

Tab. 1 Příklady chybně poskládaných bílkovin u vybraných neurodegenerativních nemocí člověka. [* – charged multivesicular body protein 2b, CHMP2B]

Onemocnění	Chybně poskládaná bílkovina
Alzheimerova nemoc	amyloid prekurzorový protein k mikrotubulům přídružený protein Tau presenilin-1 apolipoprotein E
Parkinsonova nemoc	α -synuclein parkin k mikrotubulům přídružený protein Tau
Huntingtonova nemoc	huntingtin junctophilin-3 apolipoprotein L1
amyotrofická laterální skleróza	RNA-vazebný protein fúzovaný u sarkomu (FUS) TAR-DNA vazebný protein 43 (TDP-43) neurofilamentum – těžký řetězec nabitý protein multivezikulárních tělísek 2b * superoxid dismutáza [Cu-Zn]
spinocerebelární ataxie	ataxin-8 a jiné ataxiny
Creutzfeldtova–Jakobova nemoc	prionový protein PrP ^{Sc}
frontotemporální demence	TAR-DNA vazebný protein 43 (TDP-43)

kteří se soustřeďují na zvýšení aktivity chaperonů či podporu systémů k odbourávání bílkovin (obr. 1). Molekulární chaperony, zejména pak proteiny teplotního šoku (Heat shock proteins, Hsp), hrají klíčové role ve skládání, odbourání nebo narušení shluků patologických proteinů a významně se podílejí na prevenci tvorby a hromadění chybně poskládaných bílkovin. Experimentální zvýšení tvorby Hsp či jejich aktivace na zvířecích a *in vitro* buněčných modelech poskytují slibné výsledky. Testovány jsou i chemické látky (např. glycerol, dimetyl sulfoxid, trimethylamin-N-oxid), které se chovají podobně jako molekulární chaperony – zvyšují stabilitu bílkovin v globulární formě, a tím zvyšují pravděpodobnost správného skládání.

Nově vyvíjené postupy k aktivaci odbourávání bílkovin se zaměřují na oba hlavní

systémy pro degradaci bílkovin, tedy ubikvitin-proteazomový systém i autofagii. Chybně poskládané a ubikvitinované bílkoviny mohou blokovat aktivitu proteazomu, až ho dokonce přímo ucpat (např. prionový protein bohatý na struktury skládaného listu nebo ubikvitinovaný a agregovaný Tau protein), proto se aktivátory proteazomového systému jeví jako správná cesta pro vývoj nových terapií. Vývoj aktivátorů však zatím není příliš úspěšný, většina testovaných látek nevykazuje dostatečnou účinnost. Výjimkou může být rolipram, který u myšího modelu aktivoval proteazom a snižoval agregaci proteinu Tau.

Mezi stimulatory autofagie se jeví nadějnou molekulou rapamycin. V buňkách inhibuje kinázu mTOR, která se podílí na regulaci buněčného dělení, apoptózy a autofagie. U transgenických myších modelů Alz-

heimerovy, Parkinsonovy nebo Huntingtonovy nemoci a u transgenických myší exprimující prionový protein PrP^{Sc} rapamycin podporoval odstraňování patologických agregátů bílkovin, zlepšoval poznávací a motorické schopnosti myší a zpomaloval neurodegeneraci mozku těchto zvířat. Na druhou stranu u myšího modelu amyotrofické laterální sklerózy (ALS) rapamycin aktivitu autofagie naopak snižoval. Různorodé účinky rapamycinu zahrnují i prodloužení délky života a oddalování stárnutí pokusných zvířat. U člověka se využívají imunopresivní účinky rapamycinu pro předcházení rejekci (odvržení) u transplantací ledvin. Další aktivátory autofagie, včetně přírodních substancí kurkuminu a resveratrolu, jsou nyní v klinickém testování. Nevýhodou aktivátorů autofagie založených na inhibici mTOR dráhy jsou jejich vedlejší účinky, zahrnující mimo jiné narušení metabolismu cukrů a tuků vedoucí např. k cukrovce (diabetu 2. typu).

