

# OBSAH

## KAPITOLA I. (A. KLEINZELLER):

Úvod . . . . .	7
----------------	---

## KAPITOLA II. (J. MÁLEK):

Warburgův manometrický přístroj, jeho theorie a technika jeho použití . . . . .	9
1. Základní typy respirometrů . . . . .	9
2. Warburgův přístroj (jeho princip a theorie, thermobarometr) . . . . .	10
3. Význam některých fyzikálních faktorů při výpočtu konstanty a při měření . . . . .	17
4. Kalibrace přístroje (popis, výpočet konstant, nomogramy) . . . . .	21
5. Manometrické kapaliny . . . . .	33
6. Plyny a plynné směsi (anaerobní podmínky, příprava plynných směsí a výměna plynných fází) . . . . .	35
7. Technika práce s Warburgovým přístrojem . . . . .	41
8. Konstrukční detaily Warburgova přístroje a jeho modifikace . . . . .	48
Literatura . . . . .	53

## KAPITOLA III. (J. MÁLEK):

Metody měření Warburgovým manometrem . . . . .	55
1. Úvod . . . . .	55
2. Přímá metoda (měření $O_2$ a $CO_2$ ) . . . . .	56
3. Nepřímá metoda Warburgova . . . . .	67
4. První metoda Dickensova a Šimerova . . . . .	75
5. Druhá metoda Dickensova a Šimerova . . . . .	78
Literatura . . . . .	84

## KAPITOLA IV. (J. MÁLEK):

Diferenciální manometry a jejich použití . . . . .	85
1. Barcroftův manometr (popis, theorie, kalibrace) . . . . .	85
2. Dixonova-Keilinova metoda . . . . .	92
3. Dickensův-Grevillův manometr a jeho použití . . . . .	95
4. Summersonův manometr a jeho použití . . . . .	97
5. Fennův respirometr . . . . .	99
6. Přístroj Laserův a Rothschildův . . . . .	100
Literatura . . . . .	101

## KAPITOLA V. (J. MÁLEK):

Respirometry s konstantním tlakem (volumetrické) . . . . .	102
Literatura . . . . .	107

## KAPITOLA VI. (J. MÁLEK):

Mikrorespirometry a srovnání citlivosti metod . . . . .	109
1. Volumetrické mikrorespirometry . . . . .	110
2. Manometrické mikrorespirometry . . . . .	113
3. Krátké srovnání metod a jejich citlivosti . . . . .	118
Literatura . . . . .	120

Van Slykeův manometrický přístroj a jeho použití . . . . .	122
1. Popis přístroje a pracovní technika . . . . .	122
2. Současné stanovení CO <sub>2</sub> a O <sub>2</sub> v 1 ml krve . . . . .	129
3. Stanovení CO <sub>2</sub> v respiračním vzduchu isolační metodou . . . . .	134
4. Stanovení α-aminodusíku . . . . .	138
5. Stanovení uhlíku v organických látkách . . . . .	144
6. Stanovení různých látek (odkazy na literaturu) . . . . .	148
Literatura . . . . .	149

## Část I.

Stručný nástin theorie pufrů, jejich příprava a použití v biochemickém experimentu . . . . .	151
--	-----

1. Úvod . . . . .	151
2. Dissociace kyselin a zásad. Pojem silných a slabých kyselin. Pojem pH a výpočet pH. . . . .	152
3. Pufrы, výklad jejich činnosti a výpočet jejich pH . . . . .	159
4. Popis nejběžnějších pufrů . . . . .	163
5. Návodы k přípravě pufrů . . . . .	165
6. Poznámky k aplikaci pufrů v biochemickém experimentu . . . . .	172

## Část II.

Bikarbonátové pufrы . . . . .	178
-------------------------------	-----

1. Pojem bikarbonátových pufrů . . . . .	178
2. Hendersonova-Hasselbalchova rovnice pro bikarbonátové pufrы . . . . .	178
3. Praktické příklady použití Hendersonovy-Hasselbalchovy rovnice . . . . .	180
4. Pojem retence CO <sub>2</sub> . . . . .	182
5. Empirické stanovení retence přímou metodou . . . . .	184
6. Empirické stanovení retenční schopnosti media . . . . .	185
7. Použití bikarbonátového pufru pro měření anaerobní glykolysy . . . . .	186
8. Pojem retence kyselin . . . . .	187
9. Empirická kalibrace manometrických nádobek na retenci kyselin . . . . .	187
10. Korekce na retenci kyselin metodou Bainovou a Rusechovou . . . . .	188
11. Měření spotřeby kyslíku za konstantního tlaku CO <sub>2</sub> „CO <sub>2</sub> — pufrы“ . . . . .	189
12. Kyslíkový pufr . . . . .	190
Literatura . . . . .	191

