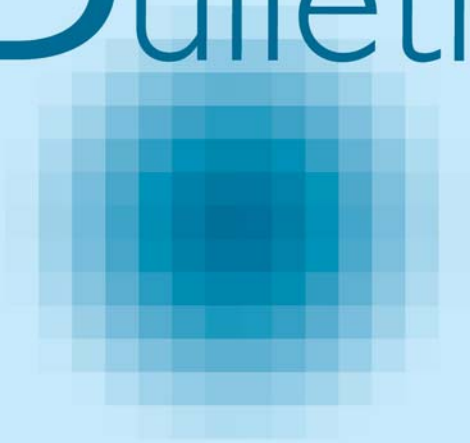


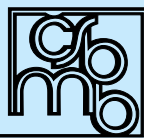
Bulletin

ROČNÍK 35 (2007), ČÍSLO 3



3

**ČESKÁ SPOLEČNOST PRO
BIOCHEMII A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGII**



ISSN 1211-2526

BULLETIN

ČESKÉ SPOLEČNOSTI PRO BIOCHEMII A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGII

<http://CSBMB.vscht.cz>

TOMISLAV BARTH - VÝKONNÝ REDAKTOR

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
<barth@uochb.cas.cz>

IRENA KRUMLOVÁ - ZÁSTUPCE VÝKONNÉHO REDAKTORA

Česká společnost pro biochemii a molekulární biologii, Kladenská 48,
160 00 Praha 6, tel. 220 445 166

nebo Ústav biochemie a mikrobiologie VŠCHT, 166 28 Praha 6, Technická 5
tel.: 220 445 166, fax: 220 445 167, e-mail <irena.krumlova@vscht.cz>

REDAKČNÍ RADA

T. Barth, J. Barthová, I. Krumlová, V. Kašička, P. Rauch

Příspěvky na disketě 3,5", zpracované v textovém procesoru Word, zasílejte, spolu s vytištěným textem, kterémukoli z redaktorů nebo do sekretariátu společnosti. Prosíme, abyste do textu nemontovali ani obrázky, ani tabulky. Připojte je v originále, případně na disketě ve zvláštních souborech, v textu označte, prosím, jen jejich umístění.

**Adresa ČSBMB: Kladenská 48, 160 00 Praha 6
tel.: 235 360 057**

ISSN 1211-2526

<http://CSBMB.vscht.cz>

<http://CSBMB.vscht.cz>

<http://CSBMB.vscht.cz>

<http://CSBMB.vscht.cz>

<http://CSBMB.vscht.cz>

<http://CSBMB.vscht.cz>

<http://CSBMB.vscht.cz>

<http://CSBMB.vscht.cz>

<http://CSBMB.vscht.cz>

<http://CSBMB.vscht.cz>

ZPRÁVY SPOLEČNOSTI

M. Flegel: Za Tomem Barthem	68
RNDr. Josef Chmelík, CSc.	70
XXI. biochemický sjezd	71

ODBORNÉ ČLÁNKY

P. Řehulka, H. Řehulková, J. Chmelík: Měření proteomických dat hmotnostní spektrofotometrií a jejich bioinformatická interpretace	72
---	----

RŮZNÉ

I. M. Malbohan: Celosvětový kongres ISOBM poprvé v České republice	83
M. Macková: Zpráva o symposiu BIOBIO 07	84
Cena Arnolda Beckmana	88
III. dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie	90
XII. Pracovní setkání biochemiků a molekulárních biologů	91

ZA TOMEM BARTHEM

Nechce se věřit :

Druhého října tohoto roku navždy odešel z biochemické a peptidové scény RNDr. Tomislav Barth, DrSc – Tom.

Stalo se tak náhle v Sofii, při jedné z jeho služebních cest. Je nesmírně obtížné postihnout v několika větách všechny aktivity tohoto výjimečného člověka a vědce.

Tom začal svou vědeckou dráhu jako aspirant V. Plišky (dnes ETH Zurich) studiem biologických vlastností neurohypofysárních hormonů a jejich analogů, které byly syntetizovány v laboratoři J. Rudingera na Ústavu Organické Chemie a Biochemie ČSAV. Peptidové hormony se staly jeho osudem. Možná nejpłodnější období jeho vědeckého života byla spolupráce s K. Joštem a M. Zaoralem na výzkumu analogů oxytocinu a vasopresinu.

V té době jsem za ním také já často docházel a diskutoval nad šálkem kávy, které on obvykle začínal slovy: „Á přišli magnáti z průmyslu“. Povídání s Tomem bylo pro mne – jako tehdy začínajícího peptidáře vždy velmi přínosné.

Jeho organizační schopnosti byly také mimořádné. Vedle nesčetných vědeckých prací se významně podílel na zavádění akademických výsledků do průmyslové praxe zejména pak peptidových léčiv vyvinutých v 60. a 70. letech v ÚOCHB a pak vyráběných ve Spofě (Léčiva) a také v Československé licenci ve firmě Ferring.

Tom rád cestoval a dokázal vytvářet síť přátelských kontaktů mezi mnoha vědeckými pracovníky nejrůznějších ústavů a univerzit prakticky po celém světě. Vždy dokázal najít společný zájem u lidí pracujících i v dosti odlehlých oborech. Vhodným příkladem snad může být jeho zájem o ryby a akvaristiku a spolupráce s Výzkumným

ústavem rybářským ve Vodňanech. V té době jsme se v Laboratoři peptidů n.p. Léčiva zabývali přípravou analogů LH-RH. Tom přišel s myšlenkou použít látky při kulení ryb a aby nás povzbudil, přinesl nám do laboratoře několik štik výměnou za malé množství peptidů.

Bylo by obtížné i jen vyjmenovat všechny oblasti biochemie o které se zajímal. Vedle studia enzymového štěpení peptidových hormonů pracoval později také dlouhou dobu na problémech přípravy lidského inulinu (sám byl diabetik).

Spolupracoval s Přírodovědeckou fakultou University Karlovy, kde na katedře biochemie učila jeho žena Jana a kde také organizoval přednáškové cykly o peptidech a jejich využití. Vychoval velký počet aspirantů zejména na svém mateřském ústavu, kterému zůstal až do konce života věrný. Dlouhá léta byl redaktorem Bulletinu české společnosti pro biochemii a molekulární biologii a byl členem mnoha vědeckých komisí v oboru biochemie.

Krátce před svým odchodem do důchodu vydal v nakladatelství **Barthday** malou brožurku, kde řada spolupracovníků – peptidářů – popsala svůj dojem a názor na výzkum a vývoj oboru peptidové chemie v České republice. Na úspěchy i omyly, které tento obor během přibližně padesáti let poznamenaly. Knížka vydaná k výročí ÚOCHB byla nazvána velmi příznačně „**Bye, bye, peptides... ?**“

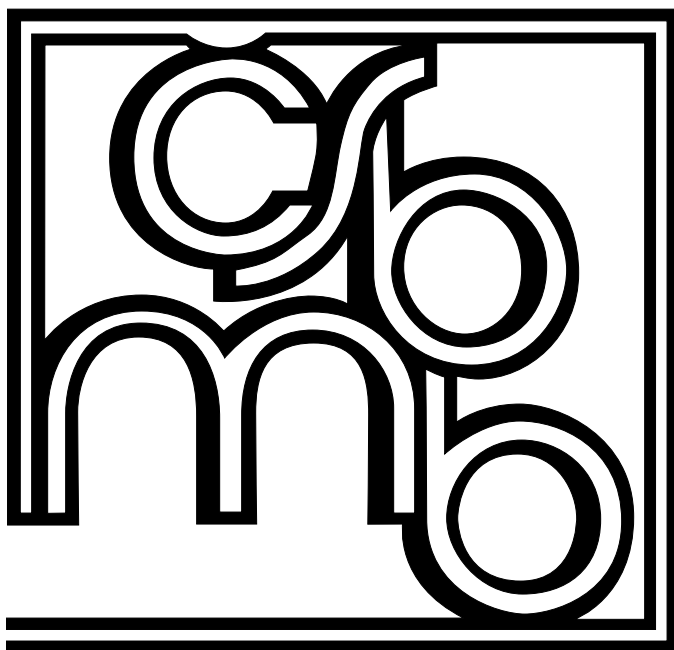
Dr. Barth odešel a s ním odešla prakticky celá významná první generace peptidářů, otců-zakladatelů. Lze jen doufat, že Tomovi žáci budou pokračovat v jeho díle

a že název brožury „Bye, bye, peptides... ?“ tak nebude v budoucnu považován za nekrolog významného vědeckého oboru u nás.

RNDr. M. Flegel CSc.,

za všechny „**Peptidi**“. Měkké i na konci zdůrazňuje, že jde o peptidáře nikoliv o chemické látky. Toto oslovení bývalo tradiční v Rudingerově laboratoři a začínaly jím vždy pohlednice posílané ze symposií, kterých jsme se spolu s TOMEM účastnili.

„Bye, bye Tome !“



RNDR. JOSEF CHMELÍK, CSc.

29.7.1953 – 16.7.2007



Před nedávnem nás všechny zastihla velmi smutná zpráva o náhlém úmrtí pana doktora Josefa Chmelíka dne 16. 7. 2007. Narodil se 29. 7. 1953 v Ústí nad Orlicí. Po absolvování gymnázia v České Třebové vystudoval obor fyzikální chemie na přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy, kde též pokračoval v letech 1977 – 1981 v doktorském studiu na téma „Hydrofobní vlastnosti sirných aminokyselin a jejich význam pro strukturu globulárních bílkovin“. Profesní kariéru začal v roce 1981 jako odborný asistent katedry fyzikální chemie Univerzity Karlovy. Po přestěhování do Brna v roce 1982 pracoval nejprve jako výzkumný pracovník ve Výzkumném ústavu čistých chemikálií v Brně. Od roku 1983 působil jako vědecký pracovník na Ústavu analytické chemie AV ČR, kde v roce 1990 založil oddělení separace biopolymerů. V letech 2001 – 2005 byl ředitelem Ústavu analytické chemie AV ČR a současně od roku 2001 též vedoucím oddělení proteomiky a glykomiky.

