



Biotechnologie léčiv – Úvod

Doc. RNDr. Jan Hošek, Ph.D.
hosek@mail.muni.cz

Ústav molekulární farmacie
FaF MU

Sylabus přednášek

1. týden	16.02.2022	Úvod do farmaceutické biotechnologie, postavení, historické mezníky; Buňka jako nástroj biotechnologa, funkce endoplasmatického retikula, Golgiho aparát, posttranslační procesy	Doc. Hošek
2. týden	23.02.2022	Základy genového inženýrství I - principy, jak získat rekombinantní gen, vektory	Doc. Hošek
3. týden	02.03.2022	Základy genového inženýrství II - příprava genů pro klonování, hostitelské buňky, transformace, selekce a identifikace transformantů	Doc. Hošek
4. týden	09.03.2022	Příklady produktů klasické a rekombinantní biotechnologie ve farmacii, cytokiny jako nástroje v boji proti infekcím a v terapii nádorů, hormony, enzymy, protilátky a jejich deriváty	Doc. Hošek
5. týden	16.03.2022	Expresse rekombinantních proteinů v prokaryotických buňkách a kvasinkách	Doc. Bartoš
6. týden	23.03.2022	Expresse rekombinantních proteinů v eukaryotických buňkách - hmyzí buňky a baculoviry, savčí buňky a adenoviry	Doc. Hošek
7. týden	30.03.2022	Klasické biotechnologické postupy ve farmacii	Doc. Bartoš
8. týden	06.04.2022	Biotechnologický proces - definice pojmu, fáze biotechnologického procesu, suroviny pro biotechnologický proces, fermentory a bioreaktory, metody purifikace produktů	Doc. Bartoš
9. týden	13.04.2022	Příprava rekombinantních vakcín	Prof. Turánek
10. týden	20.04.2022	Genové inženýrství u vyšších rostlin - struktura rostlinného genomu, vektory, expresní kazety	Doc. Hošek
11. týden	27.04.2022	Biotechnologie rostlin - metody transformace a identifikace transgenních rostlin, molekulární farmaření	Doc. Hošek
12. týden	04.05.2022	Aplikace genového inženýrství a biotechnologie rostlin ve farmacii, medicíně a potravinářství, problematika nakládání s geneticky modifikovanými organismy	Doc. Hošek
13. týden	11.05.2022	Genová a buněčná terapie, tkáňové inženýrství, genomika a proteomika ve farmacii	Doc. Hošek
14. týden	18.05.2022	Nové trendy ve vývoji biofarmaceutických produktů	Doc. Hošek

Doporučená literatura

- **Biotechnologie a farmakogenetika pro farmaceuty – Bartoš a kol., 2009**
- **Základy buněčné biologie – Alberts a kol., 1998**
- **Klonování genů a analýza DNA – Brown, 2006, překlad 2007**
- **Metody molekulární biologie – Šmarda a kol., 2005**
- **Pharmaceutical biotechnology – Crommelin et al. 2008**
- **Transgenoze rostlin - Ondřej a Drobník, 2002**
- **Biotechnology Foundations, 2nd Edition – Jack O´Grady, 2019**
(<https://legacy.cnx.org/content/col26095/1.5>)
- <http://www.gate2biotech.cz/>
- <https://www.osel.cz/>



Co je to BIOTECHNOLOGIE?

Procesy využívající **živé organismy** nebo **jejich součásti** k výrobě nebo modifikaci produktů; šlechtění živočichů, rostlin a mikroorganismů pro specifická použití (komerční aplikace a **užitek pro lidstvo**).



Biotechnologie

Molekulární
biologie

Genetika

Mikrobiologie

Biochemie

Chemie

Bioinženýrství

Enzymologie

Prof. Drobník



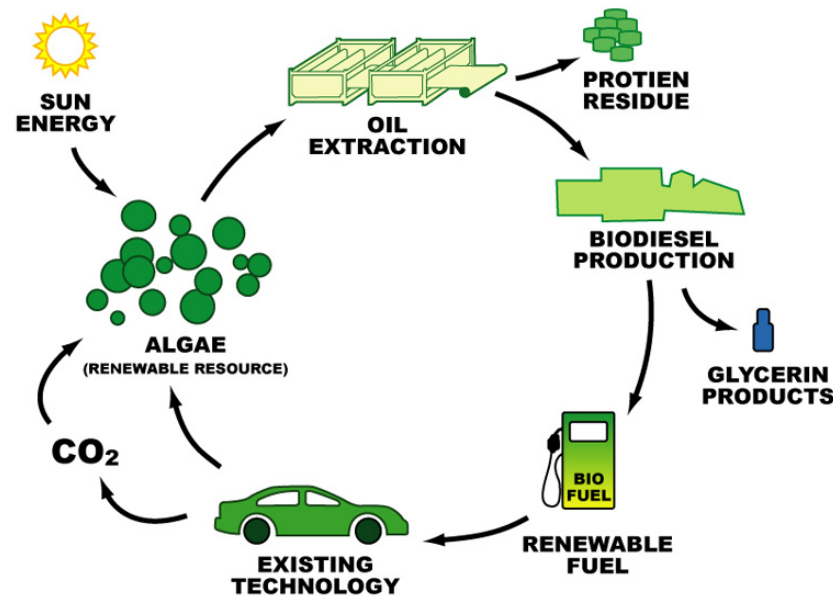
Povaha biotechnologie je ve své podstatě spojena s **aplikací biologie**, tedy s **průmyslem**, a tedy i s **komercí**..

Proto je nutno ji provozovat tak, aby z jejích výsledků **měli lidé co největší užitek**, což bez komerčního vyústění není možné.

Z toho důvodu by kvalita vědecké práce v biotechnologii měla být měřena spíše **patenty** než impakt faktorem publikací.

Biotechnologické výstupy

- Produkce potravin a nápojů
- Produkce materiálů a paliv
- **Produkce léčiv** a medicínských materiálů



(a)



(b)



(c)



(d)

Figure 1.1 Some foods produced by microorganisms. Some of the products derived from the use of prokaryotes in biotechnology include (a) cheese, (b) wine, (c) beer and bread, and (d) yogurt. (credit bread: modification of work by F. Rodrigo/Wikimedia Commons; credit wine: modification of work by Jon Sullivan; credit beer and bread: modification of work by Kris Miller; credit yogurt: modification of work by Jon Sullivan)

Biofarmaceutikum

Biofarmaceutika jsou léčiva nebo potenciální léčiva získaná jinou, než klasickou cestou syntetické chemie, včetně kombinatorní chemie, případně léčiv původně získaných izolací z rostlinného (biologického) materiálu. (Beneš, 2007, *Chem. Listy* 101, 18–24)

- Tvorba pomocí genového inženýrství a rekombinantní technologií
- Terapeutické proteiny, DNA či RNA, protilátky, části nebo celé buňky, konjugáty léčiv s proteiny či přírodními polymery,...



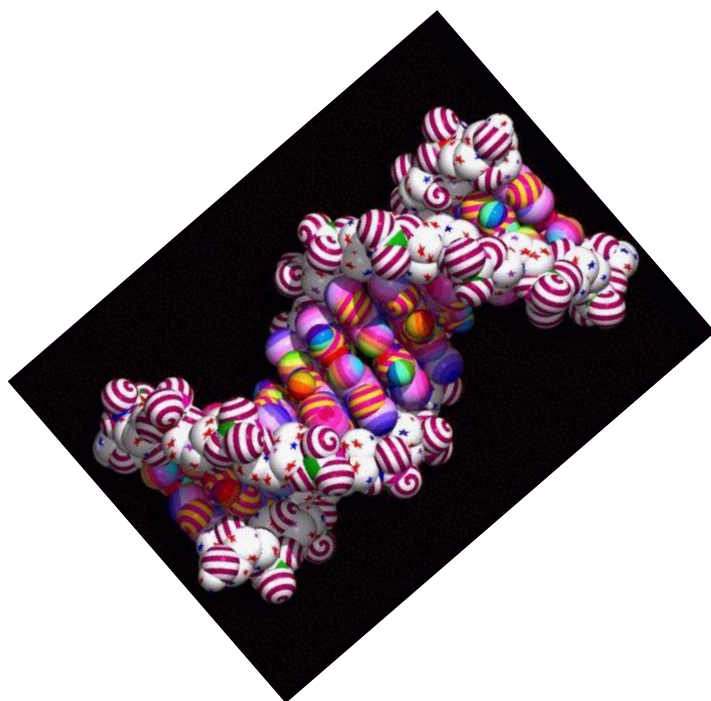
Klasifikace biotechnologie

- Klasické mikrobiální technologie
- Enzymové technologie
- Využívání živočišných a rostlinných buněk
- Genové technologie
- Farmaceutická biotechnologie

Farmaceutická biotechnologie

podle European Association of Pharma Biotechnology (EAPB)

věda, která překrývá všechny technologie nezbytné k vytvoření, výrobě a registraci biotechnologických léčiv



Je to opravdu věda?

- 1) Existence předmětu bádání
- 2) Ústřední teorie
- 3) Existence metodických přístupů
- 4) Institucionalizace
- 5) Vlastní časopis

Předmět farmaceutické biotechnologie

- Předmětem studia farmaceutické biotechnologie je **léčivo vytvořené specifickým (biotechnologickým) postupem** - s využitím organismů, živých buněk nebo jejich součástí.
- Vyžaduje **specifický přístup ve všech fázích produkce** - vlastního návrhu, vývoje a konečně výroby.
- Léčiva vytvořená postupy biotechnologickými **podléhají zvláštnímu režimu registrace**, protože se jedná o **produkty geneticky modifikovaných organismů**.

Ústřední teorie farmaceutické biotechnologie

- společný evoluční původ organismů
- univerzalita genetického kódu napříč živými systémy
- podobnost transkripčních a translačních aparátů



Látky, biologicky aktivní v jednom organismu, mohou být produkovány v jakémkoli jiném organismu.



- 1) Rekombinantní produkt (ačkoli nevzniká ve svém původním organismu) je z hlediska funkce shodný nebo alespoň velmi podobný „originálu“.
- 2) Biofarmaceutický produkt může být biotechnologem vhodně upraven tak, aby měl zvláštní vlastnosti, díky kterým může v cílovém organismu vykonávat specifickou funkci.

Metodický přístup farmaceutické biotechnologie

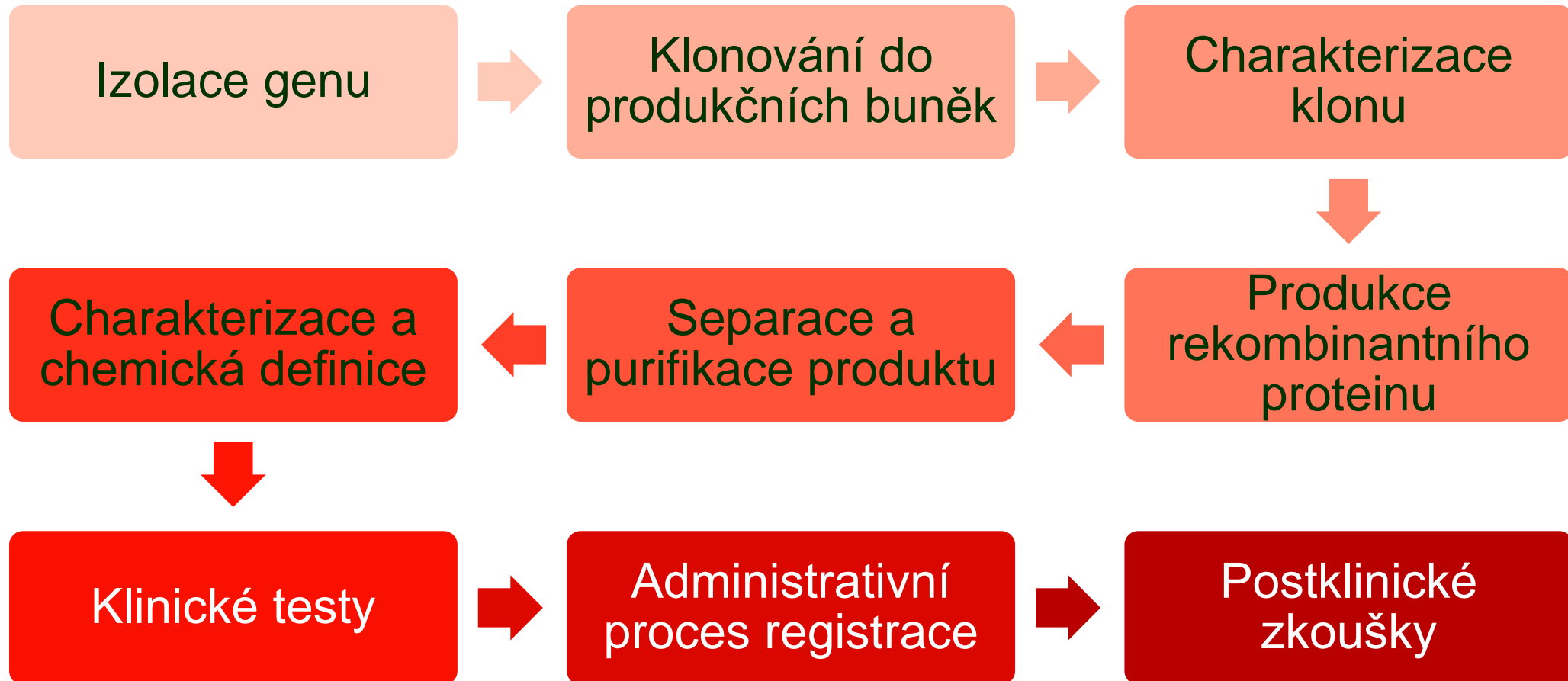
Rozmanitost zdrojů = široké spektrum metod

- Vývoj léčiva = molekulární biologie, genetika a genové inženýrství
- Produkce léčiva = klasická mikrobiologie, genetika
- Purifikace a charakterizace produktů = biochemie, analytická chemie
- Úprava léčiva = biochemie, enzymové inženýrství, organická chemie, farmaceutická chemie, technologie léčiv a farmakologie
- Registrace léčiva = aplikovaná farmacie