Media pro suspensi živočišných tkání . . . . .	192
--	-----

1. Krevní serum (příprava sera, neutralisované serum, upravené serum, volba sera jako suspensního media) . . . . .	192
2. Fysiologické roztoky (příprava zásobních roztoků; bikarbonátový a fosfátový fysiologický roztok, novější fysiolog. roztoky, umělé serum) . . . . .	195
3. Suspensní media pro tkáňové kaše (fysiologický roztok, svalový extrakt) . . . . .	198
4. Význam elektrolytů pro metabolismus tkání . . . . .	199
Literatura . . . . .	199

Zpracování a příprava biologického materiálu pro manometrické (metabolické) pokusy . . . . .	200
--	-----

1. Význam úpravy biologického materiálu pro biochemické studie . . . . .	200
2. Úprava živočišných tkání pro metabolické pokusy. . . . .	203

a) Příprava tkáňových řezů (pracovní postup, flouštká řezů, stanovení váhy, vyjádření výsledků, sterilita, některé vlastnosti) . . . . .	204
b) Tkáňové kaše (příprava, metabolická aktivita) . . . . .	209
c) Tkáňové homogenáty (příprava a pracovní postup, suspenční media, metabolická aktivita, promyté kaše) . . . . .	212
d) Použití izolovaných buněčných struktur (frakcionace v 0,88 M a 0,25 M sacharose, příprava buněčných jader) . . . . .	215
e) Zpracování jednotlivých živočišných tkání (játra, ledviny, nervová tkáň, plíce, mléčná žláza, krvinky, varle, sliznice zažívacího traktu, pankreas, tuková tkáň, kost a chrupavka, svaly, nádorová tkáň) . . . . .	217
3. Zpracování rostlinných tkání . . . . .	224
a) Příprava řezů . . . . .	224
b) Příprava bezbuněčných preparátů (izolované plastidy, granula chloroplastů, oxydující komplex) . . . . .	225
4. Příprava suspenzí jednobuněčných mikroorganismů . . . . .	
a) Příprava materiálu (příprava většího množství materiálu, kvasinky, zelené řasy, bičíkovci, parazitické mikroorganismy, očištěné mikroorganismy; suspenční media) . . . . .	226
b) Získání enzymatických preparátů z bakterií a kvasinek (zmražení buněk, ultrazvuk, sušení, drcení a extrakce živých buněk, a j.) . . . . .	231
5. Zpracování plísní . . . . .	235
Literatura . . . . .	237

## KAPITOLA XI. (A. KLEINZELLER):

### Část I.

Enzymatické jedy a jejich použití při studiu metabolismu . . . . .	240
1. Úvod . . . . .	240
2. Theorie mechanismu enzymatické katalýsy (theorie Michaelisova; nedostatky Michaelisovy theorie — theorie Afanasjevova) . . . . .	242
3. Účinek enzymatického jedu . . . . .	247
4. Nejdůležitější enzymatické jedy a jejich použití . . . . .	252
a) Jedy převážně oxidyvativního metabolismu . . . . .	252
b) Jedy, působící převážně na anaerobní metabolismus . . . . .	257
c) Různé . . . . .	259
5. Použití enzymatických jedů při studiu metabolismu . . . . .	260
6. Faktory, ovlivňující akumulaci intermediárních metabolitů . . . . .	262
7. Vliv biologicky aktivních látek na metabolismus . . . . .	263
8. Inhibiční analýza . . . . .	264

### Část II.

Teplota a její význam pro metabolické pochody . . . . .	268
1. Theorie účinku teploty na kinetiku enzymatických reakcí . . . . .	268
2. Vliv teploty na metabolismus in vitro . . . . .	280
a) Optimální teplota enzymů . . . . .	270
b) Vliv teploty na metabolické pochody . . . . .	271
Literatura . . . . .	271

## KAPITOLA XII. (A. KLEINZELLER):

Použití manometrických metod při studiu intermediárního metabolismu a interpretace výsledků . . . . .	274
1. Úvod: Principy . . . . .	274
2. Substráty . . . . .	279
3. Měření spotřeby $O_2$ . . . . .	280
a) Měření oxydace substrátu . . . . .	280
b) Kvantitativní měření oxydace substrátu . . . . .	283
c) Oxydativní asimilace . . . . .	284

