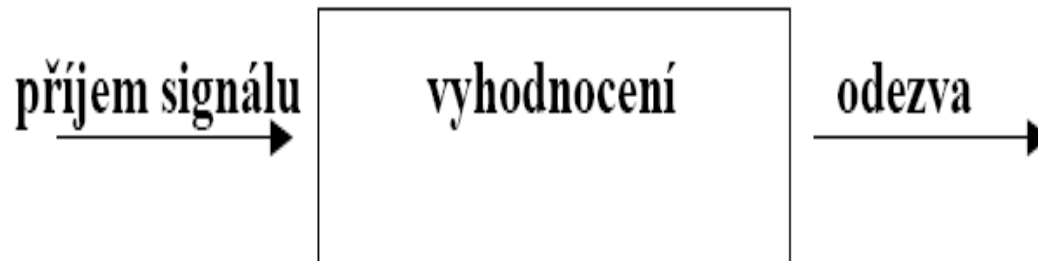
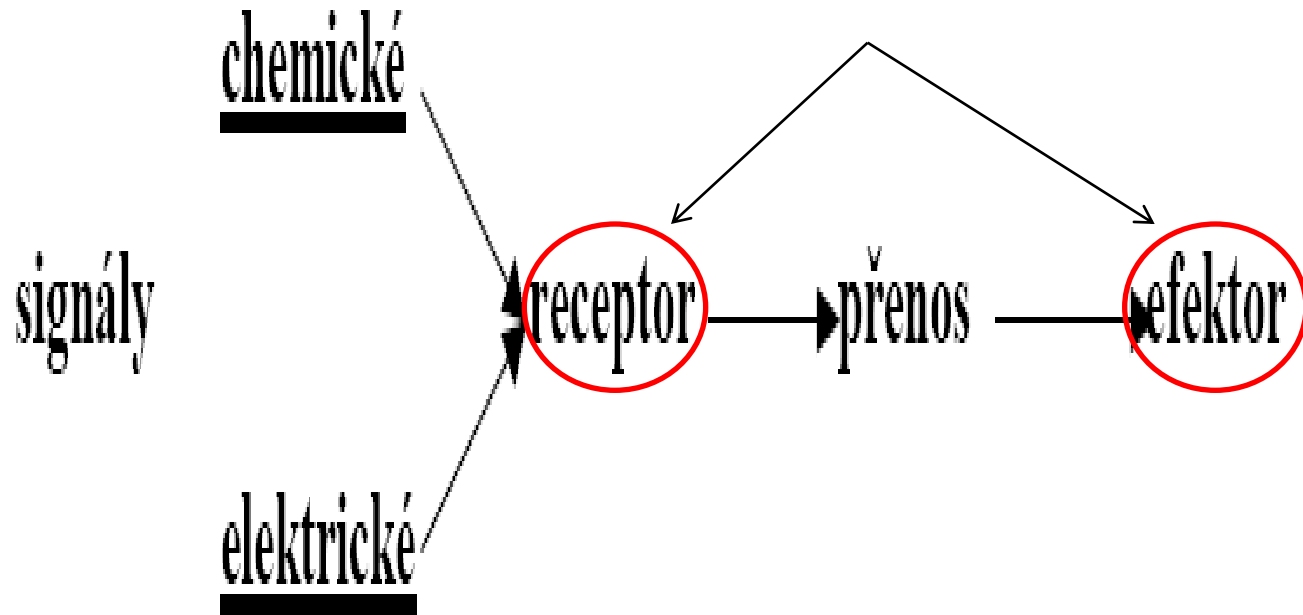


# BIOCHEMIE REGULACE

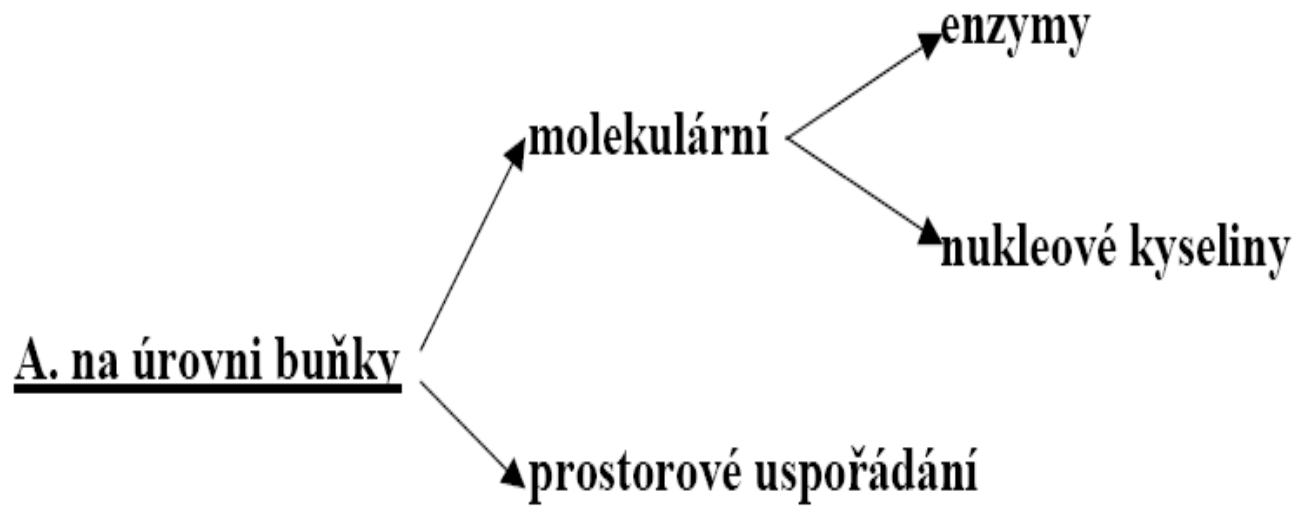
WIENER – kybernetika



# Bílkoviny



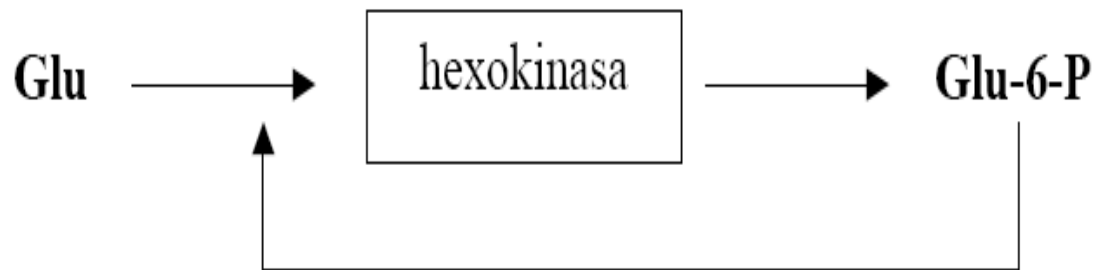
## Regulační mechanismy



## Regulace na enzymové úrovni – rychlá odezva

- Michaelisovskou kinetikou – hexokinasa  $K_m 10^{-4} \text{ M}$ 
  - glukokinasa  $K_m 10 \text{ mM}$

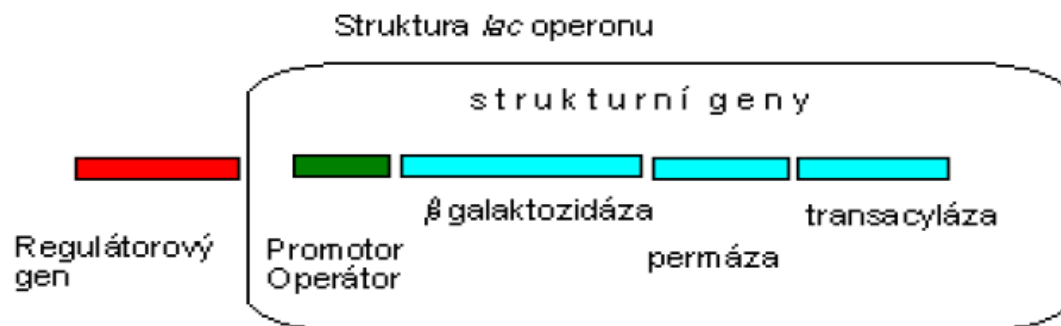
- Inhibicí produktem



- Zpětnou vazbou – allosterie negativní x pozitivní
  
- Řídícími enzymy v cyklech – citrátový cyklus - ICDH  
– glykolysa PFK
  
- Kovalentí modifikací – proteasy  
– fosforylasa A B  
– trombin

## Regulace hladiny enzymů v buňce

- **Operon** - skupina strukturních genů  
DNA koordinovaně regulovaných  
promotorem a operátorem



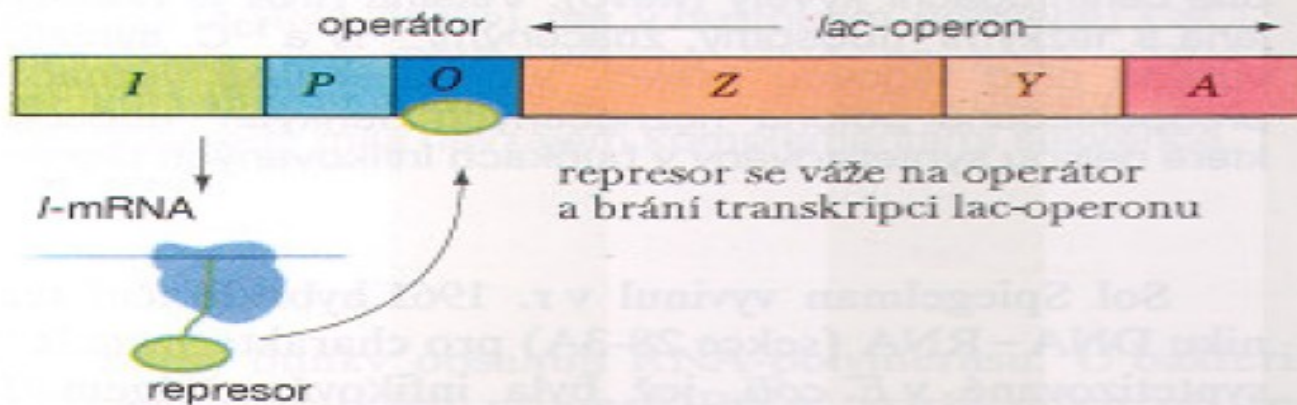
# Regulace hladiny enzymů v buňce

- Promotor - oblast poblíž genu, kde se váže RNAPolymerasa
- Regulátorový gen - gen produkující represor
- Operátor - místo vazby represoru

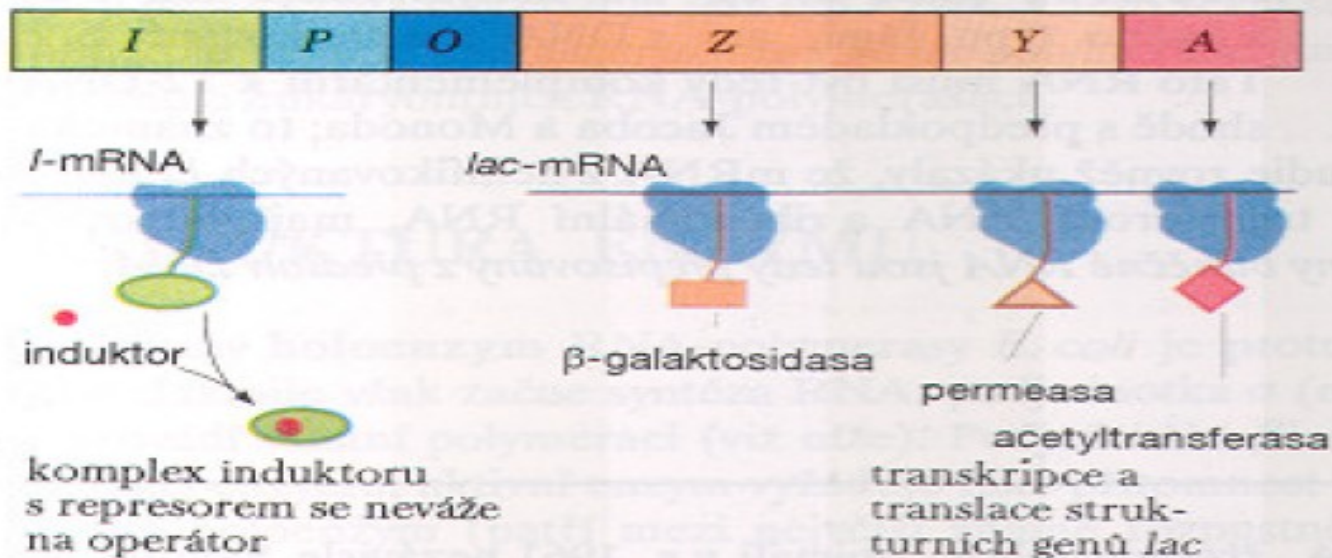
## Regulace na úrovni NK – indukce a represe – pomalá odezva

### JACOB MONOD (1961) operonový model

(a) bez induktoru



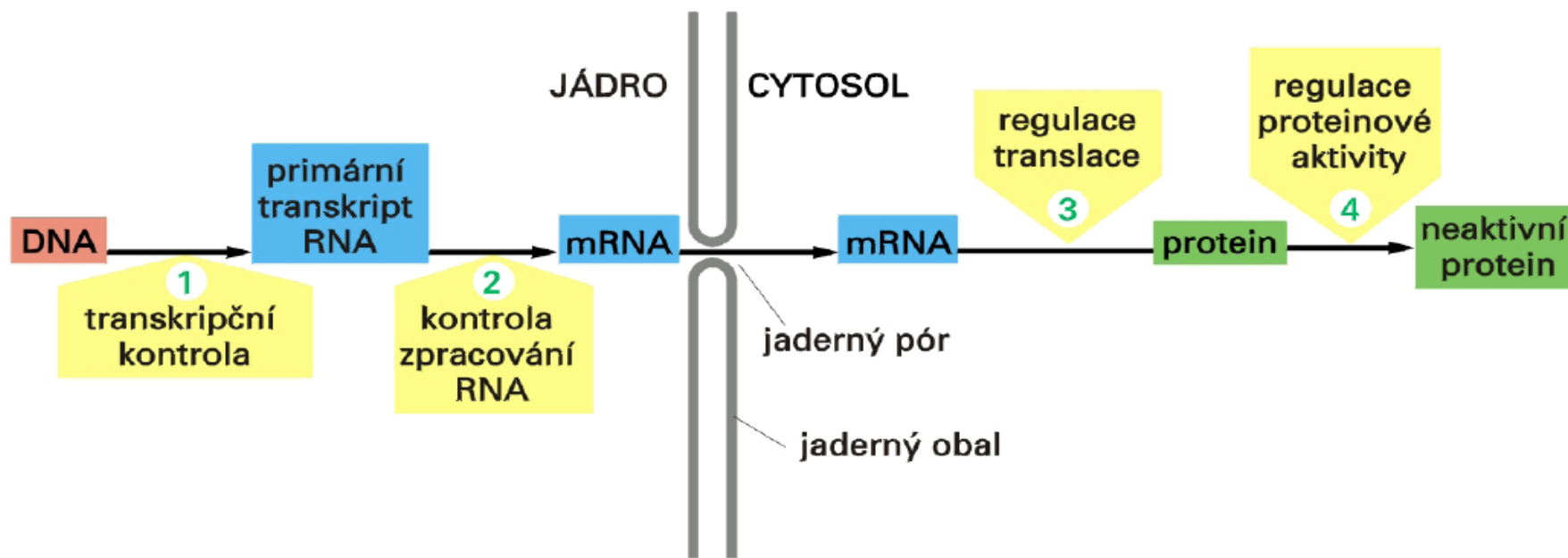
(b) s induktorem





## Regulace na úrovni NK – indukce a represe – pomalá odezva

Čtyři kroky, ve kterých může být regulována exprese eukaryontních genů



## Prostorové uspořádání

- **Kompartmentace - mitochondrie –  $\beta$ oxidace, citrátový cyklus, respirace**
  - cytoplasma – glykolýza, syntéza mastných kyselin
- **Transportní systémy - ATPasa**
  - karnitinový cyklus

## Humorální regulace

Endokrinní systém – žlázy s vnitřní sekrecí → hormony

BAYLISS, STARLING (1904) - hormony

Chemické složení – NO, AMK, peptidy, bílkoviny, steroidy,  
k.arachidonová

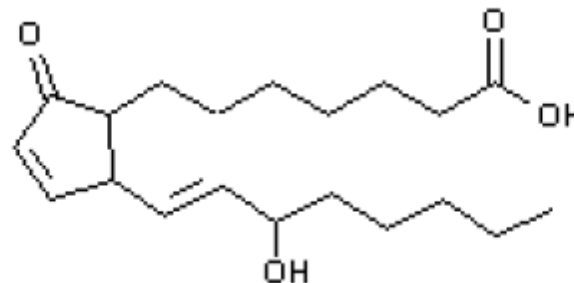
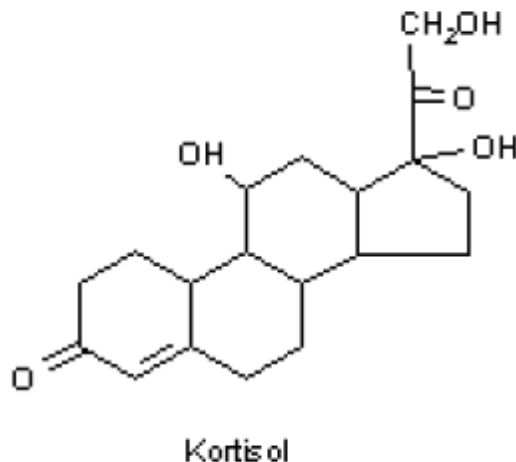
# Hormony

- aminokyselinové, peptidové,  
steroidní, pocházející z MK



$^+$ H<sub>3</sub>N.His.Ser.Glu.Gly.Thr.Phe.Thr.Ser.Asp.Tyr.Ser.  
.Lys.Tyr.Leu.Asp.Ser.Arg.Arg.Ala.Gln.Asp.Phe.Val.  
.Gln.Trp.Leu.Met.Asn.Thr.COO<sup>-</sup>

Glukagon



# Hormony

## Působení

- regulace proteosyntesy
- regulace katalytické funkce enzymů
- regulace transportních pochodů

# Hormony

Rozdělení :

**a) žlázové hormony** - žlázy s vnitřní sekrecí – většina

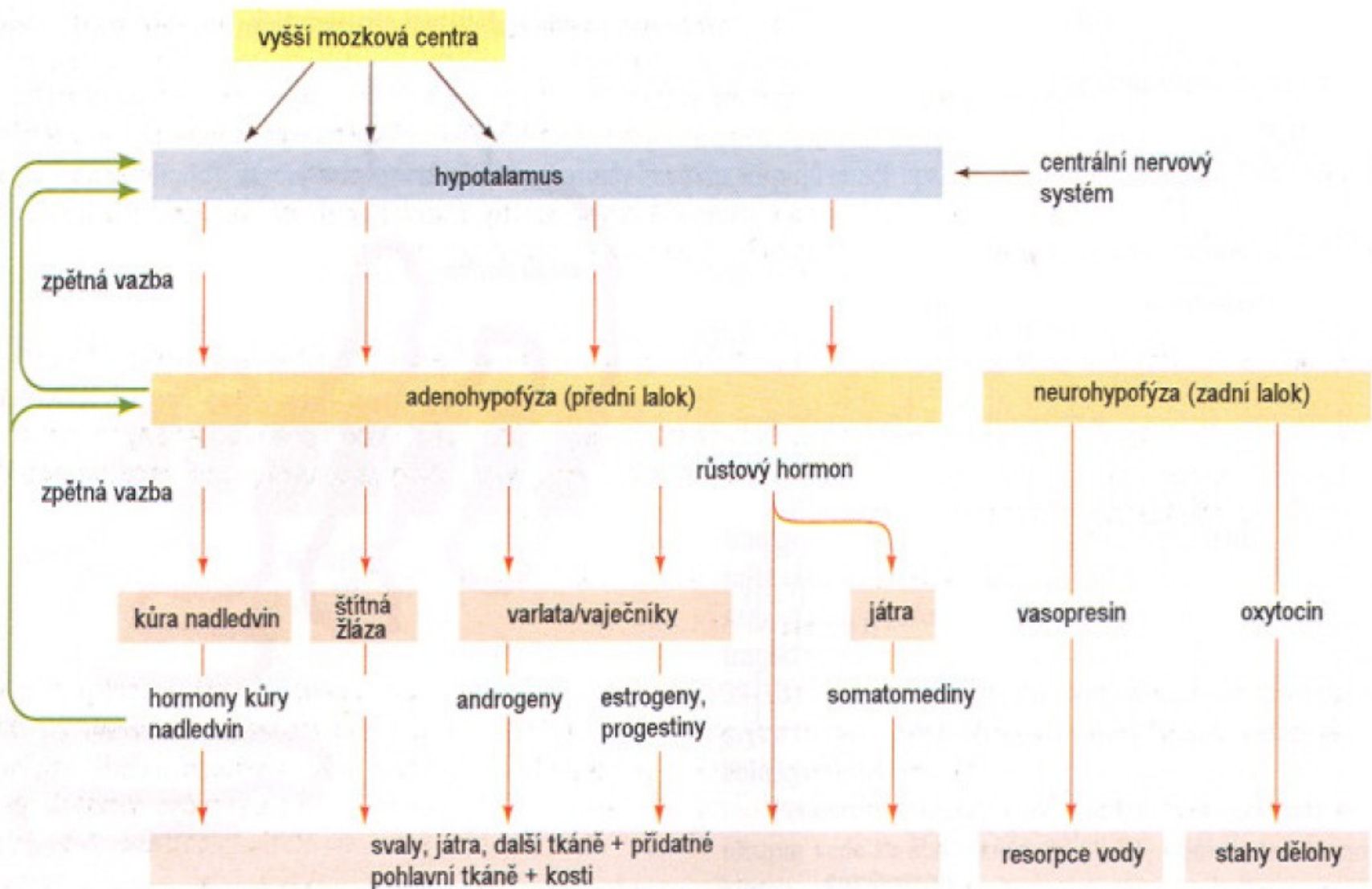
**b) neurohormony** hypothalamu ( liberiny a statiny ) a v neurohypofýze ( oxytocin a vasopresin )

c) **adenotropní** v adenohipofýze a řídí vylučování vlastních hormonů z jednotlivých endokrinních žláz.

