

Specializace **Biofyzikální chemie**

Státní závěrečná zkouška sestává ze tří povinných předmětů, přičemž první z nich je povinný pro všechny specializace studijního programu Chemie.

- Metody chemického výzkumu
- Teoretické metody biofyzikální chemie
- Experimentální metody biofyzikální chemie

Zkouška klade důraz na důkladné porozumění souvislostem a poznatkům získaným absolvováním povinných a povinně volitelných kurzů magisterského studia, přihlédnuto je ke specializaci kandidáta, dané zaměřením jeho diplomové práce. Rámcové okruhy témat ke státní závěrečné zkoušce jsou uvedeny níže. Součástí státní závěrečné zkoušky je též obhajoba diplomové práce, při níž má uchazeč prokázat schopnost prezentovat získané výsledky a orientovat se v problematice specializované oblasti i širší disciplíny na současné odborné úrovni. Obhajoba diplomové práce má formu ústní prezentace, během níž uchazeč seznámí komisi a posluchače s tématem a cíli práce, řešenými problémy, použitými metodami a získanými výsledky. Odpovídá na připomínky a dotazy obsažené v posudcích vedoucího a oponenta práce a reaguje na dotazy vznesené v průběhu diskuse.

Okruhy otázek:

1. Metody chemického výzkumu

Metody založené na absorpci gama záření (Moessbauerova spektroskopie). Metody založené na absorpci elektronů (hmotnostní spektroskopie - ionizace nárazem elektronů a chemická ionizace, analýza a detekce iontů, hmotnostní spektrum, fragmentace iontů, metastabilní ionty). Metody založené na difrakci elektronů, neutronů a rentgenového záření (difrakční metody). Metody založené na absorpci rentgenového a ultrafialového záření a na absorpci elektronů (fotoelektronová a Augerova spektroskopie, rentgenová fluorescenční analýza). Metody založené na absorpci ultrafialového a viditelného záření (elektronová spektroskopie - typy přechodů, luminiscence, fluorescence, fosforescence, Jablonského diagram, vyhasínání luminiscence, přechody odpovědné za luminiscenci, typy excitace, instrumentace pro fluorescenční spektrometrii, fluorescenční značky a sondy). Molekuly v elektrickém poli (permitivita dielektrika, polarizovatelnost, indukovaná a orientační polarizace, indukovaný a permanentní elektrický dipólový moment). Přechod světla látkami (lom světla, refrakce, polarimetrie, polarizované světlo - vlastnosti a vznik, polarimetrie, optická rotační disperze, Cottonův jev, cirkulární dichroismus, CD spektrometrie). Molekuly v elektrickém poli světelné vlny (Rayleighův a Ramanův rozptyl, Ramanova spektroskopie - pružný a nepružný rozptyl elektromagnetického záření, Stokesovy a anti-Stokesovy linie v Ramanově spektru, polarizovatelnost, SERS, LASER – princip funkce, druhy laserů, disperzní a FT-RA spektrometry). Metody založené na absorpci infračerveného a mikrovlnného záření (spektra rotační, vibrační a rotačně-vibrační, princip vzniku infračervených spekter, dipólový moment a symetrie molekul, valenční a deformační vibrace vazeb, měření IR spekter v transmisním módu, ATR měření, FTIR, Michaelsonův interferometr). Molekuly v magnetickém poli (magnetická indukce, magnetizace, permanentní magnetický dipólový moment, anizotropie magnetické susceptibility, diamagnetika, paramagnetika a ferromagnetika). Metody založené na absorpci mikrovlnného a radiofrekvenčního záření látkami v magnetickém poli (elektronová paramagnetická a nukleární magnetická rezonanční spektroskopie).