Jeho vědecká činnost byla rozsáhlá – publikoval přes 100 původních vědeckých prací, byl řešitelem nebo spoluřešitelem mnoha (i mezinárodních) grantových projektů. Mezi jeho odborné zájmy patřily především separační metody (field-flow frakcionace, kapilární isoelektrická fokusace, gelová permeační chromatografie), hmotnostní spektrometrie (MALDI-TOF MS, ESI-IT), identifikace bílkovin, konformační stability a posttranslační modifikace bílkovin aj. Nezanedbatelný byl i jeho přínos v oblasti organizační jak v tuzemsku, kde působil jako člen výkonného výboru proteomické sekce ČSBMB, tak i na mezinárodní úrovni, kde působil jako funkcionář několika odborných společností. V průběhu své vědecké kariéry sestavil Dr. Chmelík obdivuhodně fungující úspěšný tým mladých vědců, doktorandů a diplomantů, kteří významným způsobem ovlivnili a dodnes ovlivňují produkci výsledků především v oblasti separace a charakterizace makromolekul a částic, a to nejen v regionu České republiky, ale i na mezinárodní úrovni. Právě intenzivní spolupráce jeho laboratoře se špičkovými zahraničními pracovišti po roce 1989 zviditelnila a možná i částečně ovlivnila onu část české vědecké obce, která úspěšně začala rozvíjet dynamické moderní metody, mezi něž proteomika a glykomika bezesporu patří.

V době svých nedožitých 54. narozenin nás tak opustil přítel a kolega, jehož odborné vize, vysoké pracovní nasazení i schopnost kriticky se vyjádřit k různým nešvarům byly příkladem pro jeho okolí. Je nutno vyzdvihnout především jeho vztah k mladším spolupracovníkům, kterým se vždy snažil předat maximum ze svých životních zkušeností a znalostí. Děkujeme Ti, Josefe!

XXI. biochemický sjezd

České Budějovice

14. – 17. září 2008

Prezident kongresu:

Prof. RNDr. Václav Pačes, DrSc.

Předseda organizačního výboru:

Prof. MUDr. Radim Černý, CSc.

Předseda vědeckého výboru:

Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA

Organizační sekretariát:

Congress Business Travel, s.r.o.

Lidická 43/66

150 00 Praha 5 - Anděl

tel: 224 942 575

fax: 224 942 550

e-mail: csbmb08@cbttravel.cz

www.csbmb08.cz



Slovenská spoločnosť pre biochémiu a molekulárnu biológiu

Člen IUBMB a FEBS

ČESKÁ SPOLEČNOST PRO
BIOCHEMIU A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGII



MĚŘENÍ PROTEOMICKÝCH DAT HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIÍ A JEJICH BIOINFORMATICKÁ INTERPRETACE

Pavel Řehulka, Helena Řehulková a Josef Chmelík

Ústav analytické chemie Akademie věd ČR, Veveří 97, 602 02 Brno
 rehulka@iach.cz, rehulkova@iach.cz, chmelik@iach.cz

1. Úvod

Úspěch při identifikaci bílkovin závisí na kvalitě dat získaných hmotnostní spektrometrií a jejich interpretaci s použitím bioinformatiky. S vývojem jemných ionizačních technik^{1–5} se rozvíjely také metody identifikace bílkovin. Směs bílkovin se rozdělí vhodnou separační technikou. Separované bílkoviny se enzymaticky štěpí na směsi peptidů, které se dále analyzují hmotnostní spektrometrií. Nejcitlivější a rychlou metodou je peptidové mapování (peptide mass fingerprinting – PMF)^{6–10}, ve kterém jsou přesně změřené molekulové hmotnosti peptidů porovnány s teoreticky vypočítanými hmotnostmi peptidů z bílkoviny přítomné v databázi, přičemž toto srovnání je provedeno pro každou bílkovinu v databázi zvlášť. Bílkovina z databáze vykazující největší shodu při použití vhodného skórovacího algoritmu identifikuje analyzovanou bílkovinu. Jinou možností identifikace bílkovin je odvodit krátký sekvenční úsek některého z peptidů přítomných v peptidové směsi na základě jeho fragmentace a použitím jiného vhodného vyhledávacího programu identifikovat bílkovinu v databázi. *De novo* sekvenování celých peptidů se pak používá, pokud selžou předchozí identifikační postupy.

2. Identifikace bílkovin hmotnostní spektrometrií

2.1. Peptidové mapování

Počátky peptidového mapování spadají do roku 1989, kdy tento přístup poprvé prezentovali Henzel a spol.¹¹. Původní Laemmliho myšlenka ukázala, že produkty štěpení bílkoviny jsou charakteristické pro analyzovanou bílkovinu a že peptidové mapování lze provádět gelovou elektroforézou¹². Henzel a spol.⁶ dále rozvedli tuto myšlenku a bílkovinné lyzáty analyzovali hmotnostní spektrometrií. Bílkoviny separované gelovou elektroforézou byly převedeny z gelu na membránu a po jejich redukci a alkylnaci byly štěpeny trypsinem nebo bromkyanem. Vzniklé peptidy byly hmotnostně-spektrometricky analyzovány sektorovým hmotnostním analyzátozem s ionizační technikou „fast atom bombardment“ (FAB). Citlivost této metody však byla malá, což zabránilo jejímu využití jako běžného nástroje pro identifikaci bílkovin.

Poté, co se začaly vyrábět první komerční přístroje typu MALDI-TOF MS, nahradila citlivější technika MALDI-TOF MS techniky dříve používané v PMF (cit.⁶), která byla současně vyvinuta i v jiných skupinách^{7–10}. Technická zlepšení TOF hmotnostní analýzy (použití zpožděné extrakce¹³

a reflektoru¹⁴) byla příčinou dalšího zvýšení citlivosti a přesnosti analýzy, což mělo za následek rozšíření techniky PMF jako hlavního nástroje pro identifikaci bílkovin na konci minulého století¹⁵.

Dřívější metody PMF prováděly štěpení bílkovin na membráně, na kterou byly přeneseny po jejich separaci gelovou elektroforézou. Později bylo ukázáno, že bílkoviny obarvené stříbrem mohou být štěpeny přímo v gelu bez nutnosti jejich přenosu na membránu a následně pak identifikovány hmotnostní spektrometrií¹⁶. Současná typická strategie identifikace bílkovin spočívá v separaci bílkovin 2D gelovou elektroforézou, redukcí v gelu, alkykací a štěpení separované bílkoviny, hmotnostně-spektrometrické analýze vzniklých peptidů a bioinformatickém zpracování získaných dat¹⁷.

Další výhodou PMF vedle citlivosti a rychlosti této metody je skutečnost, že pro vlastní analýzu se spotřebuje pouze malá část vzorku (přibližně 5–10 %). To poskytuje možnost využití dalších typů analýzy téhož vzorku (sekvenování peptidů metodou MS/MS, studium posttranslačních modifikací aj.).

2.2. Sekvenování peptidů hmotnostní spektrometrií

Již v 60. letech minulého století byly rozpoznány možnosti hmotnostní spektrometrie co se týče citlivosti a informačního obsahu ve výsledných datech¹⁸. První pokusy sekvenování peptidů hmotnostní spektrometrií s elektronovou ionizací (EI) byly provedeny již v roce 1965 (cit.^{19,20}). Tento způsob využíval informace ze štěpení malých derivatizovaných peptidů v iontovém zdroji. Zavedení ionizační techniky FAB v roce 1981 (cit.^{21,22}) zlepšilo efektivitu ionizace peptidů s vyšší molekulovou hmotností a tato technika pak byla spojena s MS/MS (cit.²³⁻²⁵). Největší vliv na rozvoj sekvenování peptidů prostřednictvím MS/MS měla komercializace ionizačních technik ESI

a MALDI. Ty jsou používány v kombinaci s mnoha konfiguracemi hmotnostních analyzátorů pro MS/MS (trojitý kvadrupól²⁶, iontová past²⁷, kvadrupól/průletový analyzátor (time-of-flight, TOF)²⁸, TOF/TOF²⁹ atd.). Tyto techniky jsou velmi citlivé a mnohé z nich mohou být automatizovány pro analýzu velkého počtu vzorků.

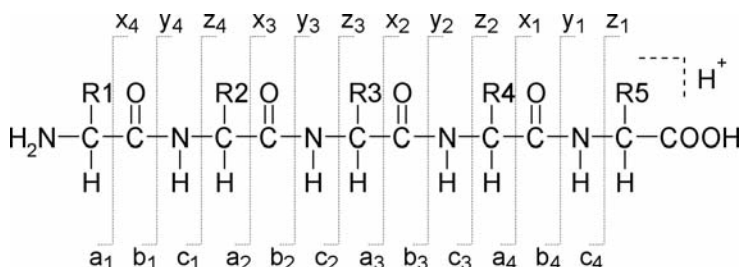
Zjištění sekvence peptidů může být provedeno nepřímou metodou PMF. Po úspěšné identifikaci bílkoviny jsou experimentální molekulové hmotnosti peptidů přiřazeny k sekvencím peptidů a tím je určena primární struktura analyzovaných peptidů. V dalším textu se pod pojmem „sekvenování peptidů hmotnostní spektrometrií“ rozumí získání informace o primární struktuře peptidu užitím informace získané z fragmentačního hmotnostního spektra.

