

ROČNÍK 49 2021 ČÍSLO 1

BULLETIN

ČESKÉ SPOLEČNOSTI PRO BIOCHEMII A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGII




MSC Advantage

HeraSafe 2025

HeraSafe 2030i
ThermoFisher
SCIENTIFIC

Kompletní řada laminárních boxů biohazardy tř. II
pro ochranu produktu i obsluhy s vynikajícími
ergonomickými parametry a s certifikací dle
ČSN EN12469



Nové centrifugy Megafuge ST Plus Multifuge X Pro

Multifunkční centrifugy pro přípravu vzorků.
Přístroje vhodné do zdravotnictví, odborných
škol, pro farmaceutický, chemický a
potravinářský průmysl. Chlazené i nechlazené
centrifugy s širokou volbou rotorů a adaptorů.

centrifugy, ultracentrifugy	biohazardy a laminární boxy	pipety a laboratorní plast
anaerobní a hypoxické boxy	bezodtahové digestoře	příprava ultračisté vody
CO ₂ inkubátory	dekontaminační systémy	sterilizátory, autoklávy, myčky
gel - imaging analýza	mikrodestičkové readery	zařízení pro chov laboratorních zvířat
koncentrátory vzorků, lyofilizátory	purifikátory DNA/RNA - KingFisher	další drobné laboratorní přístroje

www.trigonplus.cz

prodej
aplikační podpora

autorizovaný
servis

validace
prevence

akreditovaná
kalibrační a zkušební
laboratoř

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
a katedra biochemie PřF UK v Praze, Hlavova 2030, 12000 Praha 2
e-mail: konvalinka@uochb.cas.cz

MAREK ŠEBELA – ZÁSTUPCE VÝKONNÉHO REDAKTORA

Přírodovědecká fakulta UP Olomouc, Katedra biochemie
e-mail: marek.sebela@upol.cz

IŘENA KRUMLOVÁ

Česká společnost pro biochemii a molekulární biologii, Kladenská 48,
160 00 Praha 6, tel.: 604 861 827
e-mail: irena.krumlova@csbmb.cz

Příspěvky 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.: 604 861 827**

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>

Libor Grubhoffer: Úvod	4
------------------------------	---

ZPRÁVY SPOLEČNOSTI

Martin Fusek: Ztráta skvělého člověka. John C. Martin	5
Libor Grubhoffer: Profesor Erik De Clercq, M.D., Ph.D. osmdesátníkem	7
Marek Šebela: prof. RNDr. Pavel Peč, CSc, 80 let.	10
Marek Šebela: Jubileum brněnského biochemika, prof. Lumíra Macholána	12

ČLÁNKY

Kolektiv VŠCHT: Jak fungují vakcíny proti Covid-19?	13
Marek Šebela: Vzpomínka na Hanse Krebse	22
Marek Šebela: Paul Delos Boyer	23

RÚZNÉ

FEBS 2021 Ljubljana	27
Festival vědy 2021	27

Vážení a milí, kolegyně a kolegové,

zdravím Vás srdečně u příležitosti vydání prvního letošního čísla Bulletinu, abych Vás informoval, že přes všechny komplikace spojené s pandemickou situací v naší zemi a zemích sousedních a v naději útlumu koronavirové pandemie protiepidemickými opatřeními a zejména plošným očkováním počítáme s uspořádáním XXVI. Biochemického sjezdu 2021 v Českých Budějovicích v termínu 29. srpna až 1. září 2021. Plánované setkání českých a slovenských biochemiků a molekulárních biologů s mezinárodní účastí se mělo původně uskutečnit v září loňského roku, leč s ohledem k nepříznivě se vyvíjející pandemické situaci bylo odročeno podobně jako naprostá většina domácích i zahraničních vědeckých konferencí.

Aktuální vývoj koronavirové pandemie v naší zemi dává určitou naději, že budeme moci uspořádat naše setkání v prezenční formě, případně v kombinaci prezenční a elektronické se vzdálenou účastí. S možností obou alternativ (vyloučit přitom nelze ani verzi plně „on line“) musíme ještě po několika následujících týdnech počítat a doufat, že útlum se nám pandemii podaří zkrotit do léta. Odborný a společenský program kongresu máme v podstatě kompletně připraven z loňského jara, bude však nezbytné co nejdříve ověřit, zda vedoucí jednotlivých sekcí a jejich zástupci budou mít i letos čas a zájem se na programu odročeného sjezdu podílet. Přejme si, aby nám situace umožnila setkat se v Českých Budějovicích na konci prázdnin osobně. Bylo by to velmi žádoucí už také proto, že se nám podařilo na podzim loňského roku získat pro českobudějovické setkání s mezinárodní účastí slovenských, rakouských a německých biochemiků a molekulárních biologů finanční podporu od FEBS.

Českou společnost pro biochemii a molekulární biologii čekají letos volby nového výboru, všichni členové jste obdrželi informaci ze sekretariátu společnosti s výzvou k nominaci kandidátů do výboru společnosti pro sestavení kandidátky. Prosím, věnujte i této záležitosti patřičnou pozornost, abychom dokázali zajistit organizační a reprezentační úkoly ČSBMB pro následující funkční období a další směřování společnosti.

Už celý rok prochází naše země koronavirou pandemií, která se nám vymkla zpod kontroly díky chaotickým krokům naší vlády. Nepříznivý vývoj pandemie v minulých měsících inicioval celou řadu z Vás, členů naší společnosti, abyste spolu s dalšími kolegy opustili na čas svoje výzkumné projekty a přepnuli pozornost na covid-19, zejména na jeho diagnostiku včetně vývoje nových testů založených na PCR či imunochemických technikách nebo dokonce na řešení základních otázek mechanismu patogeneze nákazy či replikačního cyklu nového čínského koronaviru. Pro mnohé z Vás z toho vyplynuly nové výzkumné projekty na příští léta. Chtěl bych Vám všem ze srdce poděkovat za každý takový počín, přispěli jste a přispíváte významným způsobem ke zvládnutí složité situace s pandemií covid-19 a vytvořili jste předpoklady pro další poznání dosud nevysvětlených skutečností spojených s novým čínským koronavirem SARS-CoV-2.

Závěrem mně dovoluťe popřát Vám pevné zdraví, hodně zdaru ve Vaší práci, radost ze života a vždy dobrou mysl. Přejme si, abychom se letos na konci prázdnin mohli potkat osobně na XXVI. Biochemickém kongresu 2021 v Českých Budějovicích.

Srdečně,
Váš,

Libor Grubhoffer

ZTRÁTA SKVĚLÉHO ČLOVĚKA. JOHN C. MARTIN



Ve středu 31. března 2021 jsme se dozvěděli velmi smutnou zprávu – ve věku nedožitých sedmdesáti let zemřel John C. Martin. Dovolte mi, prosím, pár slov.

John C. Martin se narodil v roce 1951 v Pensylvánii, bakalářský titul získal na Purdue University, titul PhD na University of Chicago a titul, MBA na Golden Gate University. Svou profesní kariéru začal ve společnosti Syntex Corporation v roce 1978. V roce přešel do společnosti Bristol-Myers, kde se zastával funkce vedoucího výzkumu antivirotek. Jak vysvětlíme níže, v roce 1990 přešel do společnosti Gilead, kde se stal nejdříve vedoucím výzkumu (CSO) a v roce 1996 generálním ředitelem (CEO). V pozici ředitele zůstal do roku 2016, kdy přešel na pozici předsedy správní rady (executive chairman). V té byl do roku 2019.

Kromě své hlavní práce ve společnosti Gilead byl aktivní v mnoha národních i mezinárodních organizacích a zároveň pomáhal dalším inovativním firmám. V letech 1998 – 2000 působil jako prezident International Society for Antiviral Research, řadu let pracoval jako před-

seda rady California Healthcare Institute, pracoval také pro další vládní a nevládní organizace, především v oblasti virologie. Za svou práci získal mnoho ocenění v oblasti chemie a virologie.

John C. Martin sehrál klíčovou roli ve vývoji léků proti HIV. Tuto roli by však nesehrál nebýt prof. Antonína Holého a prof. Erica de Clercq. Historie jejich spolupráce je velmi dobře známá od setkání obou vědců – Holý a de Clercq v sedmdesátých letech a jejich následné setkání s Johnem Martinem. Díky těmto setkáním John Martin přinesl do společnosti Bristol-Myers látky vynalezené prof. Holým a charakterizované prof. De Clercqem a rozběhl se jejich farmaceutický vývoj. Ten ale exekutivní rozhodnutí managementu přerušilo, a to po fúzi se společností Squibb. John Martin ale natolik věřil vědeckým výsledkům, že raději odešel z firmy a vstoupil do malé začínající firmy Gilead a ta poté začala léky z dílny prof. Holého rozvíjet. A ukázalo se, že intuice Johna Martina byla správná. Na trh přišel nejdříve lék Vistide (aktivní látka cidofovir), poté Hepsera (aktivní látka adefovir) a pak Viread (aktivní látka tenofovir). Tyto léky, a z nich především tenofovir, se poté staly základními léčivy pro onemocnění AIDS a pro léčbu HBV. Za další a naprosto klíčový přínos Johna Martina je považována filozofie spojení několika aktivních látek pro léčbu AIDS do jedné pilulky. Vzhledem k rychlosti vzniku resistance u viru HIV není možno léčbu založit na jedné aktivní látce (například inhibitorech proteasy), ale léčba v devadesátých letech spočívala v aplikaci několika aktivních látek, které inhibovaly různé cíle v životním cyklu viru. Jednou z těchto aktivních látek byl právě tenofovir (inhibitor reversní transkriptázy). Nicméně pro pacienty to znamenalo denně užívat

více než deset tablet. To co Gilead pod vedením Johna Martina dokázal, bylo formulovat všechny aktivní látky do jedné pilulky a tím zásadně přispět k pohodlí a bezpečí pacientů.