Separční metody: Plynová chromatografie (instrumentace, způsoby dávkování vzorku, kolony náplňové a kapilární, složení stacionárních fází, typy konvenčních detektorů, retenční charakteristiky v plynové chromatografii (retenční čas, redukovaný a mrtvý čas, kapacitní poměr), Van Deemterova a Golayova rovnice, kvalitativní a kvantitativní analýza (vnitřní normalizace, metoda standardního přídatku, absolutní kalibrace, kalibrace s vnitřním standardem, fingerprinting), Inverzní a vícedimenzionální plynová chromatografie, spojení GC-MS). Kapalinová chromatografie (základní princip chromatografické separace, kolonová chromatografie, vysokoúčinná kapalinová chromatografie. Instrumentace v kapalinové chromatografii, částicové a monolitické stacionární fáze, rozdělení separačních mechanismů (reverzní fáze, normální fáze, hydrofilní interakce, iontová výměna, stérická vyluka), charakterizace kolon a retenční charakteristiky (retenční čas, retenční faktor, rozlišení, účinnost, selektivita, van Deemterova rovnice), možnosti gradientové eluce, ultra vysokotlaká kapalinová chromatografie, převod metody, vícerozměrné separační techniky, převod frakce, ortogonalita, superkritická fluidní chromatografie a její aplikace, základy preparativní a tenkovrstvé chromatografie, spojení LC-MS: ionizační techniky v LC-MS: ESI, APCI, APPI, APLI, praktické aspekty: vliv parametrů interface, matrice, průtoku a složení mobilní fáze. Čipy pro LC-MS). Kapilární elektroforéza (elektroforéza, elektroosmóza, elektroforetická pohyblivost, elektroforetický tok, pufr, instrumentace pro kapilární elektroforézu, účinnost elektroforetické separace, izotachoforéza, Kohlrauschova regulační funkce, samozaostřovací efekt, spojení CE-MS).

Elektroanalytické metody: Rovnovážná elektrochemie, redoxní systém, Nernstova rovnice a termodynamické funkce, rovnovážná konstanta, elektroda a elektrodový potenciál (Galvani, Volta, standardní, formální, absolutní), Fermiho energie, elektrochemický článek (galvanický a elektrolytický), potenciometrie, iontově selektivní elektrody (ISE) a pH elektroda. Dynamická elektrochemie: polarizace elektrody, aktivační přepětí (Butler-Volmer a Tafel), výměnná proudová

hustota. Potenciostatické/galvanostatické techniky, stacionární voltametrie (RDE, μ elektroda), nestacionární voltametrie (LSV, CV, pulzní metody), metody založené na úplné elektrolýze, analytické aplikace, senzor a biosenzor. Pokročilé kombinované metody (impedanční spektroskopie – EIS, spektroelektrochemie – SEC, elektrochemické křemenné mikrováčky – EQCMB, chromatografie s elektrochemickou detekcí – HPLC ED).

Metoda s indukčně vázaným plazmatem: Atomizace, ionizace, stimulovaná emise, instrumentace, laserová ablace, spojení ICP-MS.

Metody termické analýzy: Tepelné zpracování materiálů, křivky chlazení, kalorimetrické metody stanovení tepla fázových přeměn a tepelné kapacity materiálů, základní metody termické analýzy (TGA, DTA, DSC, simultánní termická analýza). Fázové přeměny 1. a 2. řádu.

Literatura:

