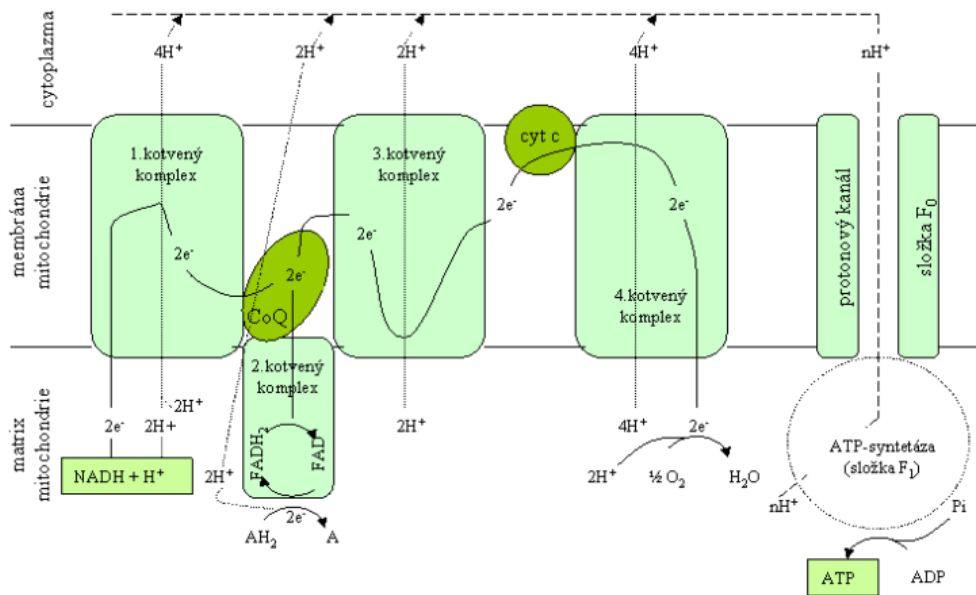
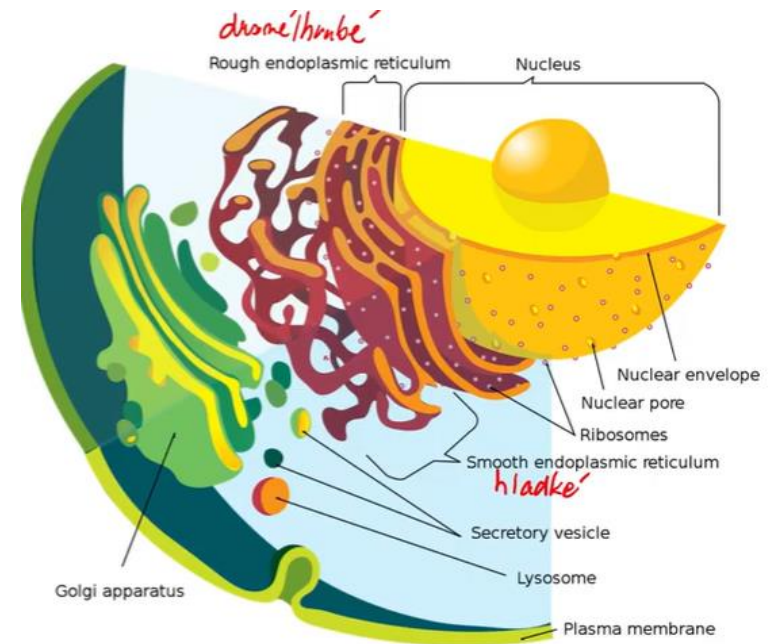


# BUNĚČNÉ ORGANELY (1. část)



Obr 1. Dýchací řetězec

Mgr. Josef Skopalík, Ph.D.



Úvodní pojmy a opakování z jiných přednášek:

- Evidence based medicine
- (Evidence based science)
  
- Autotrofní buňky x Heterotrofní buňky

Kolik % proteinů a lipidů v membráně:

50 ku 50

Vnější a vnitřní mitochondriální membrána:

taky 50 ku 50 (ale není cholesterol)

Mitochondr. memb. vnější: Fosfatydl cholin

Mitochondr. memb. vnitřní: **kardiolipin** (díky tomu geometrie kryst)

# Vsuvka 1

## Nástroje EVIDENCE BASED MEDICINE:

a) Rodokmeny (nepřímé důkazy pro dědičnost)

b) Klinické statistiky

( Počátky: Avicena

...film The Physician

Moderní: COVID-19 )



c) Pozorování vnitřní struktury buněk a jejich metabolismu

d) Ověřování procedur a léčiv na zvířatech

# Vsuvka 1

Ad c) Pozorování vnitřní struktury buněk a jejich metabolismu ...měli jste v minulých přednáškách:

-nejstarší „makro“skopické pozorování okem

-pak mikroskop

-20. století: specifické značení proteinů, takže rozlišíme „kolik a kde“ toho má nemocná buňka jinak než zdravá

-nejnověji: proteomické a genomické analýzy

(např. tzv [ELISA](#), [Wester Blot](#), [Sekvenátory](#), ...)

*Pokud pozorujeme na pacientovy = in vivo*

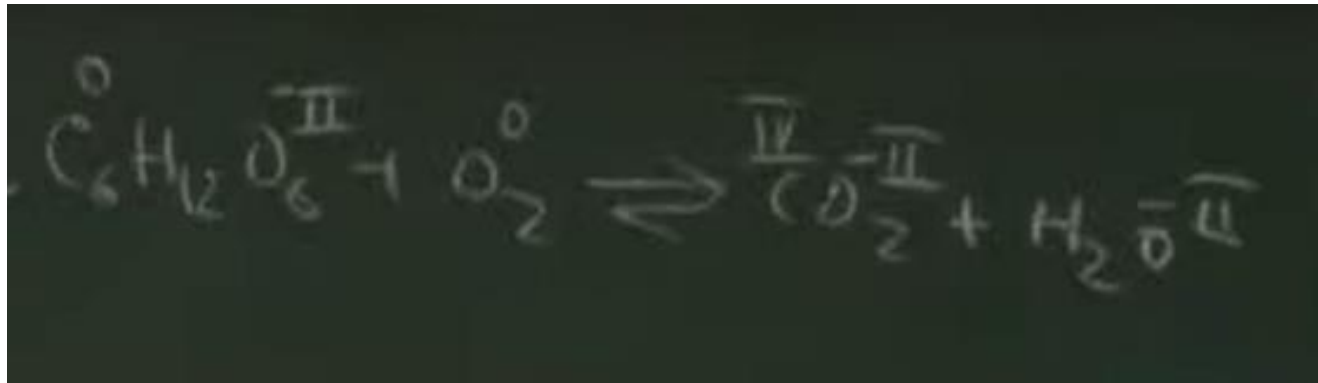
*Pokud na modelové kultuře buněk = in vitro*

# Filozofická otázka na úvod: Proč vlastně buňka má organely?

Jinými slovy: proč se to evolučně osvědčilo ?

Biochemie a biofyzika nám naznačuje, že není vhodné, aby buňka byla jedna „miska s polívkou“ kde si všechno plave v jednom kompartmentu a reaguje cokoli s čímkoli.

