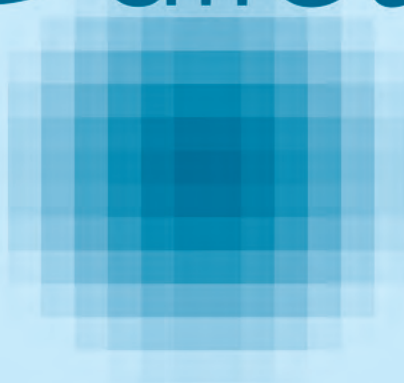


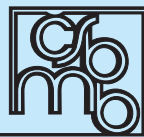
Bulletin

ROČNÍK 43 (2015), ČÍSLO 2



2

**ČESKÁ SPOLEČNOST PRO
BIOCHEMII A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGII**



ISSN 1211-2526



Zvládne více a je krásná

....inteligentní, šetrná a vždy „cool“. Centrifuga 5920 R.

Na svůj výkon a kapacitu je menší a lehčí než obdobné přístroje. Chladicí systém s kompresorem s dynamickou kontrolou umožňuje centrifuze regulovat výkon, čímž chrání vložené vzorky, šetří energii a životní prostředí.

Výkonná – až 22.132 x g s fixními rotory, až 4.816 x g s výkyvnými rotory (rychlost 200–14.000 rpm).

Hodně zvládne – 7 rotorů s různou kapacitou (fixní i výkyvné).

Max. kapacita např.: 4 x 49 ks (196 celkem) odběrové zkumavky do 8 ml, 4 x 27 ks 15 ml konické zkumavky, 4 x 13 ks 50 ml konické zkumavky, 4 x 1l, 4 x 7 MTP, 4 x 2 DWP atd.

Elegantní – díky technologiím, materiálům a komponentům použitým při výrobě je na svou kapacitu menší než jiné, ergonomický design, snadné zavírání víka, nízká hlučnost.

Vždy „cool“ – kompresor s dynamickou kontrolou teploty, teplota nastavitelná v rozsahu -10 °C až 40 °C.

Inteligentní – SW funkce: automatický přepočet rpm/rcf, FastTemp, ECO power shut-off, nastavitelné stupně rozběhu a brzdění (10/10), uložení až 99 programů, 5 programů dostupných rychlým stlačením tlačítka na ovládacím panelu a mnoho dalších příjemných funkcí.

Prostě úžasná.

www.eppendorf.cz

Eppendorf® and the Eppendorf logo are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany. All rights reserved, including graphics and images. Copyright © 2015 by Eppendorf AG.



BULLETIN

ČESKÉ SPOLEČNOSTI PRO BIOCHEMII A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGII

<http://www.csbmb.cz>

JAN KONVALINKA – VÝKONNÝ REDAKTOR

ÚOCHB AV ČR, v.v.i., 166 10 Praha 6, Flemingovo nám. 2

e-mail: konvalinka@uochb.cas.cz

MAREK ŠEBELA – ZÁSTUPCE VÝKONNÉHO REDAKTORA

Přírodovědecká fakulta UP Olomouc, Katedra biochemie

e-mail: marek.sebela@upol.cz

IRENA KRUMLOVÁ

Česká společnost pro biochemii a molekulární biologii, Kladenská 48,
160 00 Praha 6, tel.: 604 861 827

nebo ÚOCHB AV ČR, v.v.i., 166 10 Praha 6, Flemingovo nám. 2

tel.: 220 183 205, e-mail: irena.krumlova@csbmb.cz

Príspevky zpracované v textovém procesoru Word, zasílejte e-mailem do sekretariátu společnosti. Prosíme, abyste do textu ne vkládali ani obrázky, ani tabulky. Připojte je v originále, případně ve zvláštních souborech, v textu označte, prosím, jen jejich umístění.

Adresa ČSBMB: Kladenská 48, 160 00 Praha 6
tel.: 220 183 205

ISSN 1211-2526

<http://www.csbmb.cz>

<http://www.csbmb.cz>

<http://www.csbmb.cz>

<http://www.csbmb.cz>

<http://www.csbmb.cz>

<http://www.csbmb.cz>

<http://www.csbmb.cz>

<http://www.csbmb.cz>

<http://www.csbmb.cz>

<http://www.csbmb.cz>

ZPRÁVY SPOLEČNOSTI

R. Černý: Životní jubileum bývalého předsedy ČSBMB Jana Škody	28
S. Štípek, R. Černý: prof. MUDr. Jiří Kraml, DrSc.....	31
R. Černý: Opustil nás prof. MUDr. Jan Borovanský, CSc.	33

ČLÁNKY

J. Borovanský, S. Štípek: 15. vědeckopedagogická konference učitelů biochemických oborů lékařských fakult SR a ČR.....	35
R. Černý: D. I. Mendělejev – 180 let od narození	37
M. Šebela: Objevitel cytochromů David Keilin	41
Metabolické inženýrství.....	45
A. Hýlová: Sekundární metabolity chmele	51

RŮZNÉ

EMBO events 2015/16	55
IUBMB 2016.....	55

ŽIVOTNÍ JUBILEUM BÝVALÉHO PŘEDSEDY ČSBMB JANA ŠKODY



Prof. Ing. Jan Škoda, DrSc. se 10. prosince 2015 dožívá 90 let. Narodil se r. 1925 v Novém Etynku v okrese Jindřichův Hradec. Toto průmyslové městečko bylo později sloučeno se sousední Včelnicí a třemi dalšími obcemi a dostalo jméno Nová Včelnice. Jan Škoda je tedy rodem Jihočechem a za Jihočecha se považuje i po více než 70 letech v Praze. Jan absolvoval základní školu v rodné obci a do gymnázia dojížděl po úzkokolejné železnici do Jindřichova Hradce. Jeho středoškolské studium mělo komplikaci v době okupace, a to že v roce 1940 byly vyšší české školy v Jindřichově Hradci zrušeny a žáci i profesori museli dojíždět do Soběslavi. Jan tedy jezdil nadále úzkokolejkou do Jindřichova Hradce, tam ale přestoupil na standardní vlak do Veselí nad Lužnicí, kde byl druhý přestup na vlak do Soběslavi. Odpoledne pak zase zpět. To trvalo do května 1945, kdy po osvo-

bození byla 18. května provizorně zahájena výuka opět v Jindřichově Hradci, kde Jan maturoval v červnu 1945.

V říjnu téhož roku pak nastoupil ke studiu na Fakultě chemicko-technologického inženýrství ČVUT v Praze (dnešní VŠCHT). Na stejné škole absolvoval tehdy nově zavedenou vědeckou přípravu a byl mezi prvními v našem státě, kterým byl udělen titul, CSc. To bylo v roce 1953 a Jan Škoda se pak přesunul na dalších téměř 50 let o několik set metrů dále do tehdy nově ustaveného Ústavu organické chemie ČSAV, který byl záhy přejmenován na současný název – Ústav organické chemie a biochemie. Ten název, jak soudím, vystihoval přednost tohoto pracoviště ve své době, tedy schopnost kombinovat na vysoké úrovni studium nějaké látky z hlediska chemického nebo i nové látky syntetizovat a potom dále je studovat z hlediska biologických vlastností.

Jan Škoda měl řadu výborných učitelů na VŠCHT a naučil se mnohé i od svých spolupracovníků v ÚOCHB, v jejichž čele stál profesor František Šorm. Výzkumně postupně pracoval v několika oblastech biochemie, a to v oblasti biosyntézy tuků a karotenoidů, v oblasti mechanismů molekulárních účinků antibiotik, studoval i symptomy nemoci z ozáření, ale také vznik biologicky významných sloučenin za abiotických podmínek. Především se však zapsal do povědomí světové odborné veřejnosti studiem antimetabolitů, kde významně přispěl svoji syntézou **6-azauridinu** a studiem jeho účinků. V rámci přípravy tohoto článku jsem za-

dal do PubMed(u) heslo „azauridine“ a obdržel jsem 449 publikací, z nichž ta poslední je z r. 2015 a následující 2 další z roku 2014. Autor jakékoliv nové látky si nemůže přát nic lepšího, než že jeho preparát je stále používán v laboratorních současných badatelů. Díky 6-azauridinu byl Jan Škoda pozván k výzkumnému pobytu na Yale University, kde byl velkým uživatelem azauridinu Robert E. Hand-schumacher, jenž navštívil také Prahu a byl Škodovým spolupracovníkem. Na svých zahraničních cestách i doma měl Jan Škoda to štěstí, že poznal osobně řadu významných osobností světové vědy. Jmenujme jen laureáty Nobelových cen: Carl Cori, Hans Adolf Krebs, Linus Carl Pauling, Daniel Carleton Gajdusek. Důvěrně se znal se svým vzorem – zakladatelem pojmu „antimetabolit“ a úspěšným autorem mnoha antimetabolitů Georgem H. Hitchingsem i s jeho spolupracovnicí Gertrudou B. Elion. Naopak, za žáka prof. Škody se počítal i vysoce úspěšný český vědec prof. Antonín Holý.

Akademický bulletin z listopadu 2013 píše o ÚOCHB u příležitosti 60 let jeho existence a cituje vzpomínku profesora Antonína Holého:

*„Byla to velká doba **6-azauridinu**, který se již vyráběl fermentačně, myslím ve*



Slovenské Lupče. Když jsem se dostal k chemii nukleových kyselin, byl pro nás vlastně jediným dostupným nukleosidem, který jsme měli k dispozici snad jako jediní na světě skutečně v kilogramových množstvích. Učili jsme se na něm

*chemii nukleosidů, která teprve začínala. Proto také většina prací v chemii azapyrimidinů pochází z našeho ústavu. Původní myšlenka náhrady uracilu 6-azauracilem pochází od prof. Šorma, transformaci na 6-azauridin fermentačně uskutečnili prof. Škoda s Hessem a chemici v čele s Dr. Gutem pak určili strukturu (N1-isomer) a stále tuto chemii rozvíjeli. V této souvislosti nelze opomenout jména Dr. Jiřího Plimla, Dr. Miroslava Prystaše a Dr. Aloise Pískaly. **Jsem přesvědčen, že 6-azauridin i 6-azacytidin by v rukou finančně silného i politicky vlivného podniku určitě dosáhl širokého uplatnění jako kancerostatika.** V USA se nakonec na nějakou dobu prosadil jenom 6-azauridintriacetát jako antipsoriaticum.“*

Jan Škoda měl schopnosti a trpělivost vykonávat též práci redakční. Byl léta vedoucím redaktorem „Collection of Czechoslovak Chemical Communications“ a členem redakční rady „Biochemical Pharmacology“ vydávaného v USA. Ovlivnil také Bulletin naší Biochemické společnosti tím, že kdysi pro něj vybral nového redaktora Václava Pačese. Sám redakčně pracoval po mnoho let také pro FEBS, kde působil v Publication Committee a vydával FEBS Bulletin jako historicky druhý editor (první byl Prakash Datta). Za tuto práci obdržel v roce 2001 „Diplôme d'Honneur“. Vedle oficiální ovšem žije Jan Škoda jako editor v mé mysli jako autor velmi užitečných rad pro začínající autory sérií článků v Chemických Listech s názvem „Čtení o publikování“ někdy v šedesátých letech.

Naše biochemická veřejnost ovšem zná prof. Škodu především jako úspěšného předsedu Československé společnosti biochemické v letech 1975 – 1990. Jeho práce pro biochemickou společnost však začala mnohem dříve. Minimálně

od r. 1965 byl členem Názvoslovné komise Společnosti a později také členem a předsedou pedagogické komise. V roce 1968 byl mezi organizátory *5. kongresu FEBS* konaného v Praze. Již jako předseda Společnosti zorganizoval v Praze v r. 1979 *Mezinárodní symposium FEBS o antimetabolitech*.

Vrcholem Škodovy organizační činnosti a vyvrcholením úsilí celé československé biochemie té doby bylo pověření a konání *14. Mezinárodního biochemického kongresu v Praze v roce 1988*, jehož byl Jan Škoda prezidentem. Sjezdu se zúčastnilo 6062 biochemiků z 62 zemí a byl po všech stránkách úspěšný.

Když naše Společnost pořádala v roce 2009 *34. FEBS kongres* a já byl mj. pověřen přípravou kongresových novin, obrátil jsem se na prof. Škodu se žádostí o příspěvek ve smyslu vzpomínek na předchozí kongresy v Praze. Prof. Škoda nejenže promptně připravil požadované články, ale věnoval mi kompletní sadu sjezdových novin z roku 1988 a poskytl i řadu cenných rad.

