

**ÚVOD DO BIOCHEMIE
A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE
(NEJEN) PRO GYMNÁZIA**

Jan Jelínek

1. ORGANISMY JAKO ORGANIZOVANÉ SOUBORY BIOMOLEKUL

1.1 Živé a neživé objekty přírody

Přírodní objekty dělíme na živé a neživé. Protože se živé organismy skládají z neživých molekul, je život svou podstatou **biochemický jev**. Na makroskopické úrovni snadno odlišujeme neživý objekt od živého. Přidáme-li k těmto viditelným rozdílům i odlišnosti odhalené na molekulární úrovni, můžeme zásadní rozdíly mezi živým a neživým shrnout do několika bodů.

- **Organismy mají aktivní vztah k vnějšímu prostředí.** Vyměňují si s okolím látky a energii (uskutečňují látkový a energetický metabolismus).
- **Prostřednictvím receptorů** přijímají informace z prostředí, zpracovávají je a jiné informace do prostředí vysílají.
- **Udržují stálost svého vnitřního prostředí** i při změně podmínek prostředí (*teplota, osmotický tlak, pH*), k čemuž využívají soustavy regulačních mechanismů.
- **Mají časově omezenou existenci.** Vznikají rozmnožováním – mají **schopnost samoreprodukce**. Od svého vzniku až po zánik procházejí složitým procesem individuálního vývoje (**ontogenezí**).
- Jednotlivé biologické druhy organismů vznikly dlouhodobým vývojem (**evolucí**) trvajícím miliony let.
- I pro nejjednodušší živé objekty je typická **neobyčejná složitost vnitřních struktur**, a tím i **složitost chování**.

1.2 Hierarchie živé přírody

Živá příroda je **uspořádána stupňovitě (hierarchicky)**, viz následující tabulka:

Objekt		Velikost objektu	Věda zabývající se studiem objektu
Biosféra Ekosystémy Společenstva Populace		velké	ekologie
Organismus Orgány Tkáně Buňka Buněčné organely ... Viry	malé → cca 1–100 µm → cca 20 µm → cca 20–300 nm	klasická biologie
Nadmakromolekulární struktury Biomolekuly	biomembrány chromozomy, cytoskelet bílkoviny, lipidy, nukleové kyseliny, polysacharidy].....	→ cca 30–200 nm → cca 10 nm	biochemie
Stavební jednotky biomolekul Prekurzory stavebních jednotek	aminokyseliny, nukleotidy, monosacharidy, heterocykly, mastné kyseliny, glycerol H ₂ O, CO ₂ , HCN, NH ₃ , H ₂ S, CH ₄ , H ₃ PO ₄ aj.	cca 0,5–1 nm	chemie

1.3 Svět buněk

Buňka je základní funkční jednotka všech organismů (s výjimkou virů). Obsahuje soubor vlastností, které spojujeme se životem (*samoreprodukce, metabolismus, přizpůsobení*).

Buněčné organismy rozdělujeme do **tří domén**. První dvě domény – **archebakterie (archea)** a **bakterie** – zahrnují organismy prokaryotní. **Prokaryota** zahrnují různé druhy bakterií, mají poměrně jednoduchou strukturu a jsou **zásadně jednobuněčná** (*ačkoli mohou tvořit vlákna nebo kolonie nezávislých buněk*). Jsou to nejpočetnější a nejrozšířenější organismy na světě. Je to dáno tím, že jejich proměnlivý a vysoce přizpůsobivý metabolismus jim umožňuje žít v extrémních podmínkách (*v nepřítomnosti kyslíku, při nízkých hodnotách pH, vysokých teplotách, vysokých koncentracích solí, vysokém tlaku*). Vyznačují se **vysokou rychlostí reprodukce** (*v optimálních podmínkách proběhne jejich buněčné dělení za méně než 20 minut*) a naopak schopnost vytvořit **rezistentní spory** jim dovoluje přežít podmínky nepříznivé.

Třetí doménu tvoří **organismy eukaryotní**. Doménu tvoří **eukaryota jednobuněčná (protista)** a **eukaryota mnohobuněčná**, rozdělená do čtyř říší (**chromista, rostliny, houby a živočichové**) – viz schéma na str. 10. Objem eukaryotní buňky je tisíckrát až milionkrát větší než objem prokaryotní buňky. Eukaryotní buňka obsahuje velké množství specializovaných biomembránových organel. Organizace a funkce eukaryotní buňky je komplexnější než buňky prokaryotní. Prokaryota a eukaryota se vyvinula podle zcela rozdílné evoluční strategie. Prokaryota využívají výhody jednoduchosti a miniaturizace. Jejich vysoká růstová rychlost jim umožňuje existovat v místech, ve kterých nastávají velké rozdíly v přísunu živin. Větší složitost eukaryot jim dovoluje pomalejší růst, ale do větší velikosti, což je zvýhodňuje v soutěži ve stabilních prostředích.

Z těchto důvodů nelze považovat prokaryota za evoluční předchůdce eukaryot. Oba typy organismů jsou dobře adaptovány na svůj způsob života.

1.4 Biochemie

Biochemie je chemie života. Vyplňuje mezeru mezi **chemií** (vědou o strukturách a interakcích atomů a molekul) a **biologií**, která se zabývá studiem struktury buněk a interakcemi buněk organismů.

Ačkoli mají organismy velmi různorodé mikroskopické a makroskopické vlastnosti, biochemicky jsou pozoruhodně podobné. Například všechny buňky mají téměř totožný způsob uložení a vyjádření genetické informace. Také sledy biochemických reakcí, známých jako **metabolické dráhy**, včetně enzymů, které je katalyzují, jsou pro mnoho základních procesů společné všem organismům. Z toho lze usuzovat, že všechny známé formy života vznikly z jednoho prapředka, ve kterém se tyto biochemické vlastnosti vyvinuly. Biochemie je věda o životě na molekulární úrovni. Zabývá se řešením následně uvedených vzájemně propojených otázek.

- **Studuje chemické a prostorové struktury biologických molekul a jejich souborů a jak se jejich vlastnosti mění se změnou těchto struktur.**
- **Studuje funkce bílkovin, mechanismy enzymové katalýzy, jak receptory rozeznávají a vážou specifické molekuly a jakými mechanismy receptory předávají informaci o svém vazebném stavu.**
- **Studuje, jak se projevuje genetická informace, a zkoumá způsoby, jak je předávána dalším generacím.**
- **Studuje syntézy biologických molekul a jejich souborů.**
- **Studuje kontrolní mechanismy, které koordinují tisíce biochemických reakcí v buňkách a v celých organismech.**
- **Studuje, jak se buňky množí, diferencují a jak organismy rostou.**