John C. Martin vybudoval z malé firmy Gilead giganta na poli farmaceutických firem. Významnou úlohu sehrál také při vyřešení otázky léčby HCV, protože nebyť jeho odvahy investovat v roce 2011 přes 11 miliard dolarů do akvizice společnosti Pharmasset, by v roce 2014 nebyl na trhu první skutečný lék na toto onemocnění Sovaldi (aktivní látky sofosbuvir). Vzpomínám si na články z roku 2011 s titulky „The Dummiest CEO in Pharma“, které kritizovaly Johna Martina za takto drahou akvizici. A poté články z roku 2015, které označovaly Johna Martina za nejúspěšnějšího CEO roku.

John C. Martin přijížděl do Prahy často a velmi rád. S prof. Antonínem Holým ho pojilo přátelství a díky tomuto přátelství si John Martin oblíbil Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, a navázal úzké přátelství s celou řadou vědeckých pracovníků. Tato přátelství byla umožně-

na tím, že přes všechny své úspěchy zůstal „normálním člověkem“ s obrovským rozhledem a s ochotou diskutovat nad vědeckými problémy a nad strategickými rozhodnutími. A to nejen se seniory ale i se studenty. Díky jeho iniciativě byl založen v roce 2006 na ÚOCHB Gilead Sciences Research Centre, který je finančně podporován ze strany Gilead Sci dodnes a je zaměřen na základní výzkum. John Martin byl naposledy v Praze na jaře 2019 a navštívil dvadelní představení Elegance molekuly v Dejvickém Divadle.

Pro mne osobně je to jedna z obrovských osobních ztrát. V posledních letech jsme navázali úzkou komunikaci, a to jako elektronicky tak osobními setkání. John Martin nám dával cenné rady ohledně rozvoje ústavu a procesu vývoje léčiv ale především byl skvělý, přátelský člověk což dokazuje i to, že velkou část svých osobních financí vložil do nadace (John C. Martin Foundation), která pomáhá rozvoji zdravotnických systému v sociálně a ekonomicky znevýhodněných oblastech.

Čest jeho památce.

Martin Fusek



Zleva: Eric de Clercq, John C. Martin, Antonín Holý

PROFESOR ERIK DE CLERCQ, M.D., PH.D. OSMDESÁTNÍKEM

(NAR. 28. BŘEZNA 1941 V DENDERMONDE, BELGIE)

S láskou k chemii, úspěšným v boji s viry...



Profesor Erik De Clercq z Regova ústavu medicínského výzkumu Katolické univerzity v belgické Lovani je bez nadšázky legendou světové virologie působící v oblasti výzkumu antivirotek a protinádorových cytostatik. Životní cesta absolventa lékařského fakulty na univerzitě v Lovani (M.D. 1966; Ph.D. 1972) navíc s velkým zaujetím pro chemii jej nejprve zavedla na prestižní Stanfordovu univerzitu v letech 1967 až 1970, aby se po tříletém mimořádně úspěšném postdoktorálním pobytu vrátil domů a přijal místo v ústavu profesora Piet De Somera, významné osobnosti lékařské mikrobiologie a virologie v Belgii. Erik De Clercq se nejprve věnoval studiu interferonů a látek stimulující jejich aktivitu při virových infekcích. V té době navázal pracovní a osobní kontakty s kolegy ve Virologickém ústavu ČSAV v Bratislavě mimo jiné s Dr. Jánem Vilčekem, zahranič-

ním členem US ČR. Profesor De Clercq velmi rád hovoří o fenoménu 'serendipity' a jako mimořádně šťastný příklad tohoto jevu uvádí jeho náhodné setkání s Antonínem Holým na sympoziu o syntetických složkách nukleových kyselin v německém Göttingenu v roce 1976. Erik de Clercq zpravidla dodává, že tam byl jako jediný lékař mezi chemiky. Jeho účast na specializovaném setkání chemiků ale rozhodně žádou náhodou nebyla, od klukovských let ho chemie zajímala a nejráději by jim byl také vystudoval. Nakonec dal přednost medicíně, aby nezarmoutil maminku a splnil její přání. Svoji skvělou chemickou kvalifikaci často a rád zlehčuje slovy, že je toliko amatérským chemikem. Profesor Holý zpravidla uváděl toto jeho tvrzení na pravou míru slovy: „Kolega De Clercq má vzácnou až neuvěřitelnou schopnost chemického myšlení, kterou při svých přednáškách mistrně využívá“. Náhodné setkání obou vyhraněných osobností vedlo záhy k celoživotnímu pracovnímu partnerství a osobnímu přátelství, jehož společným jmenovatelem se stala medicínální chemie antivirotek na bázi acyklických nukleosid fosfonátů, mimořádně zajímavé a nakonec i mimořádně úspěšné rodiny nukleosidových derivátů profesora Antonína Holého a jeho spolupracovníků. Jejich pracovní partnerství trvalo dlouhou dobu, vlastně až do odchodu profesora Holého v roce 2012 a bylo lemováno celou řadou mimořádných úspěchů v podobě antivirotek schválených pro terapii onemocnění způsobených lidským cytomegalovirem, poxviry, virem hepatidy B, ale zejména HIV a s ním souvisejícím onemocněním AIDS. Vrcholem jejich spo-

lečné práce při vývoji preparátů proti HIV na bázi nukleosid fosfonátů inhibujících retrovirovou reverzní transkriptázu se stal lék známý pod jménem Tenofovir. Příběh mimořádně úspěšné výzkumné spolupráce došel svého naplnění v podobě léků schválených lékovými agenturami včetně americké FDA díky šťastnému setkání dvojice Antonín Holý – Erik De Clercq s Johnem Martinem (zemřel náhle 30. března 2021 ve věku 70 let) z kalifornské farmaceutické společnosti Gilead Sciences. Příběh o obrovském pracovním nasazení, originálních řešeních a obrovské odvaze nutné k realizaci velké myšlenky je tak silný, že už stačilo vzniknout jeho literární zpracování v podobě knihy „Trojúhelník studené války“, belgické autorky Renilde Loeckx, a současně i mimořádně divácky úspěšné inscenace Dejvického divadla nazvané

„Elegance molekuly“ scénáristy a režiséra Petra Zelenky.

Profesor Erik De Clercq má za sebou úctyhodné dílo v podobě objevů nových látek s virostatickými i nádorově cytostatickými účinky mimo plodnou spolupráci s Antonínem Holým. Světovou vědeckou komunitou je považován za autoritu nejvyššího řádu. Ne náhodou se před léty zasloužil o vznik několika nových vědeckých periodik a série konferencí NATO, založil tradici konferencí ICAR (International Conference on Antiviral Research), pracoval v poradních grémiích akademických i komerčních farmaceutických společností, v redakčních radách vědeckých časopisů včetně jejich vedení. Jako nejúspěšnější student profesora Piet De Somera po něm nakonec převzal i vedení Regova ústavu medicínského výzkumu Katolické univerzi-



Zleva: Eric de Clercq, Antonín Holý

ty v Lovani. V jeho čele setrval až do roku 2006, kdy dovršením věku 65 let musel podle belgické legislativy odejít do důchodu, opustit ředitelskou pozici, a co bylo horší, i svoji laboratoř. To vůbec nejhorší po Erika De Clercq v této souvislosti bylo rozloučit se s milovaným kantorským působením na lékařské fakultě v Lovani. Jakkoliv nešťastný z této skutečnosti, Erik De Clercq se nevzdává, jako „mladý“ emeritní profesor se věnuje o to více publikační činnosti, redakční práci pro virologické a medicínské chemické časopisy a hledá možnost návratu k milovanému přednášení a výuce studentů. Po krátkém profesorském působení v Praze se díky Antonínu Holému dozvídá Erik De Clercq o možnosti působit v novém přeshraničním studijním programu „Biological Chemistry“, který v roce 2007 právě začínal mezi Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích a Univerzitou Johanne Keplera v Linci. V letošním zimním semestru 2020-2021 to bylo již po třinácté, co profesor Erik de Clercq přednášel ve svém studenty mimořádně oblíbeném kursu „Biochemistry at the Service of Medicine“, tentokrát poprvé na dálku v režimu on-line. I letos měl tradiční novoroční přednášku v Českých Budějovicích (on-line) pro celou akademickou obec a širokou veřejnost, tentokrát na mimořádně atraktivní koronavirové téma „Potential Antivirals against SARS-CoV-2“. Rád bych zdůraznil, že profesor Erik de Clercq je celým svým nasazením obrovsky oddaný naší zemi. Je šťastný, jak moc si ho zde vážíme, jak jej připomínáme a uctíváme v kontextu životní spolupráce s Antonínem Holým. Erik De Clercq činí přirozeně to samé ve světě, kudy chodí a cestuje, tudy hovoří

a Česku, vědě a studentech v Čechách. Je naším náruživým vyslancem.