Hlavní myšlenkou sekvenování peptidů hmotnostní spektrometrií je užití fragmentačního spektra pro získání alespoň částečné informace o primární struktuře peptidu. Ta dále s použitím bioinformatických nástrojů slouží k identifikaci bílkoviny. Důležitou skutečností je poměrně dobře definované fragmentační chování peptidů v MS/MS experimentu, kdy nejčastější typy fragmentace probíhají na peptidovém řetězci. Obzvláště při experimentech s nízkoenergetickou kolizně indukovanou disociací (CID – collision-induced dissociation) jsou nejčastějšími typy fragmentových iontů tzv. α -, b - a y -ionty (viz obr. 1 a obr. 2), spojené někdy se ztrátou malé neutrální molekuly (NH_3 , H_2O).

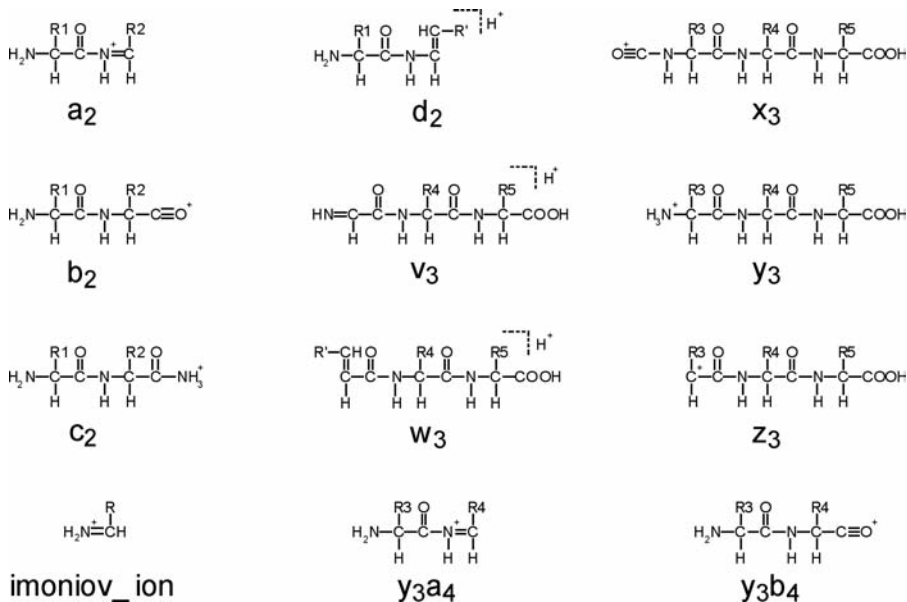
Existuje více způsobů, jak využít informaci získanou z MS/MS analýzy peptidů pro identifikaci bílkovin. Přímý způsob je interpretace fragmentačního spektra ručně a použití získané sekvenční informace k prohledávání databáze bílkovin buď jednoduchým vyhledávacím programem (např. MS-Pattern³⁰) nebo programem založeným na vyhledávání podobných sekvencí v databázi bílkovin používajícím vhodné algoritmy (např. FASTA algoritmus³¹ na

adrese³² nebo BLAST algoritmus³³ na adrese³⁴). Interpretace fragmentačních spekter není jednoduchá, ale použití těchto nástrojů je výhodné zejména v situaci, kdy sekvence analyzované bílkoviny není přítomna v databázi, ale sekvence podobné bílkoviny (např. z jiného organismu) v databázi je. Tím může být analyzovaná bílkovina identifikována na základě vysoké podobnosti s bílkovinou přítomnou v databázi.

Jiný způsob identifikace bílkovin s použitím dat z fragmentačního spektra zavedli Mann a Wilm³⁵, kteří využili skutečnosti, že většina fragmentačních spekter obsahuje krátkou a snadno stanovitelnou sekvenci fragmentových iontů identifikující krátkou sekvenci primární struktury analyzovaného peptidu. Tato částečná sekvence rozděluje peptid na tři části, kde druhou částí je částečná interpretovaná sekvence peptidu a první a třetí část jsou



Obr. 1. Struktura lineárního protonovaného peptidu a nomenklatura jeho fragmentových iontů

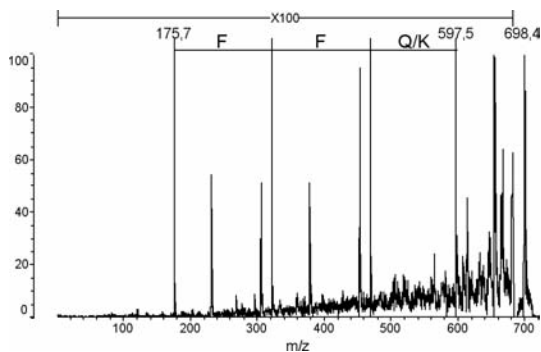


Obr. 2. Struktura fragmentových iontů lineárního protonovaného peptidu

zbývající peptidové fragmenty. Konstrukce m_1 TAG m_3 se nazývá peptidový sekvenční úsek (peptide sequence tag), kde m_1 (resp. m_3) je molekulová hmotnost prvního (resp. posledního) fragmentového iontu, na kterém začíná (resp. končí) interpretovaná krátká sekvence označená písmeny „TAG“. Peptidový sekvenční úsek spolu s molekulovou hmotností rodičovského iontu poskytuje specifickou informaci o analyzovaném peptidu. Bílkovinná databáze je pak prohledávána s použitím této specifické informace. Každý peptid odpovídající specifické enzymu a molekulové hmotnosti analyzovaného peptidu ve specifikované toleranci je testován na přítomnost identifikovaného úseku v sekvenci peptidu na pozici dané údaji m_1 a m_3 (příčemž je obvykle testována možnost jak pro sérii b-iontů, tak γ -iontů). Pro jednoznačnou identifikaci bílkoviny obvykle stačí, když je interpretovaný sekvenční úsek delší než dvě aminokyseliny.

Příklad fragmentačního spektra s krátkou interpretovanou sekvencí analyzovaného peptidu je ukázán na obr. 3. Peptidový sekvenční úsek získaný vyhodnocením tohoto spektra byl zadán do vyhledávacího databázového programu PeptideSearch³⁶. Výsledkem byla jednoznačná identifikace β -amylasy z ječmene.

Jedním z proteomických nástrojů v souboru programů Protein Prospector³⁷ je program nazývaný MS-Tag (cit.³⁸), který byl původně vyvinut Clauserem a Bakerem³⁹ pro interpretaci PSD spekter, jež obvykle neobsahují dostatečné množství informace pro kompletní *de novo* sekvenaci peptidu, ale stále je v nich dost specifické informace pro identifikaci bílkoviny databázovým vyhledáváním. Program vybírá z databáze peptidy vzniklé teoretickým štěpením zvoleným enzymem a současně odpovídající teoretickou molekulovou hmotností ve zvoleném rozsahu experimentální hodnotě molekulové hmotnosti peptidu. Peptid, který toto splňuje, je teoreticky fragmentován a experimentálně získané hmotnosti fragmentových iontů jsou porovnány s takto vytvořeným seznamem teoretických hodnot. Výsledkem databázového hledání je seznam bílkovin, jež prošly všemi omezujícími kritérii (včetně počtu odpovídajících identifikovaných fragmentových iontů). Tento seznam je seřazen podle nejmenšího počtu neidentifikovaných fragmentových iontů a za identifikovanou bílkovinu je považována bílkovina umístěná na prvním místě. Je-li kvalita fragmentačního spektra dostatečná, bílkovina je přítomna v databázi a vyhledávací parametry jsou správně nastaveny, pak je bílkovina identifikována



Obr. 3. PSD fragmentační spektrum trypsinového peptidu bílkoviny extrahované vodou z obilky ječmene (*Hordeum vulgare L.*) a separované za použití 1D gelové elektroforézy; v horní části obrázku je znázorněn interpretovaný sekvenční úsek analyzovaného peptidu

jednoznačně. Aplikací programu MS-Tag na data získaná z fragmentačního spektra na obr. 3 byla opět identifikována β -amylasa.

Současná verze programu MS-Tag může interpretovat nejen data z PSD experimentu, ale i výsledky získané jinými fragmentačními technikami. MS-Tag lze též použít v případě, kdy spektrum obsahuje dostatečné množství informace pro interpretaci *de novo*; je však třeba, aby homologický peptid byl přítomen v databázi.

Sofistikovaný program SEQUEST využívá pro databázové vyhledávání vzájemné korelace mezi experimentálním a teoretickým fragmentačním spektrem vytvořeným ze sekvence peptidu přítomného v databázi^{40,41}. Tento program nejprve zjednoduší experimentální fragmentační spektrum, aby nedocházelo k nesprávným identifikacím bílkovin. Maximální počet piků v experimentálním fragmentačním spektru je 200 a tento seznam je v prvním vyhledávacím kole porovnáván s teoretickými seznamy fragmentových iontů peptidů v databázi, které navíc mají odpovídající enzymovou specifitu a molekulovou hmotnost. Peptidy jsou ohodnoceny zjednodušeným skórovacím algoritmem, který závisí na součtu intenzit iontů, souvislosti iontů v identifikované sekvenci a podílu identifikovaných fragmentových iontů. Pro každou z 500 sekvencí peptidů s nejvyšším skóre po prvním kole vyhledávání je vytvořeno teoretické fragmentační spektrum (odvozené podle speciálních pravidel), které je pak vzájemně korelováno s upraveným experimentálním fragmentačním spektrem rychlou Fourierovou transformací. Výsledné skóre pak popisuje, jak je experimentální spektrum podobné spektru odvozenému teoreticky pro určitou peptidovou sekvenci.