1.4.1 Rozdělení buněčných organismů

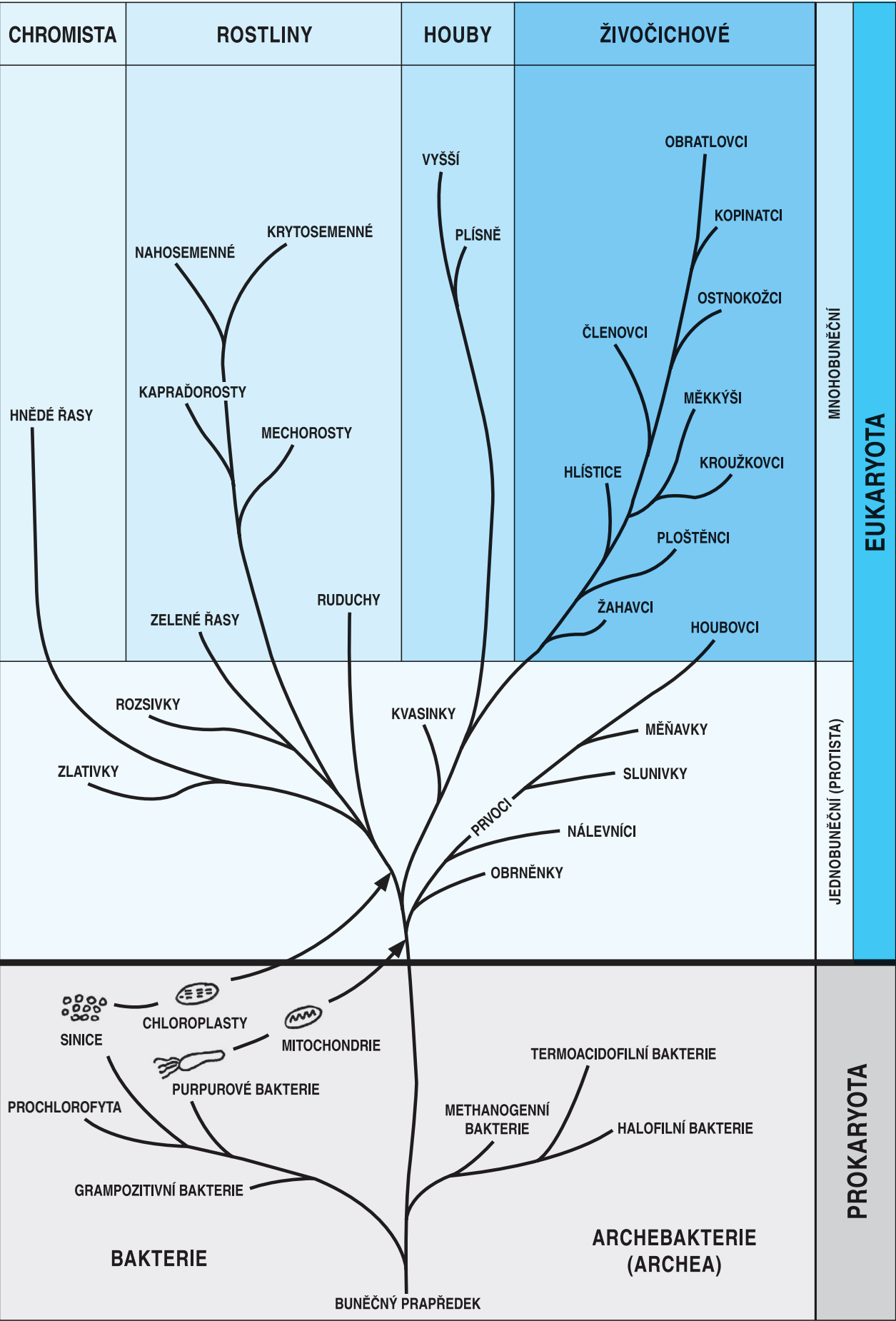


Schéma rozdělení buněčných organismů do domén

2. ENERGETIKA ŽIVÝCH SOUSTAV

Vědním oborem zabývající se v biochemii nejčastěji popisem podmínek, za kterých děje probíhají samovolně, je **termodynamika**. Nevypovídá nic o rychlostech, jakými tyto děje probíhají. Se znalostí termodynamiky lze určit, zda určitá reakce může proběhnout.

Například termodynamika nám říká, že glukosa a kyslík spolu reagují za vzniku oxidu uhličitého a vody, za uvolnění značného množství energie. Neukazuje už, že tato směs při pokojové teplotě je naprosto stálá, pokud nejsou přítomny vhodné enzymy.

2.1 První termodynamický zákon

První termodynamický zákon je matematickou formulací zákona zachování energie:

Energie nemůže být vytvořena ani zničena. Energie vesmíru je konstantní.

Platí, že změna energie:

$$\Delta U = U_{\text{konečná}} - U_{\text{počáteční}}$$

Každá chemická reakce je doprovázena uvolněním nebo pohlcením tepla. Množství tepla, které se při reakci uvolní nebo spotřebuje, se označuje jako **reakční teplo Q**.

Téměř všechny biochemické reakce probíhají při konstantním tlaku a pro tento případ byla zavedena **stavová veličina** nazvaná **entalpie H**.

Změna entalpie ΔH , která nastává při chemickém ději při konstantním tlaku, je určena množstvím tepla soustavou uvolněného (**exotermický děj**, ΔH má *zápornou hodnotu*) nebo soustavě dodaného (**endotermický děj**, ΔH má *kladnou hodnotu*).

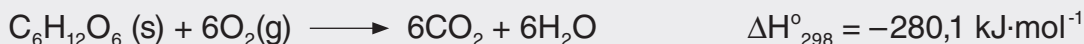
Podobně jako změna energie ΔU je změna entalpie ΔH jen funkcí počátečního a konečného stavu soustavy.

$$-\Delta H = Q \quad (1)$$



Příklad: Máme určit změnu entalpie plynoucí z úplné oxidace 1 g glukosy na CO_2 a H_2O sva-
lovou tkání.

Přímé provedení takového měření by představovalo velké experimentální těžkosti. Protože však je entalpie stavovou funkcí, můžeme měřit spalnou entalpii v libovolném přístroji (například v kalorimetru při konstantním tlaku) raději než ve svaly, a přece získáme stejnou hodnotu:



2.2 Druhý termodynamický zákon

Druhý termodynamický zákon se zabývá změnami vnitřního uspořádání soustavy.

Pro toto vnitřní uspořádání zavádí veličinu nazývanou **entropie**.

Entropie S určité soustavy vyjadřuje míru její neuspořádanosti.

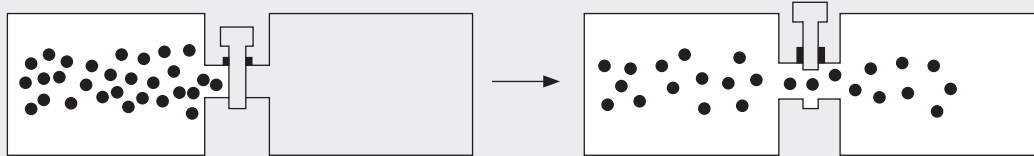
Podle druhého termodynamického zákona **entropie izolované soustavy** (soustavy, která si s okolím nevyměňuje látky, energii, informace) **nikdy neklesá**.

$$\Delta S \geq 0$$

Entropie soustavy vzniklé spojením dvou jiných soustav převyšuje součet jejich entropií. Toto tvrzení názorně demonstruje následující příklad.



Příklad: Představme si nádobu rozdělenou přepážkou na dvě poloviny. V levé polovině je uzavřen plyn, zatímco druhá polovina je evakuována. Propojením obou polovin proudí plyn do prázdné poloviny a jeho molekuly brzy vyplní celou nádobu. Takový stav je méně uspořádaný než výchozí stav, kdy se molekuly plynu pohybovaly pouze v jedné polovině. **Entropie plynu tedy vzrostla.**



Podobně lze vysvětlit způsob, jakým krev přenáší dýchací plyny O_2 a CO_2 mezi plícemi a tkáněmi. **Látky v roztoku se chovají analogicky plynům v tom, že se snaží udržet jednotnou koncentraci v objemu, který zaujímají, protože je to jejich nejpravděpodobnější uspořádání.**



Příklad: V plicích, kde je koncentrace O_2 vyšší než v žilní krvi, která plícemi protéká, do krve vstupuje více kyslíku, než kolik z ní vystupuje. Ve tkáních, kde je koncentrace O_2 nižší než v tepenné krvi, probíhá naopak difuze O_2 z krve do tkání. Opačná situace napomáhá transportu CO_2 , protože koncentrace CO_2 v plicích je nízká a naopak ve tkáních vysoká.

Pamatujte: Termodynamika neříká nic o rychlostech, jakými jsou O_2 a CO_2 transportovány do tkáně a ven z ní.

Rychlost těchto dějů závisí na fyzikálně-chemických vlastnostech krve, plic a oběhového systému.

Protože energie vesmíru je konstantní (může přijímat různé podoby, ale nemůže být nikdy stvořena ani zničena), každý samovolný děj musí vést ke zvýšení entropie vesmíru.

$$\Delta S_{\text{systemu}} + \Delta S_{\text{okolí}} = \Delta S_{\text{vesmíru}} > 0$$

Tato rovnice je obecným vyjádřením druhého zákona termodynamiky. Vypovídá o obecné snaze všech samovolných dějů vnést do vesmíru neuspořádanost. To znamená, že **entropie vesmíru spěje k maximu.**

Tato rovnice neříká, že jednotlivá soustava nemůže zvětšit svůj stupeň uspořádanosti, avšak **systém může být více uspořádán s použitím energie jen za cenu snížení uspořádanosti jeho okolí.** Například živé organismy, které jsou organizovány od molekulové úrovně výše, a jsou tedy obzvláště dobře uspořádané, dosahují této uspořádanosti za cenu snížení uspořádanosti živin, které konzumují. Z toho vyplývá, že přijímání potravy je právě tak získáváním uspořádanosti jako získáváním energie.