Je třeba také zmínit, že Jan Škoda byl mnoho let učitelem na VŠCHT a pro své žáky připravil řadu učebních textů. Vždy jsem byl přesvědčen, že jeho přednášky musely studenty zaujmout, tak

jako mne zaujaly při různých příležitostech v rámci akcí Společnosti. Pro mne osobně zůstává absolutním vzorem přednáška Jana Škody proslovená na *Biochemických dnech v Plzni v r. 1972* s názvem „Srovnávací biochemie – prazdroj chemoterapeutických úspěchů G. H. Hitschingse“. Že učitel Jan Škoda není svými žáky zapomenut se ukázalo na našem posledním XXIV. Biochemickém sjezdu v září 2014 v Bratislavě. Jeden z pozvaných přednášejících byl významný představitel střední generace naší biochemie a molekulární biologie doc. Ing. Stanislav Kmoch, CSc., současný vedoucí pracovník BIOCEVu. Na úvod své přednášky promítl fotografii prof. Škody a zmínil, že právě přednášky prof. Škody z genetiky ho jako studenta VŠCHT ovlivnily natolik, že si zvolil medicínsko – genetické zaměření své pracovní dráhy. Kdo z nás, kteří přednášíme vysokoškolským studentům, si umí představit lepší dopad naší pedagogické práce?

Všichni blahopřejeme prof. Janu Škodovi **k narozeninám, přejeme mu** pevné zdraví a těšíme se, že ho uvítáme na 43. FEBS kongresu v Praze 7. – 12. 7. 2018.

Radim Černý

S hlubokým zármutkem oznamujeme, že v neděli 20. září 2015 zemřel ve věku 85 let

prof. MUDr. Jiří Kraml, DrSc.,

vědec a pedagog z Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK
a VFN a někdejší dlouholetý vědecký sekretář Československé
a později České společnosti pro biochemii a molekulární biologii.



Profesor Jiří Kraml se narodil 23. dubna 1930 v Praze. Po ukončení studia na Fakultě všeobecného lékařství Univerzity Karlovy v roce 1955 přijal místo sekundáře na interním oddělení nemocnice v Chomutově, kde se věnoval kromě klinické praxe i klinicko-biochemické laboratoři. S touto zkušeností se v roce 1959 vrátil na fakultu a věnoval jí celý svůj profesní život. Na 1. ústavu lékařské chemie a biochemie se svými mladými spolupracovníky zavedl zcela nové imunochemické metody. Jeho enzymologické oddělení přineslo nové poznatky o charakteru, regulaci a ontogenetickém vývoji střevních glykosidas. Vneslo zcela nové směry do výuky mediků a postgraduálních studentů. Profesor Jiří Kraml vychoval řadu mladých vědců, kteří se uplatnili na Československé a pak České akademii věd, v Endokrinologickém ústavu, na klinikách fakulty i na domácím pracovišti.

Jeho přednášky byly vždy zdrojem exaktních informací pečlivě seřazených a vynikajícím způsobem a krásnou češtinou proslovených. Z jeho výukových textů byla nejvíce a nejdéle používána skripta pro praktická cvičení. Byl spoluautorem českých celostátních učebnic lékařské chemie a biochemie a editorem dvou překladů ve světě rozšířené Harperovy Biochemie. V roce 1975 byl jmenován docentem a v roce 1990 profesorem biochemie. Mezitím v roce 1989 obhájil doktorskou disertační práci na téma Střevní beta-glykosidasy ve vztahu k enzymům kartáčového lemu.

Profesor Jiří Kraml se zasloužil o rozvoj oboru, ústavu a fakulty nejen jako vědec a učitel. Také jeho nesmírná organizační obětavost si zaslouží poděkování. Desítky let se podílel na vedení 1. ústavu lékařské chemie jako tajemník katedry a v letech 1990 – 1998 byl jeho přednostou. Tři roky (1990 – 1993) organizoval na fakultě výuku lékařství ve funkci proděkana. Rozhodujícím způsobem se zasloužil o zavedení a vysokou úroveň anglické výuky medicíny na fakultě. V letech 1992 – 1999 byl vedoucím učitelem anglické paralelky. Především jeho zásluhou byly připraveny veškeré náležitosti české strany pro uznání srovnatelnosti standardů curricula medicíny na českých lékařských fakultách s americkými standardy. Profesor Jiří Kraml byl mnoho let členem i předsedou rady hodnotitelských grémií, komisí pro obhajoby a grantových

komisí. V roce 2010 mu byla udělena Zlatá pamětní medaile Univerzity Karlovy v Praze.

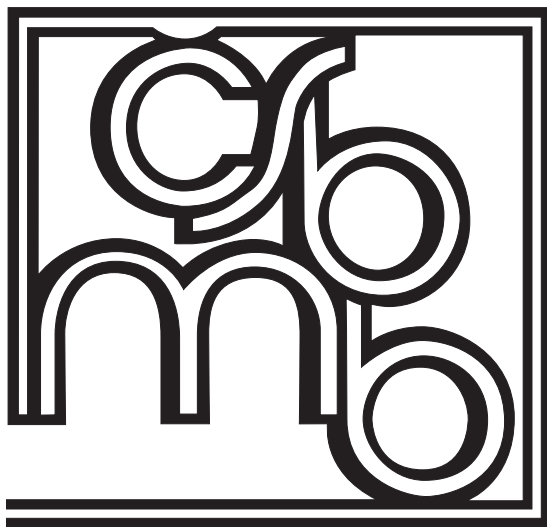
Prof. Kraml sloužil naší biochemické společnosti jako její vědecký sekretář v letech 1978 – 1997, tedy plných 19 let. Jako mladý lékař a biochemik studoval imunochemické metody a jejich využití v tehdejší Laboratoři pro proteosyntézu FVL UK umístěnou v Ústavu hematologie a krevní transfuze a vedenou prof. Jaroslavem Hořejším, a to v laboratoři doc. Karla Slavíka. Prof. Hořejší byl historicky prvním vědeckým sekretářem naší Společnosti a doc. Slavík jej ve funkci nahradil, když prof. Hořejší se stal předsedou Společnosti. Bylo zcela přirozené, že oba funkcionáři si povšimli osobních kvalit mladého MUDr. Kramla a postupně jej zapojovali do organizační práce Společnosti. Později pak už bylo zcela přirozené, že v době vážného onemocnění doc. Slavíka byl novým vědeckým sekretářem zvo-

len tehdy již doc. MUDr. Jiří Kraml, CSc. V té době byla aktivita Společnosti velmi obsáhlá, konala se kupř. bilaterální sympo- sia ve spolupráci s biochemiky z tehdejší NDR, každoročně probíhaly ve spolupráci s firmou Pharmacia z Uppsaly, konaly se kurzy FEBS na našich pracovištích. Jako vědecký sekretář se významně podílel i na adaptaci Společnosti na nové společenské podmínky počínaje rokem 1990. Z jeho iniciativy se konal v Praze třídní workshop o výuce biochemie za účasti funkcionářů IUBMB, kde jsme konfrontovali své výukové zkušenosti s poznatky představitelů mezinárodní instituce. Aktivita prof. Kramla v České společnosti pro biochemii a molekulární biologii byla mnohostranná a pro něj příslovečná a my, pamětníci, na ni stále s vděčností vzpomínáme.

Ztrácíme uznávaného vědce, vynikajícího učitele, vzácného člověka a přítele.

20151006

Stanislav Štípek a Radim Černý



Opustil nás prof. MUDr. Jan Borovanský, CSc.

Jsem nucen biochemické veřejnosti oznámit, že v pondělí 24. srpna 2015 zemřel ve věku 72 let prof. MUDr. Jan Borovanský, CSc., vědec a pedagog z Ústavu biochemie a experimentální onkologie 1. lékařské fakulty UK v Praze.



Jan Borovanský se narodil 4. února 1943 v Praze v rodině významného českého anatoma prof. Ladislava Borovanského. Od r. 1960 studoval lékařství na FVL UK v Praze a od počátku 2. ročníku, tedy od září 1961 se rozhodl věnovat se podrobněji chemii a biochemii. Začal pracovat na II. Ústavu pro chemii lékařskou (dnes Ústav biochemie a experimentální onkologie) pod vedením prof. MUDr. Antonína Felixe Richtera, DrSc. a na tomto pracovišti setrval a pracoval doslova do konce svého života, tedy plných 54 let. Samostatně začal vyučovat od r. 1965 a se svým pracovištěm byl bytostně spojen. Svůj poslední vědecko-pedagogický úkol, tj. zpracování oponentského posudku pro obhajobu, Ph.D. jedné kolegyně, ukončil a odevzdal 3 dny před svým skolem.

Na odborném růstu Jana Borovanského se kromě zmíněného prof. Rich-

tera podílel především jeho hlavní učitel prof. MUDr. Jiří Duchoň, DrSc., ale také prof. Ing. Dr. Zdeněk Vodrážka, DrSc. v době, kdy působil v Ústavu hematologie a krevní transfuze. Tématem vědecké práce Jana Borovanského a celé skupiny původně vedené doc. Duchoněm byl metabolismus aromatických aminokyselin, vznik a odbourání melaninu, a to jak buňkách normálních, tak melanomových. V této oblasti se stal renomovaným odborníkem. Jen stručně uvedu, že promoval v roce 1966, kandidátskou práci obhájil v roce 1976, habilitoval v roce 1979, profesorem lékařské chemie a biochemie se stal v roce 2004.

Sbíral rovněž poznatky v cizině – nejprve na Biochemickém ústavu a Dermatologické klinice Univerzity v Sheffieldu, v 80. letech ve Fakultní nemocnici v Londýně, kde se setkal při práci s prof. P. A. Rileyem a kde byl jmenován Honorary Research Fellow, a roku 1993 též na Univerzitě v Leidenu. Byl také jmenován Fellow of the Totteridge Institute for Advanced Science v Londýně. Jako první zástupce ze zemí bývalého východního bloku byl v roce 1990 zvolen do výboru European Society for Pigment Cell Research a organizoval dva její pražské kongresy. Od roku 2003 byl členem The Quintox Group, britsko-nizozemsko-českého sdružení vědců zabývajících se využitím toxicity chinonu pro terapii maligního melanomu.

Je držitelem ceny Univerzity Karlovy v Praze za tvůrčí počín, a to za první mono-

grafii o melanosomech a melaninech ve světové literatuře, vydanou nakladatelstvím Wiley & Blackwell. Byl členem Českého národního komitétu pro biochemii, České společnosti pro biochemii a molekulární biologii, Dermatovenerologické společnosti ČLS JEP a Společnosti klinické biochemie ČLS JEP.

Větší část svého života prožil Jan Borovanský s velkým zdravotním handicapem – vážným ledvinovým onemocněním, které se nakonec řešilo transplantací ledviny v r. 2001. Statečně své chorobě čelil, nikdy nežádal úlevy a stále pracoval. Bohužel, jiná zákeřná nemoc ukončila jeho život.

Já osobně jsem se setkal s Janem Borovanským po promoci v roce 1966, když jsme narukovali k závěrečnému vojenskému soustředění v rámci vojenské katedry a později k vojenské prezenční službě do Hradce Králové k úvodnímu

soustředění absolventů lékařských fakult. Sblížil jsem se tam s desátníkem-absolventem MUDr. Janem Borovanským na základě shodně zvolené profese, ale i lidsky, naše přátelství se s léty prohlubovalo. Setkávali jsme se jako biochemici dost často, mj. i v Českém národním komitétu pro biochemii a molekulární biologii a v biochemické společnosti. Jeho odchodem jsem velmi zasažen a mohu jen říci, že mi velmi chybí a soudím, že nejsem sám.

Stojí psáno: „De mortuis nihil nisi bene!“ Je to pro nás, kteří jsme znali Jana Borovanského dobrá zpráva. Můžeme tedy o něm mluvit a budeme o něm mluvit, protože toho dobrého, co v našich životech zanechal je tolik, že to vystačí do konce našich vlastních dnů.

Radim Černý



15. VĚDECKOPEDAGOGICKÁ KONFERENCE UČITELŮ BIOCHEMICKÝCH OBORŮ LÉKAŘSKÝCH FAKULT SR A ČR

Tradiční, tentokrát již 15. vědeckopedagogická konference učitelů biochemických předmětů lékařských fakult SR a ČR se konala 21. 5. – 22. 5. 2015 v Košicích. Byla organisována Ústavem lékařské a klinické biochemie LF University Pavla Josefa Šafaříka, Východoslovenskou pobočkou Slovenské společnosti pro biochemii a molekulární biologii, Slovenskou společností klinické biochemie a firmou Medirex, a. s. Celkem se zúčastnilo 56 pedagogů a postgraduálních studentů z 8 lékařských fakult, písemnou formou přispěli pracovníci LF SZU Bratislava a LF OU Ostrava a omluvili se učitelé z LK UK Hradec Králové a z LF MU Brno.

