

Spis treści

Aparatura

I. Podstawowe wyposażenie laboratoryjne	13
I.I. Probówki i naczynia laboratoryjne	13
I.II. Pipety	17
I.II.I. Rodzaje pipet automatycznych	17
I.II.II. Techniki pipetowania	18
I.II.III. Zastosowanie poszczególnych technik pipetowania	19
I.II.IV. ABC zasad pipetowania	19
I.II.V. Pipetowanie cieczy lotnych	19
I.II.VI. Dokładność a precyzja	19
I.II.VII. Podstawy utrzymywania pipet w czystości	20
I.II.VIII. Pipetory	20
I.II.IX. Końcówki do pipet	20
I.III. Lejek Büchnera i kolba Büchnera	21
I.III.I. Schemat postępowania podczas sączenia	21
II. Aparatura pomocnicza	22
II.I. Laboratoryjna waga techniczna	22
II.I.I. Kalibracja wagi	22
II.I.II. Tarowanie wagi	22
II.I.III. Błędy ważenia	22
II.I.IV. Odważanie substancji niebezpiecznych	23
II.I.V. Instrukcja poprawnego ważenia substancji i prawidłowego użytkowania wagi ...	23
II.I.VI. Czyszczenie i konserwacja wagi	23
II.II. Mikroskop świetlny i kontrastowo-fazowy	24
II.II.I. Obserwacja preparatów pod mikroskopem	26
II.III. Blok grzejny z funkcją wytrząsania (termomikser)	28
II.III.I. Kontrola temperatury i częstotliwości	28
II.III.II. Wybrane informacje techniczne	29
II.IV. Łącznia wodna	30
II.IV.I. Opis przyrządu	30
II.V. Wirówki, wirówki próżniowe	31
II.V.I. Podstawowe zasady pracy z typowymi wirówkami laboratoryjnymi	32
II.V.II. Wirówki próżniowe	33
II.VI. Miniwytrząsarki do probówek (typu vortex)	34
III. Techniki przygotowania próbek	35
III.I. Homogenizatory mechaniczne	35
III.I.I. Podstawowe zasady pracy z homogenizatorami mechanicznymi	35
III.II. Homogenizatory ultradźwiękowe	37
III.II.I. Podstawowe zasady pracy z homogenizatorami ultradźwiękowymi	37
III.III. Filtry strzykawkowe	39
III.IV. Kolumnienka SCX – ekstrakcja do fazy stałej	40
III.V. System wysokosprawnej chromatografii ciekowej (HPLC)	41

IV. Metody rozdziału i analizy białek	44
IV.I. Zestaw do elektroforezy w żelu agarozowym	44
IV.I.I. Instrukcja obsługi aparatu	44
IV.II. Zestaw do elektroforezy w żelu poliakrylamidowym	47
IV.III. Zestaw do transferu białek	49
IV.IV. Spektrofotometr	50
Ćwiczenia laboratoryjne	
1. BHP	55
1.1. Cel zajęć	55
1.2. Regulamin laboratorium	55
1.3. Zasady postępowania z odpadami	58
1.4. Wypadki w laboratorium – pierwsza pomoc	59
1.5. Warunki uzyskania zaliczenia	60
2. Izolacja DNA z tkanki roślinnej	61
2.1. Wprowadzenie	61
2.1.1. DNA	61
2.1.2. Elektroforeza	62
2.1.3. Elektroforeza w żelu agarozowym	63
2.1.4. Elektroforeza w żelu poliakrylamidowym	64
2.1.5. Techniki barwienia	64
2.2. Cel ćwiczenia	64
2.3. Materiały	65
2.4. Przebieg ćwiczenia	65
2.4.1. Izolacja materiału genetycznego z komórek zielonego groszku	65
2.4.2. Rozdział elektroforetyczny DNA	66
2.5. Opracowanie wyników	66
2.6. Podsumowanie	67
2.7. Zagadnienia	67
2.8. Literatura	67
3. Wykrywanie obecności antygenów glikanowych przy użyciu techniki Western blotting	68
3.1. Wprowadzenie	68
3.1.1. Wydajność elektrotransferu	68
3.1.2. Detekcja	68
3.1.3. Lektyny	69
3.2. Cel ćwiczenia	70
3.3. Materiały	70
3.4. Przebieg ćwiczenia	71
3.4.1. Polimeryzacja żeli SDS-PAGE	71
3.4.2. Izolacja białek z materiału biologicznego	71
3.4.3. Rozdział elektroforetyczny	72
3.4.4. Transfer białek z żelu poliakrylamidowego na membranę PVDF	72
3.4.5. Detekcja	72
3.5. Opracowanie wyników	72
3.6. Podsumowanie	73
3.7. Zagadnienia	73
3.8. Literatura	73
4. Ilościowe oznaczanie białek	74
4.1. Wprowadzenie	74
4.1.1. Pomiar absorbancji w nadfiolecie	74
4.1.2. Metoda Lowry'ego	74
4.1.3. Metoda Bradforda	74
4.1.4. Metoda BCA (kwas bis-cynchoninowy)	75

