBLÉMY STANOVENÍ AKTIVITY ENZYMŮ V TKÁNÍCH	643
5. ZPŮSOBY A PŘÍKLADY STANOVENÍ ENZYMATICKÝCH AKTIVIT	648

XII. TECHNIKA PRÁCE S BUNĚČNÝMI ČÁSTICEMI (J. Říman)

1. TKÁŇOVÉ ŘEZY.....	669
2. BUNĚČNÉ SUSPENSE	672

XIII

Jiné metody biochemického výzkumu

1. SLEDOVÁNÍ LOKALISACE ENZYMŮ (J. Říman)	705
1.1. Příprava tkáně	705
1.2. Průkaz enzymů oxydativních	707
1.3. Průkaz enzymů hydrolytických	710
2. MIKROBIOLOGICKÉ METODY (D. Grünberger).....	718
2.1. Všeobecné metody	718
2.1.1. Příprava a výběr půdy	719
2.1.2. Oddělení bakterií od půdy.....	719
2.1.3. Sterilisace	719
2.1.4. Kultivace mikroorganismů	720
2.1.5. Měření množství bakterií	721
2.2. Technika enzymatické adaptace	721
2.2.1. Přímá adaptace	722
2.2.2. Simultánní adaptace.....	723
2.2.3. Nepřímá adaptace.....	724
2.2.4. Adaptace klidovými buňkami.....	724
2.2.5. Vliv některých látek na tvorbu adaptivních enzymů	725
3. IMUNOCHEMICKÉ TESTY (B. Keil).....	726
4. KONSERVACE BIOCHEMICKÝCH PREPARÁTŮ (I. Rychlík)	733
4.1. Ochrana chladem	733
4.2. Sterilisace varem	734
4.3. Sterilisace bakteriálními filtry	734
4.4. Konzervační činidla	734
4.5. Preparáty sušené na vzduchu	736
4.6. Acetonová sušina	736
4.7. Uchovávání preparátů pod nasyceným roztokem solí	737
4.8. Vysušený filtrační koláč	737
4.9. Mrazová sublimace.....	738

3. TKÁŇOVÉ HOMOGENÁTY	675
4. DEFINOVANÉ BUNĚČNÉ STRUKTURÁLNÍ FRAKCE	680
5. ODŠTĚPOVÁNÍ ENZYMŮ OD BUNĚČNÝCH STRUKTUR	695
6. TKÁŇOVÁ KAŠE	698

XIII. JINÉ METODY BIOCHEMICKÉHO VÝZKUMU

1. SLEDOVÁNÍ LOKALISACE ENZYMŮ (J. Říman)	705
2. MIKROBIOLOGICKÉ METODY (D. Grünberger)	718
3. IMUNOCHEMICKÉ TESTY (B. Keil)	726
4. KONSERVACE BIOCHEMICKÝCH PREPARÁTŮ (I. Rychlík)	733

XIV. TABULKY PUFRŮ (L. Matoušek)	739
----------------------------------------	-----

XV. TABULKY PŘÍPRAV BÍLKOVIN (B. Keil, I. Rychlík)	749
----------------------------------------------------------	-----

XVI. TABULKY ZÁKLADNÍCH FYSIKÁLNĚ CHEMICKÝCH KONSTANT BÍLKOVIN (B. Sedláček)	781
---------------------------------------------------------------------------------------	-----

XVII. TABULKY SLOŽENÍ BÍLKOVINNÝCH HYDROLYSÁTŮ (V. Tomášek)	807
----------------------------------------------------------------------	-----

VĚCNÝ REJSTRÍK	837
----------------------	-----

I

Zařízení biochemických laboratoří

1. ZÁKLADNÍ VYBAVENÍ (K. Šebesta).....	15
2. TERMOREGULACE A KONDICIONOVÁNÍ (K. Šebesta)	16
2.1. Chladicí technika	17
2.2. Termoregulace	21
2.2.1. Konstrukce termoregulačního zařízení	21
2.2.2. Přesnost termoregulace	24
2.2.3. Používané přístroje	25
2.3. Kondicionování	26
2.3.1. Termostatisace	26
2.3.2. Konstantní vlhkost	27
2.3.3. Konstantní osvětlení	27
3. MÍCHÁNÍ A TŘEPÁNÍ (O. Mikeš)	29
3.1. Míchání	29
3.2. Třepání	31
4. ČISTOTA ROZPOUŠTĚDEL A CHEMIKÁLIÍ (I. Rychlík)	33
4.1. Destilovaná a bezpyrogenní voda	33
4.1.1. Destilace	33
4.1.2. Redestilovaná voda	34
4.1.3. Destilovaná voda prostá kyslíčnicku uhličitého	35
4.1.4. Bezpyrogenní voda	35
4.1.5. Čištěná voda pomocí měničů iontů	35
4.2. Odstranění iontů	36
4.2.1. Destilovaná voda	36
4.2.2. Nádobí	36
4.2.3. Chemikálie.....	36
5. MYTÍ LABORATORNÍHO NÁDOBÍ (I. Rychlík)	38
5.1. Fosforečnanový mycí roztok	38
5.2. Chromsírová směs	39
5.3. Kyselina dusičná a ěpavek	39
5.4. Mytí skleněných filtrů	39
5.5. Čištění gumových předmětů	40

