

---

# Obsah

Předmluva . . . . .	11
Úvod . . . . .	13
I. BIOSTRUKTURY . . . . .	15
II. CHEMIE ŽIVÝCH OBJEKTŮ . . . . .	23
1. Anorganické substráty . . . . .	23
1.1 Biogenní prvky . . . . .	23
2. Organické substráty . . . . .	28
2.1 Sacharidy . . . . .	28
2.1.1 Monosacharidy . . . . .	28
2.1.2 Složené sacharidy . . . . .	31
2.2 Lipidy . . . . .	34
2.2.1 Glyceridy . . . . .	34
2.2.2 Fosfolipidy . . . . .	35
2.2.3 Glykolipidy . . . . .	36
2.3 Isoprenoidy . . . . .	36
2.3.1 Steroidy . . . . .	37
2.3.2 Karotenoidy . . . . .	40
2.3.3 Isoprenoidní vitamíny a chinony . . . . .	41
2.4 Aromáty . . . . .	45
2.5 Dusíkaté sloučeniny . . . . .	46
2.5.1 Polynukleotidy . . . . .	46
2.5.2 Aminokyseliny a jejich deriváty . . . . .	50
2.5.3 Proteiny (bílkoviny) . . . . .	57
2.5.3.1 Fyzikální a chemické vlastnosti bílkovin . . . . .	64
2.5.3.2 Amfoterita bílkovin . . . . .	65
2.5.3.3 Vysolování bílkovin . . . . .	66
2.5.3.4 Denaturace bílkovin . . . . .	66
2.5.3.5 Analytické reakce na bílkoviny . . . . .	67
2.5.3.6 Bílkoviny jednoduché a složené . . . . .	67
3. Metabolická energie . . . . .	77
3.1 Volná energie a buňka . . . . .	80
3.2 Bioenergetika . . . . .	80
3.3 ATP a „makroergické“ sloučeniny . . . . .	80
3.4 Jiné sloučeniny s „makroergickou“ vazbou . . . . .	82
4. Biochemické reakce . . . . .	83
4.1 Katalýza . . . . .	83
4.2 Enzymy . . . . .	84

4.2.1	Způsob účinu enzymů . . . . .	85
4.2.2	Stanovení enzymové aktivity . . . . .	85
4.2.3	Vznik enzymů . . . . .	85
4.2.4	Michaelisova konstanta . . . . .	86
4.2.5	Enzymové komplexy . . . . .	88
4.2.6	Optimální pH . . . . .	89
4.2.7	Optimální teplota . . . . .	89
4.2.8	Specifita enzymů . . . . .	91
4.2.9	Aktivní centrum . . . . .	92
4.2.10	Inhibitory enzymů . . . . .	92
4.2.11	Kompetitivní inhibice . . . . .	93
4.2.12	Nekompetitivní inhibice . . . . .	94
4.2.13	Domněnk o mechanismu působení enzymů . . . . .	95
4.2.14	Regulační mechanismy . . . . .	96
4.2.15	Systém represe a indukce . . . . .	97
4.2.16	Regulace zpětnou vazbou . . . . .	98
4.2.17	Alostérický efekt . . . . .	98
4.2.18	Izolace enzymů . . . . .	100
4.2.19	Počet enzymů v buňce . . . . .	100
4.2.20	Rozdělení enzymů . . . . .	100
4.2.21	Reakce vícesubstrátové . . . . .	102
4.2.22	Iзоenzymy . . . . .	103
4.3	Koenzymy . . . . .	103
4.3.1	Rozdělení koenzymů . . . . .	103
4.3.2	Koenzymy oxidoreduktas . . . . .	103
4.3.2.1	Enzymové oxidačně-redukční (redoxní) reakce . . . . .	105
4.3.2.2	Pyridinové koenzymy . . . . .	105
4.3.2.3	Flavinové koenzymy . . . . .	107
4.3.2.4	Ubichinony . . . . .	108
4.3.2.5	Hemové koenzymy . . . . .	108
4.3.2.6	Lipoálový koenzym . . . . .	109
4.3.3	Koenzymy transferas . . . . .	109
4.3.4	Koenzymy lyas a ligas . . . . .	113
<b>III.</b>	<b>METABOLISMUS . . . . .</b>	<b>114</b>
1.	Katabolismus . . . . .	114
1.1	Katabolismus nedusíkatých látek — anaerobní pochody . . . . .	114
1.1.1	Katabolismus sacharidů . . . . .	114
1.1.1.1	Glykolýza . . . . .	115
1.1.1.2	Pentosový cyklus . . . . .	118
1.2	Katabolismus nedusíkatých látek — aerobní pochody . . . . .	122
1.2.1	Citrátový cyklus . . . . .	122
1.2.1.1	Aerobní dekarboxylace pyruvátu . . . . .	123
1.2.1.2	Reakce acetylů v citrátovém cyklu . . . . .	124
1.2.2	Katabolismus lipidů . . . . .	126
1.2.2.1	Štěpení tuků . . . . .	126
1.2.2.2	Lynenova spirála . . . . .	127
1.3	Katabolismus dusíkatých látek . . . . .	128
1.3.1	Katabolismus proteinů a aminokyselin . . . . .	128
1.3.1.1	Štěpení proteinů v buňkách . . . . .	130
1.3.1.2	Metabolická povaha aminokyselin . . . . .	130
1.3.1.3	Přeměna aminokyselin . . . . .	131