V závěru se sluší zmínit úctyhodnou bilanci vědeckých výsledků v podobě publikací, patentů, ohlasů na veliké množství publikací, jejichž je autorem i spoluautorem za dobu svého působení v oblasti výzkumu antivirotik. Profesor Erik De Clercq je autorem či spoluautorem, bez mála 2900 vědeckých publikací v prestižních periodících (viz kompletní seznam publikací), většina z nich pochází z četných, dlouhodobých i krátkodobých spoluprací. Příznačné je, že o každé z nich je schopen pohovořit v patřičných odborných souvislostech. Kromě toho registruje přes 200 publikací, které považuje za „svoje“ zveřejněné v neprestížnějších časopisech (Nature, Science, PNAS, atd). Počet citací očištěných od autocitací dosahuje několik desítek tisíc. Nikdy nepřestal psát vlastní rukopisy, ani když procházel těžkým obdobím poté, co mu zemřela milovaná manželka Lily v roce 2011. Výčet jeho ocenění je více než úctyhodný: čestný doktor na univerzitách v Gentu, Aténách, Ferrare, Shandong, Praze, Českých Budějovicích, Tours a Hullu; čestný občan města Hamme (Belgie), kde vyrůstal, v roce 2008 byl jmenován vynálezcem roku (EU) a v roce 2010 získal cenu Dr. Paula Janssena.

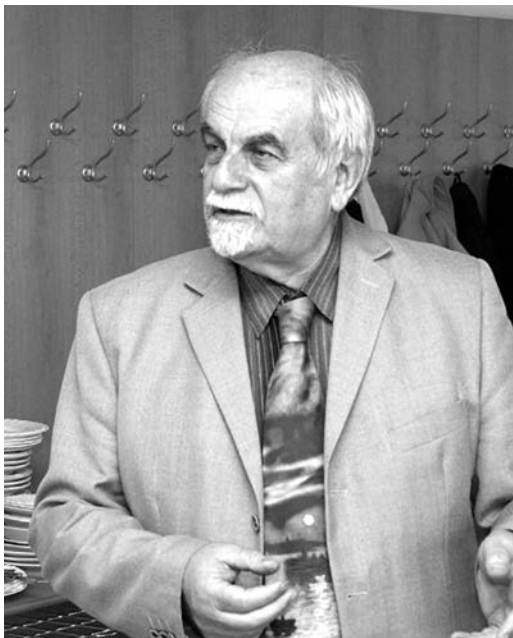
Symbolicky připijme Eriku De Clercqovi a popřejme mu pevné zdraví, lásku, štěstí, radost ze života, vědeckého poznání a pedagogického působení do příštích mnoha let.

Ad multos annos!

Libor Grubhoffer

DNE 5. DUBNA 2021 OSLAVIL VÝZNAMNÉ ŽIVOTNÍM JUBILEUM 80 LET PROF. RNDR. PAVEL PEČ, CSc.

V roce 1962 absolvoval učitelství matematiky a chemie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Palackého v Olomouci (PřF UP). Jeho působištěm následně byla Katedra analytické a organické chemie PřF UP. Byl dlouholetým vedoucím pracoviště a rozvíjel výuku biochemie v rámci odborného studia analytické chemie. Jím zavedená přednáška Základy biochemie, na kterou navazovalo laboratorní cvičení, na fakultě úspěšně pokračuje do dnešních dnů a je již tradiční součástí chemických a biologických studijních programů. Od 70. let prof. Peč vědecky spolupracoval s prof. Lumírem Macholánem z Katedry biochemie Přírodovědecké fakulty tehdejší Univerzity Jana Evangelisty Purkyně v Brně (nyní Masarykova univerzita), který mimochodem v letošním roce oslavil devadesátiny. Díky tomu se prof. Peč dále systematicky zabýval především substráty a inhibitory rostlinných enzymů aminoxidas. V roce 1996 se stal zakladatelem Katedry biochemie PřF UP a do roku 2006 zastával funkci jejího prvního vedoucího. Položil základy kontaktů s biochemickým pracovištěm v republice (FPBT VŠCHT, PřF MU, PřF UK). Aminoxidas byly prvním nosným vědeckým tématem celého týmu. V roce 1997 byl na Masarykově univerzitě jmenován profesorem pro obor biochemie. Na konci 90. let přišel s myšlenkou realizace odborného studia biochemie na PřF UP. V roce 2000 získala katedra první akreditaci pro výuku bakalářského a navazujícího magisterského studijního programu Biochemie, od roku 2006 může přijímat stu-



denty i k postgraduálnímu studiu, garantuje habilitační řízení i jmenovací profesorská řízení v oboru biochemie. Pan profesor dosud pokračuje ve svém působení na katedře jako emeritus a jeho zájmem je problematika nejnovějších biochemických objevů, se kterou seznamuje kolegy i studenty (<https://www.prf.upol.cz/katedra-biochemie/vyzkum/biochemicke-aktuality/>). Během svého aktivního působení na UP vedl desítky diplomových prací a vychoval řadu doktorandů, přispěl k úspěšným habilitacím i profesurám mnoha kolegů v Olomouci, Brně i Praze, a to jako člen vědeckých rad a předseda/člen odborných hodnotících komisí. Připravil řadu středoškolských učebnic a přehledů chemie a biochemie, rovněž tak učebni-

ce vysokoškolské. Nelze nezmínit i jeho tvůrčí vědeckou práci v oblasti rostlinné enzymologie, velkým zájmem byla zejména enzymová kinetika. Jako jeho pedagogický „Magnum opus“ lze chápat elektronický kurz Základy biochemie, který je i s videonahrávkami dostupný na webu <http://ibiochemie.upol.cz/> a eviduje již více než 110 000 přístupů.

Přejeme panu profesorovi vše nejlepší, pevné zdraví, hodně štěstí a životního optimismu do dalších let.

Marek Šebela,
jménem České společnosti
pro biochemii a molekulární biologii



VÝZNAMNÉ ŽIVOTNÍ JUBILEUM BRNĚNSKÉHO BIOCHEMIKA, PROFESORA LUMÍRA MACHOLÁNA

Dne 27. června 2021 oslaví 90. narozeniny **prof. RNDr. Lumír Macholán, CSc.**, brněnský biochemik, rodák z Příbrami na Moravě u Rosic. V roce 1954 absolvoval Přírodovědeckou fakultu Masarykovy univerzity v oboru organické chemie. Následně pracoval na mateřské fakultě jako vědec a pedagog. Nejdříve jako asistent, dále jako odborný asistent katedry biochemie (1957 – 1966), docent na téže katedře (1966 – 1991) a konečně jako profesor biochemie, a to od roku 1991 až do odchodu na odpočinek v roce 1998. Profesor Macholán se v 60. a 70. letech 20. století intenzivně věnoval problematice metabolismu aminokyselin, polyaminů a alkaloidů. Hlavní tematikou byly rostlinné aminoxidasy. Tyto enzymy přeměňují poměrně široké spektrum aminových substrátů. Produkty oxidační deaminace diaminů putrescinu (dekarboxylační produkt ornithinu) a kadaverinu (vzniká analogicky z lysinu) jsou prekurzory alkaloidů s pyrrolidinovým respektive piperidinovým skeletem. Později, od konce 70. let, se jeho zájem přesunul k bioanalytickému využití enzymů, jejich imobilizaci a modifikaci a konečně ke konstrukci enzymových biosensorů. Byly to například biosensory pro stanovení polyaminů s aminoxidasou, pro fenoly s polyfenoloxidasou a pro vitamin C s askorbát oxidasou. Dalšími imobilizovanými a takto aplikovanými enzymy byly třeba gluksooxidasa, invertasa, mutarotasa, pyranosaoxidasa, arginasa, ureasa a ceruloplasmin. Na příslušných publikacích v Collection of Czechoslovak Chemical Communications čteme jména tehdejších diplomantů. Profesor Macholán se spolu s doc. Ladislavem Skurským a dalšími autory podílel na překladu dnes již legendární učebnice německého biochemika Petera Karlsona



(1918 – 2001), žáka Adolfa Butenandta (1903 – 1995), která vyšla v nakladatelství Academia pod názvem Základy biochemie ve třech vydáních, naposledy v roce 1981. Byl autorem a spoluautorem několika vysokoškolských skript Enzymová kinetika, Enzymologie, Laboratorní cvičení z biochemie, Pokročilá cvičení z biochemie a Sekundární metabolity vydaných Univerzitou J. E. Purkyně případně Masarykovou univerzitou. Za svoji rozsáhlou vědeckou práci získal četná ocenění. Velkým koníčkem profesora Macholána jsou motýli.

Vážený pane profesore, dovoluji, abychom Vám jménem České společnosti pro biochemii a molekulární biologie popřáli hodně zdraví a štěstí do dalších let!