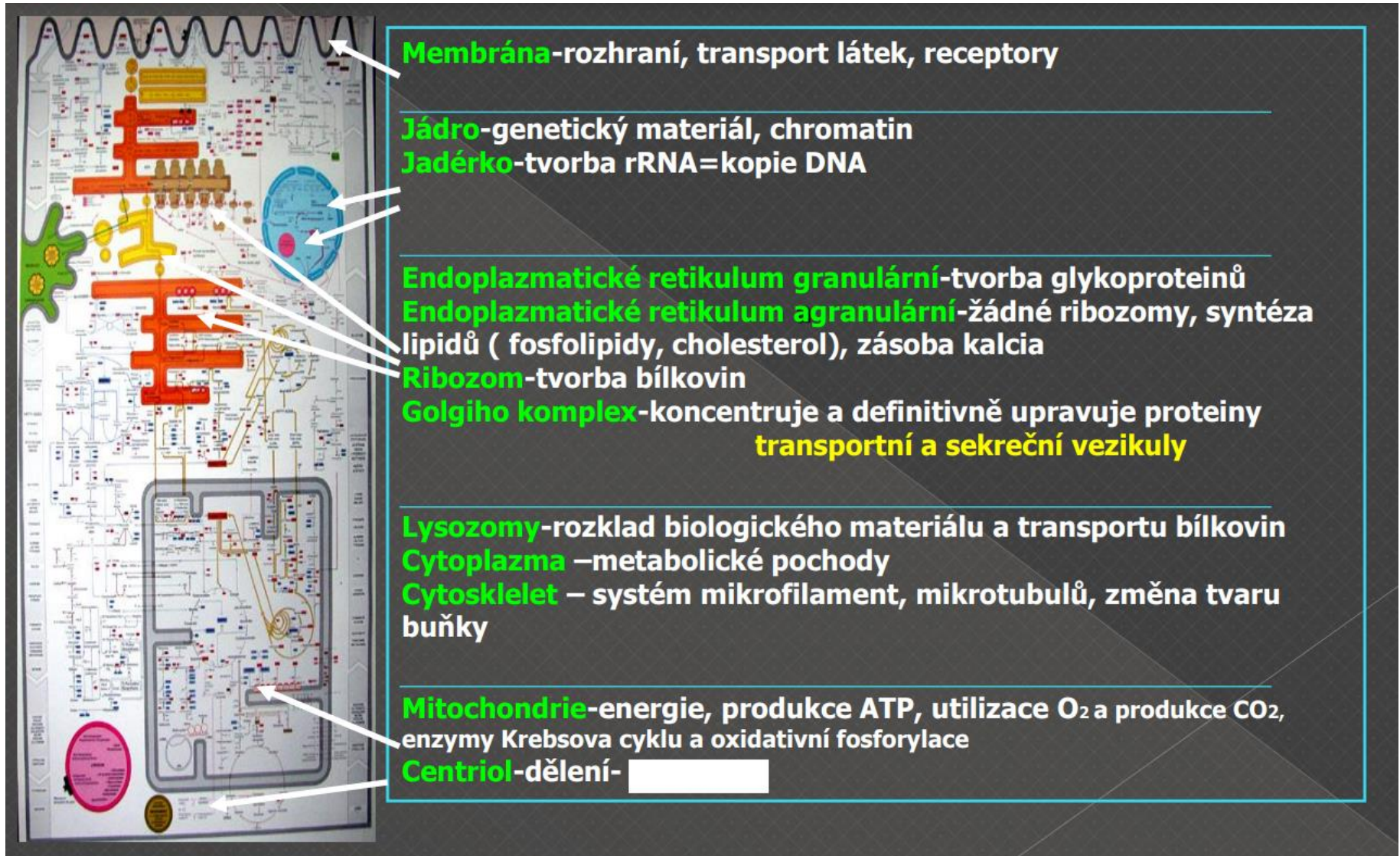
Příklad: ze střední školy znáte reakci oxidace glukózy za uvolňování energie



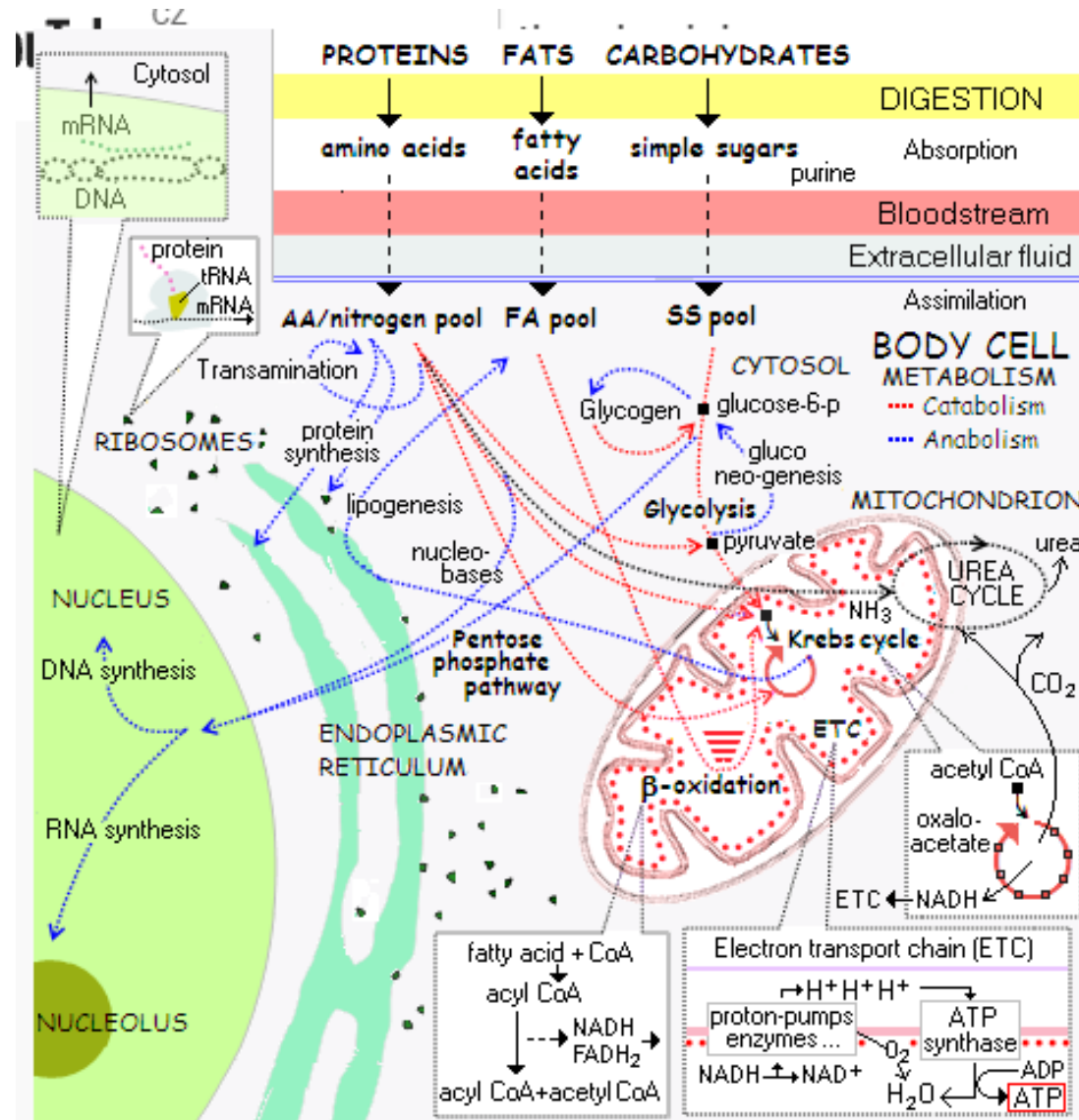
– ale takto v jednom kroku to v misce s vodou nikdy neproběhne. Jsou potřeba kompartmenty a postupná oxidace (přenos elektronů) a šikovná záchyt energie do ATP (zase jiné kompartmenty a „gradientní elektrárny“ ATP syntázy). Pak teprve proběhne a pak teprve je energie použitelná pro život buňky. (více detailu této oxidace si ukážeme u mitochondrií)



