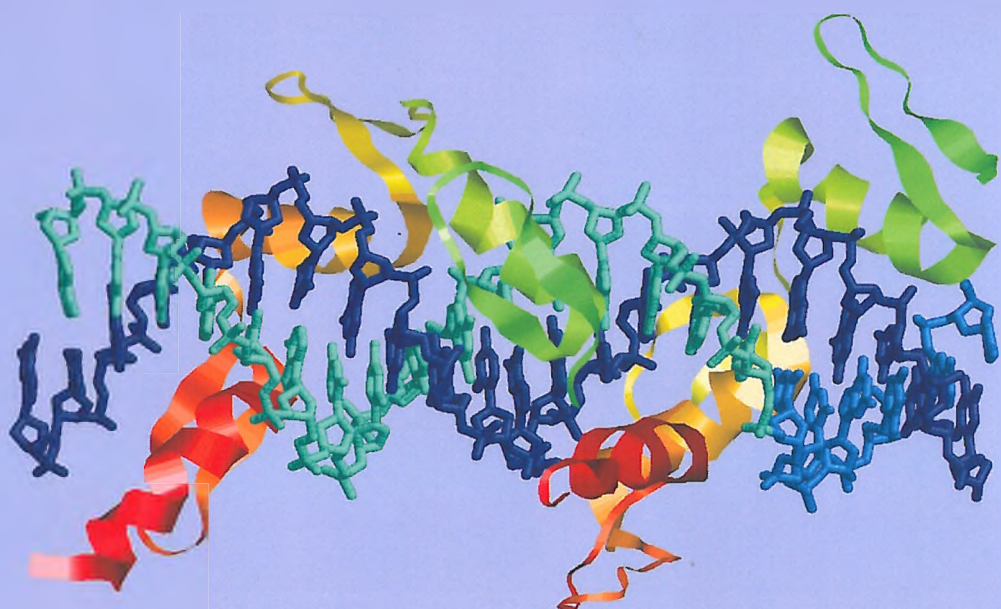


ĆWICZENIA Z BIOCHEMII

DLA STUDENTÓW WYDZIAŁU LEKARSKIEGO

Pod redakcją
Piotra Laidlera, Barbary Piekarskiej, Marii Wróbel



WYDAWNICTWO
UNIwersYTETU
JAGIELLOŃSKIEGO

ĆWICZENIA Z BIOCHEMII

DLA STUDENTÓW WYDZIAŁU LEKARSKIEGO

Pod redakcją
Piotra Laidlera, Barbary Piekarskiej, Marii Wróbel

WYDAWNICTWO
UNIwersytetu
JAGIELLOŃSKIEGO

Spis treści

1. Spektrofotometria absorpcyjna	9
2. Roztwory buforowe – analiza miareczkowa	17
3. Osmolowość roztworów. Badanie oporności osmotycznej erytrocytów	23
4. Kompleksometria	27
5. Aminokwasy i białka	35
5.1. Rozdział mieszaniny aminokwasów metodą podziałowej chromatografii bibułowej	35
5.2. Analiza jakościowa aminokwasów. Wybrane reakcje charakterystyczne	37
5.3. Wyznaczanie ładunku oraz pI aminokwasów, peptydów i białek	39
5.4. Oznaczanie stężenia białek	43
5.5. Dializa	47
5.6. Metody oczyszczania i rozdziału mieszaniny białek	49
5.7. Denaturacja i renaturacja białka	55
5.8. Albumina – interakcja białko–ligand	58
6. Enzymy	61
6.1. Kinetyka enzymatyczna	61
6.2. Trypsyna	67
7. Metabolizm	73
7.1. Łańcuch oddechowy – wprowadzenie do bioenergetyki	73
7.2. Glikoliza	81
7.3. Reaktywne formy tlenu	86
8. Kwasy nukleinowe. Ekspresja genu. Hodowle komórkowe w badaniach biochemicznych	95
8.1. DNA – wizualizacja modeli helisy B DNA oraz kompleksu DNA–białko	95
8.2. Od genu do białka I – wyszukiwanie w internetowej bazie danych informacji o genach, mRNA i białku	97
8.2.1. Analiza struktury genu i mRNA dla kwaśnej fosfatazy prostatowej	99
8.2.2. Analiza struktury genu i mRNA dla kolagenu typu III	103
8.2.3. Analiza struktury genu i mRNA dla albuminy osocza	105
8.3. Od genu do białka II – izolowanie DNA i RNA z komórek linii hodowlanych ...	108
8.3.1. Izolowanie DNA	110
8.3.2. Izolowanie RNA	112