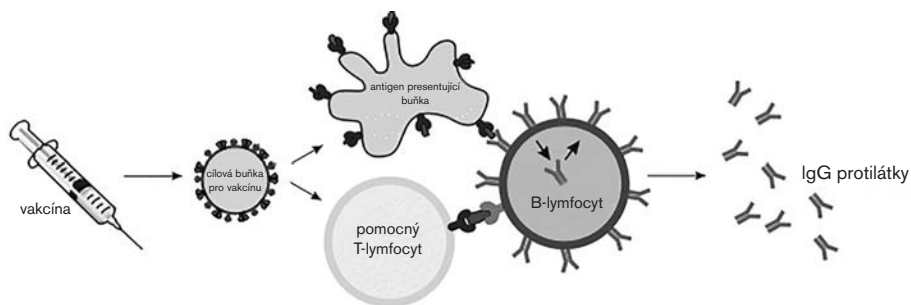
Marek Šebela

JAK FUNGUJÍ VAKCÍNY PROTI COVID-19?

Hlavním úkolem imunitního systému je obrana organismu proti antigenům a patogenům. Při vakcinaci učíme pomocí různých částí či celého inaktivovaného patogenu imunitní systém, jakým způsobem se pak bránit infekci patogenu. Organismus má „imunologickou paměť“ a při příštím kontaktu s původcem onemocnění je již zcela chráněn.

Virus SARS-CoV-2 na svém povrchu vystavuje proteiny, které mu zprostředkovávají vstup do lidských buněk. Tyto takzvané spike proteiny jsou ideálním cílem pro přípravu potenciální vakcíny a pro léčbu. Cílem imunitního systému je roz-

poznat tento spike protein a zamezit tak interakci viru s ACE 2 receptory na lidských buňkách, které virus využívá pro vstup do buňky. Vakcína nám tedy pomůže naučit náš imunitní systém rozpoznávat tyto povrchové proteiny viru a připravovat organismus na boj s virovou infekcí. Existuje více zavedených, ale i nových přístupů jakým způsobem vakcíny připravovat. Každá firma produkující vakcíny využila pro přípravu vakcíny jiný postup. Prozatím se testují čtyři přístupy, jak donutit organismus, aby si vytvořil účinnou imunitní obranu proti viru SARS-CoV-2.



Převzato se souhlasem Ústavu biochemie a mikrobiologie VŠCHT Praha

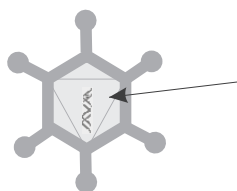


Ústav biochemie a mikrobiologie
VŠCHT PRAHA

VAKCÍNA NA PRINCIPU ADENOVIROVÉHO VEKTORU

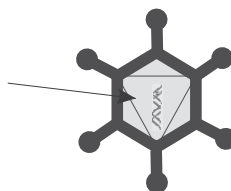
VAKCÍNY ASTRA ZENECA, JOHNSON AND JOHNSON A SPUTNIK V.

1. Interakce vakcíny s buňkou

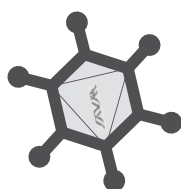


šimpanzí
adenovirus

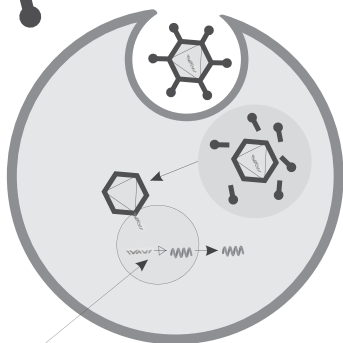
DNA kódující
spike protein



lidské adenoviry Ad26 a Ad5



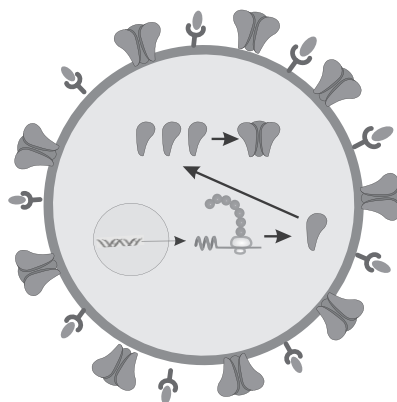
adenovirus



V buňce probíhá produkce spike proteinu. Hotový protein je vystaven na povrchu buňky.

Buněčná DNA není nijak modifikována.

Adenovirus je v této vakcíně využíván jako dopravní prostředek pro gen kódující spike protein. Adenovirus byl upraven tak, aby sám o sobě nezpůsobil žádná onemocnění a v organismu se nemnožil. DNA do něho vložená se tedy musí v jádře, které adenoviry napadají, nejprve přepsat do mRNA a pak se podle ní může vytvořit obalový spike protein.



Od této chvíle je proces identický jako u mRNA vakcíny. Rozdíl je tedy v tom, jak ochránit a dopravit návod na tvorbu spike proteinu do buňky.

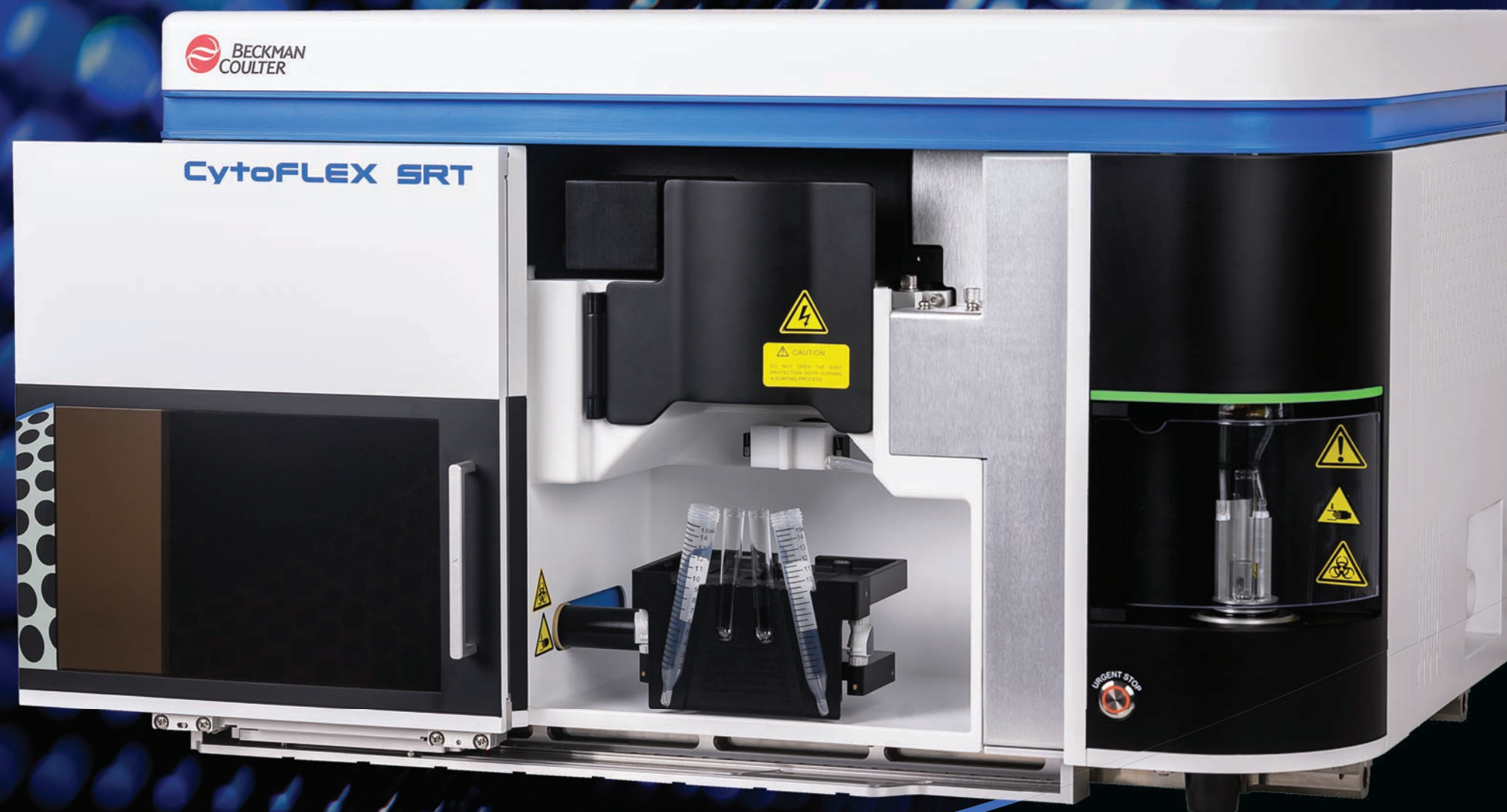
Schoeller

INSTRUMENTS

PRODEJ, SERVIS A VALIDACE LABORATORNÍCH PŘÍSTROJŮ

- Hlubokomrazicí boxy
- CO₂ inkubátory
- Centrifugy
- Biohazard a laminární boxy
- Robotické linky
- Multifunkční readery
- Lednice
- Autoklávy a další...





