

Obsah

1. POSTAVENÍ A ÚLOHA BIOFYZIKY V OSTATNÍCH PŘÍRODNÍCH VĚDÁCH	
(<i>Václav Prosser</i>)	21
Postavení a úloha fyziky v ostatních přírodních vědách	21
Postavení a úloha biofyziky	22
Hlavní vývojové trendy v biofyzice	24
Experimentální metody biofyziky	26
Uplatnění biofyzikálních přístupů v praxi a vliv na jiné vědní obory.	29
2. TEORETICKÉ ZÁKLADY FYZIKÁLNÍCH METOD (<i>Vladislav Čápek</i>)	32
Seznam symbolů	32
Elektromagnetické pole a hmota	33
Maxwellovy rovnice a materiálové vztahy	33
Absorpce, disperze, Kramersovy–Kronigovy vztahy a princip přičinnosti.	36
Nelineární materiálové vztahy	38
Kvantová teorie přechodů v elektromagnetickém poli	40
Interakce záření s hmotou	40
Pravděpodobnosti přechodů pod vlivem záření; spontánní a vynucená emise a Einsteinovy vztahy	40
Výběrová pravidla pro absorpcii na atomech a molekulách; vibrační struktura a Frankův–Condonův princip	42
Intenzita a tvar spektrální čáry	45
Mnohočásticové jevy za hranicí použitelnosti pásového modelu	49
Meze použitelnosti pásového modelu pevných látek	49
Polaron, exciton a excitonová absorpcie v molekulárních kondenzátech.	50
Lyonsův model	52
Základy teorie přenosu	54
Boltzmannova rovnice	54
Meze použitelnosti Boltzmannovy rovnice	55
Intermediální a přeskokový režim transportu	56
Elektronová struktura atomů a molekul	57
Schrödingerova, Pauliho, Diracova a Breitova rovnice	57

Spin a energie elektronů v molekule	59	
Molekula vodíku H ₂ Heitlerovou-Londonovou metodou	60	
Molekulový ion H ₂ ⁺ a molekula H ₂ metodou Hundovou-Mullikenovou	62	
Elektrony δ a π , hybridizace	63	
Základy teorie vibraci molekul, separace druhá pohybu	64	
Bornovo-Oppenheimerovo (adiabatické) přiblížení	64	
Separace translačního, rotačního a vibračního pohybu molekuly	65	
Harmonické přiblížení a normální módy vibrací molekul	66	
Literatura	68	
3. PREPARATIVNÍ A ANALYTICKÉ METODY		69
Seznam symbolů	69	
Dělící metody (<i>Jana Zachová</i>)	70	
Význam dělících metod, jejich klasifikace a výběr	70	
Uvolnění z tkáně	71	
Extrakce	71	
Extrakce z kapaliny	71	
Použití	72	
Srážení	72	
Vysolování	72	
Srážení organickou kapalinou mísitelnou s vodou	73	
Srážení změnou pH	73	
Srážení tvorbov nerozpustných sloučenin	74	
Sedimentace (centrifugace)	74	
Metody	74	
Typy odstředivek	75	
Použití	76	
Dělení látok membránou	77	
Materiály membrán	77	
Dialýza	78	
Filtrace membránou	78	
Chromatografie	79	
Úvod	79	
Obecné principy a klasifikace	79	
Detekce	82	
Volba stacionární fáze	83	
Volba mobilní fáze	83	
Adsorpční chromatografie	85	
Princip	85	
Metodika	85	
Klasická sloupová adsorpční chromatografie	85	
Chromatografie na tenké vrstvě	86	
Rozdělovací chromatografie	87	
Princip	87	
Metodika	87	
Kapková protiproudá chromatografie	87	

