

**KLTE, TERMÉSZETTUDOMÁNYI KAR
BIOKÉMIAI TANSZÉK**

BIOKÉMIAI GYAKORLATOK

Összeállította:

DR. KANDRA LILI

egyetemi docens

KÉZIRAT

DEBRECEN, 1995

TARTALOMJEGYZÉK

| | |
|--|----|
| Előszó | 3 |
| Tartalomjegyzék | 4 |
| ÁLTALÁNOS VIZSGÁLÓ MÓDSZEREK | |
| SPEKTROFOTOMETRIA (Gyémánt Gy.) | 6 |
| POLARIMETRIA (Gyémánt Gy.) | 7 |
| ELEKTROFORÉZIS (Kandra L.) | 8 |
| Poliakrilamid-gél elektroforézis (PAGE) | 9 |
| KROMATOGRÁFIÁS MÓDSZEREK (Gyémánt Gy.) | 11 |
| GÉLKROMATOGRÁFIA | 13 |
| VÉKONYRÉTEG-KROMATOGRÁFIA (VRK) | 18 |
| GÁZKROMATOGRÁFIA (GC) | 19 |
| NAGYNYOMÁSÚ FOLYADÉKKROMATOGRÁFIA (HPLC) | 23 |
| BIOKÉMIAI ANALITIKAI MÓDSZEREK | |
| SZÉNHIRÁTOK VIZSGÁLATA (Gyémánt Gy.-Kandra L.) | 28 |
| I. Szénhidrátok színreakciói, kimutatásuk (Borbás A.) | 28 |
| 1. Savas-hidrolízis termékek színreakciói | 28 |
| 2. Redukáló cukrok kimutatása | 29 |
| 3. Maltóz, szacharóz hidrolízise | 30 |
| 4. Poliszacharidok kimutatása | 31 |
| II. Szénhidrátok mennyiségi meghatározása (Borbás A.) | 32 |
| III. Cukrok vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálata (Borbás A.) | 33 |
| IV. Szacharóz savas és enzimés hidrolízisének tanulmányozása polarimetrián | 34 |
| V. Monoszacharidok alditol-acetátjainak előállítása és gázkromatográfiás elválasztása | 35 |
| VI. Glükóz, fruktóz és szacharóz meghatározása természetes eredetű anyagokból HPLC és VRK módszerrel | 37 |
| VII. C-vitamin meghatározása | 38 |
| LIPIDEK VIZSGÁLATA (Gyémánt Gy.) | 41 |
| I. A lipidösszetétel hatása a lipid határfelületi réteg permeabilitására | 41 |
| II. Neutrális zsírok összetételének vizsgálata | 42 |
| III. Illóolajok vizsgálata | 43 |
| IV. Lecitin kimutatása tyúktojás sárgájában és margarinban | 44 |
| V. Koleszterin kimutatása az agyban és disznózsírban | 45 |
| VI. A-vitamin kimutatása sárgarépa- és csukamájolajban | 47 |
| NUKLEINSAVAK VIZSGÁLATA (Kandra L.) | 48 |
| I. Nukleinsavak hidrolízise | 48 |
| II. Nukleinsavak kivonása és mennyiségi meghatározása | 49 |
| III. DNS oldat hiperkróm effektusának mérése | 53 |
| FEHÉRJÉK VIZSGÁLATA (Kandra L.) | 54 |
| I. Fehérjék színreakciói, kimutatásuk (Borbás A.) | 54 |
| II. Fehérjék kicsapása, denaturáció | 57 |
| III. Zselatin izoelektromos pontjának mérése | 61 |

| | |
|--|----|
| IV. Fehérjék tisztítása dialízissel | 62 |
| V. Szérum aminosav tartalmának meghatározása ioncserélő VRK-val | 64 |
| VI. Sephadex G-25 oszlop térfogati paramétereinek meghatározása | 65 |
| VII. Szérumfehérjék mennyiségi meghatározása és frakcionálása | 67 |
| VIII. Lizozim izolálása tojásfehérjéből gélkromatográfiával | 69 |
| IX. Fehérjék molekulatömegének meghatározása SDS-poliakrilamid gradiens gélelektroforézissel | 71 |

ENZIMOLÓGIAI ÉS MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI MÓDSZEREK

| | |
|---|-----|
| AZ ENZIMEK MŰKÖDÉSÉNEK ELMÉLETI ALAPJAI (Keresztessy Zs.-Kiss L.) | 73 |
| NÖVÉNYI KATALÁZ VIZSGÁLATA (Kandra L.) | 77 |
| α -AMILÁZ AKTIVITÁSÁNAK MEGHATÁROZÁSA SZÉRUMBAN (Kandra L.) | 79 |
| ZSIROK EMÉSZTÉSE, AZ EPE VIZSGÁLATA (Kandra L.) | 81 |
| AZ ACETIL-KOLIN ÉSZTERÁZ VIZSGÁLATA (Kandra L.) | 85 |
| ÉDES MANDULÁBÓL SZÁRMAZÓ EMULZIN β -D-GLÜKOZIDÁZ ENZIMKINETIKAI VIZSGÁLATA (Kiss L.-Keresztessy Zs.) | 90 |
| I. A p-Nitrofenolát kalibrációs görbe felvétele | 91 |
| II. A K_m és V_{max} kinetikai paraméterek meghatározása p-Nitrofenil- β -D-glükopiranozid (PNP-Glc) szubsztráttal | 92 |
| III. Az enzimkoncentráció hatása a reakciósebességre | 93 |
| IV. A tiofenil- β -D-glükopiranozid (TP-Glc) szubsztrátanalóg inhibitor gátló hatásának vizsgálata | 93 |
| V. Az enzim működésének hőmérsékleti optimuma, az aktiválási szabadentalpia (ΔG) meghatározása. | 94 |
| VI. Az enzim működésének pH-optimuma, az enzim aktivitásában szerepet játszó katalitikus aminosav oldalláncok savi disszociációs állandójának meghatározása | 95 |
| E.COLI BAKTÉRIUM β -D-GALAKTOZIDÁZÁNAK ENZIMKINETIKAI VIZSGÁLATA (Pócsi I.- Keresztessy Zs.) | 97 |
| PLAZMID DNS GYORS IZOLÁLÁSA (GYORS TESZT) (Keresztessy Zs.) | 103 |
| PLAZMID ÉS E. COLI KROMOSZÓMÁLIS DNS HASITÁSA RESTRIKCIÓS ENDONUKLEÁZZAL (Keresztessy Zs.) | 105 |
| REAGENSEK KÉSZÍTÉSÉNEK RECEPTEI (Dobolyi G.A.) | 112 |