CytoFLEX SRT...
...CytoFLEX, který umí sortovat

Be sure. **testo**



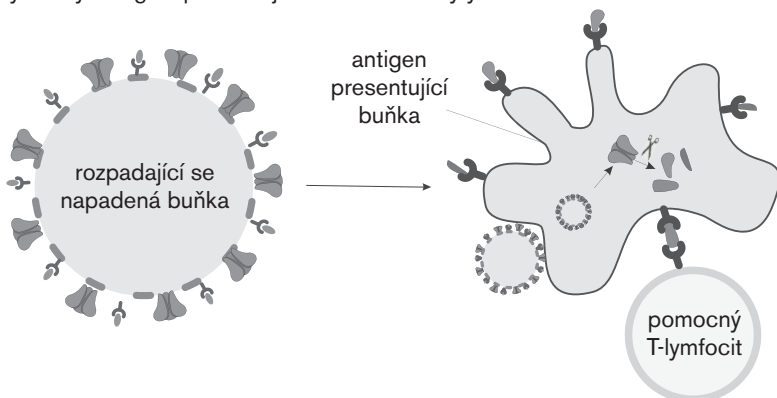
Profesionální měřicí technika testo pro monitorování prostředí laboratoří a přepravu laboratorních vzorků.

- Monitorování prostředí systémem Saveris 2.
- Přenos dat pomocí Vaší WiFi (WLAN) kdekoliv na chytrém telefonu, PC nebo tabletu.
- Spuštění alarmu při překročení hraničních hodnot.
- Bezplatné uložení dat online (Testo-Cloud).

2. Rozpoznání patogenu

Po nekróze buňky budou její zbytky obsahovat mnoho spike proteinů a proteinových fragmentů, které budou následně fagocytovány antigen prezentujícími buň-

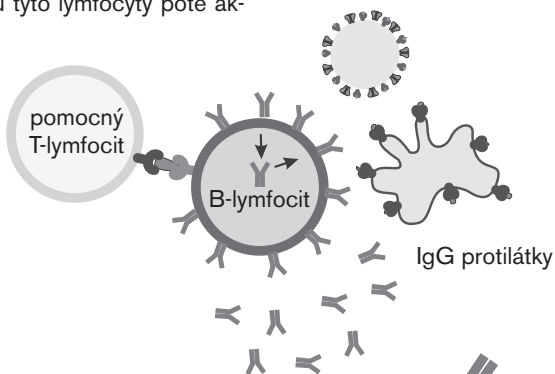
kami (APC buňkami). Tyto buňky vystaví fragmenty spike proteinů na svém povrchu a zprostředkují tak jejich rozpoznání T-lymfocyty.



3. Tvorba protilátek

Fragmenty spike proteinů vystavené na povrchu APC buněk, popř. volné fragmenty spike proteinů, jsou rozpoznány B-lymfocyty. Pokud jsou tyto lymfocyty poté ak-

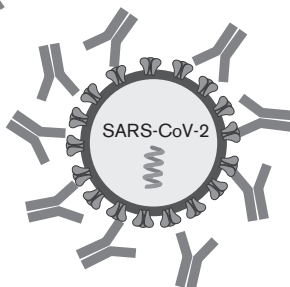
tivovány pomocnými T-lymfocyty, začnou se množit a produkovat protilátky, které cílí na spike proteiny koronaviru.



4. Obrana proti viru

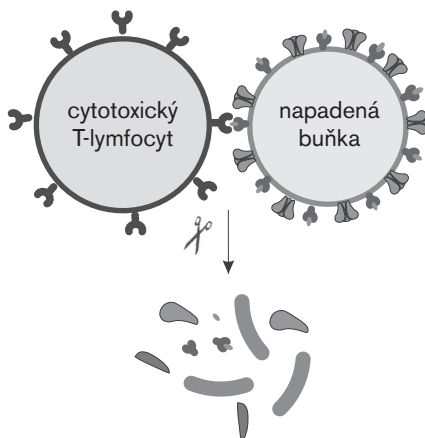
Protilátky rozpoznají spike protein na povrchu virové částice, naváží se na něj a označí ho tak pro degradaci. Zabrání tím viru navázat se na ACE2 receptor.

specifické protilátky obalují koronavirus



5. Zneškodnění napadených buněk

APC buňky mohou také aktivovat jiný typ imunitní buňky nazývaný cytotoxický T-lymfocyt, aby vyhledala a zničila všechny buňky infikované koronavirem, které na svých površích prezentují fragmenty spike proteinů.



6. Účinnost

U tohoto typu vakcíny může hrát roli věk očkované osoby. Čím starší člověk je, tím je větší pravděpodobnost, že se s daným adenovirem v průběhu svého života setkal a vytvořil si proti němu protilátky – imunitní systém takových osob nosič inaktivuje před doručení genu pro spike protein do cílových buněk.

Klinická studie odhalila, že vakcína **Oxford/AstraZeneca** byla z 62 až 90 procent účinná, v závislosti na počáteční dávce a očkovacím schématu. O účinnosti vakcín dalších výrobců **Johnson and Johnson** a vakcíny **Sputnik V** zatím nejsou dostatečná data. Vakcína Sputnik V riziko eliminace adenoviru imunitním systémem snižuje použitím dvou různých adenovirů.



Ústav biochemie a mikrobiologie
VŠCHT PRAHA

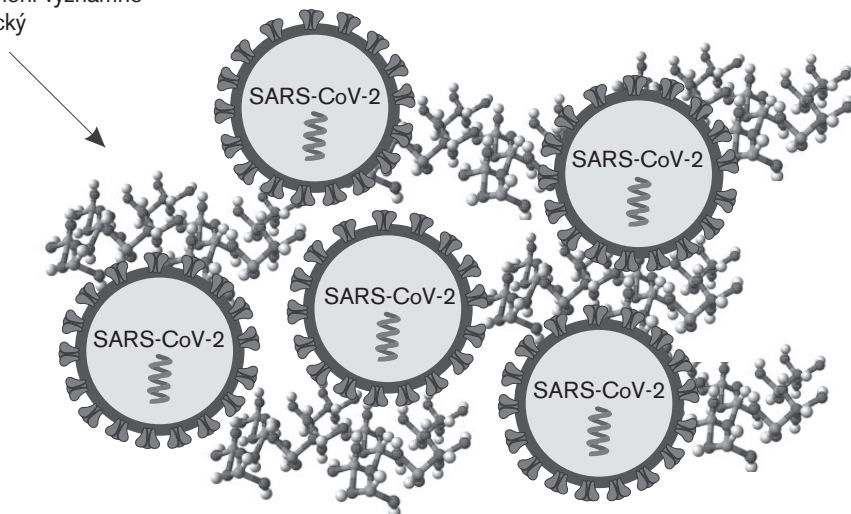
1. Namnožení a umrtvení viru

Na začátku roku 2020 vytvořil pekingský institut biologických produktů inaktivovanou vakcínu proti koronavirům nazvanou BBIBP-CorV. Ta prošla klinickou studií státní čínskou společností Sinopharm. Vakcína je schválena v Číně a používá se také v Bahrajnu a Spojených arabských emirátech. Vědci z Pekingského institutu získali tři varianty koronaviru od pacientů v čínských nemocnicích. Vybrali jednu z variant, protože se dokázala rychle množit

na opičích ledvinových buňkách kultivovaných v bioreaktorech.

Namnožené koronavirové částice jsou smíchány s vysoce toxickým betapropiolaktonem. Tato sloučenina deaktivuje virovou RNA a ta není schopná dále způsobit onemocnění. Inaktivované koronaviry se již nemohou v lidském těle dále množit. Jejich bílkoviny, včetně spike proteinů, ale zůstanou nedotčené.

hliník jako adjuvans
zesílí účinnost,
ale není významně
toxický



2. Rozpoznání patogenu

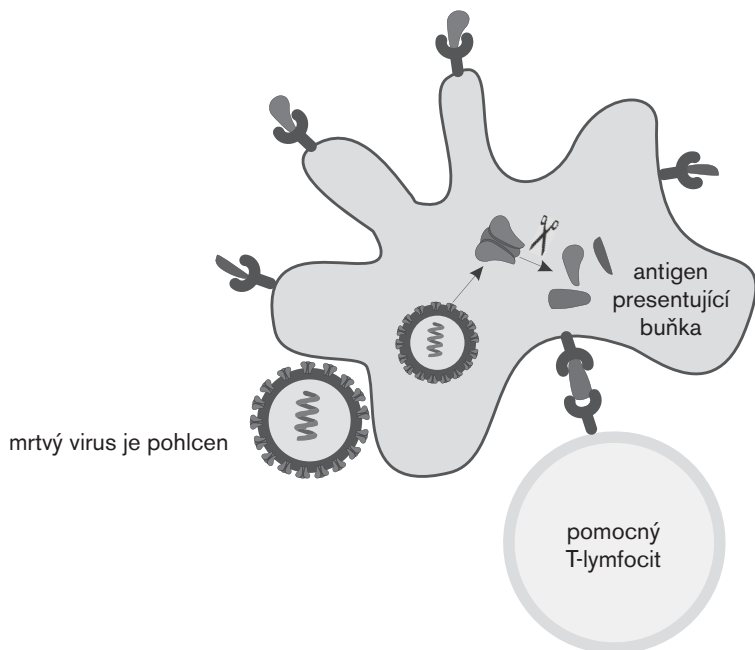
Protože koronaviry ve vakcině BBIBP-CorV jsou zcela mrtvé, mohou být injektovány do paže, aniž by způsobily Covid-19.

Jakmile se dostanou do těla, některé z inaktivovaných virů pohltí APC.

