

Obsah

	str.
Předmluva	2
1 Separáční techniky biomakromolekul	
1.1 Úvod	3
1.2 Klasické metody purifikace bílkovin	4
1.2.1 Frakcionace bílkovin na základě rozdílů v rozpustnosti	4
1.2.2 Metody frakcionace bílkovin založené na rozdílné stabilitě	6
1.2.3 Purifikace bílkovin interakcí se specifickými srážedly	7
1.2.4 Purifikace bílkovin pomocí adsorbentů	7
1.3 Extrakce bílkovin dvoufázovým systémem	8
1.4 Membránové procesy - dialýza, reversní osmóza, ultrafiltrace	11
1.5 Chromatografické metody	16
1.5.1 Chromatografie na měničích iontů	16
1.5.2 Chromatofokusace	28
1.5.3 Gelová permeační chromatografie	32
1.5.4 Bioafinitní chromatografie	44
1.5.4.1 Chromatografie na sorbentech s vázanými barvivy	55
1.5.4.2 Chromatografie na nosičích s kovy	58
1.5.4.3 Chromatografie s přenosem náboje	60
1.5.4.4 Kovalentní chromatografie	60
1.5.4.5 Chromatografie založená na použití heterobifunkčních afinitních ligandů	62
1.5.4.6 Chromatografie s hydrofobní interakcí	62
1.5.4.7 Další aplikace afinitních ligandů	65
1.5.5 Chromatografie s reverzní fází	67
1.5.6 Experimentální technika chromatografie	69
1.5.7 Vysokotlaká a středotlaká kapalinová chromatografie	73
1.6 Elektroforetické metody	76
1.6.1 Volná elektroforéza	77
1.6.2 Elektroforéza na nosičích	77
1.6.2.1 Elektroforéza v polyakrylamidovém gelu	77
1.6.2.2 Elektroforéza v polyakrylovém gelu s dodecylsulfátem sodným	79
1.6.2.3 Elektroforéza v gradientovém gelu	79
1.6.3 Izoelektrická fokusace	80
1.6.4 Dvojrozměrná elektroforéza	81
1.6.5 Isotachoforéza	83
1.6.6 Imunoelektroforéza	83
1.6.7 Afinitní elektroforéza	84
1.7 Odsolování roztoků bílkovin	84
1.8 Strategie a taktika biochemické purifikace	85
2 Zdroje enzymů	
2.1 Živočišné a rostlinné zdroje enzymů	89
2.2 Mikrobiální zdroje enzymů	90
3 Izolace enzymů	
3.1 Úvod	92
3.2 Separace buněk z kultivačního media	93
3.3 Uvolňování intracelulárních enzymů z buněk	93

3.4	Zahušťování enzymového extraktu	99
3.5	Purifikace enzymů	100
3.6	Koncentrace enzymových preparátů a jejich konečná úprava	102
3.7	Kriteria čistoty enzymových preparátů	102
4	Stabilizace enzymů	
4.1	Úvod	105
4.1.1	Faktory ovlivňující stabilitu enzymů	105
4.2	Stabilita enzymů vůči jednotlivým faktorům vnějšího prostředí ...	107
4.3	Mechanismus stabilizace enzymů	110
4.4	Kvantitativní hodnocení stabilizace enzymů	110
4.5	Stabilizace enzymů nekovalentními interakcemi	112
4.6	Stabilizace enzymů jejich chemickou modifikací	113
4.6.1	Zvýšení stability enzymů prokřížením jejich molekuly bi- a vícefunkčními činidly,	117
4.6.2	Zvýšení stability enzymů tvorbou glykoproteinů	120
4.6.3	Stabilizace enzymů rozvinutím a opětným svinutím jejich globulí	121
4.7	Zvýšení stability enzymů jejich imobilizací	122
4.7.1	Stabilizace enzymů - pravá a zdánlivá	123
4.7.2	Stabilizace enzymů jejich sorpcí na nerozpustné nosiče ...	124
4.7.3	Stabilizace enzymů jejich zabudováním do matrice gelu	124
4.7.4	Stabilizace enzymů jejich kovalentní vazbou na nerozpustné nosiče	125
4.8	Stabilizace enzymů pro použití v biodetergentech	126
4.8.1	Enzymy a biodetergenty	126
4.8.2	Enzymy používané v biodetergentech	126
4.8.3	Možnosti stabilizace enzymu v tekutých biodetergentech ...	128
4.9	Ilustrativní příklady různých metod stabilizace enzymů	129