Čím je uspořádanost systému menší, tím je jeho entropie větší a naopak. Pro studium dynamiky termodynamických systémů má význam změna entropie za časový okamžik. Označíme-li entropii S a její změnu dS , lze tuto změnu rozložit:

$$dS = d_i S + d_e S$$

kde $d_i S$ představuje příspěvek ke změně entropie vyvolaný procesy uvnitř systému, $d_e S$ je příspěvek ke změně energie vyvolaný přítokem (odtokem) entropie z (do) okolí. Pro složku $d_i S$ stanoví druhá termodynamická věta podmínku, že **změna entropie vyvolaná pochody uvnitř systému může být pouze kladná:**

$$d_i S \geq 0$$

Řečeno jinými slovy, chemické a fyzikální pochody uvnitř systému brány samy o sobě snižují jeho organizovanost. Uvažujeme-li tedy vývoj v izolovaném systému, dospěje za dostatečně dlouhý časový úsek **do maximálního chaosu (desorganizace) čili entropie, do rovnovážného stavu.**

3. BÍLKOVINY – MAKROMOLEKULÁRNÍ LÁTKY S NEJVŠESTRANNĚJŠÍMI FUNKCEMI

Bílkoviny jsou biopolymery složené z 20 druhů L- α -aminokyselin navzájem spojených peptidovými vazbami.

3.1 Funkce bílkovin

Bílkoviny zajišťují v živých organismech tyto funkce:

- jsou základní stavební složkou organismů,
- jako enzymy katalyzují biochemické reakce probíhající v buňkách,
- regulují průběh dějů v organismech (peptidické hormony),
- účastní se transportu látek do/z buněk,
- jako svalová vlákna umožňují pohyb organismu,
- mají funkci obrannou (imunitní),
- jsou zdrojem energie.

3.2 Proteinogenní aminokyseliny (kódované aminokyseliny)

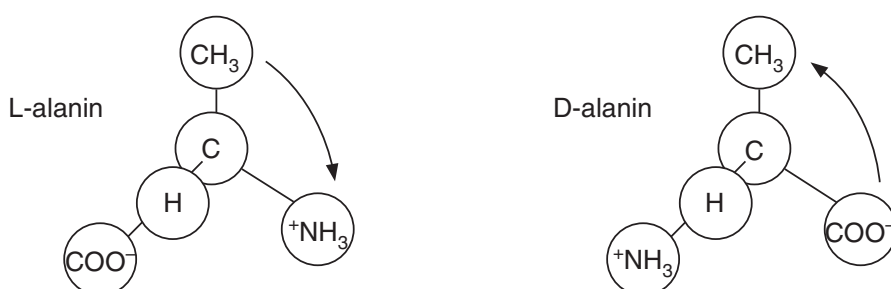
Postupným výběrem a zkoušením jich vybrala příroda dvacet (z několika set známých aminokyselin). Těchto **20 aminokyselin** (viz přehledová tabulka na str. 21) slouží k zajištění všech základních životních funkcí a k vytvoření ohromné druhové pestrosti biosféry. *)

S výjimkou glycinu jsou všechny ostatní proteinogenní aminokyseliny **opticky aktivní**. To znamená, že stáčí rovinu polarizovaného světla. **Opticky aktivní molekuly** jsou asymetrické takovým způsobem, že jejich zrcadlové obrazy nelze otočit tak, aby se zároveň kryly jejich pravé a levé strany (*nelze je ztotožnit*). Toto je charakteristické například pro sloučeniny obsahující atom uhlíku, na který se vážou jednoduchými vazbami čtyři různé substituenty. Takový atom uhlíku se označuje jako **asymetrický (chirální)**.

Molekuly téže látky, které jsou navzájem se nepřekrývajícími zrcadlovými obrazy, se označují jako **enantiomery**. Rozlišují se na **pravotočivé (+)** a **levotočivé (–)**. Po roce 1891 jsou (+) a (–) **stereoisomery** označovány jako **D** a **L** (*Emil Fischer*) z latinského (*dexter* – pravý, *laevus* – levý). Fischerův projekční vzorec aminokyseliny vypadá takto:



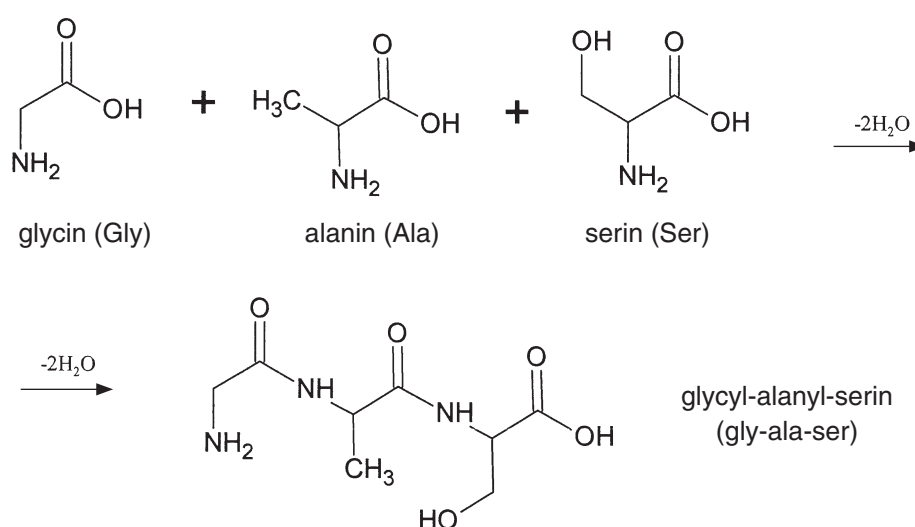
Všechny proteinogenní aminokyseliny jsou α s prostorovým uspořádáním typu **L**. Jejich prostorové uspořádání lze snadno odvodit pomocí **pravidla „CORN“**. Díváme-li se na centrální atom C směrem od atomu H, jsou ostatní substituenty uspořádány buď **ve směru pohybu hodinových ručiček** v pořadí: **–COOH → –R → –NH₂** (typ L), nebo **proti směru pohybu hodinových ručiček** (typ D). *Například prostorová uspořádání aminokyseliny α -alaninu mají tyto podoby:*



3.3 Peptidy

Peptidy jsou látky obsahující dva nebo více aminokyselinových zbytků spojených peptidickými vazbami. Peptidická vazba vzniká kondenzační reakcí karboxylové skupiny jedné aminokyseliny s aminovou skupinou druhé aminokyseliny. Peptidy, které vzniknou spojením dvou až deseti aminokyselin, označujeme jako **oligopeptidy**; spojením více aminokyselin vznikají **polypeptidy**; obsahuje-li molekula více než 100 aminokyselin nebo její molární hmotnost je větší než 10 000 g·mol⁻¹, jedná se o proteiny.

Pořadí aminokyselin v peptidech zapisujeme tak, že první aminokyselina poskytuje do vazby karboxylovou skupinu, která se váže na α -aminoskupinu následující aminokyseliny. Na začátku polypeptidického řetězce je tedy volná α -aminoskupina první aminokyseliny, označujeme ji jako **N-koncovou**, na druhém konci řetězce zůstává volná karboxylová skupina poslední aminokyseliny a označujeme ji jako **C-koncovou**. Systematické názvosloví peptidů je tvořeno názvy acylů jednotlivých aminokyselin od N-konce a názvem poslední aminokyseliny na C-konci. Například:

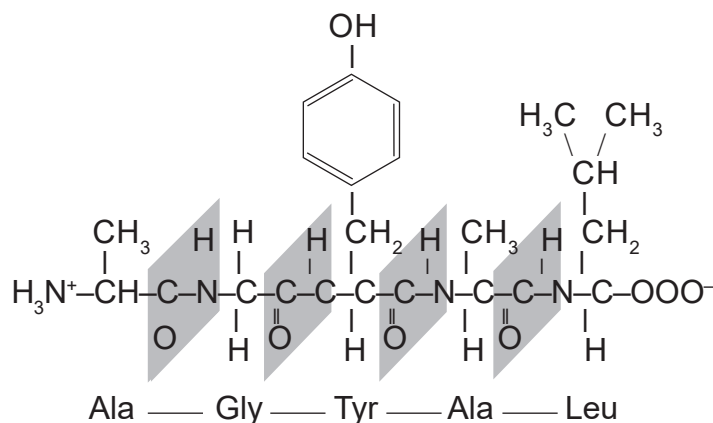


3.4 Molekuly bílkovin a jejich struktura

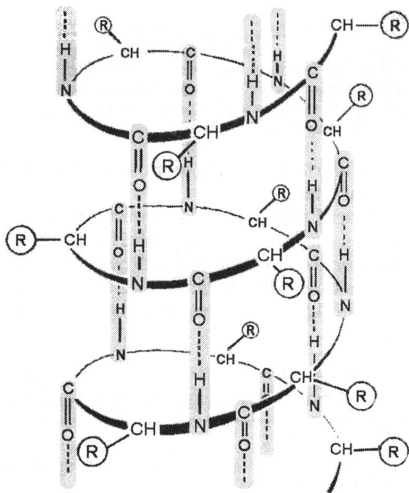
Všechny organismy v biosféře syntetizují bílkoviny podle stejných pravidel. Do lineárních řetězců spojují proteinogenní aminokyseliny konfigurace L peptidickými vazbami.