Program SEQUEST byl původně navržen pro analýzu fragmentačních spekter nízkoenergetických CID experimentů^{40,42,43}. Program byl dále upraven též pro analýzu spekter z analýzy PSD (cit.⁴⁴), vysokoener-

getických CID analýz⁴⁵ a pro identifikaci modifikovaných peptidů^{42,44,46}. Nevýhodou je, že skórovací algoritmus neposkytuje žádnou absolutní míru spolehlivosti výsledku identifikace, což nakonec vyžaduje přítomnost pracovníka posuzujícího relevantnost výsledků. Řešením této situace může být např. aplikace skórovací rutiny (SEQUEST-NORM) normalizující XCorr hodnoty pro jejich nezávislost na délce sekvence peptidu a velikosti použité databáze⁴⁷ nebo použití neuronových sítí spolu s vhodným statistickým modelem⁴⁸.

3. Bioinformatika

Obrovská množství experimentálních dat vyžadují sofistikované metody pro jejich interpretaci. Současný rychlý rozvoj v oblasti informatiky umožňuje provádět analýzy, které by ještě před několika lety nebyly možné.

Pro identifikaci bílkovin jsou nejdůležitějším zdrojem databáze DNA a bílkovinných sekvencí, které jsou využívány různými vyhledávacími programy. Existují tři druhy databází: primární nukleotidové sekvenční databáze, komplexní databáze sekvencí bílkovin a administrované databáze sekvencí bílkovin. Příkladem nukleotidové sekvenční databáze je GenBank⁴⁹. Tato databáze je z větší části výsledkem přímého vložení nukleotidových sekvencí jednotlivými experimentátory. Další sekvence v databázi jsou získány z vědecké literatury. Přímé vkládání sekvencí do databáze způsobuje rychlý růst její velikosti, ale cenou za to je poměrně vysoká četnost chyb. Primárně zodpovědnými osobami za editaci a opravu sekvenčních dat jsou sami experimentátoři vkládající odpovídající data do databáze. TrEMBL (cit.⁵⁰) je příklad komplexní databáze bílkovin sestavené překladem nukleotidové sekvenční databáze. Databáze TrEMBL je částečně odlišná od jiných databází téhož typu, neboť slouží jako dočasný archiv před vložení dané

položky do bílkovinné databáze SwissProt⁵⁰. SwissProt je dobrým příkladem administrované databáze sekvencí bílkovin. Jednotlivé položky pro databázi SwissProt jsou vyhodnocovány skupinou vědců předtím, než jsou do této databáze vloženy. To má sice za následek nízký celkový počet sekvencí v databázi, ale výhodou zůstává nízká chybovost a nadbytečnost dat a vysoký stupeň anotace jednotlivých položek.

3.1. Databázové vyhledávací programy

Databázové vyhledávací programy jsou různé programy, které akceptují na vstup experimentální data (event. zpracovaná) a při průchodu vybranou databází specificky porovnávají tato vstupní data s každou položkou v databázi. Položky, které splňují určitá kritéria, jsou vypsány na výstup jako výsledek programu.

Existují tři hlavní kategorie databázových vyhledávacích programů pro identifikaci bílkovin. Jsou to programy využívající jakožto vstup pro databázové vyhledávání:

- molekulové hmotnosti peptidů,
- hmotnosti fragmentových iontů z fragmentačního spektra,
- interpretované sekvence aminokyselin.

Tabulka 1 ukazuje přehled některých webových adres s různými volně dostupnými programy pro identifikaci bílkovin.

3.2. Skórovací algoritmy pro identifikaci bílkovin peptidovým mapováním

Nedílnou součástí databázových vyhledávacích programů je skórovací schéma, které funguje jako kritérium pro správné seřazení databázových výsledků podle míry spolehlivosti identifikace bílkoviny. Obzvláště důležité je použití vhodného skórovacího algoritmu v programu identifikujícím bílkoviny PMF. Nejjednodušším kritériem při identifikaci bílkovin pomocí PMF je počet identifikovaných peptidů z experimentálních hodnot ve srovnávané primární struktuře bílkoviny v databázi (čím vyšší počet nalezených peptidů, tím spolehlivější je identifikace bílkoviny)^{6,7,9,10}. Tento typ skórovacího algoritmu je však v mnoha případech nedostačující. Pro spolehlivou identifikaci bílkoviny je v tomto případě nutné, aby se v hmotnostním spektru vyskytovaly signály mnoha peptidů z dané bílkoviny, což v případě nízkomolekulárních bílkovin často není ani teoreticky možné. Často pak dochází k situacím, kdy výsledek databázového vy-

Tabulka 1

Databázové vyhledávací programy dostupné na internetu

Název programu	Typ programu	Internetová adresa
Protein Prospector (http://prospector.ucsf.edu)		
MS-Fit	PMF	http://prospector.ucsf.edu/ucsfhtml4.0/msfit.htm
MS-Tag	MS/MS	http://prospector.ucsf.edu/ucsfhtml4.0/mstagfd.htm
MS-Seq	TAG	http://prospector.ucsf.edu/ucsfhtml4.0/msseq.htm
MS-Pattern	TAG	http://prospector.ucsf.edu/ucsfhtml4.0/mspattern.htm
Mascot (http://www.matrixscience.com)		
PMF	PMF	http://www.matrixscience.com/cgi/search_form.pl?FORMVER=2&SEARCH=PMF
MS/MS Ion Search	MS/MS	http://www.matrixscience.com/cgi/search_form.pl?FORMVER=2&SEARCH=MIS
Sequence Query	TAG	http://www.matrixscience.com/cgi/search_form.pl?FORMVER=2&SEARCH=SQ

Tabulka I (pokračování)

Název programu	Typ programu	Internetová adresa
		PeptideSearch (http://www.narrador.embl-heidelberg.de/GroupPages/PageLink/peptidesearchpage.html)
Peptide Search	PMF	http://www.narrador.embl-heidelberg.de/GroupPages/PageLink/peptidesearch/Services/PeptideSearch/FR_PeptideSearchFormG4.html
Peptide Pattern	TAG	http://www.narrador.embl-heidelberg.de/GroupPages/PageLink/peptidesearch/Services/PeptideSearch/FR_PeptidePatternFormG4.html
Sequence Only	TAG	http://www.narrador.embl-heidelberg.de/GroupPages/PageLink/peptidesearch/Services/PeptideSearch/FR_SequenceOnlyFormG4.html
		PROWL (http://prowl.rockefeller.edu)
ProFound	PMF	http://prowl.rockefeller.edu/profound_bin/WebProFound.exe
PepFrag	MS/MS	http://prowl.rockefeller.edu/prowl/pepfragch.html
		ExPASy (http://www.expasy.org/tools)
Aldente	PMF	http://www.expasy.org/tools/aldente
Popitam	MS/MS	http://www.expasy.org/tools/popitam
TagIdent	TAG	http://www.expasy.org/tools/tagident.html
Multident	TAG PMF	http://www.expasy.org/tools/multiident
		Některé další programy
Phenyx	MS/MS	http://phenyx.vital-it.ch/pwi
OMSSA	MS/MS	http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/omssa
GFS	PMF MS/MS	http://gfs.unc.edu
PepMAPPER	PMF	http://wolf.bms.umist.ac.uk/mapper
FASTA	TAG	http://fasta.bioch.virginia.edu
BLAST	TAG	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast

PMF – program využívající molekulové hmotnosti peptidů, MS/MS – program využívající hmotnosti fragmentových iontů z fragmentačního spektra, TAG – program využívající interpretované sekvence aminokyselin

hledávání obsahuje pouze spoustu náhodných identifikací bílkovin poskytujících velké množství teoretických peptidů, což pak značně ztěžuje proces identifikace.

Dobry skórovací algoritmus, který bere do úvahy přirozené vlastnosti bílkovin, byl poprvé použit v programu MOWSE (cit.⁸). Základem skórovací funkce je matice (f_{ij})

přiřazená zvláště pro určitý enzym a zvolenou databázi. Řádky této matice představují 10 kDa intervaly pro molekulové hmotnosti intaktních bílkovin a sloupce pak 100 Da intervaly pro molekulové hmotnosti peptidů vzniklých štěpením bílkovin v databázi zvoleným enzymem. Hlavním důvodem pro seskupení molekulových hmotností peptidů

tímto způsobem je různá četnost těchto hmotností pro jejich různé hodnoty (nízkomolekulární peptidy jsou četnější než vysokomolekulární), která je také navíc závislá na molekulové hmotnosti bílkoviny. Frekvenční hodnota prvku matice ($F_{i,j}$) je spočítána jako podíl počtu peptidů v odpovídajícím prvku matice ($N_{i,j}$) a součtu všech peptidů pro celý 10 kDa interval molekulové hmotnosti bílkoviny (suma všech hodnot v řádku matice, $\sum_j N_{i,j}$):

$$(F_{i,j}) = \frac{N_{i,j}}{\sum_j N_{i,j}}$$

Tyto frekvenční hodnoty prvků matice jsou pak pro každý 10 kDa interval (řádek matice) normalizovány vzhledem k největší frekvenční hodnotě prvků matice $F_{i,\max} = \max_j F_{i,j}$ a výsledek pro každý prvek matice je $f_{i,j} = F_{i,j} / F_{i,\max}$, což je reálné číslo mezi 0 a 1. Vlastní databázové vyhledávání probíhá následovně: každá položka v databázi (tj. molekulové hmotnosti peptidů teoreticky naštípané sekvence bílkoviny) je porovnána s naměřenými daty. Experimentální hmotnosti peptidů neodpovídající žádné teoretické hodnotě jsou ignorovány. Pro každou experimentální molekulovou hmotnost odpovídající některé z teoretických molekulových hmotností peptidů porovnávané bílkoviny je přiřazena normalizovaná frekvenční hodnota odpovídajícího prvku v matici ($f_{i,j}$) a tyto hodnoty jsou navzájem vynásobeny, což poskytuje součin P_n . Konečná hodnota výsledného skóre je získána jako převrácená hodnota součinu P_n s následnou normalizací tohoto výsledku na bílkovinu o molekulové hmotnosti 50 kDa za účelem redukce náhodné akumulace skóre při porovnávání se sekvencemi vysokomolekulárních bílkovin (M označuje molekulovou hmotnost v kDa aktuálně porovnávané bílkoviny v databázi):

$$\text{skóre} = \frac{50}{P_n \times M}$$

Hlavní předností tohoto skórovacího algoritmu je, že dává peptidům s vyšší molekulovou hmotností větší skórovací váhu a kompenzuje nenáhodné distribuce molekulových hmotností peptidů v bílkovinách o různé molekulové hmotnosti.