Přenos energie	432
Časově rozlišená depolarizace fluorescence	434
Poznámka k literatuře o luminiscenci	435
Metody laserové spektroskopie (Josef Štěpánek)	435
Úvod	435
Laserový zdroj	436
Princip činnosti laseru	436
Konstrukce laseru	438
Další části laserových aparatur	442
Lasery v absorpční a emisní spektroskopii	443
Spektroskopie slabě absorbujících látek	443
Laserová magnetická rezonance	444
Selektivní spektroskopie	444
Dvojitě rezonance	445
Spektroskopie jemných spektrálních posuvů při rozptylu světla	446
Kvazielastický rozptyl	446
Brillouinův rozptyl	450
Nízkofrekvenční Ramanův rozptyl	451
Rezonanční Ramanův rozptyl	452
Rezonanční Ramanův rozptyl v elektronové spektroskopii	454
Časově rozlišený Ramanův rozptyl	454
Ramanovské sondy	456
Povrchově zesílený Ramanův rozptyl	457
Nelineární spektroskopické metody	457
Dvoufotonová absorpcie a hyperramanův rozptyl	458
Metody čtyřfotonové spektroskopie Ramanova rozptylu	459
Metody vysokého časového rozlišení	461
Závěr	466
Literatura	466
7. MAGNETICKÁ REZONANCE	471
Seznam symbolů	471
Úvod	472
Princip metody (Bedřich Sedlák)	474
Moment hybnosti a elektromagnetické momenty elektronů a jader	474
Moment hybnosti a magnetický moment elektronu a volného atomu	474
Jaderný spin a jaderný magnetický moment	476
Elektrický kvadrupolový moment jádra	478
Gyromagnetická částice v magnetickém poli, jev magnetické rezonance – elementární	
kvantový popis	480
Gyromagnetická částice ve statickém magnetickém poli	480
Vliv časově proměnného pole, jev magnetické rezonance	481
Gyromagnetická částice v magnetickém poli, jev magnetické rezonance – klasický popis	482
Pohyb ve statickém magnetickém poli	482
Pohyb za přítomnosti kruhově polarizovaného pole	483
Pohyb v pulsním kruhově polarizovaném poli	484
Magnetická rezonance makroskopického souboru neinteragujících částic	485

Paramagnetismus souboru neinteragujících gyromagnetických částic.	485
Podmínky pozorování magnetické rezonance, spinmřížková relaxace.	486
Základy teorie magnetické rezonance v kondenzovaných látkách (Bedřich Sedlák)	488
Využití zobecněných materiálových vztahů	488
Přehled obecných vzorců.	489
Tvar a šířka spektrální čáry magnetické rezonance	490
Blochovy rovnice	491
Formulace Blochových rovnic	492
Stacionární řešení	493
Nasycování signálu	494
Vybrané typy pulsních řešení	495
Přiblížení efektivního spinového hamiltoniánu	498
Formulace spinového hamiltoniánu	499
Spinový hamiltonián volného elektronu a atomu v magnetickém poli	499
Magnetická interakce jader a elektronů	502
Jaderná elektrická kvadrupolová interakce	505
Relaxační jevy	506
Experimentální technika (Jiří Englich)	509
Úvod	509
Detekce a zpracování signálu magnetické rezonance	510
Spinový detektor	510
Metody snímání spekter	514
Meze citlivosti, poměr signálu a šumu	517
Základy techniky prostorového rozlišení	520
Uspořádání kontinuálního spektrometru EPR	521
Uspořádání pulsního spektrometru NMR	522
Jaderná magnetická rezonance v pevné fázi a v kapalinách (Jiří Englich)	525
Jaderná dipól-dipolová interakce	525
Obecné řešení v tuhé mřížce	526
Dvou- a třiatomové molekuly	527
Metoda momentů	528
Vliv molekulárního pohybu	529
Rotace pod magickým úhlem	530
Pulsní metody vysokého rozlišení v pevné fázi	531
Pohybové zúžení v kapalinách	531
Magnetická interakce jader a elektronů	532
Chemický posuv a nepřímá spin-spinová interakce	532
Spektra NMR vysokého rozlišení v kapalinách	533
Dvojná rezonance – decoupling	536
Dvojrozměrná NMR spektroskopie	537
Projevy chemických reakcí a chemické výměny ve spektrech NMR	540
Kvadrupolová interakce	542
Spin-mřížková relaxace	544
Vliv jaderné dipól-dipolové interakce	544
Vliv paramagnetických přiměsí	546
Relaxační spektroskopie	547