Specifikum metodického přístupu

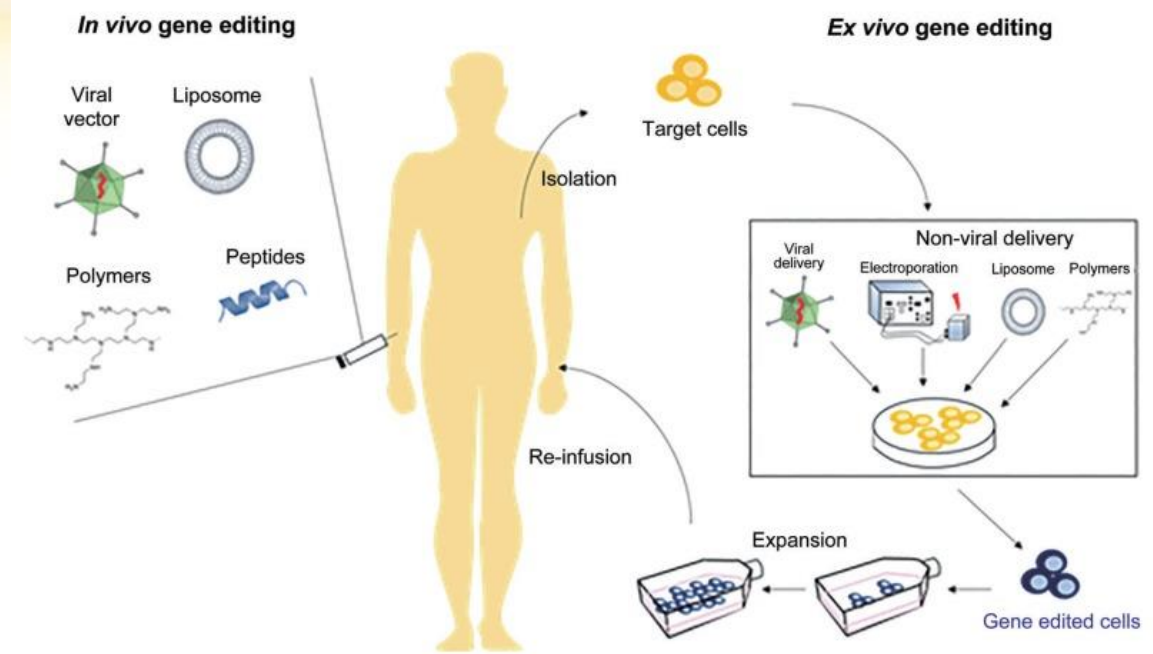
KOMPLEXNOST

Příklad produkce rekombinantního proteinu

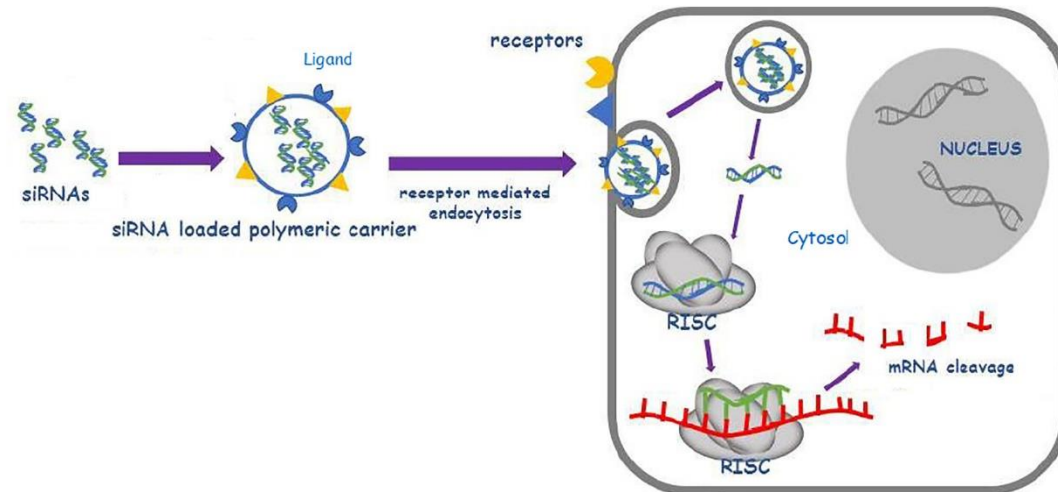
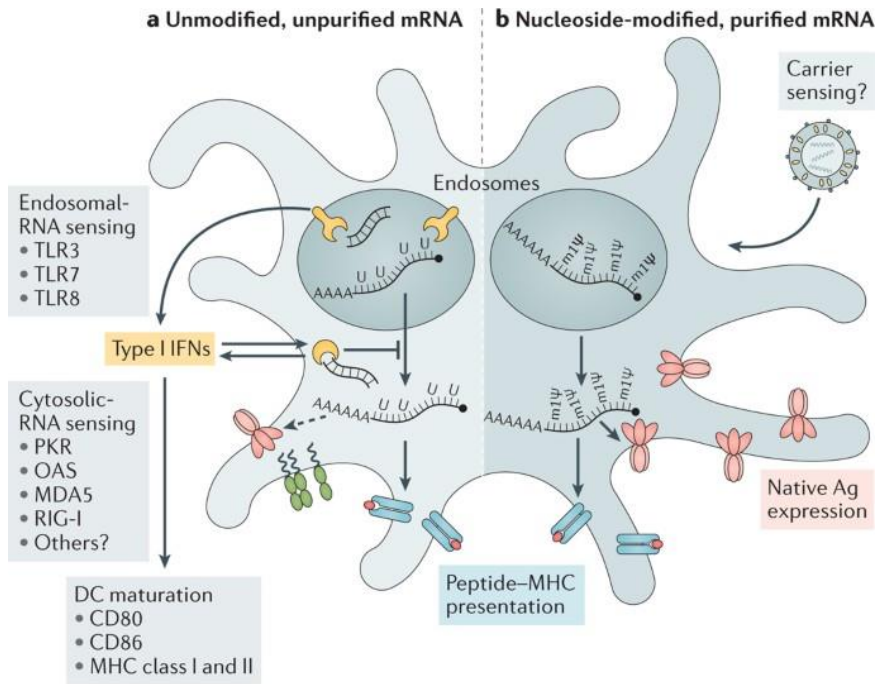


Specifické metodické přístupy

- Genová terapie
- DNA/RNA vakcíny
- Léky na bázi siRNA



DOI: 10.1038/aps.2017.2



Vědecké společnosti

Evropská asociace farmaceutické biotechnologie

(The European Association of Pharma Biotechnology, EAPB)

<http://www.eapb.org/>



The American Association of Pharmaceutical Scientists (AAPS)

<https://www.aaps.org/home>



Výzkumné instituce

- Zahraniční:

- **The North Carolina Central University, Biotechnology and Pharmaceutical Law Institute**

(<https://www.nccu.edu/research/institutes-and-special-facilities/bpli>)



- **Department of Pharmaceutical Technology and Biopharmaceutics, Martin-Luther-University Halle, Germany** (<https://www.pharmazie.uni-halle.de/institutsbereiche/>)



- České:

- **PRO.MED.CS Praha a.s.** (<https://www.promed.cz/>)



- **Biopharm – Výzkumný ústav biofarmacie a veterinárních léčiv, a.s., Jílové u Prahy, Česká republika** (<https://www.bri.cz/>)



Výzkumný ústav biofarmacie a veterinárních léčiv, a. s.

Časopisy

- Podle WoS **166 časopisů** v kategorii **BIOTECHNOLOGY & APPLIED MICROBIOLOGY** (leden 2022)
- **Current Pharmaceutical Biotechnology**
(<https://benthamscience.com/journals/current-pharmaceutical-biotechnology/>)



Krátká historie biotechnologie

- *Počáteční období do roku 1850*
- *Éra Pasteurova*
- *Období průmyslové biotechnologie*
- *Éra nových biotechnologií*
- *Transgenní organismy*

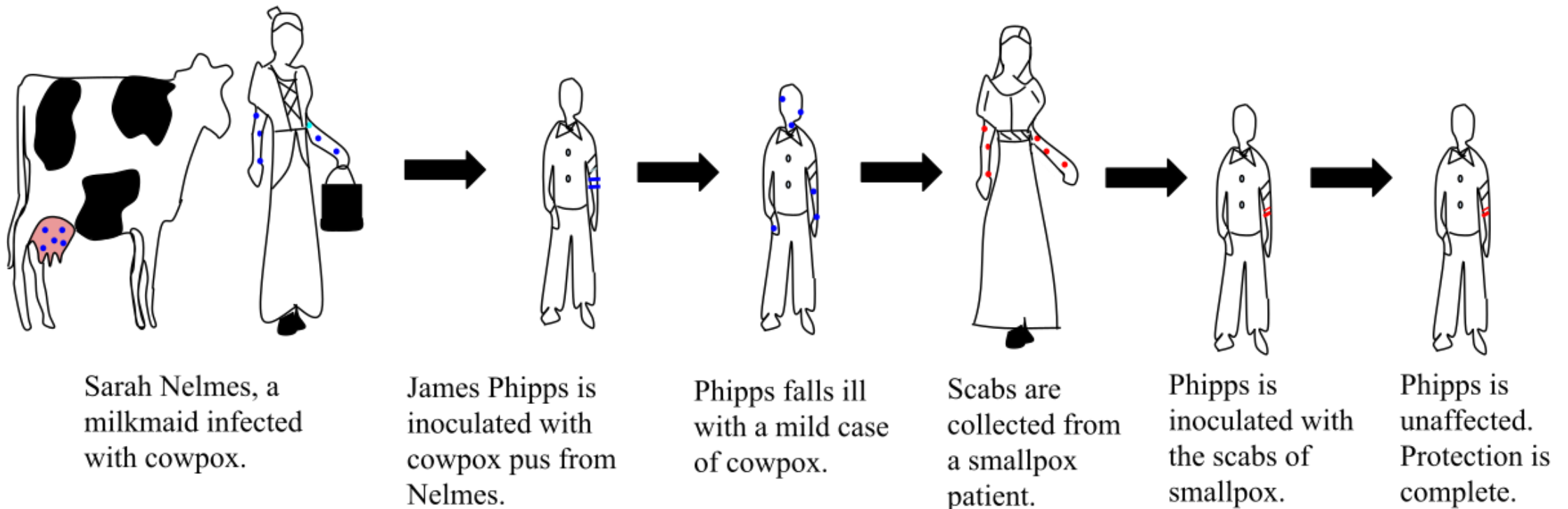
Biotechnologie v pravěku...

- empirické využívání divokých mikroorganismů k přípravě fermentovaných produktů
- v Mezopotámii Sumerové v 7. tisíciletí př.n.l. – výroba piva
- asi 4 000 let př.n.l. využití kvasinek pro fermentaci chlebového těsta ve starověkém Egyptě
- asi 4 000 let př.n.l. konzervace mléka kvašením ve starověké Číně – výroba sýrů, vína, octa



Prapočátky farmaceutické biotechnologie

- Objev vakcinace
 - Edward Jenner 1796 – první vakcinace proti pravým neštovicím



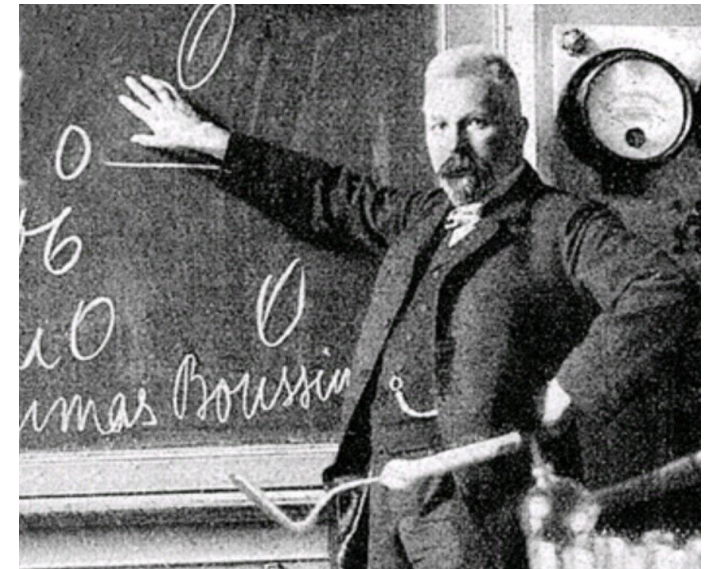
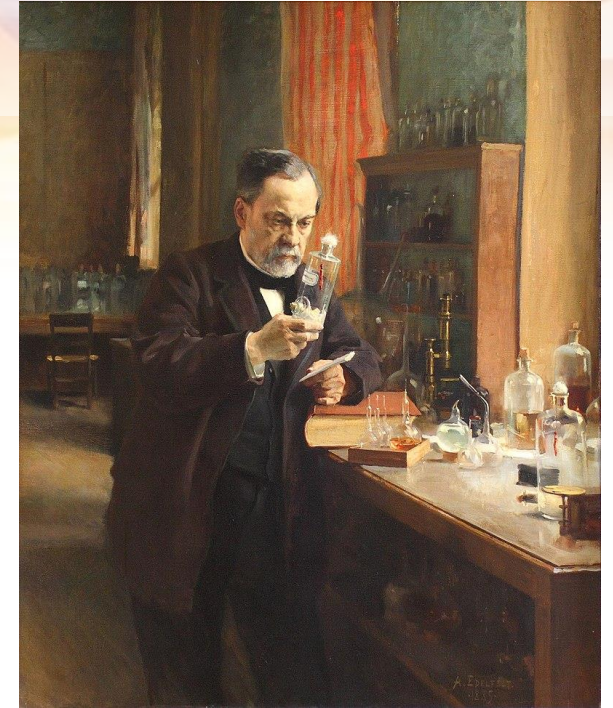
Těžké počátky vakcinace...