Makromolekuly bílkovin mají tyto struktury:

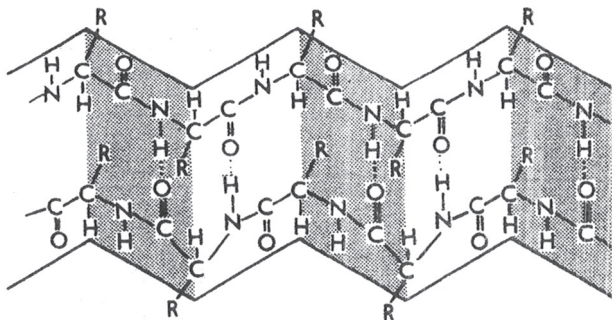
- **Primární struktura** – udává pořadí (sekvenci) aminokyselin v molekule.



- Sekundární struktura** – buď jako α -šroubovice (α -helix), nebo jako struktura β -skládaného listu. Tato strukturní uspořádání umožňují vodíkové vazby $>C=O \cdots \cdots HN-$.

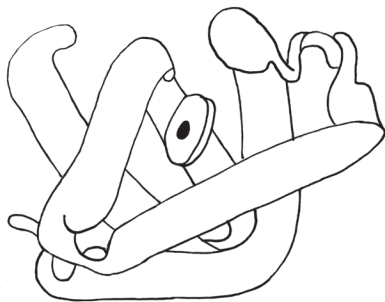


α -helix



β -skládaný list

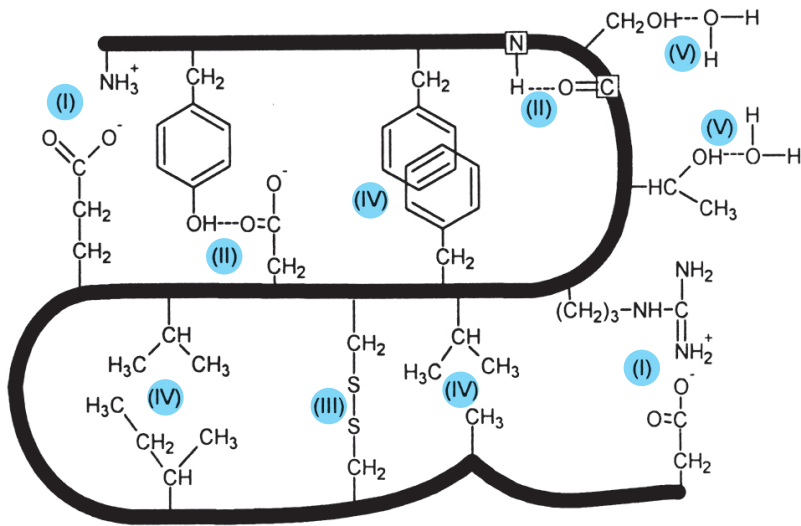
- Terciární struktura** – uspořádání α -šroubovice nebo skládaného listu do konečného prostorového tvaru.



Terciární struktura myoglobinu vorvaně. Kotouč uprostřed představuje hemovou složku s atomem železa uprostřed.

Vznik terciární struktury umožňují všechny typy chemických vazeb:

- elektrostatické síly mezi ionty a dipóly (I),
- vodíkové vazby (II),
- disulfidické kovalentní vazby (III),
- disperzní síly mezi hydrofobními (nepolárními) skupinami (IV),
- interakce polárních skupin s vodou (V).



Typy chemických vazeb v terciární struktuře molekuly bílkoviny.

5. SACHARIDY

5.1 Obecná charakteristika sacharidů

Sacharidy jsou biosloučeniny odvozené od **alifatických hydroxyaldehydů** nebo **hydroxyketonů**. Jsou nejrozšířenějšími přírodními látkami a jsou stále přítomny ve všech rostlinných a živočišných buňkách. V zelených rostlinách vznikají **fotosyntézou** ze vzdušného CO_2 a vody účinkem slunečního záření. Katalyzátorem fotosyntézy je **chlorofyl**.



Molekuly jednoduchých sacharidů (monosacharidů) se **polykondenzačními reakcemi** spojují do složitějších struktur (polysacharidů). Např.:



Živočišné organismy přijímají sacharidy v potravě, nejsou-li v potravě dostatečně zastoupeny, získávají je přeměnou aminokyselin z bílkovin nebo glycerolu z lipidů.

Sacharidy dělíme na:

- a) jednoduché (monosacharidy)** – ty nelze hydrolyticky rozložit na jednodušší sacharidy,
- b) složité** – které se hydrolyzou rozloží na dvě nebo více molekul monosacharidů.

Tyto složité sacharidy dále rozdělujeme na:

- **oligosacharidy** – tvořené 2–10 molekulami monosacharidů,
- **polysacharidy** – tvořené více než 10 molekulami monosacharidů.

5.2 Funkce sacharidů

Sacharidy mají v rostlinných buňkách **stavební funkci**. Polysacharid **celulosa** je podstatnou složkou buněčných stěn.

Sacharidy jsou **zdrojem energie pro všechny typy buněk**, kterou získávají oxidacemi sacharidů v průběhu buněčného dýchání.

Jsou také **zásobními látkami rostlin** (škrob a inulin), **živočichů a hub** (glykogen).

Jsou **zdrojem pro syntézu** jiných biologicky významných látek (organických kyselin, lipidů, aminokyselin a bílkovin).

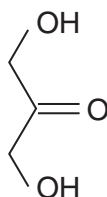
5.3 Monosacharidy

Monosacharidy jsou buď **hydroxyaldehydy (aldosy)**, obsahující kromě hydroxylových skupin i **skupinu aldehydickou** $-\text{CHO}$, nebo **hydroxyketony (ketosy)**, obsahující kromě hydroxylových skupin i **skupinu ketonickou** $>\text{CO}$.

Stechiometrický vzorec monosacharidů je $\text{C}_n(\text{H}_2\text{O})_n$. Podle počtu uhlíkových atomů v molekule rozlišujeme dále:

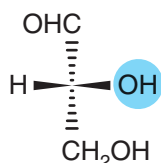
- aldotriosy × ketotriosy $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$,
- aldotetrosy × ketotetrosy $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4$,
- aldopentosy × ketopentosy $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$,
- aldohexosy × ketohexosy $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$.

Nejjednoduššími monosacharidy jsou **dihydroxyaceton** a **glyceraldehyd**.

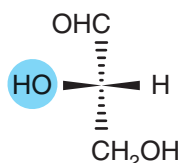


dihydroxyaceton

V molekule **glyceraldehydu** je **chirální uhlík**. Glyceraldehyd tedy existuje jako **dva optické antipody (stereoisomery)** čili **enantiomery**, které stáčí rovinu polarizovaného světla o určitý úhel doprava nebo doleva. Směs optických antipodů v poměru 1:1 je opticky neaktivní a nazývá se **racemát**. Pravotočivou formu označujeme znaménkem **+**, levotočivou znaménkem **-**. Podle Fischerovy koncepce (*Hermann Emil Fischer, německý chemik, 1896 objasnil konfigurace pro aldosity, nositel Nobelovy ceny za chemii v roce 1902*) D-sacharidy mají stejnou absolutní konfiguraci asymetrického centra nejvíce vzdáleného od karbonylové skupiny, jako má D-glyceraldehyd. (Pozor, vztah mezi otáčivostí a příslušností do řady D- nebo L- neexistuje!)

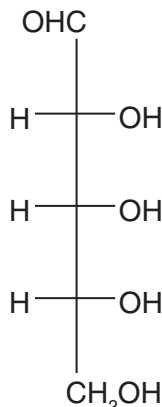


D-(+)-glyceraldehyd

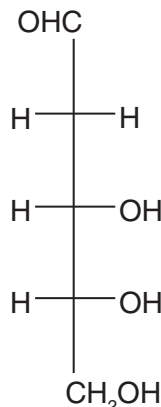


L-(-)-glyceraldehyd

Mezi významné aldopentosa patří **D-ribosa** a její redukční forma **2-deoxy-D-ribosa**.



D-ribosa



2-deoxy-D-ribosa

5.4 Konfigurace a konformace monosacharidů

Ve skutečnosti molekuly pentos a hexos existují také v cyklické formě. Hydroxylové skupiny reagují s aldehydickou nebo ketonickou skupinou za vzniku **cyklických hemiacetalů** nebo **hemiketalů**, které můžeme považovat za **deriváty furanu (furanosy)** nebo **pyranu (pyranosy)**. Přechem monosacharidů na poloacetalovou formu se vytváří nové centrum asymetrie na uhlíku C₁.