III

Fyzikálně chemické metody

1. ZÁSADY PRÁCE S PŘÍSTROJI (O. Knessl)	163
2. MĚŘENÍ TEPLOTY (L. Matoušek)	164
2.1. Teploměry	164
2.2. Stanovení bodu tání	167
2.3. Kryoskopie	169
2.4. Stanovení bodu varu a destilační křivky	170
3. MĚŘENÍ pH (L. Matoušek)	171
3.1. Stanovení pH roztoku	173
3.1.1. Kolorimetrické stanovení pH	173
3.1.2. Stanovení pH z rozdílů potenciálů	178
3.2. Potenciometrická titrace	183
4. MĚŘENÍ VODIVOSTI (O. Knessl)	184
5. POLAROGRAFIE (L. Matoušek)	186
6. SPEKTRÁLNÍ FOTOMETRIE A KOLORIMETRIE (O. Knessl)	187
6.1. Způsob měření spektrální křivky	189
6.2. Spektrofotometrické stanovení koncentrace roztoku	190
6.2.1. Volba vlnové délky	190
6.2.2. Určení kalibrační křivky	191
6.2.3. Zdroje chyb	191
6.2.4. Stanovení dvou látek ve směsi	191
7. POLARIMETRIE (O. Knessl)	192
8. REFRAKTOMETRIE (B. Sedláček)	193
9. MĚŘENÍ POVRCHOVÉHO NAPĚTÍ (O. Knessl)	195
9.1. Metody elevační	196
9.2. Metody kapkové	196
9.3. Tensometrická metoda	197
9.4. Metoda maximálního tlaku bublin	198
10. STANOVENÍ DIFUSNÍ KONSTANTY (L. Matoušek)	198

11. ELEKTROFORESA (L. Matoušek)	199
11.1. Elektroforesa volná	200
11.1.1. Optický záznam	201
11.1.2. Vyhodnocení výsledků	203
11.2. Elektroforesa v nosiči	204
12. VISKOSIMETRIE (L. Matoušek).....	205
13. OSMOMETRIE (B. Sedláček).....	209
14. SEDIMENTAČNÍ ANALÝSA (B. Sedláček).....	211
15. ROZPTYL SVĚTLA (B. Sedláček).....	213
16. ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE (P. Bartl).....	215
17. JINÉ FYSIKÁLNĚ CHEMICKÉ METODY VÝZKUMU MAKROMOLEKULÁRNÍCH LÁTEK (B. Sedláček).....	218

IV

Manometrické a difusní metody

A. Kleinzeller

1. WARBURGŮV MANOMETRICKÝ PŘÍSTROJ A JEHO POUŽITÍ	223
1.1. Popis přístroje	223
1.2. Kalibrace manometrů	225
1.3. Výpočet výměny plynů	225
1.4. Thermobarometr	226
1.5. Výměna plynných fází v manometru	227
1.6. Měření spotřeby kyslíku přímou metodou	228
1.7. Měření tvorby CO ₂ za anaerobních podmínek	229
1.8. Měření respiračního kvocientu přímou metodou	230
1.9. Nepřímá Warburgova metoda ke stanovení <i>RQ</i>	233
1.10. Citlivost manometrických metod	233
1.11. Použití manometrických metod	235
1.12. Manometrické analytické metody	240
2. VAN SLYKEŮV MANOMETRICKÝ PŘÍSTROJ A JEHO POUŽITÍ	246
2.1. Popis přístroje	246
2.2. Technika práce	247
2.3. Přesnost a citlivost	248
2.4. Přehled analytických metod	248
3. THUNBERGOVA TECHNIKA	249
3.1. Popis zařízení	250
3.2. Pracovní postup	250
3.3. Teorie měření kinetiky dehydrogenačních pochodů	251
3.4. Použití barviv jako akceptorů	252
3.5. Měření hydrogenační aktivity	254
4. MIKRODIFUSE A JEJÍ ANALYTICKÉ POUŽITÍ	254
4.1. Princip a teorie	254
4.2. Popis zařízení	255
4.3. Pracovní postup	256
4.4. Analytické použití	260

V

Metody práce s isotopy

1. TEORETICKÝ ÚVOD (L. Matoušek)	265
1.1. Druhy záření a jednotky	266
1.2. Absorpce a geometrie	269
1.3. Metody registrace	274
2. POUŽITÍ ISOTOPŮ V BIOCHEMII (D. Grünberger)	277
2.1. Zařízení laboratoře	277
2.2. Všeobecná pravidla práce s isotopy	279
2.3. Mytí nádobí a rukou	280
2.4. Příprava vzorků pro měření	281
2.5. Vyjádření výsledků měření	284
3. ISOTOP C ¹⁴	285
3.1. Obory použití	285
3.2. Měření C ¹⁴	286
3.2.1. Metoda srážení CO ₂ ve formě BaCO ₃	286
3.2.2. Měření CO ₂ v plynné fázi	289
4. ISOTOP S ³⁵	290
4.1. Obory použití	290
4.2. Měření S ³⁵	290
5. ISOTOP P ³²	292
5.1. Obory použití	292
5.2. Měření P ³²	292
6. AUTORADIOGRAFIE	293
6.1. Způsoby provedení	294
6.2. Papírová chromatografie	295

VI

Zpracování pokusných dat

1. ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ (O. Knessl)	301
2. CHYBY MĚŘENÍ	302
3. GRAFICKÉ ZNÁZORŇOVÁNÍ VÝSLEDKŮ	303
4. VÝZNAMNOST VÝSLEDKŮ (STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ) (B. Keil)	303