

# OBSAH

1 ÚVODNÍ POZNÁMKY . . . . .	9
1.1 Co je to biofyzikální chemie? . . . . .	9
1.2 Jak vznikala tato kniha . . . . .	10
1.3 Poděkování a omluvy . . . . .	13
2 BIOENERGETIKA . . . . .	15
2.1 Co nám říká veličina „enthalpie“? . . . . .	16
2.2 Entropie a pravděpodobnost . . . . .	17
2.3 Clausiova cesta k entropii . . . . .	21
2.4 Přeměny energie v organismech . . . . .	27
2.5 Osudy ATP v organismu . . . . .	29
2.6 Užití klasické (rovnovážné) termodynamiky při studiu biologických systémů . . . . .	37
2.7 Příspěvek nerovnovážné termodynamiky k poznání živých soustav . . . . .	52
3 VÝZNAM NEKOVALENTNÍCH INTERAKCÍ PRO BIOLOGICKÉ SYSTÉMY . . . . .	56
3.1 Biologické jevy závislé na nekovalentních interakcích . . . . .	56
3.2 Rozdělení a charakterisace nekovalentních interakcí . . . . .	58
3.2.1 Elektrostatické interakce . . . . .	59
3.2.2 Vodíkové vazby . . . . .	60
3.2.3 Van der Waalovy interakce . . . . .	62
3.2.4 Hydrofobní interakce . . . . .	64
3.3 Obecné znaky prostorového uspořádání biopolymerů . . . . .	74
3.4 Stabilita, svinování a denaturace biopolymerů . . . . .	77
3.5 Kalorimetrie bílkovin . . . . .	83
3.6 Interakce bílkovin s ligandy . . . . .	86
4 KINETIKA BIOLOGICKÝCH PROCESŮ . . . . .	95
4.1 Řízení biologických procesů: termodynamika nebo kinetika? . . . . .	95
4.2 Kinetika denaturace a renaturace bílkovin . . . . .	100
4.3 Kinetika enzymových reakcí . . . . .	104
4.3.1 Počáteční reakční rychlost . . . . .	104
4.3.2 Odvození rovnice Michaelise a Mentenové pomocí teorie stacionárního stavu . . . . .	105
4.3.3 Experimentální určování hodnot $K_M$ a $V_{lim}$ . . . . .	111
4.3.4 Inhibice enzymů . . . . .	119
4.3.5 Vícesubstrátová kinetika . . . . .	124
4.3.6 Enzymy s více aktivními centry . . . . .	127
4.4 Farmakokinetika . . . . .	134

5 VYBRANÉ PROBLÉMY ELEKTROCHEMIE . . . . .	142
5.1 Elektroneutralita a iontová síla . . . . .	143
5.2 Aktivita elektrolytů . . . . .	144
5.3 Solvatace v roztocích elektrolytů . . . . .	148
5.3.1 Roztoky silných elektrolytů . . . . .	149
5.3.2 Hydratace bílkovin . . . . .	149
5.3.3 Vsolování a vysolování bílkovin . . . . .	152
5.4 Kyselost roztoků . . . . .	154
5.4.1 Definice stupnice pH . . . . .	154
5.4.2 Skleněná elektroda a praktické problémy měření pH . . . . .	158
5.4.3 Závislost pH na teplotě . . . . .	159
5.4.4 Měření pH ve směsných rozpouštědlech . . . . .	163
5.5 Obecná teorie kyselin a zásad . . . . .	166
5.6 Disociace slabých kyselin a zásad . . . . .	167
5.7 Pufrý . . . . .	168
5.8 Amfolyty . . . . .	171
5.9 Aminokyseliny jako pufrý . . . . .	173
5.10 pH tělních tekutin . . . . .	175
5.11 Disociace polyelektrolytů . . . . .	183
5.11.1 Disociace dvojsytného elektrolytu . . . . .	183
5.11.2 Praktický příklad: disociace glycinu . . . . .	185
5.11.3 Disociace polyelektrolytů: teoretický přehled . . . . .	187
5.11.4 Acidobasické titrační křivky bílkovin . . . . .	189
5.11.5 Informace vyplývající z titračních křivek bílkovin . . . . .	194
6 POLOPROPUSTNÉ MEMBRÁNY V ŽIVÝCH SOUSTAVÁCH . . . . .	198
6.1 Obecné jevy spojené s polopropustností membrán . . . . .	198
6.2 Struktura biologických membrán . . . . .	203
6.2.1 Lipidová dvojvrstva . . . . .	203
6.2.2 Membránové bílkoviny . . . . .	206
6.3 Přenos hmoty přes biologickou membránu . . . . .	208
6.3.1 Volná difuze přes membránu (nespecifická permeace) . . . . .	208
6.3.2 Transport nesespecifickými póry . . . . .	209
6.3.3 Transport makromolekul mechanismem exo- a endocytosy . . . . .	210
6.3.4 Usnadněná difuze pomocí specifických přenašečů . . . . .	211
6.3.5 Aktivní transport . . . . .	215
6.3.6 Skupinová translokace . . . . .	218
6.4 Přenos informace přes biologickou membránu . . . . .	219
6.5 Příklady fyziologických dějů, v nichž hrají membrány rozhodující roli . . . . .	223
6.5.1 Biochemie vidění jako příklad integrace energetických a informačních drah . . . . .	223
6.5.2 Proton-motivní síla jako dominantní prvek bioenergetiky . . . . .	228
6.5.3 Světlá fáze fotosynthesy – vrcholný příklad buněčné transformace energie . . . . .	232
7 POUŽITÍ ABSORPČNÍ SPEKTROFOTOMETRIE VE VIDITELNÉ A ULTRAFIALOVÉ OBLASTI PŘI STUDIU BIOLOGICKÝCH SYSTÉMŮ . . . . .	241
7.1 Úvod . . . . .	241
7.2 Odvození Lambertova–Beerova zákona . . . . .	245

