

Szczegółowy spis treści

Wykaz skrótów 15

Część I Wiadomości podstawowe 23

Wstępne uwagi praktyczne 24

1. Roztwory (A. Zgirski) 28

1.1. Stężenia roztworów 28

1.1.1. Roztwory procentowe 28

1.1.2. Roztwory molowe 31

1.1.3. Roztwory wzorcowe (standardowe) 36

1.2. Roztwory buforowe 36

1.2.1. Wykładnik wodorowy pH 36

1.2.2. Siła jonowa 37

1.2.3. Siła jonowa buforów i ich pH 38

2. Statystyczna ocena wyników (A. Zgirski) 40

2.1. Szereg prosty i rozdzielczy 40

2.2. Wartości średnie 41

2.2.1. Średnia arytmetyczna 41

2.2.2. Średnia arytmetyczna ważona 42

2.2.3. Średnia geometryczna 42

2.3. Wskaźniki rozproszenia 44

2.3.1. Wariancja i odchylenie standardowe 44

2.3.2. Odchylenie standardowe średniej arytmetycznej 46

2.3.3. Odchylenie standardowe grup połączonych 46

2.3.4. Współczynnik zmienności (wskaźnik Pearsona) — odchylenie względne 47

2.4. Odrzucanie wyników niepewnych (wątpliwych) 48

2.5. Wnioskowanie statystyczne 52

2.5.1. Rozkład normalny 52

2.5.2. Rozkład t 53

2.5.3. Test dwustronny i jednostronny 53

2.5.4. Test istotności t Studenta dla prób niezależnych. Ocena istotności (nieprzypadkowości) różnic między dwiema średnimi 55

2.5.5. Test istotności t Studenta dla prób zależnych (test sparowany)	57
2.5.6. Test C Cochrańa i Coxa	58
2.5.7. Porównanie jednorodności wariancji dwóch szeregów statystycznych. Test Fishera–Snedecora	60
2.5.8. Przedział ufności	61
2.6. Współzależności zmiennych	62
2.6.1. Związek korelacyjny. Współczynnik korelacji	62
2.6.2. Wyznaczanie prostej regresji metodą najmniejszych kwadratów	64
2.7. Test zgodności χ^2	70
Piśmiennictwo	72

Część II Niektóre metody fizykochemiczne 73

3. Kolorymetria (A. Zgirski) 74

3.1. Teoretyczne podstawy kolorymetrii	74
3.2. Sposoby obliczania stężeń z odczytanej absorbancji	80
3.2.1. Sposoby obliczania stężeń po wywoływaniu zabarwienia dla jednakowych objętości próby badanej i wzorcowej	80
3.2.2. Sposoby obliczania stężeń po wywoływaniu zabarwienia dla niejednakowych objętości próby badanej i wzorcowej	82
3.2.3. Sposoby obliczania stężeń a stosowanie się rozтворów do prawa Lamberta–Beera	88
Piśmiennictwo	90

4. Chromatografia 91

Wprowadzenie (L. Klyszejko-Stefanowicz)	91
4.1. Wiadomości podstawowe (L. Klyszejko-Stefanowicz)	92
4.1.1. Niektóre terminy stosowane w chromatografii	92
4.1.2. Rodzaje chromatografii	93
4.1.3. Metody stosowane w chromatografii	94
4.1.4. Śledzenie przebiegu procesu chromatograficznego	95
4.2. Chromatografia adsorpcyjna (L. Klyszejko-Stefanowicz)	97
4.2.1. Adsorbenty i rozpuszczalniki	98
4.2.2. Czynniki wpływające na powinowactwo adsorpcyjne	100
4.3. Chromatografia jonowymienna (L. Klyszejko-Stefanowicz, A. Lipińska)	103
4.3.1. Charakterystyka procesu wymiany jonów	103
4.3.2. Klasyfikacja jonitów	106
4.4. Chromatografia podziałowa (L. Klyszejko-Stefanowicz, A. Lipińska)	112
4.4.1. Ogólna charakterystyka chromatografii podziałowej	112
4.4.2. Chromatografia podziałowa kolumnowa	114
4.4.3. Chromatografia podziałowa bibułowa	114
4.4.4. Przykłady metod jakościowej oraz ilościowej analizy aminokwasów metodą chromatografii podziałowej bibułowej	122
4.5. Chromatografia cienkowarstwowa	125
4.5.1. Podstawy teoretyczne (E. Majkowska)	125
4.5.2. Technika (E. Majkowska)	126
4.5.3. Przegląd technik chromatografii cienkowarstwowej (E. Majkowska)	131
4.5.4. Chromatografia cienkowarstwowa produktów hydrolizy glutationu oraz niektórych jednocukrów (E. Majkowska)	133
4.5.5. Chromatografia cienkowarstwowa alkaloidów glistnika jaskółczego ziela — <i>Chelidonium majus</i> (H. Urbanek)	136
4.6. Filtracja żelowa (M.T. Schmidt)	137