Skórovací schéma MOWSE pro PMF metodu je poměrně rozšířené. Program MS-Fit (cit.⁵¹) v Protein Prospectoru³⁷ používá toto schéma v částečně pozmeněné formě⁵². Skórovací matice je vypočtena poté, kdy jsou již na databázi aplikována kritéria pro druh organismu a rozsah možné molekulové hmotnosti identifikované bílkoviny. Matice má 11 intervalů pro molekulovou hmotnost bílkoviny (10 intervalů po 10 kDa až do molekulové hmotnosti 100 kDa, 11. interval je určen pro všechny molekulové hmotnosti bílkovin nad 100 kDa) a 30 intervalů pro molekulové hmotnosti peptidů (pro 100 Da intervaly až do 3000 Da; peptidy s vyšší molekulovou hmotností se nezapočítávají). Peptidy bez vynechaného štěpného místa ve struktuře přispívají faktorem 1, zatímco peptidy mající nějaká vynechaná štěpná místa přispívají faktorem nazývaným „pfactor“, který zadává uživatel. Nalezené peptidy se pak dělí do dvou skupin: skórující peptidy (např. nemo difikované peptidy) a neskórující peptidy (např. peptid s oxidovaným methioninem a tentýž peptid bez oxidovaného methioninu nebyl nalezen). Výsledné skóre se pak již počítá stejným způsobem jako v případě algoritmu MOWSE.

Jiným široce používaným programem PMF je Mascot Peptide Mass Fingerprinting⁵³ v souboru programů nazývaném Mascot⁵⁴. Cílem skórovacího algoritmu v Mascot PMF je poskytnout jednoduché pravidlo, které umožní rozhodnout, zda je výsledek identifikace relevantní či nikoliv. Dále by měl poskytnout hodnotu skóre, jež by se dala srovnat s výsledky aplikace jiných databázových vyhledávacích nástrojů a která by též sloužila k optimalizaci parametrů databázového vyhledávání. Program PMF

Mascot používá pravděpodobnostní skórovací systém MOWSE. Algoritmus je založen na výpočtu pravděpodobnosti P , že pozorovaná shoda mezi experimentálními hodnotami a teoretickými hodnotami posuzované bílkoviny v databázi je náhodná událost⁵⁵. Jako významné se považují hity s pravděpodobností P nižší než 0,05. Z praktických důvodů (např. pro lepší shodu mít vyšší skóre) je celkové skóre udáváno jako $-10 \log_{10} P$. Detailnější popis skórovacího algoritmu nebyl publikován.

Dalším z řady PMF identifikačních programů je ProFound (cit.⁵⁶) na adrese programového komplexu PROWL (cit.⁵⁷). Skórovací algoritmus ProFoundu používá výpočet bayesovské pravděpodobnosti, že porovnávaná bílkovina z databáze je analyzovanou bílkovinou v experimentu⁵⁸. Tato pravděpodobnost je počítána za následujících předpokladů: 1) analyzovaná bílkovina je přítomná v databázi; 2) všechny detegované ionty ve spektru pocházejí z enzymatického štěpení analyzované bílkoviny; 3) náhodná shoda experimentální a teoretické molekulové hmotnosti peptidu se neuvažuje, všechny shody jsou považovány jako shody s teoreticky předpovězenými peptidy. Pravděpodobnost hypotézy, že „bílkovina k je analyzovanou bílkovinou“ za podmínky daných experimentálních dat D a okolních informací I (volby databázového vyhledávání), je dána následující rovnicí⁵⁸:

$$P(k|DI) \mu P(k|I) \frac{(N-r)!}{N!} \prod_{i=1}^r \left[\sqrt{\frac{2}{\pi}} \frac{m_{\max} - m_{\min}}{\sigma_i} \right] \times \sum_{j=1}^{s_i} \exp \left[-\frac{(m_i - m_{j0})^2}{2\sigma_i^2} \right] \Bigg\}_{F_{\text{vzorec}}}$$

s normalizační podmínkou

$$\sum_{k \in \text{databáze}} P(k|DI) = 1$$

kde $P(k|I)$ je pravděpodobnost hypotézy k za dané okolní informace I ; N je teoretický počet peptidů generovaných z bílkoviny k enzymem použitým v experimentu; r je počet nalezených peptidů; $m_{\max} - m_{\min}$ je rozsah naměřených molekulových hmotností peptidů; m_i je naměřená molekulová hmotnost i -té shody s násobností g_i (počet teoretických peptidů odpovídajících m_i); m_{j0} je vypočtená molekulová hmotnost j -tého peptidu v i -té shodě; s_j je standardní odchylka měření molekulové hmotnosti o hodnotě m_j a F_{vzorec} empirický člen zvyšující pravděpodobnost v případech, že byly pozorovány překrývající se nebo po sobě jdoucí peptidy. Na základě pravděpodobnostní hodnoty pro každou bílkovinu v databázi ProFound spočítá tzv. skóre Z , které určuje, jak významně se identifikovaná bílkovina liší od identifikace prostřednictvím náhodných shod molekulových hmotností v databázi⁵⁹.

Tato práce byla podpořena prostředky výzkumného centra MŠMT 1M06030 „Funkční genomika a proteomika rostlin“.

LITERATURA

1. Whitehouse C. M., Dreyer R. N., Yamashita M., Fenn J. B.: *Anal. Chem.* 57, 675 (1985).
2. Karas M., Hillenkamp F.: *Anal. Chem.* 60, 2299 (1988).
3. Fenn J. B., Mann M., Meng C. K., Wong S. F., Whitehouse C. M.: *Science* 246, 64 (1989).
4. Karas M., Bachmann D., Bahr U., Hillenkamp F.: *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* 78, 53 (1987).
5. Tanaka K., Waki H., Ido Y., Akita S., Yoshida Y., Yoshida T.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2, 151 (1988).
6. Henzel W. J., Billeci T. M., Stults J. T., Wong S. C., Grimley C., Watanabe C.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90, 5011 (1993).
7. Mann M., Hojrup P., Roepstorff P.: *Biol. Mass Spectrom.* 22, 338 (1993).
8. Pappin D. J. C., Hojrup P., Bleasby A. J.: *Curr. Biol.* 3, 327 (1993).
9. James P., Quadroni M., Carafoli E., Gonnet G.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 195, 58 (1993).
10. Yates J. R., Speicher S., Griffin P. R., Hunkapiller T.: *Anal. Biochem.* 214, 397 (1993).
11. Henzel W. J., Stults J. T., Watanabe C.: *Proceedings of the Third Symposium of the Protein Society*. Seattle 1989.
12. Cleveland D. W., Fischer S. G., Kirschner M. W., Laemmli U. K.: *J. Biol. Chem.* 252, 1102 (1977).
13. Vestal M. L., Juhasz P., Martin S. A.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 9, 1044 (1995).
14. Mamyrin B. A.: *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* 131, 1 (1994).
15. Henzel W. J., Watanabe C., Stults J. T.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 14, 931 (2003).
16. Shevchenko A., Wilm M., Vorm O., Mann M.: *Anal. Chem.* 68, 850 (1996).
17. Jensen O. N., Wilm M., Shevchenko A., Mann M., v knize: *Methods in Molecular Biology: 2-D Proteome Analysis Protocols* (Link A. J., ed.), kap. 52. Humana Press, Totowa 1999.
18. Bieman K.: *Ann. Rev. Biochem.* 32, 755 (1963).
19. Barber M., Jolles P., Vilkas E., Lederer E.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 18, 469 (1965).
20. Barber M., Wolstenholme W. A., Guinand M., Michel G., Das B. C., Lederer E.: *Tetrahedron Lett.* 6, 1331 (1965).
21. Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D., Tyler A. N.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 7, 325 (1981).
22. Morris H. R., Panico M., Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D., Tyler A.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 101, 623 (1981).
23. Desiderio D. M., Katakuse I.: *Anal. Biochem.* 129, 425 (1983).
24. Tomer K. B., Crow F. W., Gross M. L., Kopple K. D.: *Anal. Chem.* 56, 880 (1984).
25. Hunt D. F., Yates J. R., Shabanowitz J., Winston S., Hauer C. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83, 6233 (1986).
26. Haller I., Mirza U. A., Chait B. T.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 7, 677 (1996).
27. Jonscher K. R., Yates J. R.: *Anal. Biochem.* 244, 1 (1997).
28. Shevchenko A., Loboda A., Shevchenko A., Ens W., Standing K. G.: *Anal. Chem.* 72, 2132 (2000).
29. Medzihradzky K. F., Campbell J. M., Baldwin M. A., Falick A. M., Juhasz P., Vestal M. L., Burlingame A. L.: *Anal. Chem.* 72, 552 (2000).
30. <http://prospector.ucsf.edu/ucsfhtml4.0/mspattern.htm>, staženo 16. září 2006.
31. Pearson W. R., Lipman D. J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85, 2444 (1988).
32. <http://fasta.bioch.virginia.edu>, staženo 16. září 2006.
33. Altschul S. F., Gish W., Miller W., Myers E. W., Lipman D. J.: *J. Mol. Biol.* 215, 403 (1990).
34. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>, staženo 16. září 2006.
35. Mann M., Wilm M.: *Anal. Chem.* 66, 4390 (1994).
36. http://www.narrador.embl-heidelberg.de/GroupPages/PageLink/peptidesearch/Services/PeptideSearch/FR_PeptidePatternFormG4.html, staženo 16. září 2006.
37. <http://prospector.ucsf.edu>, staženo 16. září 2006.
38. <http://prospector.ucsf.edu/ucsfhtml4.0/mstagfd.htm>, staženo 16. září 2006.
39. Clauser K. R., Baker P., Burlingame A. L.: *Anal. Chem.* 71, 2871 (1999).
40. Eng J. K., McCormack A. L., Yates J. R.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 5, 976 (1994).
41. <http://fields.scripps.edu/sequist>, staženo 16. září 2006.
42. Yates J. R., Eng J. K., McCormack A. L., Schieltz D.: *Anal. Chem.* 67, 1426 (1995).
43. Yates J. R., Eng J. K., McCormack A. L.: *Anal. Chem.* 67, 3202 (1995).