Do vývoje léčby neurodegenerativních nemocí způsobených ukládáním chybně poskládaných bílkovin je celosvětově investováno obrovské úsilí vědeckých týmů i nemalé finanční obnosy. Vývoj léčby ale komplikuje ne zcela přesně známá fyziologická funkce bílkovin schopných tvořit agregáty a neznámé vlastnosti různých forem těchto bílkovin. Zároveň je velmi obtížné najít spolehlivé biomarkery, které by se daly použít ke sledování účinnosti nově vyvíjených terapií, zejména pak u neurodegenerativních nemocí s pomalým chronickým průběhem.

Práce vznikla za podpory Grantové agentury České republiky (reg. č. 19-01747S).

Použitou literaturu uvádíme na webu Živy. K dalšímu čtení Živa 2014, 6: 262–265; 2016, 6: 274–277 a 2017, 1: 4–7.

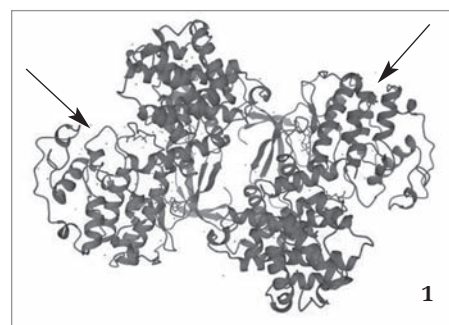
Jan Černý

Metabolické rovnováhy a zpětné vazby



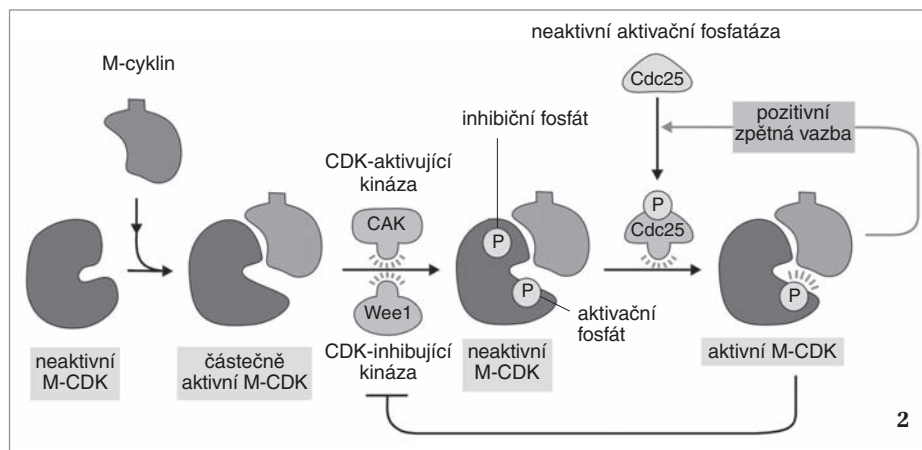
Tématem 56. ročníku biologické olympiády (2021/2022) je regulace a zpětné vazby. Vybíráme ukázkou z připravovaného textu, z kapitoly zabývající se metabolickými rovnováhami, termoregulací, příjmem a výdejem látek. Náš metabolismus představuje koordinovaný orchestr tisíců chemických reakcí katalyzovaných enzymy, které se v některých bodech stýkají, navazují na sebe, využívají společných meziproductů, občas jdou proti sobě. Jednou z fyzikálních vlastností těla, která přímo ovlivňuje rychlost chemických reakcí, tekutost membrán či aktivitu membránových transportérů, je teplota. Rychlost enzymatických reakcí dále závisí na koncentraci reaktantů a produktů a je regulována změnou tvaru (konformací) příslušného enzymu, které se zde budeme nyní věnovat blíže.

K regulaci dochází vazbou jiné bílkoviny nebo metabolitu, která v obou případech může vést k aktivaci či inhibici. Podobně fungují posttranslační modifikace, např. kovalentní vazba organické nebo anorganické molekuly do struktury enzymu (viz také str. 282–285 této Živy). Velice časté jsou regulační fosforylace – navázání zbytku kyseliny fosforečné na postranní řetězce aminokyselin. V našich buňkách dochází nejčastěji k fosforylaci aminokyselin serinu, treoninu a tyrozinu. Všechny tyto aminokyseliny mají ve své struktuře -OH skupinu, která se reakcí s adenosin trifosfátem (ATP) esterifikuje. Navázaný fosfát je původně posledním třetím „P“ ve struktuře ATP. Tuto reakci katalyzují kinázy, odštěpení fosfátu pak fosfatázy. Oba typy enzymů mohou být aktivační, nebo inhibiční.