4.6.1. Niektóre sita molekularne	137
4.6.2. Teoria filtracji żelowej	141
4.6.3. Technika pracy na żelach Sephadex	144
4.7. Chromatografia powinowactwa (Cz.S. Cierniewski, B. Walkowiak)	147
4.7.1. Podstawy teoretyczne	147
4.7.2. Złoża stosowane w chromatografii powinowactwa	149
4.7.3. Chromatografia kowalencyjna jako szczególny przypadek chromatografii powinowactwa	164
4.7.4. Chromatografia chelatująca jako szczególny przypadek chromatografii powinowactwa	165
4.8. Chromatografia wykorzystująca hydrofobowe właściwości cząsteczek (Cz.S. Cierniewski, B. Walkowiak)	166
4.8.1. Podstawy teoretyczne chromatografii oddziaływań hydrofobowych	167
4.8.2. Złoża stosowane w chromatografii oddziaływań hydrofobowych	169
4.8.3. Podstawy teoretyczne chromatografii fazy odwróconej	172
4.8.4. Złoża stosowane w chromatografii fazy odwróconej	174
Piśmiennictwo	178

5. Elektroforeza w nośnikach 181

Wprowadzenie (L. Klyszejko-Stefanowicz)	181
5.1. Elektroforeza bibułowa (A. Zgirski)	182
5.1.1. Wiadomości podstawowe (A. Zgirski)	182
5.1.2. Elektroforeza bibułowa białek surowicy (A. Zgirski)	184
5.1.3. Elektrophoretograficzny rozdział aminokwasów (R. Wierzbicki)	189
5.2. Analiza elektroforetyczna białek w żelu poliakrylamidowym	191
5.2.1. Wiadomości podstawowe (Z. M. Kiliańska)	191
5.2.2. Jednowymiarowa elektroforeza histonów w żelu poliakrylamidowym (A. Lipińska)	198
5.2.3. Jednowymiarowa elektroforeza białek niehistonowych w żelu poliakrylamidowym (Z.M. Kiliańska)	202
5.3. Dwuwymiarowa elektroforeza białek (Z.M. Kiliańska)	207
5.4. Analiza białek techniką Western blotting	211
5.4.1. Wiadomości podstawowe (W.M. Krajewska)	211
5.4.2. Immunoidentyfikacja w obecności PAP i AP (W.M. Krajewska i Z.M. Kiliańska)	216
5.4.3. Immunoidentyfikacja glikoprotein (A. Lipińska)	220
5.5. Kompleksowa jakościowa i ilościowa analiza jedno- i dwuwymiarowych elektroferogramów (M. Bryś)	224
Piśmiennictwo	228

Część III Analiza podstawowych składników ustrojowych 231

6. Białka 232

Wprowadzenie (R. Wierzbicki)	232
6.1. Właściwości białek i aminokwasów (R. Wierzbicki)	233
6.1.1. Amfoteryczność białek	233
6.1.2. Białka jako koloidy	238
6.1.3. Rozpuszczalność i wysalanie białek	239
6.1.4. Denaturacja białek	242
6.2. Odczyny barwne na aminokwasy i białka (R. Wierzbicki)	245
6.3. Oznaczanie zawartości aminokwasów i białek (A. Lipińska, R. Wierzbicki)	246
6.4. Oznaczanie N-końcowego aminokwasu (A. Lipińska, R. Wierzbicki)	251
6.5. Oznaczanie C-końcowego aminokwasu (A. Lipińska)	257
Piśmiennictwo	258