# Celkový přehled organel (mapa s vyznačením metabolického a energetického hlediska)

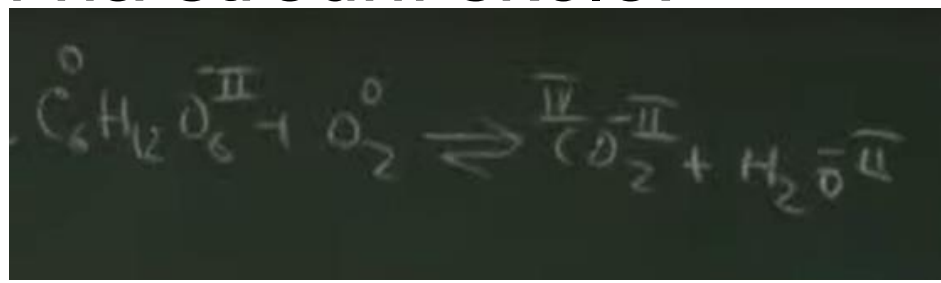


# Celkový přehled organel (mapa s vyznačením metabolického a energetického hlediska)

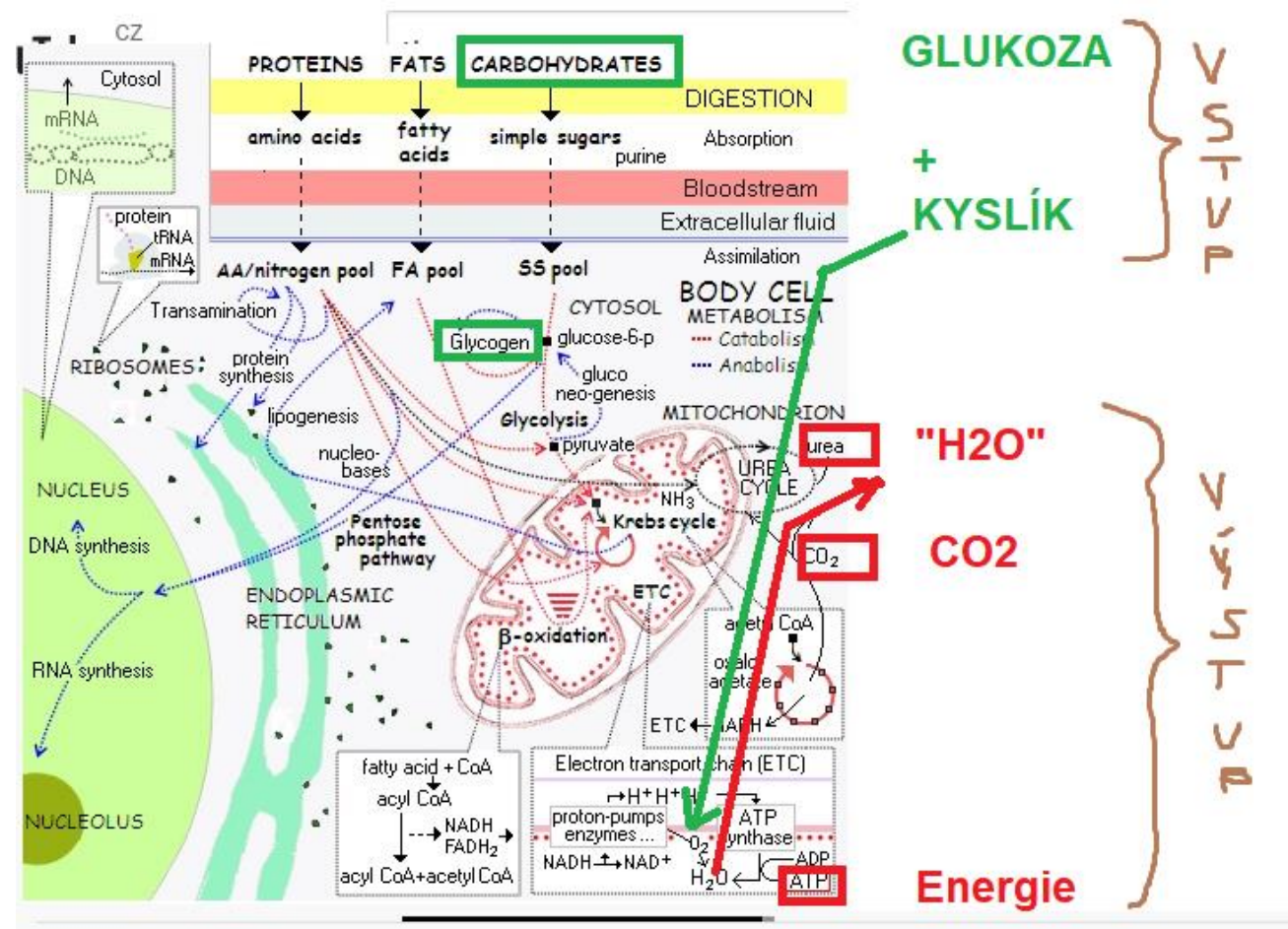




- Tohle se učí na střední škole:




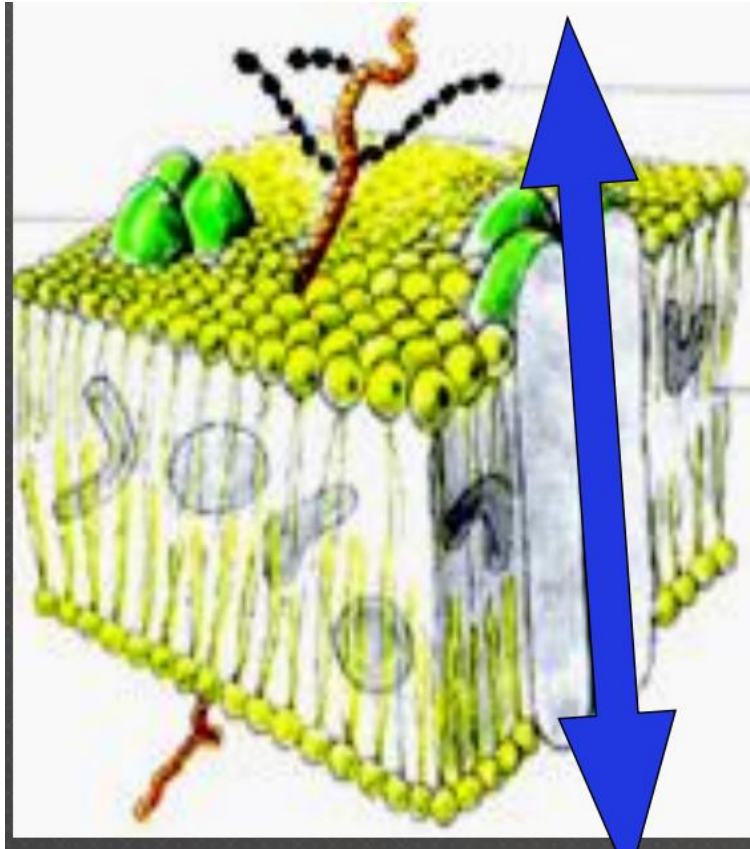
- Tohle se naučíte na univerzitě:





- Celá buňka i jednotlivé organely uvnitř buňky jsou odděleny nějakou membránou.

# Opakování - Tohle znáte z minulé přednášky o membránách



2 vrstvy fosfolipidů  
molekuly bílkovin  
molekuly polysacharidů  
kanály v membráně

# Buněčné JÁDRO

- Bude podrobně v přednášce o buněčném dělení a genomu
- Jádru má dvě základní funkce:
  - Uchovat genetickou informaci pro další generace
  - Z genetické informace vhodně vzít „mustr“ pro aktuálně potřebných proteinů.
- Membrány jádra: kapitola sama pro sebe --Velmi „děravé“ průchody v membráně

# Opakování pojmů a vztahů:

- Prokaryota: obvykle 1 kružnicová (nebo lineární) molekula (nukleoid) volně v cytoplazmě a plazmidy (kružnicové nebo lineární).
- Archea: cirkulární dsDNA rozdělené u řady zástupců do více molekul, chybí jaderná membrána.
- Eukaryota: genom segmentovaný na jednotlivé chromozomy, jádro odděleno od cytoplazmy. V cytoplazmě mitochondriální DNA (kružnicová), u rostlin navíc chloroplastová DNA (lineární!!), u někt. plazmidy (kvasinky).

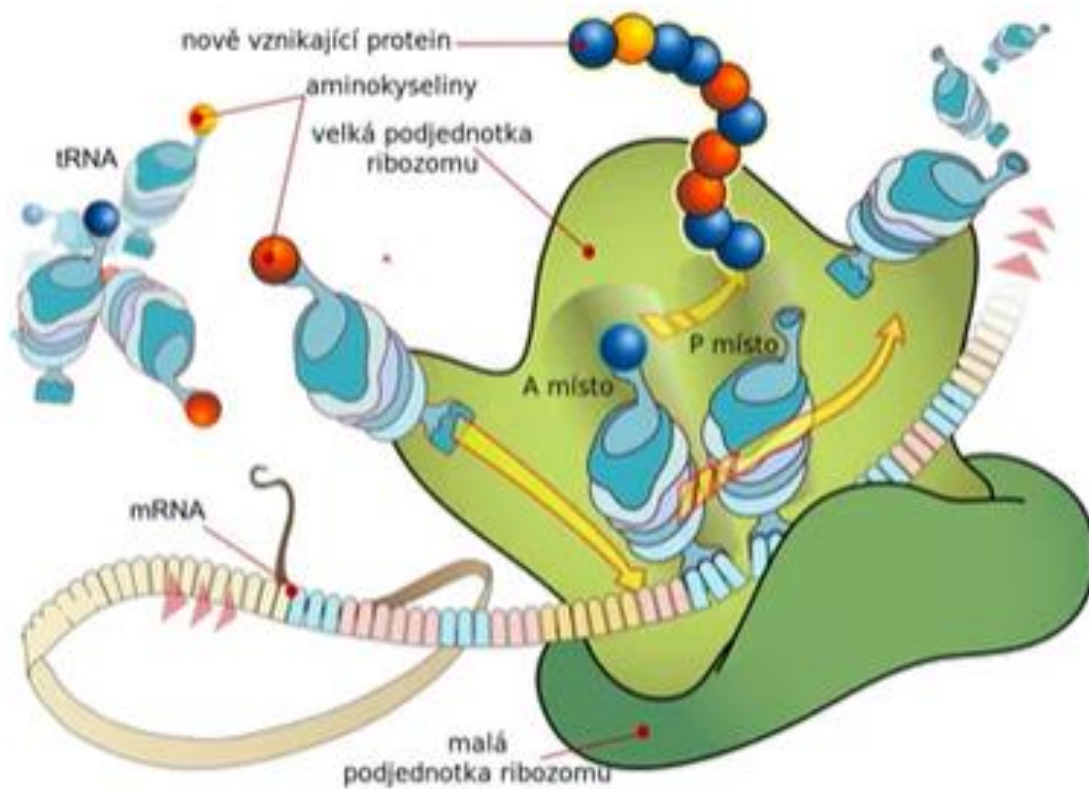
# Vsuvka2. Jaké analytické nástroje souvisí s jádrem, DNA a přepisem genů

- Funkční genomika studium biologické funkce genů (např. modely typu knock out), jejich produktů, jejich regulace vč. epigenetiky;
- Analýza transkriptomu a proteomu ... z toho vznikla Transkriptomika (microarrays, chromatinová immunoprecipitace, real-time PCR, PCR s reverzní transkripcí, ...) Proteomika (hmotnostní spektrometrie, krystalografie, dvouhybridová analýza, lokalizace proteinů pomocí GFP apod.
- Srovnávací genomika studium evoluce genomu; srovnávání genových sekvencí mezi různými genomy (shody a rozdíly, syntenní mapy) → stanovení evolučních vztahů mezi organismy, studium evoluce chromozómů, identifikace genů, regulačních sekvencí, určení funkce genových produktů