1.3.1.4	Konečné produkty katabolismu proteinů . . . . .	134
1.3.1.5	Katabolismus pyrimidinových a purinových látok . . . . .	135
1.3.1.6	Katabolismus sloučenin pyrrolových . . . . .	136
2.	Anabolismus . . . . .	137
2.1	Fotosyntéza . . . . .	137
2.2	Fotofosforylace . . . . .	139
2.3	Calvinův cyklus . . . . .	140
2.4	Biosyntéza nedusíkatých substrátů z cukrů . . . . .	141
2.4.1	Vznik mastných kyselin . . . . .	141
2.4.2	Celková přeměna lipidů . . . . .	145
2.4.3	Biosyntéza isoprenoidů . . . . .	146
2.4.4	Biosyntéza aromátů . . . . .	148
2.5	Biosyntéza dusíkatých látok . . . . .	151
2.5.1	Biosyntéza aminokyselin . . . . .	153
2.5.2	Transaminace . . . . .	154
2.5.3	Biosyntéza pyrimidinových a purinových sloučenin . . . . .	155
2.5.4	Biosyntéza pyrrolových sloučenin . . . . .	155
2.5.5	Proteosyntéza . . . . .	158
IV.	REGULACE BIOCHEMICKÝCH DĚJŮ . . . . .	162
1.	Hormony a feromony . . . . .	162
1.1	Fenolové hormony . . . . .	163
1.2	Steroidní hormony . . . . .	164
1.3	Bílkovinné hormony . . . . .	166
1.3.1	Hormony hypofýzy . . . . .	166
1.3.2	Pankreatické hormony . . . . .	167
2.	Regulace vody a minerálních látok . . . . .	168
3.	Bazální metabolismus . . . . .	171
V.	VZNIK ŽIVOTA NA ZEMI . . . . .	173
1.	Praatmosféra . . . . .	173
2.	Evoluční abiogeneze . . . . .	173
3.	Chemický vývoj . . . . .	174
3.1	„Prapolévka“ . . . . .	175
3.2	Vznik nukleotidů . . . . .	176
3.3	Proteiny — polynukleotidy . . . . .	176
4.	Funkční organizace molekul . . . . .	177
5.	Fylogeneze . . . . .	177
VI.	PRAKTICKÁ CVIČENÍ Z BIOCHEMIE . . . . .	178
1.	Zásady práce s biologickým materiélem . . . . .	178
2.	Získávání biologického materiálu . . . . .	179
3.	Homogenace . . . . .	180
4.	Filtrace a odstředění . . . . .	182
5.	Dialýza a ultrafiltrace . . . . .	183
6.	Sušení . . . . .	185
7.	Kvalitativní zkoušky . . . . .	187
7.1	Sacharidy . . . . .	187
7.1.1	Zkouška Molischova . . . . .	188
7.1.2	Zkouška anthronová . . . . .	190
7.1.3	Zkouška Tollensova a Wheelerova . . . . .	190
7.1.4	Zkouška Bialova . . . . .	190