Rytina Jamese
Gillraye (1802)

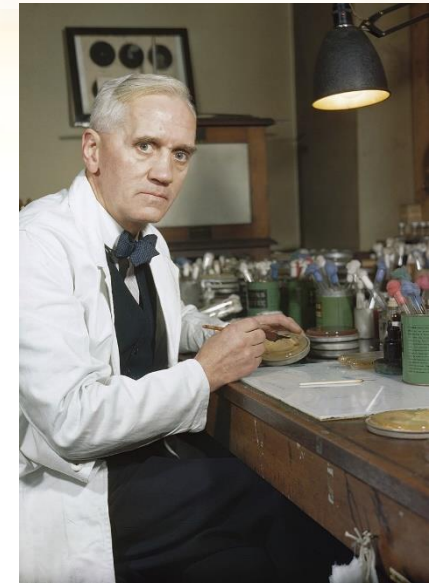
Pasteurova doba

- **Louise Pasteur (1822 – 1895)** - předpokládá, že fermentace je zapříčiněna živými mikroorganismy; objev tepelné sterilizace – **pasterizace**; výzkum **vakcín** na bázi usmrcených původců onemocnění (**antrax, vzteklna**)
- **Eduard Buchner (1860 – 1917)** – prokázal kvašení pomocí kvasničného nebuněčného extraktu – základy enzymologie



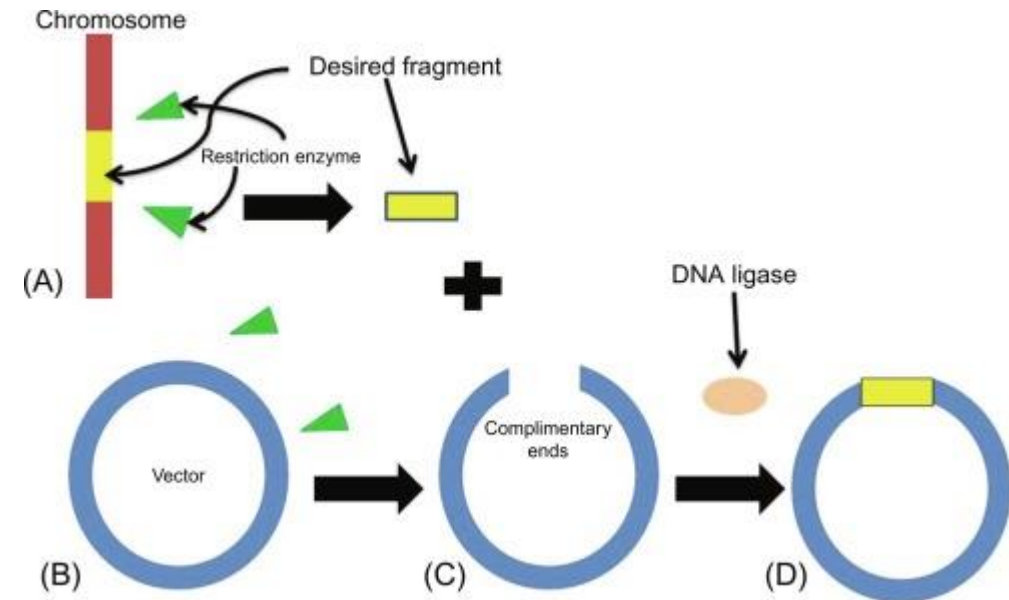
Období průmyslové biotechnologie

- **Chaim Weizmann (1874 – 1952)** – první průmyslová výroba acetonu z kukuřičného škrobu pomocí čisté kultury *Clostridium acetobutylicum*
- **Alexander Fleming (1881 – 1955)** – objev plísně *Penicilium notatum* a její antibakteriální aktivity (1928)
 - **Howard Florey, Ernst Boris Chain a Norman Heatley (1940)** – popis izolace čistého penicilinu a jeho průmyslová výroba – první biotechnologický produkt



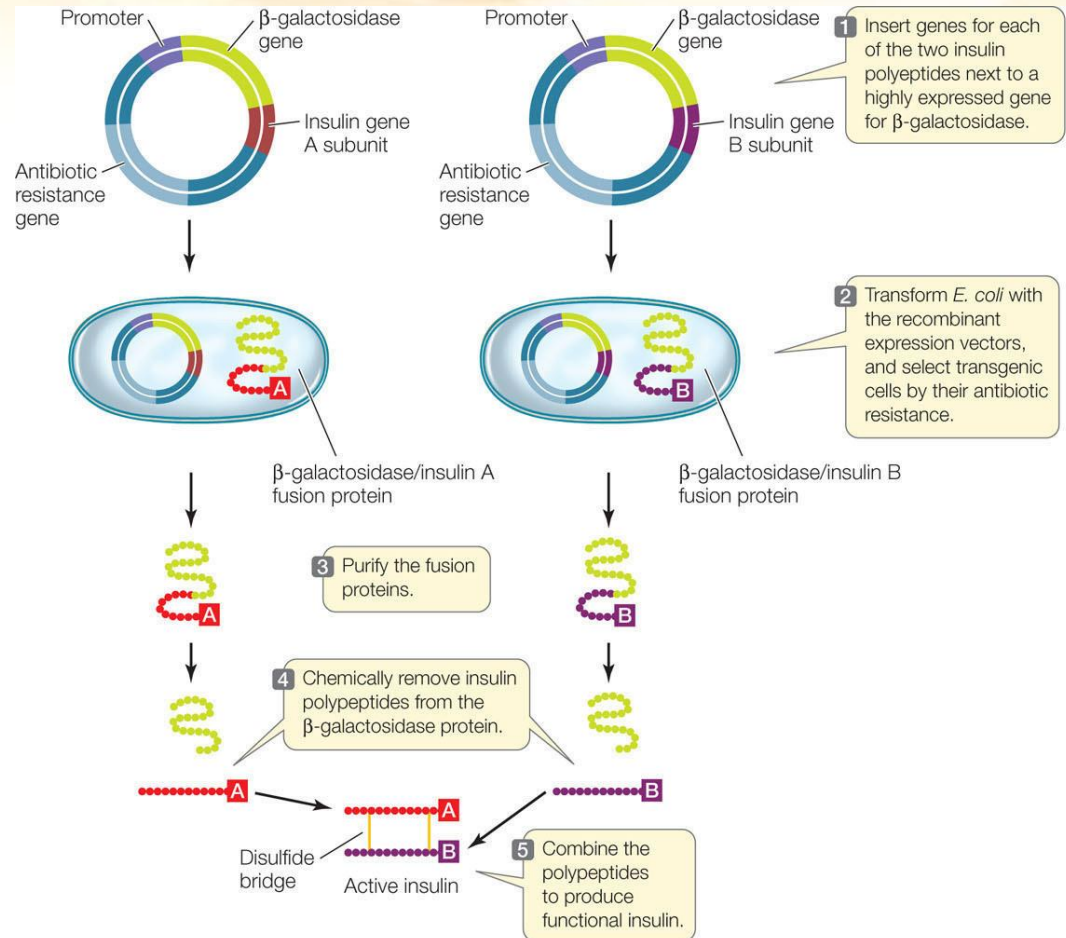
Éra nových biotechnologií I.

- **70. léta** – objev restriční endonukleáz ⇒ **tvorba rekombinantních DNA** ⇒ **základy genového inženýrství** (Paul Berg, Herbert W. Boyer, Stanley N. Cohen)
- **1972/3** – přenos cizorodé DNA do bakterie ⇒ **první transgenní organismus**
- **rekombinantní technologie**
 - cílené pozměňování genetické informace
 - **GMO**
 - produkce proteinů v modifikované formě



Éra nových biotechnologií II.

- **1980** - Cohen a Boyer získávají první patent na klonování a tvorbu geneticky modifikovaných mikroorganismů udělený v USA
- **1982** - FDA schválila první lék vyrobený technikami biotechnologie, jednalo se lidský insulin, **Humulin®**, produkováný geneticky modifikovanými bakteriemi

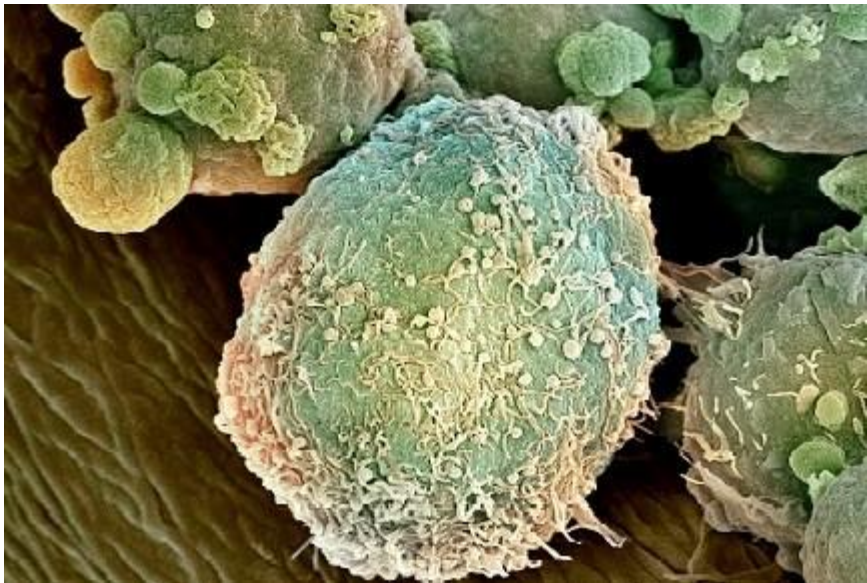


13.12: David McIntyre.

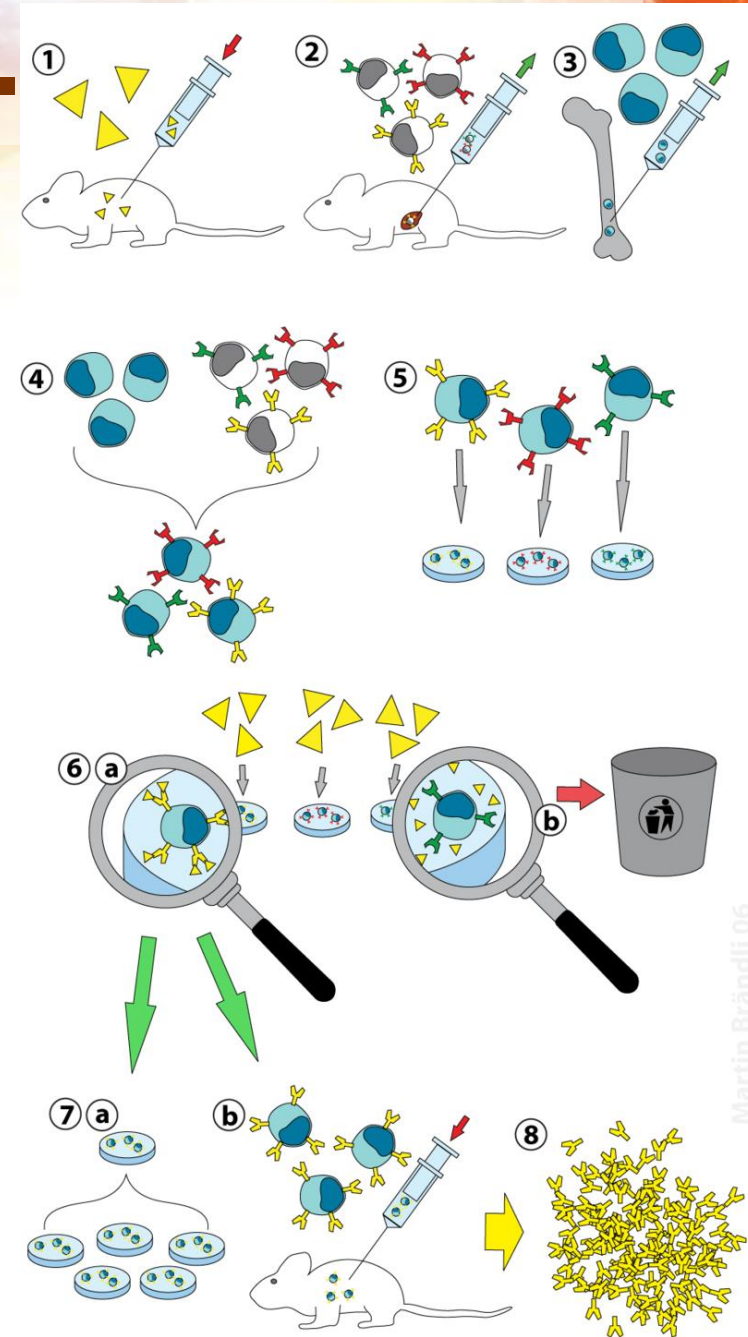
Human Insulin: From Gene to Drug Human insulin chains are made by recombinant DNA technology and then combined to produce the widely used drug.

Éra nových biotechnologií III.

- **1975** – objev **hybridomů** (César Milstein a Georges J. F. Köhler) – buňky vzniklé fúzí B-buňky a myeloidní buňky ⇒ masová produkce **monoklonálních protilátek**



© Biological Industries



Transgenní organismy

- Rozvoj od 70. let 20. st. (1972 – viry, 1973 – bakterie, 1974 – drápatka, 1974 – myš, 1983 – tabák, 1985 – kráva, 2000 - rýže)
- **Živočichové**
 - **produkce lidských proteinů** (např. antikoagulační protein v kozím mléku)
 - **modely nemocí** (knock-out a knock-in organismy)
- **Rostliny**
 - odolnější vůči herbicidům, imunní vůči škodlivému hmyzu; modifikovaný vzhled (větší plody, květy)...
 - vyšší produkce biologicky aktivních látek (např. vitamín A v rýži)



doi:10.1186/1471-2407-12-21



<https://www.flickr.com/photos/ricephotos/5516789000/in/set-72157626241604366>

Novodobé milníky

- **1978** Poprvé je vyroben lidský insulin
- **1980** Nejvyšší soud USA – patentová ochrana biotech produktu
- **1982** FDA schválila první biotechnologicky připravený lék – lidský *insulin*
- **1983** Vytvořena technika *PCR*
- **1986** *Rekombinantní vakcína* pro lidi – hepatitis B
První polní testy transgenní rostliny – *tabáku*
- **1997** První zvíře klonované z dospělé buňky – ovce *Dolly*
- **2004** FDA schválila první antiangiogenní lék proti rakovině, *Avastin* (bevacizumab)

Průmyslové uplatnění biotechnologie

Biotechnologie v průmyslu znamená

- vhodné doplnění chemické technologie
- rozšíření palety výrobitelných látek

- Látky výrobitelné jen chemickou syntézou
- Látky výrobitelné jen pomocí biotechnologie
- Látky výrobitelné chemickou technologií i biotechnologií



Výhody a nevýhody biotechnologie

Přednosti

- Levná surovinová základna
- Nižší energetická náročnost
- Vyšší rychlost biochemických dějů

Nevýhody

- Vysoké náklady na výzkum a vývoj a na počáteční investice
- Malá efektivnost
- Nízká koncentrace zúčastněných látek
- Zatím nevyjasněná rizika



Hlediska v rozhodování mezi syntézou a biotechnologickou výrobou

- **technická uskutečnitelnost biotechnologického procesu**
- **aktuální cena surovin**
- **snadnost izolace konečného produktu a jeho čistota**
- **možnost získání užitečných vedlejších produktů**
- **úspěšnost z hlediska rychlosti komercializace atd.**