d) **tkáňové hormony** v neendokrinních žlázách a působení ve stejné tkáni  
erythropoetin

e) **mediátory** - uvolují se z různých buněk  
histamin, serotonin

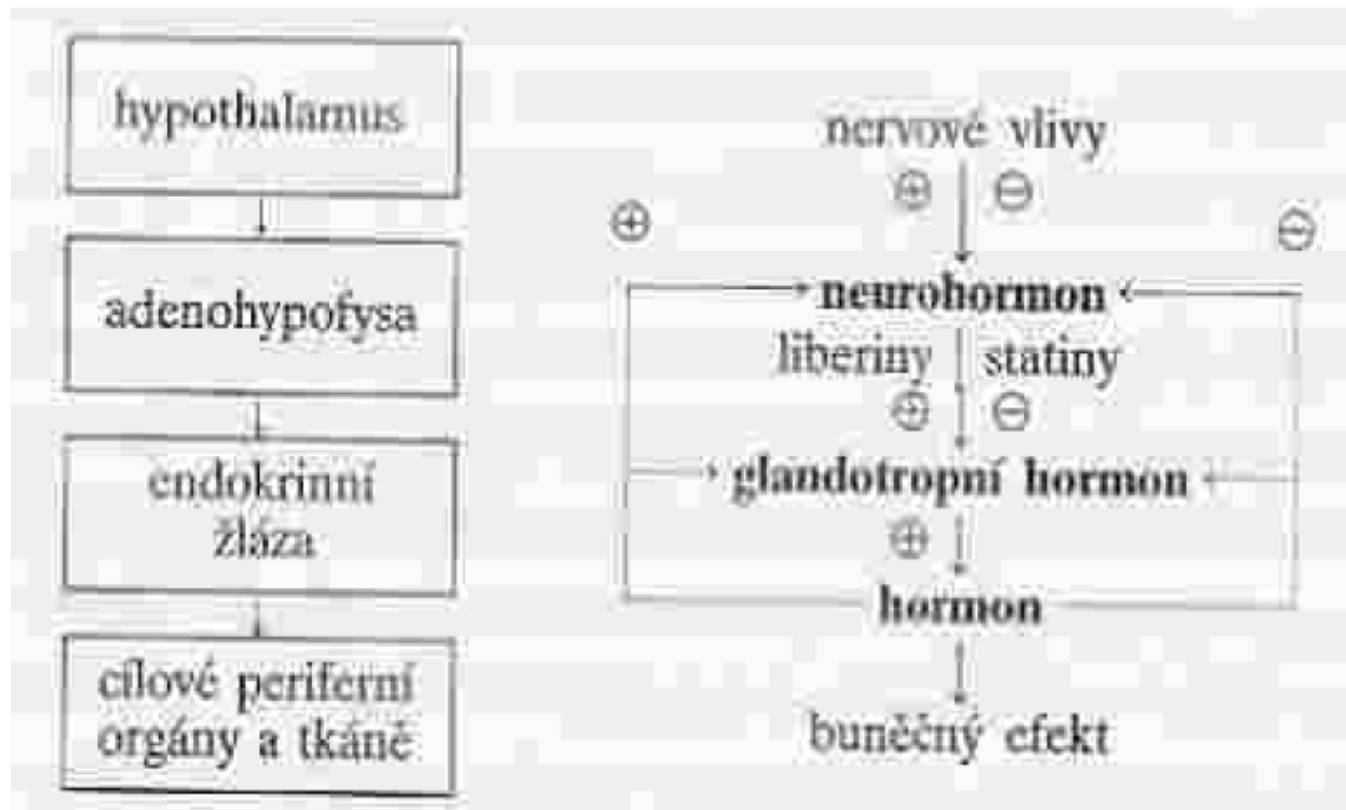
# Řízení





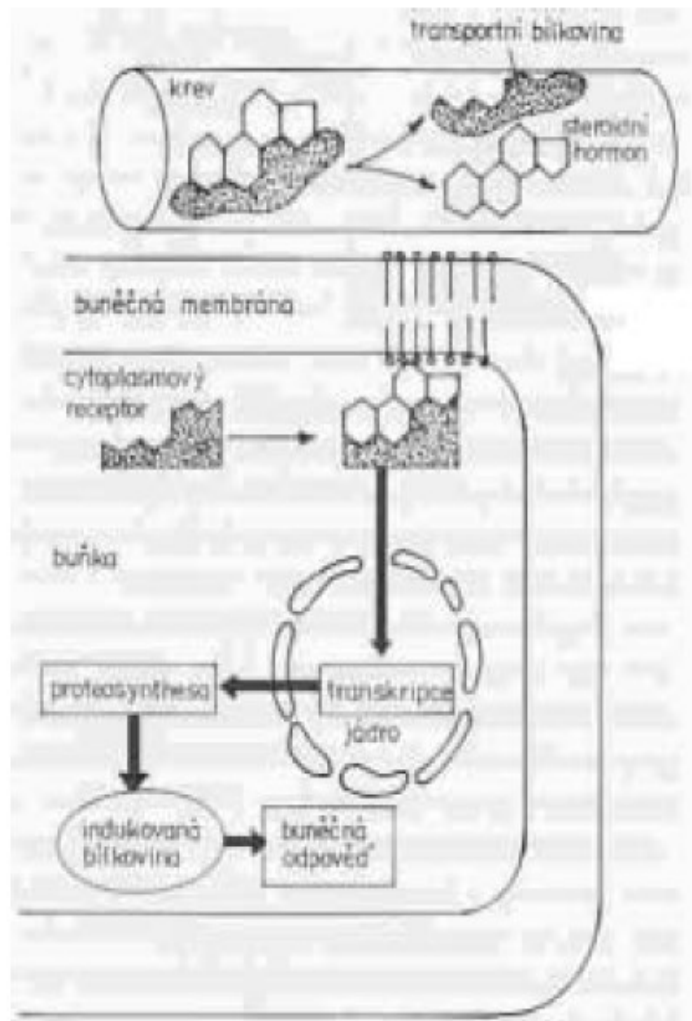
# Řízení

CNS

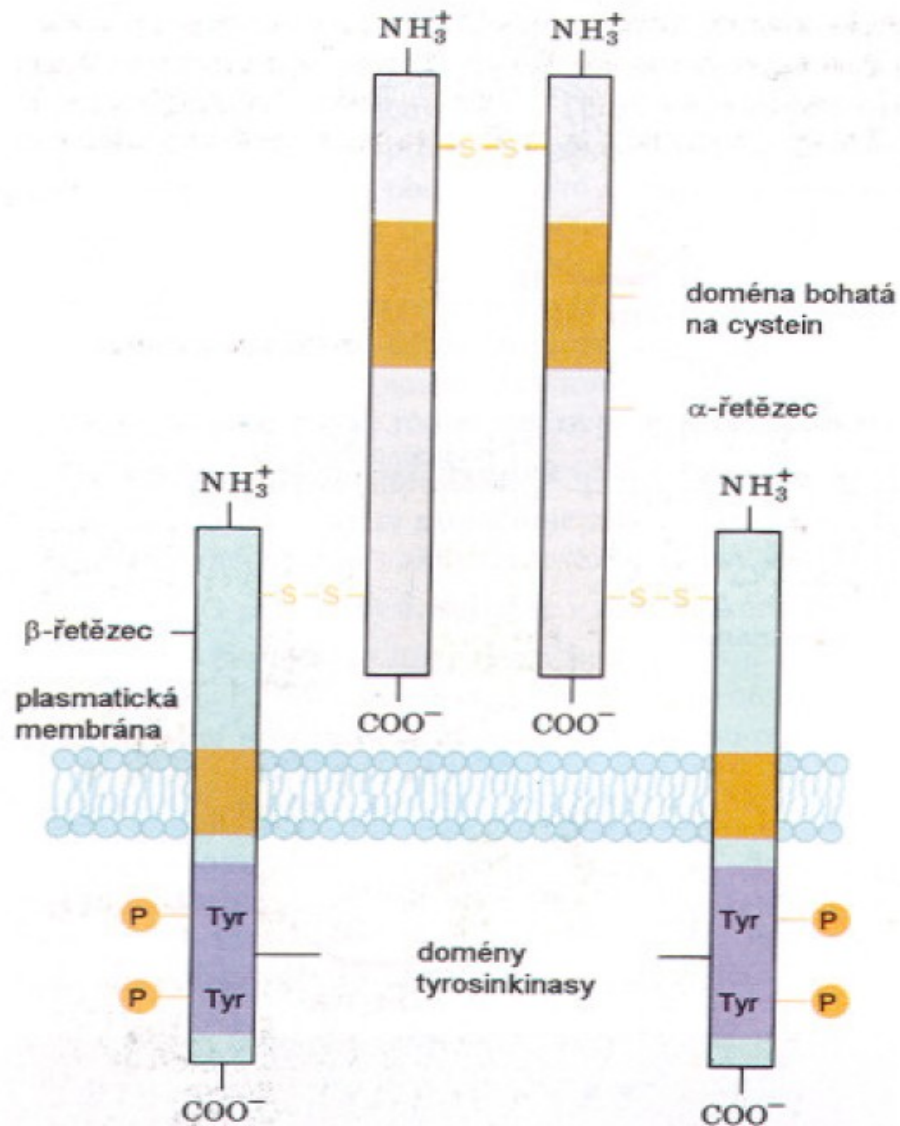


# Receptory pro hormony

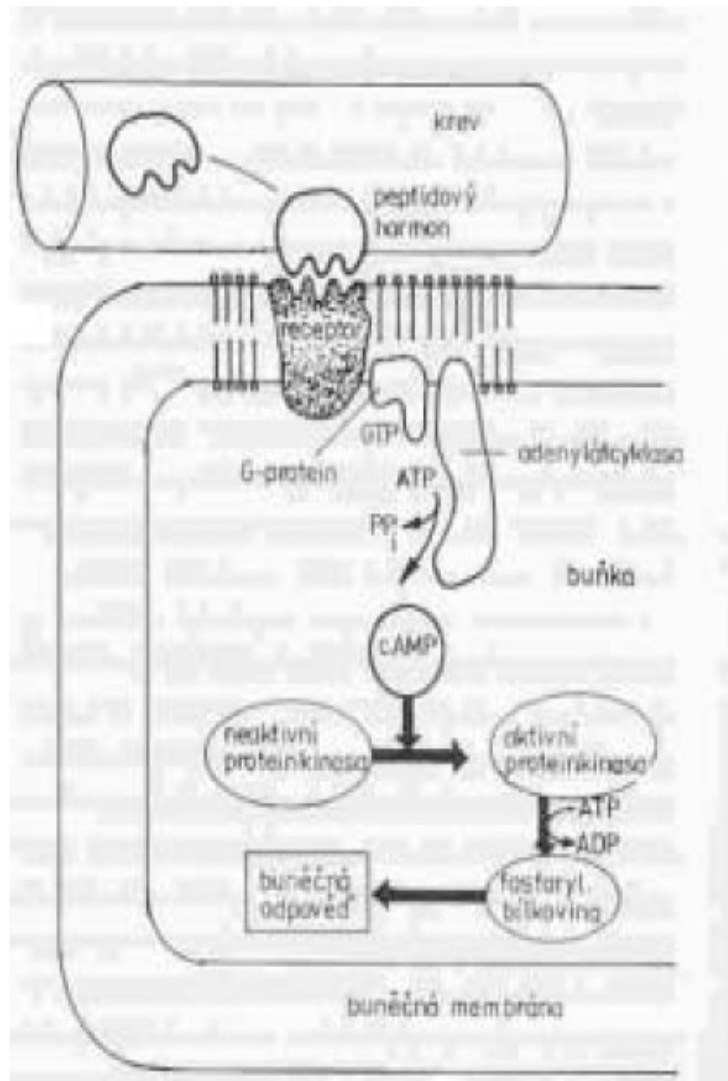
## Steroidy-tyroidní hormony



# Inzulín

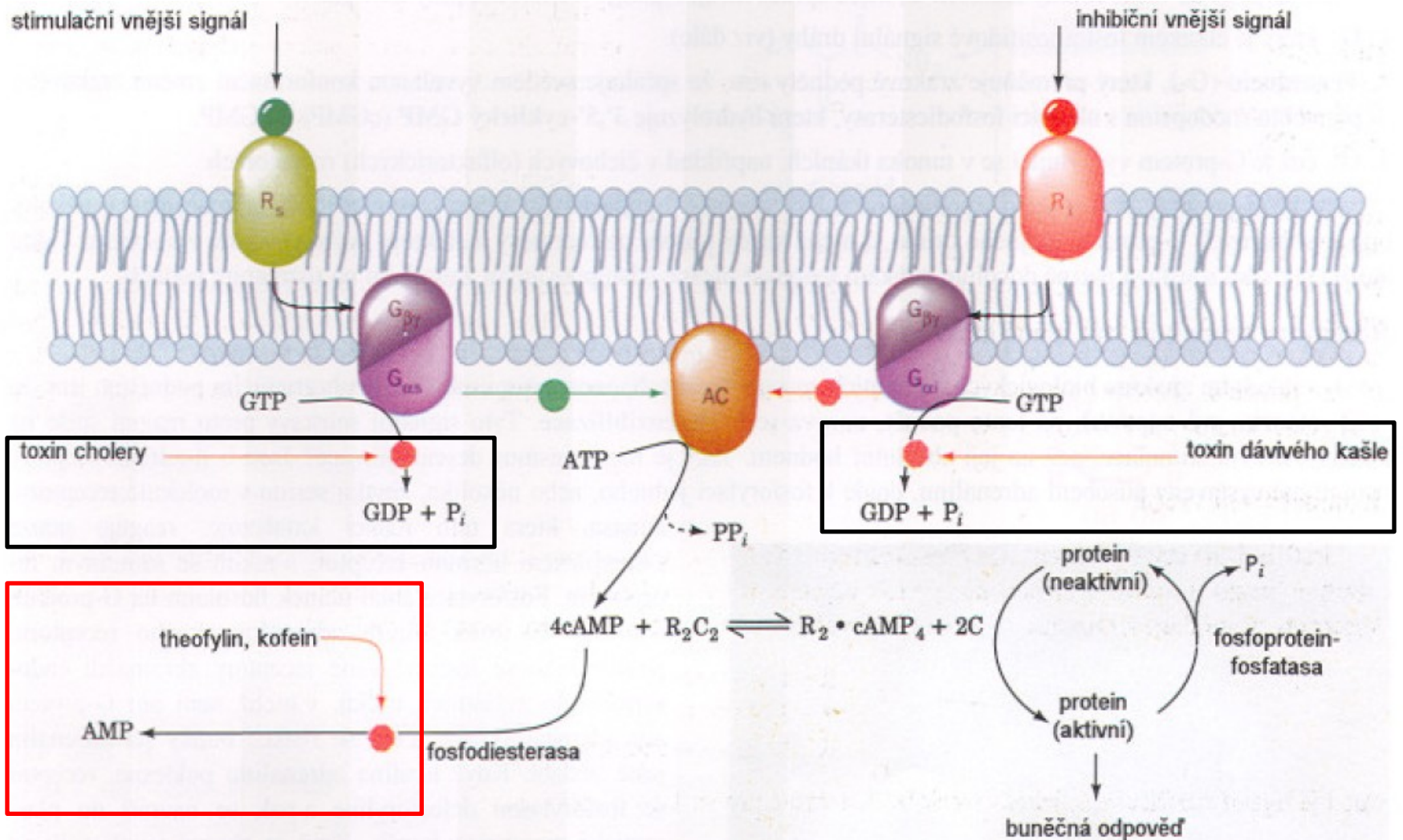


# Peptidy



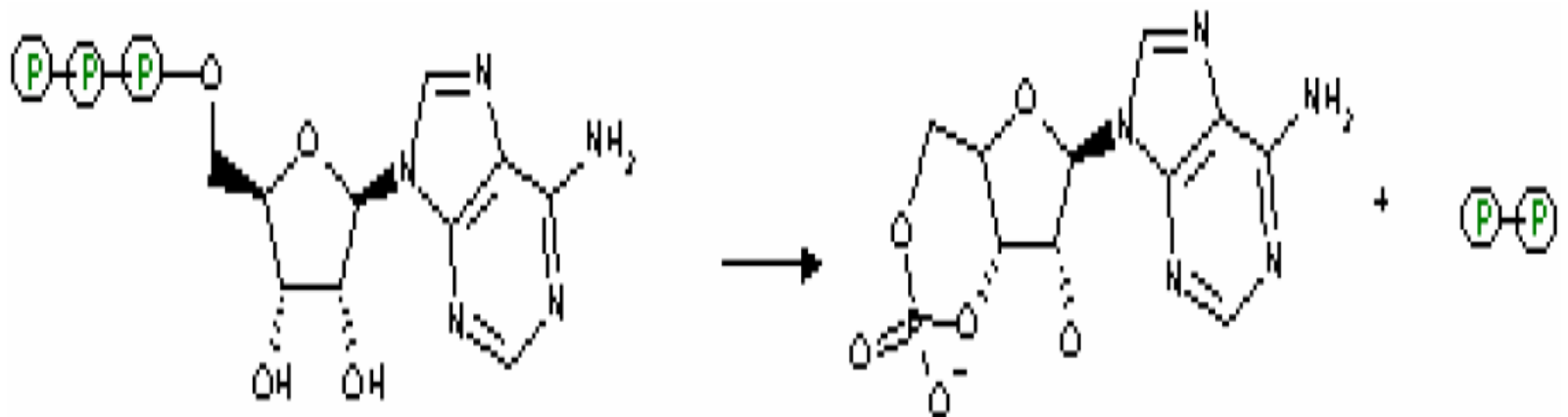
# Druží poslové

## cAMP



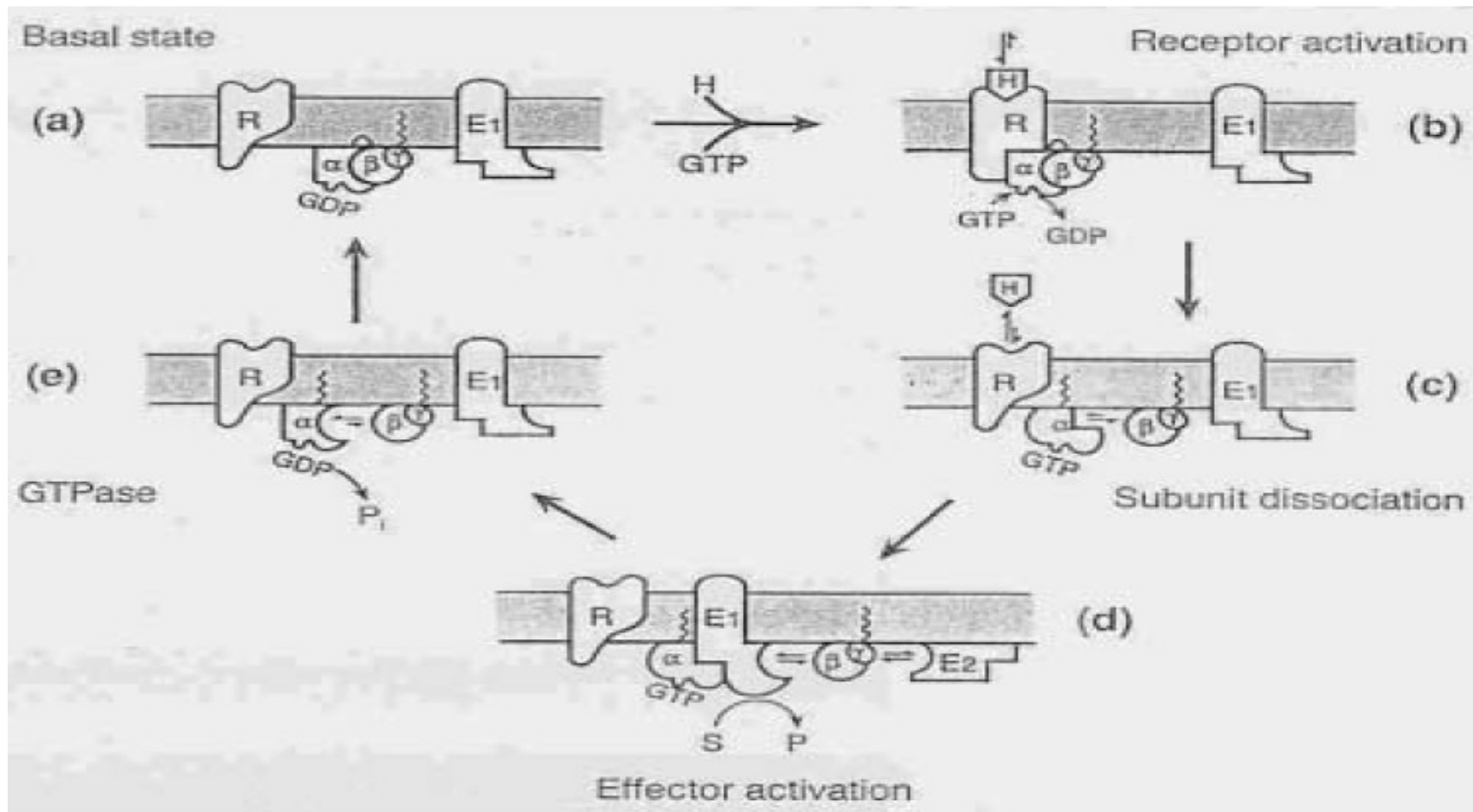


Cílový enzym: aktivace proteinkinasy A

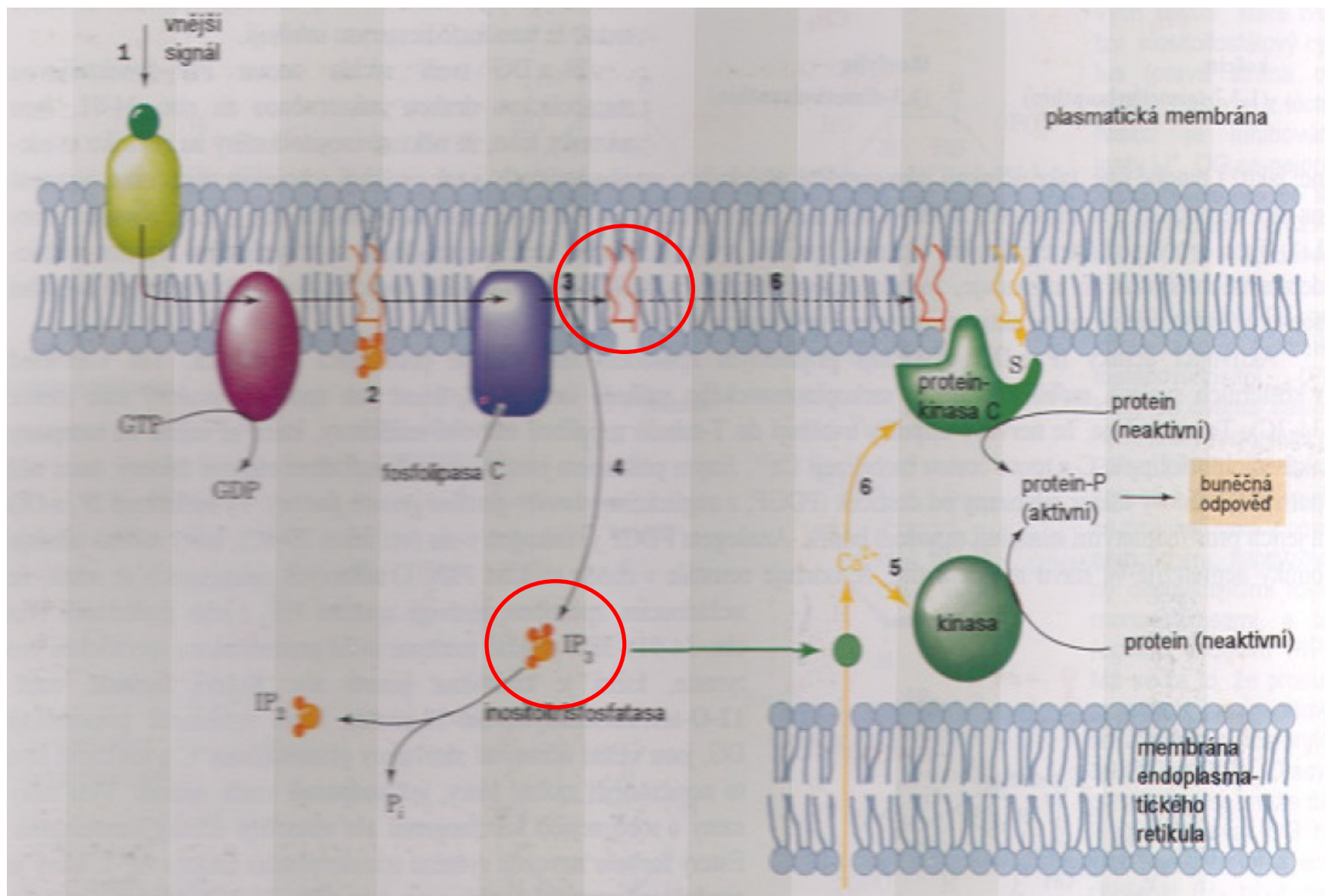


# G-proteiny

R J. Lefkowitz a K. Kobilka NC 2012



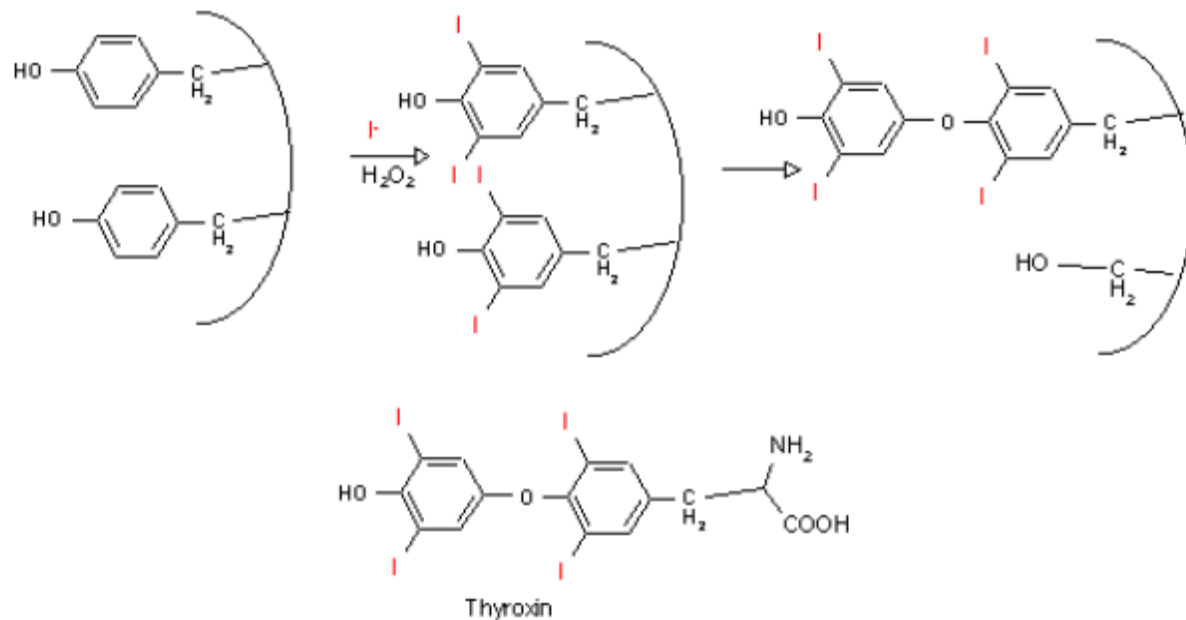
# Fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát





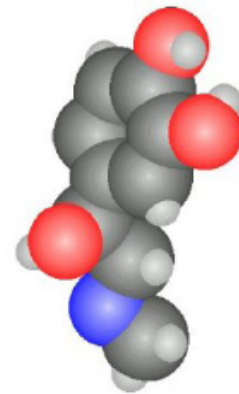
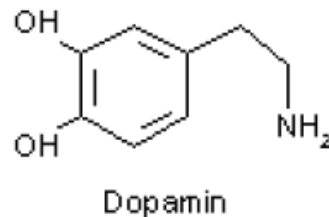
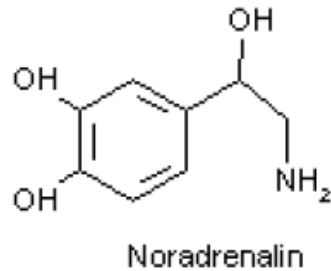
# Hormony

- Thyroxin - celková stimulace metabolismu



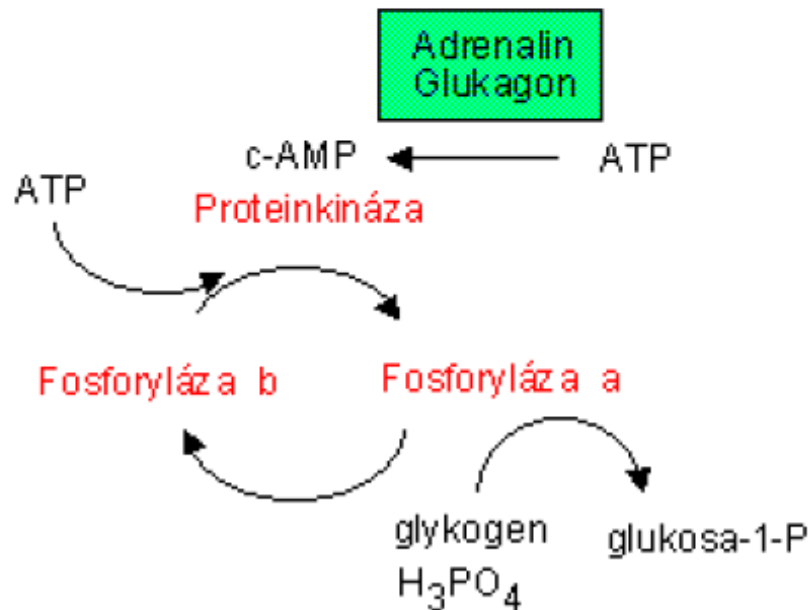
# Hormony

- adrenalin, noradrenalin (regulace odbourávání glykogenu ve svalech)
- Tyr → DOPA → dopamin → noradrenalin → adrenalin



# Metabolismus sacharidů

- Regulace syntézy a odbourávání glykogenu