7. Cukry i proteoglikany 260

- 7.1. Jednocukry (monosacharydy) (*A. Zgirski*) 260
 - 7.1.1. Właściwości fizyczne jednocukrów 260
 - 7.1.2. Właściwości chemiczne jednocukrów 266
 - 7.1.3. Oznaczanie ilościowe jednocukrów 275
 - 7.2. Dwucukry (*A. Zgirski*) 276
 - 7.3. Wielocukry 280
 - 7.3.1. Homoglikany (*A. Zgirski*) 280
 - 7.3.2. Glikozaminoglikuronoglikany (kwaśne mukopolisacharydy) (*M.T. Schmidt*) 283
 - 7.4. Identyfikacja cukrów (*H. Łukasiak*) 292
 - 7.5. Proteoglikany — struktura chemiczna i właściwości (*M.T. Schmidt*) 295
- Piśmiennictwo 305

8. Lipidy i lipoproteiny 306

- 8.1. Lipidy (*R. Wierzbicki*) 306
 - 8.1.1. Podstawowe właściwości fizykochemiczne lipidów 308
 - 8.1.2. Oznaczanie zawartości lipidów w materiale biologicznym 312
 - 8.1.3. Wyodrębnianie i analiza lipidów złożonych 316
 - 8.2. Lipoproteiny i enzymy związane z przemianami lipoprotein (*Z.M. Kilińska*) 320
 - 8.2.1. Materiał i metody oznaczania składników lipidowo-białkowych surowicy krwi 324
- Piśmiennictwo 331

9. Nukleoproteiny i oznaczanie zawartości kwasów nukleinowych 332

- Wprowadzenie 332
 - 9.1. Nukleoproteiny (*L. Klyszejko-Stefanowicz, A. Lipińska*) 332
 - 9.1.1. Niektóre właściwości nukleoprotein 333
 - 9.1.2. Białka związane z RNA 335
 - 9.1.3. Białka związane z DNA 336
 - 9.1.4. Izolowanie RNP 339
 - 9.1.5. Izolowanie DNP i jego komponentów 341
 - 9.1.6. Ogólna analiza preparatów RNP i DNP 345
 - 9.2. Metody oznaczania zawartości kwasów nukleinowych (*Z. Walter*) 347
 - 9.2.1. Metoda Schmidta i Thannhausera 348
 - 9.2.2. Metoda Schneidera 350
 - 9.2.3. Metoda Ogura i Rosen 350
 - 9.2.4. Spektrofotometryczna metoda oznaczania kwasów nukleinowych według Tsaneva i Markova 351
- Piśmiennictwo 358

10. Kwasy nukleinowe 360

- Wprowadzenie (*Z. Walter*) 360
- 10.1. Otrzymywanie preparatów kwasów nukleinowych i ogólne zasady ich izolowania (*J. Błasiak*) 366
 - 10.1.1. Standardowe metody izolowania DNA 369
 - 10.1.2. Izolowanie wysokocząsteczkowego i niskocząsteczkowego DNA 379
 - 10.1.3. Izolowanie RNA 382
 - 10.1.4. Jednoczesne izolowanie RNA i DNA 386
- 10.2. Badanie właściwości kwasów nukleinowych 389
 - 10.2.1. Niektóre właściwości fizyczne i chemiczne kwasów nukleinowych (*J.K. Bartkowiak, R. Wierzbicki*) 389