4.2. Cel ćwiczenia	75
4.3. Pomiar absorbancji w nadfiolecie	75
4.3.1. Materiały	75
4.3.2. Przebieg ćwiczenia	75
4.3.3. Opracowanie wyników	75
4.4. Pomiar stężenia białek metodą Lowry'ego	76
4.4.1. Materiały	76
4.4.2. Przebieg ćwiczenia	76
4.5. Oznaczanie stężenia białek metodą Bradforda	76
4.5.1. Materiały	76
4.5.2. Przebieg ćwiczenia	77
4.6. Pomiar stężenia białek metodą BCA (kwas bis-cynchoninowy)	77
4.6.1. Materiały	77
4.6.2. Przebieg ćwiczenia	77
4.7. Podsumowanie	78
4.8. Zagadnienia	78
4.9. Przygotowanie roztworów do ćwiczenia	79
4.10. Literatura	79
5. Reakcje enzymatyczne – badanie reakcji rozkładu skrobi przez α -amylazę	80
5.1. Wprowadzenie	80
5.1.1. Skrobia	80
5.1.2. Charakterystyka α -amylazy	80
5.1.3. Czynniki wpływające na aktywność enzymów	81
5.2. Cel ćwiczenia	81
5.3. Materiały	81
5.4. Przebieg ćwiczenia	82
5.4.1. Obserwacja stopniowego rozkładu skrobi przez amylazę w wodzie	83
5.4.2. Badanie inhibitorów i aktywatorów amylazy	83
5.4.3. Określenie wpływu pH na aktywność amylazy	83
5.4.4. Określenie wpływu temperatury na aktywność amylazy	84
5.5. Opracowanie wyników	84
5.6. Zagadnienia	85
5.7. Literatura	85
6. Izolacja i badanie właściwości lizozymu wyizolowanego z białka jaja kurzego z wykorzystaniem chromatografii jonowymiennej	86
6.1. Wprowadzenie	86
6.1.1. Ściana komórkowa bakterii	86
6.1.2. Charakterystyka lizozymu	87
6.1.3. Zastosowanie chromatografii jonowymiennej do izolacji lizozymu	87
6.2. Cel ćwiczenia	88
6.3. Materiały	88
6.4. Przebieg ćwiczenia	89
6.4.1. Przygotowanie białka	89
6.4.2. Filtracja białka	89
6.4.3. Izolacja enzymu – chromatografia jonowymienna	90
6.4.4. Przygotowanie kolumny	90
6.4.5. Izolacja lizozymu	90
6.4.6. Przemycanie kolumny	90
6.4.7. Pomiar spektrofotometryczny	90
6.5. Opracowanie wyników	91
6.6. Zagadnienia	91
6.7. Literatura	91