  - adrenalin (sval), glukagon (játra)



# Hormony

- Inzulin
- Mr 11,5 kDa



# Hormony

- Efekt inzulínu
  - Játra: hromadění glukósy uvnitř buněk - syntéza glykogenu
- Efekt glukagonu
  - regulace odbourávání glykogenu v játrech (nízká hladina glukósy stimuluje sekreci glukagonu - fosforolýza, stimulace lipas adipocytů))

# Hormony

- Diabetes mellitus
  - nízký poměr inzulín/glukagon, hladina glukosy 15 mM, vylučování močí
  - blokování an. glykolýzy, stimulace glukoneogeneze
  - mobilizace tuků, tvorba ketolátek



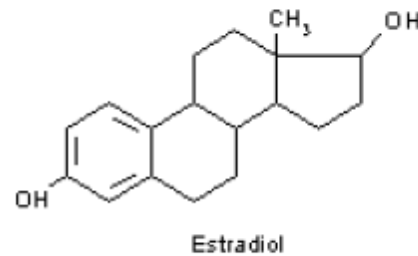
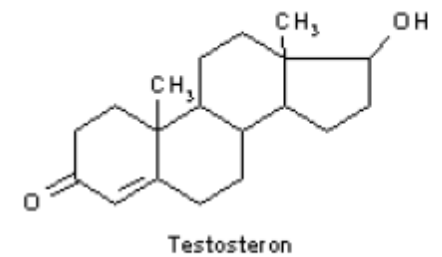
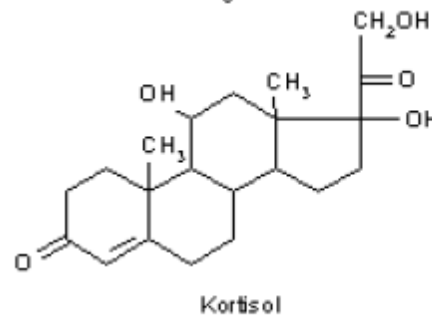
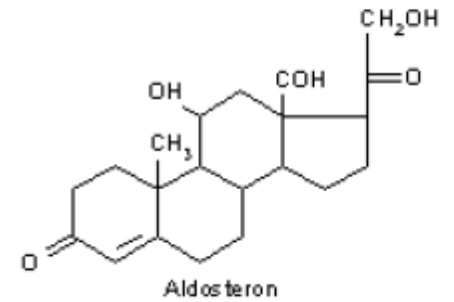
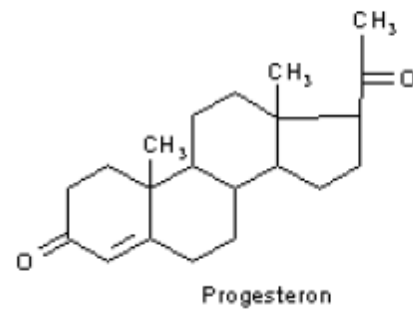
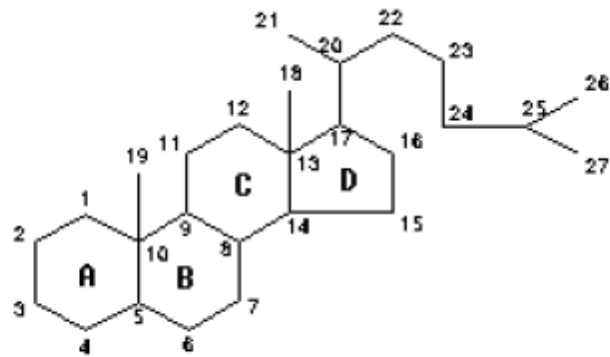
# Hormony

- Steroidní hormony
  - cholesterol → pregnenolon (monooxygenasy mitochondrií)
    - kůra nadledvinek (aldosteron, kortisol)
    - pohlavní žlázy, placenta (progesteron, testosteron, estradiol)



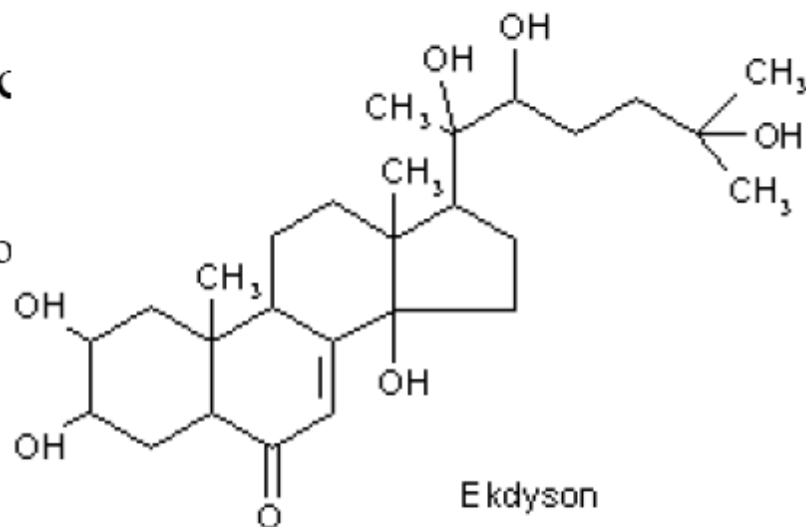
# Hormony

- Steroidní hormony

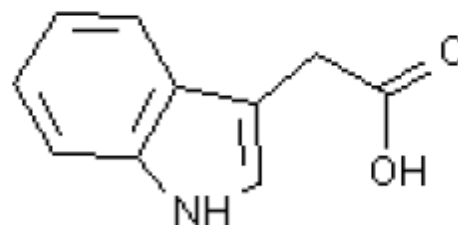


# Hormony

- Hormony bezobratlých
- (ekdyson + juvenilní hormon)
- Regulace svlékání a metamorfozy hmyzu