10.2.2.	Spektrofotometria kwasów nukleinowych (<i>J.K. Bartkowiak, R. Wierzbicki</i>)	393
10.2.3.	Denaturacja DNA (<i>I. Kulamowicz, R. Oliński</i>)	398
10.2.4.	Badanie stopnia spolimeryzowania DNA metodą wiskozymetryczną (<i>R. Oliński, I. Kulamowicz</i>)	403
10.2.5.	Badanie niejednorodności preparatów DNA (<i>R. Oliński, I. Kulamowicz</i>)	406
10.2.6.	Oscylopolarograficzne i pulsopolarograficzne badanie preparatów DNA (<i>Z. Walter</i>)	407
10.2.7.	Analiza składu nukleotydowego (<i>R. Wierzbicki</i>)	415
10.2.8.	Oznaczanie składu nukleozydowego techniką HPLC (<i>K. Białkowski, R. Oliński</i>)	420
10.3.	Analiza ilościowa i strukturalna kwasów nukleinowych	431
10.3.1.	Analiza ilościowa kwasów nukleinowych (<i>J. Błasiak</i>)	431
10.3.2.	Zastosowanie enzymów restrykcyjnych w analizie DNA (<i>J. Błasiak</i>)	435
10.3.3.	Elektroforetyczna analiza kwasów nukleinowych w żelu agarozowym i poliakrylamidowym (<i>J. Błasiak</i>)	437
10.3.4.	Analiza kwasów nukleinowych przez hybrydyzację (<i>J.K. Bartkowiak</i>)	452
10.3.5.	Analiza kwasów nukleinowych techniką PCR (<i>J.K. Bartkowiak</i>)	463
	Piśmiennictwo	468
11.	Enzymy	471
11.1.	Ogólne właściwości enzymów (<i>A. Zgirski</i>)	471
11.2.	Izolowanie i oznaczanie enzymów (<i>A. Zgirski</i>)	475
11.2.1.	Izolowanie enzymów	475
11.2.2.	Oznaczanie aktywności enzymów	476
11.2.3.	Rola oznaczania enzymów w diagnostyce klinicznej	480
11.3.	Kinetyka reakcji enzymatycznych (<i>A. Zgirski</i>)	483
11.3.1.	Stała i rząd reakcji	483
11.3.2.	Stała Michaelisa	489
11.3.3.	Czynniki wpływające na szybkość reakcji enzymatycznych	496
11.3.4.	Wykreślanie danych kinetyki enzymatycznej i wyznaczanie typów inhibicji	503
11.4.	Badania jakościowe niektórych enzymów (<i>A. Zgirski</i>)	520
11.4.1.	Oksydoreduktazy (klasa 1)	520
11.4.2.	Hydrolazy (klasa 3)	523
11.5.	Metody oznaczania niektórych enzymów	529
11.5.1.	Dehydrogenaza mleczanowa (LDH) (<i>A. Zgirski</i>)	529
11.5.2.	Ceruloplazmina (Cp) (<i>A. Zgirski</i>)	531
11.5.3.	Peroksydazy roślinne (<i>H. Urbanek</i>)	541
11.5.4.	Rybonukleazy (RNazy) (<i>Z. Walter</i>)	544
11.5.5.	Aminotransferazy: asparaginianowa (AST) i alaninowa (ALT) (<i>A. Zgirski</i>)	549
11.5.6.	Acetylocholinoesteraza (AChE) i cholinoesteraza (ChE) (<i>A. Zgirski</i>)	554
11.5.7.	Hydrolazy monoestrów fosforanowych (fosfatazy zasadowe i kwasowe) (<i>A. Zgirski</i>)	556
11.5.8.	Proteinazy chromatynowe (<i>A. Lipińska</i>)	560
11.5.9.	Amylazy (<i>H. Urbanek, A. Zgirski</i>)	562
11.5.10.	Amoniazo-liazy (<i>H. Urbanek</i>)	564
11.6.	Cytochrom c (<i>E. Łoza</i>)	566
11.7.	Chlorofil (<i>H. Urbanek</i>)	571
	Piśmiennictwo	573

