

D2177
je

QD415.3 B64

DEBRECENI EGYETEM
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
BIOKÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI INTÉZET

BIOKÉMIAI GYAKORLATOK

2010. évi változatlan utánnomás

SZERKESZTETTE:
TEICHMANN FARKAS

Debreceni Egyetemi Kiadó
Debrecen University Press
2011

TARTALOMJEGYZÉK

A BIOKÉMIAI LABORATÓRIUMOK MUNKAVÉDELMI SZABÁLYAI	I
ELSŐSEGÉLYNYÚJTÁS BALESETEK SORÁN	I
ÁLTALÁNOS TUDNIVALÓK	II
LIZOZIM TISZTÍTÁSA TOJÁSFEHÉRJÉBŐL GÉLSZŰRÉSSSEL	1
1. VÉGEZZE EL A GÉLSZŰRÉST	2
2. HATÁROZZA MEG AZ EGYES FRAKCIÓK FEHÉRJETARTALMÁT BIURET-REAKCIÓVAL	3
3. MÉRJE MEG AZ EREDETI TOJÁSFEHÉRJE-OLDAT FEHÉRJETARTALMÁT	3
4. HATÁROZZA MEG AZ EREDETI TOJÁSFEHÉRJE-OLDAT LIZOZIMAKTIVITÁSÁT	3
5. HATÁROZZA MEG A GÉLSZŰRÉSSSEL GYŰJTÖTT FRAKCIÓK LIZOZIMAKTIVITÁSÁT	4
6. ÁBRÁZOLJA GRAFIKUSAN A FRAKCIÓK FEHÉRJETARTALMÁT ÉS LIZOZIMAKTIVITÁSÁT	4
7. SZÁMÍTSA KI, HOGY AZ OSZLOPRA FELVITT 3 ML TOJÁSFEHÉRJÉBEN TALÁLHATÓ LIZOZIMNAK HÁNY %-ÁT NYERTE VISSZA A TISZTÍTÁS SORÁN	4
8. SZÁMÍTSA KI A MÉRÉSI ADATOK ALAPJÁN HÁNYSZOROS AZ ENZIM TISZTULÁSA	4
AMINOSAVAK REAKCIÓI. A HEMOGLOBIN VIZSGÁLATA	5
1. SZÉRUM ÉS VIZELET AMINOSAVTARTALMÁNAK VIZSGÁLATA VÉKONYRÉTEGŰ IONCSERELŐ KROMATOGRÁFIÁVAL	5
2. HEMOGLOBIN MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA	7
3. GLIKOZILÁLT HEMOGLOBIN MEGHATÁROZÁSA	7
KÍSÉRLETEK FOSZFATÁZZAL	9
1. PNP REFERENCIASOR KÉSZÍTÉSE	9
2. AZ ENZIMREAKCIÓ IDŐFÜGGÉSE	10
3. SZUBSZTRÁTKONCENTRÁCIÓ HATÁSA A REAKCIÓSEBESSÉGRE	11
4. KOMPETITÍV GÁTLÁS ORTO-FOSZFÁTTAL	12
5. NEM KOMPETITÍV GÁTLÁS NAF-DAL	13
SZÉRUMFEHÉRJÉK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA ÉS FRAKCIONÁLÁSA... 15	
1. GLOBULIN KISÓZÁS	15
2. ALBUMIN SÓMENTESÍTÉSE SEPHADEX G-25 OSZLOPON	15
3. SÓMENTESÍTETT ALBUMIN-FRAKCIÓK, SZÉRUM ÉS GLOBULIN-OLDAT FEHÉRJETARTALMÁNAK MEGHATÁROZÁSA BIURET-REAKCIÓVAL	16
4. ALBUMIN MEGHATÁROZÁSA BRÓMKREZOLBÍBORRAL	17
5. SZÉRUMFEHÉRJÉK ELEKTROFORÉZISE CELLULÓZACETÁT-MEMBRÁNON	17
A VÉRALVADÁS VIZSGÁLATA	19
VÉRALVADÁS ÉS ALVADÁSGÁTLÓK	19
1. TELJES VÉR MEGALVASZTÁSA REKALCIFIKÁLÁSSAL (GLOBÁLIS TESZT)	21
2. PLAZMA KINYERÉSE A TOVÁBBI KÍSÉRLETEKHEZ	21
3. REFERENCIASOR KÉSZÍTÉSE FEHÉRJEMÉRÉSHEZ	21
4. FIBRINOGEN JELENLÉTÉNEK TESZTELÉSE (FAKTOR TESZT)	22
5. TROMBIN-IDŐ MEGHATÁROZÁSA ÉS A XIII-AS FAKTOR HATÁSÁNAK TANULMÁNYOZÁSA (FÁZIS TESZT)	22
KLINIKAI JELENTŐSÉG	23
LIPIDEK VIZSGÁLATA	25
1. NEUTRÁLIS ÉS FOSZFOLIPIDEK ELVÁLASZTÁSA, KIMUTATÁSA	25
2. SZABADZSÍRSAV-KONCENTRÁCIÓ MEGHATÁROZÁSA PLAZMÁBAN	27
PROTEOLITIKUS ENZIMEK VIZSGÁLATA	31
TRIPSZIN ÉS KIMOTRIPSZIN SZUBSZTRÁTSPECIFICITÁSÁNAK VIZSGÁLATA	31
1. FEHÉRJE REFERENCIASOR KÉSZÍTÉSE STANDARD FEHÉRJEOLDATTAL	31