Nově vzniklé stereo-isomery se označují jako **anomerie**. Konfigurace substituentů na každém uhlíku sacharidu v cyklické formě se výhodně zobrazuje **Haworthovými vzorci**. V anomeru α je skupina –OH na anomerním uhlíku v opačné poloze vzhledem sacharidovému kruhu než skupina –CH₂OH (viz obr. na následující straně).



Mezi anomery není vztah jako mezi předmětem a jeho obrazem v zrcadle. **Nejsou to tedy optické isomery a nestáčí rovinně polarizované světlo o stejný úhel.** Ve vodném roztoku není možná existence jediného anomeru. Vždy se časem ustaví chemická rovnováha mezi oběma možnými anomery. Vzájemná přeměna probíhá přes otevření kruhu. Proces ustavení rovnováhy je spojen se změnami optické aktivity roztoku a tento jev se označuje jako **mutarotace**.



U pyranos je energeticky nejvýhodnější **židličková konformace**. Pět ekvatoriálních vazeb míří z kruhu ven, pět axiálních vazeb míří pod a nad kruh. U **β -D-glukopyranosy** jsou hydroxylové skupiny a hydroxymethylová skupina v ekvatoriálních polohách. Tyto objemné skupiny si tedy prostorově nejméně překážejí. V axiálních polohách se nacházejí méně objemné atomy vodíku. U **α -D-glukopyranosy** je hydroxylová skupina na anomerním uhlíku v axiální poloze. Tato axiální poloha hydroxyskupiny je stericky méně výhodná. Proto je ve vodném roztoku po ustavení rovnováhy mutarotací více β -D-glukopyranosy než α -D-glukopyranosy.



10. BIOCHEMICKÉ KOMUNIKACE – HORMONY A PŘENOS NERVOVÝCH SIGNÁLŮ

Živé systémy na všech úrovních koordinují činnost složitými chemickými signálními soustavami. Mezi buňkami se signály přenášejí prostřednictvím molekul nazývaných **hormony**.

U živočichů se signály přenášejí také elektrochemickými podněty vedenými v neuronech. Signály mezi neurony a mezi neurony a svalovými buňkami zprostředkovávají **neurotransmitery**.

Buňky navzájem spolupracují a jejich harmonii řídí signální molekuly, mezi které patří hormony a neurotransmitery.

10.1 Funkce hormonů

Hormony v živém těle zajišťují následující funkce:

- udržují stálost vnitřního prostředí (homeostázu),**
- umožňují organismu odpovídat na podněty z prostředí,**
- kontrolují a řídí cyklické a vývojové programy organismu.**

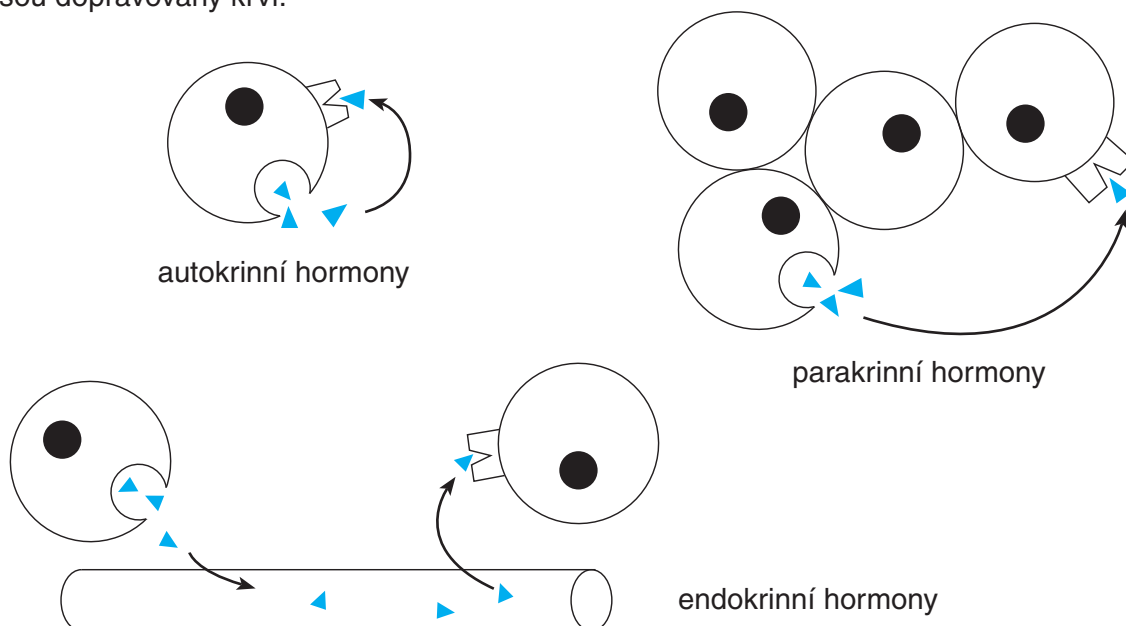
Ve všech případech na hormon odpovídají pouze ty buňky, které pro něj mají **specifický receptor**. Vazbou hormonu na receptor vzniká **hormonreceptorový komplex (HRK)**. Hormonální zprávy jsou tedy velmi přesně adresovány. Podle umístění receptorů rozlišujeme působení hormonů následovně:

- Přímé** – receptory se nacházejí v cytoplazmě buňky a vzniklý HRK ovlivňuje průběh proteosyntézy. *(Účinkem hormonů nastávají ve tkáních změny v koncentraci enzymů.)*
- Nepřímé** – receptor se nachází v biomembráně a vzniklý HRK ovlivňuje propustnost biomembrány pro molekuly určitých substrátů.

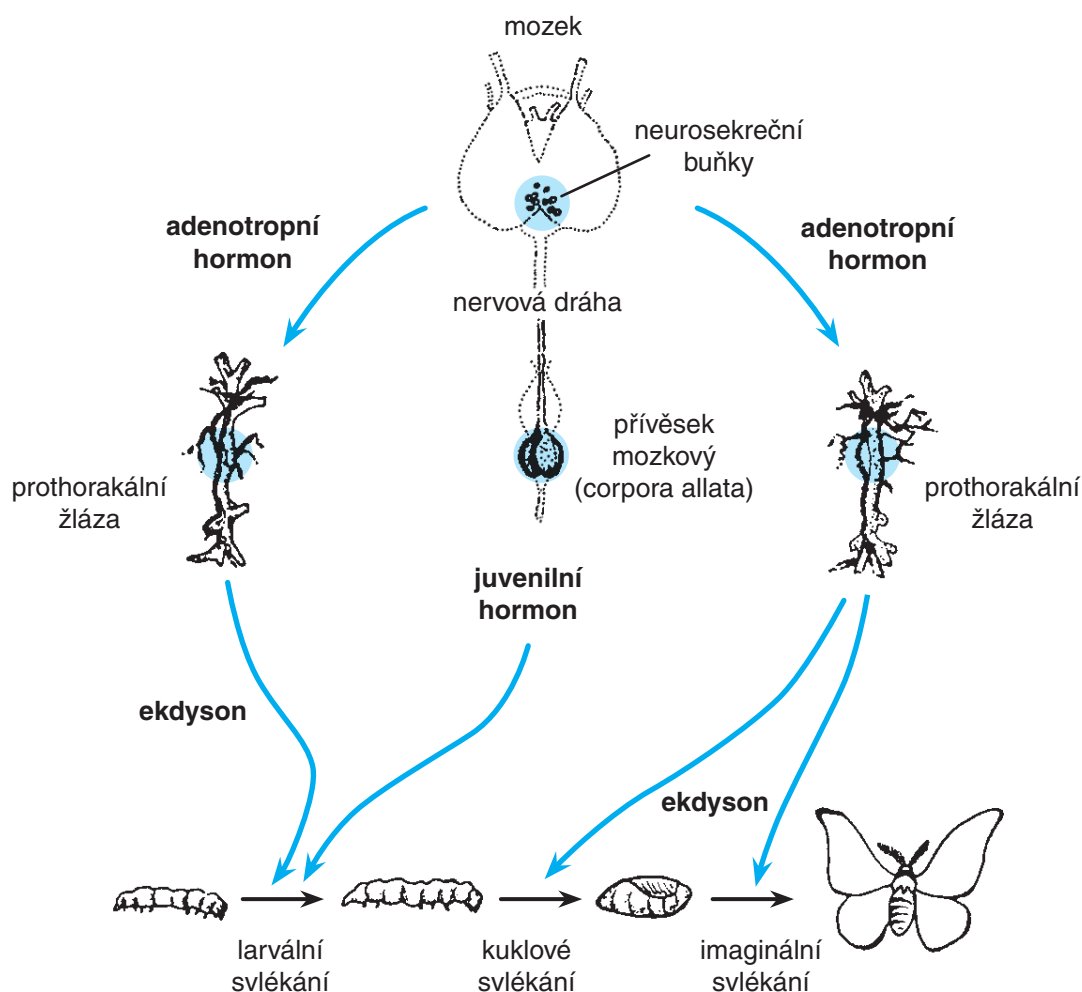
10.2 Rozdělení hormonů

A) Podle toho, **na jakou vzdálenost** hormony působí, rozlišujeme:

- Autokrinní hormony** – působí na stejnou buňku, ve které vznikly.
- Parakrinní hormony** – působí na buňky v bezprostřední blízkosti buňky, ve které vznikly.
- Endokrinní hormony** – působí na buňky vzdálené od místa svého vzniku. Na místo působení jsou dopravovány krví.