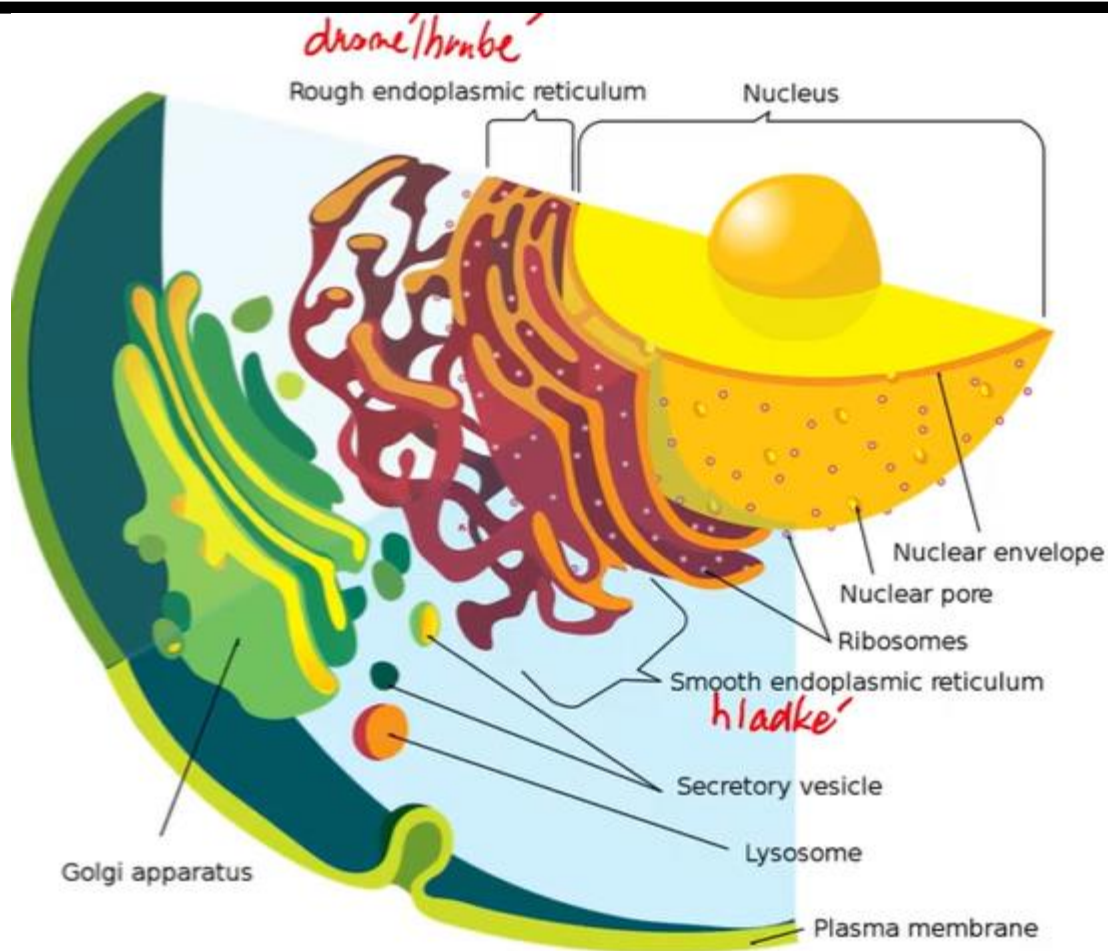
Ve 20. století pro zpracování dat z genomických analýza vznikla Bioinformatika.

. Farmakogenomika, nutrigenomika.... – sleduje jak ovlivňují farmaka a strava



[https://cs.wikipedia.org/wiki/Ribozom#/media/Soubor:Ribosome\\_mRNA\\_translation\\_cs.svg](https://cs.wikipedia.org/wiki/Ribozom#/media/Soubor:Ribosome_mRNA_translation_cs.svg)

# Endoplazmatické retikulum



Funkce:

Tvorba  
glykoproteinů a  
lipidů.

Zásobárna  
kalciových iontu  
 $\text{Ca}^{2+}$  (neříkejte  
kalcia)

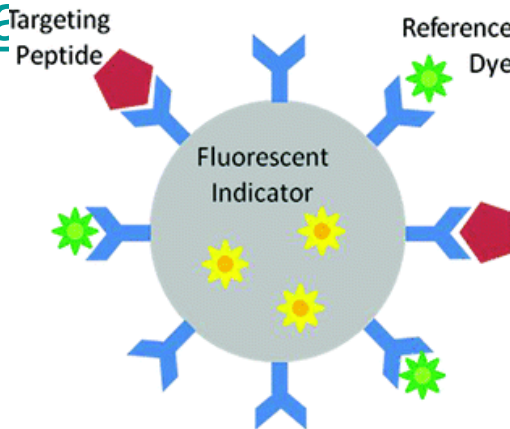
# (Sarcoplasmic reticulum)

- Jak vidíme, že koncentrace vápníku se mění?

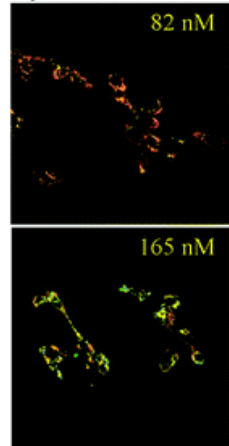
- 

Ca<sup>2+</sup> sondy pověšené na nanočástice

<http://pubs.>



Cytosolic free Ca<sup>2+</sup>



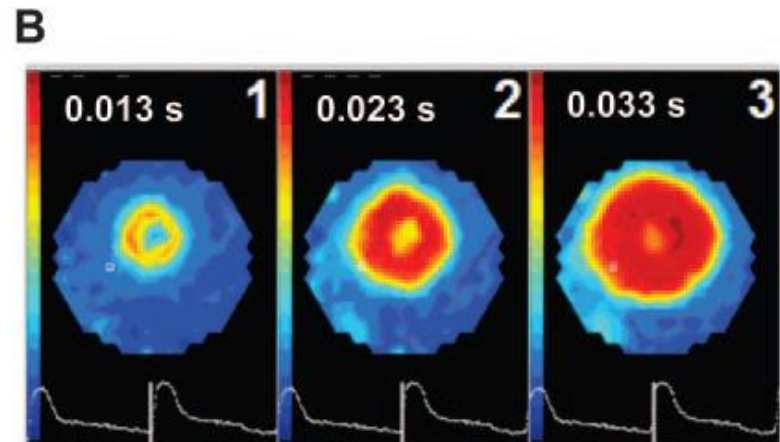
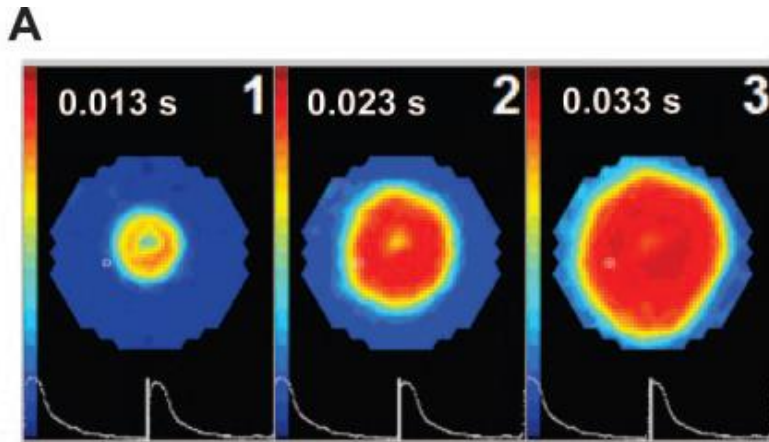
[02521e](http://pubs.)

- Svalové buňky – pravidelná změna Ca<sup>2+</sup> ( vyvolá pravidelná stah svalu)

Jak to například vypadá když  $\text{Ca}^{2+}$  se rychle vylije do cytoplasmy buňky:

- In vitro zobrazování „mexické vlny“  $\text{Ca}^{2+}$  v řadě buněk za sebou

(video plochá kultura svalů, červeně vysoká koncentrace)



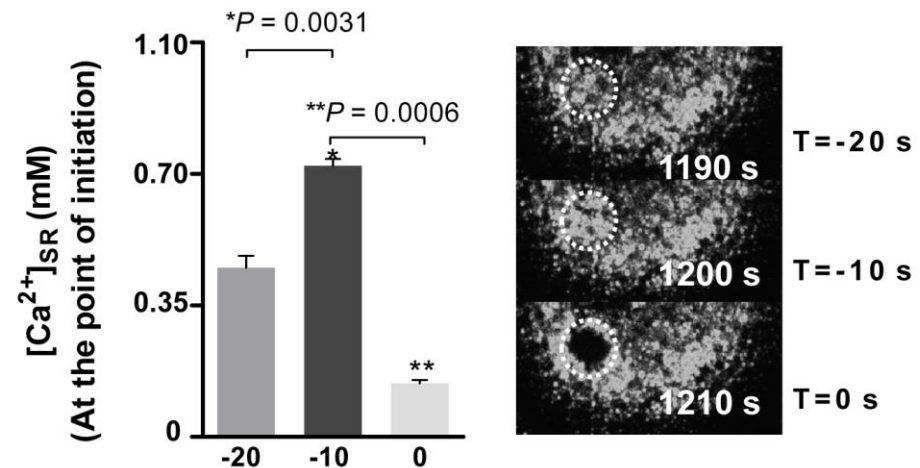


# (Sarcoplasmatic retikulum)

## Endotelové buňky

### Waves of Calcium Depletion in the Sarcoplasmic Reticulum of Vascular Smooth Muscle Cells: An Inside View of Spatiotemporal $\text{Ca}^{2+}$ Regulation

- Mitra Esfandiarei ,<sup>A</sup>
- Nicola Fameli



# MITOCHONDRIE

Cyklista: Při snídani nabral 1000 kilokalorií ze 400 gramů rýže, omelety ze tří bílků a jednoho žloutku a čtyř palačinek s džemem.