1 Dimer fosforylované cyklin-dependentní kinázy-2 (CDK, na obrázku jsou označeny šipkou) navázané na cykliny A. Na <https://www.rcsb.org/3d-view/1JST/1> si s touto strukturou můžete otáčet, zvětšovat ji a identifikovat jednotlivé aminokyseliny. Podle: D. Sehnal a kol. (2018)

Konkrétní situaci si popíšeme na jedné z nejdůležitějších buněčných bílkovin – cyklin-dependentní kináze (CDK, obr. 1), která reguluje buněčný cyklus. Jestli je CDK aktivovaná nebo inhibovaná, přímo souvisí s tím, zda (a kdy) se buňka rozdělí, případně zůstane v klidovém stavu.



2 Složitá regulace aktivity CDK, která v plně aktivním stavu zajišťuje vstup buňky do další fáze buněčného dělení, v tomto případě mitózy (M ve zkratce cyklinu a CDK je odvozeno právě od této fáze buněčného cyklu). Blíže v textu. Orig. R. Bošková, upraveno podle B. Albertse a kol. (Molecular Biology of the Cell, 2002)

méně). Plně aktivní CDK inhibičně fosforyluje inhibiční kinázu Wee1. Tímto způsobem se CDK brání zablokování své vlastní kinázové aktivity. Zároveň se plně rozběhne aktivací fosfatáza Cdc25 pomocí aktivace fosforylovat. Tímto způsobem je zajištěno, že CDK nemůže být po určitou dobu vypnuta inhibiční kinázou a současně na to „dohlíží“ aktivovaná aktivací fosfatáza. CDK je tak sama sobě strážcem své aktivity. A jak to celé končí, když proběhne mitóza? Do hry se zapojí další způsob regulace buněčných dějů – kontrolovaná destrukce proteinů. Jaká z molekul se zde nabízí k likvidaci? Samozřejmě cyklin.

Za normální situace děj funguje jako dobře promazaný hodinový stroj. Vše složité je ale náchylné k chybám – v tomto případě mutacím. Pokud je takto inaktivována inhibiční molekula, buněčný cyklus ztratí „brzdový systém“, jestliže dojde k inhibici aktivací molekuly, tak přijde o „plynový pedál“. Ve studijní brožurce k Biologické olympiádě přiblížíme výsledek mutací v inhibiční kináze Wee1 nebo aktivací fosfatáze Cdc25 na snímcích zachycujících regulaci buněčného cyklu u modelového organismu buněčné biologie kvasinky *Schizosaccharomyces pombe*.

Více v materiálech, které budou zveřejněny na <https://biologickaolympiada.cz/cz>.

Regulace buněčného dělení je velice složitý děj, do něhož vstupuje velké množství informací. Buňka se může dělit jen tehdy, pokud je „zdravá“, má dostatek energie, je dostatečně velká, nemá poškozenou genetickou informaci, má dost organel pro dvě dceřiné buňky, má replikovanou DNA a centriolu, je v kontaktu se správnou mezibuněčnou hmotou. V řadě případů navíc pokračuje buněčným cyklem jen za předpokladu, že z vnějšího prostředí přichází informace o potřebnosti buněčného dělení (např. během hojení nebo při aktivaci imunitní odpovědi).

Na obr. 2 je zachycena komplikovaná, ale vysoce logická regulace aktivity CDK. Jak již bylo zmíněno, jen plně aktivovaná CDK zajistí vstup buňky do další fáze buněčného cyklu – v tomto případě do buněčného dělení, mitózy. CDK se v buňce může fyzicky nacházet ve velkém množství, nic to ale nemusí znamenat, důležitý je její aktivací stav. Prvním předpokladem pro aktivaci je syntéza cyklinu. Tato bílkovina vytváří s CDK komplex, bez cyklinu nemůže být CDK plně aktivní. Logicky