Působení svlékácího hormonu ekdysonu při vývoji hmyzu:



Nejrozšířenějším dorozumívacím prostředkem hmyzu jsou *vůně* (*pachy*). Vědci je nazývají **feromony**, což jsou chemické látky vylučované jedním příslušníkem určitého druhu. Tyto látky působí u jiných jedinců téhož druhu buď okamžitou změnu chování – **feromony spouštěcí**, nebo dlouhodobou změnu funkce orgánů včetně mozku – **feromony působky**.

U společenského hmyzu (*včely*, *mravenci*, *všekazi*) dosahuje paleta feromonů obrovské rozmanitosti. Díky tomuto bohatému chemickému slovníku a přísné „gramatice“ při jeho používání dovede společenský hmyz řešit různé komplikované situace. Feromonové signály jsou tvořeny směsmi chemických látek, které se vzájemně ovlivňují, mají za různých okolností a při různé koncentraci na různých místech svůj přesný význam, kterému rozumí jen správně naladěný příjemce.

Základním předpokladem společenského života je soudržnost skupiny jejích členů. Příslušníky hmyzího státu spojuje společná chemická vizitka – **domovská vůně (rozpoznávací feromon)**. Včelám létavkám např. umožňuje bezpečný návrat do vlastního úlu. Včelí stráž na česně rozpozná své spolubydlící od včel zlodějek z cizích úlů. Činnost včel – jedinců různých věkových kategorií v úlu – je řízena **mateří látkou** (*kašičkou*), vytvářenou v kusadlových žlázách včelí matky. Jedná se o několikasložkovou směs, jejíž základní složkou je **kyselina 9-oxodecenová** $\text{CH}_3\text{CO}(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CHCOOH}$.

10.7 Přenos nervového vzruchu

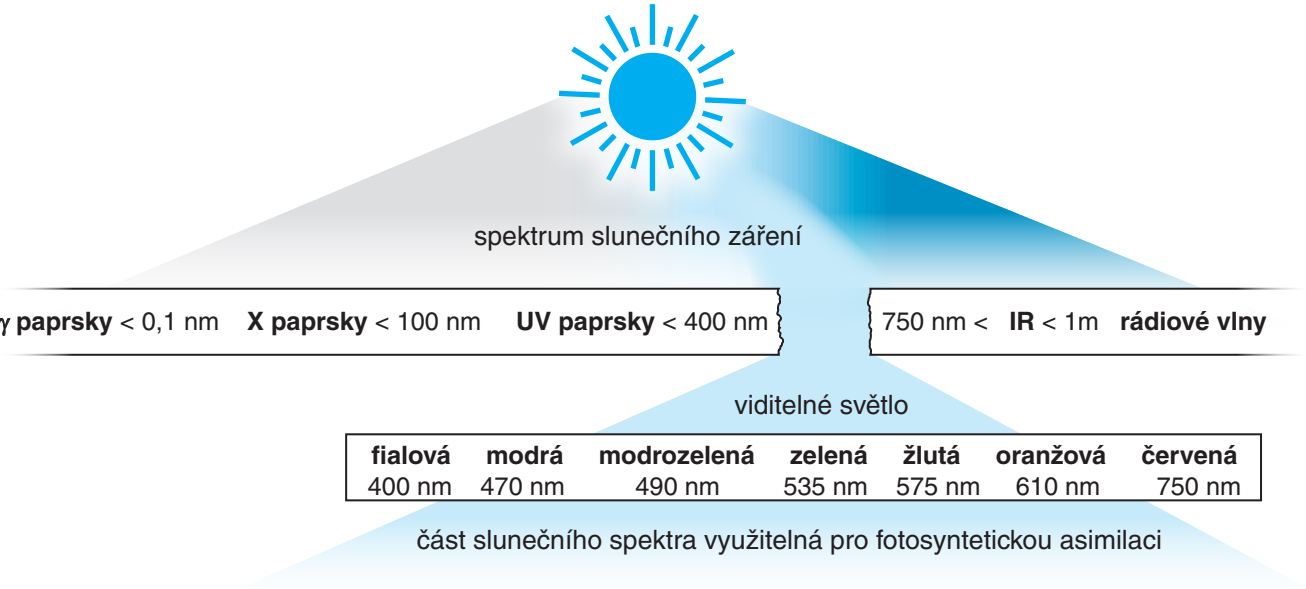
Nejrychlejší a nejsložitější komunikaci zprostředkují u živočichů nervové impulzy. *Nervové buňky* (*neurony*) přenášejí tyto signály po celé své délce (až 1 m) jako šířící se **vlny iontových proudů** (*střídání depolarizace a repolarizace biomembrány neuronu*). Mezi jednotlivými neurony, stejně jako mezi neurony a svalovými buňkami zprostředkují přenos signálu chemické přenašeče – **nervové**

11. FOTOSYNTÉZA

11.1 Podstata fotosyntézy

Fotosyntéza je základním procesem vzniku organických látek v biosféře.

Fotosyntéza se jí říká proto, že k přeměně jednoduchých anorganických látek (CO₂ a H₂O) na složitější organické látky (syntéze) využívají fotosyntetizující organismy energii fotonů viditelné části slunečního spektra (fotonů vlnových délek 400 až 750 nm).



V průběhu fotosyntézy tak dochází k **přeměně (transformaci) světelné energie na chemickou**, uloženou v chemických vazbách složitějších organických sloučenin – **produktů fotosyntézy**. Jedná se o **fotoautotrofní proces**. Fotoautotrofie se u organismů vyskytuje ve dvojím uspořádání (viz kapitola 2.5, str. 17).

- U **prokaryotních fototrofních bakterií** (např. u *purpurových siných bakterií Thiopedia rosea*) je zdrojem vodíku a elektronů potřebných k redukci oxidu uhličitýho sulfan (H₂S) a asimilačním barvivem *bakteriochlorofyl*. Vedlejším produktem je elementární síra.



- U **prokaryotních sinic, eukaryotních řas a vyšších zelených rostlin** je zdrojem vodíku a elektronů potřebných k redukci oxidu uhličitýho voda (H₂O), hlavním asimilačním barvivem je *chlorofyl* a vedlejším produktem je kyslík.



11.2 Průběh fotosyntézy

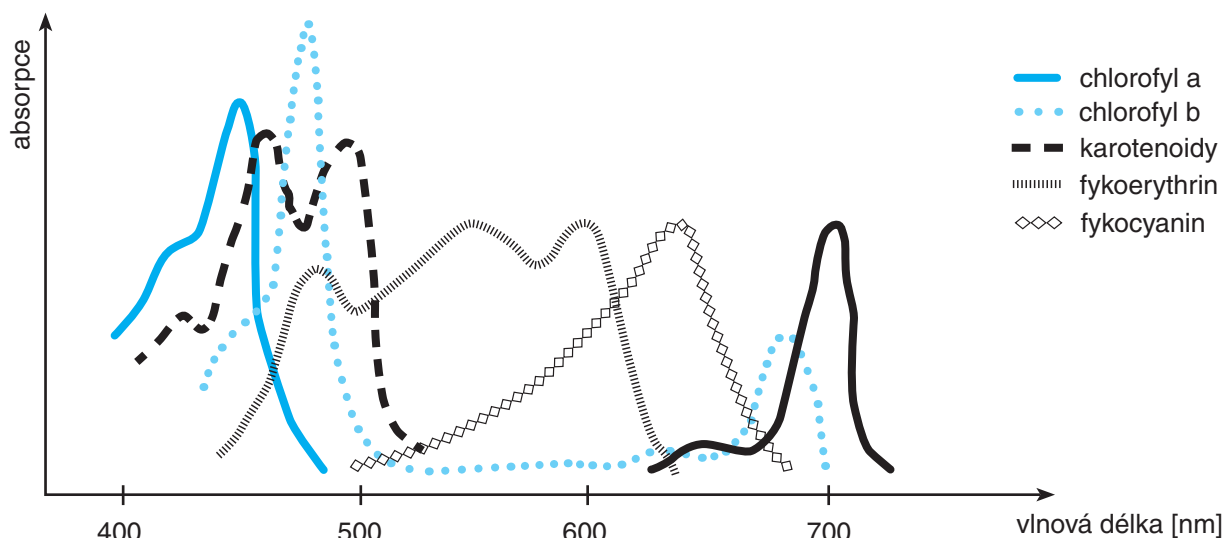
Fotony vlnových délek 400 až 750 nm zachycují barviva plastidů.

