

Ú V O D

Cvičení I. (Ing.V.HORÁK,CSc.)

str.:

Téma : Vliv některých vnějších faktorů na aktivitu enzymů.

Úloha: 1. Stanovení optima pH amylasy	7
2. Stanovení teplotního optima slinné amylasy	8
3. Aktivace chymosinu vápenatými ionty	8
4. Modifikace α -amylasy chloridovými a měďnatými ionty	9

Cvičení II. (Ing.V.HORÁK,CSc.)

Téma : Kinetika enzymových reakcí - vliv rozdílných koncentrací reaktantů na aktivitu enzymů, působení inhibitorů

10

Úloha: 1. Vliv koncentrace slinné amylasy na rychlost štěpení škrobu	10
2. Vliv koncentrace močoviny na rychlost jejího štěpení ureasou, stanovení K_m	12
3. Vliv koncentrace peroxidu vodíku na rychlost jeho štěpení katalasou. Stanovení K_m a typu inhibice	13

Cvičení III. (Ing.L.VAŠÁKOVÁ,CSc.)

Téma : Aktivita enzymů třídy oxidoreduktas.

Úloha: 1. Stanovení aktivity dehydrogenasy kys. mléčné	16
2. Stanovení aktivity dehydrogenasy kys. jablečné	17
3. Stanovení aktivity dehydrogenasy kys. isocitronové	18
4. Stanovení aktivity dehydrogenasy kys. glutamové	19
5. Stanovení aktivity katalasy	20
6. BIO - LA - TEST - Laktátdehydrogenasa	21

Cvičení IV. (Ing.V.HORÁK,CSc.)

Téma : Aktivita enzymů třídy transferas.

Úloha: 1. Stanovení aktivity ornithinkarbamoyltransferasy	23
2. Stanovení aktivity aspartát-aminotransferasy (AST)	23
3. Stanovení aktivity alanin-aminotransferasy (ALT)	23
4. Stanovení aktivity kreatin-fosfotransferasy	25
5. BIO - LA - TEST - Kreatinkinasa (CK)	26
6. BIO - LA - TEST - Gama-glutamyltransferasa	28

Cvičení V. (Ing.L.VAŠÁKOVÁ,CSc.)

Téma : Aktivita enzymů třídy hydrolas.

Úloha: 1. Stanovení aktivity lipasy v duodenální šťávě	29
2. Stanovení aktivity pepsinu v žaludeční šťávě	30
3. BIO - LA - TEST - Alkalická fosfatasa 200 (ALP)	31
4. BIO - LA - TEST - Trypsin	33

Cvičení VI. (Ing.L.VAŠÁKOVÁ,CSc.)

Téma : Aktivita enzymů třídy hydrolas.

Úloha: 1. Stanovení aktivity alkalické fosfatasy v krevní plazmě nebo v krevním séru	34
2. Stanovení aktivity amylasy v krevním séru, moči nebo duodenální šťávě	35
3. BIO - LA - TEST - Alfa - amylasa (AMS)	36
4. BIO - LA - TEST - Cholinesterasa	38
5. BIO - LA - TEST - Leucinarylamidasa	39

3

Cvičení VII. (Ing.V.HORÁK,CSc.)

Téma : Aktivita enzymů ze třídy lyas. Imunochemické metody - precipitační reakce v roztoku.

Enzymová syntéza jako příklad obouměrné enzymové reakce.

Úloha: 1. Stanovení aktivity aldolasy v krevním séru	40
2. Imunoprecipitační reakce v roztoku	42
3. Precipitace gama-globulinů síranem zinečnatým	42
4. Enzymová syntéza máselnanu ethylnatého	43

Cvičení VIII. (Ing.V.HORÁK,CSc.)

Téma : Použití centrifugace v biochemické laboratoři, izolace a purifikace enzymů, stanovení molekulové hmotnosti.

Úloha: 1. Získání mikrosomální frakce rychlostní preparativní ultracentrifugací	45
2. Izolace katalasy z jater morčete a stanovení aktivity katalasy	47
3. Stanovení relativní molekulové hmotnosti vaječného bílku gelovou chromatografií na sloupci Sephadexu G-100	48
4. Elektroforetická separace isoenzymů laktátdehydrogenasy a detekce jejich aktivity	49

Cvičení IX. (Ing.L.VAŠÁKOVÁ,CSc.)

Téma : Využití enzymů jako reagens pro stanovení některých metabolitů.