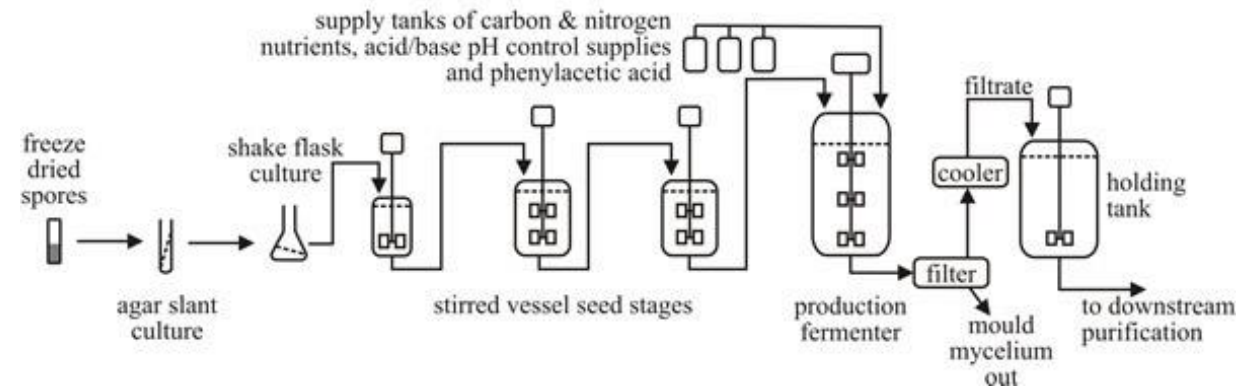
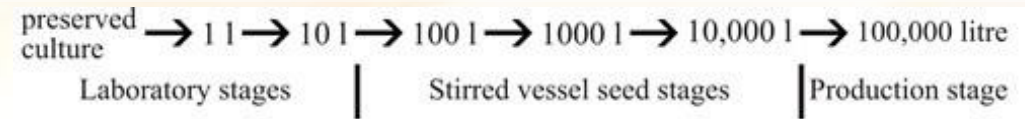
Hlavní oblasti použití biotechnologií ve farmaceutickém průmyslu

- **Přírodní metabolity**

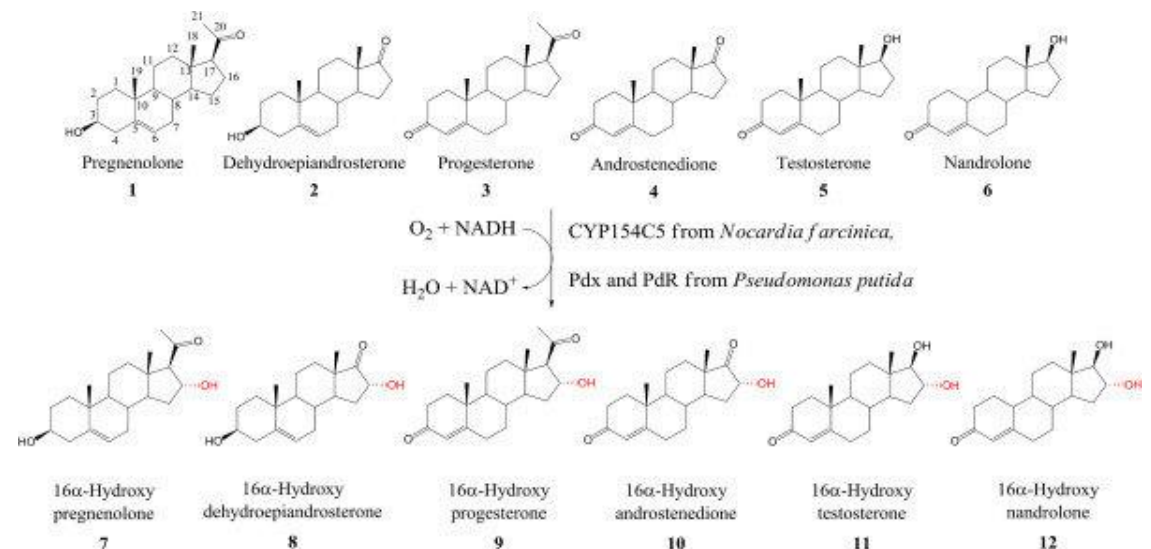
- Biosyntéza; všechny informace, které jsou pro takovou výrobu zapotřebí, lze nalézt v genomu buňky
- např. ATB, vitamíny aj.

- **Látky připravené biokatalýzou**

- Biokonverze (biotransformace)
- např. steroidní látky
- **Lidské proteiny a polypeptidy**
- Genové manipulace



21st Century Guidebook to Fungi, SECOND EDITION



Příklady použití biotechnologií v medicíně a farmacii

- Aminokyseliny, vitaminy (riboflavin B₂, pyridoxin B₆, vitamin B₁₂, biotin H, β-karoten, astaxanthin, aj.), polysacharidy (dextran, xanthany, pululan, aj.)
- Léčiva (antibiotika, steroidy, antifungální látky, námelové alkaloidy...)
- Monoklonální protilátky, vakcíny
- Interferony, interleukiny
- Hormony - lidský růstový hormon, FSH, insulin
- Produkční enzymy a čisté enzymy pro bioanalytické metody (imunoanalýza)
- Genové terapie



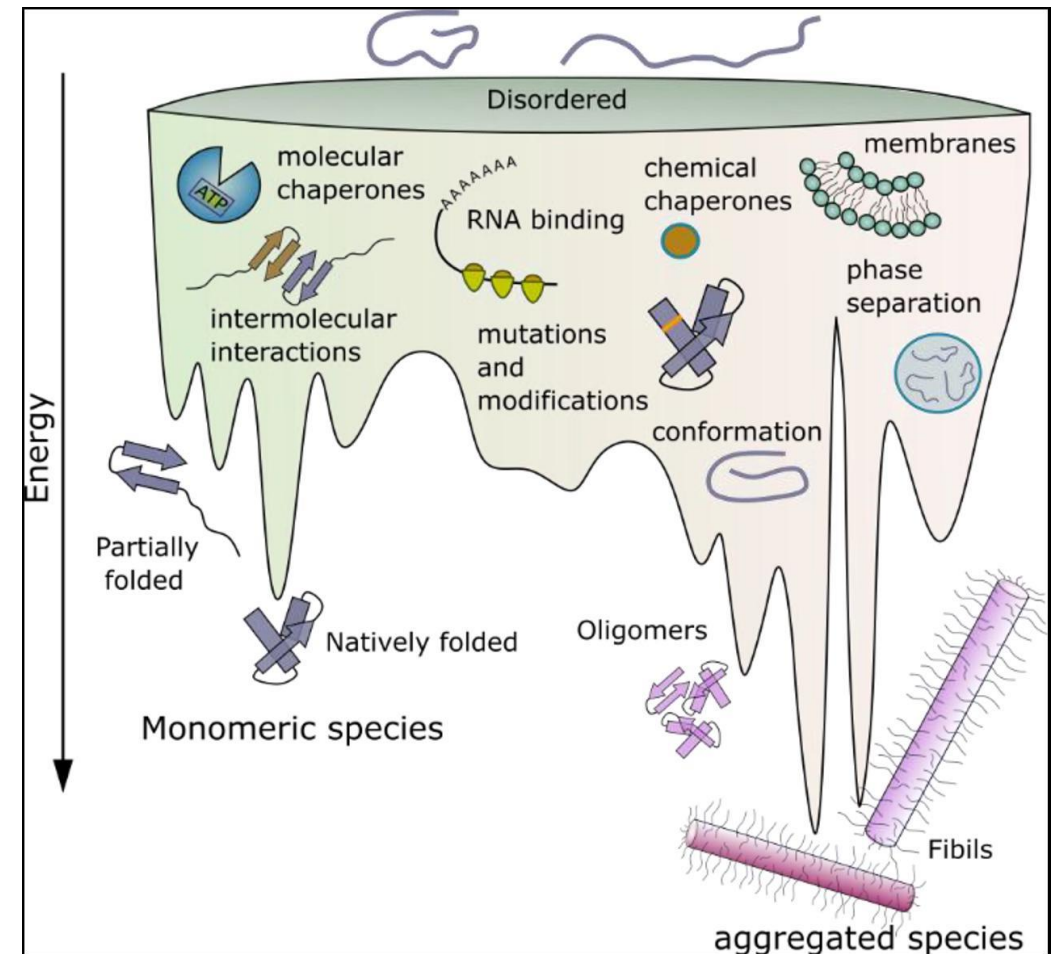
Biotechnologie léčiv – Proteiny, hlavní biofarmaceutikum

Terciární struktura proteinů

Je pro vytvoření funkčních molekul rozhodující –
termodynamicky optimální konformace

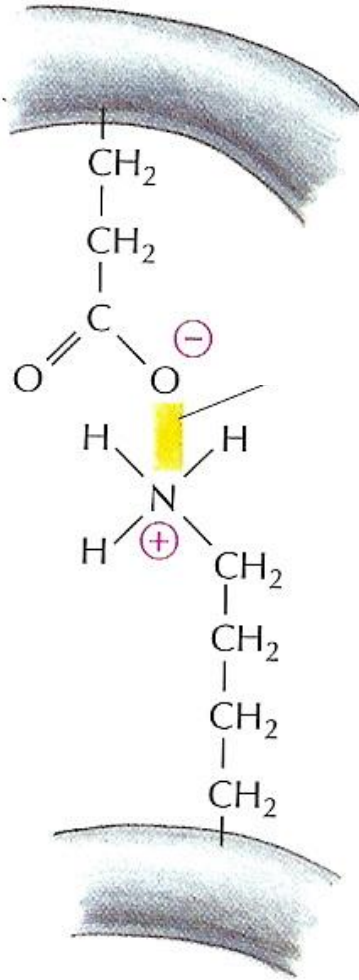
Zahrnuje následující procesy

- Vlastní vytvoření 3D konformace
- Připojení kofaktorů
- Modifikace kinázami nebo jinými protein-modifikujícími enzymy