Úvodní slavnostní přednášku přednesl prof. J. Čársky (LF UK, Bratislava) „Začiatky lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie na Slovensku (1922 – 1968). S. Štípek a J. Borovanský (1. LF UK Praha) v přednášce „Z čeho se studovala lékařská chemie a biochemie v Praze?“ provedli inventuru učebnic a skript používaných v letech 1820 – 2015.

V pedagogické části se diskutoval počet výukových hodin biochemických disciplin na jednotlivých fakultách a hledaly cesty jak více motivovat studenty k biochemickým předmětům. Z příspěvku M. Marekové a J. Guzyho (LF UPJŠ Košice) vyplynulo, že počet hodin věnovaných lékařské biochemii je na různých fakultách odlišný – nejnižší na LF SZU Bratislava (136 hod.) a nejvyšší na 1. LF UK Praha a na LF UK Hradec Králové (270 hod.). Úvodní předmět Lékařská chemie se zachoval jen na 7 z 12 lékařských

fakult, na 4 LF přežívá ve formě volitelného předmětu (Muchová a spol. LF UK Bratislava). Patobiochemie je povinným předmětem jen na 1. a 2. LF UK Praha a jako volitelný předmět se vyučuje na LF UK Plzeň, LF UK Hradec Králové a na LF UP Olomouc, na Slovensku jen na JLF UK v Martině.

Vedle „inventarizujících“ přednášek se řada pedagogů zamýšlela nad tím, jak učinit studium biochemických oborů pro posluchače primárně orientované na medicínské aspekty, co nejatraktivnější. Z vlastních zkušeností byly doporučeny různé strategie: Využití klinických detektivních příběhů ve výuce biochemie v 1. a 2. ročníku na 3. LF UK v Praze (Bálinová a spol.); Stimulace studentů na praktických cvičeních lékařské biochemie prostřednictvím e-learningu (Hatok et al. JLF Martin); Efektivní výuka medicíny – může nám pomoci e-learning? (Rajdl a spol., LF UK Plzeň) – nejhumorněji podaný příspěvek konference; Kasuistiky ve výuce lékařské biochemie (Vejražka, 1. LF UK Praha). Fontana a spol. (3. LF UK Praha) představil multimediální skripta pro výuku lékařské biochemie, fyziologie a histologie člověka. Z diskusí vyplynulo, že klíčovým faktorem úspěšné výuky zůstává osobnost učitele.

prof. Dobrota informoval o nevšedním stavebním růstu včetně modernisace přístrojového vybavení z prostředků fondů EU pro prohloubení biochemického a bioimedicínského výzkumu na JLF Martin.

Typickým rysem vědecké části byla vystoupení řady postgraduálních studentů.

Jako obvykle převažovaly studie různých aspektů oxidačního stresu, např.: Vliv tert-butylhydroperoxidu a peroxynitritu na oxidační poškození mitochondrií (Kohutiar & Wilhelm 2. LF UK Praha); Parametry oxidačního stresu a neuronálního poškození v likvoru pacientů se sclerosis multiplex (Ďurfinová a spol. LF UK Bratislava); Asociace sRAGE s rizikem vzniku a rychlostí progresu sclerosis multiplex (Čierny a spol. JLF UK Martin); Produkty lipoperoxidace jako potenciální biomarkery Alzheimerovy choroby (Chmátalová et al. 2. LF UK Praha); Protektivní účinek oleje z vlašských ořechů proti hyperglykemii indukované oxidačním stresem (Laubertová et al. LF UK Bratislava) Skupina prof. Vaško (LF UPJŠ Košice) studovala účinek huminových kyselin a olova na aktivitu některých antioxidantů v mitochondriích jater a ledvin.

Oživením programu byla přednáška Proteomická analýza moče a močových

exosomů (Bencková & Sabo (LF UPJŠ Košice)). Náplň ostatních přednášek byla natolik heterogenní, že je nelze obecně skupinově charakterizovat, a proto upozorňujeme zájemce, že řada přednášek byla publikována ve formě abstrakt nebo *in extenso* v časopise Laboratorná diagnostika 20(1), 2015, 1-189.

Společenská část setkání byla, jak je tomu na Slovensku pravidlem na vysoké úrovni. Večerní prohlídka Košic s Milanem Kolcunom, expertem na Zemplín, byla fantastická a pro mnohé z nás objevná. Nejživější diskuse se odehrály při ochutnávce tokajských vín firmy Nagyová ve Viničkách. Díky účastníků patří nejen klíčovým postavám organizačního výboru – prof. Ing. Marii Marekové, CSc a prof. Ing. Juraji Guzemu, CSc, ale i celému obětavému organizačnímu výboru a pracovníkům Ústavu lékařské a klinické biochemie LF UPJŠ.

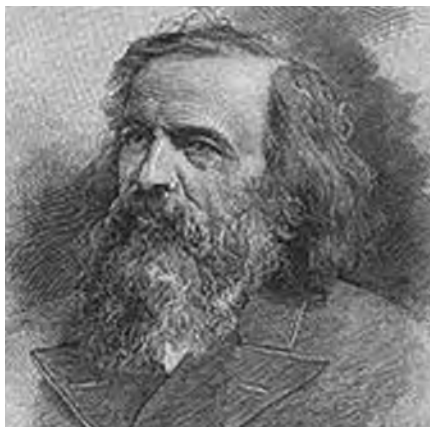
Jan Borovanský, Stanislav Štípek



DMITRIJ IVANVIČ MENDĚLEJEV

(8. 2. 1834 – 2. 2. 1907)

– 180 LET OD NAROZENÍ



Všichni jsme ve škole byli seznámeni s tabulkou prvků, zvanou Mendělejevova, někteří z nás si vybavují, že umístění prvku v tabulce nám říká mnohé o vlastnostech příslušného prvku, protože vlastnosti prvků se periodicky opakují, čehož si kdysi povšiml jistý Mendělejev. Nežli si toho ale mohl povšimnout, musel se nejprve mnohé naučit a poznat a také dost přemýšlet. Soudím, že o jeho životě většina z nás ví jen málo. I moje znalosti byly podobné, nežli jsem byl vyzván k sepsání tohoto článku.

Jubilant se narodil 8. února 1834 v obci Věrchnije Aremzjani poblíže Tobolsku na západní Sibiři. Tobolsk leží na řece Irtyš a byl dříve administrativním centrem gubernie. Dnes je centrem gubernie Omsk, kde nedávno působil hokejista Jágr. Tobolsk byl tradičním místem, kam se posílali vyhnanci, takže v roce 1917 po únorové revoluci tam byl Prozatímní vládou umístěn poslední car Mikuláš II s rodinou, později byl bolševiky přesunut

do Jekatěrinburgu, kde byla celá carská rodina postřídána. O tom ale mladý Mendělejev nemohl mít ani žádnou předtuchu a měl své vlastní starosti. Byl nejmladší z velkého počtu dětí v rodině (uvádí se 17, ale většina zemřela v kojeneckém věku). Rodiče byli relativně vzdělaní lidé, dříve žili v Saratovu, otec byl učitel a stal se ředitelem gymnázia v Tobolsku a řídícím školským úředníkem pro celou oblast. Jak již bylo řečeno, do oblasti Tobolsku se posílaly nežádoucí osoby, kupř. po bitvě u Poltavy (1709) sem byli umístěni švédští vojenští zajatci a mnozí se zde usadili natrvalo. Po nezdařeném povstání „děkabristů“ (1825) byli mnozí z nich odsouzeni do vyhnanství a žili právě v okolí Tobolsku. Jeden z nich se oženil s Mendělejevovou starší sestrou Olgou. Šlechtici z řad děkabristů poskytli prý i finanční pomoc rodině Mendělejevových v době nouze. Mendělejevův dědeček z otcovy strany, který ale působil v Tverské oblasti (severně od Moskvy), byl pravoslavný kněz, vnuk byl ale později exkomunikován z pravoslavné církve a obrátil se k deismu (osvícenecké hnutí na principech racionalistické kritiky náboženství). Ale nepředbíhejme. Druhý dědeček z matčiny strany působil jako správce domu knížat Trubeckých v Moskvě, kde se odehrávaly intenzivní kontakty osobností literárního i vědeckého života. Mendělejevův otec bohužel záhy oslepl a ztratil tak možnost vyučovat a vůbec pracovat, což byla tragédie pro celou rodinu. Matka však byla velmi energická žena a snažila se uživit rodinu obnovením sklářské výroby v dříve již uzavřené továrně svého bratra.

Když bylo mladému Mendělejevovi 13 let, otec zemřel a sklárna jeho matky vyhořela. V té době chlapec navštěvoval gymnázium. O dva roky později (1849) pak vzala matka svého patnáctiletého syna a cestovala s ním ze Sibíře do Moskvy, aby mu umožnila vysokoškolské vzdělání. Cesta musela být vykonána koňským povozem, neboť na celém území Ruska bylo do r. 1850 položeno jen 590 km železničních tratí a určitě to nebylo v Tobolsku. Mladý Mendělejev však nebyl v Moskvě přijat ke studiu, takže matka s ním cestovala dále do Sankt Petěrburgu (tam již možná železnici). V roce 1850 zahájil chlapec studia na Fakultě fyziky a matematiky při Hlavním pedagogickém institutu, kde v roce 1855 promoval s oslnivým výsledkem. Bohužel se ale u mladého Mendělejeva objevila tuberkulóza, a tak přesídlil na Krym, kde se léčil a zároveň pracoval jako učitel na gymnáziu v Simferopolu a později též v Oděse. V r. 1857 se vrátil do hlavního města zcela vyléčen. Mimochodem ho prý vyšetřil i samotný Pirogov a uzavřel to slovy: „Vy nás všechny přežijete!“ A měl pravdu. Je s podivem, že pobyt na Krymu Mendělejev realizoval v době krymské války (1853 – 56), kdy se na Krymu bojovalo, a to pro Rusko dost neúspěšně. Dokonce padl Sevastopol, nicméně Krym zůstal Rusku zachován na základě Pařížské mírové smlouvy.

Mendělejev pracoval nyní na „Impe-
rátorské Sankt-Petěrburgské Univerzitě“
a v letech 1859 – 61 působil v Bunsenově
laboratoři v Heidelbergu v Německu, kde
studoval chování kapalin a spektroskopii.
Tam se setkal s jiným slavným Rusem –
Alexandrem Porfirjevičem Borodinem, vyni-
kajícím chemikem-lékařem a navíc hudeb-
ním skladatelem. Po návratu domů se stal
profesorem zmíněné univerzity, definitivu
získal v r. 1867. Traduje se, že ženy nebyly
Mendělejevovi lhostejné. Poprvé se oženil

v r. 1862, tedy záhy po návratu z Heidel-
bergu, s o 6 let starší Feozvou Leščevou
a z toho manželství vzešly 3 děti, z čehož
2 přežily do dospělosti. Syn Vladimír byl
námořník a později doprovázel následníka
trůnu Mikuláše na jeho roční tzv. Východní
cestě lodí kolem Evropy a Asie. Koncem
roku 1878 se 44letý Mendělejev beznadě-
jně zamiloval do 23leté Anny Popové a po-
mocí asi vážně míněných výhrůžek sebe-
vraždou ji přiměl ke sňatku. Rozvod ovšem
tehdy nebyl snadný, nicméně možný. Pra-
voslavná církev určovala, že po rozvo-
du je možný další sňatek až po 7 letech.
Mendělejev se však znovu oženil měsíc
před ukončením rozvodového řízení, takže
byl fakticky bigamista. Když se na podvod
přišlo, byl exkomunikován z církve, ni-
cméně car mu udělil milost a na stížnost
jednoho knížete, proč jemu nebyla po-
volena stejná výjimka, car odpověděl:
„Mám mnoho šlechticů, ale jen jednoho
Mendělejeva.“ Z druhého manželství vzešly
4 děti, nejstarší dcera Ljubov se provdala
za významného básníka Alexandra Blo-
ka. Zmíněný car byl Alexandr II, upřímný
reformátor samoděržaví ale i budovatel
impéria, kterého r. 1881 zavraždili jiní
upřímní lidé, mladí intelektuálové z organi-
zace „Svoboda lidu“.

