

---

# Obsah

Seznam autorů	7
Seznam zkratk	8
<b>I Morfologie mikroorganismů</b>	<b>11</b>
1 Obecná struktura mikroorganismů (J. Ludvík)	13
2 Světelná mikroskopie (E. Streiblová)	30
3 Elektronová mikroskopie (J. Ludvík)	54
Literatura	100
<b>II Kultivace mikroorganismů</b>	<b>105</b>
1 Růst a množení (B. Sikyta, M. Novák)	106
2 Kultivační zařízení (B. Sikyta)	131
3 Sterilizace živných půd a kultivačních zařízení (V. Vinter)	154
Literatura	164
<b>III Chemická charakteristika buňky</b>	<b>167</b>
1 Chemické složení buňky (J. Chaloupka)	169
2 Dezintegrace buňky a izolace složek (J. Chaloupka, K. Mikulík)	173
3 Izolace nukleových kyselin (P. Tichý, K. Mikulík)	193
4 Frakcionace a analýza bílkovin (K. Mikulík)	202
5 Bakteriální polysacharidy (J. Hofman)	253
Literatura	270
<b>IV Enzymy v mikrobiologické praxi (J. Chaloupka)</b>	<b>275</b>
1 Obecné vlastnosti enzymů	276
2 Určení aktivity enzymů	282
3 Purifikace enzymů	293
4 Charakteristika enzymů	300
5 Prakticky významné enzymy	309
Literatura	321
<b>V Metabolismus u mikroorganismů (J. Spížek)</b>	<b>325</b>
1 Úvod	327
2 Intaktní buňky a bezbuněčné preparáty	331
3 Auxotrofní mutanty	334
4 Izotopy	337

5	Manometrické metody (A. Kotyk)	349
6	Chromatografické metody (M. Wurst)	356
7	Identifikace mikrobiálních metabolitů (P. Sedmera)	401
	Literatura	417
<b>VI</b>	<b>Genetika bakterií</b>	<b>421</b>
1	Úvod (J. Hubáček)	422
2	Mutageneze (J. Koníček, M. Koníčková-Radochová)	423
3	Transformace († M. Šrogl, P. Tichý)	434
4	Konjugace a sex-faktory (J. Hubáček)	445
5	Bakteriofág a transdukce (K. Čejka)	455
	Literatura	462
	Rejstřík mikroorganismů	465
	Rejstřík enzymů	468
	Rejstřík sloučenin	471
	Rejstřík věcný	476

---

# VI Genetika bakterií

1 Úvod (J. Hubáček)	422
2 Mutagenese (J. Koniček, M. Koničková-Radochová)	423
2.1 Stanovení letálního účinku mutagenu	425
2.2 Indukce mutací a izolace mutantů	427
2.3 Zhotovení replikační mapy	429
2.4 Testování mutačních účinků	432
3 Transformace († M. Šrogl, P. Tichý)	434
3.1 Úvod	434
3.2 Transformační systém <i>Bacillus subtilis</i>	437
3.3 Bakteriální transfekce	439
3.4 Transformace <i>Escherichia coli</i>	441
3.5 Využití transformace	443
4 Konjugace a sex-faktory (J. Hubáček)	445
4.1 Způsob existence faktoru F v buňce	445
4.2 Mechanismus konjugace	447
4.3 Gradientní přenos chromosomu	448
4.4 Faktory F-prime (F') a komplementační analýza	451
4.5 Faktory R	452
4.6 Kolicinogenie	453
5 Bakteriofág a transdukce (K. Čejka)	455
5.1 Pomnožení a titrace fága	455
5.2 Lysogenie	458
5.3 Transdukce	459
5.4 Restrikce a modifikace	460
Literatura	462