- Atkins, Peter W. *Physical chemistry*. 6th ed. Oxford: Oxford University Press, 1998. 1014 s. ISBN 0-19-850101-3.
- Atkins, Peter W. a Julio DE PAULA. *Fyzikální chemie*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2013. 944 s. ISBN 9788070808306.
- Kalous, V. a kol. *Metody chemického výzkumu*. 1. vyd. Praha: SNTL – Nakladatelství technické literatury, 1987.
- Kratochvíl, Bohumil a Lubor JENŠOVSKÝ. *Úvod do krystalochemie*. 1. vyd. Praha: SNTL – Nakladatelství technické literatury, 1987.
- Holba, Vladislav. *Fyzikálno-chemické vlastnosti atomů a molekul*. 1. vyd. Bratislava: Slovenské pedagogické nakladatel'stvo, 1980.
- Exner, Otto. *Struktura a fyzikální vlastnosti organických sloučenin*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1985.
- Barker, James. *Mass spectrometry: analytical chemistry by open learning*. Edited by David J. Ando. 2nd ed. Chichester: John Wiley & Sons, 1998. 509 s. ISBN 0-471-96764-5.
- Atkins, Peter W. *Physical chemistry*. 6th ed. Oxford: Oxford University Press, 1998. 1014 s. ISBN 0-19-850101-3.
- Lakowicz, Joseph R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3rd. ed. Springer US, 2006. ISBN 978-0-387-46312-4.
- Kalous, V. a kol. *Metody chemického výzkumu*. 1. vyd. Praha: SNTL – Nakladatelství technické literatury, 1987.
- WORKMAN, Jerry a Art W. SPRINGSTEEN. *Applied Spectroscopy a Compact Reference for Practitioners*. San Diego: Academic Press, 1998. ISBN 9780127640709.
- COLTHUP, Norman B., Lawrence H. DALY a Stephen E. WIBERLEY. *Introduction to infrared and Raman spectroscopy*. Third edition. San Diego: Academic Press, [1990]. ISBN 978-0121825546.
- Introduction to Modern Liquid Chromatography, Lloyd R. Snyder Joseph J. Kirkland John W. Dolan, 2009 John Wiley & Sons, Inc.
- Analytická separace látek. Jaroslav Churáček a kol., 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1990.
- <https://www.rozing.com/>
- Kromidas, S. *The HPLC-MS Handbook for Practitioners*. 1st Ed., Wiley-VCH, 250 s. ISBN:9783527343072.
- Nováková, J.; Douša, M. a kol. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi I a II*. 1. vyd., Hradec Králové, 2013, ISBN 978-80-260-4243-3.
- Wang, Joseph Analytical Electrochemistry. 2nd ed. Wiley-VCH Publishers, N.Y. 2000. 209 s. ISBN 0-471-28272-3.
- Scholz, Fritz Electroanalytical Methods. 2nd ed. Springer Heidelberg, 2010. ISBN: 978-3-642-02914-1.
- Berek Jiří, Štulík Karel, Opekar František Elektroanalytická chemie, učební texty UK, 2005.188 s. ISBN 80-246-1146-5.
- Atkins, Peter W. *Physical chemistry*. 6th ed. Oxford: Oxford University Press, 1998. 1014 s. ISBN 0-19-850101-3.
- Skoog, D.A., Analytická chemie, první vydání, VŠCHT, 2019, ISBN 978-80-7592-043-0
- Principles Of Thermal Analysis And Calorimetry, By Gaisford, S., Kett, V. & Haines, P. (Eds.), Royal Society of Chemistry, 2016. 2nd edition, ISBN 13: 9781782620518, ISBN 10: 1782620516

2. Teoretické metody biofyzikální chemie

- Struktura biopolymerů (nukleové kyseliny, proteiny a polysacharidy, stabilita helikálních struktur, nekovalentní interakce, vodíková a disulfidická vazba, denaturace, ionizace řetězců, Ramachandranův diagram, cis-trans preference aminokyselin a specifická role prolinu a vody, hydrofobní interakce).
- Termodynamický mikro a makrostav, pravděpodobnost jejich výskytu. Ekvipartiční a Ergodický teorém.
- Rovnovážná statistická mechanika. Základní termodynamické veličiny (volná energie, entropie, entalpie a jejich význam v biologickém systému).
- Základní koncept molekulové dynamiky, parametry biomolekulárních silových polí a její aplikace.
- Metody se zesíleným vzorkováním ("enhanced sampling"), jejich výhody a nevýhody oproti standardní molekulové dynamice. Základní koncept molekulové dynamiky se záměnou replik - REMD.
- Stanovení volných energií (termodynamický cyklus pro výpočty relativních volných energií). Kanonický strukturní soubor a potenciál středního pole (PMF).
- Vazební afinita (význam disociační konstanty a její souvislost s rozdílem volné energie mezi výchozím a koncovým stavem).
- Konformační a alosterické změny (rozdíl v popisu kinetiky enzymatických reakcí oproti kinetice konformačních změn).
- Skládání proteinů (skládání i denaturace proteinů z hlediska termodynamiky a kinetiky). Odlišnost biologicky relevantních proteinů od náhodných synteticky připravených řetězců aminokyselin.
- Fázové přechody proteinů (stav „molten-globule“), Afinsenův postulát a Levinthalův paradox. Van't Hoffovo kritérium existence přechodu prvního druhu.