Mendělejev byl skutečně vynikající
chemik a jeho činnost se neomezila jen
na objev periodického systému prvků, byť
jde o objev stěžejní. První verzi svého sys-
tému publikoval v r. 1869. V té době bylo
známo a částečně charakterizováno 62
prvků. O rok později pak předložil tabulku
přesnější, doplněnou o další prvky. Práce
z roku 1870 měla název „*Přirozená sous-
tava prvků a její použití k udání vlastností
prvků dosud neobjevených*.“ K nejslav-
nějším objevům předpovězených prvků
patřil objev eka-aluminia (Ga), eka-boru
(Sc) a eka-silicia (Ge). Všechny před-
povězené prvky byly záhy skutečně obje-

veny. Nejslavnější je historie objevu gallia. Jak uvedeno, Mendělejev do mezery mezi vápník a titan umístil prvek, zvaný eka-aluminium. Ten o šest let později, roku 1875, objevil francouzský chemik Lecoq de Boisbaudran a nazval jej gallium. Krátce poté poslal Mendělejev objeviteli dopis, v němž jej upozorňoval, že měrná hmotnost gallia nemůže být 4,7, jak francouzský chemik experimentálně určil, nýbrž se musí pohybovat mezi 5,9-6,0. Lecoq se dost podivil troufalosti vědce, který jeho gallium nikdy neviděl, a přesto se odvažuje o něm tak zasvěceně mluvit. Jaké však bylo jeho překvapení, když při opakovaných pokusech měrnou hmotnost gallia opravdu určil na 5,96. Tato senzační Mendělejevova předpověď se rychle rozšířila ve vědeckých kruzích a jeho periodický zákon triumfoval. Je třeba si uvědomit, že tehdy nebyla žádná povědomost o stavbě atomů, neexistovala žádná atomová čísla, jen atomová hmotnost. Ta však je různá u různých izotopů, což byl tehdy také problém. Mendělejev měl také problémy s umístěním lanthanidů (vnitřně přechodné prvky) a předpověděl existenci aktinoidů.

Při tvorbě názvů pro dosud neobjevené prvky použil Mendělejev číslovkové

předpony ze staroindického sanskrtu eka, di, tri (tj. jedna, dvě tři). Učinil tak, aby vzdal hold staroindickému znalci gramatiky sanskrtu ze 4. století př. n. l. jménem Panini, který nalézal periodické vztahy při studiu gramatických a fonetických prvků jazyka. Příslušné informace získal Mendělejev od svého německého přítele indologa Böhtlingka, který připravoval knihu o Paninim. Mendělejev prý našel velkou analogii mezi svojí tabulkou prvků a Pananiho tabulkou gramatických a fonetických vztahů jazyka. Mimochodem při studiu podkladů pro tento článek jsem našel snad náhodnou, ale zajímavou okolnost. V rámci světové fonologie hraje důležitou roli tzv. Pražská fonologická škola a jejím předním představitelem byl ve 20. letech minulého století ruský emigrant Nikolaj Trubeckoj, člen knížecí rodiny Trubeckých, u kterých kdysi působil Mendělejevův dědeček jako správce domu a tento dům D. I. Mendělejev prokazatelně navštěvoval. Není vyloučeno, že i tam mluvil o analogiích mezi chemií a gramaticko-fonetickými jevy a vyvolal něčí zájem o fonologii.

Mendělejev se v životě neomezil jen na chemické prvky a jejich periodické vlastnosti. Rozvíjel všechny součásti che-

Reihen	Gruppe I. — R ⁰	Gruppe II. — R ⁰	Gruppe III. — R ⁰	Gruppe IV. RH ⁴ R ⁰	Gruppe V. RH ⁴ R ⁰	Gruppe VI. RH ⁴ R ⁰	Gruppe VII. RH ⁴ R ⁰	Gruppe VIII. — R ⁰
1	II=1							
2	Li=7	Be=9,4	B=11	C=12	N=14	O=16	F=19	
3	Na=23	Mg=24	Al=27,3	Si=28	P=31	S=32	Cl=35,5	
4	K=39	Ca=40	—=44	Ti=48	V=51	Cr=52	Mn=55	Fe=56, Co=59, Ni=59, Cu=63.
5	(Ca=63)	Zn=65	—=68	—=72	As=75	So=78	Br=80	
6	Rb=85	Sr=87	?Yt=88	Zr=90	Nb=94	Mo=96	—=100	Ru=104, Rh=104, Pd=106, Ag=108.
7	(Ag=108)	Cd=112	In=113	Sa=118	Sb=122	Te=125	J=127	
8	Cs=133	Ba=137	?Di=138	?Co=140	—	—	—	—
9	(—)	—	—	—	—	—	—	—
10	—	—	?Er=178	?La=180	Ta=182	W=184	—	Os=195, Ir=197, Pt=198, Au=199.
11	(Au=199)	Hg=200	Tl=204	Pb=207	Bi=208	—	—	—
12	—	—	—	Th=231	—	U=240	—	—

Obr. 2: Periodický systém z r. 1871



Obr. 3: Skulptura v Bratislavě (před budovou Slovenské technické univerzity)

mie, ale i fyziky, včetně jejich praktických a průmyslových aplikací. Hodil by se i do dnešní doby, protože publikoval asi 400 prací. Napsal vynikající učebnici „Základy chemie“, podle níž se učilo v mnoha

zemích několik desetiletí. V roce 1890 rezignoval na profesorské místo na univerzitě a věnoval se právě praktickým otázkám. Od r. 1893 byl ředitelem ruského Ústavu pro míru a váhy, zavedl v Rusku metrický systém a stanovil různé standardy, mj. i pro výrobu vodky, která se pak vyráběla 38 % na základě jeho někdejších studií vlastností roztoků vody s alkoholem. Po revoluci se ale i v Rusku přešlo na mezinárodní standard, tj. na 40 % vodku. K tomu se poji vtíp, zda kvůli těm 2 % bylo třeba dělat tak velkou revoluci.

Již v r. 1876 byl Mendělejev vyslán do USA, aby tam studoval průmyslové zpracování ropy a skutečně se později stal zakladatelem ruského ropného průmyslu. Lze tedy říci, že se takto vlastně zapletl do imperiální politiky zmíněného Alexan-



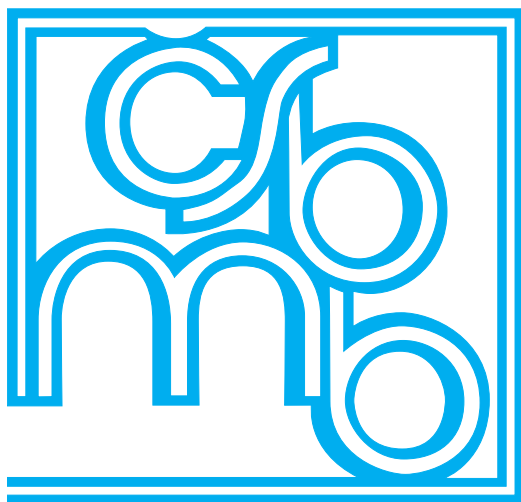
Obr. 4: Zakládající členové Ruské chemické společnosti (1868). Mendělejev je stojící 2. zprava, stojící 5. zleva je Borodin. Popis na okraji je Mendělejevův.

**PRO LEPŠÍ INFORMOVANOST PROSÍME O AKTUALIZACI
VAŠÍ E-MAILOVÉ ADRESY.**

KONTAKT:

vendula.stavikova@csbmb.cz

mobil: 777 599 285





Česká společnost pro biochemii
a molekulární biologii vyhlašuje cenu

Josefa V. Koštíře

za významný vědecký přínos v oblastech

biochemie

a buněčné

a molekulární biologie

CENA VE VÝŠI KČ 50.000,- BUDE UDĚLENA

Za význačný přínos v oboru v obdobích 2014/2015.

Cena bude vyhlášena a oceněná práce bude prezentována
na XXV. sjezdu ČSBMB a SSBMB v září 2016 v Praze.

Cena není omezena žádnými speciálními kvalifikačními požadavky s jedinou
výjimkou – oceněný musí být členem
České společnosti pro biochemii a molekulární biologii.

Spolu s průvodním dopisem se všemi kontakty a plnou adresou se
posílají publikace vydané v roce 2014 nebo/a 2015, z nichž je zřejmý zásadní přínos
předkladatele k publikovaným výsledkům (zpravidla první autor).

Soubor prací zašlete na email:

krumlova@uochb.cas.cz

jako předmět napište **Cena J. V. Koštíře 2016**

**Do soutěže budou přijaty pouze práce došlé nejpozději
do 30. dubna 2016!!!**

XXV.

BIOCHEMICKÝ SJEZD

České společnosti pro biochemii a molekulární biologii
a Slovenské spoločnosti pre biochémiu a molekulárnu biológiu

PRAHA, Národní technická knihovna ♦ 13. – 16. 9. 2016

Předseda sjezdu:

Prof. RNDr. Václav Pačes, DrSc.

Místopředseda sjezdu:

Prof. RNDr. Ján Turňa, CSc.

Předseda organizačního výboru:

Prof. RNDr. Marie Stiborová, DrSc.

Organizační sekretariát:

Congress Business Travel, Lidická 43/66,
150 00 Praha 5 - Anděl, Česká republika
tel.: 224 942 575, fax: 224 942 550
e-mail: csbmb2016@cbttravel.cz



VYHLÁŠENÁ TÉMATA (SEKCE)

1. Biochemie membrán a bioenergetika

(Mgr. Tomáš Mráček, PhD.,
MUDr. Josef Houštěk, DrSc.)

2. Bioelektrochemie a bioanalytika

(Prof. RNDr. Emil Paleček, DrSc.,
Doc. RNDr. Miroslav Fojta, CSc.)

3. Bioinformatika a výpočetní biochemie

(Ing. Hynek Strnad, PhD.)

4. Biotechnologie

(doc. RNDr. Jana Pěkníková, CSc.)

5. Buněčná signalizace a buněčná regulace

(RNDr. Petr Novák, PhD.)

6. Glykobiologie

(Prof. RNDr. Michaela Wimmerová, PhD.)

7. Molekulární genetiky v biochemii a medicíně

(Prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, PhD.)

8. Pathobiochemie a klinická biochemie

(Prof. MUDr. Radim Černý, CSc.)

9. Proteomika a metabolomika

(Prof. Mgr. Marek Šebela, Dr.)

10. Struktura a funkce biomolekul

(Ing. Jan Dohnálek, PhD.)

11. Výuka biochemie

(Prof. RNDr. Jiří Hudeček, CSc.)

12. Vývojová a srovnávací biochemie

(Prof. RNDr. Libor Grubhoffer, CSc.)

13. Xenobiochemie a molekulární toxikologie

(Prof. RNDr. Marie Stiborová, DrSc.)

www.csbmb2016.cz

Welcome to the
41st FEBS Congress

Molecular & Systems Biology
for a Better Life

FEBS2016: Plenary Speakers



Elena Conti
Germany, Theodor Bücher
Lecturer



Alicia Kowaltowski
Brazil, PABMB Lecturer



Seppo Meri
Finland



Roeland Nusse
United States of America,
IUBMB Lecturer



Jacques Pouyssegur
France, EMBO Lecturer



James Rothman
United States of America,
Closing Lecturer



Kári Stefánsson
Iceland, Sir Hans Krebs
Lecturer



Anthony Turner
Sweden, Datta Lecturer



Kamil Ugurbil
United States of America

About FEBS Congresses

The FEBS Congress aims to provide an outstanding international forum in the European area for the face to face exchange of knowledge and ideas across the molecular life sciences.

FEBS2016
September 3 – 8

dra II, k čemuž lze připsat i jeho vynález bezdýmového střelného prachu na bázi nitrocelulózy nebo projekt ledoborce, který byl skutečně postaven a pojmenován Jermak.

Mendělejev obdržel mnoho vědeckých poct, především v zahraničí. Nikdy se ale nestal členem Ruské akademie věd, velmi pravděpodobně kvůli svému konfliktu s církví pro svůj spěch do druhého manželství. V roce 1905 byl zvolen za člena Švédské královské akademie věd. Pak bylo docela logické, že byl také navržen na Nobelovu cenu pro rok 1906. Tento návrh však zhatil Švéd Svante Arrhenius, který neměl Mendělejeva rád kvůli odborným sporům. Silou své osobnosti a výřečností dokázal zvrátit původní rozhodnutí o ceně pro Mendělejeva a postaral se o to, že nenáviděný sok cenu nedostal. Následující rok Mendělejev zemřel

a Arrhenius měl po problémech. Zvláště když on sám dostal Nobelovu cenu už v roce 1903. S odstupem času můžeme konstatovat, že Mendělejevovi to neublížilo a jeho periodický systém užíváme dodnes. Ostatně takových vědců „ošízených“ o Nobelovu cenu bylo více.