7.1.5	Zkouška Selivanovova a Weehuizenova . . . . .	190
7.1.6	Zkouška Kilianihho . . . . .	191
7.1.7	Zkouška Discheho . . . . .	191
7.1.8	Zkouška Elsonova a Morganova . . . . .	191
7.1.9	Zkouška Fehlingova . . . . .	192
7.1.10	Zkouška Töllensova . . . . .	192
7.1.11	Zkouška Nylanderova . . . . .	193
7.1.12	Zkouška s kyselinou pikrovou . . . . .	193
7.1.13	Zkouška Barfoedova (v modifikaci podle Taubera a Kleinera) . . . . .	193
7.2	Lipidy . . . . .	194
7.2.1	Akroleinový test . . . . .	194
7.2.2	Důkaz vznikem mýdel . . . . .	194
7.3	Aminokyseliny, peptidy a bílkoviny (proteiny) . . . . .	195
7.3.1	Důkaz dusíku podle Feigla . . . . .	195
7.3.2	Důkaz síry podle Feigla . . . . .	196
7.3.3	Biuretová reakce . . . . .	196
7.3.4	Ninhydrinová zkouška . . . . .	196
7.3.5	Xanthoproteinová reakce . . . . .	197
7.3.6	Zkouška Millonova . . . . .	198
7.3.7	Zkouška Hopkinsova a Coleova . . . . .	198
7.3.8	Zkouška Sakaguchiho . . . . .	199
7.3.9	Zkouška Ehrlichova a Paulyho . . . . .	199
7.3.10	Srážení kyselinou sulfosalicylovou . . . . .	199
7.4	Vitamíny . . . . .	200
7.4.1	Důkaz vitamínu A (retinolu) . . . . .	200
7.4.1.1	Zkouška s chloridem antimoničitým . . . . .	200
7.4.1.2	Reakce Drummondova . . . . .	200
7.4.2	Důkaz vitamínu B <sub>1</sub> . . . . .	200
7.4.3	Důkaz vitamínu C (kyseliny askorbové) . . . . .	201
7.4.3.1	Reakce s 2,6-dichlorfenolindofenolem . . . . .	201
7.4.3.2	Reakce s hexakyanoželezitanem draselným . . . . .	201
7.4.4	Důkaz vitamínu D . . . . .	202
7.4.4.1	Reakce s chloridem antimoničitým . . . . .	202
7.4.4.2	Reakce s anilinem . . . . .	202
7.4.5	Důkaz vitamínu K . . . . .	202
7.5	Ostatní látky . . . . .	202
7.5.1	Důkaz krevního barviva . . . . .	202
7.5.1.1	Benzidinová zkouška . . . . .	202
7.5.1.2	Teichmannova zkouška (heminová) . . . . .	203
7.5.2	Důkaz bilirubinu . . . . .	203
7.5.2.1	Zkouška Gmelinova . . . . .	203
7.5.2.2	Zkouška s methylenovou modří . . . . .	203
7.5.3	Benzidinová reakce na peroxidasu . . . . .	204
7.5.4	Nukleové kyseliny . . . . .	204
7.5.4.1	Zkouška na DNA a 2-deoxyribosu indolem . . . . .	204
7.5.4.2	Zkouška na DNA a 2-deoxyribosu tryptofanem . . . . .	204
7.5.4.3	Zkouška Discheho . . . . .	204
7.5.4.4	Důkaz složek nukleových kyselin . . . . .	204
7.5.4.4.1	Důkaz kyseliny fosforečné v hydrolyzátu nukleových kyselin . . . . .	205
7.5.4.4.2	Důkazy eukerných složek . . . . .	205