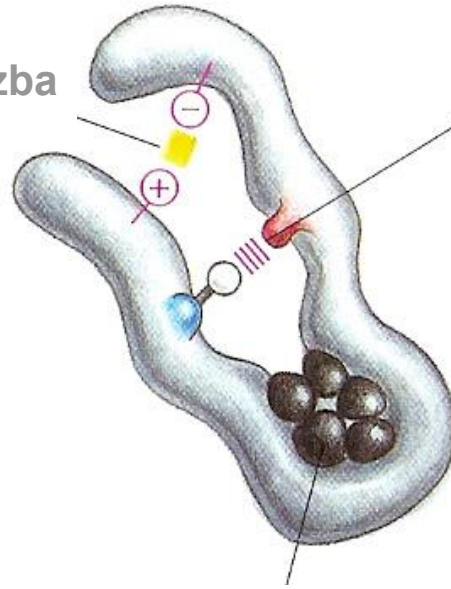


Síly zodpovědné za 3D strukturu proteinů

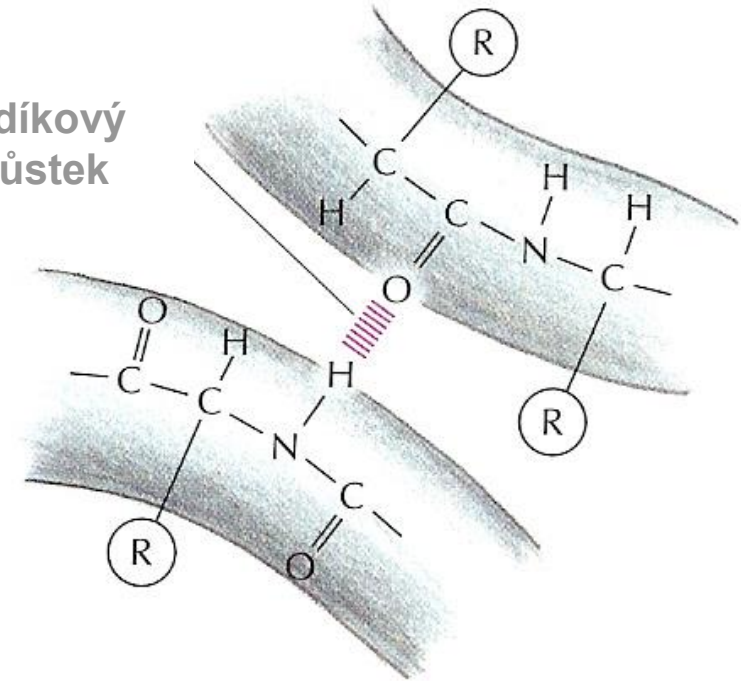
Především nekovalentní interakce



iontová vazba



vodíkový můstek

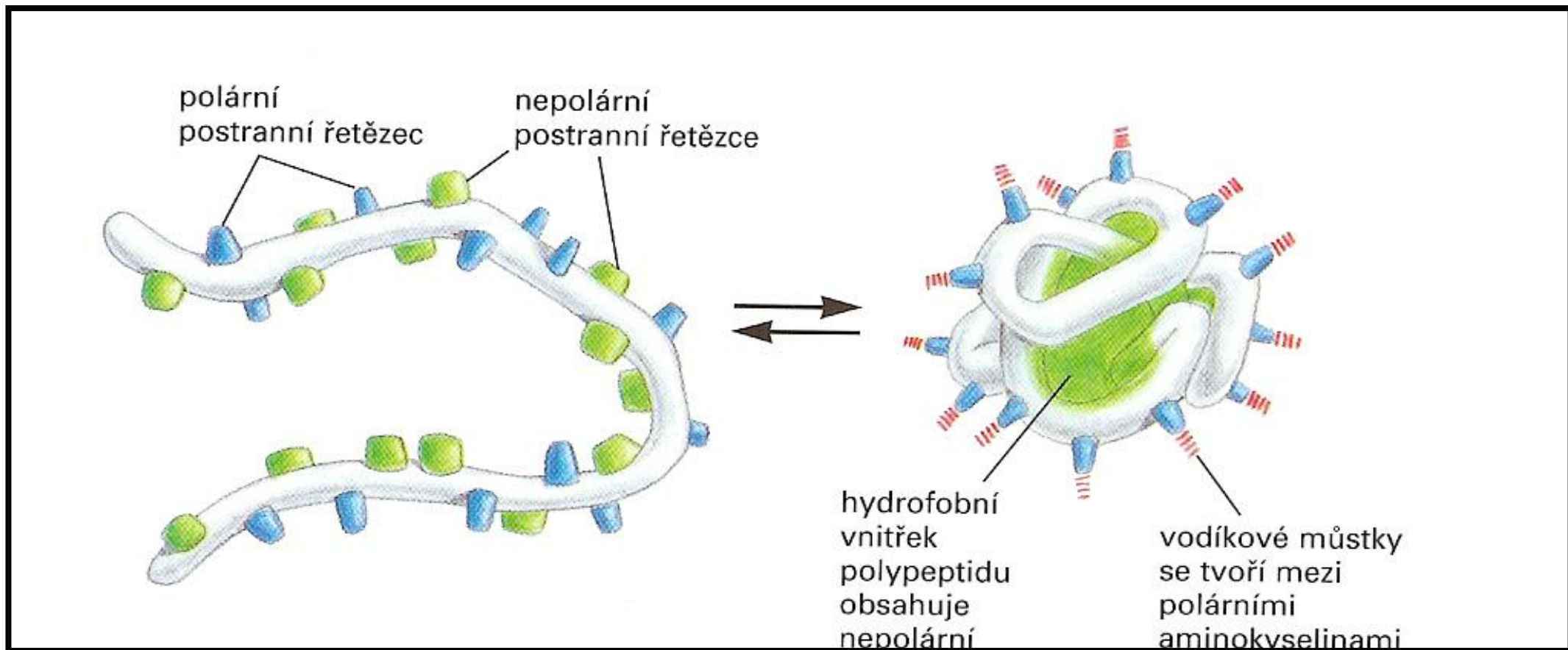


van der Waalsova síla



Hydrofobní interakce

... je pro tvorbu 3D ta nejdůležitější

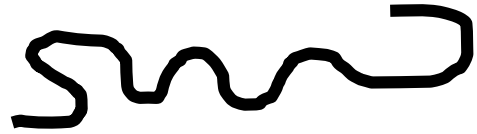


nesbalený polypeptid

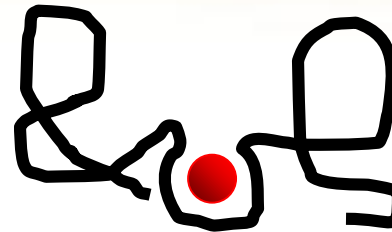
sbalený polypeptid ve vodě

Přehled kroků při tvorbě 3D proteinu

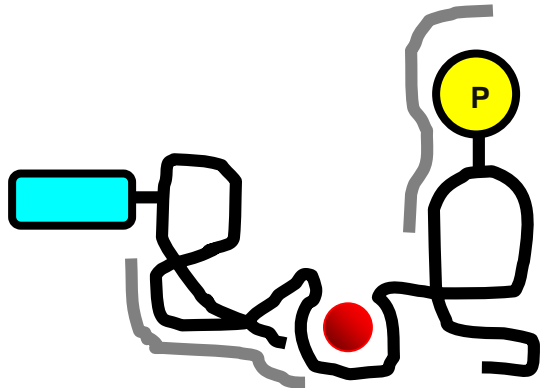
nascentní polypeptidový
řetězec



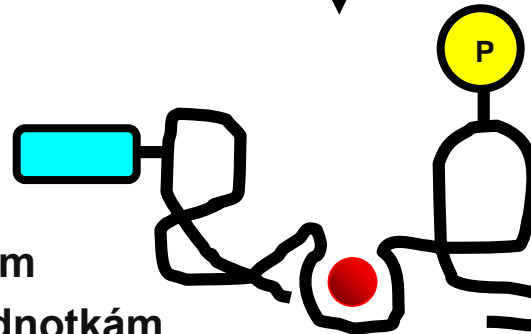
Sbalování a vazba
kofaktoru
(nekovalentní interakce)



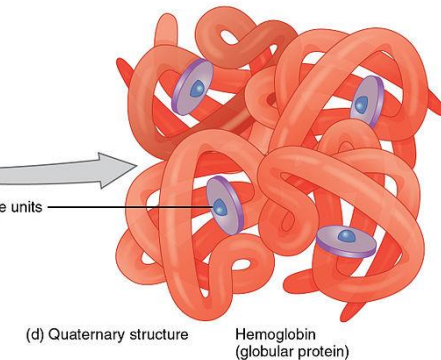
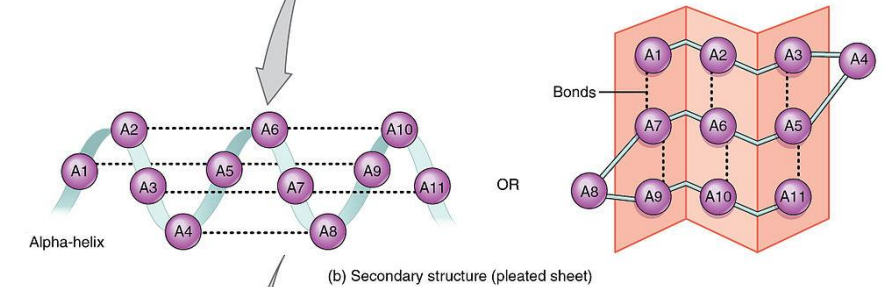
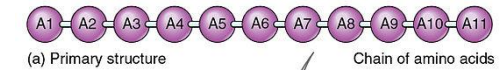
Glykosylace, fosforylace, acetylace
(kovalentní modifikace)



Vazba k dalším
proteinovým podjednotkám



maturovaný funkční
protein



OpenStax College - Anatomy & Physiology, Connexions Web site.
<http://cnx.org/content/col11496/1.6/>

Proč je znalost tvorby 3D struktur proteinů pro farmaceuta důležitá?

Pochopení samotné struktury proteinů a procesů její tvorby je důležité pro design léčiv, protože léčiva často působí na úrovni vazebného nebo alosterického místa enzymů.

Kde studovat proteinové struktury?

Databáze sekvencí proteinů

Databáze SWISS-PROT založená na Univerzitě
v Ženevě v roce 1986

Spravuje Švýcarský institut pro bioinformatiku (SIB)

www.expasy.org

Obsahuje automaticky doplňované překlady sekvencí genů z
EMBL (www.ebi.ac.uk)

Databáze PDB (The Protein Databank)

Archivuje a analyzuje proteinové struktury a komplexy informačních
biomakromolekul

<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>

Sbalování proteinů

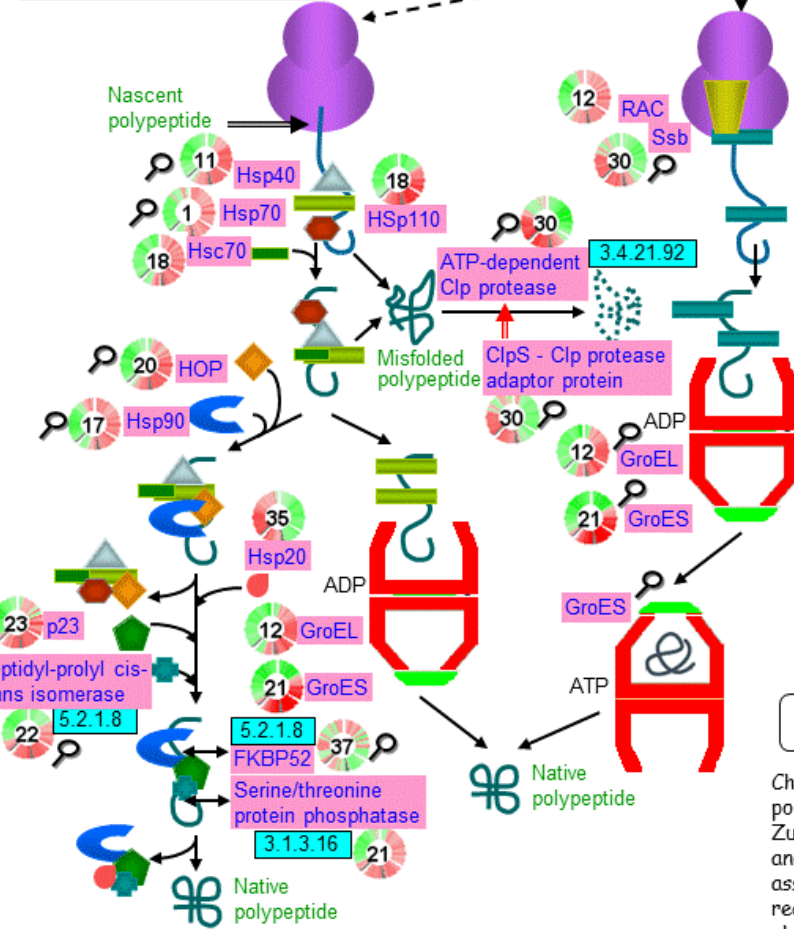
- **autonomní proces nevyžadující žádné dodatečné faktory ani přísun energie**
- **Christian Anfinsen 1972 Nobelova cena**
- **terciární struktura po opuštění ribozómu *in vivo***
- **nativní konformace do okamžiku degradace**
- **chaperony napomáhají sbalování proteinů**

Chaperony a chaperoniny

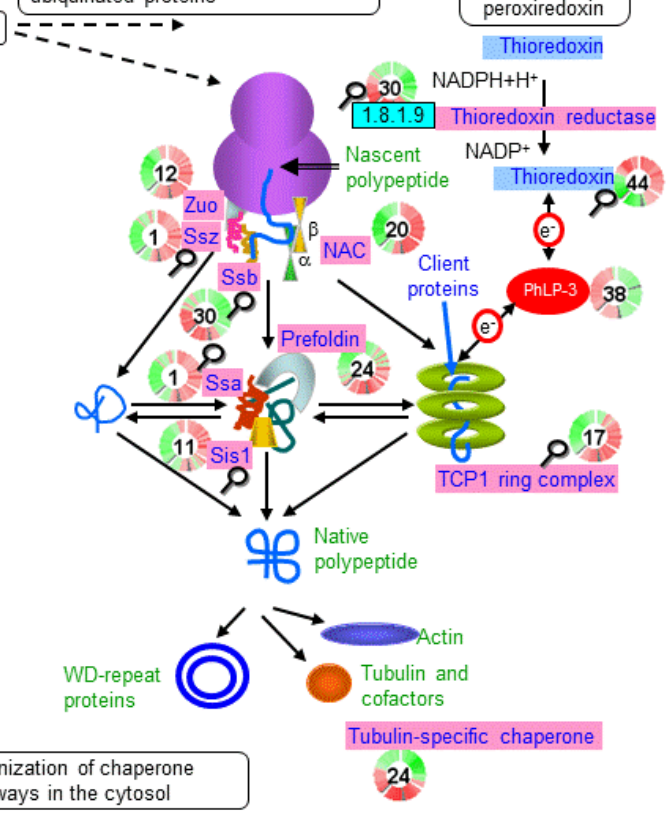
- **chaperony** (monomery 70 – 100 kDa) jsou proteiny, které napomáhají kovalentnímu skládání nebo rozložení a sestavení nebo demontáži jiných makromolekulárních struktur (hlavně Heat shock proteins – Hsp)
- **chaperoniny** (oligomery 800 kDa) jsou třídou molekulárních chaperonů, které poskytují příznivé podmínky pro správné skládání denaturovaných proteinů, takže zabránit agregaci (např. GroEL, TRiC)
- neposkytují sterickou informaci
- inhibují neproduktivní interakce
- nacházejí se ve všech kompartmentech
- sbalování proteinů
- konformační přestavby

Chaperone-assisted protein folding

Genes coding for chaperones and their regulators
The HSP70 chaperone cycle

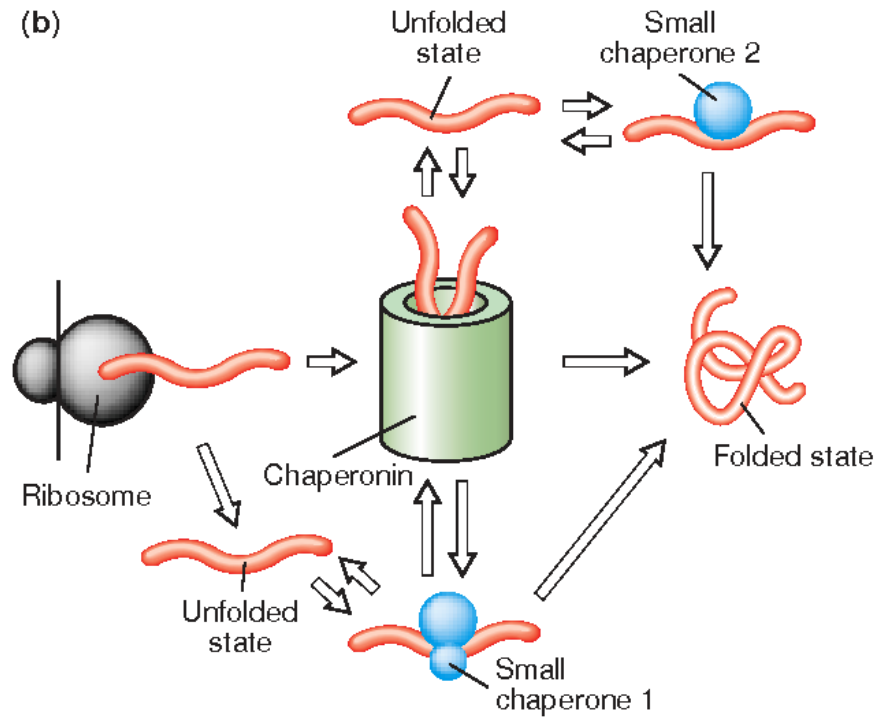
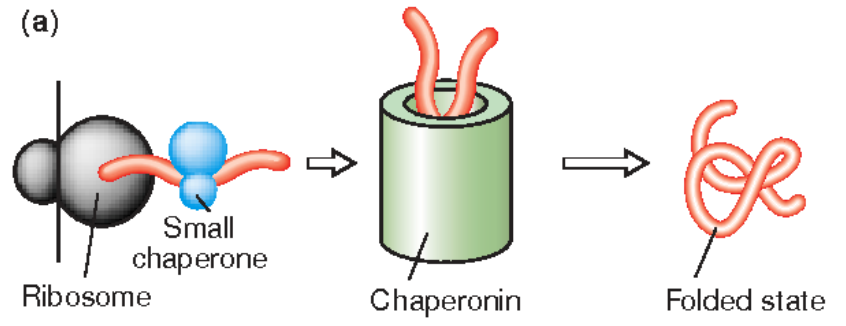


Proteasome-mediated proteolysis of ubiquitinated proteins



Organization of chaperone pathways in the cytosol

Chaperones bind directly to ribosomes (pink) to act on nascent polypeptides (blue). The heat shock protein (Hsp)70/40-based systems Zuo/Ssz/Ssb and localize to ribosomes. Members of the Hsp70/40 and Hsp60/10 chaperone families act downstream of ribosome-associated chaperones on a subset of newly synthesized proteins that require further folding assistance such as the Ssa-Sis1 and the chaperonin TCP1 ring complex.



