

**1) Základní operace s biologickým materiálem.**

Homogenizace tkání a extrakce buněčného obsahu. Dialýza a ultrafiltrace. Preparativní a analytická centrifugace, centrifugace v hustotním gradientu.

**2) Chromatografické metody.**

Kapalinová a plynová chromatografie. Adsorpční, iontoměničová, gelová a afinitní chromatografie proteinů. HPLC a perfúzní chromatografie, monolitické kolony. Chromatofokusace. Dvojměrná chromatografie.

**3) Elektromigrační metody.**

Gelová elektroforéza, provedení kontinuální a diskontinuální, jednorozměrná a dvojměrná elektroforéza. Isoelektrická fokusace. Kapilární elektroforéza. Blotting – dělení podle typu vzorku a provedení. Nativní elektroforéza proteinových komplexů. Kapilární elektroforéza.

**4) Metody studia proteinů.**

Stanovení koncentrace proteinů ve vzorku. Analýza aminokyselinového složení a sekvence proteinů. Studium posttranslačních modifikací. Chemické modifikace proteinů, biotinylace a vytvoření příčné vazby. Chemická syntéza peptidů (Bruce Merrifield).

**5) Analýza nukleových kyselin.**

Mapování DNA restrikčními endonukleasami. Elektroforéza a blotting nukleových kyselin. Čipové technologie analýzy nukleových kyselin. Sekvencování DNA (Sangerova metoda, metody druhé a třetí generace). Polymerasová řetězová reakce (PCR) a její aplikace. Chemická syntéza oligonukleotidů.

**6) Hmotnostní spektrometrie biomolekul.**

Ionizační techniky MALDI a ESI. Typy hmotnostních analyzátorů. Peptidové hmotnostní mapování (fingerprinting), tandemová hmotnostní spektrometrie. Fragmentace peptidů, *de novo* sekvencování. Charakterizace posttranslačních modifikací. Hmotnostní spektrometrie lipidů,

**7) Proteiny jako biomarkery v medicíně.**

Klinická proteomika. Metoda DIGE. Hmotnostní spektrometrie mikroorganismů. Zobrazovací hmotnostní spektrometrie. Kvantifikace proteinů pomocí hmotnostní spektrometrie.

**8) Imunochemické metody.**

Strukturní rysy imunoglobulinů. Polyklonální a monoklonální protilátky a jejich příprava. Imunodifúze a imunoelktroforéza. Immunoblotting a mikroskopické imunotechniky.

**9) Spektroskopické metody.**

Absorpční spektroskopie. Fluorescenční spektroskopie. Infračervená a Ramanova spektroskopie. Mösbauerova spektroskopie. Chiroptické metody. Principy a aplikace spektroskopických metod.

**10) Resonanční spektroskopické metody.**

NMR a EPR. Principy vzniku signálu v NMR a EPR. Vícerozměrné NMR techniky. Využití NMR pro určení prostorové struktury proteinů. Spinové značky v EPR.

**11) Strukturní analýza proteinů**

Metodika krystalizace proteinů. Rentgenová strukturní analýza. Použití hmotnostní spektroskopie pro analýzu proteinové struktury.

**12) Elektrochemické metody v biochemii.**

Polarografie a voltametrie a jejich použití v biochemii. Biosenzory, příklady využití potenciometrických a amperometrických biosenzorů. Imobilizace biomolekul při konstrukci biosenzorů.

**13) Metody pro biochemické studium interakcí biomolekul.**

Mikrokalorimetrie. Rovnovážná dialýza. Resonance povrchových plasmonů. Metoda FRET. Metody určování velikosti a tvaru biomakromolekul pomocí rozptylu světla. Interakce biomakromolekul s ligandy.

**14) Enzymová analýza.**

Využití enzymů pro značení biomolekul a jejich detekci. Chromogenní a fluorogenní enzymové substráty. Spřažené enzymové reakce. ELISA a její varianty. Stanovení koncentrace metabolitů, stanovení enzymové aktivity. Warburgův optický test.