7.6 Pokyny k provedení a hodnocení kvalitativních zkoušek . . . . .	205
8. Stanovení a vlastnosti sacharidů . . . . .	205
8.1 Titrační stanovení redukujících sacharidů podle Schoorla . . . . .	205
8.2 Fotometrické (kolorimetrické) analytické metody . . . . .	207
8.2.1 Stanovení redukujících sacharidů podle Somogyho a Nelsona . . . . .	211
8.2.1.1 Deproteinace biologického materiálu . . . . .	211
8.2.1.2 Stanovení redukujících sacharidů v deproteinovaném vzorku . . . . .	212
8.2.2 Stanovení pentos (ribosy) podle Mejbaumové . . . . .	213
8.2.3 Stanovení aminohexos podle Elsona a Morgana . . . . .	214
8.3 Polarimetrické stanovení sacharidů . . . . .	214
8.4 Chromatografické stanovení sacharidů . . . . .	216
8.4.1 Princip chromatografických metod . . . . .	216
8.4.2 Nejběžnější chromatografické materiály . . . . .	220
8.4.3 Základní chromatografické potřeby . . . . .	225
8.4.4 Zjištování výsledků . . . . .	226
8.4.5 Chromatografie sacharidů . . . . .	227
9. Stanovení a vlastnosti lipidů . . . . .	229
9.1 Stanovení lipidů extrakcí . . . . .	229
9.1.1 Extrakce bez použití extrakčních přístrojů . . . . .	230
9.1.2 Extrakce za použití Soxhletova přístroje . . . . .	231
9.2 Stanovení tuku mikrometodou podle Ferdmana a Sopina . . . . .	231
9.3 Chemické konstanty tuků . . . . .	232
9.3.1 Číslo kyselosti . . . . .	233
9.3.2 Číslo zmýdelnění . . . . .	233
9.3.3 Číslo esterové . . . . .	234
9.3.4 Číslo jodové . . . . .	234
9.4 Chromatografie vyšších mastných kyselin (z hydrolyzátu lipidů) . . . . .	235
9.4.1 Příprava směsi mastných kyselin . . . . .	235
9.4.2 Chromatografie vyšších mastných kyselin (podle Kaufmanna a Makuse) . . . . .	235
9.4.2.1 Příprava tenké vrstvy . . . . .	235
9.4.2.2 Vyvíjení chromatogramu . . . . .	236
10. Stanovení a vlastnosti aminokyselin, peptidů a bílkovin . . . . .	237
10.1 Stanovení dusíku podle Kjeldahla . . . . .	237
10.2 Conwayova mikrometoda stanovení dusíku . . . . .	239
10.3 Formolová titrace aminokyselin podle Sørensena . . . . .	241
10.4 Stanovení bílkovin podle Lowryho . . . . .	242
10.5 Chromatografické dělení aminokyselin podle Brennera . . . . .	243
10.6 Elektroforéza sérových bílkovin . . . . .	244
10.7 Vysolování a srážení bílkovin . . . . .	246
10.7.1 Vysolování bílkovin neutrální solí . . . . .	246
10.7.2 Srážení bílkovin organickými rozpouštědly . . . . .	246
10.7.3 Srážení bílkovin různými organickými činidly . . . . .	246
10.7.4 Srážení bílkovin solemi těžkých kovů . . . . .	247
10.7.5 Srážení bílkovin teplem . . . . .	247
10.7.6 Stanovení izoelektrického bodu bílkoviny . . . . .	247
11. Stanovení a vlastnosti enzymů . . . . .	248
11.1 Vliv pH na aktivitu enzymů . . . . .	248
11.2 Vliv teploty na aktivitu enzymů . . . . .	249
11.3 Vliv koncentrace enzymu na rychlosť reakcie . . . . .	250
11.4 Specifita enzymů . . . . .	250
11.5 Časový průběh enzymové reakce . . . . .	251

11.6 Dehydrogenace xanthinoxidasou (Schardingerův enzym) . . . . .	252
11.7 Stanovení aktivity katalasy . . . . .	253
12. Stanovení vitamínů . . . . .	254
12.1 Stanovení vitamínu C titrací 2,6-dichlorfenolindofenolem . . . . .	254
13. Chromatografie rostlinných pigmentů . . . . .	254
13.1 Extrakce listových barviv . . . . .	255
13.1.1 Extrakce listových barviv acetonem . . . . .	255
13.1.2 Extrakce listových barviv ze spařeného materiálu (Strain) . . . . .	255
13.2 Sloupcová adsorpční chromatografie listových barviv . . . . .	256
13.3 Dělení listových barviv na tenké vrstvě silikagelu . . . . .	256
14. Stanovení vody . . . . .	257
14.1 Stanovení vody metodou sušení za standardních podmínek . . . . .	257
Literatura . . . . .	258
Rejstřík . . . . .	259