44. Griffin P. R., MacCoss M. J., Eng J. K., Blevins R. A., Aaronson J. S., Yates J. R.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 9, 1546 (1995).
45. Yates J. R., Eng J. K., Clauser K. R., Burlingame A. L.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 7, 1089 (1996).
46. Yates J. R., Morgan S. F., Gatlin C. L., Griffin P. R., Eng J. K.: *Anal. Chem.* 70, 3557 (1998).
47. MacCoss M. J., Wu C. C., Yates J. R.: *Anal. Chem.* 74, 5593 (2002).
48. Razumovskaya J., Olman V., Xu D., Uberbacher E. C., VerBerkmoes N. C., Hettich R. L., Xu Y.: *Proteomics* 4, 961 (2004).
49. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>, staženo 16. září 2006.
50. <http://www.expasy.org/sprot/>, staženo 16. září 2006.
51. <http://prospector.ucsf.edu/ucsfhtml4.0/msfit.htm>, staženo 16. září 2006.
52. <http://prospector.ucsf.edu/ucsfhtml4.0/instruct/fitman.htm#scoring>, staženo 16. září 2006.
53. http://www.matrixscience.com/cgi/search_form.pl?FORMVER=2&SEARCH=PMF, staženo 16. září 2006.
54. http://www.matrixscience.com/search_form_select.html, staženo 16. září 2006.
55. Perkins D. N., Pappin D. J. C., Creasy D. M., Cottrell J. S.: *Electrophoresis* 20, 3551 (1999).
56. http://prowl.rockefeller.edu/profound_bin/WebProFound.exe, staženo 16. září 2006.
57. <http://prowl.rockefeller.edu>, staženo 16. září 2006.
58. Zhang W. Z., Chait B. T.: *Anal. Chem.* 72, 2482 (2000).
59. <http://129.85.19.192/profound/zscore.pdf>, staženo 16. září 2006.

Článek byl převzat se svolením autorů a redakce časopisu *Chem. Listy* 101, 279-286 (2007).

<http://www.febs-iubmb-2008.org>

<http://www.febs-iubmb-2008.org>

<http://www.febs-iubmb-2008.org>

CELOSVĚTOVÝ KONGRES ISOBM POP RVÉ V ČESKÉ REPUBLICE

Ve dnech 15. – 19. září 2007 se v Praze konal celosvětový kongres Mezinárodní společnosti pro nádorově-vývojovou medicínu a biologii (International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine – ISOBM). Tato společnost vznikla v počátku 70. let minulého století jako reakce na objev tzv. onkofetálních a carcinoembryonálních antigenů, které sehrály v dalších letech zásadní roli v biochemickém monitorování pacientů se zhoubnými nádory. Zvýšení jejich obsahu v krvi pacienta totiž umožňovalo s předstihem odhalit po úspěšné operaci, ozáření či chemoterapii zatím klinicky něnou recidivu či metastázu zhoubného nádoru a závčas zahájit její léčbu. Dnes se pro tyto látky používá obecnější název nádorové markery (Tumor Markers, TM).

První sjezd se konal v roce 1973 v Sapporu v Japonsku ještě pod názvem International Research Group for Carcino-Embryonic Proteins, označení ISOBM vzniklo až koncem 70. let. Pražský kongres byl v pořadí již 35. a dle vyjádření většiny účastníků byl velmi úspěšný. Jeho presidentem byl prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc, MBA, děkan I. lékařské fakulty UK v Praze.

Počet účastníků kongresu se blížil třem stům a mimo Evropu bylo nejvíce hostů z Ameriky a Asie, odkud bylo zastoupeno zejména Japonsko. Program kongresu byl velmi intenzivní.

Proběhlo šest plenárních přednášek, nesmírně zajímavá byla přednáška prof. Seitze z Heidelbergu, který jasně konstatoval, že alkohol je kancerogen, zvláště pokud je kombinován s kouřením cigaret. Je nutno však konstatovat, že to účastníkům nevzalo chuť k ochutnávání českého piva a moravského vína. Přednáška prof. Sella

z Albany, USA byla věnována kmenovým buňkám a jejich úloze při kancerogenezi a terapii nádorů. Prof. Duffy z Irska se věnoval personalizovanému přístupu k terapii nádorů – jde o to „ušíť“ pacientovi na míru vhodnou terapii, která by co nejvíce zastavila růst nádoru a co nejméně poškodila pacienta. Prof. Duke-Cohan se věnoval molekule attractinu a jeho vztahu k neurodegeneracím a vzniku mozkových nádorů – gliomů. Přednáška prof. Masopusta z Prahy, „klasika“ z oblasti výzkumu jednoho z prvních onkofetálních antigenů, alfa-I-fetoproteinu, nemohla být věnována jinému tématu a byla přijata s velkou pozorností. Velký úspěch sklídila rovněž přednáška historika medicíny prof. Strouhala o archeologických nálezích maligních nádorů v Evropě a starém Egyptě.

V době trvání kongresu se konalo 22 specializovaných symposií, dva bloky volných sdělení a 7 posterových sekcí a jeden workshop. Program byl vyváženě věnován jak zhodnocení klinických aspektů a zkušeností s použitím tumor markerů v onkologii, tak základnímu výzkumu v oblasti zhoubných nádorů, což většina účastníků hodnotila vysoce pozitivně. Symposia z oblasti spíše experimentální byla věnována například dipeptidylpeptidase IV (prof. Šedo a prof. Duke.Cohan), transketolase I (prof. zur Hausen a Dr. Coy) či experimentální terapii nádorů (prof. Říhová). Na hranici mezi experimentálním a klinickým výzkumem se pohybovalo symposium věnované metodám vyhledávání nových nádorových markerů (prof. Fritsche – Omics and cancer), cirkulujícím nádorovým buňkám (rovněž prof. Fritsche) nebo methylovaným genům (prof. Duffy). Také symposium Cancer and stem cells signaling (prof. Sell) se pohy-

bovalo na hranici základního a aplikovaného výzkumu. Velmi zajímavé byla symposia věnovaná leukemogenesi (prof. Michalová, prof. Haas) a epigenetice a organizaci chromatinu u karcinomových buněk (prof. Imai, prof. Laird). Klinicky orientovaná symposia byla věnována urologickým nádorům (prof. Semjonow a prof. Stenman), kolorektálním nádorům (prof. Lamerz, prof. Molina) a nádorům prsu (Her-2/neu oncoprotein in breast cancer – prof. Molina). Samostatná symposia byla věnována nejvýznamnějším nádorovým markerům, například lidskému choriovému gonadotropinu – (HCG and cancer, prof. Stenman a prof. Lamerz), cytokeratinům (prof. Baraková), thymidinkinase (prof. Topolčan) a metalothioneinům (prof. Průša). Velká pozornost byla věnována kontrole kvality stanovení nádorových markerů (symposium prof. Sturgeonové).

Samostatné symposium bylo věnované aktivitám Evropské pracovní skupiny pro tumor markery (EGTM – prof. Bonfrer).

Kongres měl i bohatý společenský program. Gala večer byl oživen mimo vystoupení našich umělců i hudební produkcí prof. Sella (saxofon) a zejména japonské delegace, která předvedla ukázkou tradičního japonského tance a zazpívala samurajské písně. Účastníky velmi zaujal koncert ve starobylém Karolinu a také výlet na zámek Jemniště, provázený nádherným slunečným podzimním počasím.

Je možno konstatovat, že tento kongres se mimořádně vydařil a byl dobrou reklamou nejen pro českou vědu, ale i pro Prahu a celou Českou republiku.

Ivan M. Malbohan
Praha 17. 10. 2007

ZPRÁVA O SYMPOSIU BIOBIO 07

Symposium „4th Symposium on Biosorption and Bioremediation“ se konalo v Praze 26.-30. srpna 2007 v hotelu Moevenpick na Smíchově. Tato konference se konala již počtvrté od roku 1995 a opět se zde sešli významní odborníci v oblasti výzkumu remediace anorganických i organických látek pomocí biologických systémů.

Celosvětově je velká pozornost věnována ochraně znečištěného prostředí a likvidaci starých zátěží, avšak v osmdesátých a především v devadesátých letech se zcela reálně začínalo uvažovat o využití živých organismů a jejich potenciálu pro akumulaci a degradaci xenobiotik. S tím souvisí i zájem vědeckých odborníků o tento typ konferencí. Ovšem je nutné dodat, že zatímco v roce 1995 byla tato tematika jako jedna z mála předmětem mezinárodního symposia, v dnešní době je každoročně po celém světě pořádáno až několik desítek konferencí v oblasti bioremediací,

biodegradací xenobiotik, biologických likvidací starých zátěží atd.