Chlorofyly a, b zachycují fotony *modrofialové* a *červené* části slunečního spektra.

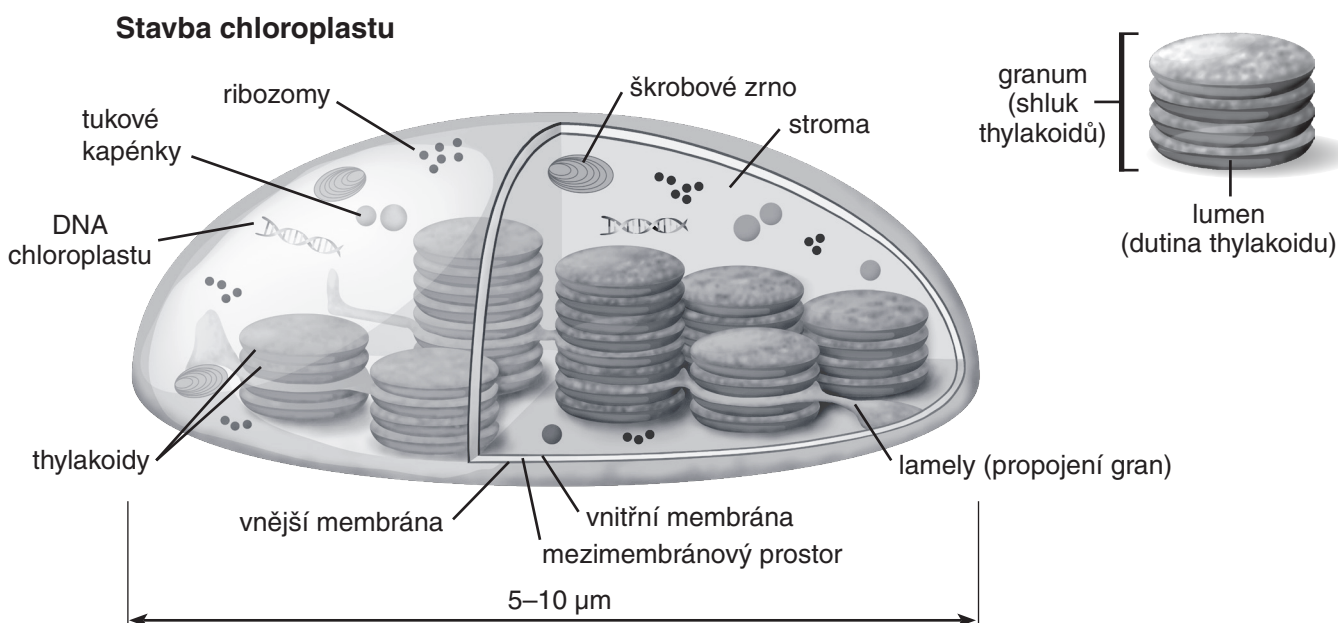
Karotenoidy zachycují fotony *modrozelené* části slunečního spektra.

Fykoerythrin a **fykocyanin** zachycují fotony *zelené* a *žluté* části slunečního spektra.

Energie fotonů zachycených výše uvedenými asimilačními barvivy je postupně předávána molekulám **chlorofylu a**, který se dodanou energií **excituje** (*uvolní energeticky bohatý elektron*).



Fotosyntéza probíhá v **chloroplastech** a zahrnuje dvě fáze: **světlou a tmavou**.



A) Světlá fáze fotosyntézy

Světlá fáze fotosyntézy probíhá v thylakoidech chloroplastů. Excitované elektrony z *chlorofylu a* jsou zachyceny molekulou přenašeče (který se tím redukuje) a ten předá elektrony dalšímu přenašeči (tím se oxiduje, zatímco tento následující přenašeč se redukuje). Přenos elektronů se tedy uskutečňuje řadou přenašečů (řadou redoxních reakcí), přičemž dochází k **uvolnění energie**, která se ukládá do chemických vazeb molekul ATP – probíhá **fotofosforylace**.

Světlá fáze fotosyntézy zahrnuje **fotolýzu vody**, **fotofosforylaci cyklickou** a **fotofosforylaci ne-cyklickou**.

Fotolýza vody

Voda je autoprotolýzou disociována:



13. NUKLEOVÉ KYSELINY

Nukleové kyseliny jsou nositelkami genetické informace organismů.

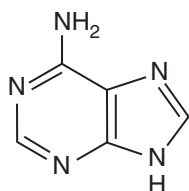
U většiny organismů je nositelkou informace **kyselina deoxyribonukleová (DNA)**, u RNA-virů **kyselina ribonukleová (RNA)**.

Nukleové kyseliny zajišťují jednak uložení informací a jednak jejich přenos z rodičů do dalších generací.

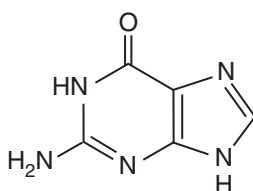
13.1 Složení a struktura nukleových kyselin

Nukleové kyseliny jsou vysokomolekulární látky, jejichž strukturními jednotkami jsou **nukleotidy**. Nukleotidy jsou tvořeny organickou bází, molekulou monosacharidu a zbytkem kyseliny trihydrogenfosforečné (fosfátem).

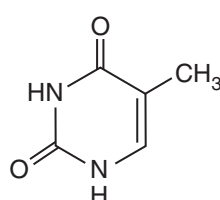
Molekula DNA obsahuje 4 báze: dvě purinové (**adenin A** a **guanin G**) a dvě pyrimidinové (**cytosin C** a **thymin T**); dále obsahuje sacharid **2-deoxy-β-D-ribosu** a **fosfát**.



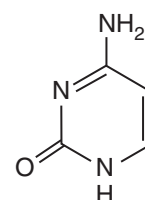
adenin (A)



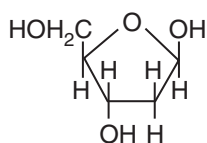
guanin (G)



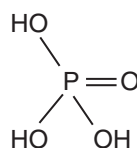
thymin (T)



cytosin (C)

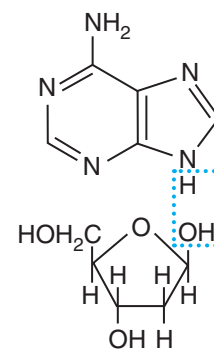


2-deoxy-β-D-ribosa



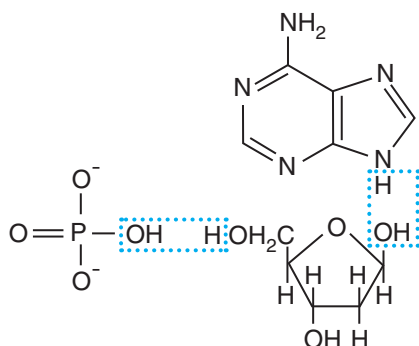
kyselina tetraoxofosforečná

Glykosidickou vazbou báze s monosacharidem vznikne *nukleosid*, například **adenosin**.

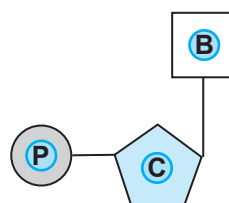


adenosin

Vazbou nukleosidu s fosfátem vznikne *nukleotid*, například **adenosin-5'-fosfát** (**nukleotid**):



adenosin-5'-fosfát (nukleotid)



obecné schéma nukleotidu

- B** – dusíkatá báze
- C** – deoxyribosa
- P** – fosfátová skupina

14. MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

14.1 Rozvoj molekulární biologie

Rozvoj tohoto odvětví biologie započal na začátku druhé poloviny 20. století. V rozmezí let 1952–1966 byla **objasněna struktura DNA**, **rozluštěn genetický kód**, byly **popsány procesy transkripce a translace**. Na začátku 70. let byla vyvinuta **nová metodologie** umožňující úspěšné experimentování. Nové metody, označované jako **technologie rekombinantní DNA** nebo jako **genové inženýrství**, jejichž podstatou bylo **klonování genů**, začaly používat techniky umožňující sekvenování DNA a určovat strukturu jednotlivých genů. Vědci se naučili spojovat polynukleotidové sekvence různého původu. Nové postupy vyvrcholily **projekty zaměřenými na sekvenování genomů organismů včetně lidského genomu**, který byl dokončen v r. 2000.