syntéza cyklinu probíhá v reakci na splnění požadavků pro úspěšné buněčné dělení. Po vzniku komplexu CDK/cyklin vstupují do hry další kinázy – CDK-aktivující kináza (CAK) a inhibiční Wee1. Obě zprostředkovávají různé typy signalizací – stimulační a blokující. V této fázi má CDK ve své struktuře jak inhibiční, tak aktivací fosfát, výsledkem je neaktivní CDK. K aktivaci může dojít odstraněním inhibičního fosfátu aktivací fosfatázou Cdc25, která je sama uvedena do funkčního stavu fosforylací kinázami přinášejícími informaci, že jsou splněny všechny nezbytné podmínky pro rozdělení buňky. Aktivovaná fosfatáza pak odstraní inhibiční fosfát z komplexu CDK/cyklin a CDK plně aktivuje. Buňka se tak dostane do situace, kdy musí nutně pokračovat v buněčném cyklu dalšími kroky a buněčné dělení dokončit. Pokud tak neučiní, umírá z důvodu tzv. mitotické katastrofy programovanou buněčnou smrtí. Aby se zabránilo tomu, že by si buňka mohla vše „rozmyslet“, vstupuje do hry pozitivní (zesilující – čím více, tím více) a negativní zpětná vazba (zeslabující – čím více, tím

systémem bdělosti epidemiologické služby na principu rychlého a koordinovaného zvládnutí potenciálních nákaz se dodnes řídí Světová zdravotnická organizace. Neváhal nasazovat krk a zdraví také u nás, při epidemii skvrnitého tyfu koncem války v Terezíně. K. Raška se narodil v r. 1909 v malé obci Strašín na Šumavě do učitelské rodiny. Absolvoval gymnázium v Sušici a poté odešel do Prahy studovat medicínu. Jako první na světě např. popsal přítomnost původce syfilis v srdeční chlopní mrtvé ženy. Jako vojenský lékař spolupracoval s Mikrobiologickým ústavem lékařské fakulty UK a již ve 30 letech se stal vedoucím oddělení epidemiologie a mikrobiologie Státního zdravotnického ústavu. Po válce se zaměřil na střevní a streptokokové nákazy, dále na žloutenku, dětskou obrnu, záškrt a dávný kašel. Významně se podílel na boji s tuberkulózu. Jeho projekty na eliminaci nákaz, proti kterým existovaly očkovací látky, dosáhly úspěchu po celém světě. Cenu převzal jeho syn, molekulární biolog Ivan Raška.

Slavnostní večer proběhl v Den české státnosti 28. září 2020 ve Státní opeře v Praze. Večer završila hra Dejvického divadla Elegance molekuly, věnovaná A. Holému.

Více na www.nfneuron.cz

Mimořádné ceny Neuron za boj proti virovým a bakteriálním nákazám

Vymýcení pravých neštovic, léčba lidí s HIV nebo vývoj přípravků viread a remdesivir. Za tyto a další světové úspěchy vděčíme českým vědcům Tomáši Cihlářovi a Karlu Raškovi, Nadační fond Neuron jim proto letos udělil mimořádnou cenu.

● Virolog Tomáš Cihlář ji obdržel za vědecký objev a podíl na vývoji virostatik proti závažným virovým onemocněním a za celkové zásluhy o českou i světovou vědu. Rodák z Chomutova po studiu na gymnáziu pokračoval na Vysoké škole chemicko-technologické v Praze. Věnoval se oboru bioinženýrství a kvasné chemie. Na Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR pak absolvoval postgraduální studium, při kterém se zabýval výzkumem antivirových látek. Po ukončení studia odešel na stáž do americké farmaceutické společnosti Gilead Sciences, kde se zabýval vývojem anti-

rotik, zejména přípravků proti infekci HIV. Jeho bádání inspiroval svými výzkumy prof. Antonín Holý – řadu jeho principů se svým stočlenným týmem v Gilead využil právě při výběru a testování remdesiviru. Ačkoliv žije a pracuje za oceánem, profesně komunikuje s českou vědeckou komunitou, zejména s Ústavem organické chemie a biochemie, jehož chemici zkušenostmi a kreativitou přispěli k vývoji léčiva. Peněžní prémii milion a půl Kč, která je součástí ocenění, chce mimo jiné vrátit zpět do podpory vědy a mladých vědců hlavně v oblasti boje proti infekčním onemocněním.

● Zakladatel moderní československé epidemiologie prof. Karel Raška je nositelem Čestné ceny Neuronu, *in memoriam*, za celoživotní přínos vědě a celosvětovou eradikaci viru černých neštovic. Patří k nejvýznamnějším osobnostem naší vědy, jeho