2. SZUBSZTRÁTSPECIFICITÁS VIZSGÁLATA.....	32
3. SZÓJA TRIPSZININHIBITOR-AKTIVITÁS VIZSGÁLATA.....	32
GLIKOLITIKUS ENZIMEK.....	35
ELMÉLETI HÁTTÉR	35
1. GLIKOLÍZIS.....	35
2. GLIKOLITIKUS ENZIMEK	35
3. AZ LDH IZOFORMÁK ELEKTROFORETIKUS ELVÁLASZTÁSA (BEMUTATÁS)	42
ENZIMAKTIVITÁS (U, KATAL)	45
GLIKOLÍZIS	47
A GLIKOLÍZIS VIZSGÁLATA IZOMPORRAL	47
1. FOSZFÁT REFERENCIASOR KÉSZÍTÉSE.....	48
2. GLIKOLÍZIS VIZSGÁLATA.....	49
3. TRIKLÓRECETSAVAS SZŰRLETEK ELEMZÉSE	49
TRANSZAMINÁZOK VIZSGÁLATA.....	51
1. A TRANSZAMINÁZ-REAKCIÓ MEGFORDÍTHATÓSÁGA	51
2. GLUTAMÁT-OXÁLACETÁT-TRANSZAMINÁZ ÉS GLUTAMÁT-PIRUVÁT-TRANSZAMINÁZ AKTIVITÁSÁNAK MEGHATÁROZÁSA SZÉRUMBAN ÉS SZÖVETKIVONATBAN SZÍNREAKCIÓVAL	52
3. SZÉRUM GOT ÉS GPT AKTIVITÁSÁNAK MEGHATÁROZÁSA OPTIKAI TESZTTEL	54
AZ UREASZINTÉZIS VIZSGÁLATA	57
1. UREAMEGHATÁROZÁS DIACETILMONOXIMMAL	57
2. AZ UREAMEGHATÁROZÁS KLINIKAI JELENTŐSÉGE	58
3. UREASZINTÉZIS PATKÁNY MÁJHOMOGENIZÁTUMMAL	58
VIZSGÁLATOK NUKLEINSAVAKKAL	63
1. NUKLEINSAVAK KIVONÁSA CSIRKEMÁJBÓL	63
2. NUKLEINSAV-KOMPONENSEK KROMATOGRÁFIÁJA VÉKONYRÉTEGEN.....	64
3. NUKLEINSAVAK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA	64
BIOTRANSZFORMÁCIÓS ENZIMEK VIZSGÁLATA	67
1. ANILIN HIDROXILÁZ AKTIVITÁSÁNAK MÉRÉSE.....	67
2. UDP-GLÜKURONIL TRANSZFERÁZ AKTIVITÁSÁNAK MÉRÉSE	71
NEUROTRANSMISSZIÓBAN RÉSZTVEVŐ ENZIMEK AKTIVITÁSÁNAK MÉRÉSE	75
1. VIZSGÁLATOK (PSZEUDO)KOLIN ESZTERÁZZAL	75
AKTIVITÁSMÉRÉS SZÉRUMBAN	77
K_M ÉS V_{MAX} MEGHATÁROZÁSA	78
ENZIMGÁTLÁS MÉRÉSE, K_I MEGHATÁROZÁSA	78
2. MONOAMINO OXIDÁZ AKTIVITÁSÁNAK MÉRÉSE.....	80
A POLIMERÁZ LÁNCREAKCIÓ (PCR).....	85
A PCR REAKCIÓ KIVITELEZÉSE.....	85
PCR LABORGYAKORLAT ELSŐÉVES ORVOSTANHALLGATÓKNAK.....	86
FÜGGELÉK 1.....	89
MINTA A GYAKORLATI JEGYZŐKÖNYV VEZETÉSÉHEZ, FIKTÍV ADATOKKAL	89
SZÉRUMFEHÉRJÉK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA ÉS FRAKCIONÁLÁSA	89
FEHÉRJE MEGHATÁROZÁSA SZÉRUMBAN, A GLOBULINFRAKCIÓBAN ÉS A GÉLSZŰRÉS FRAKCIÓIBAN..	90
ALBUMIN MEGHATÁROZÁSA BRÓMKREZOLBÍBORRAL	92
SZÉRUMFEHÉRJÉK ELEKTROFORÉZISE CELLULÓZ-ACETÁT MEMBRÁNON	93
A JEGYZŐKÖNYVVEZETÉS SZEMPONTJAINAK ÖSSZEFOGLALÁSA	93
FOTOMETRIA	97