14.2 Základní postupy genového inženýrství

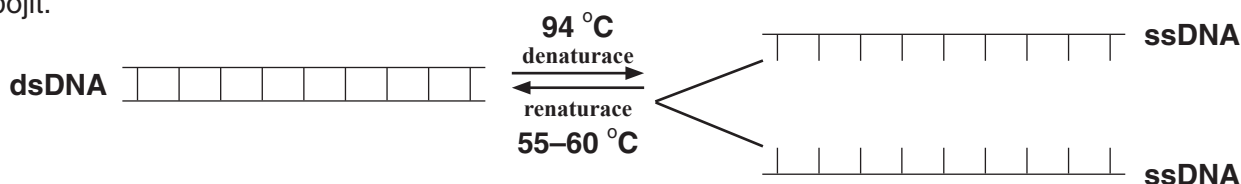
14.2.1 Izolace nukleové kyseliny

Genetičtí inženýři potřebují získat nejméně tři odlišné druhy DNA:

- Celkovou buněčnou DNA**, která se používá jako zdroj materiálu, z něhož se získávají geny, které mají být klonovány. Celkovou buněčnou DNA může být DNA bakterie, rostliny nebo živočicha. Obsahuje **genomickou DNA** organismu, vedle toho i další přítomné molekuly DNA (*mitochondriální*, u rostlin též *chloroplastovou*) včetně plazmidové DNA bakterií.
- Čistou plazmidovou DNA** z bakteriální buňky. Základní kroky její izolace jsou shodné jako v případě izolace celkové buněčné DNA, ale v určité fázi se musí použít techniky k oddělení plazmidové DNA od chromozomální.
- Fágovou DNA** izolovanou z bakteriofága. V tomto případě se speciální technikou musí odstranit fágová kapsida.

14.2.2 Podélné štěpení molekuly DNA

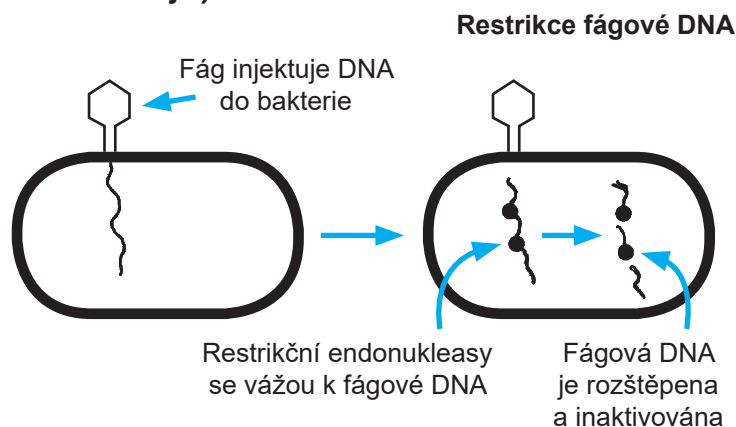
Zahřátím na 94 °C se ruší vodíkové vazby mezi bázemi a dvouřetězcová molekula **dsDNA** se rozpojí na dvě jednořetězcová vlákna **ssDNA**. Ochlazením na teplotu 55–60 °C se obě vlákna mohou opět spojit.



14.2.3 Restrikční endonukleasy („genetické nůžky“)

Restrikční endonukleasy umožňují molekulárním biologům štěpit makromolekuly DNA přesným, reprodukovatelným způsobem.

K objevu těchto enzymů na počátku 50. let 20. století vedlo pozorování, že některé bakteriální buňky jsou imunní vůči fágové infekci. Tyto buňky produkují enzym, který fágovou DNA degraduje dříve, než se může replikovat a řídit syntézu nových fázových částic (viz obr. vpravo).



15. VYUŽITÍ POSTUPŮ GENOVÉHO INŽENÝRSTVÍ V BIOTECHNOLOGIÍCH

Genové inženýrství se zabývá přípravou transgenních organismů.

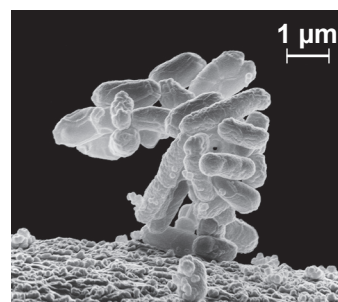
Transgenní organismus je také označován jako **geneticky modifikovaný organismus (GMO)**. Je připravován tak, že se do určitého organismu vnese gen izolovaný z organismu jiného druhu, což vede k překonání přirozené reprodukční bariéry. Takový způsob změny genetické informace se označuje jako **transgenoze**. Na rozdíl od šlechtění (které prováděl již Gregor Johann Mendel) transgenoze umožňuje získat organismy se zcela novými vlastnostmi, které klasickými genetickými postupy nelze navodit. V následujícím textu se seznámíme s využitím transgenoze v praktickém životě.

15.1 Produkce bílkovin

15.1.1 Produkce eukaryotní bílkoviny expresí genu do prokaryotní buňky bakterie *Escherichia coli*

Aby se vnesený gen projevil (*exprimoval*), musí být obklopen souborem signálů, které je buňka bakterie schopna rozeznat. Signály jsou krátké sekvence nukleotidů, které upozorňují buňku na přítomnost genu a udílejí pokyny transkripčnímu a translačnímu aparátu buňky. Mezi tři nejdůležitější signály pro geny *Escherichia coli* patří:

- **promotor**, který označuje místo, kde by měla začít transkripce,
- **terminátor**, který označuje místo na konci genu, kde by se měla transkripce zastavit,
- **vazebné místo pro ribosom**, v němž by se měl ribosom navázat k molekule mediátorové RNA (mRNA).



Kolonie bakterií *Escherichia coli*

Přestože se dnes používají již vysoce účinné vektory, produkce bílkovin z cizích genů eukaryotních buněk klonovaných v *E. coli* je stále spojena s určitými problémy. Tyto problémy lze rozdělit do dvou kategorií:

A) Problémy vyplývající se sekvence vneseného cizího genu:

1. Cizí gen obsahuje introny. Protože geny *E. coli* introny neobsahují, vzniká závažný problém, neboť bakterie nemá potřebné enzymy k odstranění intronů z transkriptu.
2. Cizí gen obsahuje sekvence, které se v *E. coli* chovají jako terminátory.
3. Kodony, které vnesený gen preferuje, translaci v *E. coli* nevyhovují. Ačkoli všechny organismy bez rozdílu užívají stejný genetický kód, který je degenerovaný, jednotlivé organismy preferují určité, pro ně vlastní kodony. Pokud klonovaný gen obsahuje velký podíl nepreferovaných kodonů, mají tRNA hostitelské buňky s translací genu problémy a výsledkem je malé množství nasyntetizované bílkoviny.

B) Problémy způsobené bakterií *Escherichia coli*:

1. *E. coli* neumí upravit rekombinantní bílkovinu. U živočišných bílkovin proběhne glykosylace (připojení cukerné složky), která je u bakterií vzácná. Bílkoviny nasyntetizované *E. coli* nejsou glykosylovány a nejsou aktivní.
2. *E. coli* nesloží bílkovinu (nedovede syntetizovat disulfidické vazby) do terciární struktury, takže bílkovina opět není aktivní.
3. *E. coli* rekombinovanou bílkovinu degraduje.



PRAKTICKÁ ČÁST



P1 AMINOKYSELINY A BÍLKOVINY

1.1 Důkaz aminokyselin ninhydrinovou reakcí

Teorie:

Při reakci aminokyseliny s ninhydrinem dochází k rozkladu aminokyselin za tvorby **modro-fialového produktu**. Reakci poskytují všechny sloučeniny s volnou α -aminoskupinou. Modré zbarvení poskytují všechny *proteinogenní aminokyseliny* s výjimkou *prolinu* (který dává žluté zbarvení) a *argininu* (který poskytuje zbarvení oranžové). Jedná se o velmi citlivou reakci, a proto se také používá ke **kvantitativnímu stanovení a k detekci aminokyselin při chromatografii**.



Pomůcky:

- 0,25% roztoky aminokyselin v 10% isopropanolu
- 0,1% roztok ninhydrinu v ethanolu



Postup:

Kapkovací zkouška. Na filtrační papír kápněte mikropipetou kapku roztoku aminokyseliny a vedle ní kapku činidla tak, aby se rozpíjející kapky na styku překrývaly. Papír zahřejte nad el. vaříčem nebo v sušárně cca na 80–90 °C.