D. I. Mendělejev zemřel 2. února 1907 v nedožitých 73 letech na chřipku. Patřil k těm mimořádným osobnostem 19. století, které zformovaly moderní vědu. Na jejich práci, nadání a intuici stojí dnešní industriální společnost a soudím, že je třeba je uctít alespoň připomínkou jejich života. Protože skutečně kulaté výročí narození (200 let) bude mít tento velikán až za 20 let, dovolil jsem si tuto vzpomínku napsat již dnes. Za 20 let bych mohl třeba již zapomenout.

R. Černý

OBJEVITEL CYTOCHROMŮ DAVID KEILIN

(*21. 3. 1887 – †27. 2. 1963)

David Keilin byl **anglický biolog a biochemik polského původu**. Narodil se v Moskvě, jeho otec byl obchodníkem, ale brzy se rodina vrátila do Polska. Od dětství trpěl astmatem, byl vzděláván matkou a guvernantkou do věku 10 let. Pak nastoupil na soukromé polské gymnázium ve Varšavě (státní školy byly tehdy jen ruské). Po jeho absolvování odešel nejdříve do Lutychu a potom do Paříže s plány stát se doktorem medicíny. Povolání lékaře se s ohledem na svoje zdraví vzdal, začal se věnovat filozofií, ale po náhodné návštěvě biologické přednášky (úkrut před deštěm) se jeho priority změnily.



Biolog-parazitolog **Maurice Caulery** (1868 – 1958) mu nabídl práci ve své laboratoři. Výzkum se týkal životního cyklu parazitického hmyzu. Šlo o mouchu *Pollenia rudis*, která klade vajíčka do půdy. Keilin zjistil, že larva se po vylíhnutí dostává do půdního červa *Allolobophora chlorotica*, kde paraziticky žije do jara. Poté opustí jeho tělo, využívá ho jako potavu a po zakuklení v zemi se líhnou v létě mouchy.

Spolu s dalšími podobnými studiemi na dvoukřídlém hmyzu vypracoval a obhájil disertaci. V l. 1910 – 15 publikoval 20 prací, většinou o larvách dvoukřídlého hmyzu a stal se respektovaným odborníkem na entomologii.

V r. 1915 obdržel pozvání od profesora biologie **George H. F. Nuttalla** (1862 – 1937) tehdy Quickova profesora biologie na univerzitě v Cambridgi a odešel tam jako asistent. Zde nakonec zůstal po celý svůj profesní život. Pracoval nejdříve na problematice vši *Pediculus humanus*. Zjistili, že zkřížením vši šatní (*P. humanus corporis*) a vši dětské (*P. capitis*) vznikají sterilní jedinci, což vysvětluje, proč současně tyto vši napadají různé části těla a zachovávají si odlišné vlastnosti. Studoval v té době také protisty parazitující na larvách much, hlístice aj., nicméně jeho zájem se postupně přesunul k fyziologii a biochemii, zejména s ohledem na respiraci larev dvoukřídlých.

V r. 1920 byl díky financím Moltenových z Jižní Afriky vybudován **Moltenův ústav** pro parazitologický výzkum v Cambridgi, kam se přesunul Nuttallův tým včetně Keilina. Od r. 1925 začal Keilin vyučovat parazitologii (do té doby byl stipendistou) a v r. 1931 převzal místo ředitele Moltenova ústavu a pozici Quickova profesora biologie po Nuttallovi.

Klíčovým obdobím v kariéře D. Keilina byla léta 1920 – 1925, kdy současně s morfologií a fyziologií hmyzu začal

s výzkumem buněčné respirace a oxido-redukčních dějů, což vedlo k **objevu cytochromů**. Na počátku bylo studium **životního cyklu mouchy *Gasterophilus intestinalis***. Moucha klade vajíčka na srst koňských noh, po olizování koněm se líhne larva, ta se dostane do koňského trávicího traktu, kde se v žaludku uchytí v mukose po dobu 9 měsíců. Z traktu se dostane do půdy, zakuklí se a vylíhne se moucha.

V koňském žaludku se v larvě tvoří **oxyhemoglobin** a larva je červená. Tento hemoglobin se liší od krevního hemoglobinu hostitele. Keilin prokázal, že hemoglobin slouží larvě pro využití kyslíku z bublinek vzduchu v potravě koně. Skladuje se více kyslíku, než má larva k okamžité spotřebě. Dospělá moucha nemá hemoglobin, ale ve spektru jejího hrudního svalu našel Keilin **čtyři absorpční pásy**. Tyto pásy pak objevil i u jiného hmyzu, mouchy *Caliphora erythrocephala*, mýry zavíječe voskového (*Galleria mellonella*) a u včely (*Apis mellifera*).

U těchto druhů larvy neobsahují hemoglobin, nemohlo tedy jít o produkt jeho přeměny. Typické pásy ve spektru pak byly nalezeny ve tkáních živočichů, u rostlin i mikroorganismů.

Míchaná suspenze kvasinek měla potlačené spektrum, v klidu se opět pásy objevily jako výrazné. Podobná změna byla i při vibracích křídel zavíječe, kdy pásy mizely, v klidném stavu se objevovaly.

Odtud Keilin odvodil souvislost s reversibilní oxidací buněčné komponenty, kterou tehdy provizorně nazval **cytochrom**.

K spektroskopickým pozorováním používal upravený Zeissův mikroskop, neměl tedy klasický spektrofotometr známý z pozdější doby. Pokud by ho tehdy býval měl, asi by nedošel ke svému objevu, snad by zachytil extrahovatelný cy-

tochrom c (názor spolupracovníka E. F. Hartreeho).

Pásky cytochromu označil Keilin jako **a**, **b**, **c** a **d**, ale povšiml si, že pás d je heterogenní. Na základě pozorování současných změn v pásech odvodil **existenci cytochromů a, b a c**, jejichž tzv. α -pásky se odrážely v pozorovaných pásech a, b a c, zatímco β -pásky v heterogenitě pásu d.

V prvním článku o cytochromu Keilin připomněl předešlou práci MacMunna, který v l. 1884-86 objevil pigmenty myohematin a histohematin.

V době objevu cytochromů se řešily **dvě teorie biologické respirace** – dehydrogenasová (odnímání vodíků a jejich přenos na akceptor) a teorie finální oxidasy reagující s kyslíkem (Warburgův Atmungsferment). Keilin prokázal, že cytochrom je důležitý pro respiraci.

Do experimentů zavedl použití inhibitorů, čímž odkryl jednotlivé části respiračního řetězce. Ukázal, že cytochromy propojují dehydrogenasy s terminální oxidasou. Tu nazval **cytochromoxidasou** a potvrdil, že jde o enzym shodný s dříve popsanou indofenoloxidasou.

Zjistil, že reverzibilní oxidace a redukce cytochromů souvisejí se **změnou valence železa v hemové prostetické skupině**.

Následovaly purifikace cytochromů a jiných hemoproteinů se studiem jejich vlastností. Díky podpoře Rockefellerovy nadace bylo možné pořídit vybavení. **Cytochrom c** byl získán z kvasinek a srdečního svalu, ukázalo se, že ho lze redukovat cysteinem či sukcinádehydrogenasovým systémem a oxidovat cytochromoxidasou. Ta byla ztotožněna s cytochromem a_3 . Postupně byly objeveny další cytochromy c_1 a e a popsány odlišnosti v respiraci u živočichů a mikroorganismů.

V časopisu *Parasitology*, kde byl šéfredaktorem, shrnul svůj dvacetiletý výzkum

respirace dvoukřídlých v rozsáhlé práci s 50 obrázky. O práci na pigmentech přednášel s demonstračními experimenty.

Při experimentální práci vždy kladl důraz na srovnávací studie. Nalezl hemoglobin v kvasinkách nebo kořenových hlízkách bobovitých v přítomnosti symbiontů (*Rhizobium*). Spolu s **E. F. Hartreem** objevil Keilin metodiku spektroskopie v tekutém vzduchu, která za nízkých teplot umožnila získat výraznější spektra.

Studovali **katalasu** z jater, zjistil, že její absorpční spektrum je podobné methemoglobinu, objevili propojení katalasy s oxidačními reakcemi, ve kterých se tvoří peroxid vodíku (urát oxidasa, glukosaoxidasa), a popsali peroxidační vlastnosti katalasy.

Dalším předmětem výzkumu byla peroxidasa a enzymy obsahující měď, polyfenoloxidasu, lakasu a hemokuprein. Konečně to byla i karboanhydrasa, v níž byl prokázán zinek jako kofaktor.

Peroxidasa byla izolována z 15 kg křenu, zjistilo se pak, že její absorpční spektrum odpovídá methemoglobinu; hnědá barva se v přítomnosti peroxidu vodíku měnila na rudou – tvorba komplexu enzym/substrát.

Lakasa byla izolována v obtížných podmínkách z latexu lakových stromů (*Toxicodendron*), který mimo jiné obsahuje toxické a dráždivé fenolové látky. Čistá lakasa byla zbarvena sytě modře a jako kofaktor byla v enzymu potvrzena měď oproti dříve předpokládanému manganu.

V **karboanhydrase** z červených krvinek byl nalezen zinek, jeho obsah je doporučen k aktivitě enzymu.

Dalšími studovanými enzymy byly sukcinádehydrogenasa, oxidasa D-aminokyseliny, urikasa, xanthinoxidasa a glukosaoxidasa (notatin, podle výskytu v plísni *Penicillium notatum*). V r. 1946 byla nalezena

prostetická skupina glukosaoxidas – **FAD** (flavinadenindinukleotid, tehdy **adeninal-loxazindinukleotid**).

Keilin se také zabýval jevem zvaným anabióza (**kryptobióza**). Ve vzorcích krve uchovávaných ve sterilních podmínkách 40 let ve skladu zjistil plazmolýzu krvinek,

ale prakticky nezměněnou aktivitu enzymů. Zabýval se vlivem zmrazení a vysušení na dlouhověkost buněk. Jde tedy o stabilitu organismu v podmínkách, kdy se metabolismus snižuje na nepostřehnutelnou úroveň s možným návratem k normálu.

Zpracoval Marek Šebela s použitím následující literatury:

- 1) Mann T. (1964) David Keilin. 1887 – 1963. *Biogr. Mem. Fell. R. Soc.* 10:183-205. DOI:10.1098/rsbm.1964.0011
- 2) Hartree E. F. (1963) Obituary notice: David Keilin (1887 – 1963). *Biochem. J.* 89: 1-5. DOI: 10.1042/bj0890001

Fotografie pochází z webu <http://wellcomeimages.org/> a její použití je legální podle licence "Creative Commons Attribution".



METABOLICKÉ INŽENÝRSTVÍ

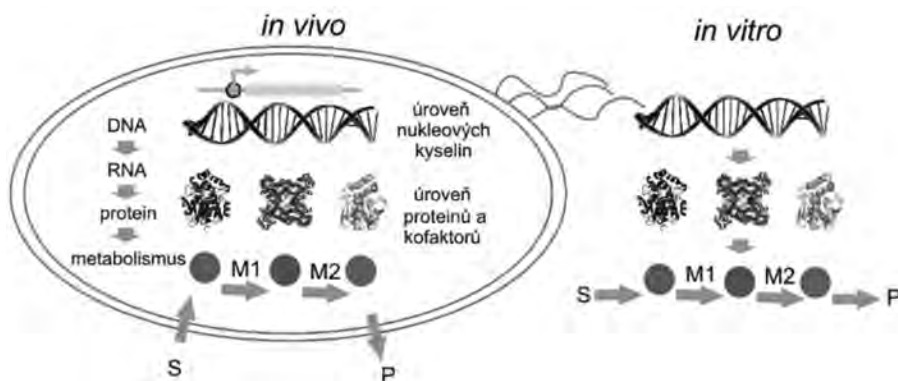
Metabolismus je síť biochemických reakcí katalyzovaných enzymy v buňkách organismů, která umožňuje existenci života. Tyto reakce mohou být rozděleny do dvou hlavních kategorií: (i) katabolické, které rozkládají organické látky a produkují energii uloženou v makroergických vazbách, a (ii), anabolické, které využívají získanou energii pro syntézu biomolekul. Série katabolických a anabolických enzymových reakcí jsou realizovány prostřednictvím metabolických drah. Dynamický charakter a komplexita metabolismu jsou zakódovány i ve slovu samotném, které je odvozeno z řeckého μεταβολή [metabolé] neboli změna. Komplexita metabolismu živých buněk představuje doposud do značné míry neprozkoumané bohatství a takřka nekonečný prostor možných řešení řady problémů, se kterými se bude lidstvo potýkat v 21. století. Je ale také evidentní překážkou pro naše pokusy domestikovat buňky mikroorganismů, zvířat a rostlin pro biosyntézu látek s přidanou hodnotou či pro biodegradace chemikálií znečišťujících životní prostředí. Rozvíjející se obor metabolického inženýrství (MI) nám může pomoci a již pomáhá tuto překážku postupně eliminovat.