Current Biology

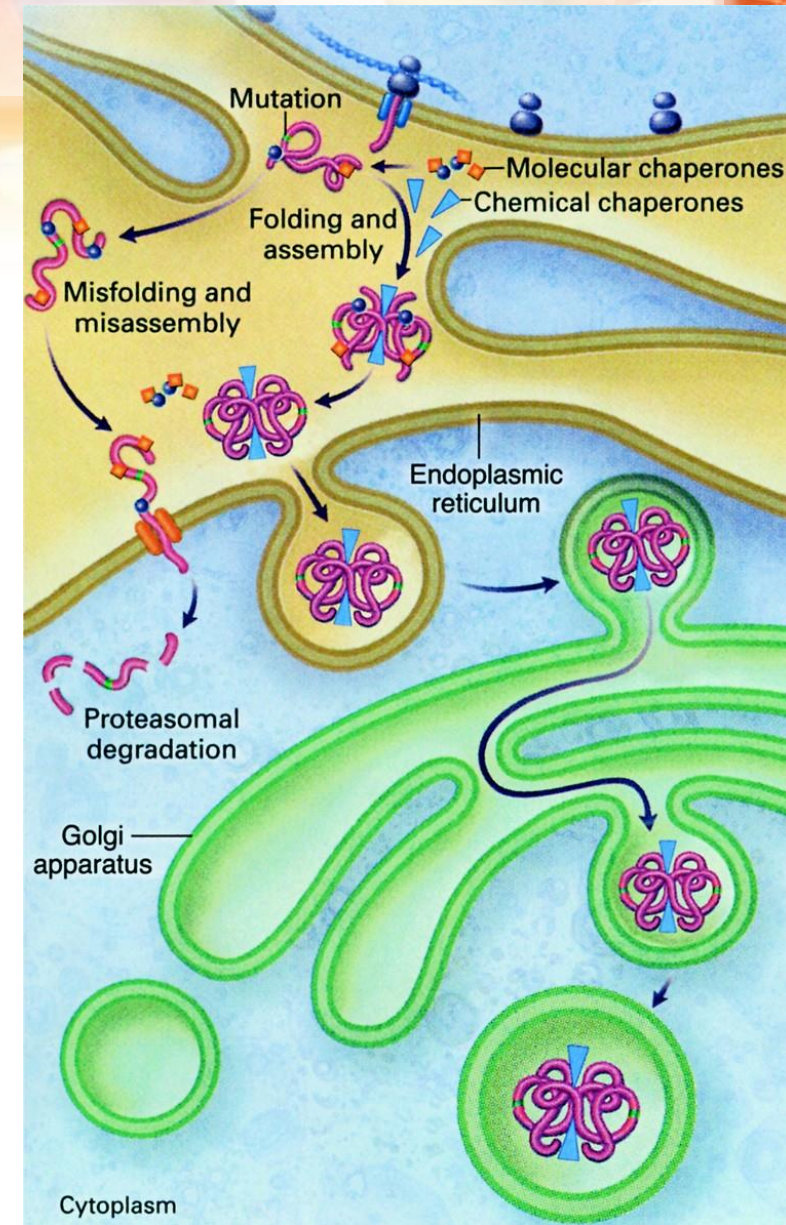
[https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(99\)80082-7](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(99)80082-7)

Chemické chaperony

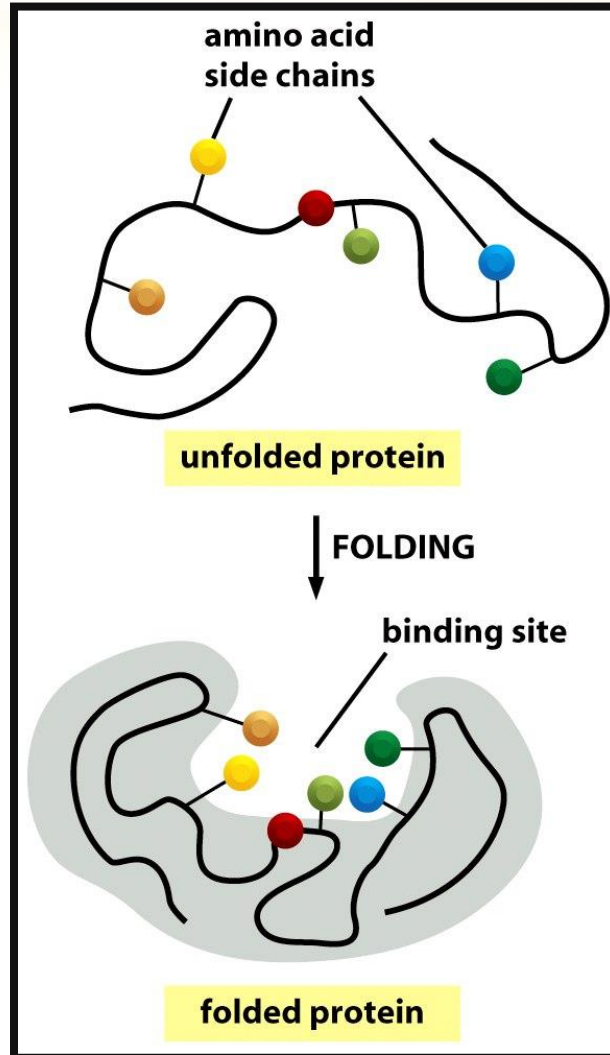
- Malé molekuly, které se váží k nesprávně sbaleným proteinům a stabilizují je nebo zajišťují jejich správné sbalení
- Stabilizují špatně sbalené proteiny, redukují agregaci, zabraňují neproduktivní interakci s dalšími proteiny
- Např. glycerol, trimethylamin N-oxid
- **Re-agregace inkluzních tělísek při expresi rekombinantních proteinů**

Slouží například k léčbě

- **Transthyretin amyloidosis (Tafamidis)**
- **Cystické fibrosy**
- **a dalších onemocnění spojených se sbalováním proteinů**

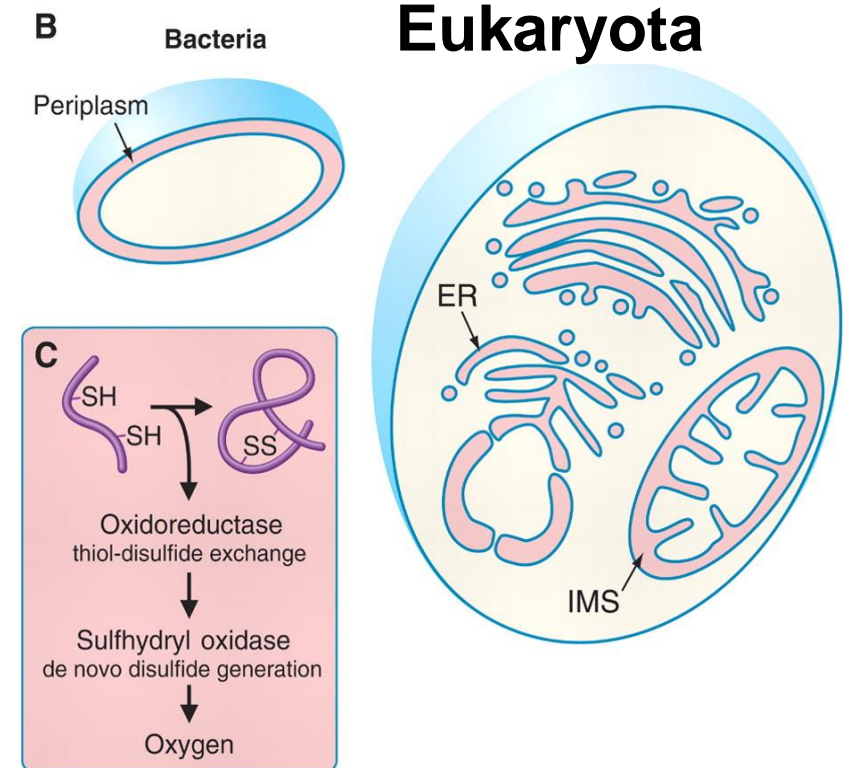
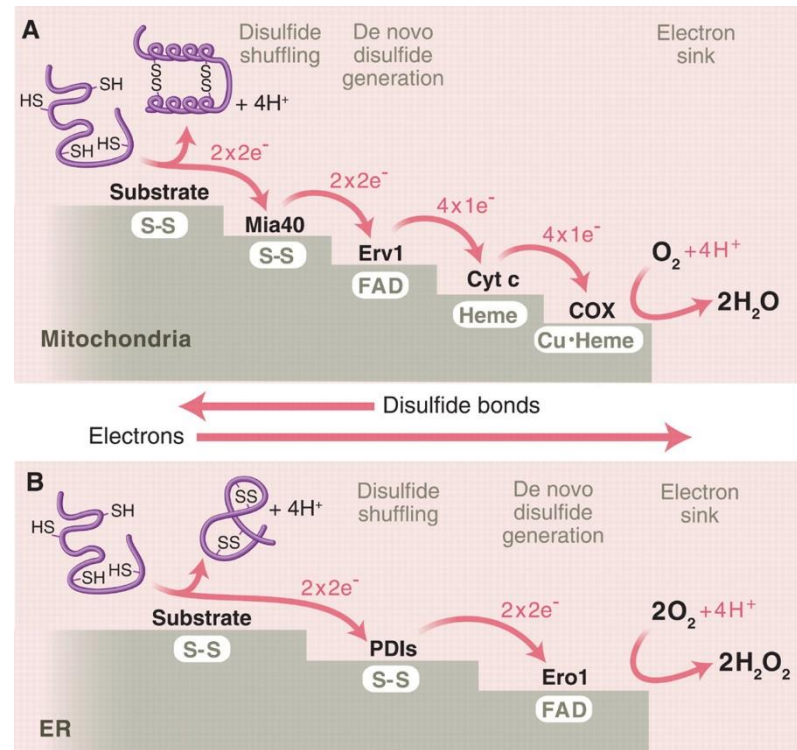
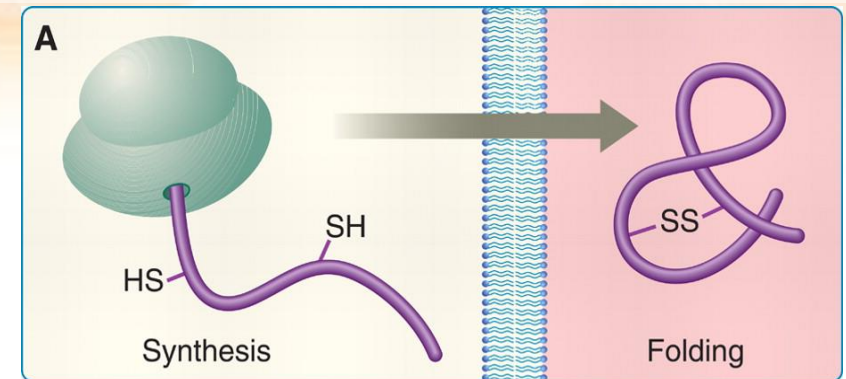


Výsledek sbalování = vytvoření aktivní konformace



Tvorba disulfidických můstků v buňce

- Součást procesu sbalování proteinů
- Probíhá v periplasmatickém prostoru prokaryot a v mitochondriích a ER eukaryot



J. Riemer et al., Science 324, 1284 -1287 (2009)

Posttranslační modifikace proteinů

Modifikace mění strukturu a biologickou aktivitu proteinů

Některé procesy jsou kotranslační, jiné opravdu posttranslační



Nejběžnější je glykosylace

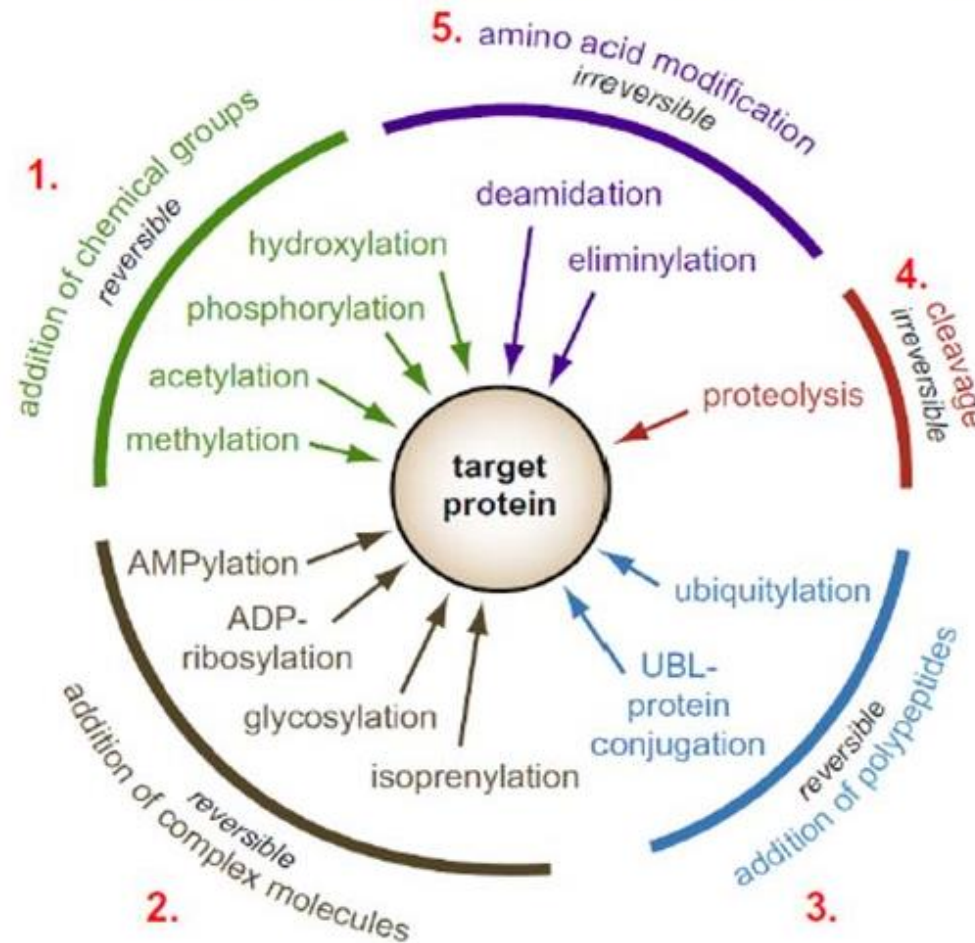


MSTVKHGNSTTLNITNNSINITNATNASVL

Další posttranslační modifikace proteinů

- Nejčastěji glykosylace nebo fosforylace
- Celkem bylo popsáno více než 300 typů kovalentních modifikací polypeptidových řetězců

Diversity of post-translational modifications



- More than 300 PTMs are currently known, including
1. addition of **chemical groups**, such as phosphate or acetate.
 2. addition of **complex molecules**, such as carbohydrates or lipids
 3. the **covalent linkage of small proteins**, such as ubiquitin and ubiquitin-like proteins (UBLs)
 4. cleavage
 5. modification of **side chain residues of specific amino acids**.