Vliv elektrické kvadrupolové interakce	548
Elektronová paramagnetická rezonance volných radikálů (Jan Pilař)	548
Úvod	548
EPR spektra volných radikálů v roztocích o nízké viskozitě	550
Spinový hamiltonián	550
EPR spektrum volného radikálu obsahujícího jedno jádro se spinem $I = 1/2$	552
Zobecnění pro volný radikál obsahující větší počet jader se spiny $I \geq 1/2$	554
Souviselost velikosti izotropních štěpících konstant s elektronovou strukturou volných radikálů	556
EPR spektra volných radikálů v pevné fázi	558
Volný radikál s anizotropním g-faktorem	558
Volný radikál s izotropním g-faktorem a anizotropní hyperjemnou interakcí	559
Monokrystaly a polykrystalické (práškové) vzorky	560
EPR spektra volných radikálů obsahujících dva nepárové elektrony	561
Tripletní radikály v pevném stavu	562
Biradikály v málo viskózních roztocích	564
EPR spektra volných radikálů ve viskózních roztocích	565
Vliv časově proměnné poruchy na tvar EPR spektra	565
Metoda spinových značek a spinových sond	566
EPR spektroskopie s přenosem saturace	569
Dvojné rezonanční metody ENDOR a ELDOR	570
Aplikace NMR spektroskopie pro studium biologických objektů (Pavol Balgavý)	571
Úvod	571
Diamagnetické ionty s jaderným kvadrupolovým momentem	571
Voda v biologických systémech	576
Malé molekuly	581
Makromolekuly a agregáty makromolekul	587
Aplikace EPR spektroskopie pro studium biologických objektů (Pavol Balgavý)	596
Úvod	596
Volné radikály při metabolických pochodech	596
Záření generované volné radikály	604
Paramagnetické kovové ionty	608
Stabilní nitroxylové volné radikály	610
Literatura	612
 8. DIELEKTRICKÁ RELAXAČNÍ SPEKTROSKOPIE A TRANSPORT NÁBOJE	616
Seznam symbolů	616
Působení elektrického pole na živé objekty (Eliška Jelinková)	618
Dielektrická měření (Roman Bakule)	618
Komplexní permitivita	618
Mechanismy polarizace	620
Teorie statické permitivity	623
Frekvenční závislost permitivity	625
Vyhodnocení frekvenčních měření	627
Teplotní závislost relaxačních dob	630
Teplotní závislost permitivity	632

Spektrometry pro dielektrická měření	633
Relaxace proudu	636
Termální depolarizace	637
Měření transportu náboje v pevných molekulárních látkách (Eliška Jelinková)	639
Modely transportu náboje	639
Temnostní vodivost a mechanismy generace a transportu nosičů	641
Fotovodivost a mechanismy generace a rekombinace nosičů	642
Vyhodnocení měření stacionární fotovodivosti	646
Aparatury pro měření stejnosměrné vodivosti	649
Aparatury pro měření stacionární fotovodivosti, určení τ a η	652
Měření doby průletu nosičů a určení pohyblivosti	655
Další metody určení transportních parametrů	656
Určování povahy nosičů proudu	656
Měření termoelektrického napětí	657
Měření fotovoltaického jevu	658
Transportní vlastnosti biologicky důležitých látek	659
Povaha nosičů proudu v proteinech	659
Sodium vodivost NaDNA	660
Měření elektrických vlastností membrán a transportu náboje na membráně (Karel Janáček)	663
Složení funkce a elektrické vlastnosti membrán	663
Soudobé teoretické interpretace membránového potenciálu	664
Měření membránových potenciálů mikroelektrodovou technikou	665
Zhotovení mikroelektrod	665
Měření membránového potenciálu	666
Příklady měření potenciálu buněk	667
Měření odporu buněčných membrán mikroelektrodovou technikou	668
Využití mikroelektrodové techniky pro měření akčního potenciálu a transportu iontů	671
Alternativní přístupy k měření membránových potenciálů	672
Nelineární proud – napěťové charakteristiky v nekovových látkách a membránách (Stanislav Nešpírek)	673
Nelineární proudové charakteristiky v pevných látkách	673
Ohmický proud	673
Injekce náboje – proudy omezené prostorovým nábojem (POPNN)	674
Spektroskopie lokalizovaných stavů v pevných látkách:	
Teplotně stimulované proudy omezené prostorovým nábojem (TMPOPNN)	681
Pozorování stacionárních proudů OPN	685
Nelineární proudové charakteristiky v membránách	686
Obecná rovnice proud-napěťové charakteristiky membrány	687
Aproximace konstantního pole	688
Injekce iontů do membrány	689
Wienův jev	691
Efekt zrcadlových sil	693
Hydrofobní interakce	696
Úloha kanálů a pórů v iontovém transportu	696
Úloha přenášečů v iontovém transportu	698
Literatura	700
Rejstřík	703