Buňka prezentující antigen koronavirus na-

štěpí a některé jeho fragmenty vystaví na svém povrchu. Tzv. pomocný T-lymfocyt může fragment pomocí svého receptoru

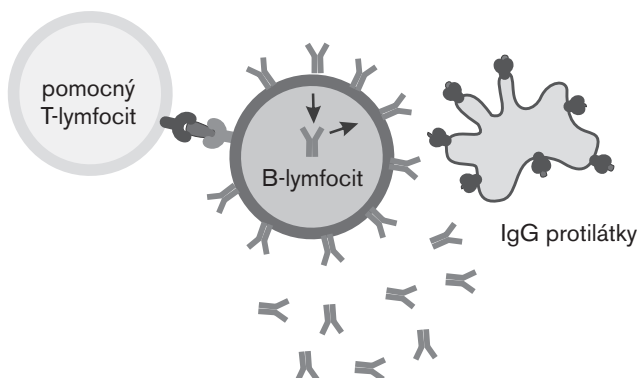
rozpoznat, a následně se aktivovat. Po aktivaci pomocný T-lymfocyt může pomoci získat další imunitní buňky k reakci na vakcínu.



3. Tvorba protilátek

Fragmenty spike proteinů vystavené na povrchu APC buněk, popř. volné fragmenty spike proteinů, jsou rozpoznány B-lymfocyty. Pokud jsou tyto lymfocyty poté ak-

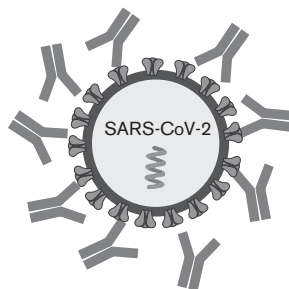
tivovány pomocnými T-lymfocyty, začnou se množit a produkovat protilátky, které cílí na spike proteiny koronaviru.



4. Obrana proti viru

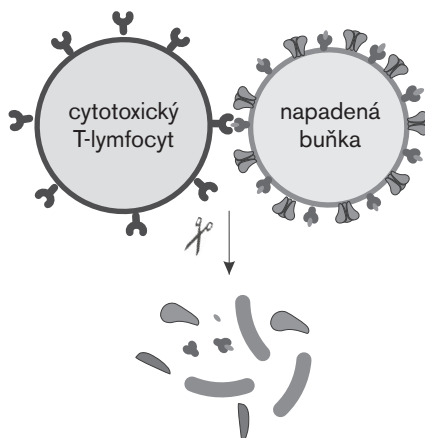
Protilátky rozpoznají spike protein na povrchu virové částice, naváží se na něj a označí ho tak pro degradaci. Zabrání tím viru navázat se na ACE2 receptor.

specifické protilátky obalují koronavirus



5. Zneškodnění napadených buněk

APC buňky mohou také aktivovat jiný typ imunitní buňky nazývaný cytotoxický T-lymfocyt, aby vyhledala a zničila všechny buňky infikované koronavirem, které na svých površích prezentují fragmenty spike proteinů.



6. Účinnost

Klinická data z Arabských emirátů vykazují účinnost 86 %. U nás se s jejím použitím nepočítá.



**Ústav biochemie a mikrobiologie
VŠCHT PRAHA**

1. Interakce vakcíny s buňkou

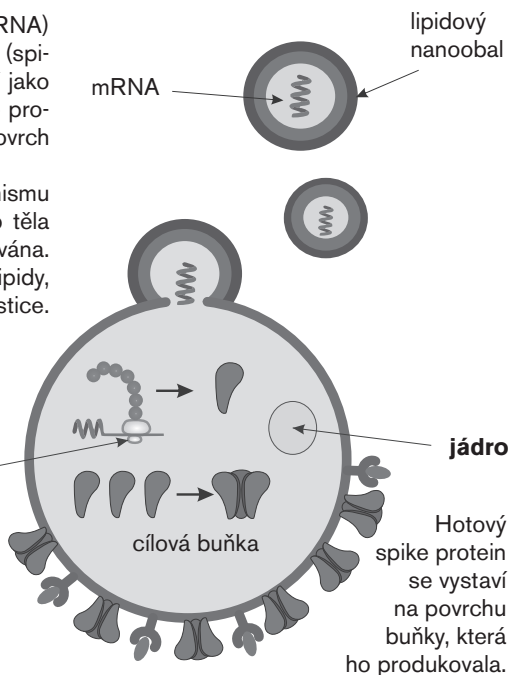
Vakcína používá messenger RNA (mRNA) kódující povrchový protein koronaviru (spike protein). Tato mRNA přímo slouží jako templát k syntéze povrchového spike proteinu, který buňka vystaví na svůj povrch a mimikuje tak setkání s virem.

Molekula mRNA je v lidském organismu nestabilní a pokud je injektována do těla přímo, byla by velmi rychle degradována. Proto jsou k její ochraně využívány lipidy, které s mRNA vytvoří lipidové nanočástice.

Po vpichu do těla lipidové nanočástice splynou s membránou buňky a uvolní mRNA do cytoplasmy.

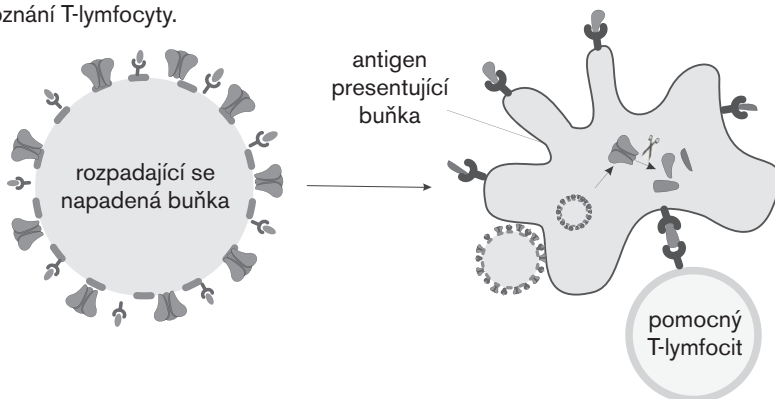
Spike protein je syntetizován na **ribosomu** v cytoplasmě.

V buňkách dochází rovněž ke štěpení proteinů a takto vzniklé fragmenty jsou také rozpoznávány imunitním systémem.



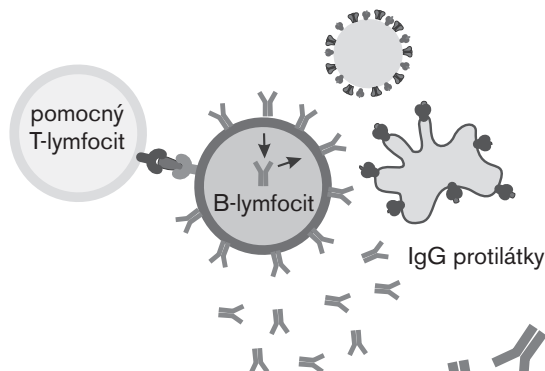
2. Rozpoznání patogenu

Po nekróze buňky budou její zbytky obsahovat mnoho spike proteinů a proteinových fragmentů, které budou následně fagocytovány antigen presentujícími buňkami (APC buňkami). Tyto buňky vystaví fragmenty spike proteinů na svém povrchu a zprostředkují tak jejich rozpoznání T-lymfocyty.



3. Tvorba protilátek

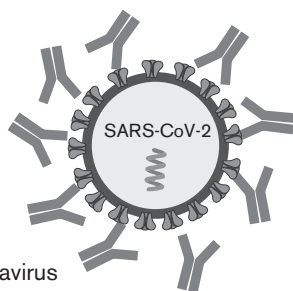
Fragmenty spike proteinů vystavené na povrchu APC buněk, popř. volné fragmenty spike proteinů, jsou rozpoznány B-lymfocyty. Pokud jsou tyto lymfocyty poté aktivovány pomocnými T-lymfocyty, začnou se množit a produkovat protilátky, které cílí na spike proteiny koronaviru.



4. Obrana proti viru

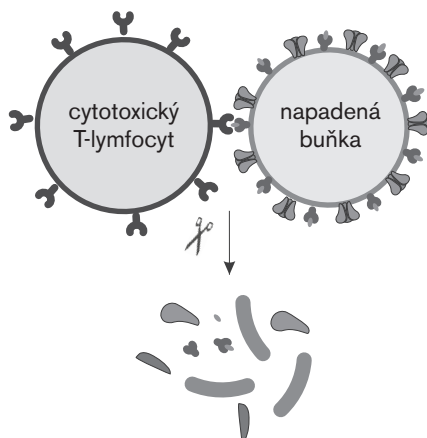
Protilátky rozpoznají spike protein na povrchu virové částice, naváží se na něj a označí ho tak pro degradaci. Zabrání tím viru navázat se na ACE2 receptor.

specifické protilátky obalují koronavirus



5. Zneškodnění napadených buněk

APC buňky mohou také aktivovat jiný typ imunitní buňky nazývaný cytotoxický T-lymfocyt, aby vyhledala a zničila všechny buňky infikované koronavirem, které na svých površích prezentují fragmenty spike proteinů.



6. Účinnost

Klinická studie ukázala, že vakcíny Pfizer a Moderna mají účinnost okolo 95 %. Tento typ vakcíny má oproti ostatním velkou výhodu ve velmi snadném přizpůsobení vakcíny novým mutacím viru. K přizpůsobení vakcíny je nutné pouze upravit sekvenci RNA a tu pak použít pro přípravu vakcíny.

