

Wykaz skrótów 15

## **CZEŚĆ I. WIADOMOŚCI PODSTAWOWE 23**

Wstępne uwagi praktyczne 24

### **1. Roztwory (A. Zgirski) 28**

- 1.1. Steżenia 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  $C$  Cochra 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  $\chi^2$  70
- Piśmiennictwo 72

## **CZEŚĆ 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 roztworów do prawa Lamberta-Beera 88
- Piśmiennictwo 90

### **4. Chromatografia 91**

- Wprowadzenie (L. Kłyszewko-Stefanowicz) 91
- 4.1. Wiadomości podstawowe (L. Kłyszewko-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. Kłyszewko-Stefanowicz) 97
  - 4.2.1. Adsorbenty i rozpuszczalniki 98

- 4.2.2. Czynniki wpływające na powinowactwo adsorpcyjne **100**
- 4.3. Chromatografia jonowymienna (*L. Kłyszewko-Stefanowicz, A. Lipińska*) **103**
  - 4.3.1. Charakterystyka procesu wymiany jonów **103**
  - 4.3.2. Klasyfikacja jonitów **106**
- 4.4. Chromatografia podziałowa (*L. Kłyszewko-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  
jedenocukrów  
(*E. Majkowska*) **133**
  - 4.5.5. Chromatografia cienkowarstwowa alkaloidów glistnika jaskółczego ziela – *Chelidonium  
majus*  
(*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. Kłyszewko-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. Elektrochromatograficzny 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. Kiliańska*) **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. Kłyszewko-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 (*J.K. Bartkowiak, R. Wierzbicki*) **393**

10.2.3. Denaturacja DNA (*I. Kulamowicz, R. Oliński*) **398**

10.2.4. Badanie stopnia spolimeryzowania DNA metodą wiskozymetryczną (*R. Oliński, I. Kulamowicz*) **403**

10.2.5. Badanie niejednorodności preparatów DNA (*R. Oliński, I. Kulamowicz*) **406**

10.2.6. Oscylopolarograficzne i pulsopolarograficzne badanie preparatów DNA (*Z. Walter*) **407**

10.2.7. Analiza składu nukleotydowego (*R. Wierzbicki*) **415**

10.2.8. Oznaczanie składu nukleozydowego techniką HPLC (*K. Białkowski, R. Oliński*) **420**

10.3. Analiza ilościowa i strukturalna kwasów nukleinowych **431**

10.3.1. Analiza ilościowa kwasów nukleinowych (*J. Błasiak*) **431**

10.3.2. Zastosowanie enzymów restrykcyjnych w analizie DNA (*J. Błasiak*) **435**

10.3.3. Elektroforetyczna analiza kwasów nukleinowych w żelu agarozowym i poliakrylamidowym

(*J. Błasiak*) **437**

- 10.3.4. Analiza kwasów nukleinowych przez hybrydyzację (*J.K. Bartkowiak*) **452**
- 10.3.5. Analiza kwasów nukleinowych techniką PCR (*J.K. Bartkowiak*) **463**

Piśmiennictwo **468**

**11. Enzymy 471**

- 11.1. Ogólne właściwości enzymów (*A. Zgirski*) **471**
  - 11.2. Izolowanie i oznaczanie enzymów (*A. Zgirski*) **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 (*A. Zgirski*) **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 (*A. Zgirski*) **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) (*A. Zgirski*) **529**
    - 11.5.2. Ceruloplazmina (Cp) (*A. Zgirski*) **531**
    - 11.5.3. Peroksydazy roślinne (*H. Urbanek*) **541**
    - 11.5.4. Rybonukleazy (RNazy) (*Z. Walter*) **544**
    - 11.5.5. Aminotransferazy: asparaginianowa (AST) i alaninowa (ALT) (*A. Zgirski*) **549**
    - 11.5.6. Acetylocholinoesteraza (AChE) i cholinoesteraza (ChE) (*A. Zgirski*) **554**
    - 11.5.7. Hydrolazy monoestrów fosforanowych (fosfatazy zasadowe i kwasowe) (*A. Zgirski*) **556**
    - 11.5.8. Proteinyazy chromatynowe (*A. Lipińska*) **560**
    - 11.5.9. Amylazy (*H. Urbanek, A. Zgirski*) **562**
    - 11.5.10. Amoniako-liazy (*H. Urbanek*) **564**
  - 11.6. Cytochrom *c* (*E. Łoza*) **566**
  - 11.7. Chlorofil (*H. Urbanek*) **571**
- Piśmiennictwo **573**

**CZEŚĆ IV. ANALIZA PŁYNÓW USTROJOWYCH 575**

**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. Fibrynogen, struktura, właściwości fizykochemiczne i biologiczne **626**
  - 12.5.3. Mechanizm krzepnięcia krwi **629**
  - 12.5.4. Fibryno(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. Kłyszajko-Stefanowicz*) **734**
- 15.2. Przykładowe izolowanie podstruktur komórkowych z nukleoplastu i cytoplastu **740**
  - 15.2.1. Otrzymywanie jąderek (*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**

Skorowidz **795**