8.3.3. Efekt hiperchromowy.....	117
8.4. Od genu do białka III	119
8.4.1. Wykorzystanie metody PCR oraz RT-PCR do potwierdzenia obecności genu oraz mRNA	119
8.4.2. Rozdział elektroforetyczny produktów PCR i RT-PCR oraz genomowego DNA i całkowitego RNA, wyizolowanych z komórek	121
8.4.3. Oznaczanie aktywności kwaśnej fosfatazy prostatowej w hodowlach komórkowych linii LNCaP i PC-3	124
8.5. Od genu do białka IV	129
8.5.1. Kwaśna fosfataza prostatowa – hamowanie aktywności, struktura, mechanizm katalizy.....	129
8.6. Badanie cytotoksyczności wybranych preparatów stosowanych w stomatologii zachowawczej oraz fluorku sodu w hodowli fibroblastów ludzkich	134
Sprawozdania z ćwiczeń.....	139
Lista zajęć laboratoryjnych.....	141
Sprawozdania z ćwiczeń wspólne dla kierunków: lekarski, lekarsko-dentystyczny – rok II; dietetyka.....	143
Spektrofotometria (Ćwiczenie 1).....	145
Roztwory buforowe – analiza miareczkowa (Ćwiczenie 2).....	147
Osmolowość roztworów. Badanie oporności osmotycznej erytrocytów (Ćwiczenie 3). Kompleksometria (Ćwiczenie 4).....	149
Aminokwasy (Ćwiczenia 5.1, 5.2, 5.3)	151
Kinetyka enzymatyczna (Ćwiczenie 6.1).....	155
Łańcuch oddechowy (Ćwiczenie 7.1)	159
Glikoliza (Ćwiczenie 7.2).....	163
Reaktywne formy tlenu – badanie wytwarzania i usuwania (Ćwiczenie 7.3).....	165
Sprawozdania z ćwiczeń dla kierunku lekarskiego.....	167
Białka I (Ćwiczenia 5.4, 5.5).....	169
Białka II. Metody oczyszczania i rozdzielania mieszanin białek (Ćwiczenie 5.6).....	173
Od genu do białka I. Analiza struktury genu i mRNA dla kwaśnej fosfatazy prostatowej (Ćwiczenia 8.2–8.2.1)	177
Od genu do białka II. Izolowanie DNA i RNA z hodowli komórek nowotworu prostaty (Ćwiczenia 8.3–8.3.1, 8.3.2 – wariant A, 8.3.3)	181
Od genu do białka III. PCR. Rozdział elektroforetyczny DNA, całkowitego RNA oraz produktów PCR i RT-PCR (Ćwiczenie 8.4).....	183
Od genu do białka IV. Kwaśna fosfataza prostatowa – hamowanie aktywności, struktura, mechanizm katalizy. Denaturacja i renaturacja białka (Ćwiczenia 5.7, 8.5)	185
Sprawozdania z ćwiczeń dla kierunku lekarsko-dentystycznego – II rok	187
Białka (Ćwiczenia 5.4, 5.6, 5.7)	189
Kwasy nukleinowe (Ćwiczenia 8.1, 8.3.1–8.3.3, 8.4.2).....	191
Sprawozdania z ćwiczeń dla kierunku lekarsko-dentystycznego – rok IV, <i>biochemia jamy ustnej</i>	193
Analiza struktury genu i mRNA dla kolagenu typu III (Ćwiczenia 8.2–8.2.2)	195
Izolowanie DNA i RNA z hodowli fibroblastów (Ćwiczenia 8.3–8.3.1, 8.3.2 – wariant B)	197

PCR. Rozdział elektroforetyczny DNA, całkowitego RNA oraz produktów PCR i RT-PCR (Ćwiczenia 8.4.1 – wariant B, 8.4.2 – wariant B).....	199
Badanie cytotoksyczności składników wypełnień dentystycznych oraz fluorku sodu w hodowli fibroblastów ludzkich (Ćwiczenie 8.6).....	201
Sprawozdania z ćwiczeń dla kierunku dietetyka	203
Białka I. Metody oczyszczania i rozdziału mieszanin białek. Wyznaczenie ładunku oraz pI aminokwasów, peptydów i białek (Ćwiczenia 5.3, 5.4, 5.6).....	205
Białka II. Oznaczenie stężenia białek. Denaturacja i renaturacja białka (Ćwiczenia 5.4, 5.7).....	207
Trypsyna. Struktura centrum aktywnego. Wpływ pH i inhibitorów na aktywność enzymu (Ćwiczenie 6.2)	209
Kwasy nukleinowe (Ćwiczenia 8.1, 8.3.3, 8.4.2)	211
Albumina. Analiza struktury genu i mRNA albuminy osocza. Interakcja białko–ligand. Dializa (Ćwiczenia 8.2–8.2.3, 5.5, 5.8).....	213