

Obsah

Předmluva	7
Úvod	9
Teorie autoradiografie	17
Pojem autoradiografie	17
Fotografická emulze	18
Složení fotografické emulze	18
Latentní obraz	20
Přehled jaderných emulsí	24
Emulze firmy Ilford	24
Sovětské jaderné emulze	26
Emulze firmy Kodak	27
Emulze firmy Orwo	29
Fotografické zpracování autoradiogramu	30
Vyvolávání	31
Potenciál latentního obrazu	32
Ustalování	36
Praní	37
Sušení	38
Autoradiografický obraz	39
Makroautoradiogramy	39
Mikroautoradiogramy	39
Stopy částic	40
Kontrastní mikroautoradiogram	49
Citlivost emulze	50
Rozlišovací schopnost autoradiogramu	56
Rozlišení bodového zdroje	57
Rozlišení dvou cylindrických zdrojů	60
Kontrast autoradiogramu	62
Rozlišovací schopnost autoradiogramu pro tritium	67

Metodika přípravy autoradiogramu	72
Značení objektu radioisotopem	72
Výběr objektu	73
Úprava pokusných podmínek	73
Množství radioisotopu	74
Minimální a maximální značení radioisotopy	76
Optimální množství radioisotopu	79
Časový rozvrh značení	81
Ukončení značení	82
Odstraňování nezabudovaného radioisotopu	82
Histologické zpracování objektu	84
Nefixované objekty	85
Fixace	85
Ztráty nebo difuze radioisotopu	86
Diferenciální extrakce nukleových kyselin	88
Metodika makroautoradiografie	91
Autoradiografie rovných povrchů	91
Autoradiografie nerovných povrchů	93
Metodika mikroautoradiografie	94
Ochranná mezivrstva	95
Nanášení tekutých emulzí	96
Nanášení stripping filmů	97
Nanášení stripping filmu za sucha	98
Opakovaná autoradiografie	99
Dvoustranná autoradiografie	99
Diferenciální autoradiografie tritia a jiného beta zářiče	101
Méně běžné metody mikroautoradiografie	102
Fotografické zpracování, barvení a montování autoradiogramů	104
Hodnocení autoradiogramu	106
Kvalitativní analýza autoradiogramu	106
Hodnocení pozadí	106
Rozlišení značené buňky od neznačené	111
Hodnocení autoradiogramu podle počtu a rozložení stop	113
Lokalisace radioisotopu	114
Metody počítání zrn	115
Kvantitativní analýza autoradiogramu	117
Hodnocení autoradiogramu podle matic	118
Relativní hodnocení autoradiogramu	122
Absolutní hodnocení autoradiogramu	125

Hodnocení autoradiogramu podle zčernání emulse	136
Základní sensitometrické pojmy	136
Vztah mezi densitou a expozicí	137
Zdroje chyb při hodnocení autoradiogramu	143
Fyzikální artefakty	143
Chemické artefakty	147
Metody autoradiografie pro elektronový mikroskop	149
Metodika přípravy autoradiogramu	149
Příprava preparátu	149
Jaderné emulze pro autoradiografii v elektronovém mikroskopu	151
Metody pokrývání preparátu jadernou emulzí	153
Zpracování autoradiogramu	158
Hodnocení autoradiogramu pro elektronový mikroskop	161
Teoretické základy hodnocení autoradiogramu	161
Rozlišovací schopnost autoradiogramu pro elektronový mikroskop	161
Kontrolní metody	168
Vlastní hodnocení autoradiogramu	169
Zhodnocení metody autoradiografie pro elektronový mikroskop	170
Molekulová autoradiografie	173
Autoradiografie submikroskopických částic a nerozvinutých molekul	173
Hodnocení autoradiogramů	174
Statistické hodnocení počtu hvězd a počtu stop tvořících hvězdu	175
Stanovení obsahu fosforu ve fágových částicích	178
Odhad molekulové váhy	179
Autoradiografie lineárních a cyklických molekul DNK	183
Značení fágové DNK ³ H-thymidinem	184
Značení bakteriální DNK ³ H-thymidinem	186
Příprava preparátů DNK pro autoradiografii	188
Stanovení délky molekuly DNK	190
Užití molekulové autoradiografie	192
Včleňování radioisotopů do biostruktur	194
Látky organismu cizí	194
Přirozeně radioaktivní látky	194
Umělé radioaktivní prvky	196
Látky fyziologické	197
Anorganické prekursor	197
Organické prekursor	199

Prekursory nukleových kyselin	200
Jednoduché organické a anorganické prekursory	200
Base nukleotidů jako prekursory pro nukleové kyseliny	206
Ribosidy a deoxyribosidy jako prekursory pro nukleové kyseliny	207
Ribonukleotidy a deoxyribonukleotidy	213
Včleňování radioisotopů do bílkovin	214
Klamný metabolismus bílkovin	214
Inkorporace značených aminokyselin do bílkovin in vitro	216
Inkorporace aminokyselin do bílkovin in vivo	218
Stanovení specifické aktivity bílkoviny	219
Uspořádání metabolického pokusu	221
Anorganické prekursory pro značení bílkovin	223
Kompetitivní pokusy	226
Základní podmínky kompetitivního pokusu	226
Využití kompetice mezi prekursory	228
Zdroje chyb při použití radioaktivních prekursorů	235
Isotopový efekt	235
Koncentrace prekursoru	236
Chemický charakter prekursoru	237
Vliv záření na buňku	237
Kritéria radiačního poškození buňky	240
Výpočet dávky beta a gama záření	244
Kinetika buněčné proliferace a buněčného metabolismu	246
Kinetika generačního cyklu	249
Stanovení délky <i>S</i> fáze a generační doby podle procenta značených buněk	249
Stanovení délky fází generačního cyklu pomocí značených mitotických figur	251
Stanovení délky fází generačního cyklu dvojím značením buněk	255
Stanovení radiosensitivity fází generačního cyklu podle synthesy DNK	268
Kinetika ustáleného stavu	269
Stanovení obratu buněk za ustáleného stavu	272
Inekvální a ekvální dělení buněk	273
Doba života buněk	274
Buňky hynoucí náhodně	274
Buňky hynoucí stárnutím	275
Buňky hynoucí stárnutím i náhodným rozpadem	282
Obrat RNK v buňce	284
Obrat RNK v buňce za ustáleného stavu	285
Obrat RNK v proliferující populaci buněk	289
Stanovení obratu ve třífázovém systému za ustáleného stavu	294

Rychlost syntesy DNK v buňce	297
Testování linearity syntesy DNK	300
Dodatky	303
Fixace	303
Příprava želatinové vrstvy na podložních sklech	304
Příprava preparátů pro autoradiografii	304
Nanášení tekuté emulze	306
Nanášení stripping filmu Kodak AR. 10 nebo AR. 50	308
Autoradiografie submikroskopických částic	312
Fotografické zpracování autoradiogramů	313
Barvení autoradiogramů	316
Montování autoradiogramů	322
Tabulky	323
Summary	338
Literatura	343
Rejstřík	353