Modifikace u terapeutických proteinů

Typ modifikace	Význam
Glykosylace	↗ solubilitu, ovlivňuje biologický poločas nebo biologickou aktivitu
Karboxylace	Důležitá pro vazbu některých krevních proteinů k Ca^{2+}
Hydroxylace	Důležitá pro strukturální uspořádání
Sulfatace	Ovlivňuje biologickou aktivitu neuropeptidů a proteolytické úpravy polypeptidů
Amidace	Ovlivňuje biologickou aktivitu a stabilitu

Glykosylace

- připojení cukerného zbytku k polypeptidovému řetězci
- vyskytuje se hlavně u extracelulárních proteinů a proteinů vyskytujících se na povrchu buněk

Glykosylací vznikají glykoproteiny

- U některých proteinů deglykosylace nemá vliv na biologickou aktivitu
- Deglykosylované formy lze připravit účinkem inhibitorů glykosylace, např. antibiotikem **tunicamycinem** v růstovém médiu nebo enzymatickou degradací glycidické části preformovaného glykoproteinu **glykosidázou**.

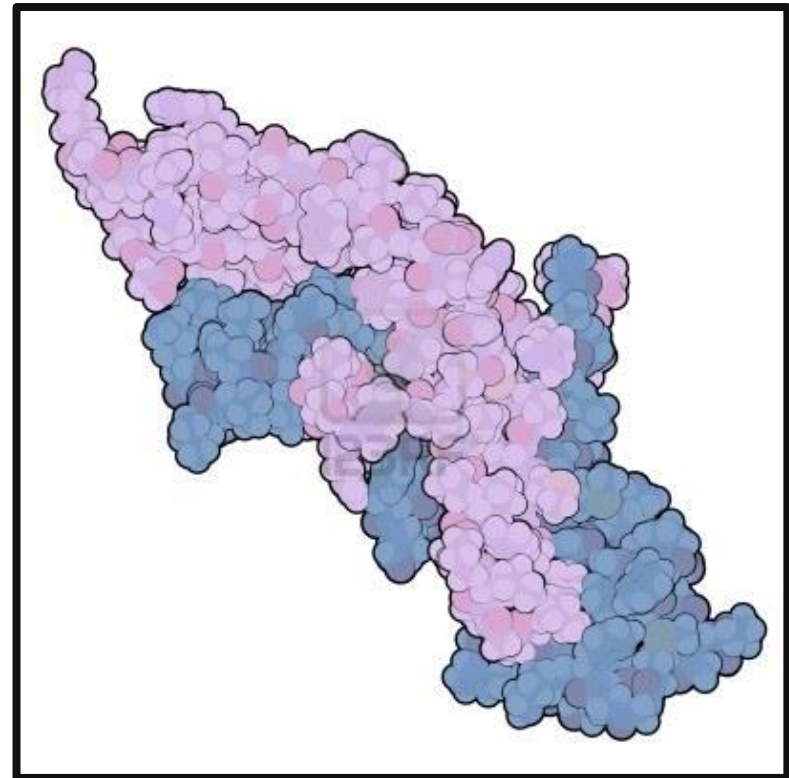
- **Rozdílná glykosylace způsobuje problémy v heterologních expresních systémech**

Účinky glycidické části glykoproteinů

- Sbalování proteinů
- Transport/zacílení proteinů
- Rozpoznání/vazba ligandů
- Biologická aktivita
- Stabilita
- Reguluje biologický poločas proteinu
- Imunogenicitata

Lidský gonádotropní hormon

- Vysoce glykosidovaný
- **Odstranění glycidické části má za následek ztrátu biologické aktivity, ačkoli se hormon stále váže na svůj receptor, někdy dokonce s vyšší afinitou**

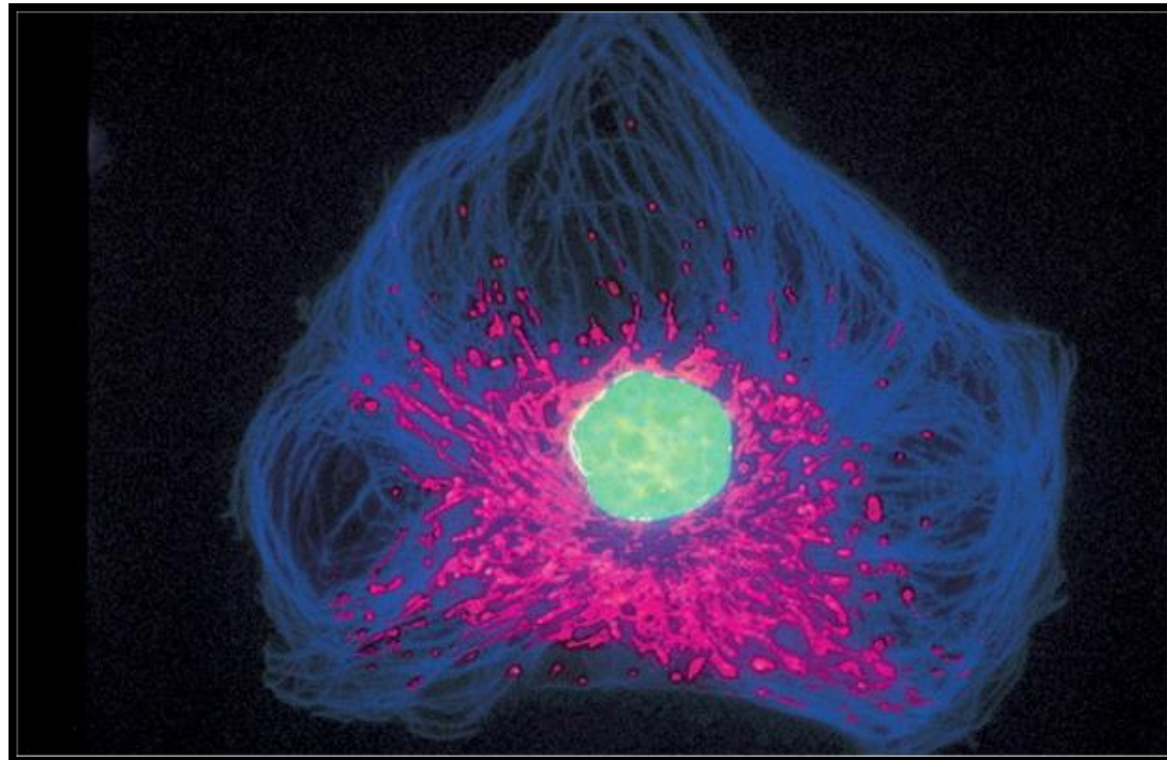




**Buňka – nástroj farmaceutického
biotechnologa**

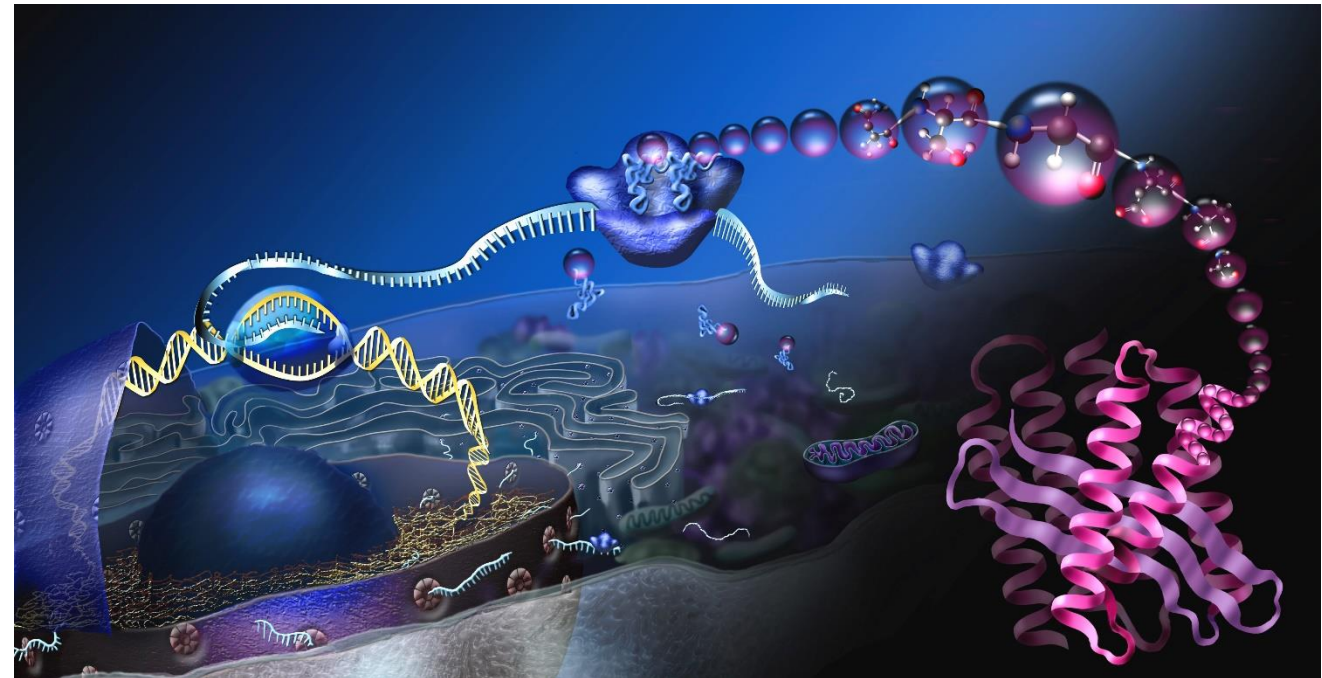
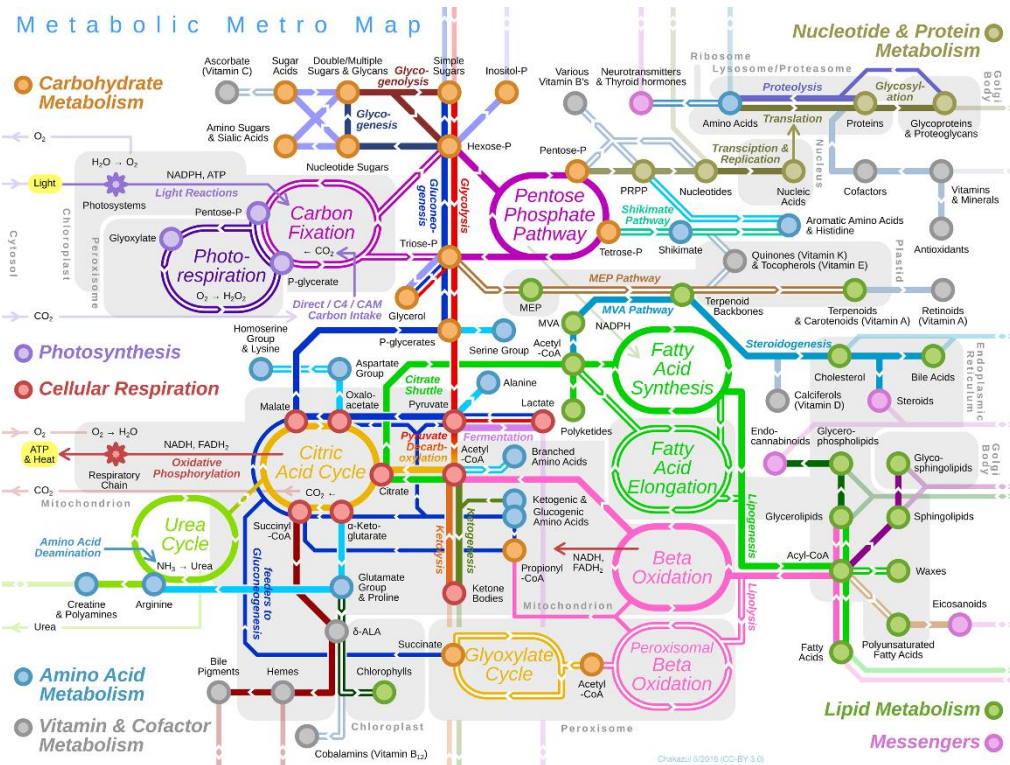
Buňka

malá, membránou ohraničená jednotka naplněná koncentrovaným vodným roztokem chemických sloučenin a vybavená mimořádnou schopností vytvářet kopie sebe samých růstem a dělením