Papírová chromatografie	88
Chromatografie na měničích iontů	89
Měniče iontů (ionexy)	89
Metodika	89
Použití	90
Chromatofokusace	91
Gelová (vylučovací) chromatografie	91
Princip	91
Použití	92
Afinitní chromatografie	93
Princip	93
Volba afinantu	94
Použití	94
Vysokochladičná kapalinová chromatografie	95
Metodika	96
Použití	97
Plynová chromatografie	97
Úprava vzorku	97
Použití	97
Elektroforéza	98
Faktory ovlivňující pohyb iontů	98
Klasifikace elektroforetických metod	100
Volná elektroforéza	100
Elektroforéza s pohyblivým rozhraním (Tiseliova)	100
Kontinuální zónová elektroforéza	100
Elektroforéza na nosičích	101
Papírová elektroforéza	101
Elektroforéza na tenké vrstvě	102
Elektroforéza v gelech, kontinuální a diskontinuální	102
Kombinované elektroforetické metody	104
Význam elektroforézy pro dělení bílkovin	105
Krystalizace	106
Krystalizace z roztoku	106
Krystalizace z taveniny	107
Sublimace	107
Monokrystaly biologicky významných látek	107
Méně běžné metody pro dělení biomolekul	109
Destilace	109
Lyofilizace	110
Chemické dělicí metody	110
Dělení bílkovin	110
Stanovení molární hmotnosti biopolymerů (Vladimir Vondrejs)	112
Úvod	112
Metody založené na koligativních vlastnostech biopolymerů ve zředěných roztocích	113
Osmometrie	114
Metody založené na hydrodynamických vlastnostech biopolymerů – sedimentační analýza	116

Popis sedimentace biopolymerů	116
Stanovení sedimentačního koeficientu metodou pohyblivého rozhraní	118
Převod na standardní podmínky	119
Distribuce sedimentačních koeficientů	119
Experimentální uspořádání	120
Rovnovážné metody.	121
Sedimentačně difúzní rovnováha	121
Archibaldova metoda	120
Izopyknická centrifugace.	120
Izokinetická sedimentace.	120
Vrstvení gradientů	123
Nanášení vzorků	124
Vyhodnocení po izokinetickej sedimentaci	124
Difuze.	124
Stanovení difúzního koeficientu metodou volné difuze	125
Experimentální uspořádání.	127
Viskozita.	127
Kapilární viskozimetrie.	128
Rotační viskozimetrie	130
Stanovení molární hmotnosti z rozptylu světla	131
Princip	131
Experimentální uspořádání.	134
Elektroforéza.	136
Princip	136
Experimentální uspořádání gelové elektroforézy	136
Použití	137
Měření délky nukleových kyselin	140
Autoradiografická technika.	140
Elektronová mikroskopie	141
Metoda hvězd	141
Inaktivace virů transmutací inkorporovaných radioizotopů	142
Chemické metody.	142
Chromatografické metody	142
Literatura	143
 4. RENTGENOVÁ STRUKTURNÍ ANALÝZA	146
Seznam symbolů	146
Úvod	147
Symetrie krystalů a biologických objektů (Václav Valvoda)	150
Úvod	150
Symetrie krystalů	151
Translační periodicita	151
Bodové a prostorové grupy.	154
Symetrie cylindrických a šroubovitých objektů	157
Řetězovité molekuly polymerů	157
Cylindrické (a speciálně šroubovité) grupy	158