VZPOMÍNKA NA HANSE KREBSE (25. 8. 1900 – 22. 11. 1981)

významného biochemika, lékaře, vysokoškolského učitele a nositele Nobelovy ceny za fyziologii nebo lékařství (1953), Ceny Alberta Laskera za základní lékařský výzkum (1953), Královské medaile (1954), čestného doktorátu Hebrejské university v Jeruzalémě (1960) a mnoha dalších významných ocenění. V r. 1958 ho anglická královna povýšila do šlechtického stavu.



Hans Krebs se narodil v německém Hildesheimu. Jeho otec byl ušním, nosním a krčným chirurgem a proto nepřekvapuje, že v r. 1918 začal studovat medicínu na univerzitě v Göttingenu a ukončil je v r. 1923 ve Freiburgu. Titul PhD získal v r. 1925 na univerzitě v Hamburku. Po té studoval jeden rok chemii na Humboldtově univerzitě v Berlíně a následně působil v biologickém ústavu Kaiser Wilhelm Institutu, kde byl do r. 1930 asistentem Otty Warburga známého vyvinutím široce využívané manometrické metody. Pak se vrátil k působení lékaře nejprve v nemocnici v Altoně a pak na lékařské klinice na univerzitě ve Freiburgu, kde během prováděného výzkumu objevil močovinový cyklus. Neuvě-

řitelná pestrost jeho působení v lékařském a chemickém prostředí mu umožnila zvládnout, v té době nejmodernější laboratorní techniky, které uplatnil v systematickém studiu látkové výměny (metabolických pochodů). Objevem močovinového (též ornithinového) cyklu v r. 1932 se stal zakladatelem nového směru biochemického výzkumu – studia metabolických drah (metabolic pathways) tehdy nazývaného také „dynamická biochemie“. V té době to byl zcela nový přístup a proto byl nejprve odmítnut k publikaci. Nakonec jej publikoval se svým asistentem Kurtem Henseleitem. V močovinovém cyklu se z těla odstraňují dva škodlivé plyny (amoniak a oxid uhličitý) tím, že se transformují na močovinu posléze vylučovanou močí.

Vzhledem k jeho židovskému původu mu bylo v nacistickém Německu zakázáno provozovat lékařskou praxi, takže využil pozvání Sira Fredericka Gowlanda Hopkinse, aby přijel pracovat v jeho biochemické laboratoři v Cambridge. Krebs tedy emigroval do Anglie, která se mu stala druhou vlastí. Zde úspěšně pokračoval ve výzkumu metabolických drah a již v r. 1937 (5 let po objevu močovinového cyklu) popsal druhou, složitější metabolickou dráhu známou jako citrátový, ale častěji Krebsův cyklus. Zná jej každý, alespoň podle názvu, kdo přišel s biochemií i do letného styku. Vzpomínám, jak za mých mladých let jsem v atletickém klubu vysvětloval Krebsův cyklus studentům Fakulty tělesné výchovy UK.

Dnes známe „metabolických drah“ bezpočet, ale nikdo nemůže Hansi Kreb-

sovi upřít prioritu vnesení nových přístupů do biochemického výzkumu. Přesto na udělení Nobelovy ceny za fyziologii a medicínu musel čekat až do r. 1953. Od r. 1954 spojil svůj život s Oxfordem,

kde také zemřel v r. 1981. Jeho syn, Sir John Krebs, je také vědcem.

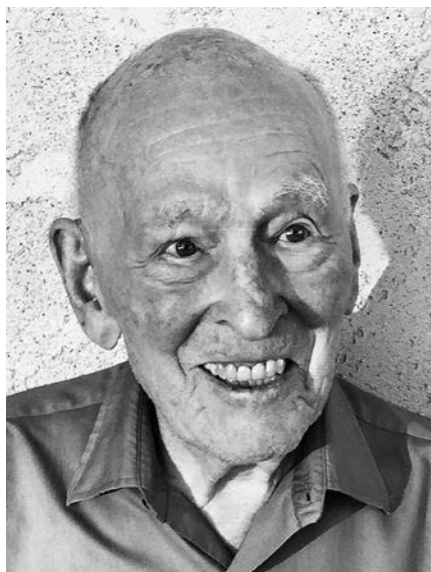
40 let po jeho úmrtí vzpomeňme jeho zásluh na rozvoji biochemie.

Marek Šebela

PAUL DELOS BOYER

(*31. 7. 1918 – †2. 6. 2018)

Paul D. Boyer byl americký biochemik a chemik, profesor na Kalifornské univerzitě v Los Angeles (UCLA). V r. 1997 získal Nobelovu cenu za chemii, konkrétně za výzkum ATP synthasy, spolu s Angličanem **Johnem Ernestem Walkerem** (*1941). Dalším tehdy oceněným byl Dán **Jens Christian Skou** (1918 – 2018) za objev Na^+/K^+ -ATPasy.



Narodil se v Provo v Utahu, kde absolvoval i střední školu. Bakalářského vzdělání v oboru chemie dosáhl na mormonske **Univerzitě Brigham Younga** tamtéž (1939) a získal stipendium pro studium biochemie na **Wisconsinské univerzitě v Madisonu**. V té době se tam prováděl špičkový výzkum v oblasti výživy a metabolismu (katedra

biochemie), byly objevovány a studovány např. vitamíny, jejich příprava a antagonisté. Pracoval u profesora **Paula Phillipse**. Jedním z jeho prvních výsledků bylo zjištění, že enzym pyruvátkinasa je aktivován K^+ , což bylo sledováno jako stimulace přenosu fosfátu na cestě od 3-fosfoglycerátu ke kreatinfosfátu. Související makroergická sloučenina adenosintrifosfát – ATP – byla objeven **Karlem Lohmannem** (1898 – 1978) v r. 1927, oxidační fosforylaci demonstrovali **Vladimír A. Engelhardt** (1894-1984) a M. N. Ljubimova v roce 1932. Poté, co Boyer obdržel, Ph.D., pobýval na Stanfordově univerzitě, kde v době války hledali možnost stabilizace sérového albuminu pro zahřívání za účelem likvidace patogenů. Toho bylo dosaženo přidavkem *N*-acetyltryptofanu.

Svoji nezávislou kariéru začal na **Minnesotské univerzitě**, kde se zabýval především studiem enzymů (50. léta 20. stol.). Jedním z témat byla **glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenasová reakce** v glykolýze. S pomocí izotopu ^{18}O prokázali zabudování kyslíku fosfátu do karboxylové skupiny fosfoglycerátu. Při studiu oxidační fosforylace inkubovali mitochondrie s fosfátem značeným ^{18}O a ^{32}P a nezačeným ATP. Pozorovali rychlou výměnu

kyslíků mezi fosfátem a vodou a fosforu s ATP. Reverzibilita pokračovala i při inhibici přenašečů elektronů. Předpokládala se existence **energeticky bohaté sloučeniny**. Díky stipendiu byl Boyer v r. 1955 na studijním pobytu u **Hugo Theorella** (1903 – 1982) ve Švédsku. Zde např. rozpoznal změnu fluorescence NADH po navázání na dehydrogenasu. Ve Švédsku také započal experimenty vedoucí k poznání, že poslední můstkový kyslík v ATP, který se tvoří oxidační fosforylací, pochází z ADP a ne z fosfátu. V následujícím období se využívalo radioaktivního izotopu ^{32}P ke studiu intermediátů enzymových reakcí, např. glutaminsynthetasy. V r. 1961 se již zdálo, že objevili hledanou energeticky bohatou sloučeninu. Po expozici mitochondrií radioaktivnímu fosfátu a jejich solubilizaci byla izotopem značena nedialyzovatelná látka. Potvrdilo se, že jde o protein s **histidinovou fosforylací**.

Od r. 1963 byl Boyer profesorem na **Katedře chemie a biochemie na UCLA**. Výzkum dále pokračoval nalezením modulátorů tvorby fosfohistidinového zbytku v daném proteinu, efektivní byl sukcinát a koenzym A. Fosforylovaný histidin byl nakonec vysvětlen jako intermediát **sukcinyl-CoA-synthetasové reakce**, nikoli oxidační fosforylace. Na UCLA posléze přijal místo ředitele **Ústavu molekulární biologie**. Pokračující experimenty s ^{32}P , ukázaly, že primárním akceptorem fosfátu při oxidační fosforylaci je adenosindifosfát – ADP. Byly získány důkazy o tom, že domnělý energeticky bohatý intermediát hraje také roli při transportu aminokyselin či určitých sacharidů do mitochondrií. Boyer tehdy stále odmítal Mitchellovu teorii protonmotivní síly, dle jeho slov, kvůli chybějícímu vysvětlení procesu, kterým migrace protonů může vést k tvorbě ATP. Na počátku 70. let dospěl k představě, že **energie uložená v ATP může pocházet z konformační změny proteinu**. K tomu svádělo pozorování,

že výměna kyslíků ve fosfátu byla méně náchylná k působení rozpojovačů než celková oxidační fosforylace (ATP vázáno v aktivním místě enzymu a hydrolyzováno). V této době skupina **Edwarda Charlese Slatara** (1917 – 2016) prokázala na izolované F_1 části ATPasy/synthasy (synthetická reakce v buňce, fosfatasová in vitro) vazebná místa pro ATP a ADP. Boyerův tým dokumentoval pevnou vazbu ATP (tvořeného z fosfátu v médiu) na myosinovou ATPasu. Při hydrolyze ATP myosinovou ATPasou byla prokázána výměna kyslíků mezi vázaným ATP a vodou.