d) Použití měření spotřeby $O_2$ ke studiu intermediárního metabolismu . . . . .	285
e) Manometrické měření růstu mikroorganismů . . . . .	286
f) Měření desinfekčního účinku . . . . .	289
g) Měření účinku antibiotik a obsahu antibiotik v biologickém materiálu . . . . .	290
h) Měření růstu a metabolismu tkáňových kultur . . . . .	290
4. Současné měření spotřeby $O_2$ a tvorby nebo spotřeby $NaHCO_3$ (měření oxydace organických kyselin nebo tvorby karboxylových skupin) . . . . .	291
5. Měření dýchacího kvocientu . . . . .	295
6. Manometrické sledování metabolických bilancí . . . . .	299
7. Sledování anaerobního metabolismu . . . . .	300
a) Manometrické měření dehydrogenační činnosti . . . . .	301
b) Dismutační reakce . . . . .	302
c) Bilance anaerobního metabolismu . . . . .	303
8. Pasteurův efekt a jeho měření . . . . .	304
9. Manometrické sledování kvasných pochodů . . . . .	305
10. Měření hydrogenosové aktivity . . . . .	306
a) Při použití molekulárního kyslíku jako akceptoru . . . . .	306
b) Při použití anorganického nebo organického akceptoru $H_2$ . . . . .	307
11. Měření tvorby $H_2$ ze substrátu v některých bakteriích . . . . .	307
12. Měření fixace dusíku . . . . .	308
13. Manometrické měření fotosynthese zelených rostlin . . . . .	308
a) Některé pojmy . . . . .	308
b) Měření asimilačního kvocientu . . . . .	309
c) Manometrické měření intenzity světelné energie (manometrický aktinometr) . . . . .	310
d) Měření kvantového výtěžku při fotosynthese . . . . .	310
e) Některé jiné metody studia fotosyntetických pochodů . . . . .	312
f) Specifické inhibitory fotosyntetického pochodu . . . . .	312
14. Materiál, očištěný o vitamíny, a jeho použití ke studiu metabolismu . . . . .	313
15. Simultánní adaptace a její měření . . . . .	313
16. Některé další metody: . . . . .	315
a) Thunbergova technika . . . . .	315
b) Metodika vakuové infiltrace . . . . .	317
17. Význam fyziologických faktorů pro metabolismus biologického materiálu in vitro . . . . .	318
Literatura . . . . .	320

## KAPITOLA XIII. (A. KLEINZELLER):

### Speciální manometrické metody ke stanovení metabolitů a jiných látek 323

1. Analýza plynů a plynných směsí . . . . .	323
a) Manometrické stanovení obsahu $CO_2$ ve směsi plynů . . . . .	323
b) Manometrické stanovení malých množství $O_2$ . . . . .	325
2. Manometrické stanovení malých množství Cu a Fe . . . . .	326
3. Manometrická mikrohydrogenace organických sloučenin . . . . .	327
4. Manometrické stanovení těkavých látek . . . . .	328
5. Manometrické stanovení glukosy . . . . .	329
6. Manometrické stanovení kys. pyrohroznové . . . . .	330
7. Manometrické stanovení $\alpha$ -ketokyselin . . . . .	332
8. Manometrické stanovení kys. oxaloctové . . . . .	332
9. Manometrické stanovení $\beta$ -ketokyselin . . . . .	333
10. Manometrické stanovení kys. jantarové . . . . .	334
11. Manometrické stanovení kys. $\alpha$ -ketoglutarové . . . . .	337
12. Manometrické stanovení kys. fumarové (a jablečné) . . . . .	338
13. Manometrické stanovení kys. L-jablečné (a fumarové) . . . . .	339
14. Manometrické stanovení kys. cis-akonitové . . . . .	340
15. Manometrické stanovení kys. krotónové a vinyloctové . . . . .	341
16. Manometrické stanovení kys. mravenčí . . . . .	342
17. Manometrické stanovení některých $\alpha$ -aminokyselin . . . . .	343
a) Stanovení kys. L-asparagové a L-asparaginu . . . . .	344
b) Stanovení kys. asparagové podle Braunštejna . . . . .	345

c) Stanovení kys. L-asparagové, L-asparagínu a $\alpha$ -ketoglutarové podle Krebse . . . . .	345
d) Stanovení kys. L-glutamové a L-glutaminu . . . . .	347
e) Současné stanovení aminodikarbonových kyselin a jejich amidů . . . . .	349
f) Stanovení L-lysinu . . . . .	350
g) Stanovení L-argininu . . . . .	351
h) Stanovení argininu ureásovou metodou . . . . .	351
i) Stanovení L-ornithinu . . . . .	352
j) Stanovení L-histidinu . . . . .	353
k) Stanovení L-tyrosinu . . . . .	353
18. Manometrické stanovení močoviny . . . . .	354
19. Manometrické stanovení purinů . . . . .	355
20. Stanovení kys. močové a alantoinu . . . . .	357
21. Manometrické stanovení redukováného glutathionu . . . . .	357
22. Manometrické stanovení koenzymu I . . . . .	358
23. Manometrické měření aktivity enzymů . . . . .	359
a) Manometrické měření aktivity cholinesterásy . . . . .	360
b) Manometrické měření aktivity katalázy . . . . .	360
c) Manometrické měření štěpení bílkovin a peptidů . . . . .	361
d) Manometrické sledování fosforylační reakce . . . . .	361
e) Manometrické stanovení množství ribonukleázy ve tkáních . . . . .	362
24. Některé další metody (tabulka) . . . . .	363
Literatura . . . . .	364

KAPITOLA XIV. (A. KLEINZELLER):

Závěr . . . . .	357
Jmenný rejstřík . . . . .	371
Věcný rejstřík . . . . .	379