Symetrie sférických virů	160
Základy difrakce rentgenového záření (Václav Valvoda)	163
Rozptylový faktor	163
Laueovy difrakční podmínky, Ewaldova konstrukce a Braggův zákon	163
Rozptyl na atomu, molekule a krystalu	166
Vliv symetrie a Friedelův zákon	168
Rozdělení elektronové hustoty	168
Rentgenová, elektronová a neutronová difrakce	170
Určování struktur krystalů. Řešení fázového problému (Václav Valvoda)	173
Pattersonova funkce	173
Přímé metody	174
Izomorfni nahrazení	175
Anomální rozptyl	177
Upřesňování struktury	178
Experimentální techniky (Hana Šichová)	180
Úvod	180
Generace a vlastnosti rentgenového záření	180
Detekce rentgenového záření	183
Práškové metody	184
Aplikace práškových metod	189
Metody pro studium monokrystalů	193
Vstupní data rentgenové strukturní analýzy	203
Určování struktur amorfních látek (Hana Šichová)	204
Experimentální metody studia silně porušených krystalů a amorfních látek	204
Koherentní rozptyl na systému náhodně uspořádaných atomů	208
Difrakce na reálných kapalinách a pevných amorfních látkách (oblast širokouhlового rozptylu)	210
Difrakce na biologických látkách ve formě roztoku (oblast malouhlowego rozptylu)	211
Studium struktury biologických látek malouhlowych rozptylem	213
Stanovení molekulárních parametrů	213
Studium sekundární a terciární struktury	215
Studium kvarternární struktury	217
Studium radiální distribuční funkce elektronové hustoty	217
Určování struktur částečně uspořádaných systémů (Václav Valvoda)	218
Úvod	218
Experimentální zvláštnosti	219
Difrakce na šroubovici	219
Struktura DNA	222
Struktura vláknitých bílkovin	226
Skupina k-m-e-f	227
Skupina kolagenu	228
Struktura biomembrán	229
Určování struktur krystalizujících biologických látek (Václav Valvoda)	231
Úvod	231
Experimentální podmínky a interpretace dat	232
Struktura globulárních bílkovin	235



Myoglobin	235	
Hemoglobin	237	
Další bílkoviny	237	
Upřesňování struktur bílkovin	238	
Struktura virů	240	
Virus tabákové mozaiky (TMV)	240	
Sférické viry	240	
Speciální metody (Václav Valvoda)	243	
Studium atomových a molekulových vazeb rentgenovou difrací	243	
Rekonstrukce trojrozměrné struktury biologických objektů z elektronových mikrografii	245	
Princip rekonstrukce	245	
Elektronová mikrografie jako projekce elektronové hustoty	245	
Dvojnásobná Fourierova transformace	247	
Optické filtrování elektronových mikrografii	248	
Souvislost metody rekonstrukce trojrozměrné struktury s optickou difrací	249	
Aplikace a další možnosti	252	
Rentgenová mikroskopie	253	
Rentgenová zobrazovací mikroskopie	254	
Rentgenová kontaktní mikroskopie	255	
Vázení biologických vzorků pomocí ultraměkké rentgenové mikroskopie	256	
Difrakční analýza s časovým rozlišením	256	
Optický systém	257	
Detektor a zpracování dat	257	
Vybrané aplikace	258	
Literatura	260	
 5. METODY SVĚTELNÉ A ELEKTRONOVÉ MIKROSKOPIE		262
Světelná mikroskopie (Karel Beneš, Jiří Pilný)	262	
Zobrazení biologických objektů pomocí mikroskopu	262	
Mikroskopie, mikrotechnika	262	
Rozlišovací schopnost, zvětšení, artefakt	263	
Zpracování objektu	264	
Studium živých objektů v nativním preparátu	264	
Klasický postup zhotovení trvalého preparátu	264	
Rychlé metody	265	
Některé speciální postupy	266	
Studium preparátu pomocí světelného mikroskopu	267	
Mikroskop pro procházející a dopadající světlo	267	
Temné pole a ultramikroskop	270	
Fázový kontrast	270	
Mikroskopie v světle monochromatickém, ultrafialovém a infračerveném	270	
Fluorescenční mikroskop	271	
Měření mikroskopických objektů, hodnocení a dokumentace výsledků	271	
Měření délek, ploch a objemů, čítání, stanovení tloušťky	271	
Prostorová rekonstrukce, stereologie, analýza obrazu	272	
Projekce mikroskopem, televizní mikroskop	273	