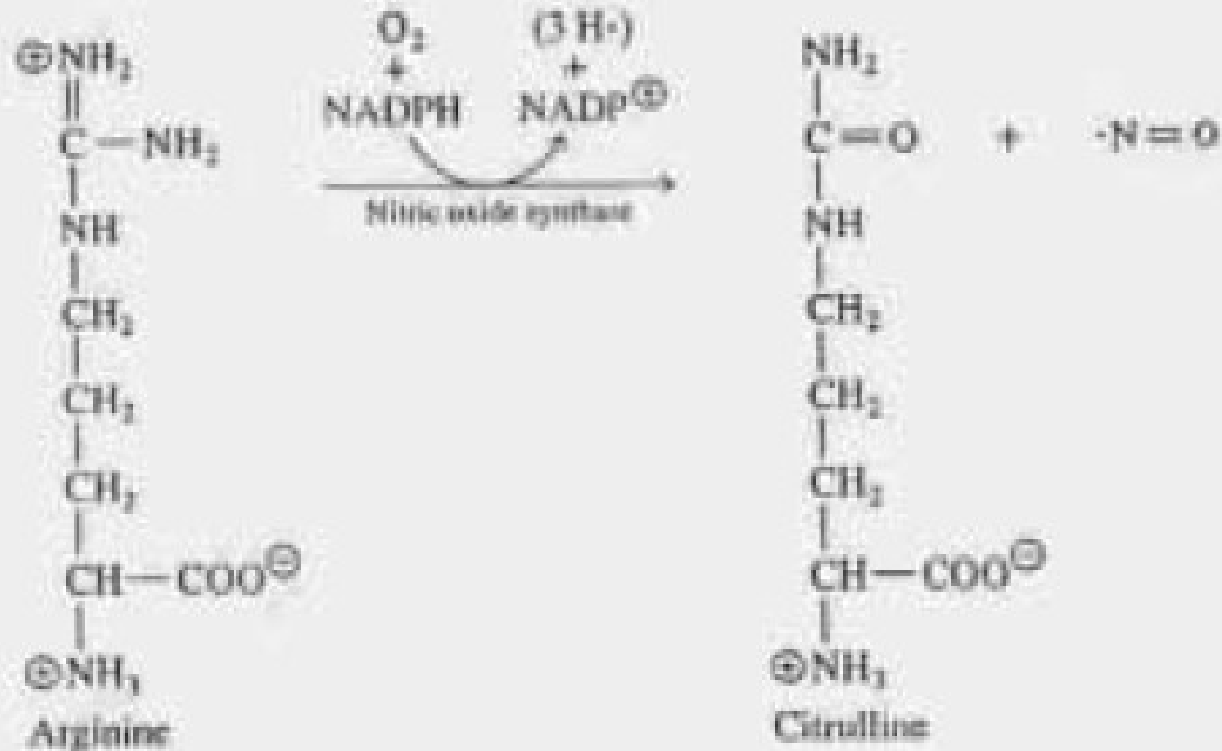


- rostlinné hormony
- Mechanismus – aktivace plasmatické H<sup>+</sup>-ATPasy



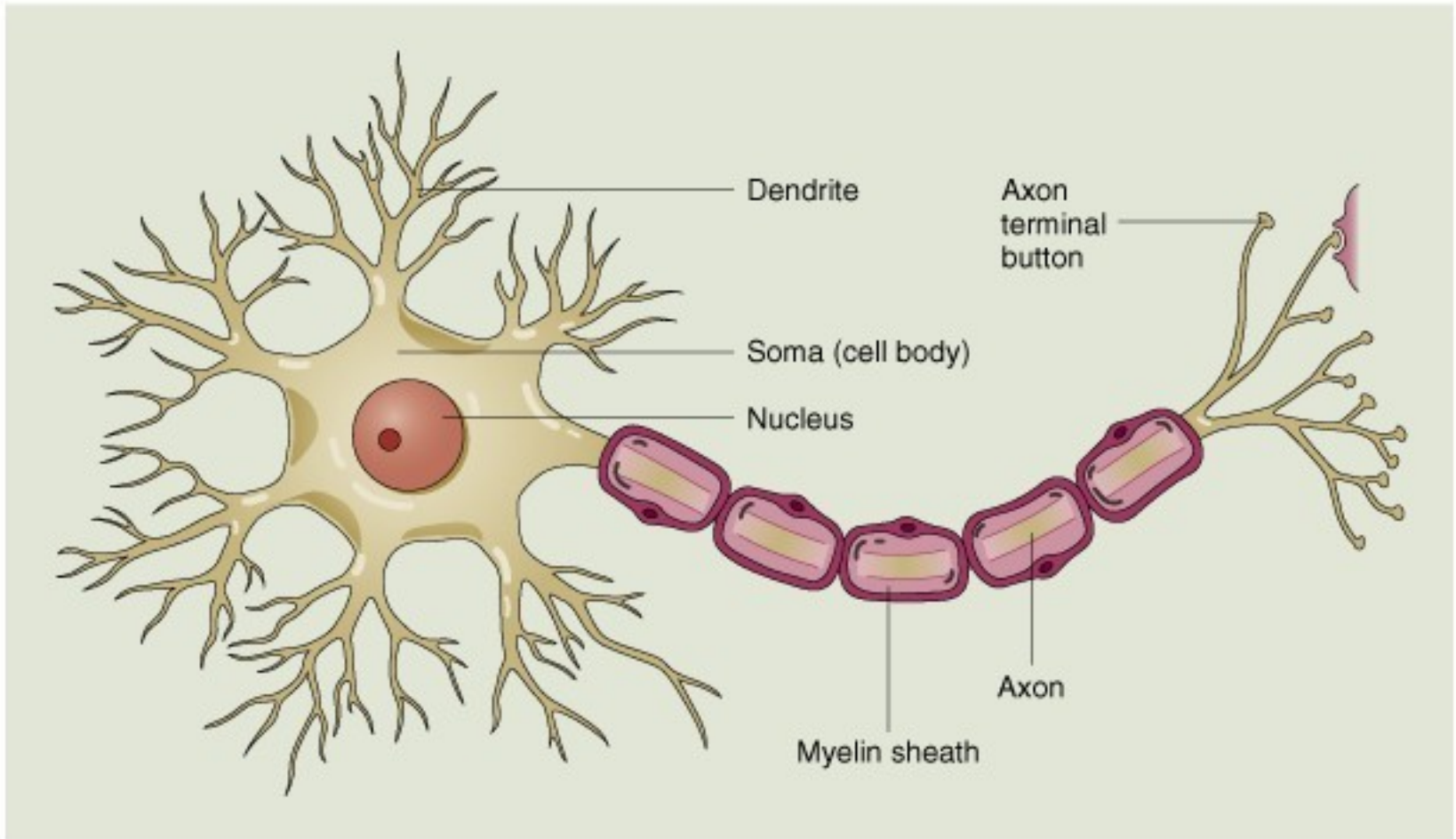
# ·NO jako hormon

R.F. Furchgott L.J Ignarro F. Murad NC 1998



Nervový vzruch

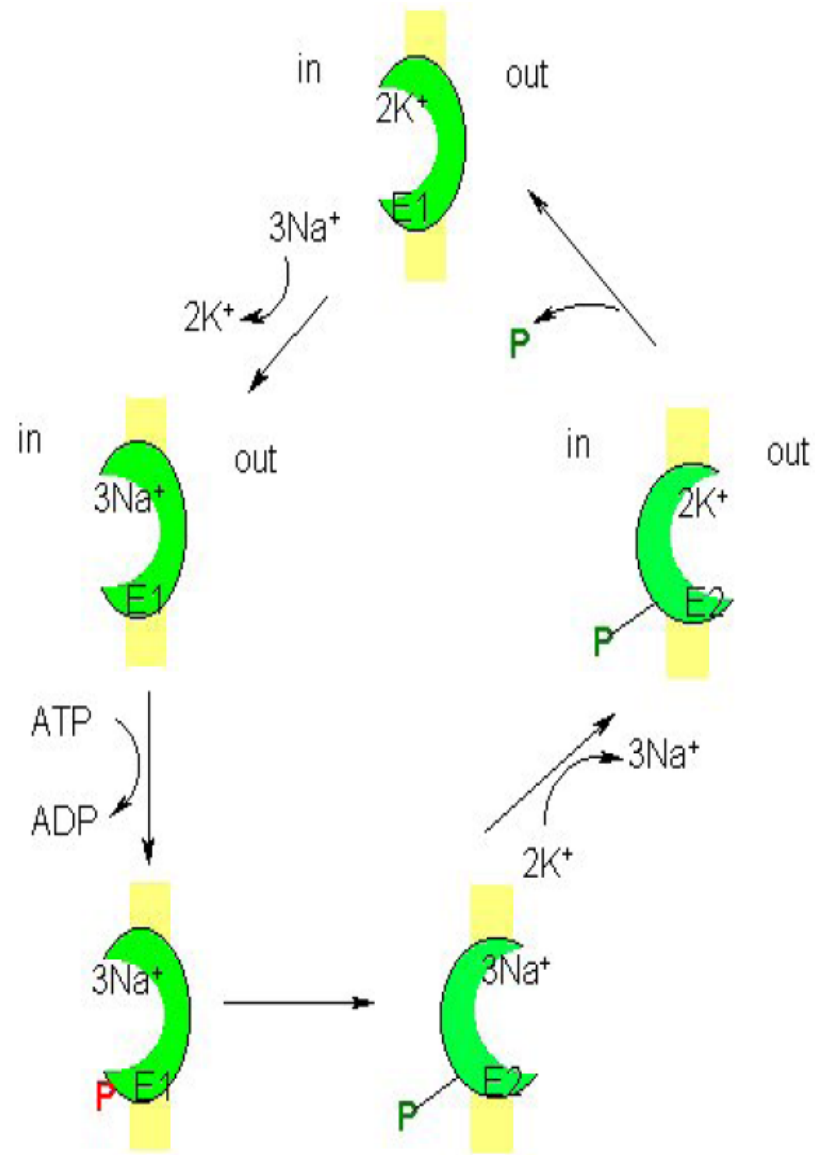
# Neuron



- ATPasa,  $\text{Na}^+ \text{-K}^+$

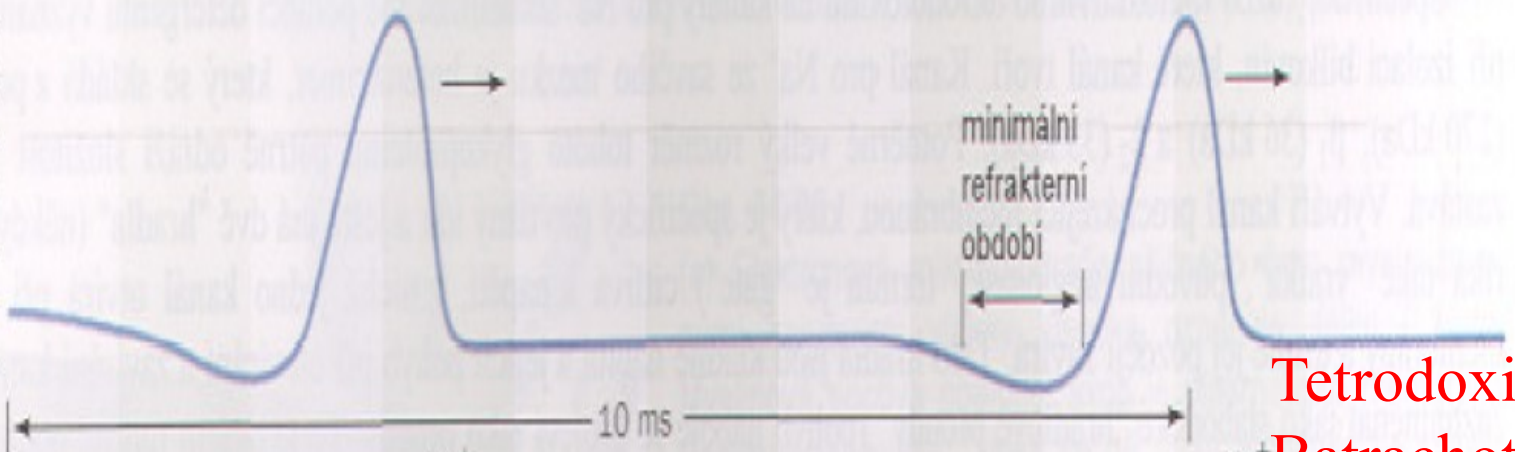
**Uvnitř**  $\text{K}^+$  139 mM  
 $\text{Na}^+$  12 mM