---

# I Morfologie mikroorganismů

I	Obecná struktura mikroorganismů (J. Ludvík)	13
1.1	Viry	13
1.2	Bakteriociny	17
1.3	Mykoplasmy	17
1.4	Rickettsie	17
1.5	Bakterie	18
1.5.1	Metody morfologického studia	19
1.5.2	Ultrastruktura bakterií	19
1.6	Aktinomycety	24
1.7	Spirochety	24
1.8	Sinice	24
1.9	Eukaryonty	25
2	Světelná mikroskopie (E. Streiblová)	30
2.1	Úvod	30
2.2	Základní pojmy	32
2.3	Světelný mikroskop	36
2.3.1	Konstrukce a vznik obrazu	37
2.3.2	Numerická apertura a rozlišovací schopnost mikroskopu	37
2.3.3	Prospěšné zvětšení	38
2.3.4	Objektivy	39
2.3.5	Okuláry	40
2.3.6	Kondenzory	40
2.3.7	Osvětlení a seřízení mikroskopu	41
2.4	Speciální metody	43
2.4.1	Fázově kontrastní mikroskopie	43
2.4.2	Interferenční mikroskopie	45
2.4.3	Mikroskopie v temném poli	46
2.4.4	Polarizační mikroskopie	47
2.4.5	Fluorescenční mikroskopie	49
2.4.6	Infračervená a ultrafialová mikroskopie	51
2.5	Měření a počítání buněk	52
2.5.1	Měření buněk okulárovým mikrometrem	52
2.5.2	Počítání buněk v suspenzi	53
3	Elektronová mikroskopie (J. Ludvík)	54
3.1	Transmisní elektronový mikroskop	54
3.2	Podmínky optimálního provozu elektronového mikroskopu	56

3.2.1	Seřizování mikroskopu	56
3.2.2	Kontrola chodu mikroskopu	56
3.2.3	Rušivé vlivy okolí a jejich odstranění	56
3.2.4	Závady při mikroskopování	57
3.2.5	Určení zvětšení	58
3.2.6	Zaostřování elektronoptického obrazu	59
3.2.7	Fotografické snímkování	59
3.3	Příprava nosných blanek	60
3.3.1	Nosné sítky	60
3.3.2	Kolodiové blanky	60
3.3.3	Formvarové blanky	61
3.3.4	Uhlíkové blanky	62
3.3.5	Blanky s otvory	63
3.4	Totální preparáty mikroorganismů	63
3.4.1	Nanášení buněk na nosnou blanku kapáním	63
3.4.2	Nanášení buněk na nosnou blanku rozprašováním	64
3.4.3	Snímání mikroorganismů s povrchu kultur na nosnou blanku	64
3.4.4	Kultivace jednovrstevných kultur na nosných semipermeabilních blankách	65
3.4.5	Příprava virových preparátů adsorpcí virových partikulí na červené krvinky	65
3.4.6	Příprava preparátů molekul DNA	65
3.4.7	Negativní barvení	66
3.5	Vakuové napařování kovů a uhlíku	67
3.5.1	Napařování nosných blanek	67
3.5.2	Stínování totálních preparátů	68
3.6	Příprava otisků	68
3.7	Mrazové leptání	70
3.8	Ultratenké řezy	70
3.8.1	Fixace biologických objektů	71
3.8.2	Praní a odvodňování	79
3.8.3	Zalévání do umělých pryskyřic	80
3.8.4	Polymerace	85
3.8.5	Příprava bločků	85
3.8.6	Ultramikrotom	86
3.8.7	Ultratenké řezání	88
3.8.8	Barvení ultratenkých řezů	89
3.8.9	Řezání a barvení kontrolních polotených řezů	91
3.8.10	Kryoultramikrotomie	93
3.9	Ultracytochemické reakce	93
3.9.1	Reakce na polysacharidy	94
3.9.2	Detekce enzymů	95
3.9.3	Značení protilátek	97
3.10	Elektronmikroskopická autoradiografie	98
3.11	Rastrovací elektronový mikroskop	99
3.11.1	Příprava preparátů	100
	Literatura	100

---

## II Kultivace mikroorganismů

1	Růst a množení (B. Sikyta, M. Novák)	106
1.1	Úvod	106
1.2	Metody měření	107
1.3	Jednorázová kultivace	108
1.3.1	Růstová křivka	108
1.3.2	Změny v průběhu růstu	112
1.3.3	Specifická růstová rychlost	116
1.4	Kontinuální kultivace	117
1.4.1	Vícestupňová kontinuální kultivace	120
1.4.2	Ustálené stavy	120
1.4.3	Přechodové a neustálené stavy	121
1.5	Kinetické modely	123
1.5.1	Rozdělení kinetických modelů	124
1.5.2	Nestruturní deterministické modely	124
1.5.3	Struturní modely	130
2	Kultivační zařízení (B. Sikyta)	131
2.1	Laboratorní měřítko	131
2.1.1	Kultivační baňky	132
2.1.2	Třepací stroje	135
2.1.3	Laboratorní fermentační tanky	137
2.2	Poloprovozní měřítko	143
2.2.1	Kritéria zachování sterilních podmínek	144
2.2.2	Poloprovozní fermentační tanky	146
2.2.3	Komerčně vyráběné tanky	147
2.3	Speciální kultivační zařízení	149
2.3.1	Přístroje pro kontinuální kultivaci	149
2.3.2	Zařízení pro povrchovou kultivaci	153
3	Sterilizace živných půd a kultivačních zařízení (V. Vinter)	154
3.1	Obecné pojmy	154
3.2	Citlivost mikroorganismů vůči sterilizaci	155
3.3	Teorie sterilizace parou	157
3.4	Sterilizace teplem	158
3.5	Sterilizace filtrací	160
3.6	Sterilizace ozářením	161
3.7	Sterilizace chemickými prostředky	163
	Literatura	164