James E. Bailey v roce 1991 poprvé definoval MI jako proces zlepšování buněčných aktivit manipulací s enzymovými, transportními a regulačními funkcemi buňky s využitím technologie rekombinantní DNA [1]. Za poslední dvě dekády se MI vyvinulo ve všeobecně uznávanou vědní disciplínu, která vyvolává zájem mezi odborníky z akademické sféry i z průmyslu. Tento fakt byl v roce 2012 potvrzen zařazením MI mezi TOP 10 nově se rozvíjejících technologií s největším potenciálem, které vybralo Světové ekonomické fórum. MI

je nyní rovněž zakotveno ve střednědobé strategii Evropské unie „The Knowledge Based Bio-Economy towards 2020“. V následujících desetiletích se očekává překotný růst tohoto odvětví. Podle odborných prognóz by již v roce 2020 mohlo být až 20 procent celosvětového trhu s chemikáliemi (asi 2292 miliard USD) kryto biotechnologickými produkty, na jejichž přípravě mají značný podíl organismy modifikované technikami MI [2].

Vývoj MI umožnil především alternativní biologickou výrobu léčiv, paliv a biomateriálů. Využití geneticky modifikovaných organismů pro biodegradace látek znečišťujících životní prostředí *in situ* je zatím limitováno legislativními překážkami a nejistotou pramenící z nedostatku experimentálních dat získaných v reálných podmínkách. MI je nyní chápáno jako proces optimalizace genetických a regulačních dějů v hostitelské buňce, které mají: (i) zlepšit výtěžky nativních látek syntetizovaných organismy, (ii) rozšířit škálu substrátů využívaných hostitelskou buňkou, nebo (iii) zajistit produkci látek, které jsou v hostitelské buňce neproduční [3]. Těchto cílů je možno dosáhnout buď modifikací přirozených metabolických drah přítomných v hostitelské buňce, nebo inženýrstvím syntetických drah sestavených z enzymů (a genů, jež je kódují) pocházejících z různých organismů. Ačkoliv je MI stále vnímáno především v souvislosti se zásahy do metabolismu organismů, do popředí se stále více dostává i inženýrství metabolických drah *in vitro*, tedy mimo kontext živé buňky (Obrázek 1).

Nejčastěji využívanými hostitelskými organismy v MI jsou díky své nenáročnosti a krátké generační době mikroor-



Obrázek 1. Využití metabolického inženýrství pro úpravu biochemických drah v podmínkách *in vivo* a *in vitro*. Metabolický inženýr mohou provádět zásahy na několika úrovních: (i) na úrovni nukleových kyselin, například výběrem vhodného promotoru nebo ovlivněním stability mRNA, (ii) na úrovni proteinu, například propojováním jednotlivých molekul enzymů, které sníží difúzi meziproductů do prostředí, nebo (iii) na úrovni tzv. malých molekul, především kofaktorů enzymů. Cílem je dosáhnout optimální produkce všech enzymů vybrané metabolické dráhy či drah (modrý, červený a zelený kruh), minimalizovat akumulaci meziproductů v dráze (M1 a M2), zlepšit příjem substrátu (S) buňkou a maximalizovat tvorbu produktu (P) dráhy.

ganismy. Bakterie, kvasinky či některé houby jsou lidstvu nápomocny v tradičních biotechnologiích již tisíce let a geneticky modifikovány jsou po celá desetiletí. Původní strategie inženýrství mikroorganismů cílily na kmeny přirozeně produkující požadovanou molekulu. Produktivita kmene byla vylepšována náhodnou mutagenézou indukovanou chemickými (např. nitrosoguanidin) nebo fyzikálními (např. UV záření) mutageny. Tyto procesy byly často propojeny s laboratorní evolucí mikrobiálních producentů v chemostatu. Novější přístupy využívaly v honbě za optimálními fenotypy pro ovlivnění genové exprese náhodnou mutagenézi pomocí transpozonů nebo náhodnou rekombinací celých genomů produkčních kmenů s příznivými vlastnostmi (tzv. „genome shuffling“) [4]. Zmíněné strategie přinesly řadu úspěchů a umožnily ekonomicky konkurenceschopnou biotechnologickou produkci významných látek včetně některých anti-

biotik, organických kyselin, biopolymerů nebo aminokyselin. Nicméně náročné vyhledávání a testování variant s mnoha nedefinovanými mutacemi představuje zásadní nevýhodu těchto klasických přístupů.

První pokusy o cílené neboli racionální modifikace biochemických drah produkčních kmenů se objevily s nástupem MI a sofistikovanějších nástrojů genetického inženýrství. Složitost řešených problémů učinila z MI vysoce interdisciplinární vědní obor, v němž se propojují znalosti odborníků na molekulární biologii, biochemii, bioinformatiku, mikrobiologii, biofyziku, matematiku nebo systémovou biologii a řadu tzv. „-omics“ disciplín, např. metaboliku, proteomiku, genomiku či transkriptomiku. Typický současný projekt MI sestává z několika základních kroků: (i) výběr vhodného hostitelského organismu, (ii) výběr vhodné nativní či design syntetické metabolické dráhy (drah) vedoucí k požadovanému produktu či zpra-

covávající vybraný substrát, (iii) získání všech dostupných informací o stavebních kamenech dráhy, t. j. o enzymech a metabolitech a (iv) vlastní optimalizace dráhy [5]. Metabolitní inženýři obvykle modelují biokatalytické reakce za využití počítačových nástrojů a dostupných experimentálních dat, odhadují produktivitu vybraných drah a stanovují omezení pro získání maximálního možného výtěžku žádané látky. Následně pro překonání těchto omezení a dosažení ekonomicky životaschopného bioprocesu využívají další počítačové a experimentální nástroje.

Vlastní optimalizace dráhy je zpravidla časově i finančně nejnáročnější částí celého procesu. Aby byla výsledná biotechnologie ekonomicky nosná, je zpravidla zapotřebí dosáhnout výtěžku požadované látky v řádu desítek (v případě farmakologicky zajímavých sloučenin) až stovek (v případě komoditních chemikálií) gramů na litr buněčné kultury [6]. Racionální optimalizace vybrané metabolické dráhy vyžaduje v minimálním pojetí alespoň znalost topologie biochemické reakce v buňce (buněčný kompartment) a informace o koncentracích metabolitů a toku uhlíku drahou. Tok (v angličtině je využíván termín „flux“) je rychlost reakce (s jednotkou mol. dm⁻³. s⁻¹) spojující dva metabolity v dráze (A → B) nebo rychlost, kterou je vstupní materiál přeměňován na produkt celou drahou [7].

Matematické modelování nitrobuněčných toků hraje v MI a v optimalizaci metabolických drah důležitou roli. Modelování umožňuje analyzovat vybranou dráhu a identifikovat reakce, které je třeba upravit. Pomocí sad matematických nástrojů lze zpracovat data získaná z výpočtu toků a navrhnout strategie založené na deleci nebo naopak zvýšené expresi genů v dráze, které povedou k optimalizaci produktivity pokud možno s minimál-

ním vlivem na životaschopnost hostitelské buňky [7]. Kinetické modelování poskytuje vhodnou alternativu ke statickým výpočtům toků, pokud jsou k dispozici spolehlivé kinetické parametry enzymů dráhy a některá další data jako specifický povrch buňky, koeficient propustnosti buněčné stěny pro substrát/produkt či alespoň přibližná množství enzymů dráhy v buňce [8]. Jakmile výpočetní nástroje umožní odhalení limitních kroků v dráze, přicházejí na řadu experimentální techniky, které mají tyto limity odstranit.

Experimentální nástroje jsou většinou založeny na technologii rekombinantní DNA a jejich aplikace často vede k tvorbě transgenických organismů. Cílem je zpravidla ovlivnit expresi cílových genů definovaných výpočetními nástroji [8]. Expresí genů může být buď zcela anulována tzv. „knock-out“ technikami, snížena nebo naopak zvýšena. Deleci či přechodného snížení exprese se využívá u těch genů, jejichž produkty (enzymy) mohou katalyzovat vedlejší reakce vedoucí k nechtěným produktům. Naopak zvýšení exprese genu je žádoucí tam, kde je nízká aktivita odpovídajícího enzymu omezující pro funkci celé dráhy a vede ke kumulaci meziproduktů, které mohou být toxické pro hostitelskou buňku.

Delece genu v chromozomu pomocí technik na bázi homologní rekombinace je široce používaným postupem u bakterií i kvasinek [9]. Zásahy metabolických inženýrů na úrovni transkripce a translace jsou využívány pro doladění množství enzymů dráhy v buňce. Obecně lze zvýšení či snížení genové exprese dosáhnout: (i) konstrukcí knihoven syntetických promotorů náhodnou nebo cílenou mutagenézí příslušných promotorových oblastí, (ii) inženýrstvím stability molekul mRNA skrze změny v sekvencích mezigenových oblastí kódujících sekundární struktury nebo místa pro stěpení RNasou, (iii)

využitím RNA interference nebo (iv) inženýrstvím ribosom vazebných míst [10]. Fungování celé dráhy může být ovlivněno i na proteinové úrovni prostřednictvím lepší prostorové organizace enzymů pomocí tzv. proteinových lešení anebo (na úrovni tzv. malých molekul) úpravou regenerace kofaktorů enzymů [11].

Inženýrství nové syntetické metabolické dráhy v heterologním hostiteli často vyžaduje paralelní zvýšení exprese několika genů zároveň. Oblíbeným přístupem je použití různých kombinací více plazmidových vektorů se vzájemně kompatibilními počátky replikace a selekčními markery v jedné hostitelské buňce, umožňující rychlé modulární sestavení velkého množství variant metabolické dráhy s řadou variabilních regulačních prvků (promotorů, operátorů, ribosom vazebných míst či terminatorů) [12]. Metabolictí inženýři přitom musí zohlednit skutečnost, že zavedení rekombinantních plazmidů a masivní exprese heterologních genů může vést k vyčerpání zdrojů buňky a mít tak negativní vliv na životaschopnost hostitelského organismu [13]. Metabolickou zátěž („metabolic burden/load“) je možné minimalizovat použitím plazmidů s nízkým počtem kopií v hostitelské buňce a slabšími promotory. I exprese heterologních genů přímo z hostitelského chromozomu může být přínosná pro větší stabilitu požadovaného genotypu/fenotypu a lepší přežívání hostitele. Různé techniky založené na homologní rekombinaci a místně cílené nebo náhodné transpozici byly vyvinuty právě za účelem vkládání jednotlivých genů či celých syntetických operonů do chromozomu hostitele [14].

Od roku 1990 bylo do racionálního inženýrství produkčních kmenů mikroorganismů investováno značné úsilí i finanční prostředky. Výroba textilním průmyslem poptávaného propan-1,3-diolu z glukosy

za pomoci kmene *E. coli* K12 upraveného technikami MI je učebnicovým příkladem úspěšného využití racionálního přístupu [15]. Výtěžku 135 g propan-1,3-diolu na litr buněčné kultury bylo dosaženo heterologní expresí šesti genů ze tří různých mikroorganismů, delecí genů z konkurenční dráhy a změnou v mechanismu pro příjem glukosy buňkou *E. coli*. Skutečnost, že 575 vědců z firem DuPont a Genencor pracovalo na tomto projektu nepřetržitě 15 let, však poukazuje na velkou náročnost životaschopných projektů racionálního MI. I proto hledají metabolictí inženýři nové strategie, které by celý proces urychlily.

