

I. MATERIÁL A ZÁKLADNÍ POMOCNÉ METHODY . . . . .	9
A. Pokusný objekt . . . . .	9
B. Pomocné metody . . . . .	11
AA. Základní pomocné metody mikroskopické . . . . .	11
1. Mikromanipulace . . . . .	12
2. Desintegrace tkáně . . . . .	13
3. Zmrazovací mikrotomie . . . . .	16
4. Fixace . . . . .	17
5. Řezání fixovaných a zalitých objektů . . . . .	22
6. Mikroskopie preparátů . . . . .	25
Zástinová mikroskopie 26 - Fluorescenční mikroskopie 26 - Infračervená mikro-	
skopie 26 - Fázový kontrast 27 - Elektronová mikroskopie . . . . .	28
7. Kreslení a fotografování mikroskopických obrazů . . . . .	30
BB. Pomocné metody chemické . . . . .	32
1. Isolační metody . . . . .	32
Získávání výtažků 32 - Zahušťování 33 - Sublimace 34 - Krystalisace 34 - Chro-	
matografie 35 - Destilace . . . . .	35
2. Pomocné analytické metody . . . . .	36
Titrační způsoby 36 - Fotometrie 37 - Kvantitativní stanovení dusíku . . . . .	39
a) Stanovení celkového dusíku Kjeldahlovou mikromethodou 39 - b) Mikrostan-	
ovení dusíku v tkáňových řezech . . . . .	40
CC. Pomocné metody fyzikální a fyzikálně chemické . . . . .	41
1. Zjišťování viskosity . . . . .	41
2. Polarisační analyza . . . . .	42
3. Roentgenová spektrografie a měření difrakce . . . . .	44
4. Zjišťování koncentrace vodíkových iontů . . . . .	45
5. Polarografie a elektroforesa . . . . .	47
II. ZKOUMÁNÍ TVAROVÝCH VLASTNOSTÍ A SKLADEBNÝCH SOUČÁSTÍ	
BUŇKY BARVENÍ . . . . .	48
1. Vitální barvení . . . . .	48
2. Znázornění jádra . . . . .	51
3. Jadérko . . . . .	54
4. Centriol . . . . .	54
5. Chromosomy . . . . .	54
6. Chondriom . . . . .	55
7. Golgiho aparát . . . . .	56
8. Cytoplasma . . . . .	56
9. Metaplastické součásti . . . . .	58
10. Bičíky a řasinky . . . . .	59
11. Vyšetřování kultur buněk in vitro barvením . . . . .	59



III. ZKOUMÁNÍ LÁTKOVÉ SKLADBY BUŇKY . . . . .	61
A. Vyšetřování chemickými reakcemi pod mikroskopem . . . . .	61
1. Průkazy neústrojných látek . . . . .	61
2. Průkazy ústrojných sloučenin . . . . .	64
a) Polysacharidy 64 - b) Lipidy 65 - c) Nukleové kyseliny 67 - d) Jiné organické látky . . . . .	67
B. Vyšetřování enzymoreakcemi pod mikroskopem . . . . .	70
1. Oxydasy . . . . .	70
2. Hydrolasy . . . . .	71
C. Mikroincinerace . . . . .	75
D. Mikrochemické reakce . . . . .	76
E. Mikroenzymologické reakce . . . . .	78
F. Frakcionace buněk . . . . .	79
V. KULTIVAČNÍ METHODY VÝZKUMU BUŇKY . . . . .	88
A. Všeobecné podmínky . . . . .	89
1. Pomůcky . . . . .	90
2. Nástroje a drobné potřeby . . . . .	92
3. Živý materiál . . . . .	95
4. Přípravné práce . . . . .	96
B. Kapkové a baňkové kultury buněk . . . . .	105
1. Sklíčkové kultury ve visuté kape . . . . .	105
2. Baňkové kultury buněk . . . . .	113
a) Kultivace v Carrelových baničkách 113 - b) Kultivace v Erlenmeyerových baňkách 115 - c) Kultury buněk v rotujících zkoumavkách . . . . .	115
3. Kultivace buněk na blanách . . . . .	118
a) Kultivace na perforovaném celofánu 118 - b) Kultivace na polyvinyl-formalu . . . . .	119
4. Preparace homogenních kmenů a kvantitativní kultivace . . . . .	121
a) Preparace homogenního kmene buněk 122 - b) Kvantitativní kultivace . . . . .	123
5. Kultivace v syntetických mediích . . . . .	124
a) Polosyntetická media 124 - b) Kultivace v plně syntetickém mediu . . . . .	127
6. Organotypická kultivace . . . . .	128
a) Kultivace předního laloku infantilní krysí hypofyzy 129 - b) Kultivace corpus pineale infantilní krysí 130 - c) Kultivace lidské parathyreoidey 130 - d) Kultivace nadledvinek infantilní krysí 131 - e) Kultivace ovarii a testes infantilní krysí 132 - f) Kultivace lidského ovaria 132 - g) Kultivace kosti . . . . .	132
7. Kultivace buněk pro účely elektronové mikroskopie . . . . .	133
V. ZKOUMÁNÍ BUNĚČNÉHO METABOLISMU . . . . .	138
A. Kvantitativní zkoumání buněčných oxygenací . . . . .	139
1. Měření buněčného dýchání Warburgovou methodou . . . . .	139
2. Měření buněčného dýchání gasometrickou mikromethodou . . . . .	143
3. Stanovení spotřeby O <sub>2</sub> a výdeje CO <sub>2</sub> Warburgovou methodou . . . . .	147
B. Kvantitativní zkoumání buněčných dehydrogenací . . . . .	148
1. Zjišťování kapacity donátorů . . . . .	148
2. Zjišťování účinnosti enzymokatalytického systému . . . . .	149
C. Zjišťování oxydoredukčního potenciálu buněk . . . . .	150
D. Měření anaerobní glykolysy Warburgovou methodou . . . . .	152