V letošním roce se konference zúčastnilo 88 účastníků, byly zastoupeny většinou evropské země, nicméně vyskytli se účastníci i z Mexika, Spojených Států, Izraele, Japonska, Egypta a Indie. V této souvislosti je nutné připomenout, že i zásluhou stipendia organizace FEMS (Federace evropských mikrobiologických společností) se mohli kromě evropských účastníků konference i někteří studenti, právě z USA a Mexika. Českých účastníků bylo 39, potěšitelná je účast velkého množství mladých kolegů včetně studentů postgraduálního studia i z mimopražských universit a výzkumných ústavů.

Vědecký program symposia byl rozdělen na 5 sekcí. V rámci těchto sekcí bylo prosloveno 33 přednášek, z nich 9 bylo prezentováno jako „key note“ příspěvky. Úvodní přednášku proslovila prof. Donna Bedard z Department of Biology, Rensselaer

Polytechnic Institute, která je již od osmdesátých let jedním z předních environmentálních mikrobiologů a v současné době se věnuje anaerobní dehalogenaci a bakteriálnímu rodu *Dehalococcoides*. Kromě této vědecké přednášky vystoupili v úvodním programu i prof. Eliora Ron, představitelka FEMS, Dr. Piet Lens – předseda Evropské společnosti pro environmentální biotechnologii a člen výboru Evropské biotechnologické federace (EFB) a prof. Ulrich Stottmeister – předseda ISEB (Mezinárodní společnost pro environmentální biotechnologii), s informacemi o vědeckých společnostech, které reprezentují, o jejich programu a výsledcích.

První vědeckou sekcí byla sekce o biosorpci a bioakumulaci těžkých kovů. Úvodní přednášku proslavil prof. L. Diels (VITO, Belgie), který hovořil o perspektivách biologické akumulace a sorpce a jejich využití pro prostředí znečištěné těžkými kovy a jejich sloučeninami. Dr. P. Kotrba z VŠCHT upoutal účastníky svým příspěvkem o úpravě povrchových struktur kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, která vede

ke stimulaci a k vyšší akumulaci těžkých kovů. Příležitost byla dána i mladým vědcům, kteří proslavili dvě krátké přednášky.

Další, a pravděpodobně největší sekcí, byla sekce zahrnující příspěvky o biodegradacích persistentních organických sloučenin. V rámci této sekce byly proslaveny dvě „key-note“ přednášky. Dr. A. Singer (Oxford, UK) hovořil o podstatě biodegradací a schopnostech živých organismů metabolizovat xenobiotika, Dr. D. Pieper (Braunschweig, Německo) – mezinárodně uznávaný odborník na genetiku biodegradčních bakterií se zabýval významem diversity degradačních drah pro degradaci aromatických xenobiotik. Kromě těchto dvou odborníků proslavili přednáškou např. Doc. K. Dercová (Bratislava), nebo prof. F. Fava z Boloně. Opět i dva mladé vědecké pracovnice přispěly krátkou přednáškou do programu této sekce – z Irsko to byla E. Brennan a z Prahy Dr. K. Frančová.

Velmi silně obsazenou sekcí byla sekce „Fytoremediace a rhizoremediace“, „key-note“ přednášku proslavili tři odborníci – Dr. J.-P. Schwitzguebel ze Švýcarska hovořil



Obrázek 1. Přednáška Ing. Jana Rezka o produktech polychlorovaných bifenylyů v rostlinách.

o fytořemediaci pesticidů, prof. D. Dowling (Carlow, Irsko) se soustředil na fytořemediaci PCB a dalších aromatických xenobiotik. Vedle rostlin ve své přednášce vyzdvihl i funkci a význam rhizosferních mikroorganismů, které, jak se v poslední době ukazuje, hrají nezastupitelnou úlohu v biodegradacích, a to, jak díky svým unikátním schopnostem degradovat nejrůznější xenobiotika, tak i schopností podporovat rostliny z hlediska výživových nároků. Přednáška prof. N. C. Bruce (Cambridge, UK) se týkala látek, které kontaminují lokality, kde operuje především armáda, a jsou taktéž předmětem značného zájmu environmentálních mikrobiologů a biologů, a to výbušnin jako je např. trinitrotoluen. Prof. N. Bruce byl jedním z prvních, kdo se začal zabývat možností využití geneticky modifikovaných rostlin pro účely dekontaminace prostředí a vnášení cizorodých především bakteriálních genů do rostlin. Strategie, postup a výsledky jeho práce v této oblasti byly předmětem i jeho přednášky na konferenci.

Nezbytnou součástí kontroly znečištění našeho prostředí je nejen kontrola aktuálních koncentrací látek vyskytujících se v prostředí, ale i jejich skutečný dopad na přírodu a organismy, které jsou působení škodlivých látek vystaveny. Tato část je zahrnuta v oblasti, která se zabývá měřením ekotoxicity. I tomuto tematu byla věnována jedna sekce konference. Ta byla zahájena přednáškou prof. Eliory Ron z Izraele, která hovořila o biosensorech a jejich využití pro měření ekotoxicity, další přednášky pak byly věnovány jednotlivým problémům ekotoxicity anorganických látek – sulfidů kovů a poté i organickým polybromovaným sloučeninám, které se pravděpodobně brzy stanou velkým problémem vzhledem k objemu jejich současného použití.

Poslední sekce byla věnována geneticky modifikovaným organismům, především mikroorganismům. Je pravda, že na rozdíl od roku 1995, kdy byla tato sekce jednou z nejsilněji obsazených sekcí je v dnešní době GMO v bioremediacích věnována



Obrázek 2. Účastníci konference při závěrečném setkání.

relativně menší pozornost. Souvisí to jak s legislativními problémy, které v případě volného využívání GMO jsou stále velké, tak i s faktem, že se postupně ukazuje, že v konkurenci s indigenní mikroflorou jsou GMO málo efektivní. Na druhou stranu např. výzkum, kdy je studován vliv mutací a změn aminokyselin u biodegradačních enzymů na účinnost degradace, stabilitu bílkoviny a její specifitu, jsou GMO nezastupitelné při studiu biodiversity, evoluce, horizontálního přenosu atd. V této sekci vystoupili dva řečníci s key-note přednáškami. Prof. M. Sylvestre z Kanady se zabýval cílenými genetickými modifikacemi enzymu bifenyldioxygenasy, prof. R. Rivilla hovořil o využití GMO při rhizoremediaci a změnách rhizosférických komunit v průběhu degradačního procesu.

Součástí konference byla samozřejmě i prezentace plakátových sdělení. Ta byla prezentována především postgraduálními studenty a byla vyvěšena po celou dobu konání konference. Tři nejlepší plakátová sdělení, hodnocená komisí složenou ze zahraničních odborníků, byla na konci konference oceněna věcnou a peněžní odmě-

nou. Potěšující bylo, že dvě ceny zůstaly v České republice, jedna v Brně na Mendelově lesnické a zemědělské universitě a druhá na Mikrobiologickém ústavu AV ČR v Praze.

Závěrem lze shrnout, že symposium probíhalo ve velmi příjemné atmosféře, velký význam pro hodnotu symposia měla účast vědeckých kapacit jako je prof. Bedard, Dr. Pieper, prof. Sylvestre, prof. Diels, prof. Fava, prof. Bruce, ale i mladších kolegů prezentujících své nové výsledky a využití nejnovějších metod a poznatků v praxi, jako např. Dr. M-B. Leigh, Dr. Cajthaml, Dr. Singer, Dr. Kotrba a další. Bezespору za zmínku stojí i společenský program, úvodní „welcome party“, výlet do vinného sklípku a zámku v Mělníce a jako třešnička na dortu i závěrečný příspětek s předsedkyní symposia prof. Kateřinou Demnerovou v souvislosti s jejím kulatým životním výročím a jako poděkování za příjemné chvíle strávené na konferenci.

Martina Macková
Ústav biochemie a mikrobiologie
VŠCHT Praha

<http://www.febs-iubmb-2008.org>

<http://www.febs-iubmb-2008.org>

<http://www.febs-iubmb-2008.org>

Arnold O. Beckman: „There is no satisfactory substitution to excellence“

IMMUNOTECH a.s.

a Česká společnost pro biochemii a molekulární biologii (ČSBMB)

vyhlašují

CENU ARNOLDA BECKMANA

za nejlepší vědeckou publikaci v oborech:

- Genomika, genetika a analýza nukleových kyselin
- Proteomika
- Buněčná biologie a imunologie

Práce z oblasti klinického výzkumu jsou vítány.

A nyní to nejdůležitější – ceny pro vítěze!

CENY PRO PRVNÍHO AUTORA VÍTĚZNÉ PUBLIKACE

- Peněžní dar 50 000 Kč
- Roční bezplatné členství v ČSBMB

CENA PRO INSTITUCI (PRVNÍHO AUTORA VÍTĚZNÉ PUBLIKACE)

- Sleva 50% na jeden jakýkoliv přístroj z produkce Beckman Coulter.
Sleva se vztahuje na ceny uvedené v oficiálním ceníku.

JAK SE MOHU PŘIHLÁSIT?

Přihlásit se lze jednoduše tak, že pošlete e-mailovou zprávu na adresu irena.krumlova@vscht.cz s kopií na rvlcek@beckmancoulter.com. Zpráva musí obsahovat jako přílohu fulltextovou verzi přihlašované práce, větu „Přihlašuji přiloženou práci do soutěže o cenu Arnolda Beckmana v kategorii XXXX“, vaše jméno, adresu a kontakt. Doporučujeme napsat do předmětu zprávy „Cena Arnolda Beckmana“.