---

# III Chemická charakteristika buňky

1	Chemické složení buňky (J. Chaloupka)	169
2	Dezintegrace buňky a izolace složek (J. Chaloupka, K. Mikulík)	173
2.1	Dezintegrace buňky	173
2.1.1	Extrakce periplasmových bílkovin	173
2.1.2	Zvýšení permeability buněk	174
2.1.3	Dezintegrace ultrazvukem	175
2.1.4	Roztírání s abrasivy a mechanická dezintegrace	175
2.1.5	Příprava protoplastů a sféroplastů	176
2.1.6	Diferenciální centrifugace buněčných homogenátů	178
2.2	Izolace stěn	178
2.3	Izolace membrán a mesosomů	180
2.3.1	Izolace membrán	180
2.3.2	Izolace mesosomů	182
2.3.3	Izolace vakuol	182
2.4	Izolace jader	183
2.5	Izolace polysomů a ribosomů	185
2.5.1	Izolace polysomů	185
2.5.2	Identifikace polysomů	186
2.5.3	Izolace ribosomů	187
2.5.4	Purifikace ribosomů	187
2.5.5	Izolace ribosomálních podjednotek 30 S a 50 S	188
2.5.6	Základní funkční charakteristika ribosomů	189
2.5.7	Izolace ribosomálních bílkovin	190
2.6	Izolace mitochondrií	191
2.7	Postribosomální supernatant	192
3	Izolace nukleových kyselin	193
3.1	Izolace DNA (P. Tichý)	193
3.1.1	Izolace bakteriální DNA	193
3.1.2	Izolace fágové DNA	195
3.1.3	Izolace mitochondriální DNA	196
3.1.4	Stanovení koncentrace DNA	196
3.2	Izolace a frakcionace RNA (K. Mikulík)	196
3.2.1	Inhibitory aktivity ribonukleas	197
3.2.2	Izolace RNA z buněk a organel	198
3.2.3	Purifikace RNA	200

4	Frakcionace a analýza bílkovin (K. Mikulík)	202
4.1	Úvod	202
4.2	Diferenciální precipitace bílkovin	205
4.2.1	Frakcionace neutrálními solemi	205
4.2.2	Frakcionace organickými rozpouštědly	207
4.3	Separace ve dvoufázovém systému	208
4.4	Chromatografie bílkovin	212
4.4.1	Iontově výměnná chromatografie	212
4.4.2	Gelová chromatografie	216
4.4.3	Afinitní chromatografie	223
4.4.4	Chromatografie na hydroxyapatitu	226
4.5	Elektroforesa (J. Spížek)	227
4.5.1	Úvod	227
4.5.2	Elektroforesa v polyakrylamidovém gelu	228
4.5.3	Výběr gelového systému	230
4.5.4	Elektroforetické systémy	231
4.5.5	Technika elektroforesy	232
4.5.6	Dvourozměrná elektroforesa	240
4.6	Izoelektrická fokusace (J. Spížek)	241
4.6.1	Princip metody	241
4.6.2	Metodika izoelektrické fokusace	242
4.7	Stanovení bílkovin	247
4.7.1	Absorbance v ultrafialovém světle	249
4.7.2	Stanovení Folinových reagens	250
4.7.3	Biuretová metoda	251
5	Bakteriální polysacharidy (J. Hofman)	253
5.1	Klasifikace polysacharidů	253
5.2	Fyzikální a chemické vlastnosti	254
5.2.1	Lipopolysacharidy	255
5.2.2	Kapsulární polysacharidy	258
5.2.3	Peptidoglykany	260
5.2.4	Teichoové kyseliny	261
5.2.5	C-Polysacharid	262
5.3	Izolace polysacharidů	263
5.3.1	Extrakce trichloroctovou kyselinou	263
5.3.2	Extrakce směsí fenol—voda	264
5.3.3	Extrakce směsí fenol—chloroform—petrolether	264
5.3.4	Kyselá a alkalická extrakce	265
5.3.5	Izolace kapsulárních polysacharidů	265
5.3.6	Extrakce teichoových kyselin	266
5.4	Stanovení polysacharidů	267
5.4.1	Stanovení pomocí fenolu a sírové kyseliny	268
5.4.2	Stanovení redukcujících cukrů	268
5.4.3	Stanovení volných hydroxylových skupin	269
5.4.4	Stanovení heptos	269
	Literatura	270