3. Experimentální metody biofyzikální chemie

- Experiment biofyzikální chemie (taktika a strategie volby metody, obecný postup řešení struktury a interakcí biomolekul, využití znalostí strukturních vlastností biomolekul).
- Transport v biologickém systému (difúze, osmóza, viskozita).
- Techniky studia transportu biomolekul (centrifugace, chromatografie, elektroforéza).
- Elektrický potenciál, energie a teplo v biologickém systému (elektrofyzologie, hmotnostní spektrometrie, diferenční skenovací kalorimetrie - DSC a isothermální titrační kalorimetrie - ITC).
- Elektronová a vibrační spektroskopie biomolekul (energetické stavy, UV- Vis, infračervená a Ramanova spektroskopie). Rozdíl mezi absorpcí, fluorescencí a fosforescencí, Jablonského diagram.
- Elektronová a vibrační spektroskopie biomolekul II (fluorescence, Försterova rezonančního transferu energie - FRET, fosforescence, chiroptická spektra, rentgenová spektroskopie).
- Magnetická rezonance nukleových kyselin a proteinů (NMR a EPR), její výhody a nevýhody při studiu biomakromolekul.
- Mikroskopie biologicky významných systémů (elektronová mikroskopie - SEM, TEM, mikroskopie atomárních sil - AFM).
- Metody studia jedné molekuly (manipulace, elektrické a optické vlastnosti biomolekuly).
- Elektrochemické metody a jejich využití v biosensorech (bio- a nano- elektrochemie).

Literatura (zcela základní):

- KODÍČEK, M.; KARPENKO V.: *Biofyzikální chemie*, Academia, Praha 2013.
- CAMPBELL, I. D.: *Biophysical Techniques*, Oxford University Press, 2012.
- ZUCKERMAN D.M.: *Statistical Physics of Biomolecules*, CRC Press, 2010, ISBN-13: 978-1420073782, ISBN-10: 1420073788
- FINKELSTEIN, A. V.; PTITSYN O. B.: *Protein physics: A course of lectures*. Amsterdam: Academic Press, 2002. xix, 354. ISBN 0122567811.

Literatura (doporučená):

- CANTOR, Charles R.; SCHIMMEL Paul R.: *Biophysical Chemistry I, II, III*. New York: W.H. Freeman and Company, 1980. s. i-xxix. ISBN 0716711907; xxvii, 341. ISBN 0716711885; i-xxix. ISBN 0716711923.
- BERGETHON Peter R: *The Physical Basis of Biochemistry*, Springer, 2010 ISBN-13: 978-1441963239, ISBN-10: 1441963235

Literatura (vědomosti rozšiřující):

- LESK, Arthur M. *Introduction to protein architecture : the structural biology of proteins*. Oxford: Oxford University Press, 2001. xii, 347. ISBN 0198504748.
- DAUNE, M.: *Molecular biophysics : structures in motion*. Oxford: Oxford University Press, 1999. xxii, 499. ISBN 0-19-857783-4.
- MAREK, J., TRÁVNÍČEK Z.: *Monokrystalová rentgenová strukturní analýza*. Olomouc: Vydavatelství Univerzity Palackého, 2002. 169 s. ISBN 80-244-0551-2.
- RHODES, G.: *Crystallography made crystal clear: a guide for users of macromolecular models*. 2nd ed. San Diego, Calif.: Academic Press, 2000. xix, 269. ISBN 0125870728.
- CAVANAGH, J.: *Protein NMR spectroscopy : principles and practice*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 2007. xxv, 885. ISBN 9780121644918.
- ATTWOOD, T. K. ; PARRY-SMITH D. J.: *Introduction to bioinformatics*. 1st pub. Essex: Longman, 1999. xx, 218. ISBN 0582327881.