Koncept **translokace protonů** spojený s tvorbou ATP uveřejnil **Peter D. Mitchell** (1920 – 1992) v roce 1961. V polovině 70. let byly známy další důležité informace o ATPase/synthase. Laboratoře **Davidu E. Greena** (1910 – 1983) a **Efraima Rackera** (1913 – 1991) přispěly k purifikaci F_1 -ATPasy, viditelné v elektronovém mikroskopu, vědělo se o α - a β -podjednotkách. Membránová část F_0 byla spojována s transportem protonů. Nebylo však známo, jak je přenos protonů spojen s tvorbou ATP. Boyerova skupina zjistila vysokou kooperativitu podjednotek, jelikož katalytické kroky v jednom místě vyžadovaly přítomnost substrátu vedle. Experimenty zahrnovaly izotopovou výměnu a práci s ^{18}O a ^{32}P . Vazba substrátu v jednom místě byla důležitá pro uvolnění substrátu v místě jiném. Uvažovaly se dvě nebo tři katalytická místa. Objevil se **koncept sekvence reakcí**, navázání reaktantů, přeměna a uvolnění produktu, každé katalytické místo je v dané chvíli v jiné fázi reakce. Zjistilo se, že při poklesu koncentrací fosfátu a ADP roste výměna kyslíku ve vázaném ATP. S izolovanou F_1 -ATPasou se potvrdilo, že výměna ^{18}O mezi fosfátem a H_2O se zvyšovala s klesající koncentrací ATP. Tedy, ATP podléhá hydrolyze v jednom místě s čekáním na vazbu ATP do druhého místa a uvolněním ADP a fosfátu.

Chloroplastová ATPasa se studovala metodami rychlého smísení reaktantů a zhášení reakce. Bylo prokázáno, že se v prostředí s pH gradientem pevně vázaný ADP uvolňuje, nikoli přímo fosforyluje. Pevně vázaný ADP s Mg^{2+} je inhibitorem ATPasové aktivity, tato inhibice je překonána protonmotivní silou. Po uvolnění pevně vázaného ADP se nazývá ADP a fosfát z média a tvoří se ATP. Na počátku 80. let se objevil **koncept katalýzy s rotací hlavičky ATPasy**. Pro sledování distribuce ^{18}O ve fosfátu nebo ATP se kromě hmotnostní spektrometrie uplatnila i NMR. Bylo zjištěno, že **všechny molekuly ATP vznikají stejnou katalytickou cestou**. Výsledky z té doby taky ukázaly, že konformační změny F_0 části ATPasy se přenášejí do katalytických míst na β -podjednotkách hlavičky. Vzhledem k tomu, že γ - a ϵ -podjednotka tvoří asymetrickou osu, byla odvozena rotace jako zajištění ekvivalence katalytických míst. Pro ATPasy z různých zdrojů (chloroplast, mitochondrie, vakuoly, kvasinky, *E. coli*) byl prokázán obdobný mechanismus. Když byla izolována mitochondriální F_1 -ATPasa, vždy částečně obsahovala pevně vázaný ADP. V přítomnosti Mg^{2+} měla F_1 -ATPasa s navázaným ADP jen velmi malou nebo nulovou aktivitu s přidaným ATP. Vázaný ADP se ale pak postupně uvolňuje. Prokázána byla i vazba ATP do nekatalytického místa.

V 80. letech byly známy sekvence podjednotek ATP synthasy. Začal se používat i **2-azido-ATP**, dobrý substrát, který

je po fotolýze kovalentně vázán. Pomocí azidoderivátů byla nalezena vazebná místa v konzervovaných sekvencích na rozhraní α - a β -podjednotek. Další experimenty s izotopovou výměnou byly prováděny na mitochondriích schopných oxidační fosforylace. Během rychlé syntézy ATP s oxidovatelnými substráty metabolismu bylo pozorováno, že translokasa neimportuje ATP. Bylo navrženo schéma, ve kterém se ATP a ADP váží do jiných míst. **Weber a Senior** (2001) využili k popisu vazby nukleotidů zhášení fluorescence tryptofanu, kterým byl nahrazen tyrosin v katalytických místech F_1 -ATPasy z *E. coli*. Původní tryptofany v jiných místech byly mutacemi odstraněny. Na konci 80. let se různými experimenty hledaly důkazy rotační katalýzy ATPasy, využívalo se například činidel pro příčnou vazbu. Po propojení lysinových zbytku činidlem s S-S skupinou klesla aktivita o 2/3, po štěpení disulfidu se obnovila. V r. 1994 byla publikována skupinou **J. E. Walkera** krystalová struktura velké části mitochondriální F_1 -ATPasy. Ukazovala β -podjednotky v různých konformacích, jedna byla se slabou afinitou k nukleotidu. Na styku γ - a β -podjednotky byly jinou skupinou (**R. L. Cross**) vloženy cysteiny a po jejich oxidaci na disulfid zmizela aktivita, která se obnovila po redukci na thiolové skupiny. V r. 1999 japonští vědci uveřejnili mikroskopickou vizualizaci hydrolýzy ATP s fluorescenčně značeným aktinovým vláknem navázaným na c -podjednotku.

Fotografie pochází z úložiště Wikimedia Commons.

Sestavil Marek Šebela s použitím následující literatury:

- Boyer, P. D. (2002) A research journey with ATP synthase. *J. Biol. Chem.* 277, 39045-39061. DOI: 10.1074/jbc.X200001200
- Boyer, P. D. (1997) Energy, Life and ATP. Nobel Lecture, December 8, 1997. In: *Nobel Lectures, Chemistry 1996-2000*, Editor Ingmar Grenthe, World Scientific Publishing Co., Singapore, 2003.
- Boyer, P. D., Cross, R. L., Momsen, W. (1973) A new concept for energy coupling in oxidative phosphorylation based on a molecular explanation of the oxygen exchange reactions. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 70, 2837-2839. DOI: 10.1073/pnas.70. 10. 2837

Abraham, J.P., Leslie, A.G.W., Lutter, R., Walker, J.E. (1994) Structure at 2.8 Å resolution of F₁-ATPase from bovine heart mitochondria. *Nature* 370, 621–628. DOI: 10.1038/370621a0

Duncan, T. M., Bulygin, V. V., Zhou, Y., Hutcheon, M. L. & Cross, R. L. (1995) Rotation of subunits during catalysis by *Escherichia coli* F₁-ATPase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92, 10964–10968. DOI: 10.1073/pnas.92. 24. 10964

Sambongi, Y., Iko, Y., Tanabe, M., Omothe, H., Iwamoto-Kahara, A., Ueda, I., Yanagida, T., Wada, Y., Futai, M. (1999) Mechanical rotation of the c subunit oligomer in ATP synthase (F₀F₁): Direct observation. *Science* 286, 1722–1724. DOI: 10.1126/science.286.5445.1722

Weber, J., Senior, A.E. (2001) Bi-site catalysis in F₁-ATPase: Does it exist? *J. Biol. Chem.* 276, 35422–35428. DOI: 10.1074/jbc.M104946200





FEBS 2021
THE 45TH FEBS CONGRESS
3-8 JULY 2021
LJUBLJANA SLOVENIA



Molecules of Life:
Towards New Horizons



Welcome to the 2021 FEBS Congress

Join us at the 45th FEBS Congress for an inspiring exchange of knowledge and ideas from leading experts across the molecular life sciences, and opportunities to present your work!

2021.febscongress.org



FESTIVAL VĚDY

ŽÁBAVNÁ VĚDECKO-TECHNICKÁ LABORATOŘ NA KULAŤÁKU

téma:
DIGITÁLNÍ SVĚT

uložte si datum:
středa 8. 9. 2021



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. 1/2021 ze dne 20. 5. 2021
Evid. číslo: MK ČR E 10260
Toto číslo je hrazeno ČSBMB
ISSN 1211-2526

NanoDrop One

NanoDrop™ je jen jeden - originál
od Thermo Scientific™, ostatní jsou pouze kopie.

Novinka

Rozlišení absorbance ds DNA od RNA
- identifikace možné kontaminace vzorků



M.G.P. spol. s r.o.
Kvítková 1575
760 01 Zlín
Czech Republic

E-mail: mgp@mgp.cz
Zelená linka: 800 125 890

www.mgp.cz





ČESKÁ SPOLEČNOST PRO
BIOCHEMII A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGII



SLOVENSKÁ SPOLOČNOSŤ
PRE BIOCHÉMIU A
MOLEKULÁRNU BIOLÓGIU

FEBS3+ Meeting

„Život je biochemie, biochemie je život“

XXVI. biochemický sjezd s mezinárodní účastí

29. srpna – 1. září 2021
České Budějovice

NAŽIVO



XXVI. biochemický sjezd se bude konat při dodržení
veškerých v době konání akce platných
protiepidemických a hygienických opatření.

Možnost PCR testu na místě!!

WWW.CSBMB2021.CZ