Pak během etapy dlouhé 185 kilometrů spořádal i 14 energetických gelů, dvě lahve energetického nápoje a čtyři rýžové koláčky, celkem 2348 kilokalorií.



# MITOCHONDRIE

- RIBOZOMY – vlastní proteosyntetický aparát
- DNA – vlastní genetická
- ATP syntázy – energie

(=endosymbiotická teorie)

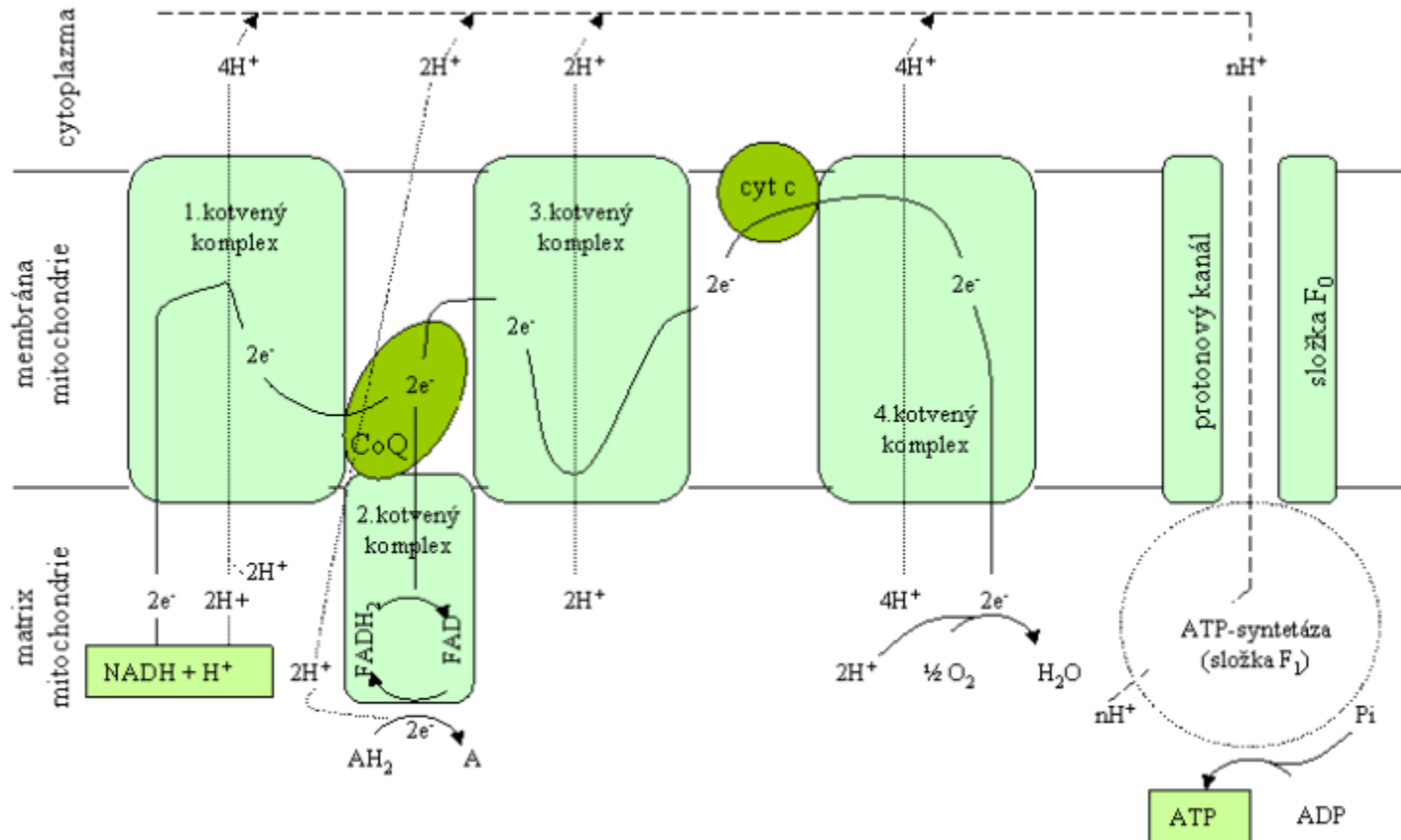
Buňka poskytuje živiny -- Mitochondrie poskytuje energii.

Mitochondrie se dělí nezávisle na buňce.

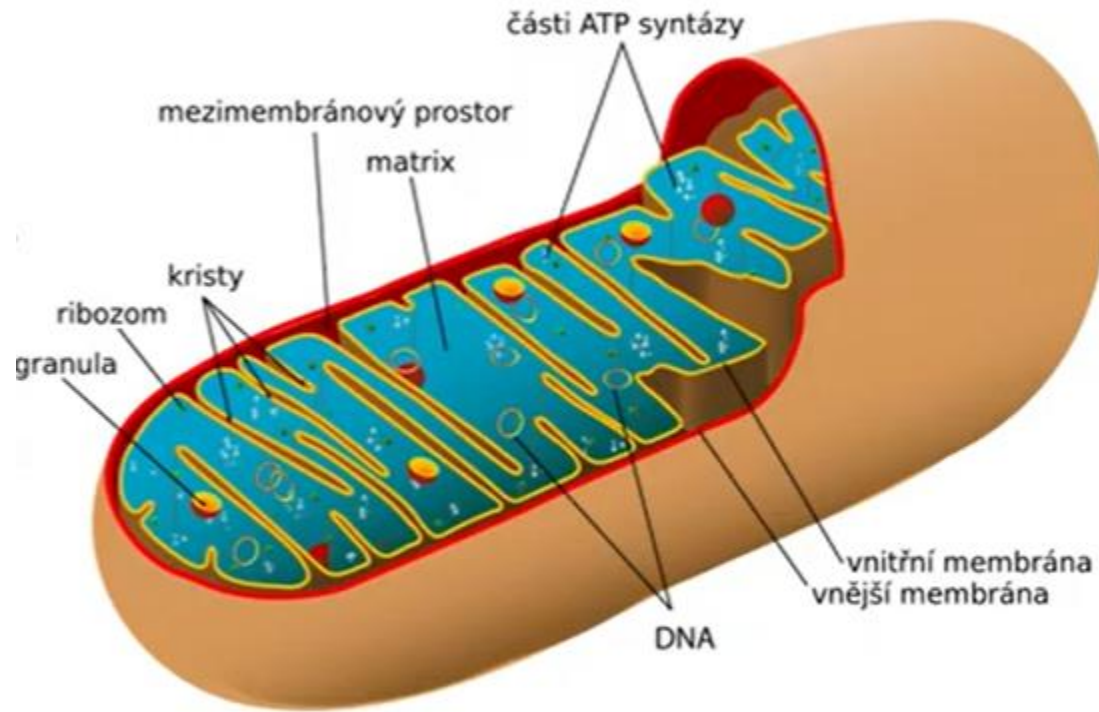
Heteroplazmie (**mitochondrie se dostanou z mateřské buňky tu více do srdce, tu více do oka, tu do plic**)

99% proteinů v mitochondrii je kodováno v jádře.