Modulární metabolické inženýrství (MMI) se může stát jedním z možných řešení. V rámci strategie MMI je cílová metabolická dráha, kterou je zapotřebí optimalizovat, rozdělena na několik vícegenových modulů, které jsou separátně exprimovány v jedné buňce z různých plazmidů s různými regulačními oblastmi (odlišnou silou promotoru, různými ribosom vazebnými místy apod.). Experimentálně se otestují všechny kombinatoricky možné varianty exprese jednotlivých modulů dráhy a hledá se varianta s největší produktivitou. Počáteční implementace této strategie umožnila biotechnologickou přípravu taxadienu, prekursoru protinádorového léčiva taxolu původně získávaného ze stromu *Taxus brevifolia*, v *E. coli* v gramových množstvích na litr buněčné kultury [16].

Navzdory potenciálu využití geneticky upravených mikrobiálních buněk pro účely biosyntézy nebo biodegradací, v MI stále chybí normy a zásady, které by byly při optimalizaci produkčních kmenů všeobecně uplatňovány. Tuto mezeru může zaplnit syntéza MI s dalším nově se rozvíjejícím vědním oborem – syntetickou biologií, v níž představuje standardizace definovaných „biologických součástí“ a inženýrských postupů jeden z hlavních proudů. Do-

slova přelomovým příkladem propojení přístupů MI a syntetické biologie je projekt inženýrství syntetické metabolické dráhy pro produkci kyseliny artemisininové, prekursoru látek pro přípravu antimalarik, v kvasince *Saccharomyces cerevisiae*, na kterém pracovala skupina prof. J. D. Keaslinga z Kalifornské univerzity [17]. Řada výpočetních a experimentálních kroků vedla k výsledné produkci 25 g artemisininové kyseliny na litr buněčné kultury a zavedení komerčního biotechnologického procesu v roce 2014.

Syntéza MI s dalšími rozvíjejícími se obory včetně syntetické biologie, systémové biologie či proteinového inženýrství bude jistě pokračovat i v následujících letech a bude mít za následek zrychlení procesu identifikace a optimalizace biosyntetických a biodegradačních drah a celých hostitelských organismů. Design lepších matematických modelů, syntetických biosenzorů a genetických spínačů umožní dynamickou kontrolu metabolických a signálních drah a dosažení vyšší efektivity bioprocessů. Očekává

se, že nové technologie založené na mikrofluidice, a průtokové cytometrii povedou k revoluci ve vysokovýkonostním prověřování a charakterizaci variant enzymových biokatalyzátorů, syntetických metabolických drah i celých organismů s novými zajímavými vlastnostmi. Obdobným přínosem budou zcela určitě i nové metody pro editaci genomů [18].

Větší pozornosti se jistě dostane i *in vitro* technologiím, které se budou schopny vyhnout komplexitě nitrobuněčného prostředí a umožní vznik plně kontrolovatelných bioprocessů [19]. Jako alternativa k nákladným experimentálním postupům budou stále častěji využívány i počítačové simulace s lepšími prediktivními schopnostmi. Další pokrok v biologickém inženýrství musí jít bez pochyby ruku v ruce s rozvojem regulačních legislativních rámců a institucí, které budou schopny výsledky vědeckého bádání srozumitelně komunikovat s veřejností, řešit problematiku biologické bezpečnosti a diskutovat etické i socio-ekonomické aspekty prováděného výzkumu.

Tento text je výňatkem z úvodu dizertační práce Engineering of the synthetic metabolic pathway for biodegradation of environmental pollutant, kterou autor sepsal pod vedením prof. Mgr. Jiřího Damborského, Dr. v Loschmidtových laboratořích na Ústavu experimentální biologie Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity. Celé znění práce je možno nalézt v digitálním archivu závěrečných prací MU na www.is.muni.cz.

Reference

- (1) Bailey, J. E. Toward a science of metabolic engineering. *Science* 1991, 252, 1668 – 1675.
- (2) Ghisalba, O.; Meyer, H. -P.; Wohlgemuth, R.; Flickinger, M. C. Industrial Biotransformation. In *Encyclopedia of Industrial Biotechnology*; John Wiley & Sons, Inc., 2009.
- (3) Stephanopoulos, G. Synthetic biology and metabolic engineering. *ACS Synth. Biol.* 2012, 1, 514 – 525.
- (4) Zhang, Y. -X.; Perry, K.; Vinci, V. A.; Powell, K.; Stemmer, W. P. C.; del Cardayré, S. B. Genome shuffling leads to rapid phenotypic improvement in bacteria. *Nature* 2002, 415, 644 – 646.
- (5) Dhamankar, H.; Prather, K. L. J. Microbial chemical factories: recent advances in pathway engineering for synthesis of value added chemicals. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2011, 21, 488 – 494.
- (6) Tang, W. L.; Zhao, H. Industrial biotechnology: tools and applications. *Biotechnol. J.* 2009, 4, 1725 – 1739.
- (7) Stephanopoulos, G. Metabolic fluxes and metabolic engineering. *Metab. Eng.* 1999, 1, 1 – 11.

- (8) Smolke, C. The Metabolic Pathway Engineering Handbook: Fundamentals; 1 edition.; CRC Press: Boca Raton, 2009.
- (9) Datsenko, K. A.; Wanner, B. L. One-step inactivation of chromosomal genes in *Escherichia coli* K-12 using PCR products. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2000, 97, 6640 – 6645.
- (10) Santos, C. N. S.; Stephanopoulos, G. Combinatorial engineering of microbes for optimizing cellular phenotype. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2008, 12, 168 – 176.
- (11) Dueber, J. E.; Wu, G. C.; Malmirchegini, G. R.; Moon, T. S.; Petzold, C. J.; Ullal, A. V.; Prather, K. L. J.; Keasling, J. D. Synthetic protein scaffolds provide modular control over metabolic flux. *Nat. Biotechnol.* 2009, 27, 753 – 759.
- (12) Tolia, N. H.; Joshua-Tor, L. Strategies for protein coexpression in *Escherichia coli*. *Nat. Methods* 2006, 3, 55 – 64.
- (13) Glick, B. R. Metabolic load and heterologous gene expression. *Biotechnol. Adv.* 1995, 13, 247 – 261.
- (14) Santos, C. N. S.; Yoshikuni, Y. Engineering complex biological systems in bacteria through recombinase-assisted genome engineering. *Nat. Protoc.* 2014, 9, 1320 – 1336.
- (15) Nakamura, C. E.; Whited, G. M. Metabolic engineering for the microbial production of 1,3-propanediol. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2003, 14, 454 – 459.
- (16) Ajikumar, P. K.; Xiao, W. -H.; Tyo, K. E. J.; Wang, Y.; Simeon, F.; Leonard, E.; Mucha, O.; Phon, T. H.; Pfeifer, B.; Stephanopoulos, G. Isoprenoid pathway optimization for taxol precursor overproduction in *Escherichia coli*. *Science* 2010, 330, 70 – 74.
- (17) Paddon, C. J.; Westfall, P. J.; Pitera, D. J.; Benjamin, K.; Fisher, K.; McPhee, D.; Leavell, M. D.; Tai, A.; Main, A.; Eng, D.; *et al.* High-level semi-synthetic production of the potent antimalarial artemisinin. *Nature* 2013, 496, 528 – 532.
- (18) Sander, J. D.; Joung, J. K. CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. *Nat. Biotech.* 2014, 32, 347-355.
- (19) Dudley, Q. M.; Karim, A. S.; Jewett, M. C. Cell-free metabolic engineering: biomanufacturing beyond the cell. *Biotechnol. J.* 2015, 10, 69-82.

SEKUNDÁRNÍ METABOLITY CHMELE

Adéla Hýlová

Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

Úvod

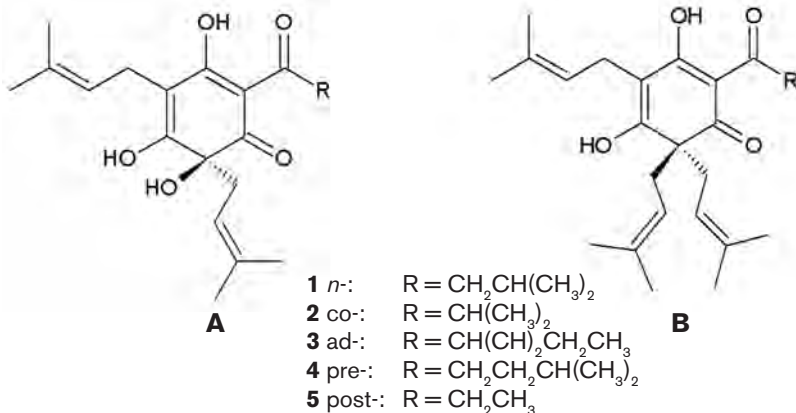
Chmel otáčivý (*Humulus lupulus*) je popínavá vytrvalá rostlina, řadící se do čeledi konopovitých (*Cannabaceae*). Je to dvoudomá bylina – význam v pivovarnictví má samičí rostlina, jejímž květenstvím je klásek tvořící šišťice, které pod listeny obsahují žlutý pryskyřčný prášek lupulin [1]. V lupulinu se nacházejí nejdůležitější bioaktivní látky chmele – α -kyseliny (humulony), β -kyseliny (lupulony), xanthohumol, naringenin a jeho prenylované deriváty, humulen a karyofylen, které dodávají pivu aroma a charakteristickou hořkou chuť. Na obsah hořkých kyselin v lupulinu má vliv odrůda chmele, doba sklizně, podmínky růstu, zpracování i skladování. Jsou velmi citlivé na oxidaci a degradaci. Chmel se sklízí na konci srpna, kdy je obsah lupulinu nejvyšší. Očesané šišťice se suší 10 hodin při teplotě 55 – 60 °C. Vyšší teplota není vhodná, protože by došlo ke spálení lupulinu. Po vy-

sušení se chmel skladuje v chladné tmné místnosti z důvodu zabránění chemickým změnám produktů sekundárního metabolismu.

Nejvýznamnější sekundární metabolity chmele

α -Kyseliny

α -Kyseliny, jiným názvem humulony, podléhají během varu chmele se sladinou izomeraci na iso- α -kyseliny, které jsou ve vodě značně rozpustnější a jsou hlavním zdrojem hořké chuti piva. α -kyseliny jsou z chemického hlediska diprenylované deriváty floriglucinu s různými postranními acylovými řetězci. Abundantní zastoupení mají *n*-humulon (Obr. 1A1) a co-humulon (Obr. 1A2). Byly však identifikovány i další α -kyseliny – ad-, pre- a post-humulon (Obr. 1A3-5) [2]. Celkový obsah humulonů je průměrně 9 – 10 % hmotnosti, i když se mezi odrůdami velmi liší [3].



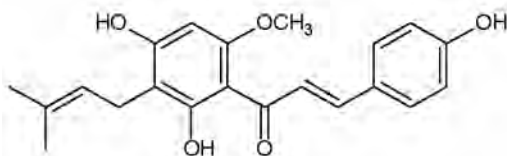
Obr. 1. Strukturní vzorce humulonů (1 A) a lupulonů (1 B).

β -Kyseliny

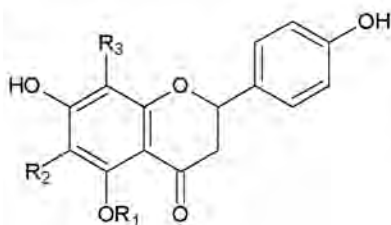
β -Kyseliny neboli lupulony jsou tri-prenylovaná analoga α -kyselin, jsou tedy strukturně velice podobné. Nomenklatura je stejná jako u α -kyselin díky různému postrannímu acylu (Obr. 1B1-5). Oproti α -kyselinám jsou díky dalšímu prenylovému řetězci hydrofobnější, a tedy prakticky nerozpustné ve vodě. Mají lepší bakteriostatický účinek, čehož se využívá v cukrovarnictví [4]. V různých kultivarech chmele jsou zastoupeny přibližně z 10 % [3].

Xanthohumul a jeho deriváty

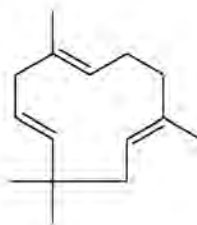
Jsou to polární sloučeniny patřící mezi flavanony. Xanthohumul (Obr. 2) je v chmelových šišticích zastoupen z 1 % hmotnosti a jeho hlavními bioaktivními vlastnostmi jsou protirakovinotvorné účinky. 8-Prenylnaringenin (Obr. 3D) je demethylovaný derivát isoxanthohumolu (Obr. 3A).



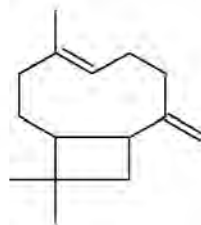
Obr. 2. Strukturní vzorec xanthohumolu.