7. Komórki krwi – podstawowe techniki badawcze	92
7.1. Wprowadzenie	92
7.1.1. Funkcja transportowa	92
7.1.2. Funkcja obronna	92
7.1.3. Zapewnienie stałego środowiska wewnątrz organizmu	92
7.1.4. Białka krwi	93
7.1.5. Elementy morfotyczne	93
7.2. Cel ćwiczenia	95
7.3. Materiały	95
7.4. Przebieg ćwiczenia	96
7.4.1. Liczenie komórek w komorze Bürkera	96
7.4.2. Określenie wartości hematokrytu we krwi	97
7.4.3. Barwienie leukocytów metodą Giemsy	97
7.4.4. Próba krzyżowa	98
7.5. Opracowanie wyników	98
7.6. Podsumowanie	98
7.7. Zagadnienia	98
7.8. Literatura	99
8. Izolacja kofeiny z produktów spożywczych	100
8.1. Wprowadzenie	100
8.2. Cel ćwiczenia	101
8.3. Materiały	101
8.4. Przebieg ćwiczenia	101
8.4.1. Przebieg ćwiczenia dla grupy 1	102
8.4.2. Przebieg ćwiczenia dla grupy 2	103
8.4.3. Przebieg ćwiczenia dla grupy 3	103
8.5. Opracowanie wyników	104
8.6. Podsumowanie	104
8.7. Zagadnienia	104
8.8. Literatura	105
9. Rozdział barwników fotosyntetycznych za pomocą TLC i RP-HPLC	106
9.1. Wprowadzenie	106
9.2. Cel ćwiczenia	107
9.3. Materiały	107
9.4. Przebieg ćwiczenia	108
9.4.1. Przygotowanie materiału roślinnego	108
9.4.2. Rozdział TLC	108
9.4.3. Rozdział RP-HPLC	108
9.5. Opracowanie wyników	110
9.5.1. Rozdział TLC	110
9.5.2. Rozdział RP-HPLC	110
9.6. Podsumowanie	111
9.7. Zagadnienia	111
9.8. Literatura	111
10. Lipidy	112
10.1. Wprowadzenie	112
10.1.1. Podział lipidów	112
10.1.2. Właściwości fizyczne lipidów	112
10.1.3. Właściwości chemiczne lipidów	113
10.1.4. Analiza chemiczna tłuszczów	113
10.2. Cel ćwiczenia	113
10.3. Materiały	113

10.4. Przebieg ćwiczenia	114
10.4.1. Ogólny plan zajęć	114
10.4.2. Izolacja lecytyny	114
10.4.3. Badanie składu lecytyny	114
10.5. Opracowanie wyników	115
10.6. Podsumowanie	116
10.7. Zagadnienia	116
10.8. Literatura	116
11. Identyfikacja cukrów	117
11.1. Wprowadzenie	117
11.1.1. Próba Molischa	117
11.1.2. Próba Seliwanowa	117
11.1.3. Próba Tollensa z floroglucyną	118
11.1.4. Próba Biała	118
11.1.5. Próba Fehlinga	119
11.1.6. Próba Benedicta	119
11.1.7. Próba Barfoeda	119
11.1.8. Reakcja z jodem	120
11.2. Cel ćwiczenia	120
11.3. Materiały	120
11.4. Przebieg ćwiczenia	120
11.4.1. Procedura wykonania próby Molischa	121
11.4.2. Analiza ketoz za pomocą próby Seliwanowa	121
11.4.3. Oznaczanie pentoz w reakcji Tollensa z floroglucyną	121
11.4.4. Wykonanie próby Biała	121
11.4.5. Analiza cukrów redukujących za pomocą próby Fehlinga	121
11.4.6. Przeprowadzenie próby Benedicta	121
11.4.7. Wykonanie próby Barfoeda	121
11.4.8. Oznaczanie polisacharydów w reakcji z jodem	121
11.5. Opracowanie wyników	122
11.6. Podsumowanie	122
11.7. Zagadnienia	123
11.8. Literatura	123
Indeks	124