E. Zkoumání metabolismu nukleinových látek . . . . .	153
1. Kvantitativní chemická analýza nukleinových kyselin . . . . .	154
a) Stanovení nukleinových kyselin methodou Schneiderovou 154 - b) Stanovení nukleinových kyselin methodou v. Eulerovou 155 - c) Stanovení DNK podle Stumpfa 157 - d) Stanovení PNK za přítomnosti DNK Discheovou methodou . . . . .	157
2. Kvalitativní cytologické průkazy nukleinových látek v buňkách . . . . .	158
a) Feulgenova reakce 158 - b) Kvalitativní průkaz PNK a DNK reakcí Unnovou-Pappenheimovou 159 - c) Kvalitativní průkaz PNK a DNK v buňkách methodou Turchiniho 160 - d) Kvalitativní průkaz PNK v buňkách methodou Brachetovou . . . . .	161
3. Kvantitativní zkoumání nukleinových kyselin v buňkách . . . . .	162
4. Chromatografická analýza mononukleotidů a nukleotidových basí . . . . .	163
F. Zkoumání buněčného metabolismu pomocí radioaktivních izotopů . . . . .	165
1. Radioaktivní materiál . . . . .	166
2. Ochranná opatření . . . . .	168
3. Měření radioaktivity . . . . .	169
4. Kvantitativní zjišťování metabolismu buněčných kultur pomocí izotopů . . . . .	172
5. Radioautografie . . . . .	174
6. Kvantitativní zkoumání intracelulární distribuce izotopů technikou frakcionace buněk . . . . .	177
7. Zkoumání celulárního metabolismu měřením radioaktivity látkových isolátů z buněčných frakcí . . . . .	179
8. Zkoumání metabolismu nukleinových látek isotopovou technikou . . . . .	181
 VI. ZKOUMÁNÍ MORFOLOGICKÝCH PROJEVŮ BUNĚČNÉ ČINNOSTI . . . . .	 183
A. Zkoumání činnosti buněk statistikou velikosti jader (karyometrie) . . . . .	184
B. Zjišťování nukleoplasmatického poměru . . . . .	188
C. Hodnocení činnosti žlázových buněk stanovením množství kapének sekretu . . . . .	189
D. Pomocné metody pro posuzování stupně buněčné činnosti . . . . .	189
 VII. ZKOUMÁNÍ BUNĚČNÉHO RŮSTU . . . . .	 193
A. Zkoumání mitosy . . . . .	193
1. Statistika v řezech . . . . .	194
2. Statistika v kulturách . . . . .	195
3. Dynamické studium v kulturách . . . . .	195
4. Mitotický index . . . . .	196
B. Měření velikosti růstu . . . . .	196
1. Měření plošných přírůstků kultur . . . . .	196
2. Zjišťování růstu kultur analýzou počtu jader . . . . .	197
3. Měření růstu analýzou nukleových kyselin . . . . .	197
a) Stanovení nukleotidového fosforu v kulturách z rotujících zkoumavek 198 - b) Mikroanalýza PNK a DNK 198 - c) Mikroanalýza PNK a DNK podle Steela 200 - d) Mikroanalytická modifikace Hullova 202 - e) Mikroanalytická modifikace Dackermannova 203 - f) Mikromodifikace metody v. Eulerovy . . . . .	203
 VIII. ZKOUMÁNÍ PATHOLOGICKÝCH ZMĚN, STÁRNUTÍ A SMRTI BUŇKY . . . . .	 205
A. Zkoumání změn působených látkovými vlivy . . . . .	206
1. Výzkum pomocí kapkových kultur . . . . .	206



2. Kultivace v perfusní komůrce . . . . .	208
B. Výzkum pathologického bujení . . . . .	209
C. Výzkum růstu intracelulárních protozoí a virů . . . . .	212
D. Zkoumání vzniku buněk, buněčného stárnutí a smrti . . . . .	213
Nárazníkové roztoky — příloha tabulek . . . . .	217
Literatura . . . . .	219
Věcný rejstřík . . . . .	232
Seznam vyobrazení . . . . .	241