- A:** $R_1 = \text{CH}_3, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{prenyl}$
B: $R_1, R_2, R_3 = \text{H}$
C: $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{prenyl}, R_3 = \text{H}$
D: $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{prenyl}$



E



F

Obr. 3. Strukturní vzorce isoxanthohumolu (A), naringenu (B), 6-prenylnaringenu (C), 8-prenylnaringenu (D), humulenu (E) a karyofylenu (F).

V chmelu se nachází v koncentracích pouze v řádu desítek ppm. Synteticky jej lze připravit prenylací naringenu (Obr. 3B) [2]. Je to silný fytoestrogen s prokázanou farmakologickou aktivitou – má schopnost vázat se relativně silně na estrogenový receptor buněk děložní sliznice (buněčná linie Ishikawa Var I) [5]. 8-Prenylnaringenin zabraňuje řídnutí kostí, slouží tedy k léčbě osteoporózy. Dále např. zmírňuje příznaky menopauzy a snižuje riziko vzniku rakoviny prsu a prostaty [6].

Humulen a karyofylen

Humulen (Obr. 3E) a karyofylen (Obr. 3F) jsou cyklické seskviterpeny. Tyto látky jsou v přírodě velmi rozšířené, avšak chmel obsahuje oproti jiným rostlinám značný hmotnostní podíl. Tvoří dominantní složku esenciálního oleje chmele – hmotnostní zlomek je 5 – 45 %, resp. 4 – 20 % a v různých odrůdách je

odlišný [3]. Existují speciální kultivary, tzv. ušlechtilé chmele, obsahující vysoký podíl těchto látek. Vyznačují se nízkým obsahem α - a β -kyselin, tedy nízkou hořkostí, a výraznějším aroma. Cyklická struktura humulenu a karyofylenu způsobuje vysokou reaktivitu a oxidací vznikají těkavé produkty, zodpovědné za toto aroma [2].

Další účinky sekundárních metabolitů chmele

Antibakteriální vlastnosti

V mnoha studiích bylo prokázáno široké spektrum pozitivních účinků hořkých kyselin na lidský organismus. Hořké kyseliny a další bioaktivní látky obsažené v chmelu mají bakteriostatické účinky. Inhibují růst zejména grampozitivních bakterií. Bylo prokázáno, že xanthohumul a 6-prenylnaringenin (Obr. 3C) výrazně inhibují patogenní bakterii *Staphylococcus aureus*, která způsobuje např. sepse či zápal plic. Na gramnegativní bakterii *E. coli* testované látky bakteriostatický vliv neměly [7]. Pravděpodobným mechanismem antibakteriálních účinků je ovlivnění transmembránového pH gradientu [8].

Bylo prokázáno, že xanthohumul a některé kyseliny mají bakteriostatický či baktericidní účinek vůči bakteriím rodu *Streptococcus*, které způsobují zubní kazy a orální infekce [9].

Fungicidní vlastnosti

Některé látky obsažené v chmelové pryskyřici mají fungicidní aktivitu. Již zmíněný xanthohumul a 6-prenylnaringenin působí proti lidským patogenům *Trichophyton mentagrophytes* a *Trichophyton rubrum* už v nízkých koncentracích (stanovená minimální inhibiční koncentrace 3,13 $\mu\text{g/ml}$) [7]. Tyto dermatofyty jsou původci mykózy nohou.

Protirakovinné vlastnosti

Nejvíce prostudovanou látkou izolovanou z chmele mající protirakovinný účinek je xanthohumul. Jedním z mechanismů účinku tohoto sekundárního metabolitu je zabránění metabolizaci prokarcinogenů. Ve studii Miranda et al., 2000c [10], bylo prokázáno, že xanthohumul a 8-prenylnaringenin jsou účinnými inhibitory metabolismu prokarcinogenu 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]chinolinu (IQ). K důkazu *in vitro* byl použit Amesův test, což je zkouška mutagenity, a analýza vazby metabolitů IQ v mikromolárních koncentracích na DNA. Podstatou je inhibice cytochromu P450, konkrétně Cyp1A2, který patří do rodiny 1 a účastní se metabolismu xenobiotik. K aktivaci tohoto procesu *in vivo* je však potřeba mnohem vyšší koncentrace xanthohumolu a 8-prenylnaringeninu v krevní plasmě, které však prostou konzumací piva docílit nelze.

Xanthohumul byl také testován na cytotoxické a antiproliferační účinky. K experimentům byly použity buněčné linie rakoviny prsu (MCF-7), rakoviny tlustého střeva (HT-29) a rakoviny vaječníků (A-2780). Xanthohumul inhiboval proliferaci buněk MCF-7 a A-2780 už po dvou dnech [11].

Závěr

Doposud bylo popsáno mnoho sekundárních metabolitů chmele. Velké množství chmelových odrůd se v obsahu jednotlivých sloučenin liší, což umožňuje výrobu různých druhů pív, charakteristických vůní či mírou hořkosti.

Sekundární metabolity popsané v této práci mají široké spektrum pozitivních účinků na lidský organismus. Potenciál v prevenci rakoviny a inhibici jejího bujení mají flavanony xanthohumul a 8-prenylnaringenin. Výzkum v této oblasti skýtá velké možnosti. Vyvinout terapeutikum se specifickou biologickou aktivitou je však během na dlouhou trať.

Literatura

- (1) Wikipedia, Chmel otáčivý:
http://cs.wikipedia.org/wiki/Chmel_ot%C3%A1%C4%8Div%C3%BD
(21. 1. 2015)
- (2) Steenackers B., De Cooman L., De Vos D. (2014) Chemical transformations of characteristic hop secondary metabolites in relation to beer properties and the brewing process: A review. *Food Chem.* 172, 742-756.
- (3) Yakima Chief (2003). Hop varietal guide.
- (4) Justé A., Krause M. S., Lievens B., Klingenberg M., Michelis C. W., Willems K. A. (2008) Protective effect of hop β -acids on microbial degradation of thick juice during storage. *J. Appl. Microbiol.* 104, 51-59.
- (5) Milligan S. R., Kalita J. C., Heyerick A., Rong H., De Cooman L., De Keukeleire D. (1999) Identification of a potent phytoestrogen in hops (*Humulus lupulus* L.) and beer. *J. Clin. Endocr. Metab.* 83, 2249-2252.
- (6) Wikipedia, 8-prenylnaringenin: <http://en.wikipedia.org/wiki/8-Prenylnaringenin> (21. 1. 2015)
- (7) Mizobuchi S., Sato Y. (1985) Antifungal activities of hop bitter resins and related compounds. *Agric. Biol. Chem.* 49, 399-403.
- (8) Simpson W. J. (1993) Ionophoric action of *trans*-isohumulone on *Lactobacillus brevis*. *J. gen. Microbiol.* 139, 1041-1045.
- (9) Bhattacharya S., Virani S., Zavro M., Haas G. J. (2003) Inhibition of *Streptococcus mutans* and other oral *Streptococci* by hop (*Humulus lupulus* L.) constituents. *Econ. Bot.* 57, 118-125.
- (10) Miranda C. L., Yang Y. H., Henderson M. C., Stevens J. F., Santana-Rioz G., Deinzer M. L., Buhler D. R. (2000c) Prenylflavonoids from hops inhibit the metabolic activation of the carcinogenic heterocyclic amine 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, mediated by cDNA-expressed human CYP1A2. *Drug Metab. Dispos.* 28, 1297-1302.
- (11) Miranda C. L., Stevens J. F., Helmrich A., Henderson M. C., Rodriguez R. J., Yang Y. H., Deinzer M. L., Barnes D. W., Buhler D. R. (1999) Antiproliferative and cytotoxic effects of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus*) in human cancer cell lines. *Food Chem. Toxicol.* 37, 271-285.

EMBO
events

2015
2016

www.embo.org



16TH IUBMB CONFERENCE

SIGNALLING PATHWAYS IN DEVELOPMENT, DISEASE AND AGING

JULY 17–21, 2016 | VANCOUVER, BC, CANADA

Young Scientists

Send in your application for the
Young Scientist Program (YSP) now!

APPLICATION DEADLINE: JANUARY 29, 2016

www.iubmb2016.org



Určeno pro vnitřní potřebu ČSBMB
Výkonný redaktor: Jan Konvalinka, ÚOCHB AV ČR, v.v.i., Praha
tel.: 220 183 268
Vychází 2 x ročně
Sazba a tisk: grafické studio Venice Praha, s. r. o.
Bulletin č. 2/2015 ze dne 2. 12. 2015
Evid. číslo: MK ČR E 10260
Toto číslo je hrazeno ČSBMB
ISSN 1211-2526



HPST, s.r.o.
Pisnická 372/20
142 00 Praha 4
Česká republika

Tel.: 244 001 231
Fax: 244 001 235
E-mail: info@hpst.cz
Web: www.hpst.cz

Autorizovaný
distributor
Agilent
Technologies

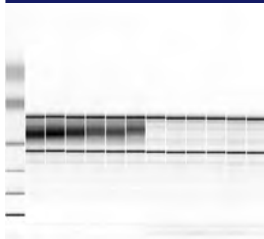


Agilent Technologies

Authorized Distributor

MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE AGILENT TECHNOLOGIES

www.agilent.com/genomics



KONTROLA KVALITY

DNA, RNA, proteiny
Agilent 2100 Bioanalyzer:
RIN Number – světový
standard pro QC RNA

NOVINKA:
Agilent 4200 TapeStation
plně automatický systém

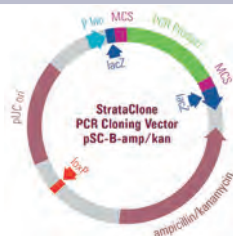


SCANNER, ARRAYE

Microarray Scanner
CGH & CGH+SNP microarray
GE, miRNA, epigenetické
a speciální microarray
zákaznické microarray
– vlastní design

MUTAGENEZE & KLONOVÁNÍ

site-directed & random
mutagenese
kompetentní buňky,
klonovací vektory
restrikční enzymy, laddery,
markery, aj.



SureFISH

centromerické sondy
pro výpočet chromozomů
telomerické a specifické
sondy
zákaznické FISH na míru
reagencie pro FISH



NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS)

SureSelect DNA target
enrichment
HaloPlex next gen. PCR
diagnostické panely
nástroje pro design knihoven



AUTOMATIZACE

pipetovací stanice
automatizace práce
s mikrodestičkami
příprava vzorků pro NGS,
PCR reakcí,
DNA/RNA izolace a další

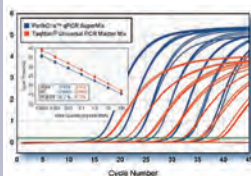
PCR & RT-PCR

Agilent 8800 SureCycler
enzymy s vysokým výtěžkem
a citlivostí
enzymy pro GC bohaté
a komplikované oblasti
izolační kity Stratagene
pro purifikaci RNA a DNA



qPCR

Agilent AriaMx qPCR
ultra rychlé reagencie
Master Mixy
reference & kontroly
HRM Master Mixy
syntéza cDNA



ANALÝZA DAT

tvorba vlastních designů:
SureDesign
vyhodnocení microarray:
CytoGenomics SW
design a analýza NGS
vizualizace a analýza GE:
GeneSpring Suite SW

**SLEVA
30%**

do 31/12/15

PCR & RT-PCR, qPCR

polymerázy
master mixy,
plastový spotřební materiál

MUTAGENEZE A KLONOVÁNÍ

vektory
kompetentní buňky

Zaujaly Vás některé produkty? Vyžádejte si cenovou nabídku na info@hpst.cz.
Do předmětu zprávy uveďte heslo **Bulletin_CSBMB** a získáte malý dárek!

snadná a dostupná průtoková cytometrie – vám vždy nablízku

Dokonale zvládnutá analýza buněk nemusí být komplikovaná, náročná a drahá. S analyzátozem buněk MUSE® teď dosáhnete přesných kvantitativních výsledků za zlomek času a s minimálním úsilím a rozpočtem. MUSE® je kompaktní, 3-parametrový analyzátor buněk, díky němuž budete mít průtokovou cytometrii vždy po ruce a to tam, kde ji nejvíce využijete – přímo na Vašem laboratorním stole. Velká dotyková obrazovka, intuitivní software a validované reagenční kity Vám zpříjemní a usnadní Váš výzkum v oblasti buněčné biologie.

Vyžádejte si předvedení
demo přístroje nebo nás
kontaktujte pro více
informací!

www.merckmillipore.com/MUSE