7.3	Určování koncentrace pomocí absorpční spektrofotometrie . . . . .	247
7.4	Diferenční spektrofotometrie . . . . .	256
7.5	Derivační spektrofotometrie . . . . .	260
8	METODY STUDIA PROSTOROVÉHO USPOŘÁDÁNÍ BIOPOLYMERŮ . . . . .	265
8.1	Úvod: rozřídění metod . . . . .	265
8.2	Rentgenová krystalografie biopolymerů . . . . .	267
8.2.1	Příprava krystalů bílkovin . . . . .	268
8.2.2	Měření rentgenové difrakce . . . . .	270
8.2.3	Výpočet mapy elektronových hustot . . . . .	271
8.2.4	Zpřesnění struktury a interpretace výsledků . . . . .	274
8.3	Nukleární magnetická resonance . . . . .	277
8.3.1	Princip metody . . . . .	277
8.3.2	Použití NMR spektroskopie při studiu biopolymerů . . . . .	281
8.4	Metoda cirkulárního dichroismu . . . . .	283
8.4.1	Optická aktivita, chiralita, optická rotace a cirkulární dichroismus . . . . .	283
8.4.2	Experimentální technika . . . . .	286
8.4.3	CD spektra bílkovin . . . . .	287
8.4.4	CD spektra nukleových kyselin . . . . .	291
8.4.5	CD spektra nízkomolekulárních látek . . . . .	294
8.5	Fluorimetrie a příbuzné metody . . . . .	295
8.5.1	Vznik elektromagnetického záření . . . . .	295
8.5.2	Fluorescence: základní pojmy . . . . .	296
8.5.3	Použití fluorimetrie pro určování koncentrace látek . . . . .	298
8.5.4	Polarisace fluorescence . . . . .	300
8.5.5	Fluorescence roztoků bílkovin . . . . .	301
8.6	Výpočetní metody . . . . .	304
8.6.1	Metody fyzikální . . . . .	305
8.6.2	Metody heuristické (chemické) . . . . .	306
8.6.3	Metody statistické . . . . .	308
8.7	Kdy použít kterou metodu aneb optimalisace výzkumu struktury biopolymeru . . . . .	310
9	UŽITÍ RADIOMETRICKÝCH METOD V BIOLOGICKÝCH A BIOCHEMICKÝCH LABORATOŘÍCH . . . . .	312
9.1	Stabilita atomového jádra . . . . .	312
9.2	Základní jednotky související s radioaktivním zářením . . . . .	314
9.3	Radiometrické metody . . . . .	314
9.4	Značené sloučeniny a jejich stabilita . . . . .	316
9.5	Bezpečnostní zásady pro práci s radionuklidy . . . . .	317
9.6	Základní metody využití radionuklidů . . . . .	318
10	SEZNAM DOPORUČENÉ LITERATURY . . . . .	325
11	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK . . . . .	327
12	REJSTŘÍK . . . . .	330