Kreslicí přístroj, mikrofotografie, mikrokinematografie	273
Využití světelného mikroskopu ke studiu fyzičkých a chemických vlastností objektu	273
Polarizační mikroskop	274
Interferenční mikroskop, mikrorefraktometrie, historadiografie	274
Cytofometrie	274
Mikrautoradiografie	276
Elektronová mikroskopie (Jiří Ludvík)	276
Transmisní elektronový mikroskop	276
Tubus mikroskopu	276
Ovládací přístrojové panely	278
Vakuový systém	279
Vysokonapěťový zdroj	279
Podmínky optimálního provozu elektronového mikroskopu	279
Seřizování mikroskopu	279
Zvěšení mikroskopu	280
Kontrola zvěšení testovacím objektem	280
Míry užívané v elektronové mikroskopii	280
Zaostřování	280
Rozlišovací schopnost	281
Temné pole	281
Elektronová difrakce	282
Fotografické snímkování	282
Závady při mikroskopování	282
Rušivé vlivy okoli	283
Příprava biologických preparátů pro transmisní elektronovou mikroskopii	284
Nosné sítky	284
Nosné blanky	285
Totální preparáty	285
Nanášení suspenze částeček na nosnou blanku	286
Příprava preparátů molekul nukleových kyselin	286
Negativní barvení totálních preparátů	286
Vakuové napařování kovů a uhlíku	287
Stinování totálních preparátů	288
Otisky	288
Mrazové lámání a mrazové leptání	290
Ultratenké řezy	291
Fixace biologických objektů	291
Praní a odvodňování fixovaných objektů	294
Zalévání objektů do umělých pryskyřic	294
Ultramikrotomie	296
Ultratenké řezání	297
Kontrastování řezů	298
Kryoultramikrotomie	299
Ultracytochemické reakce	299
Detekce enzymů	300
Značení protilátek	300

Elektronmikroskopická autoradiografie	301
Řádkovací elektronový mikroskop	301
Příprava biologických preparátů pro řádkovací elektronový mikroskop	302
Analytická elektronová mikroskopie	303
Relativní absolutní citlivost	304
Metody spektroskopie rentgenového záření	306
Vlnově disperzní systém	306
Energetický disperzní systém	306
Spektroskopie energetických ztrát elektronů	307
Katodoluminiscence	307
Spektroskopie Augerových elektronů	307
Iontová mikroskopie	308
Závěr	309
Literatura	310
 6. METODY OPTICKÉ SPEKTROSKOPIE	314
Seznam symbolů	314
Úvod do optické spektroskopie (<i>Josef Štěpánek</i>)	315
Popis vlastnosti optického záření	315
Spektrální charakteristiky	315
Fotometrické charakteristiky	316
Polarizace záření	318
Koherezce	318
Interakce látky s optickým zářením z hlediska metod optické spektroskopie	319
Síření elektromagnetických vln v optickém prostředí	319
Neelastická interakce optického záření s látkou	321
Základní schéma optické spektroskopické aparatury	322
Zdroje optického záření	323
Tepelné zdroje a výbojky	323
Synchrotronové záření	324
Zařízení pro spektrální analýzu optického záření	325
Monochromátory	325
Interferometry	328
Detektory záření	329
Termální detektory	330
Polovodičové detektory	330
Fotoemisní detektory	331
Mnohokanálové detektory	333
Detekční techniky	334
Další běžné části aparatur optické spektroskopie	335
Metody absorpční spektroskopie a spektroskopie Ramanova rozptylu (<i>Josef Štěpánek</i>)	337
Základní vztahy absorpcní spektroskopie	337
Útlum elektromagnetické vlny v absorbijícím prostředí. Lambertův zákon	337
Absorpční koeficient v kondenzované fázi. Beerův zákon	339
Měření absorpčních spekter	340
Metody založené na měření propustnosti	340