---

# IV Enzymy v mikrobiologické praxi (J. Chaloupka)

1	Obecné vlastnosti enzymů	276
1.1	Třídění enzymů	276
1.2	Získávání enzymů	277
1.3	Syntéza enzymů	278
2	Určení aktivity enzymů	282
2.1	Důkaz přítomnosti enzymů	282
2.2	Stanovení enzymů	283
2.2.1	Stanovení enzymové aktivity	283
2.2.2	Automatizace stanovení enzymové aktivity	287
2.2.3	Přímé stanovení enzymů	287
2.3	Cytochemie enzymů	288
3	Purifikace enzymů	293
4	Charakteristika enzymů	300
5	Prakticky významné enzymy	309
5.1	Oxidoreduktasy	309
5.2	Transferasy	311
5.3	Hydrolasy	314
5.3.1	Esterasy a lipasy	314
5.3.2	Fosfatasy a nukleasy	315
5.3.3	Hydrolasy glykosidů	316
5.3.4	Proteasy a peptidasy	318
5.3.5	Amidasy	321
	Literatura	321

---

# V Metabolismus u mikroorganismů

## (J. Spížek)

1	Úvod	327
1.1	Katabolické, anabolické a amfibolické dráhy	328
1.2	Energetický cyklus v buňkách	329
2	Intaktní buňky a bezbuněčné preparáty	331
3	Auxotrofní mutanty	334
4	Izotopy	337
4.1	Změny izotopového značení	337
4.2	Izotopová kompetice	338
4.3	Pulsové značení	339
4.4	Biosyntéza makromolekul	340
4.5	Specifická distribuce atomů	342
4.6	Radiorespirometrické metody	342
4.7	Detekce a měření radioaktivity	343
4.7.1	Autoradiografie	343
4.7.2	Ionizační metody	344
4.7.3	Kapalně scintilační měření	345
5	Manometrické metody (A. Kotyk)	349
5.1	Příprava nádobek a manometrů	350
5.2	Výpočet konstanty nádobky	351
5.3	Měření metabolických kvocientů	352
6	Chromatografické metody (M. Wurst)	356
6.1	Úvod	359
6.2	Rozdělení chromatografických metod	359
6.3	Základy chromatografického dělení	361
6.3.1	Adsorpce	361
6.3.2	Rozdělovací mechanismus	362
6.3.3	Iontová výměna (chemisorpce)	362
6.3.4	Mechanický postup gelem	363
6.4	Plynová chromatografie	364
6.4.1	Základní pojmy	364
6.4.2	Teorie chromatografického děje	366
6.4.3	Technika plynové chromatografie	367
6.4.4	Kvalitativní analýza	374
6.4.5	Kvantitativní analýza	376

6.4.6	Použití plynové chromatografie	382
6.5	Vysokoučinná kapalinová chromatografie	386
6.5.1	Teoretické základy	386
6.5.2	Technika vysokoučinné kapalinové chromatografie	390
6.5.3	Přístrojové zařízení	392
6.5.4	Použití kapalinové chromatografie	400
7	Identifikace mikrobiálních metabolitů (P. Sedmera)	401
7.1	Úvod	401
7.2	Formulace úlohy	402
7.3	Spektroskopické metody	402
7.3.1	Difrakce paprsků X	404
7.3.2	Ultrafialová a viditelná oblast	404
7.3.3	Chirooptické metody	405
7.3.4	Infračervená spektroskopie	406
7.3.5	Hmotnostní spektroskopie	407
7.3.6	Jaderná magnetická rezonance	410
7.4	Postup odvození struktury	415
	Literatura	417