# MITOCHONDRIE



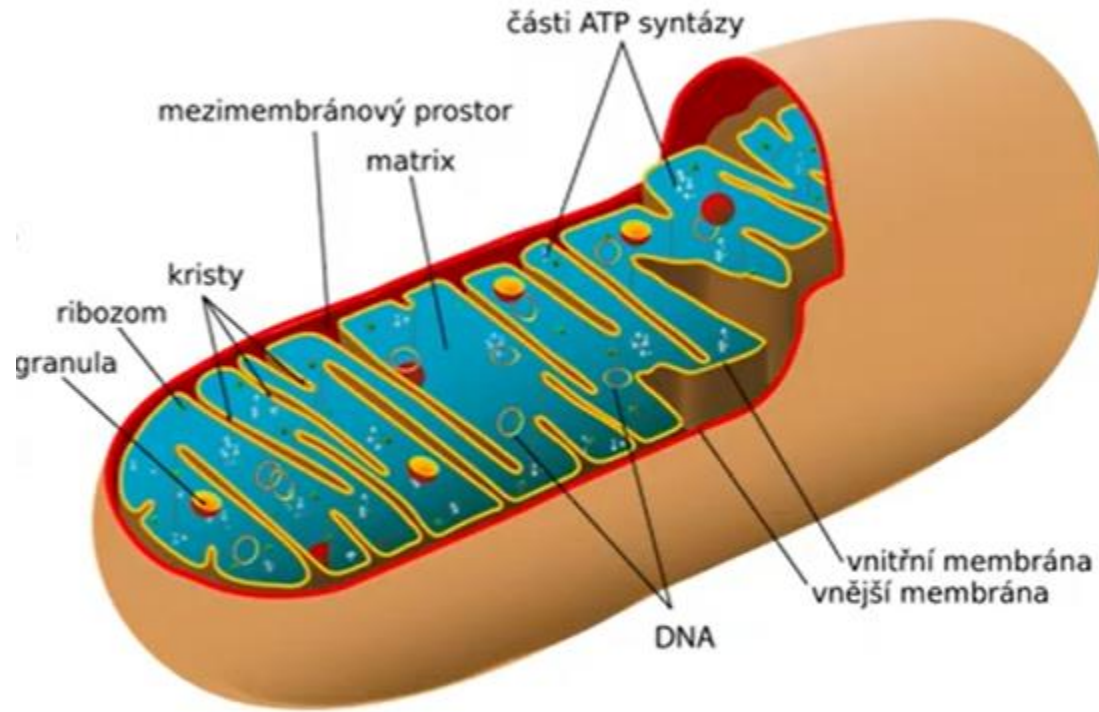
Obr 1. Dýchací řetězec



[https://cs.wikipedia.org/wiki/Mitochondrie#/media/Soubor:Animal\\_mitochondrion\\_diagram\\_cs.svg](https://cs.wikipedia.org/wiki/Mitochondrie#/media/Soubor:Animal_mitochondrion_diagram_cs.svg)

- MATRIX – dýchací řetězec
- KRISTY – Krebsův cyklus



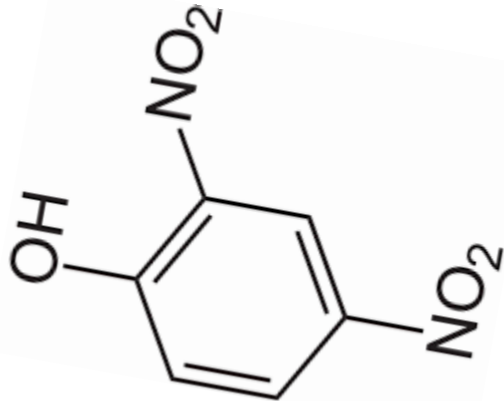


[https://cs.wikipedia.org/wiki/Mitochondrie#/media/Soubor:Animal\\_mitochondrion\\_diagram\\_cs.svg](https://cs.wikipedia.org/wiki/Mitochondrie#/media/Soubor:Animal_mitochondrion_diagram_cs.svg)

- Vnější memb. – dobře propustná (puriny)
- Vnitřní memb. – špatně pr., přenašeče (50 typů)

- **Odpřahující proteiny (UCP)**

(uncoupling proteins; UCP) patří do rodiny metabolických přenašečů vnitřní mitochondriální membrány. **Příklad vyráběného problémového:**



Zdá se, že odpřahující proteiny jsou zapojeny do mnoha fyziologických a patologických procesů: adaptivní termogeneze, regulace oxidace mastných kyselin, podíl na zánětu, prevence tvorby reaktivních kyslíkových radikálů, regulační funkce u diabetu 2. typu, regulace tělesné hmotnosti, prevence aterosklerózy a stárnutí. **UCP1 se za normálních podmínek vyskytuje pouze v hnědé tukové tkáni**, kde hraje důležitou roli v netřesové termogenezi. **UCP2 je přítomný v řadě tkání (v kosterním svalu, bílé tukové tkáni, plicích a v dalších buněčných populacích)**, UCP3 je exprimován hlavně v kosterním svalstvu, UCP4 a UCP5 se vyskytují zejména v centrálním nervovém systému, respektive v mozku.

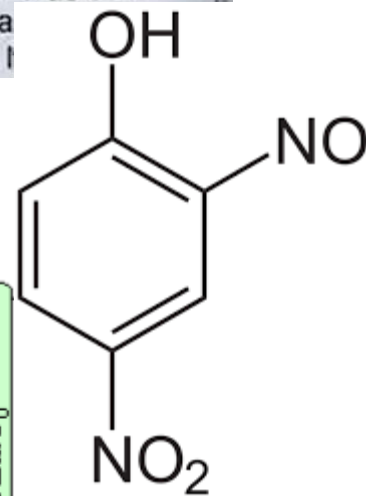
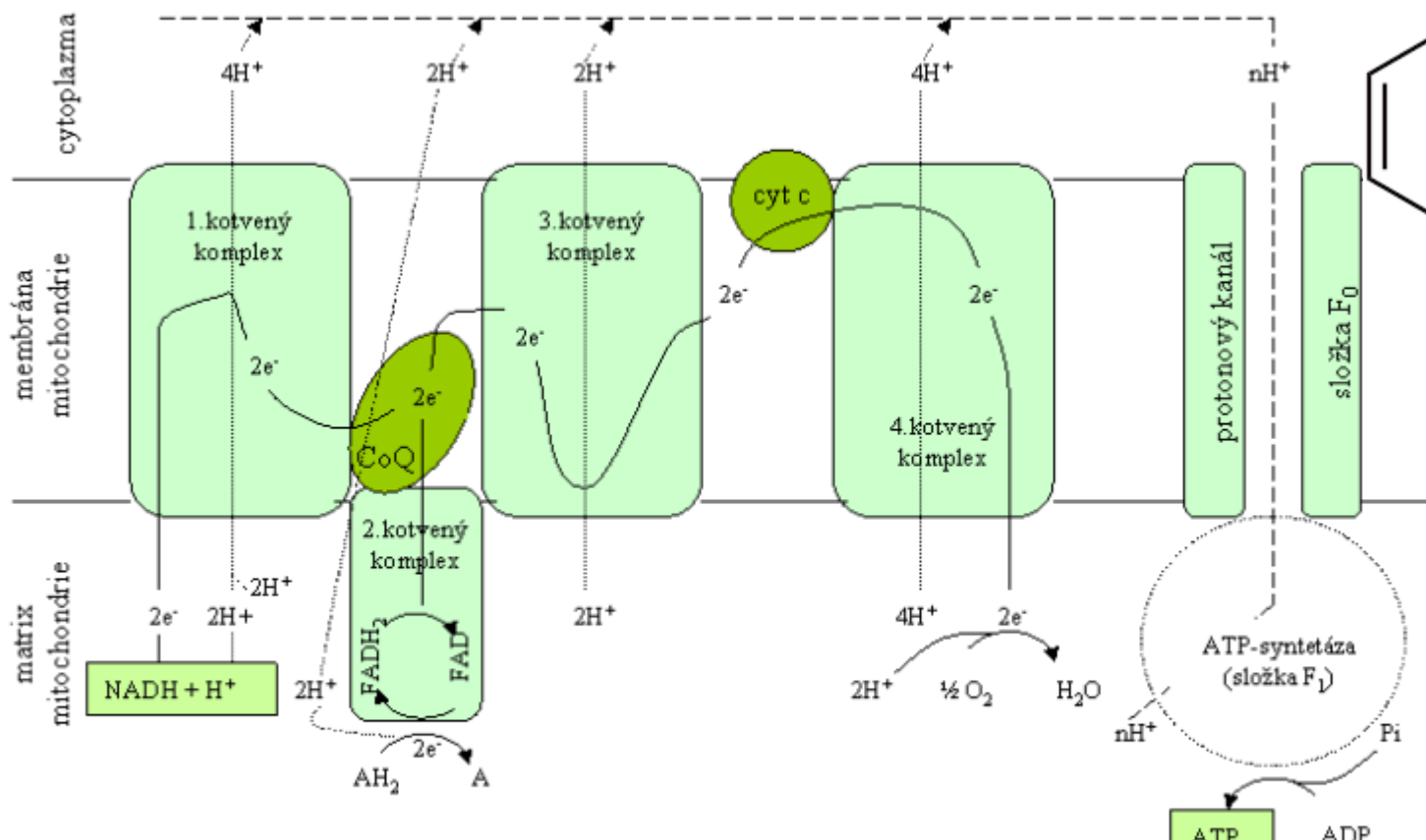
# • Odpřahující proteiny (UCP)

DNP vypada jako velm idobré léčivo na obezitu.