Příprava vzorků pro měření propustnosti	343
Reflexní metody	344
Fotoakustická spektroskopie	346
Základní vztahy pro Ramanův rozptyl	347
Měření spekter Ramanova rozptylu	350
Struktura vibračních spekter mnohatomových molekul	352
Intenzita linií ve vibračních absorpčních spektrech	352
Intenzita linií ve spektrech Ramanova rozptylu při nerezonančním buzení	354
Vliv mezimolekulových interakcí na vibrační spektra	355
Interpretace vibračních spekter	356
Užití vibrační spektroskopie v biofyzice	357
Elektronová absorpční spektra mnohatomových molekul	359
Elektronové absorpční přechody	359
Vibronická struktura absorpčních spekter	360
Vliv mezimolekulových interakcí na elektronová absorpční spektra	361
Užití elektronové absorpční spektroskopie v biofyzice	362
Chiroptické metody (Petr Pančoška)	365
Úvod	365
Teoretický popis chiroptických jevů	366
Popis optické aktivity v rámci Maxwellovy teorie elektromagnetického pole	366
Kvantová teorie optické aktivity	366
Spektra cirkulárního dichroismu	369
Experimentální technika	369
Definice a jednotky	371
Interpretace spekter cirkulárního dichroismu	372
Aplikace	376
Optická rotační disperze, ORD spektroskopie	379
Experimentální technika	379
Definice a jednotky	379
Aplikace ORD spektroskopie	381
Ostatní chiroptické metody	382
Infračervený cirkulární dichroismus (IRCD)	382
Fluorescenčně detegovaný cirkulární dichroismus (FDCD)	383
Cirkulárně polarizovaná emise (CPE)	383
Další perspektivy chiroptických metod	383
Metody emisní spektroskopie (Otakar Jelínek)	384
Obecné zákonitosti přeměny budící energie v luminiscenci	384
Zvláštnosti luminiscence složitých molekul	385
Přechody mezi elektronově vibračními (vibronovými) hladinami složitě molekul	385
Nezářivé přechody	387
Zářivé přechody (luminiscence)	387
Zákon zrcadlové symetrie mezi absorpčním a fluorescenčním pásem	388
Fosforecence a tripletový stav polyatomické molekuly	389
Vznik a deaktivace nejnižšího tripletového stavu	389
Spin-orbitální interakce a míšení singletových a tripletových stavů	390
Mechanismy interkombinační konverze	390

Vliv prostředí na absorpční a emisní spektra	391
Kvantitativní vztahy mezi absorpcí a luminiscencí	392
Kvantový výtěžek a intenzita fluorescence	392
Doba života vzbuzeného stavu	394
Vztah mezi spektrálními měřitelnými veličinami a dobou dohasínání fluorescence	395
Kinetika fluorescence molekul	396
Zhášení luminiscence vedlejšími molekulami	397
Excimerová luminiscence	399
Kinetika fosorescence molekul	399
Rekombinační fosorescence a termoluminiscence	400
Polarizovaná luminiscece	403
Veličiny charakterizující polarizovanou luminiscenci	403
Teorie depolarizace luminiscence	404
Polarizace luminiscence zředěných zmrzlých roztoků	405
Polarizační spektra	406
Rotační difuze kulových a symetrických částic – Perrinovy rovnice	407
Anizotropie fluorescence v ustáleném případě při spojitém buzení	407
Časově rozlišená anizotropie fluorescence při pulsním buzení	409
Měření polarizované luminiscence roztoků	410
Vliv anizotropie fluorescence při určování kvantového výtěžku	411
Přenos elektronové excitacní energie	411
Experimentální metody studia přenosu energie	413
Experimentální metodika emisní spektroskopie	414
Spektrofluorimetrie	414
Geometrické uspořádání měření	416
Nové experimentální přístupy v luminiscenci	417
Úplná luminiscence (excitačně emisní matice)	417
Synchronní luminiscence	418
Měření kvantového výtěžku	419
Měření relaxačních časů v luminiscenci	420
Mechanické pferušovače světla	420
Stroboskopická (vzorkovací) metoda	420
Metody počítání jednotlivých fotonů	421
Vzorkování krátkých pulsů	422
Časově rozlišená fluorescenční spektra	422
Metoda fázového posuvu	423
Měření ultrarychlých dohasínání v pikosekundovém oboru	424
Matematické zpracování kinetických měření	424
Užití luminiscence v biologii	424
Vlastní a nevlastní fluorofory	425
Luminiscence bílkovin	425
Vlastní luminiscence buněk	428
Fluorescenční sondy pro zjišťování polarity prostředí	429
Fluorescenční značky	430
Fluorescenční sondy pro výzkum nukleových kyselin	431
Fluorescenční sondy ve studiu biologických membrán	431