Úloha: 1. BIO - LA - TEST - Oxochromglukosa	50
2. BIO - LA - TEST - Glukosa enzymaticky A	51
3. BIO - LA - TEST - Glukosa enzymaticky B	53
4. BIO - LA - TEST - Močovina enzymaticky	53
5. BIO - LA - TEST - Kyselina močová enzymaticky	54

Cvičení X. (Ing.V.HORÁK,CSc.)

Téma : Nukleové kyseliny, jejich izolace, důkaz a stanovení.

Úloha: 1. Izolace DNA a RNA z jater pokusného zvířete	56
2. Izolace DNA ze sleziny	57
3. Důkaz DNA na základě přítomné deoxyribosy a přítomného fosforu	57
4. Izolace RNA z kvasnic	59
5. Důkaz přítomnosti ribosy, fosforu a purinových bází v RNA	60
6. Rozdělení purinových a pyrimidinových bází chromatografií na papíře	61
7. Stanovení nukleových kyselin podle obsahu kyseliny fosforečné	61
8. Stanovení nukleových kyselin na základě absorpce purinových a pyrimidinových bází v UV oblasti	63

Cvičení XI. (Ing.L.VAŠÁKOVÁ,CSc.)

Téma : Bílkoviny.

Úloha: 1. Stanovení bílkovin biuretovou reakcí	65
2. Vysolování bílkovin krevního séra síranem amonným	65
3. Isoelektrický bod bílkovin	66
4. Disková elektroforesa bílkovin krevního séra na polyakrylamidovém gelu	67
5. BIO - LA - TEST - Celkové bílkoviny	68
6. BIO - LA - TEST - beta - lipoproteiny	70

Cvičení XII. (Ing.L.VAŠÁKOVÁ,CSc.)

Téma : Aminokyseliny.

Úloha: 1. Stanovení aminokyselin formolovou titrací	71
2. Spektrofotometrické stanovení volných aminokyselin v krevním séru ..	72
3. Chromatografie volných aminokyselin krevního séra na tenké vrstvě ..	73
4. Stanovení bílkovin podle Lowry fenolovým činidlem	74

Cvičení XIII. (RNDr.E.BÜRGEROVÁ,CSc.)

Téma : Sacharidy.

Úloha: 1. Stanovení sacharidů chromatografií na tenké vrstvě	76
2. Fotometrické stanovení sacharidů metodou Nelsonovou	76
3. Stanovení fruktosy a jiných ketos	77
4. Stanovení glukosy s využitím BIO - LA - TESTU	78
5. Stanovení glykogenu ve svazech	79

Cvičení XIV. (RNDr.E.BÜRGEROVÁ,CSc.)

Téma : Lipidy.

Úloha: 1. Stanovení lipidů krevního séra chromatografií na tenké vrstvě	80
2. Chromatografie vyšších mastných kyselin v krevním séru	81
3. Stanovení fosforu v lipidech krevního séra	82
4. Stanovení celkových esterifikovaných mastných kyselin	83
5. Stanovení triglyceridů s využitím BIO - LA - TESTU	83
6. Stanovení celkových lipidů s využitím BIO - LA - TESTU	84
7. Stanovení cholesterolu s využitím BIO - LA - TESTU	85
8. Chromatografické dělení esterů cholesterolu v krevním séru	85

Cvičení XV. (RNDr.E.BÜRGEROVÁ,CSc.)

Téma : Vitaminy.

Úloha: 1. Stanovení karotenů v krevním séru	87
2. Reakce vitamínu A s chloridem antimonitým	87
3. Reakce vitamínu A s chloridem železitým	87
4. Reakce vitamínu A s kyselinou sírovou	88
5. Stanovení vitamínu B ₁ -thiaminu	88
6. Stanovení vitamínu B ₁ -thiaminu kruhovou chromatografií	89
7. Reakce na důkaz vitamínu B ₂ -riboflavinu	90
8. Reakce na důkaz kyseliny nikotinové a nikotinamidu	90
9. Stanovení obsahu vitamínu C	91

Kontrolní otázky k procvičení (RNDr.E.BÜRGEROVÁ,CSc.)	92
Výsledky kontrolních otázek (RNDr.E.BÜRGEROVÁ,CSc.)	94
Sylabus předmětu biochemie (RNDr.E.BÜRGEROVÁ,CSc.)	114
Seznam literatury	115