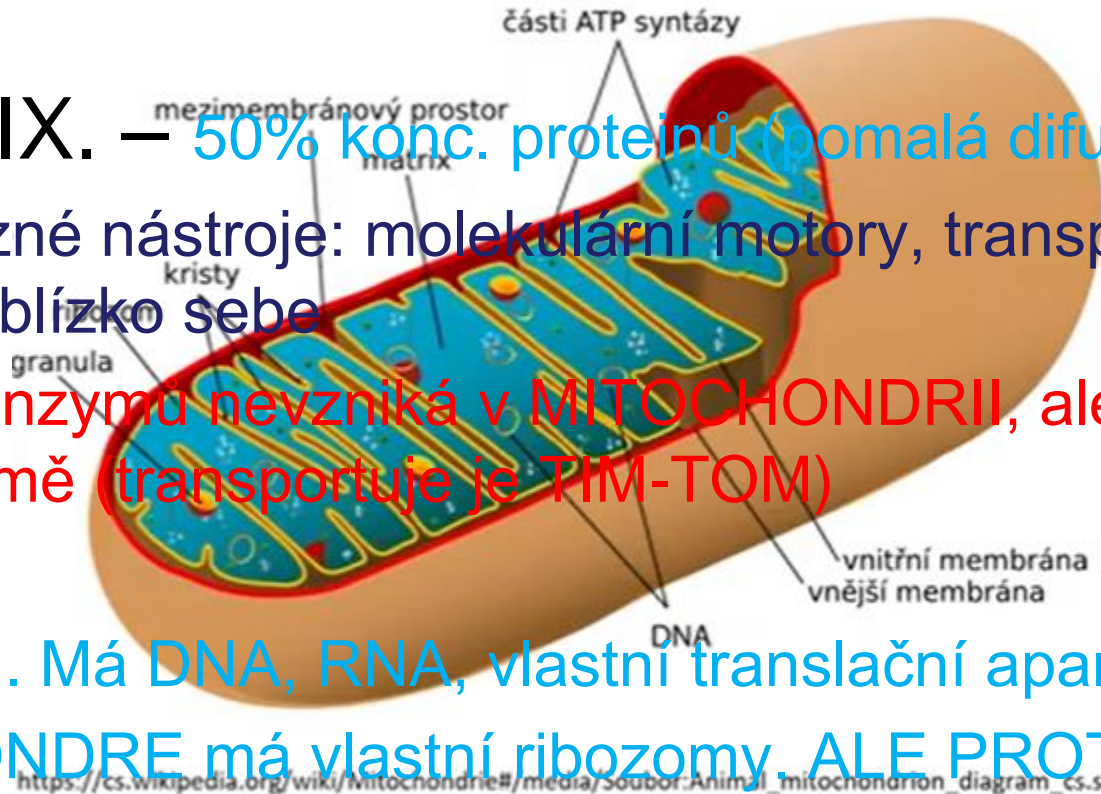
ALE PAK SE PROKAZALO

že v srdeční buňce je to problém  
a indukuje úmrtí.

(Dodnes jde ale koupit)



- **MATRIX.** – 50% konc. proteinů (pomalá difuze)
- Proto různé nástroje: molekulární motory, transportéry, proteiny blízko sebe
- Mnoho enzymů nevzniká v MITOCHONDRII, ale v cytoplazmě (transportuje je TIM-TOM)
- MITOCH. Má DNA, RNA, vlastní translační aparát
- MITCHONDRE má vlastní ribozomy, ALE PROTEINY SE syntetizují mimo mitochondrii
- Symbiotická teorie : 1 event (symbiont větší potřeboval vodík, symbiont menší byl heterotrofní)



- Pozor:

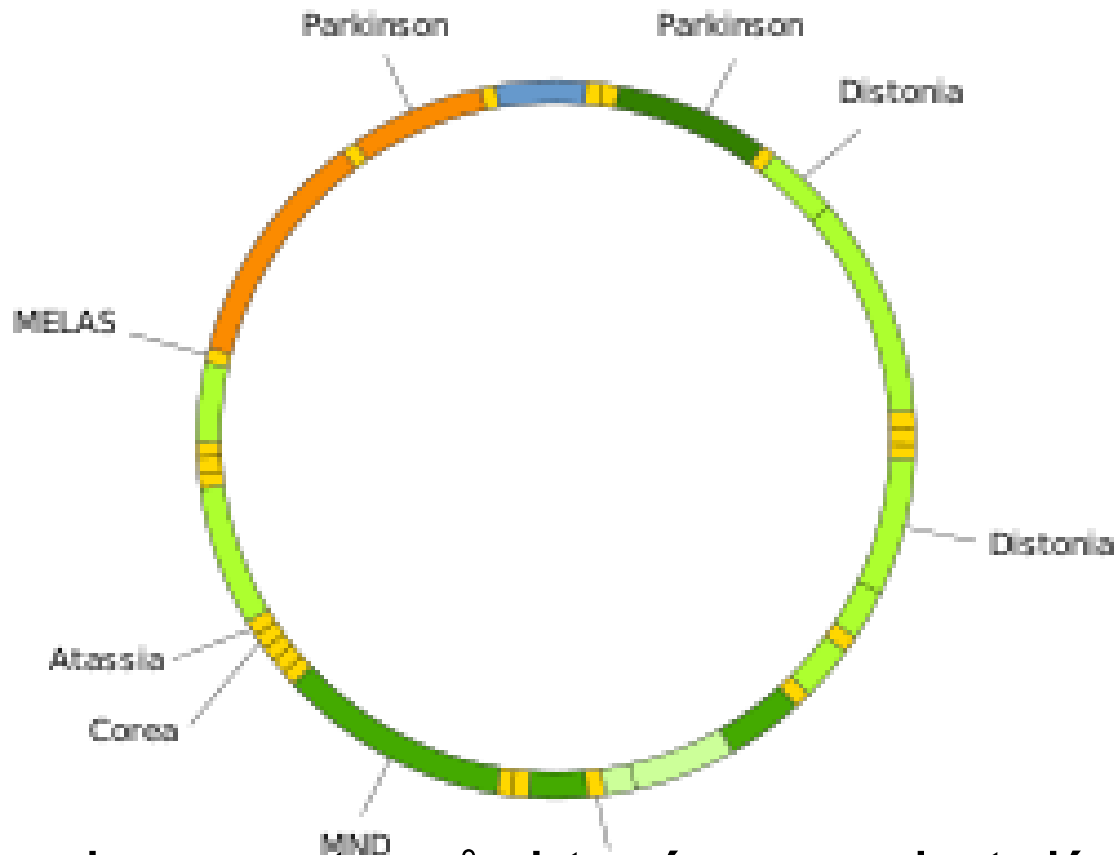
Mitochondrie není to jen o glukóze a ATP.

Beta oxidace mastných kyselin (v matrix).

Spouští řízenou buněčnou smrt. (ostatní buňky okolo využijí „náhradní díly“).

Volné radikály a viry poškozují mitochondrie, vznikají senescentní buňky (cytokiny)

# Plejáda Mitochondriálních onemocnění



Často mix symptomů, které se vyskytují v různých kombinacích – „šílené zkratky“ (VLCAD, MELAS, LHON, atd)

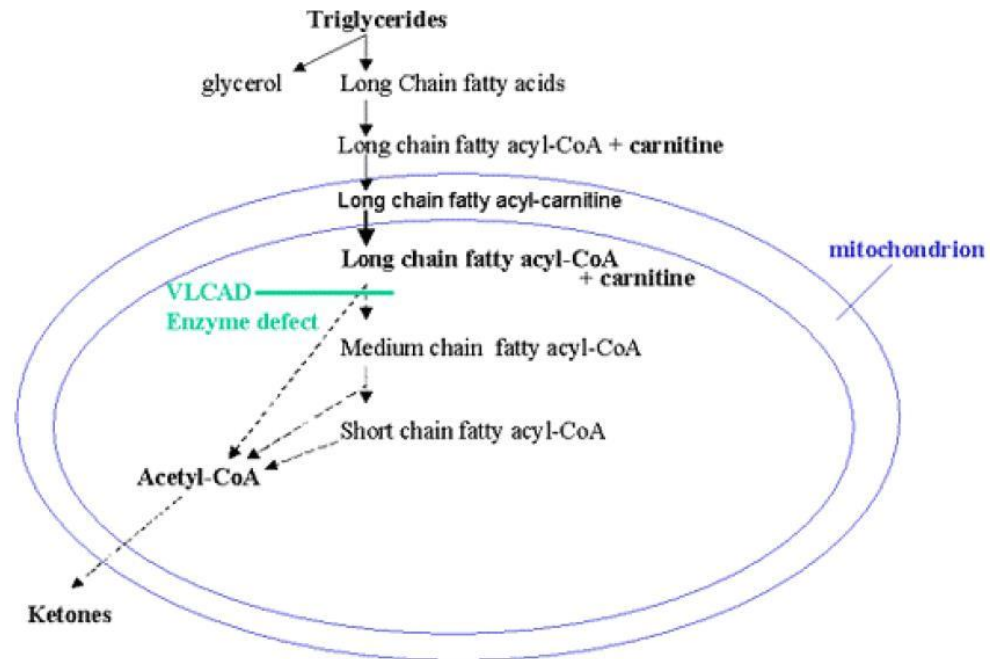


# PATOLOGIE MITOCHONDRIE

HŘEBÍČEK, Martin: *Dědičné poruchy metabolismu mitochondrií*. Přednáška pro 3. ročník (patobiochemie, všeobecné lékařství), 12. 10. 2010.