KEZELÉSI ÚTMUTATÓ A SPEKTROMOM 410 FOTOMÉTERHEZ	103
KEZELÉSI ÚTMUTATÓ A SPECTRONIC 20 GENESYS SPEKTROFOTOMÉTERHEZ	103
PUFFEREK	105
ENZIMKINETIKA	107
ENZIMGÁTLÁSOK.....	109
1. IRREVERZIBILIS GÁTLÁS.....	109
2. REVERZIBILIS GÁTLÁS.....	109
A./ KOMPETITÍV GÁTLÁS	109
B./ NEM KOMPETITÍV GÁTLÁS	110
C./ UN-KOMPETITÍV GÁTLÁS	110
KROMATOGRÁFIÁS ELVÁLASZTÁSI MÓDSZEREK.....	113
A KROMATOGRÁFIÁS MÓDSZEREK ELVE	113
A KROMATOGRÁFIÁS MÓDSZEREK CSOPORTOSÍTÁSA.....	113
KVANTITATÍV VÁLTOZÓK ÖSSZEFÜGGÉS-VIZSGÁLATA	117
LINEÁRIS REGRESSZIÓ.....	117
MINIMUM KÉPLETLISTA.....	119
SZÉNHIDRÁTOK ÉS SZÁRMAZÉKAIK	121
LIPIDEK ÉS SZÁRMAZÉKAIK	123
AMINOSAVAK ÉS SZÁRMAZÉKAIK	125
NUKLEOTIDOK ÉS SZÁRMAZÉKAIK.....	127
VITAMINOK ÉS SZÁRMAZÉKAIK	129
KÖTÉSTÍPUSOK	130
TÁRGYMUTATÓ.....	131