**Vně**  $\text{K}^+$  9 mM  
 $\text{Na}^+$  145 mM

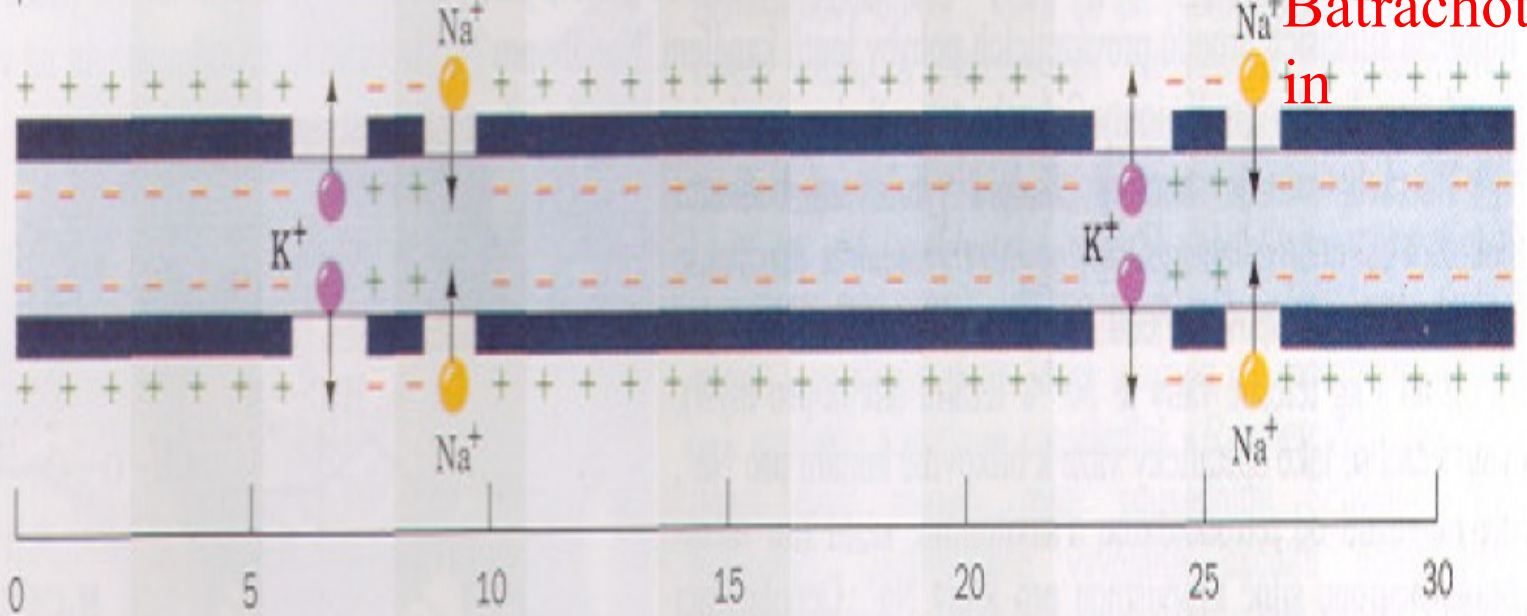


membránový potenciál, mV

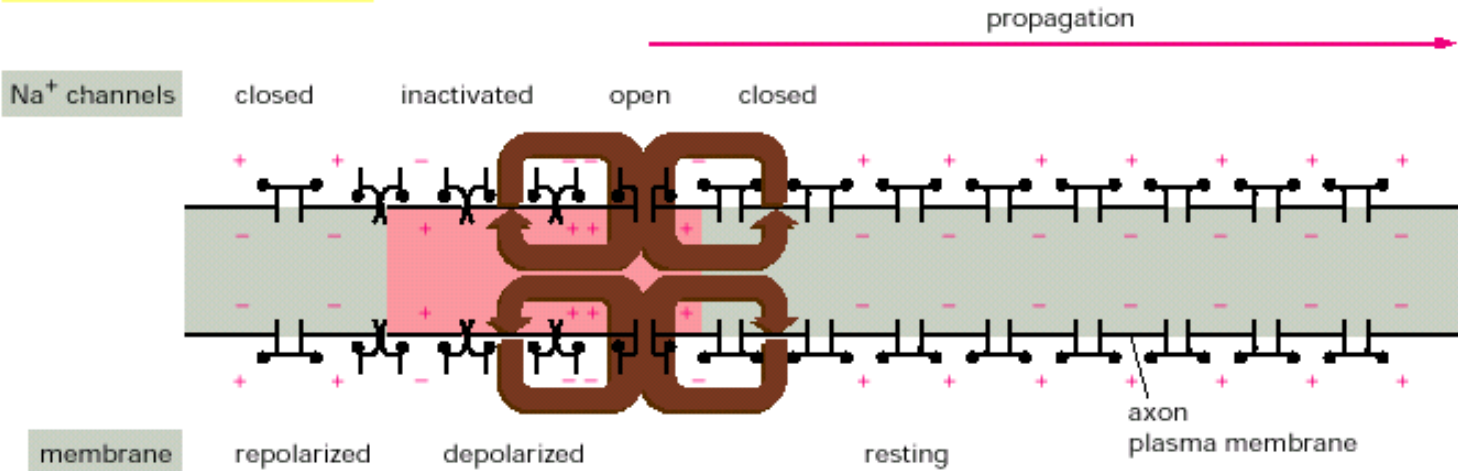
+40  
0  
-40  
-80



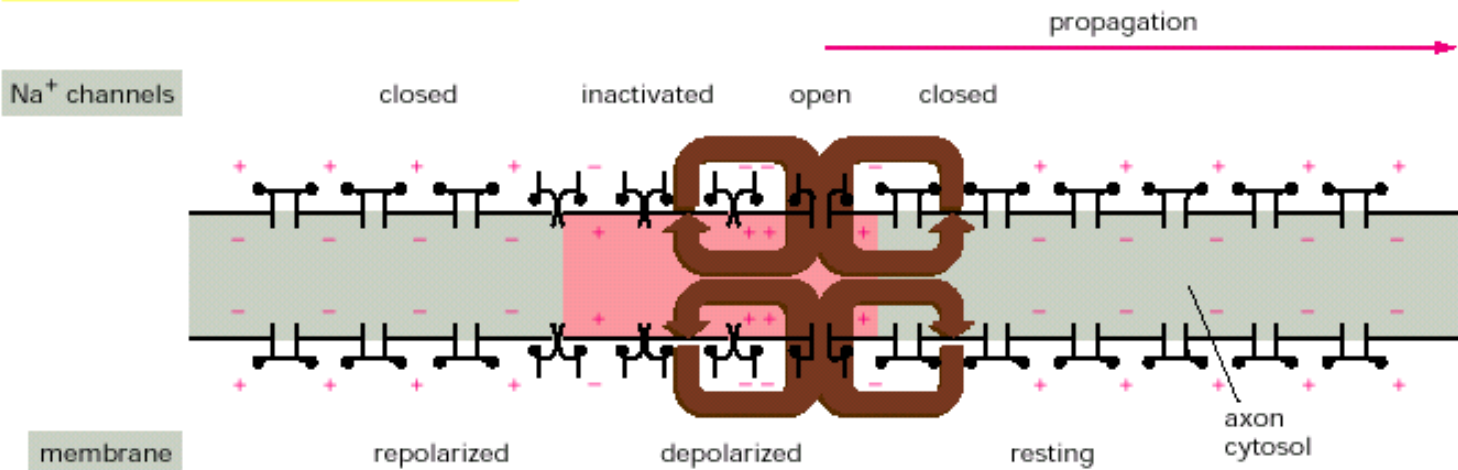
Tetrodotoxin  
Batrachotoxin  
in



instantaneous view at  $t = 0$

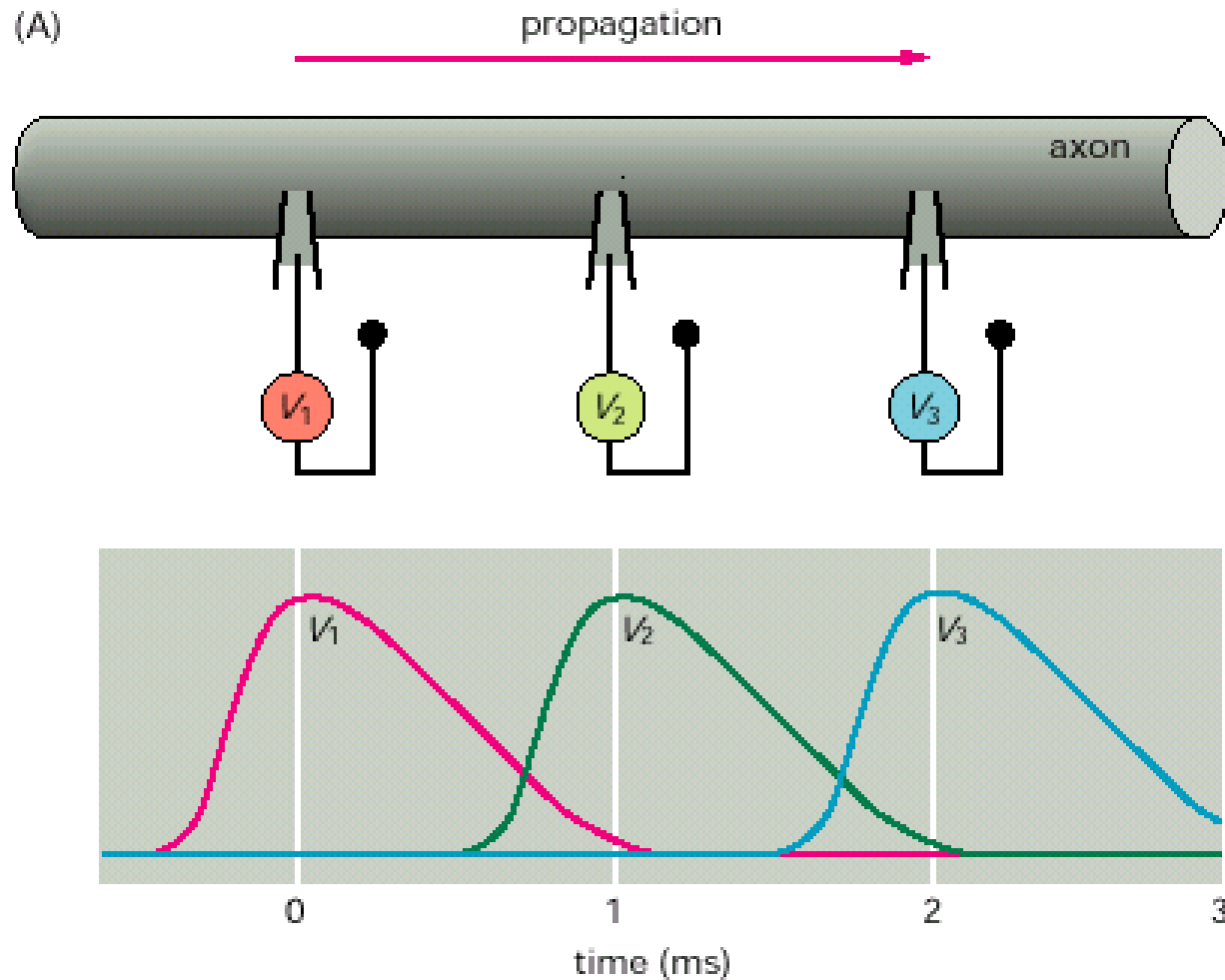


instantaneous view at  $t = 1$  millisecond



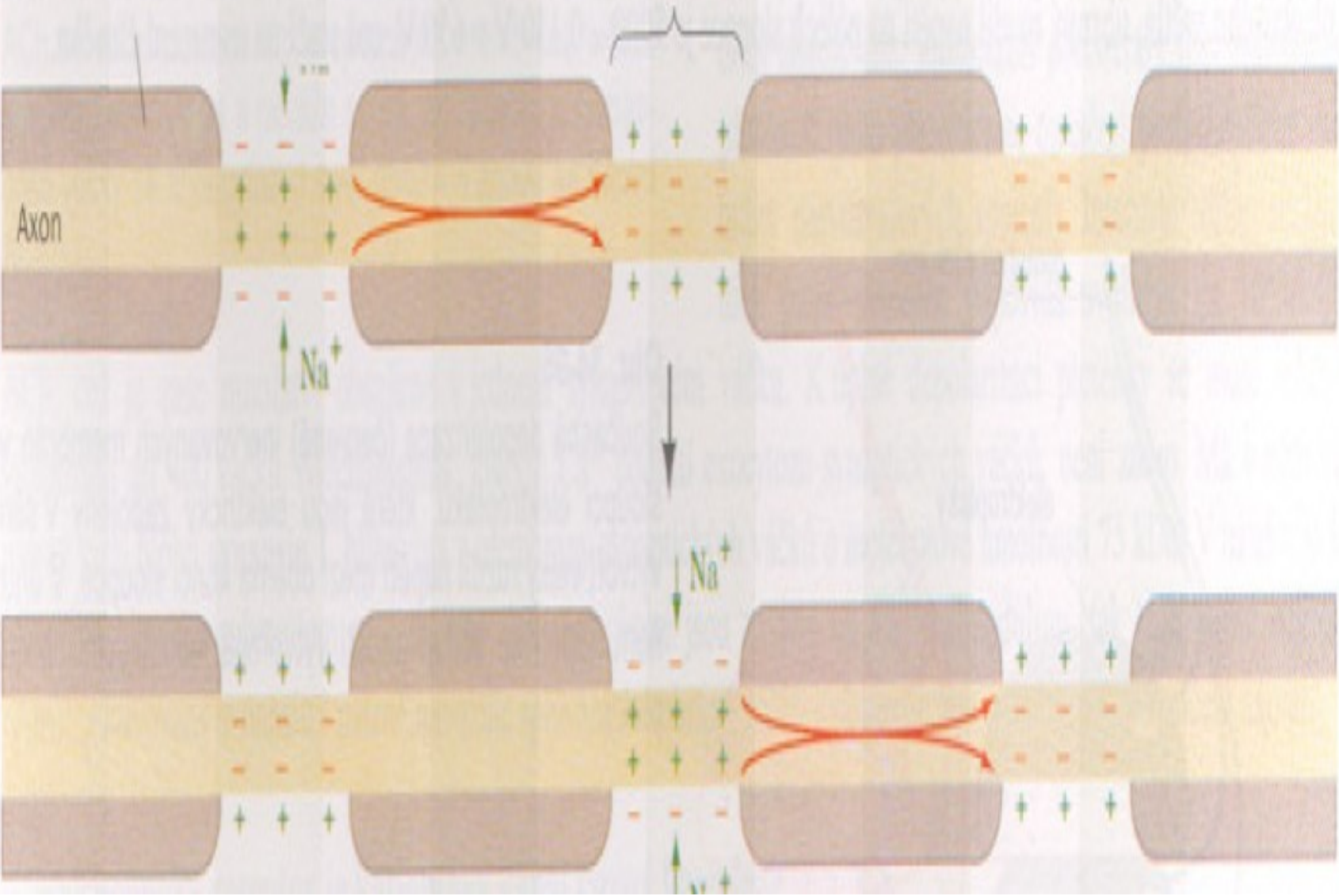


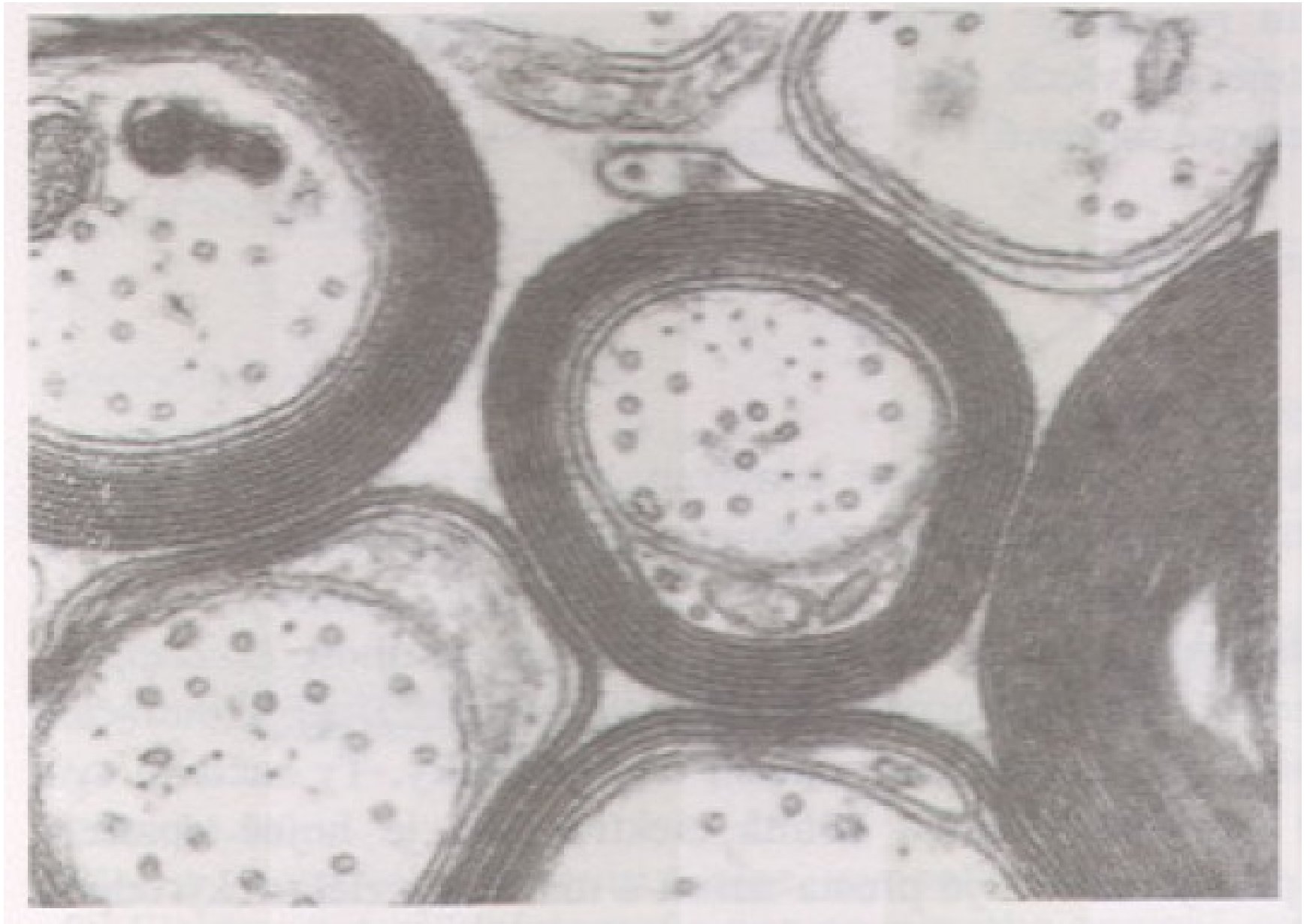
# Vedení nervového vzruchu



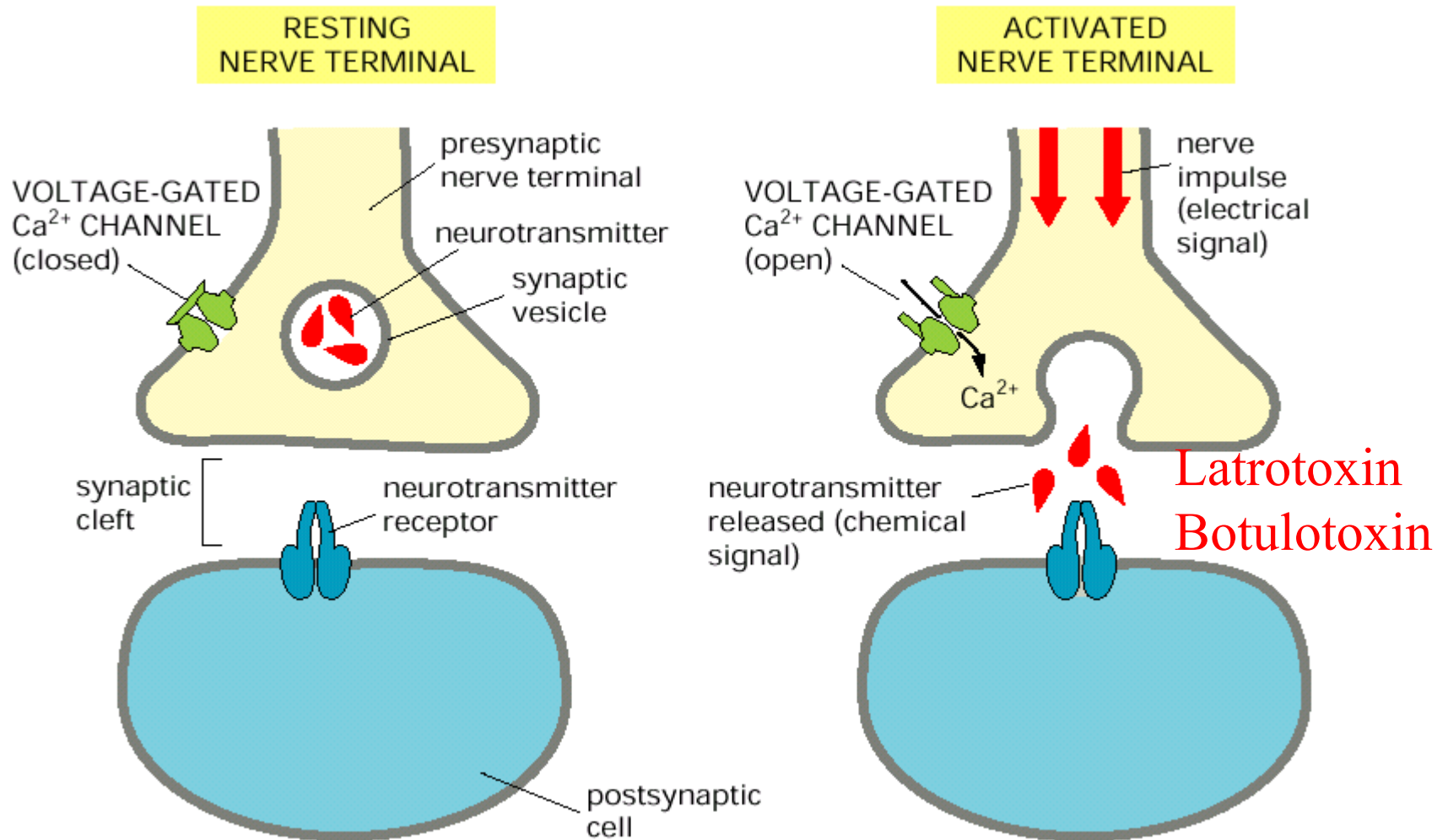
myelinová pochva

Ranvierův zářez

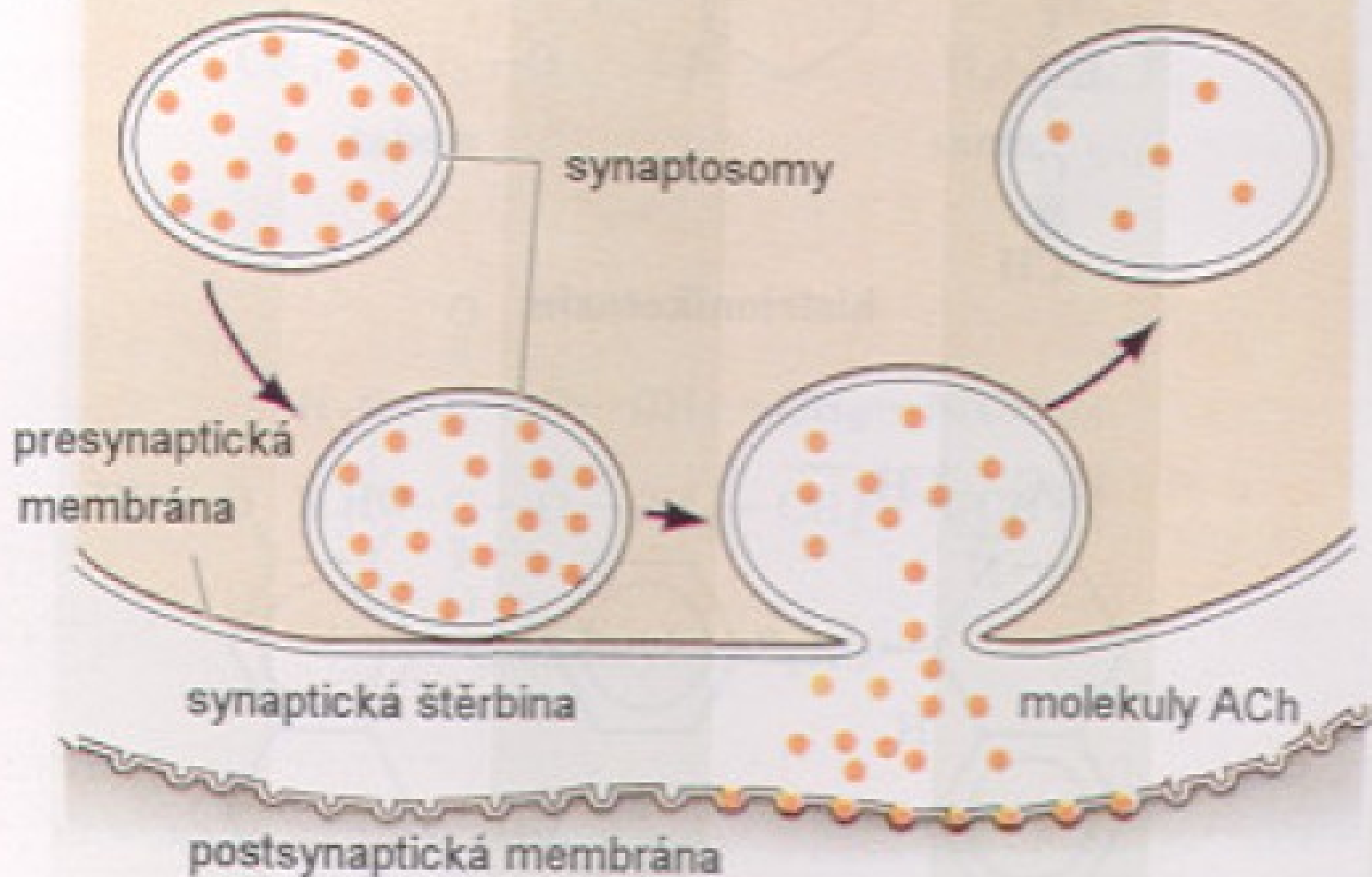




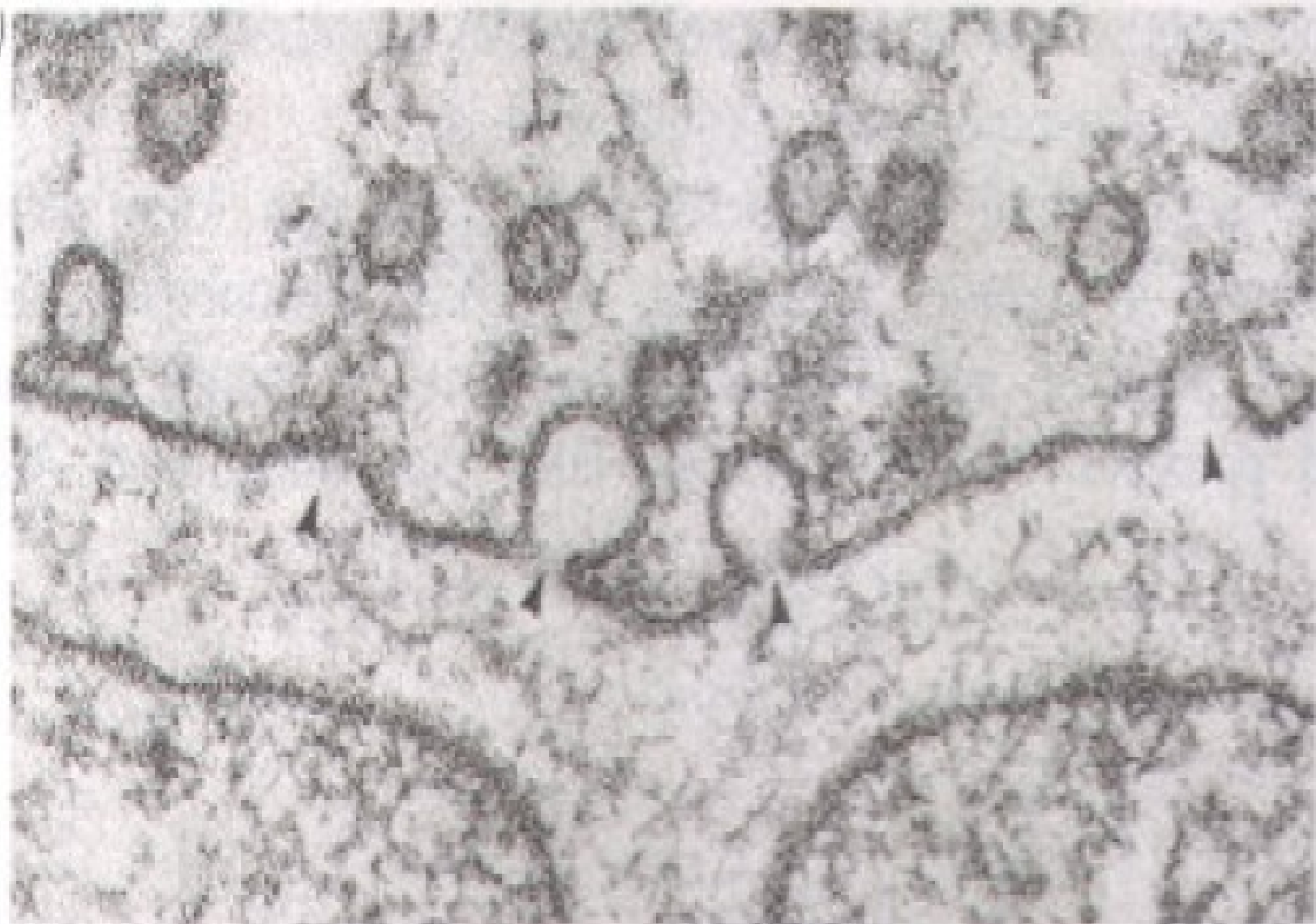
# Synapse

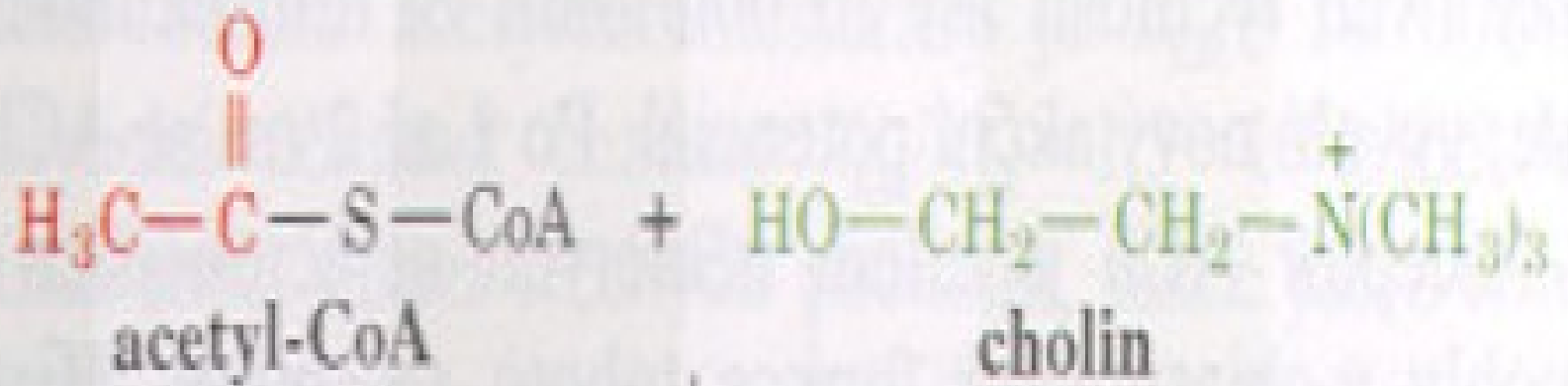


(b)



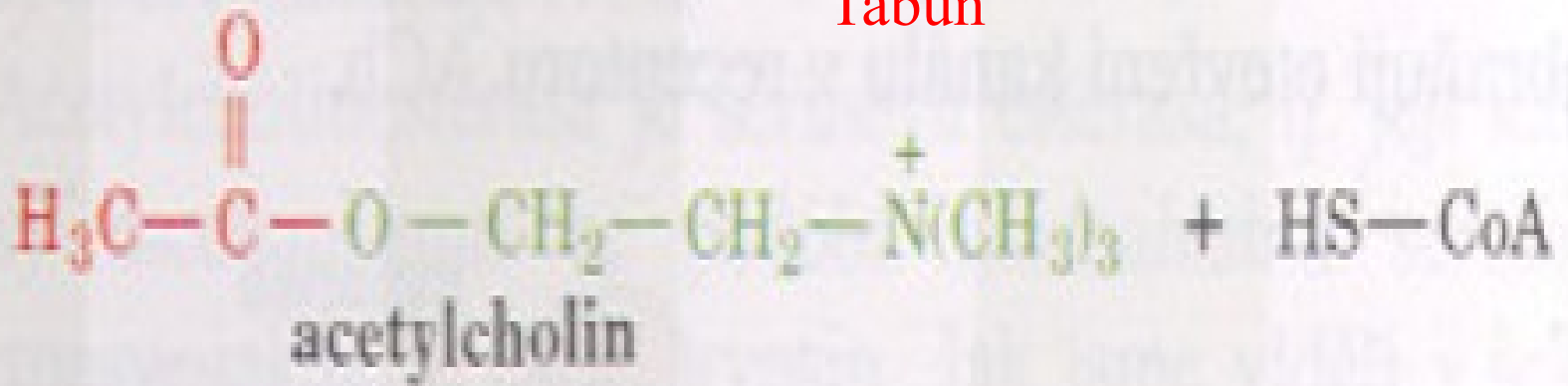
(a)





↓  
cholinacetyltransferasa

Sarin  
Tabun



# Imunochemie



# ZÁKLADNÍ ÚKOLY IMUNITNÍHO SYSTÉMU

- OBRANA PROTI PATOGENŮ - externí
- ODSTRAŇOVÁNÍ ABNORMÁLNÍCH BUNĚK (NÁDOROVÝCH, POŠKOZENÝCH, INFIKOVANÝCH...) - vlastní

# BUŇKY IMUNITNÍHO SYSTÉMU:

RŮZNÉ TYPY BÍLÝCH KRVINEK (LEUKOCYTŮ):

MONOCYTY, MAKROFÁGY, GRANULOCYTY,  
LYMFOCYTY...