12. Krew 576

- 12.1. Właściwości ogólne krwi (*A. Zgirski, M. Hilewicz-Grabska*) 576
 - 12.1.1. Skład krwi 576
 - 12.1.2. Ciśnienie osmotyczne i hemoliza krwi 576
 - 12.1.3. Pobieranie i odbiałczanie krwi 580
 - 12.1.4. Wykrywanie niektórych składników surowicy 581
- 12.2. Białka krwi (*A. Zgirski, M. Hilewicz-Grabska*) 582
 - 12.2.1. Hemoglobina — białko erytrocytów 582
 - 12.2.2. Białka surowicy krwi 588
 - 12.2.3. Glikoproteiny (*B. Wachowicz*) 590
- 12.3. Niebiałkowe składniki organiczne (*A. Zgirski, M. Hilewicz-Grabska*) 592
 - 12.3.1. Mocznik 592
 - 12.3.2. Kwas moczowy 596
 - 12.3.3. Kreatyna i kreatynina 598
 - 12.3.4. Bilirubina 599
 - 12.3.5. Glukoza 603
- 12.4. Składniki nieorganiczne krwi (*A. Zgirski, M. Hilewicz-Grabska*) 606
 - 12.4.1. Wiadomości ogólne 606
 - 12.4.2. Wapń 607
 - 12.4.3. Żelazo 609
 - 12.4.4. Miedź 612
 - 12.4.5. Chlorki 615
 - 12.4.6. Fosfor 618
- 12.5. Krzepnięcie krwi (*T. Krajewski, P. Nowak*) 623
 - 12.5.1. Hemostaza ogólna 623
 - 12.5.2. Fibrinogen, struktura, właściwości fizykochemiczne i biologiczne 626
 - 12.5.3. Mechanizm krzepnięcia krwi 629
 - 12.5.4. Fibrino(geno)liza 639
 - 12.5.5. Metody izolowania fibryny(ogenu) oraz badanie ich właściwości fizykochemicznych i biologicznych 645
 - 12.5.6. Ogólne badanie krzepnięcia krwi 652
 - 12.5.7. Oznaczanie niektórych czynników układu krzepnięcia i fibrynolizy 656
- 12.6. Płytki krwi, ich aktywacja i udział w hemostazie 665
 - 12.6.1. Charakterystyka płytek krwi (*B. Olas*) 665
 - 12.6.2. Aktywacja płytek krwi (*B. Wachowicz*) 671
 - 12.6.3. Udział płytek krwi w hemostazie (*B. Wachowicz*) 683

Piśmiennictwo 691

13. Mocz (*A. Zgirski*) 695

- 13.1. Powstawanie moczu 695
- 13.2. Skład chemiczny moczu 698
- 13.3. Badanie właściwości fizycznych moczu 700
- 13.4. Badanie chemiczne moczu prawidłowego 702
- 13.5. Badanie chemiczne moczu patologicznego 707
 - 13.5.1. Białko 707
 - 13.5.2. Cukier 708
 - 13.5.3. Związki ketonowe 709
 - 13.5.4. Krew 711
 - 13.5.5. Barwniki żółciowe 711

Piśmiennictwo 712

14. Soki trawienne (A. Zgirski)	713
14.1. Trawienie i wchłanianie	713
14.2. Ślina	715
14.2.1. Skład śliny	715
14.2.2. Badanie śliny	716
14.3. Sok żołądkowy	717
14.3.1. Skład soku żołądkowego	717
14.3.2. Badanie soku żołądkowego	719
14.4. Sok trzustkowy	724
14.4.1. Skład soku trzustkowego	724
14.4.2. Badanie soku trzustkowego	726
14.5. Sok jelitowy	728
14.5.1. Skład soku jelitowego	728
14.5.2. Badanie soku jelitowego	729
14.6. Żółć	730
14.6.1. Skład i znaczenie żółci	730
14.6.2. Badanie żółci	732
Piśmiennictwo	732

Część V Izolowanie i analiza niektórych struktur komórkowych 733

15. Frakcjonowanie morfologiczne komórki	734
15.1. Zarys ultrastruktury i frakcjonowanie komórki (L. Kłyszewko-Stefanowicz)	734
15.2. Przykładowe izolowanie podstruktur komórkowych z nukleoplastu i cytoplastu	740
15.2.1. Otrzymywanie jąder (A. Lipińska)	740
15.2.2. Otrzymywanie błon aparatu Golgiego (M. Hilewicz-Grabska)	742
Piśmiennictwo	745
16. Jądro komórkowe	746
16.1. Izolowanie jąder komórkowych (Z.M. Kiliańska)	746
16.2. Hydrolaza glukozy-6-fosforanowa (EC 3.1.3.9) — enzym znacznikowy siateczki śródplazmatycznej (A. Lipińska)	751
16.3. Chromatyna (A. Lipińska)	753
16.4. Frakcjonowanie jąder komórkowych	756
16.4.1. Enzymatyczne frakcjonowanie jąder komórkowych (W. M. Krajewska)	756
16.4.2. Frakcjonowanie jąder komórkowych z wydzieleniem matriksu jądrowego (Z. M. Kiliańska)	759
Piśmiennictwo	763
17. Mitochondria (Z.M. Kiliańska)	765
Piśmiennictwo	767
18. Różnicowanie komórkowe na przykładzie czerwonych krwinek ptaków i ssaków (W. M. Krajewska)	768
Piśmiennictwo	774

19. Dodatek (R. Wierzbicki, A. Zgirski)	775
--	------------