Práci je také možno přihlásit poštou na adrese Ing. Irena Krumlová, Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha 6.

**Do soutěže budou přijaty pouze publikace,
doručené nejpozději 16. května 2008!!!**

Kontakt pro případné dotazy: Roman Vlček, +420 737 251 897,
e-mail: rvlcek@beckmancoulter.com

PODMÍNKY A ORGANIZACE CENY ARNOLDA BECKMANA:

Cenu obdrží **první autor** vítězné publikace a jeho **institute**. Adresa prvního autora uvedená na publikaci musí být v České nebo Slovenské republice!

Budou uděleny 3 ceny, jedna v každé kategorii. IMMUNOTECH a.s. a ČSBMB si vyhrazují právo cenu v kterékoliv kategorii neudělit, pokud žádná z přihlášených prací nebude dosahovat úrovně potřebné k udělení ceny.

Ceny se budou udělovat na sjezdu ČSBMB a hodnoceny budou práce za uplynulé 2 roky. Ceny budou tentokrát vyhlášeny na sjezdu ČSBMB v Českých Budějovicích (14 – 17. 9. 2008) a hodnotit se budou práce s datem publikace v roce 2006 – 2007.

Bude se posuzovat celkový přínos práce pro rozvoj poznání v daném oboru. Hodnotící kritéria budou jak objektivní veličiny (impakt faktor časopisu), tak názory hodnotící komise na originalitu, aktuálnost a věrohodnost publikovaných dat. Citační ohlas bude pouze pomocné kritérium, protože nechceme znevýhodnit opravdu nové práce. Hodnoceny budou pouze články prezentující originální experimentální data, nikoliv přehledy problematiky.

Arnold O. Beckman (1900 – 2004), zakladatel společnosti Beckman Instruments, Inc.



(nyní známé jako Beckman Coulter, Inc.), se narodil 10. dubna 1900 ve státě Illinois. Od dětství byla jeho velkou zálibou chemie. Pro zajímavost lze uvést, že měl od svých 10 let malou provizorní chemickou laboratoř.

Naplno se začal Arnold Beckman věnovat chemii na Illinoiské univerzitě, kde vystudoval fyzikální chemii a doktorát získal na Kalifornské univerzitě v roce 1928 v oboru fotochemie. Na této univerzitě působil až do roku 1940 jako profesor.

V roce 1935 vynalezl Dr. Beckman tzv. kyselinoměr (acidimetr), který se později stal základním kamenem společnosti Beckman Instruments Inc. Zpočátku byl tento přístroj využíván firmou Beckmanova spolužákka zpracovávající citrusy k měření kyselosti citrónové šťávy. Později byl kyselinoměr přejmenován na pH metr a záhy se stal nepostradatelnou pomůckou v každé chemické laboratoři.

Dr. Beckman se věnoval vývoji a výrobě vědeckých přístrojů a pomůcek celý život. Patentoval celkem 14 zařízení a postupů, které vedly k významnému zjednodušení tehdy zdoluhavých laboratorní procesů a k jejich větší analytické přesnosti. Mezi nejvýznamnějšími lze jmenovat spektrofotometr z roku 1940.



Sekce diagnostické a prediktivní onkologie České onkologické společnosti ČLS JEP, Laboratoř experimentální medicíny a Laboratoř molekulární patologie LF UP a FN Olomouc, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, Fakultní nemocnice v Olomouci, Komplexní onkologické centrum Olomouc, Nadace pro výzkum rakoviny, Sdružení Šance a společnost SOLEN Vás zvou na

III. dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie

28.–30. listopadu 2007 / Regionální centrum Olomouc

Koordinátor: doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D.

Rychlé a jednoduché přihlášení na www.solen.cz

PROGRAMOVÉ ZAMĚŘENÍ

Konference vytváří interdisciplinární platformu pro spolupráci odborníků z řady teoretických, preklinických a klinických oborů zabývajících se diagnostikou a léčbou maligních nádorů.

Program bude zaměřen zejména na následující témata:

- Nová protinádorová léčiva
- Molekulární podstata účinku a toxicity protinádorových léčiv
- Chemorezistence nádorů
- Chyby a omyly v diagnostice nádorových onemocnění
- Standardizace laboratorních vyšetření
- Prediktivní faktory
- Pokroky v klinické diagnostice zhoubných nádorů
- Nádorová genomika a proteomika
- Patogeneze nádorů
- Experimentální onkologie

Součástí programu budou i dva satelitní workshopy se zaměřením na:

1. datovou analýzu v oblasti nádorové genomiky (20 míst, termín a místo konání bude upřesněno po sestavení programu konference)
2. laserovou mikrodisekci nádorů, mikroizolaci a lineární amplifikaci RNA (10 míst, workshop bude probíhat 25.–26. 11. 2007 v Laboratoři experimentální medicíny při Dětské klinice FN Olomouc).

MEDIÁLNÍ PARTNEŘI

GRADA

ONKOLOGIE

VÝZVA K AKTIVNÍ ÚČASTI / Zájemci o aktivní účast se mohou přihlásit nejpozději do 26. 10. 2007 elektronicky na www.solen.cz, kde je umístěn i odkaz pro odeslání abstraktu přednášky nebo posteru.

Autoři hradí plný registrační poplatek, spoluautoři se registrují jako pasivní účastníci.

PŘIHLÁŠKY K PASIVNÍ ÚČASTI / do 9. 11. 2007 pouze elektronicky na www.solen.cz

POPLATEK / 650 Kč pro lékaře i sestry; při platbě na místě + 200 Kč

ORGANIZAČNÍ SEKRETARIÁT / SOLEN, s. r. o., Lazecská 51, 779 00 Olomouc

Ing. Karla Břežková, tel.: 582 397 457, mob.: 777 714 677, e-mail: breckova@solen.cz, Marta Křepelová, tel.: 582 396 038, mob.: 777 557 415, e-mail: krepelova@solen.cz

KONKRETNĚ

Akce bude ohodnocena certifikátem / kredity v rámci postgraduálního vzdělávání lékařů a sester.

*Masarykova univerzita v Brně - Přírodovědecká fakulta
Česká společnost pro biochemii a molekulární biologii*

Vás zvou do Brna na jubilejní

XII. Pracovní setkání biochemiků a molekulárních biologů

jehož každoroční součástí je *Sekce mladých* - konference PGS v angličtině

Termín konání akce: 6. - 7. února 2008
V Aule a areálu ÚSKM na Vinařské

Jednací jazyk: čeština, slovenština, angličtina

Organizátoři konference:

Doc. Michaela Wimmerová - Ústav biochemie a Národní centrum pro výzkum biomolekul, PrF MU, UKB, Pávilon A5/317, Kamenice 5, 625 00 Brno, tel.: 549498166, fax: 549492556, e-mail: michaw@chemi.muni.cz

Doc. Libuše Trnková - Ústav chemie, PrF MU, UKB, Pávilon A12/232, Kamenice 5, 625 00 Brno, tel.: 54497754, fax: 541211214, e-mail: libuse@chemi.muni.cz

Dr. Petr Beneš - Ústav experimentální biologie, PrF MU, UKB, Pávilon A3/127, Kamenice 5, 625 00 Brno, tel.: 549493125, fax: 541211214, e-mail: pbenes@sci.muni.cz

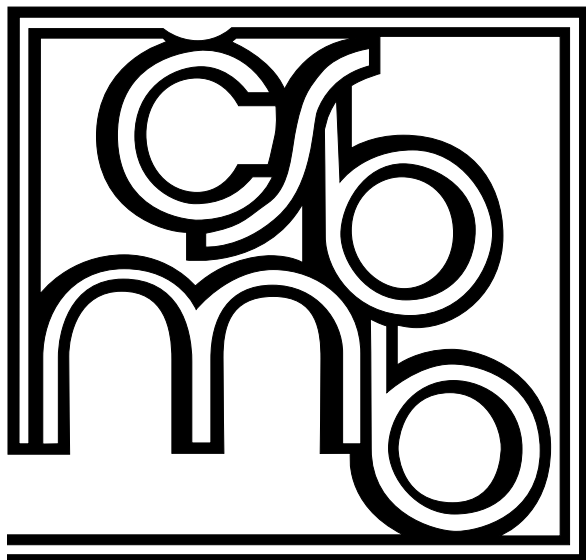
Doc. Petr Zbořil - Ústav biochemie, PrF MU, UKB, Pávilon A5/315, Kamenice 5, 625 00 Brno, tel.: 549498249, fax: 549492690, e-mail: zboril@chemi.muni.cz

Mgr. Marie Pokorná - Národní centrum pro výzkum biomolekul, PrF MU, UKB, Pávilon A4/338, Kamenice 5, 625 00 Brno, tel.: 549495901, fax: 549492556, e-mail: majka@chemi.muni.cz

Zasílací adresa: Přírodovědecká fakulta MU, Kotlářská 2, 611 37 Brno

***Zájemci mohou nalézt další informace na
<http://orion.chemi.muni.cz/setkani>***

*Termín pro zaslání závazné přihlášky je **pátek 8. prosince 2007,**
zaslání abstraktů **11. ledna 2008.***



Určeno pro vnitřní potřebu ČSBMB
Výkonný redaktor: Tomislav Barth ÚOCHB, AVČR
tel.: 220 183 268
Vychází 3 x ročně
Sazba a tisk: grafické studio Venice Praha s.r.o.
Bulletin č. 3/2007 ze dne 25. 10. 2007
Evid. číslo: MK ČR E 10260
Toto číslo je hrazeno
RVS AV ČR a ČSBMB
ISSN 1211-2526

EMBL: <http://www.embl-heidelberg.de/>
EMBO: <http://www.embo.org/>
FEBS: <http://www.febs.org/>
ČSBMB: <http://CSBMB.vscht.cz/>