Vznik – z kmenových buněk v kostní dřeni a brzlíku

# ZBRANĚ IMUNITNÍHO SYSTÉMU:

NK-buňky (zabíjejí infikované a nádorové buňky)

T-lymfocyty (několik typů)

Fagocyty (požírají mikroby)

Protilátky (B –lymfocyty)

Komplement (40 plazmatických bílkovin)

# Imunitní odpověď

- Buněčná imunita – T-lymfocyty
- Humorální imunita – B-lymfocyty

# T(hymus)- LYMFOCYTY:

VZNIKAJÍ V BRZLÍKU

ROZEZNAVAJÍ HLAVNĚ FRAGMENTY  
(VNITROBUNĚČNÝCH) PROTEINŮ NA  
POVRCHU JINÝCH BUNĚK

ÚČEL: DETEKCE BUNĚK INFIKOVANÝCH  
“SKRYTÝMI” INTRACELULÁRNÍMI PARAZITY  
(např. VIRY)

**ZNIČENÍ INFIKOVANÝCH BUNĚK**

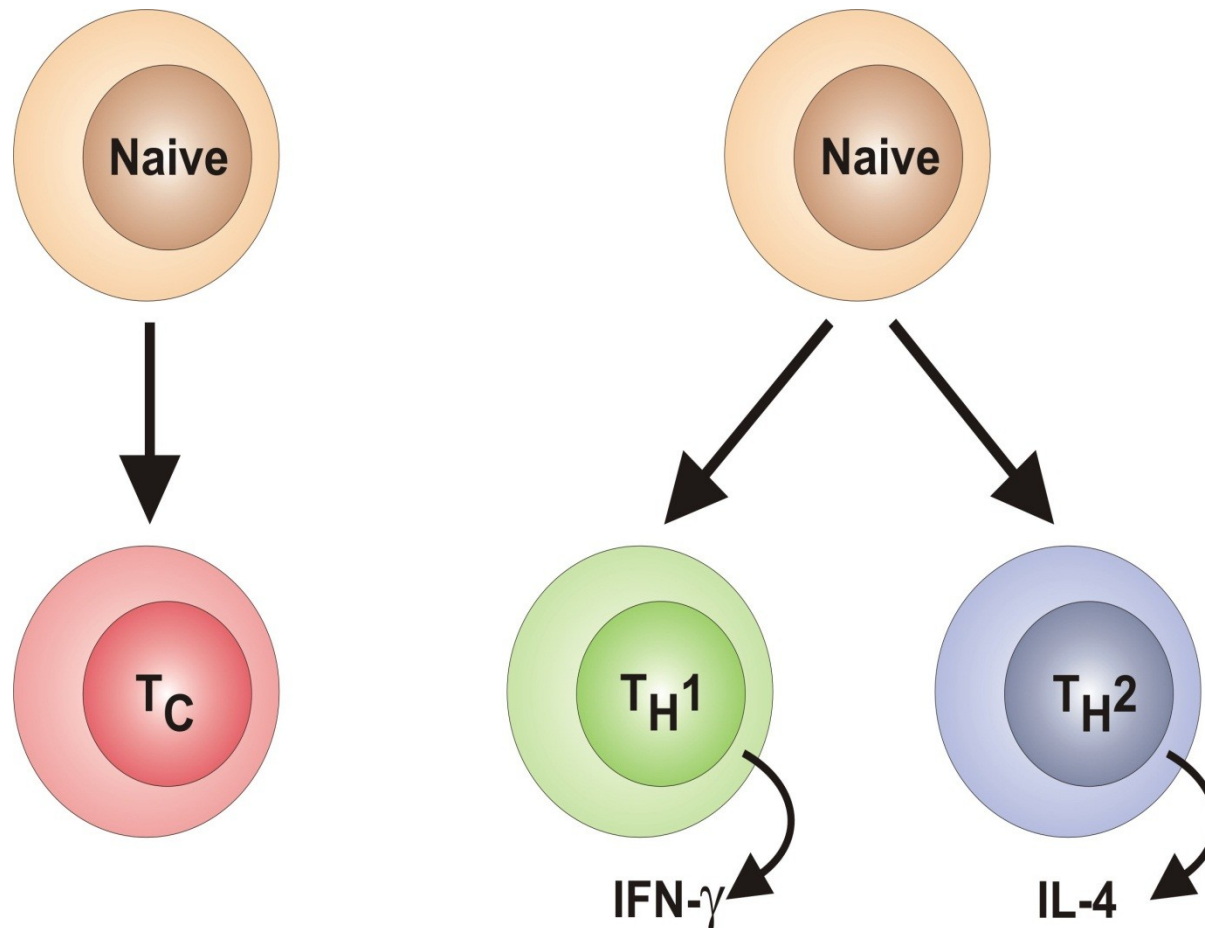
# T LYMFOCYTY:

$T_c$  - CYTOTOXICKÉ (ZABÍJEJÍ INFIKOVANÉ BUŇKY, ABY SE NESTALY ZDROJEM INFEKCE)

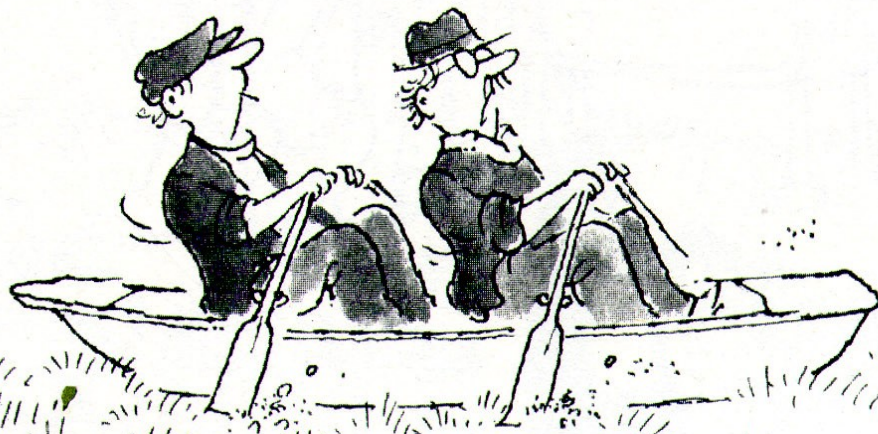
$T_{H1}$  - POMOCNÉ TYPU 1 (POMÁHAJÍ VYVOLÁVAT ZÁNĚT)

$T_{H2}$  - POMOCNÉ TYPU 2 (POMÁHAJÍ JINÝM BUŇKÁM (B LYMFOCYTŮM) DĚLAT PROTI LÁT KY)

# T LYMFOCYTY: DŮLEŽITÉ FUNKČNÍ SUBPOPULACE

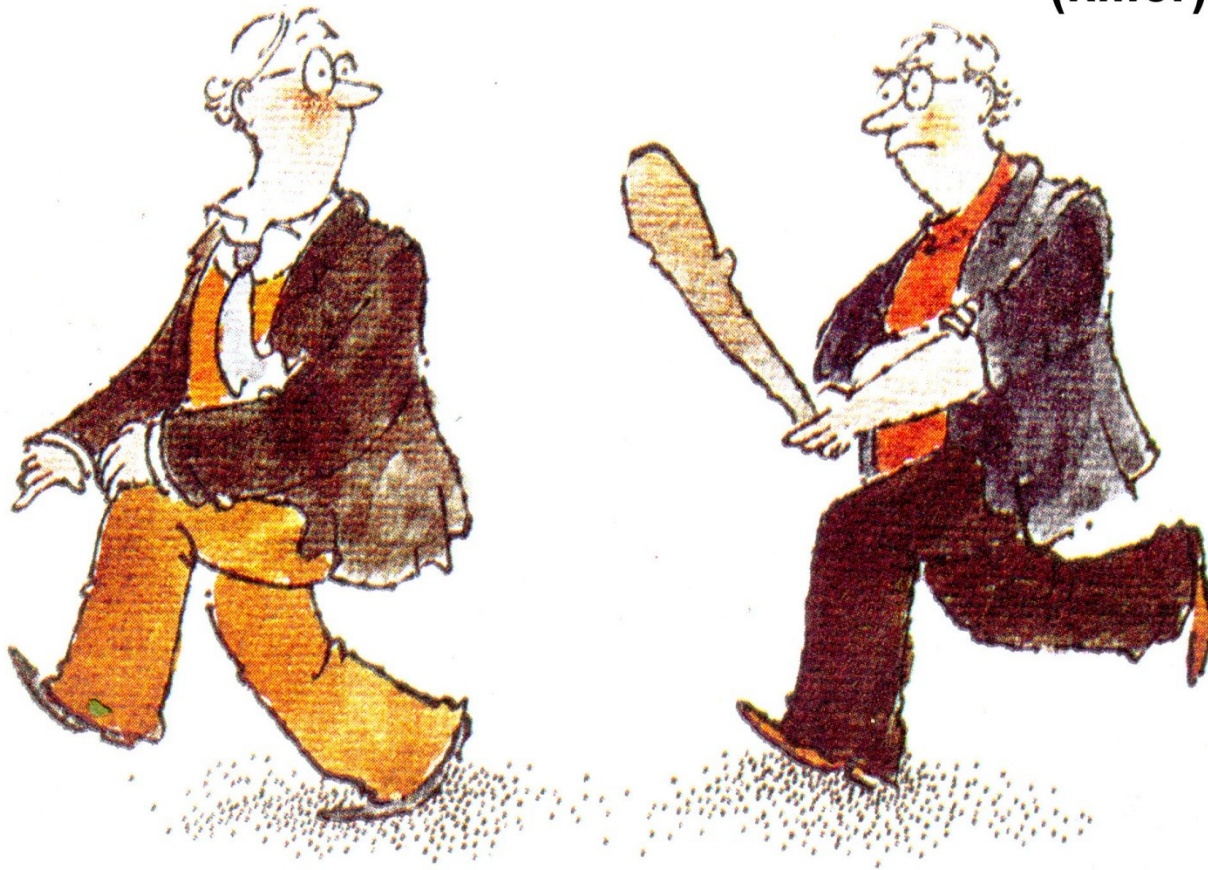


$T_H$   $T_C (B)$





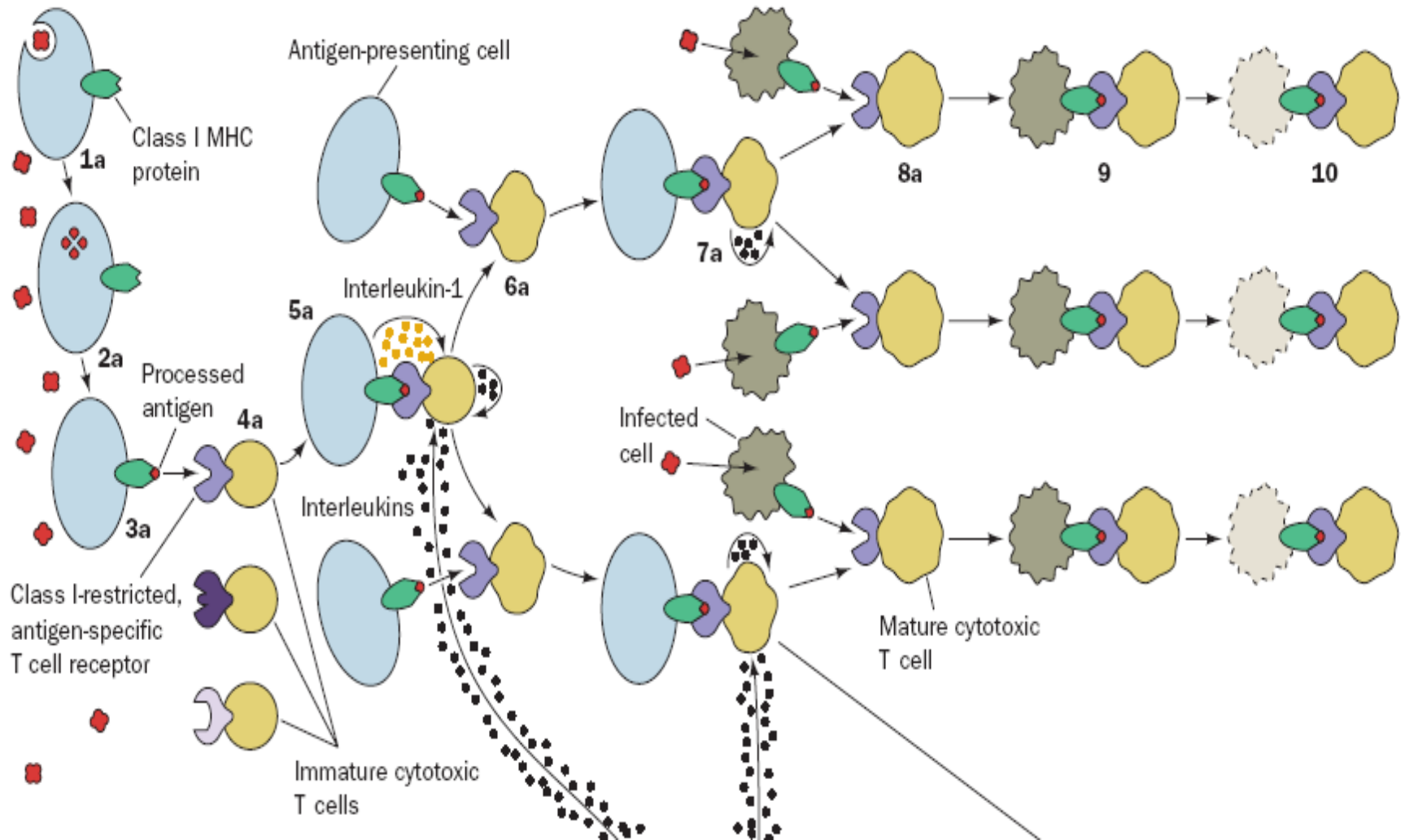
$T_c$   
(killer)



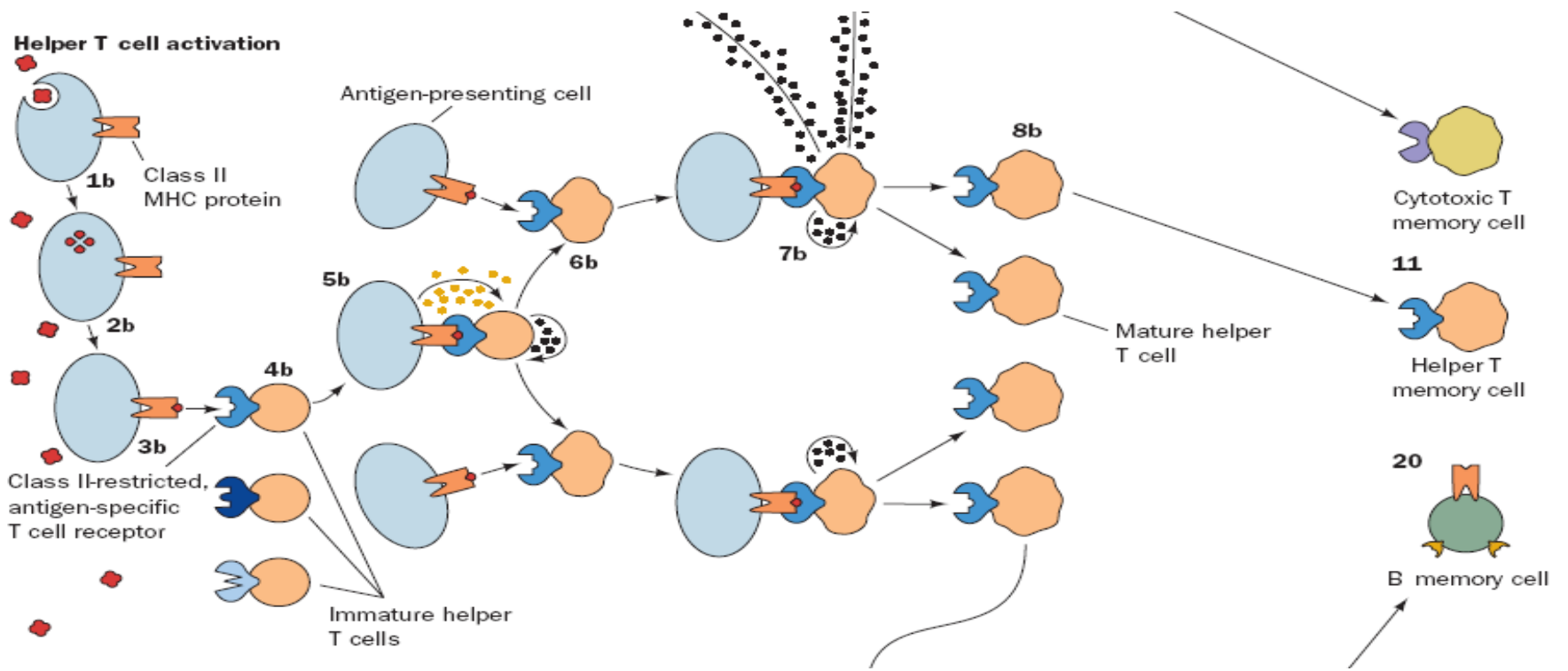
# Funkce T<sub>C</sub>

## Cytotoxic T cell activation

■ — Antigen



# Funkce T<sub>H</sub>1



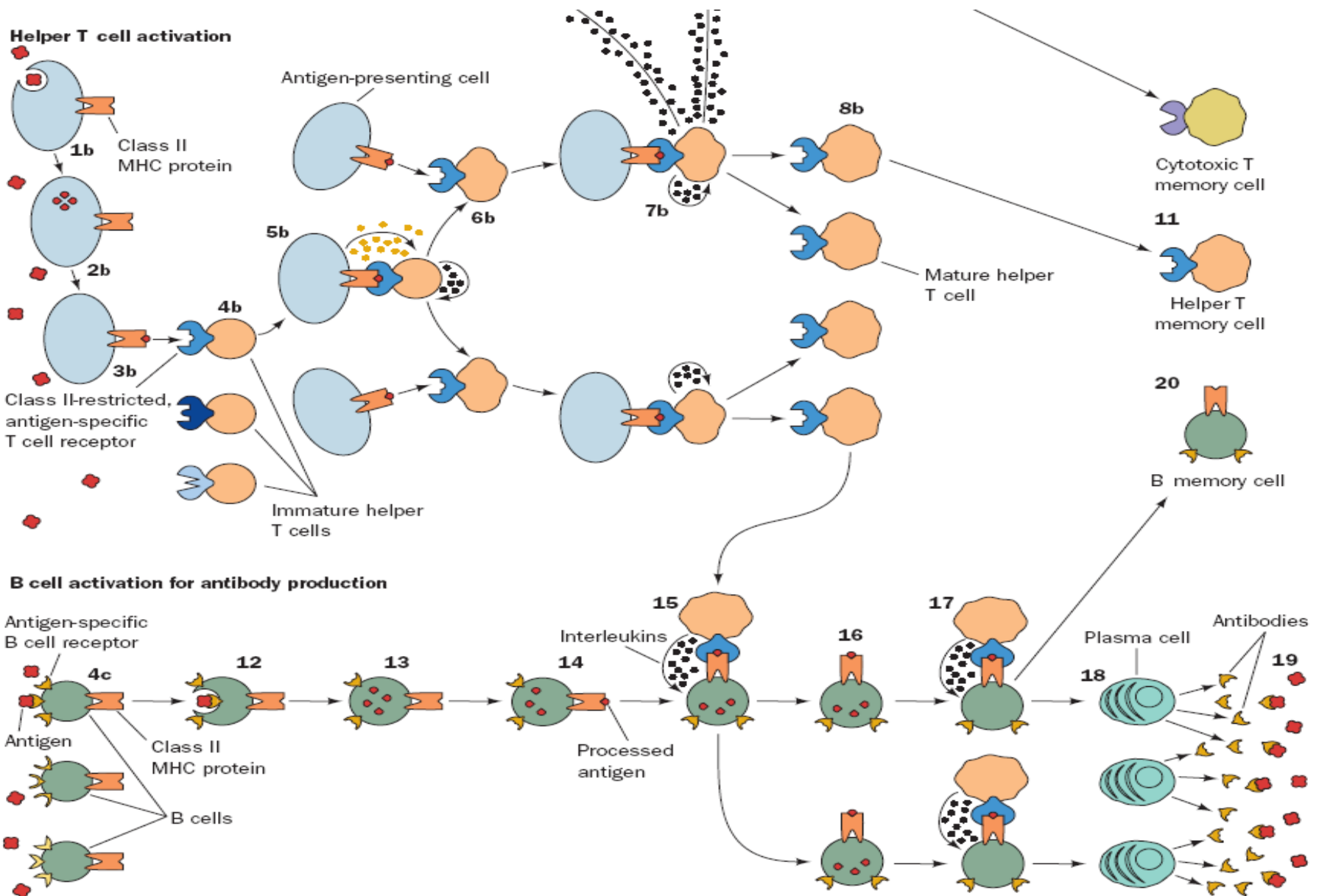
# B(ones)- LYMFOCYTY:

