

OBSAH

Laboratorní řád.....	9
Bezpečnost práce v chemické laboratoři.....	10
První pomoc při nehodě.....	11
1. Aminokyseliny	
1.1. Identifikace aminokyselin (<i>Peč</i>).....	14
1.2. Dělení směsi aminokyselin chromatografickými metodami.....	21
1.2.1. Dělení směsi aminokyselin na iontoměničích.....	23
1.2.2. Dělení směsi aminokyselin chromatografií na tenké vrstvě silikagelu.....	24
2. Proteiny	
2.1. Stanovení celkových proteinů (<i>Peč</i>).....	26
2.2. Stanovení relativní molekulové hmotnosti bílkovin metodou diskontinuální elektroforézy v polyakrylamidovém gelu (<i>Luhová</i>).....	38
2.3. Isoelektrická fokusace (<i>Luhová</i>).....	43
2.4. Chemické modifikace proteinů (<i>Šebela</i>).....	47
2.5. Izolace a vlastnosti cytochromu c (<i>Peč</i>).....	52
2.6. Gelová chromatografie barevného derivátu albuminu (<i>Šebela, Luhová</i>).....	58
3. Enzymy	
3.1. Izolace aminoxidasy ze semenáčků hrachu (<i>Peč, Luhová</i>).....	62
3.2. Kinetické studium enzymů.....	66
3.2.1. Amylasy (<i>Luhová</i>).....	66
3.2.1.1. Aktivita diastasy.....	69
3.2.1.2. Substrátová specifita α -amylasy a sacharasy.....	70
3.2.1.3. Optimální pH enzymové reakce α -amylasy.....	71
3.2.1.4. Teplotní optimum enzymové reakce sacharasy.....	72

3.2.2.	Aminoxidasa (<i>Peč, Luhová</i>).....	75
3.2.2.1.	Michaelisova konstanta interakce hrachové aminoxidasy s putrescinem.....	75
3.2.2.2.	Inhibitory aminoxidasy.....	75
3.2.3.	Alkoholdehydrogenasa (<i>Šebela</i>).....	84
3.2.3.1.	Izolace rostlinné alkoholdehydrogenasy	87
3.2.3.2.	Aktivita alkoholdehydrogenasy, substrátová specifita enzymu.....	88
3.2.3.3.	Michaelisova konstanta pro ethanol a NAD ⁺	89
3.2.4.	Proteolytické enzymy (<i>Šebela</i>).....	92
4.	Aplikace enzymů	
4.1.	Stanovení močoviny enzymovou reakcí s ureasou (<i>Zajoncová</i>).....	100
4.1.1.	Metoda využívající volný enzym.....	101
4.1.2.	Metoda využívající imobilizovanou ureasu.....	102
4.2.	Stanovení glukosy enzymovou elektrodou s glukosaoxidase (<i>Zajoncová</i>)..	103
5.	Lipidy	
5.1.	Chemické vlastnosti lipidů (<i>Šebela</i>).....	108
5.1.1.	Preparace lipidových frakcí z vaječného žloutku.....	112
5.1.2.	Identifikace lipidů.....	113
5.1.3.	Enzymová hydrolýza lecithinu fosfolipasou D	115
5.2.	Stanovení lipofilních listových barviv a jejich rozdělení adsorbční chromatografií (<i>Šebela</i>).....	119
6.	Sacharidy	
6.1.	Chemické vlastnosti sacharidů (<i>Šebela</i>).....	124
6.1.1.	Kvalitativní reakce sacharidů.....	129
6.1.2.	Papírová chromatografie sacharidů v kruhovém uspořádání	135
6.2.	Spektrofotometrické stanovení glykogenu ve tkáních (<i>Šebela</i>).....	138

7.	Nukleové kyseliny	
7.1.	Izolace DNA a RNA, identifikace složek nukleových kyselin (<i>Frébert</i>).....	142
7.2.	Izolace plasmidové DNA z <i>Escherichia coli</i> a její elektroforéza v agarosovém gelu (<i>Frébert</i>).....	147
8.	Speciální úlohy	
8.1	Imunochemické metody.....	152
8.1.1.	Dvojitá radiální imunodifúze podle Ouchterlonyho (<i>Zajoncová</i>).....	153
8.1.2.	Střetná (protisměrná) imunoelektroforéza (<i>Zajoncová</i>).....	156
8.1.3.	Raketová imunoelektroforéza (<i>Zajoncová</i>).....	158
8.2.	Chemiluminiscenční stanovení enzymově generovaného peroxidu vodíku (<i>Frébert</i>).....	161
8.3.	Světlem indukovaný transport protonů a fosforylace v chloroplastech (<i>Frébert</i>).....	165
	Příprava činidel a roztoků.....	170
	Použitá literatura.....	173