- VLCAD

Příčinou je deficit dehydrogenázy acyl-CoA s velmi dlouhým řetězcem.



- Příznaky hypoglykémie a o nutnosti zabránit hladovění dítěte.
- I při mírně probíhajícím jiném běžném onemocnění je nutná neodkladná léčba pomocí i. v. glukózy
  
- **Potvrzení diagnózy:** Analýza acylkarnitinů v suché krevní kapce (kp, = v krvi) metodou tandemové hmotnostní spektrometrie (MS/MS) prokáže zvýšenou hladinu C14:1 acylkarnitinu (a mírné zvýšení jiných acylkarnitinů s dlouhým řetězcem). Diagnóza je potvrzena analýzou mutací v genu pro VLCAD a dalšími biochemickými testy.

- MELAS (encefalopatie + laktátová acidóza + „něco jako mrtvice“)

Efekt: Nedostatek ATP

Nadprodukce kyseliny mléčné (nedostatečně funguje krabsův cyklus)

Příčina: Více zmutovaných proteinů v mitochondrii.

- LHON

(Leperova hereditární optická neuropatie)  
(dědičná postupná degenerace optického nervu)

Příčina: nedostatek ATP v buňkách sítnice

*Připomeň si: Heteroplazmie (mitochondrie se dostanou z mateřské buňky tu více do srdce, tu více do oka, tu do plic)*

## LCHAD

vyskytuje se ve dvou formách:

- izolovaný deficit, který je daleko častější.
- jako deficit mitochondriálního trifunkčního proteinu v kombinaci s deficitem 2-enoyl-CoA hydratázy a 3-ketoacyl-CoA thiolázy.

První příznaky se většinou objevují do 3 let. Nejčastější jsou ataky akutního jaterního onemocnění s nálezem hypoketotické hypoglykémie provokované hladověním, nebo jiným katabolickým činitelem

## LHON

- (Leyuv syndrom)

Nikoli problém mutace mitochondriální DNA, ale problém je v jaderné mutaci – pak se špatný protein přenáší do mitochondrie



- Léčba mitochondriálních nemocí:

**1) Nekauzální terapie** (vitamíny, uprava glykemie, ...)

**2) Kauzální terapie** („výměna mitochondrií“

- Při in vitro oplodnění (nejčastěji zdravá dárkyně + jádro vajíčka
- (Legální např v Velké Británii. Dítě pak má vlastně tři rodiče)

# Moderní téma medicíny a etiky spojené také s mitochondriální

## DNA:

### CRISPR – „nužky na genetickou informaci“

- (pro **jádro** docela funguje, zatím ale nejde dostat u **mitochondrie** přes dvě membrány)

(První pokus změny genomu v Číně:

--- 2020 anti HIV zásah

Etické problémy:

- 1) Ustříhneme: Nemůžeme vědět co například CCR5 změní například na inteligenci (pokus s myší)
- 2) Nůžky nejsme schopni zacílit jen na dané místo DNA (co když ním to vystřihne jinde)



# Mitochondrie a nádory

Důvody, proč jsou mitochondrie asi 10 krát náchylnější na poškození DNA více než DNA jaderná:

- mitochondriální DNA nemá takové **množství opravných systémů** jako jaderná DNA,
- **mitochondrií je v buňce mnoho** a jejich DNA se musí dělit stejně často jako se dělí buňka sama, **nedělí se však jen jedna mitochondrie, nýbrž všechny mitochondrie v buňce přítomné, tím stoupá pravděpodobnost vzniku chyby (v porovnání s dělením jednoho jádra),**
- mitochondriální DNA nemá histony,
- mitochondriální DNA **je velice blízko dýchacímu řetězci a tudíž i radikálům, které se při reakcích v dýchacím řetězci tvoří,** z toho důvodu je vyšší pravděpodobnost poškození její DNA těmito radikály

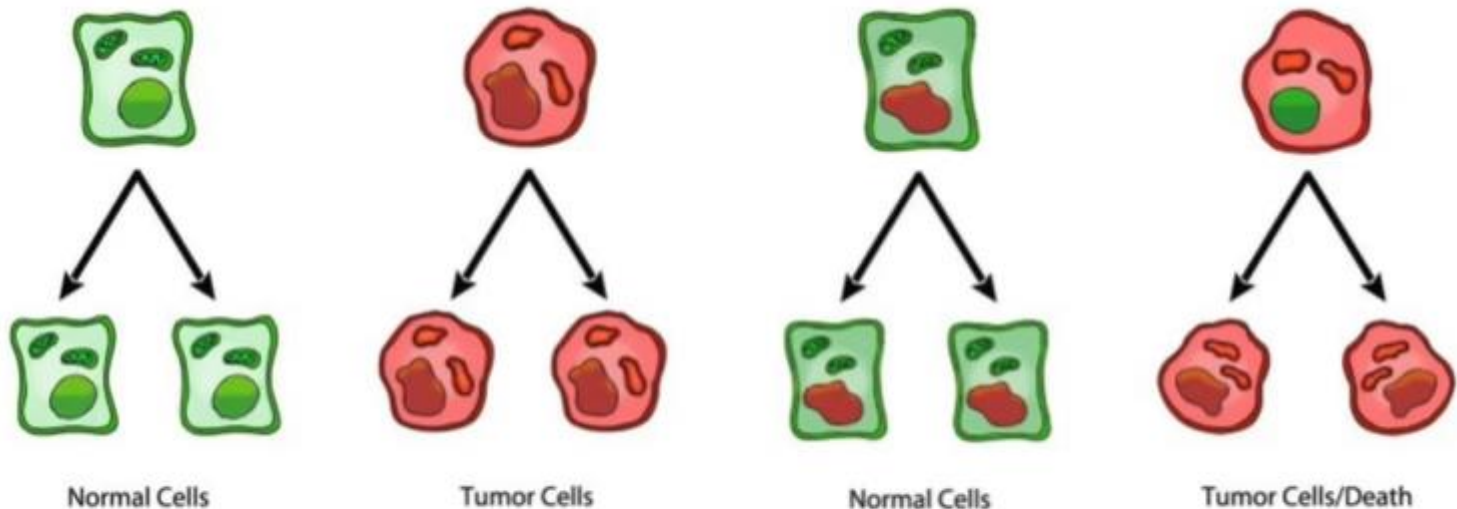
- **Mitochondrie spouští apoptozu**

- Mitochondriální DNA komunikuje s DNA v buněčném jádru a ovlivňuje některé buněčné procesy jako je zejména řízená buněčná smrt (apoptóza). Jeli buňka poškozená, jsou to právě mitochondrie, které vydají buněčnému jádru signál k likvidaci sama sebe a celé buňky.
- Tento proces má zásadní význam pro obnovování a zdraví celého organismu a umožňuje nám dlouhodobě přežít. Špatně fungující mitochondrie se manifestují jako poruchy v metabolismu a vedou k celé řadě civilizačních chorob. Není-li proces řízené buněčné smrti plně funkční, přežívají poškozené buňky, které se mohou začít nekontrolovaně množit a způsobit rakovinu.

# Mitochondrie a nádory

- Dáte mitochondrie po zátěž => množí se  
(sport, průběžný pohyb)  
(pak v normálu není jedna mitochondrie „přetěžována“ )

Výzkum: mutace jádra až následně?



# Mitochondrie a nádory

- Rakovinné buňky jsou hyperinzulinově rezistentní (stáhnou veškerou glukozu)
- **EXPERIMENT:** Výsledky jednotlivých testů pak ukázaly, že u myší trpících vysoce agresivními formami nádorového bujení **strava bez přítomnosti sacharidů** dokázala bujení zpomalit - někdy dokonce účinněji, než klasická chemoterapie.
- Katabolický stav – buňka nedělí se (a uklízí si uvnitř buňky)
- Anabolický stav – dělí se ...cíl chemoterapie  
(menší vedlejší účinky pro ostatní buňky)



- Frekvence MITOCHONDRIÁLNÍCH NEMOCÍ v populaci 1:4000
- (ještě před 20-30 lety se ani v Evropě nevěnovala pozornost)

# Slíbené odkazy

- Mitochondrie a mitochondriální DNA dědíme po matce, ale lze dědit výjimečně i po otci (nový objev z roku 2018)

Článek: *Luo, CA Valencia, J Zhang, ... & T Huang (2018): Biparental Inheritance of Mitochondrial DNA in Humans. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, online.*

...Our results suggest that, although the central dogma of maternal inheritance of mtDNA remains valid, there are some exceptional cases where paternal mtDNA could be passed to the offspring. Elucidating the molecular mechanism for this unusual mode of inheritance will provide new insights into how mtDNA is passed on from parent to offspring and may even lead to the development of new avenues for the therapeutic treatment for pathogenic mtDNA transmission

[Biparental Inheritance of Mitochondrial DNA in Humans \(pnas.org\)](https://www.pnas.org)