VZNIKAJÍ V KOSTNÍ DŘENI

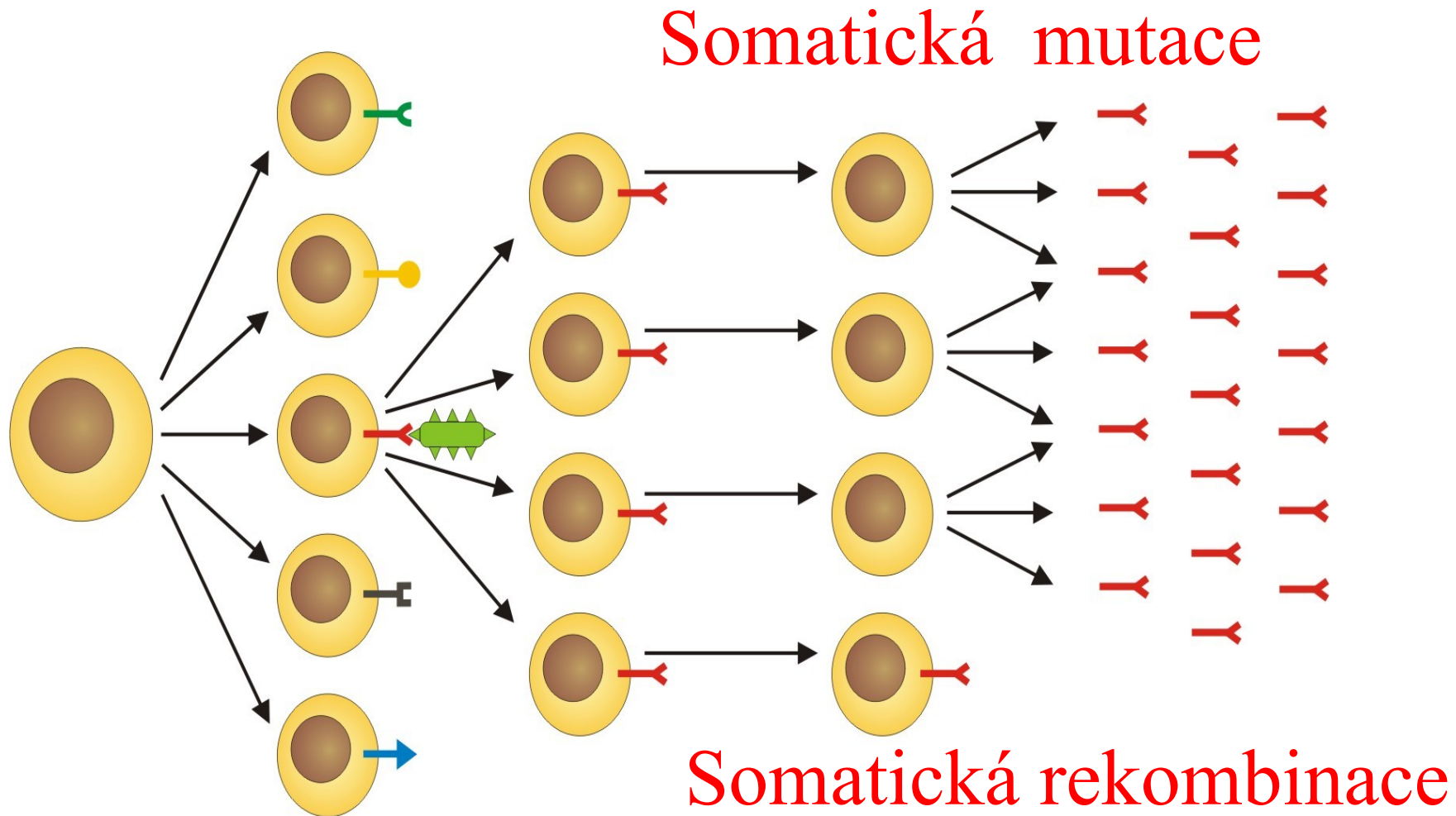
VYRÁBĚJÍ PROTILÁTKY (VĚTŠINOU ZA  
VYDATNÉ POMOCI T-LYMFOCYTŮ)

**OZNAČENÍ INFIKOVANÝCH BUNĚK**

# Funkce T<sub>H</sub>2



# VZNIK REPERTOÁRU B LYMFOCYTŮ



**TABLE 35-2** Isotypes of Human Immunoglobulins

Class	Heavy Chain	Light Chain	Subunit Structure	Molecular Mass (kD)
IgA <sup>b</sup>	Zaž.trakt, sliny, <sup>α</sup> inv patogeny pot a slzy	κ or λ	(α <sub>2</sub> κ <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> J <sup>a</sup> (α <sub>2</sub> λ <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> J <sup>a</sup>	360–720
IgD	V krvi	δ ??	δ <sub>2</sub> κ <sub>2</sub> δ <sub>2</sub> λ <sub>2</sub>	160
IgE	V krvi	ε alergická reakce	ε <sub>2</sub> κ <sub>2</sub> ε <sub>2</sub> λ <sub>2</sub>	190
IgG <sup>b</sup>	V krvi a interst. tek.	γ 2-3 dny po IgM	γ <sub>2</sub> κ <sub>2</sub> γ <sub>2</sub> λ <sub>2</sub>	150
IgM	V krvi	μ 2-3 dny po infekci	(μ <sub>2</sub> κ <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> J (μ <sub>2</sub> λ <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> J	950

# Ig G(D,E)

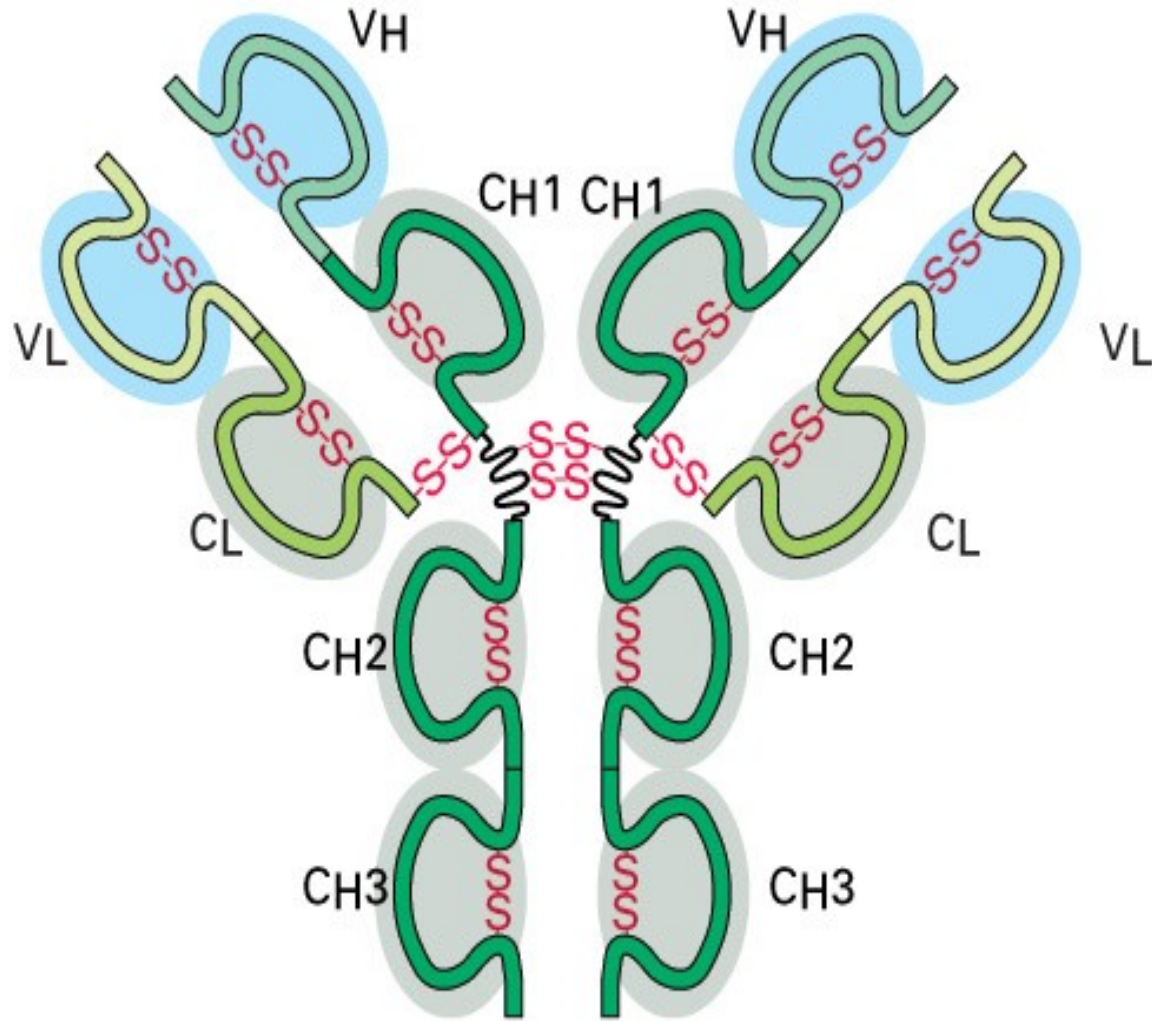
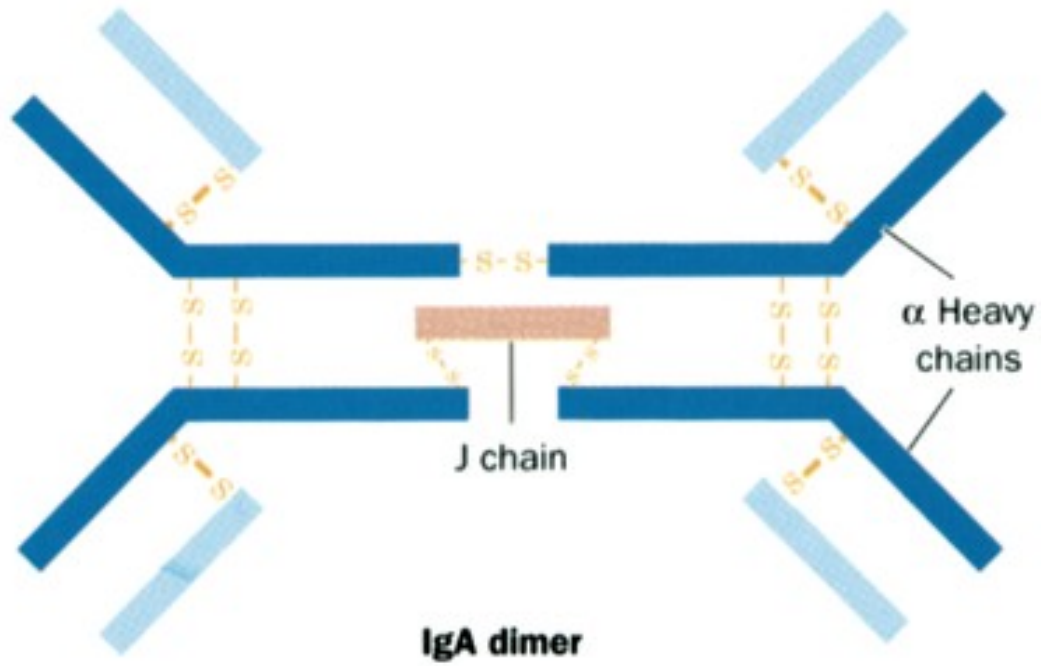


Figure 24-32. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



# Ig A



# Ig M

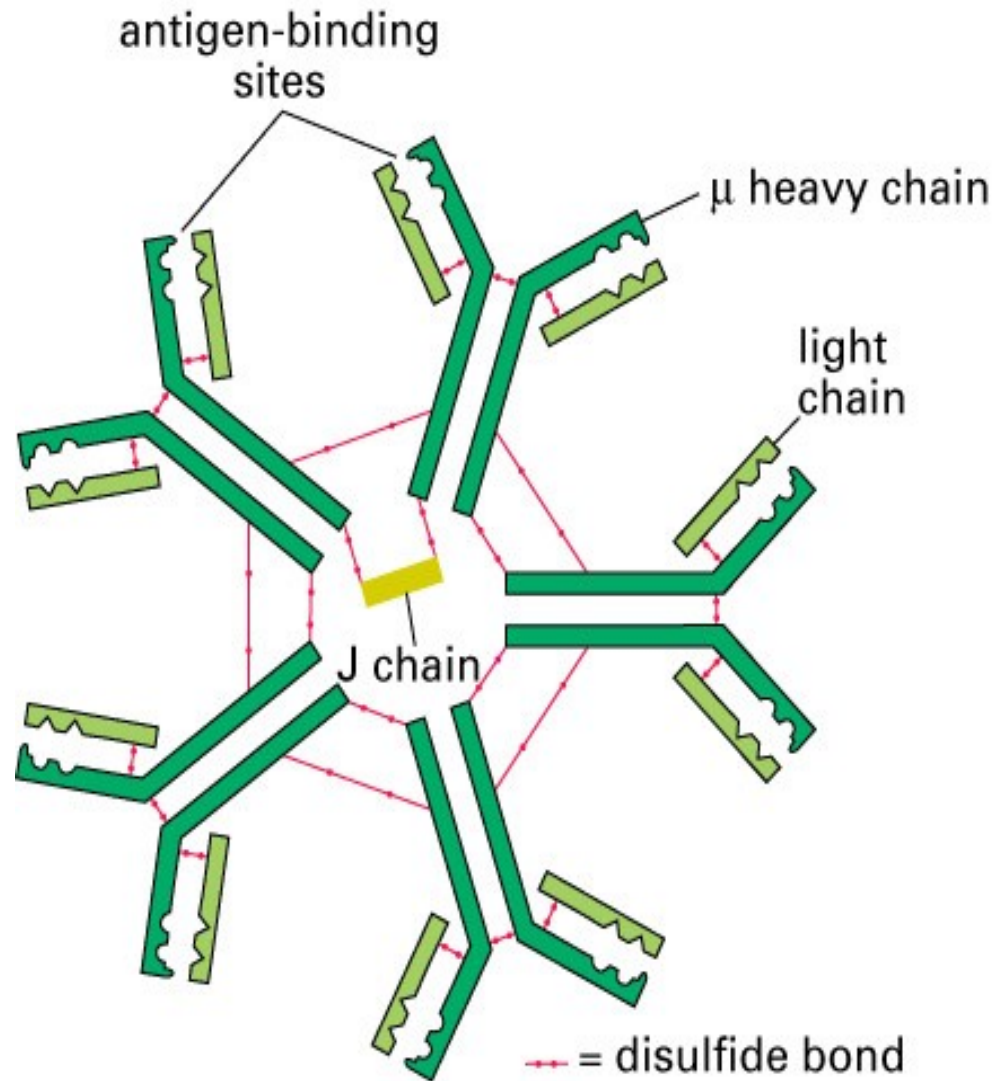


Figure 24-23. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

# PROTILÁTKY:

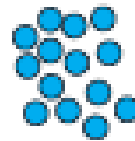
OBALÍ MIKROORGANISMY A ZNEMOŽNÍ  
JIM NASEDNOUT NA BUŇKY

OBALENÉ MIKROORGANISMY JSOU  
„CHUTNĚJŠÍ“ PRO FAGOCYTY  
(POŽÍRAČE MIKROBŮ)

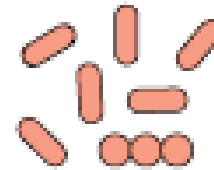
foreign  
molecules



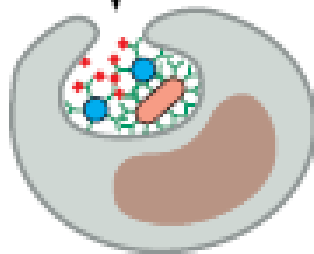
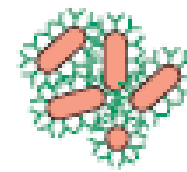
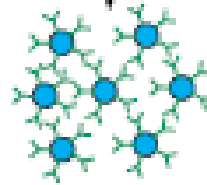
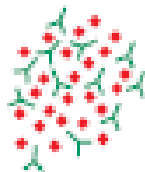
viruses



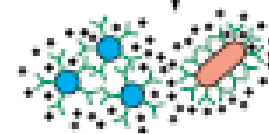
bacteria



ANTIBODIES FORM AGGREGATES



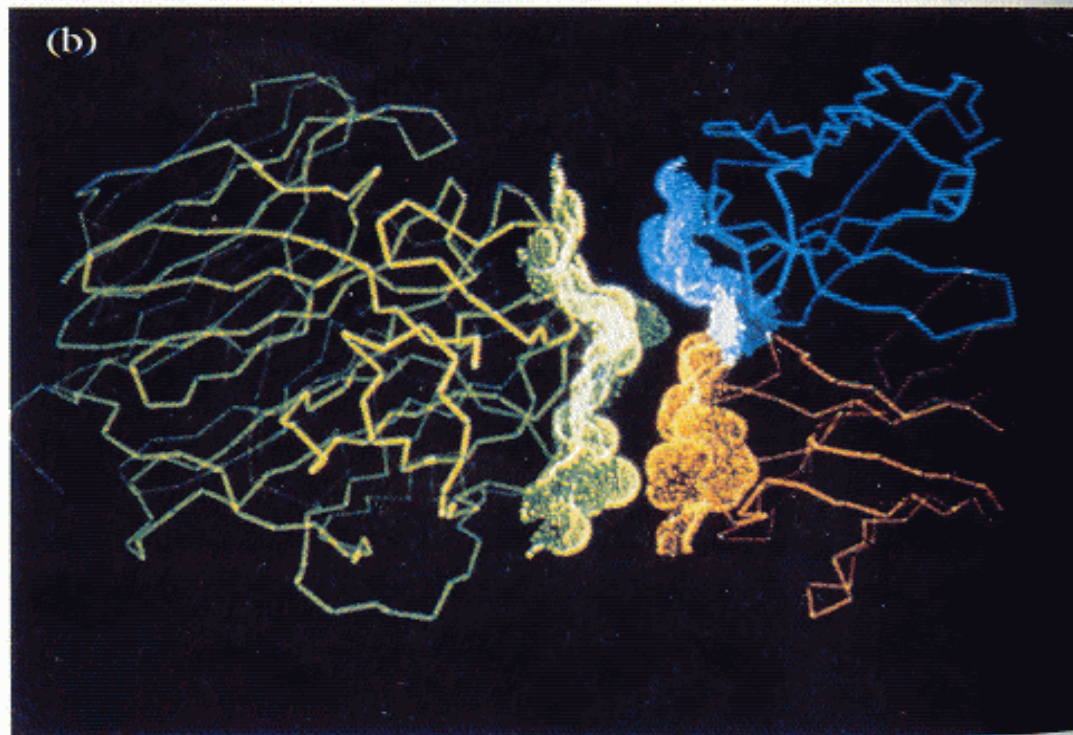
antibody and antigen  
aggregates are ingested  
by phagocytic cells



special proteins in  
blood kill antibody-  
coated bacteria or viruses

# ANTIGENY

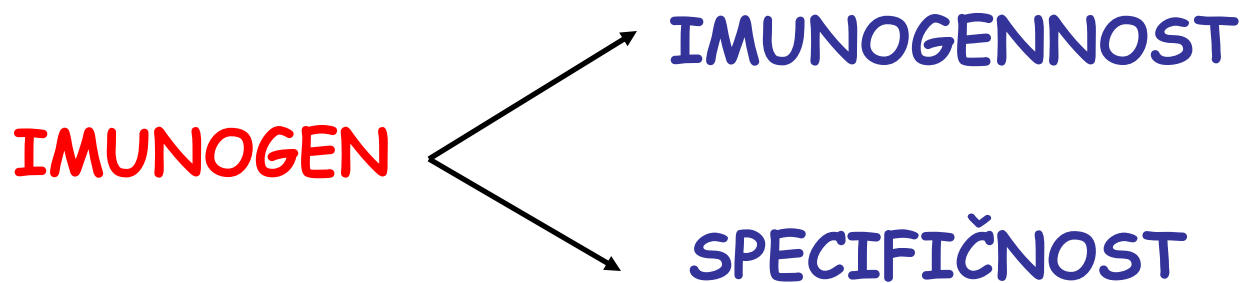
*Anti* = proti (řecky)  
*gen* = od *gegnomai* tvořit



Makromolekulární látky přirozeného nebo umělého původu, které organismus rozpozná jako cizí (nevlastní). Po vpravení do vhodného (komplementárního) organismu, antigeny stimulují tvorbu protilátek, lymfokinů, regulačních a výkonných T-lymfocytů, čímž se navodí imunitní odpověď.



*Antigen je většinou užíván ve významu kompletního antigenu*



**IMUNOGENNOST** schopnost vytvořit imunitní odpověď  
(vznik protilátky)

**SPECIFIČNOST** schopnost reagovat s těmito protilátkami,  
jejichž tvorbu vyvolal.

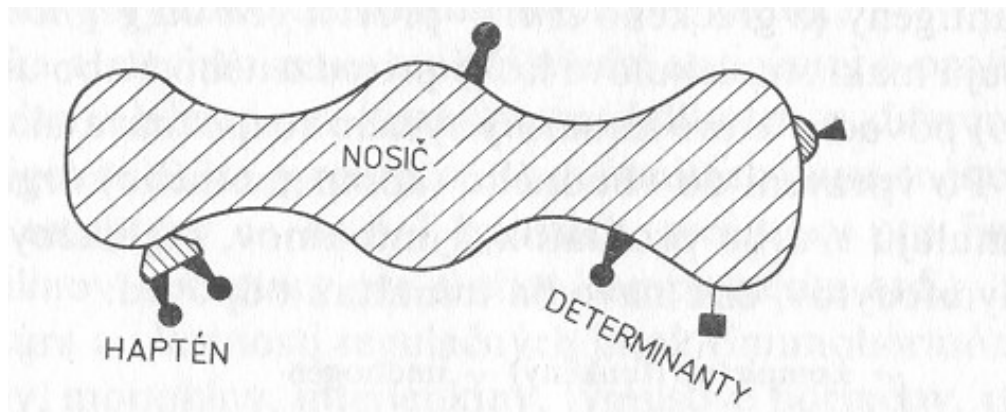
S jinými protilátkami nereaguje

**HAPTÉN** nemůže vyvolat imunitní odpověď,  
ale může reagovat s těmito buňkami a protilátkami,  
které vznikly po interakci imunogenu s imunokomplementární  
buňkou.

➔ Haptén je součástí molekuly kompletního antigenu

### **SLOŽENÍ IMUNOGENU:**

- 1) MAKROMOLEKULÁRNÍ NOSIČ (*carrier*)
- 2) NÍZKOMOLEKULÁRNÍ DETERMINANTNÍ SKUPINY  
**determinanty, epitofy**



# CHEMICKÉ VLASTNOSTI IMUNOGENU:

IMUNOGEN

PROTEINY, POLYPEPTIDY

POLYSACHARIDY

NUKLEOPROTEINY

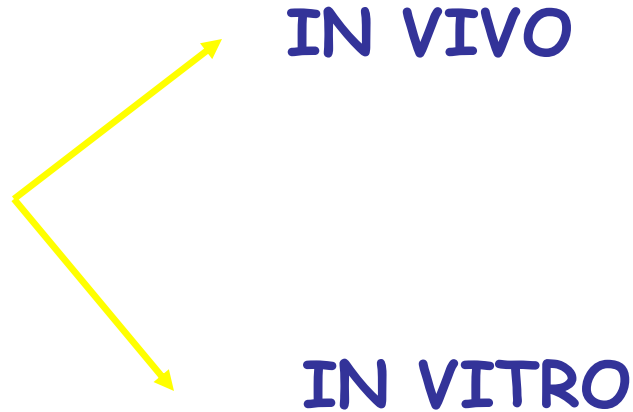
Čisté **lipidy** jsou zpravidla jen **haptény**, ale v komplexech s proteiny nebo polysacharidy se stávají dobrými imunogeny. Imunogenovou aktivitu mohou mít všechny biopolyméry, které jsou přítomné v živých systémech, ale i syntetické anebo polosyntetické (konjugované) antigeny. Schopnost vyvolat imunitní odpověď není stejně silná. Nejsilnější **proteiny**, potom **polysacharidy** a jejich komplexy.

želatina  
(slabý imunogen)  
malý počet  
determinantních  
skupin

albumin  
(silný imunogen)  
dostatečný počet  
determinatních skupin



# REAKCE ANTIGENŮ



**IN VIVO REAKCE**

**IN VITRO REAKCE**

- prospěšná (vznik imunity)
  - škodlivá (imunopatologická)
  - indiferentní (neodpovídá)
- jsou základem imunochemických metod

Základem reakcí je **vznik biospecifické vazby** mezi vazebnými místy protilátky a determinantními skupinami antigenu za vzniku protilátkově-antigenních **komplexů** (imunokomplexů), při interakcích antigenu a protilátky se uplatňují stejné nekovalentní interakce jako např. enzym-substrát, hormon-receptor h.

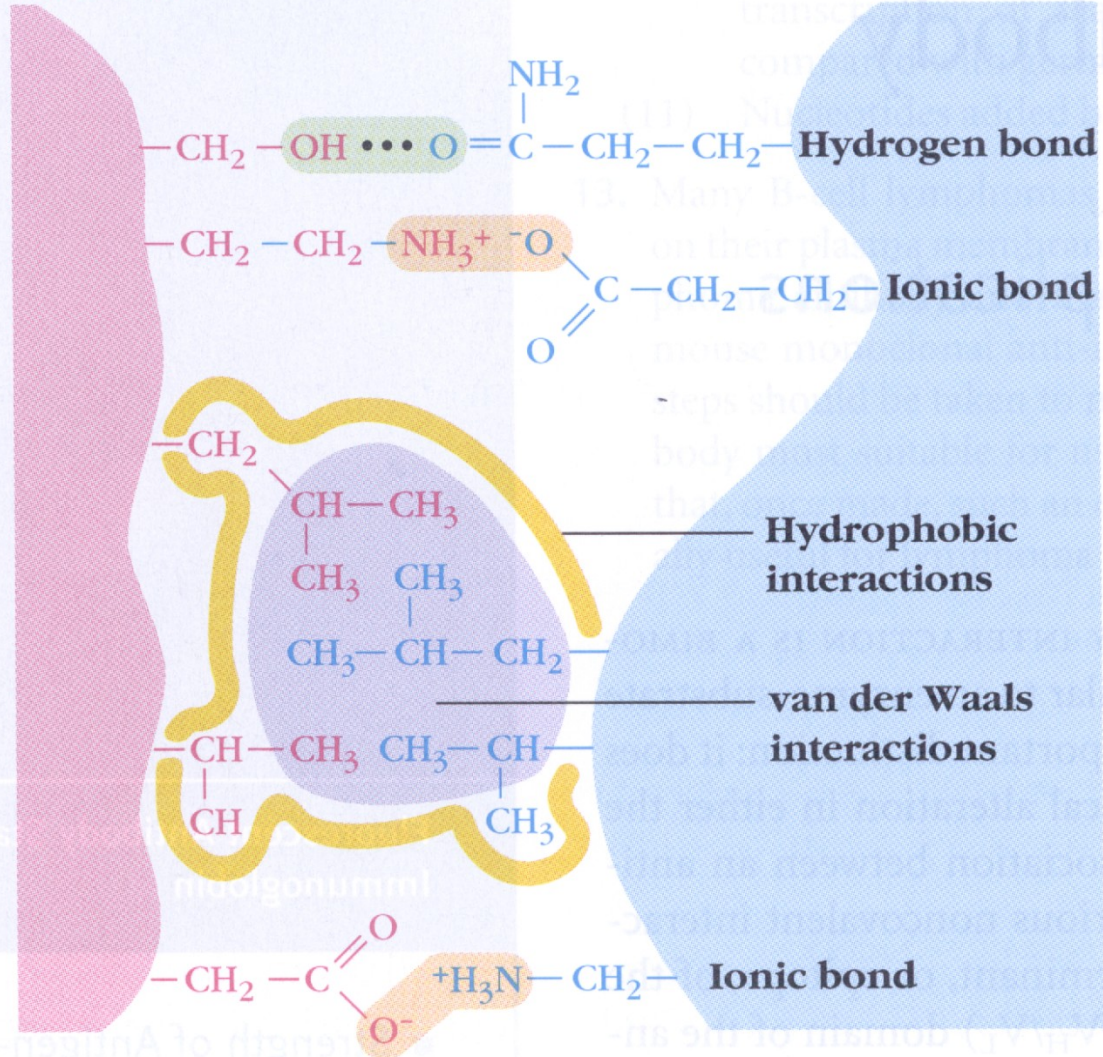
**ROZDÍL:** protilátky nemění strukturu antigenu irreverzibilně

## SÍLY, KTERÉ SE UPLATŇUJÍ PŘI VAZBĚ ANTIGENU S PROTIŁÁTKOU

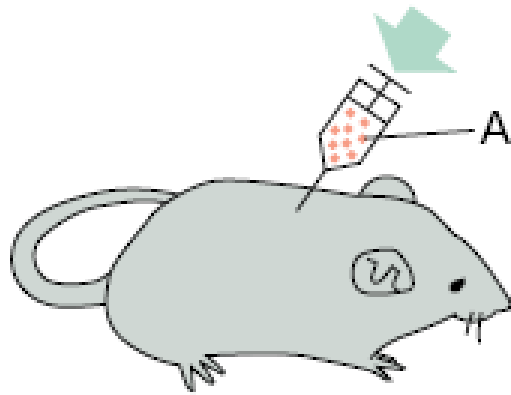
- VODÍKOVÉ VAZBY
- NEPOLÁRNÍ HYDROBÓBNÍ INTERAKCE
- COULOMBOVY SÍLY
- VAN DER WAASOVY SÍLY
- LONDONOVY DISPERZNÍ PŘITAŽLIVÉ SÍLY
- STÉRICKÉ ODPUDIVÉ SÍLY

ANTIGEN

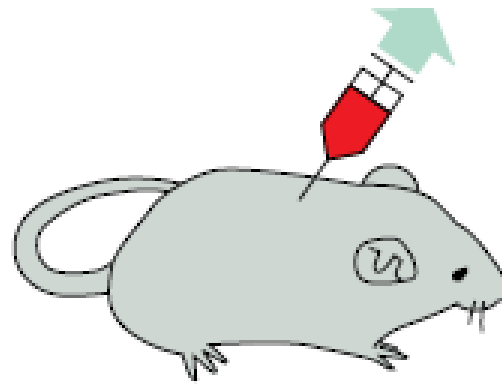
ANTIBODY



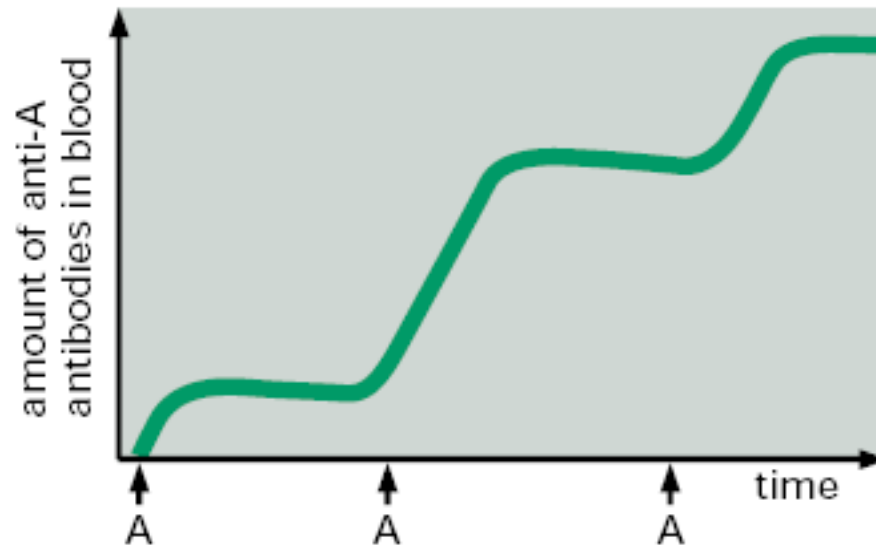
# Příprava polyklonálních protilátek



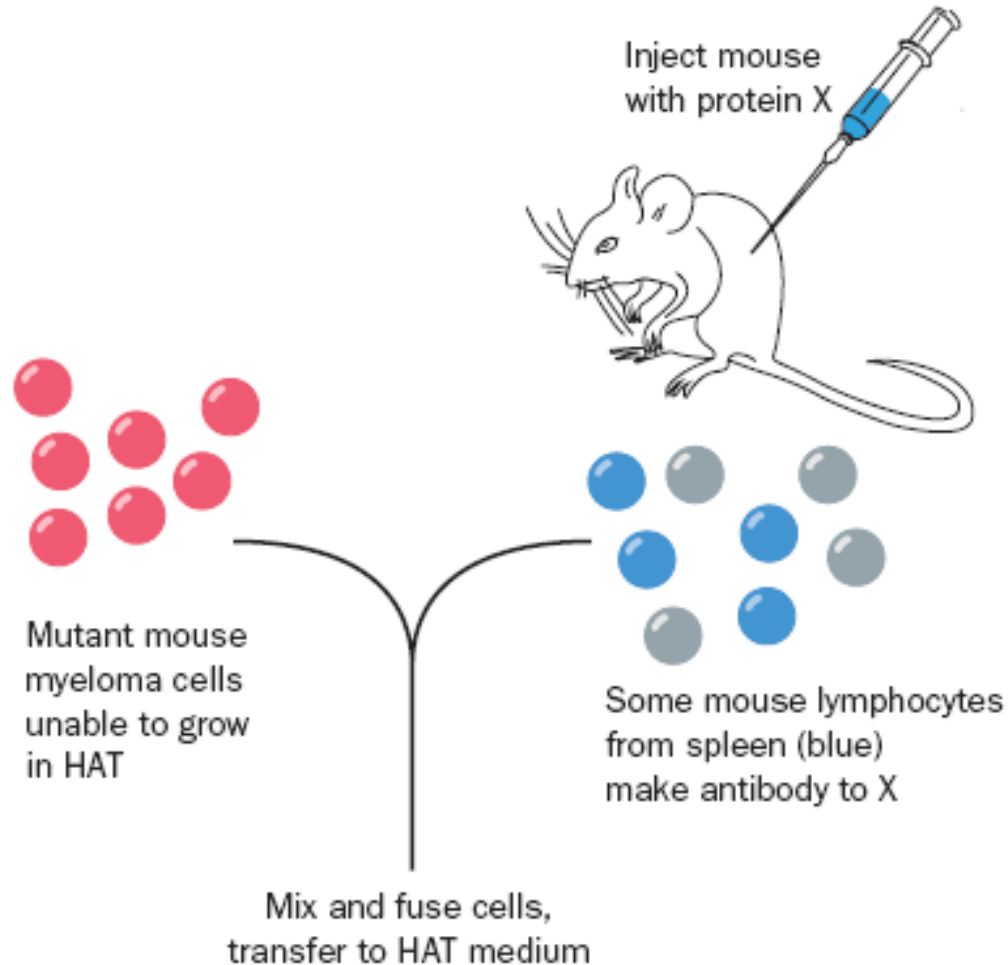
inject antigen A



take blood later

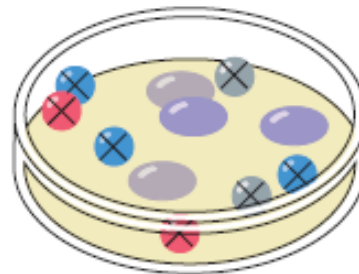


# Příprava monoklonálních protilátek



# Příprava monoklonálních protilátek

Mix and fuse cells,  
transfer to HAT medium



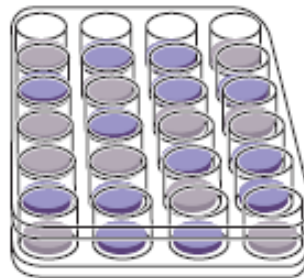
Unfused  
cells die



Hybridomas  
grow

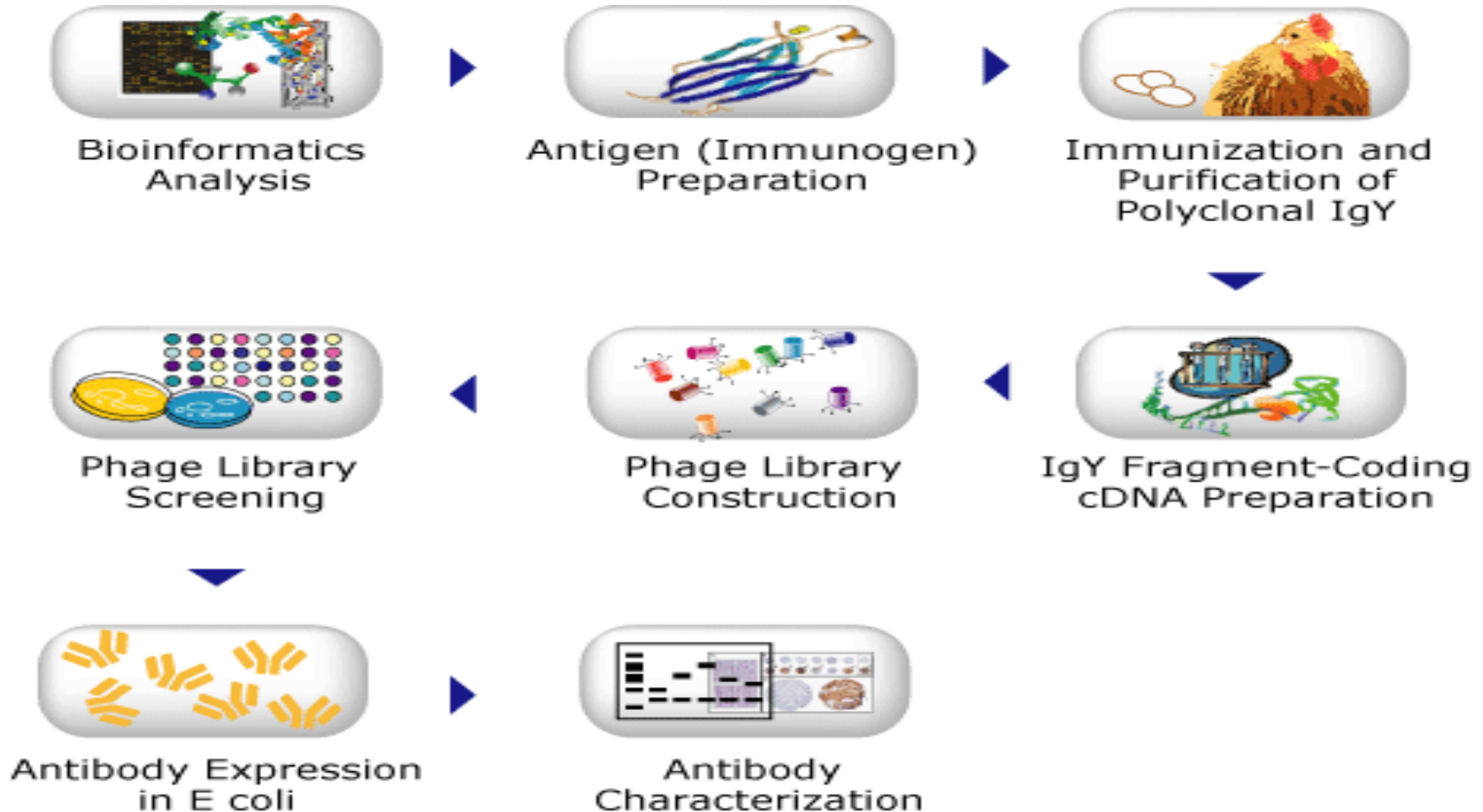


Culture single  
cells in separate wells



Test each well for antibody  
to protein X

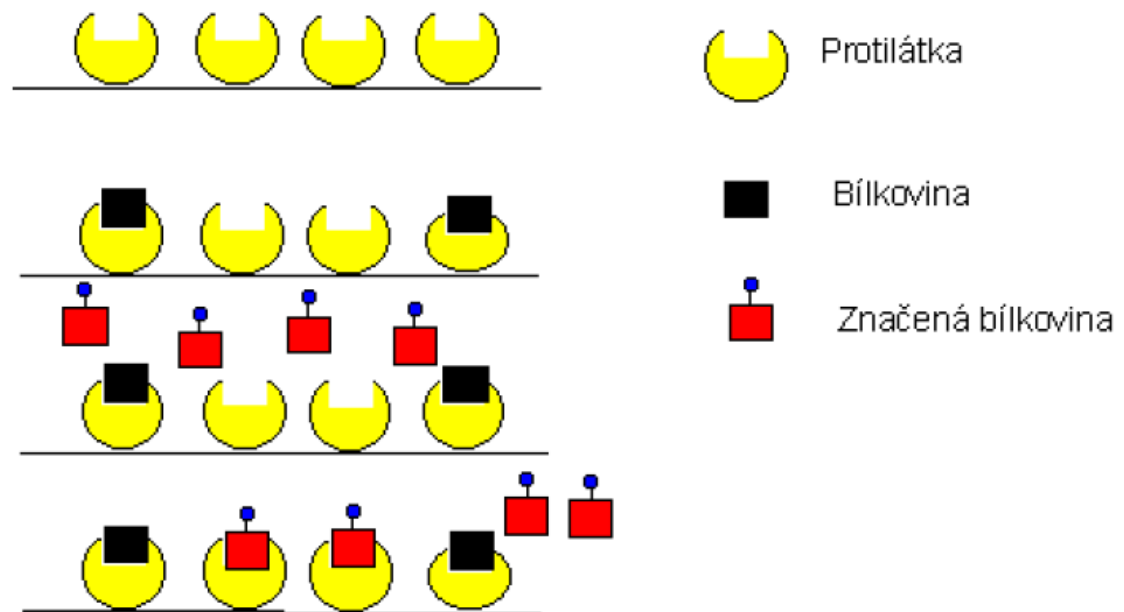
# Příprava rekombinantních protilátek





# Imunochemické metody

- RIA  
(radioimunoanalýza)



# Imunochemické metody

- (ELISA- enzyme linked immunosorbent assay)