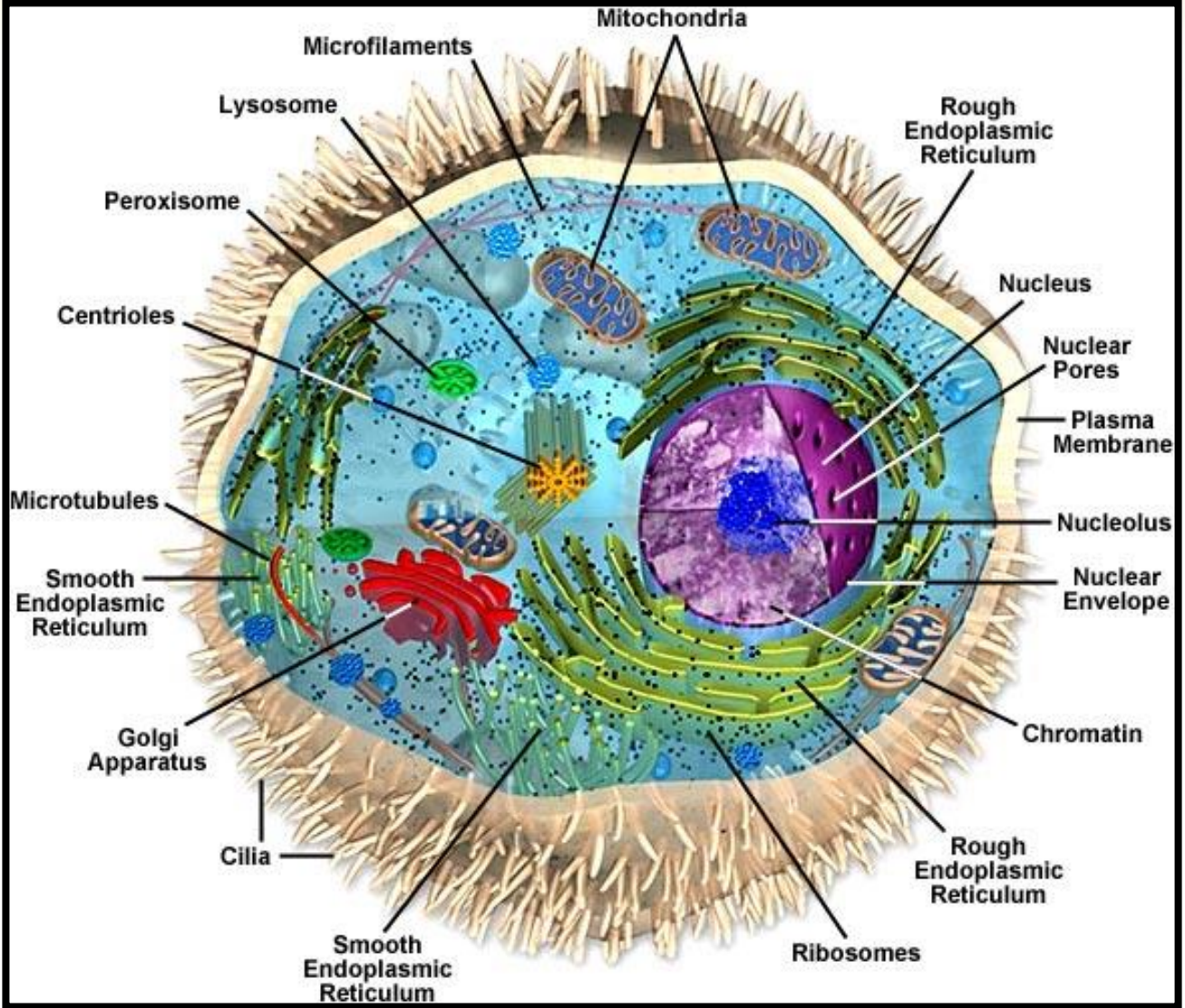
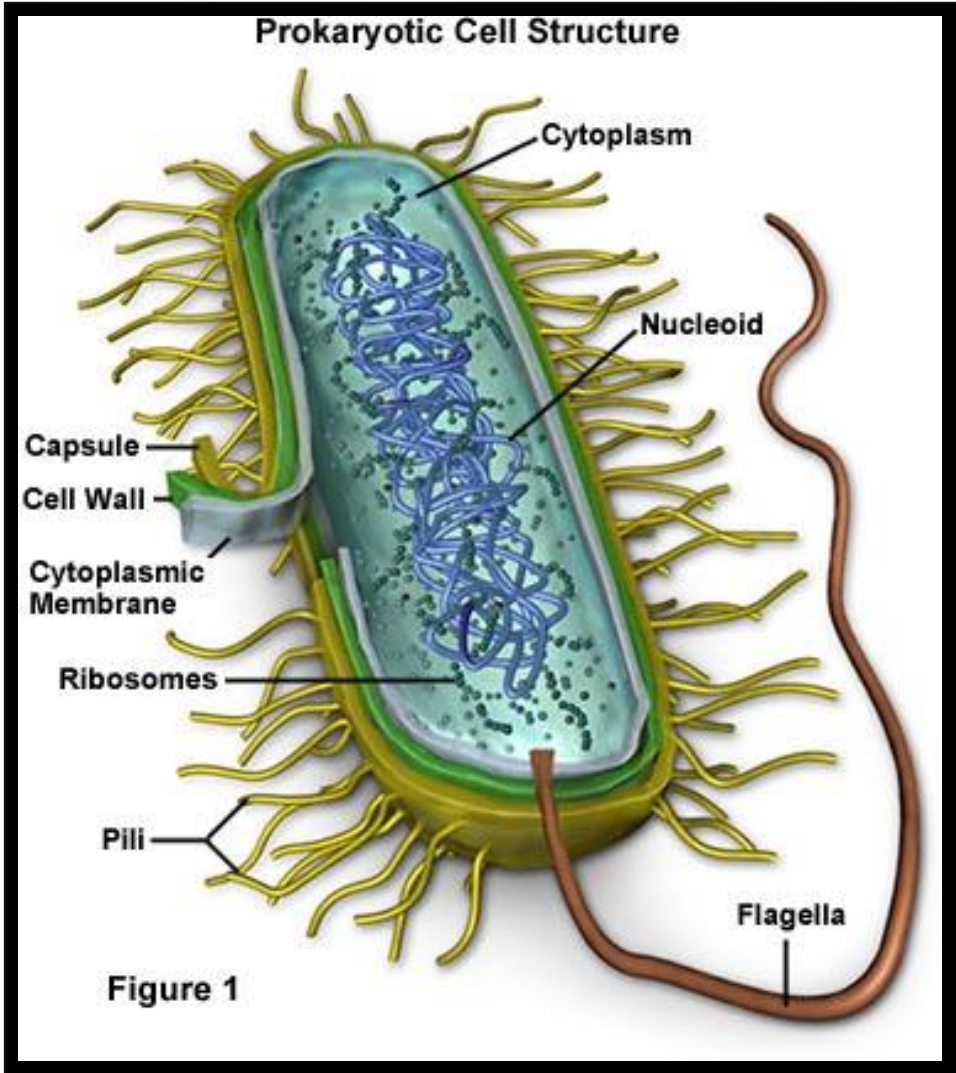


Význam buňky

- **Buňka slouží jako zdroj výchozích surovin**, protože jen buňka je schopna tvořit nové sloučeniny, které jsou použitelné jako léčivo.
- **Buňka je až na zcela výjimečné situace, kdy používáme jen některých jejích částí pro tzv. translaci *in vitro*, onou továrnou, kde všechny biotechnologické procesy probíhají.**



Prokaryota vs. eukaryota



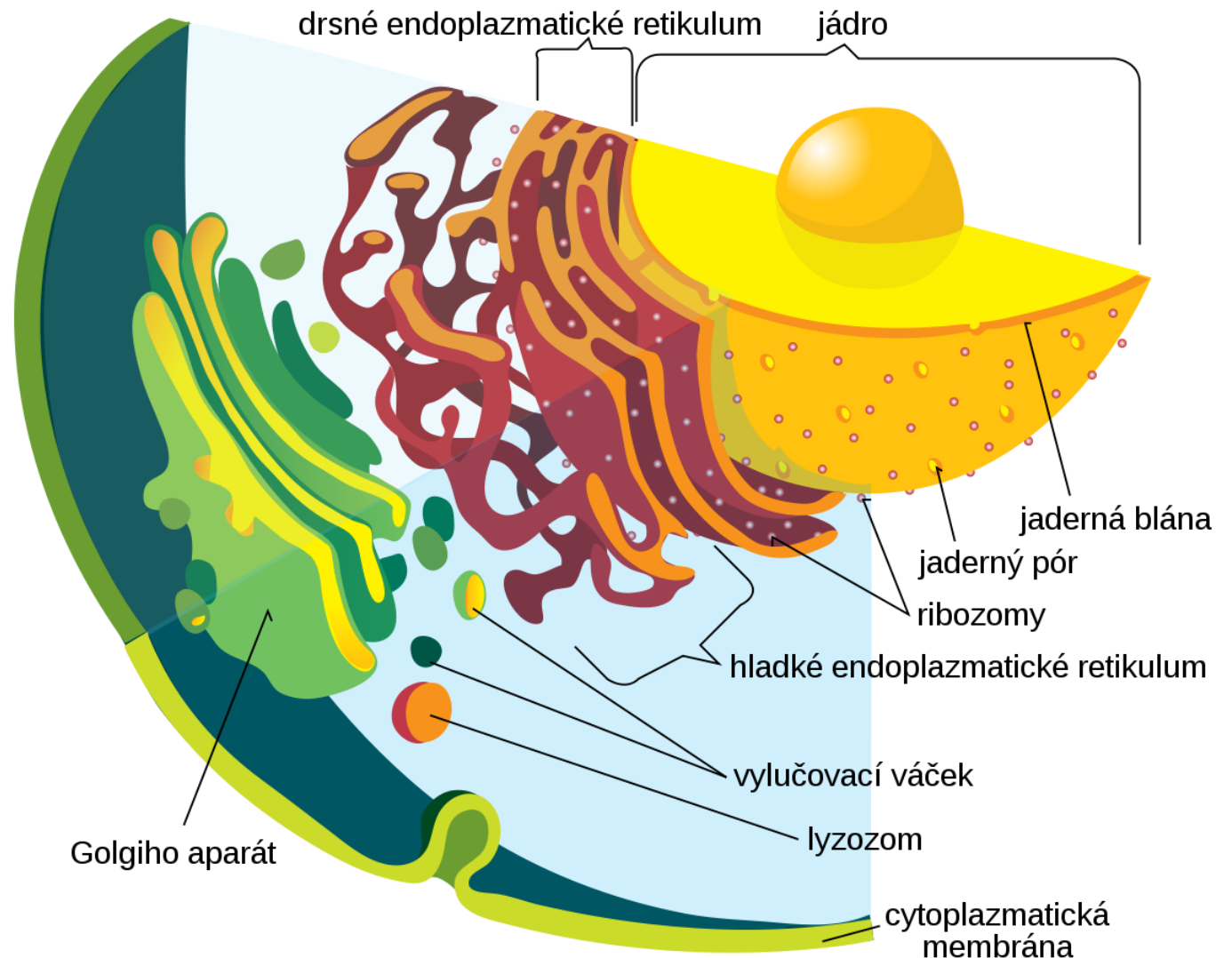
Co z buňky zajímá biotechnologa

- **Vše co má vztah k tvorbě a lokalizaci proteinu**
- Genofor
- Endoplasmatické retikulum
- Golgiho aparát

Endoplasmatické retikulum

Je vícekrát stočený membránový list, který vytváří uzavřený vak, *endoplasmatické lumen*

- Drsné ER
 - je posázeno ribozómy
 - je místem tvorby proteinů
- Hladké ER
 - Otevírající se váčky, které nesou nově vytvořené molekuly proteinů a lipidů pro intracelulární transport
 - Tvoří síť tenkých kanálků navazující přímo na drsné plasmatické retikulum
 - Na jeho membrány jsou navázány enzymy katalyzující přeměnu lipidů; ve specializovaných buňkách též steroidních hormonů, vznikajících z cholesterolu



Funkce endoplasmatického retikula I

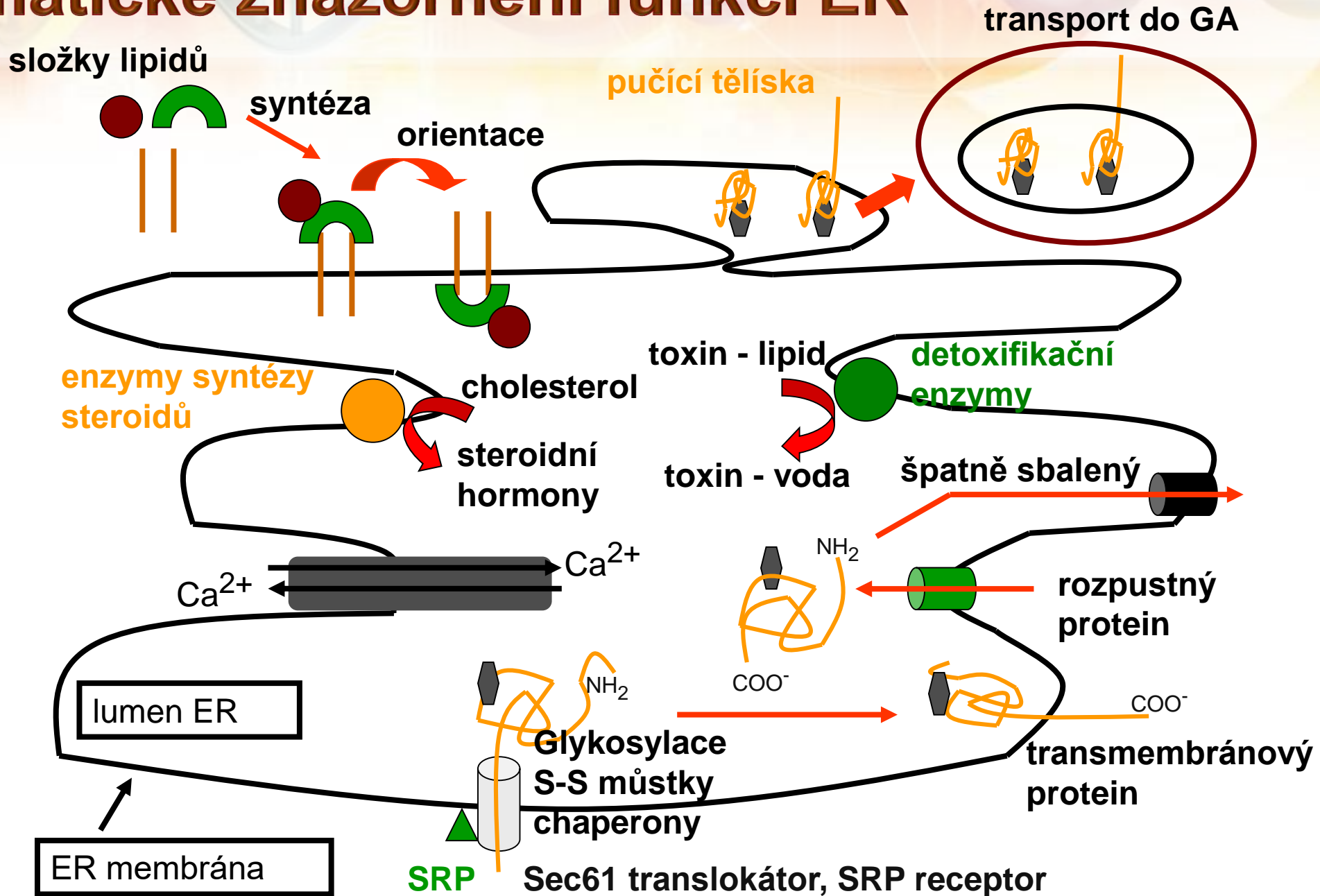
- **ústřední role v syntéze lipidů, proteinů, steroidů**
- **usnadňuje vytvoření správné terciární nebo kvartérní struktury proteinů**
- **transportní systém – distribuce proteinů do cytoplasmy nebo organel**
- **udržování osmotického tlaku**

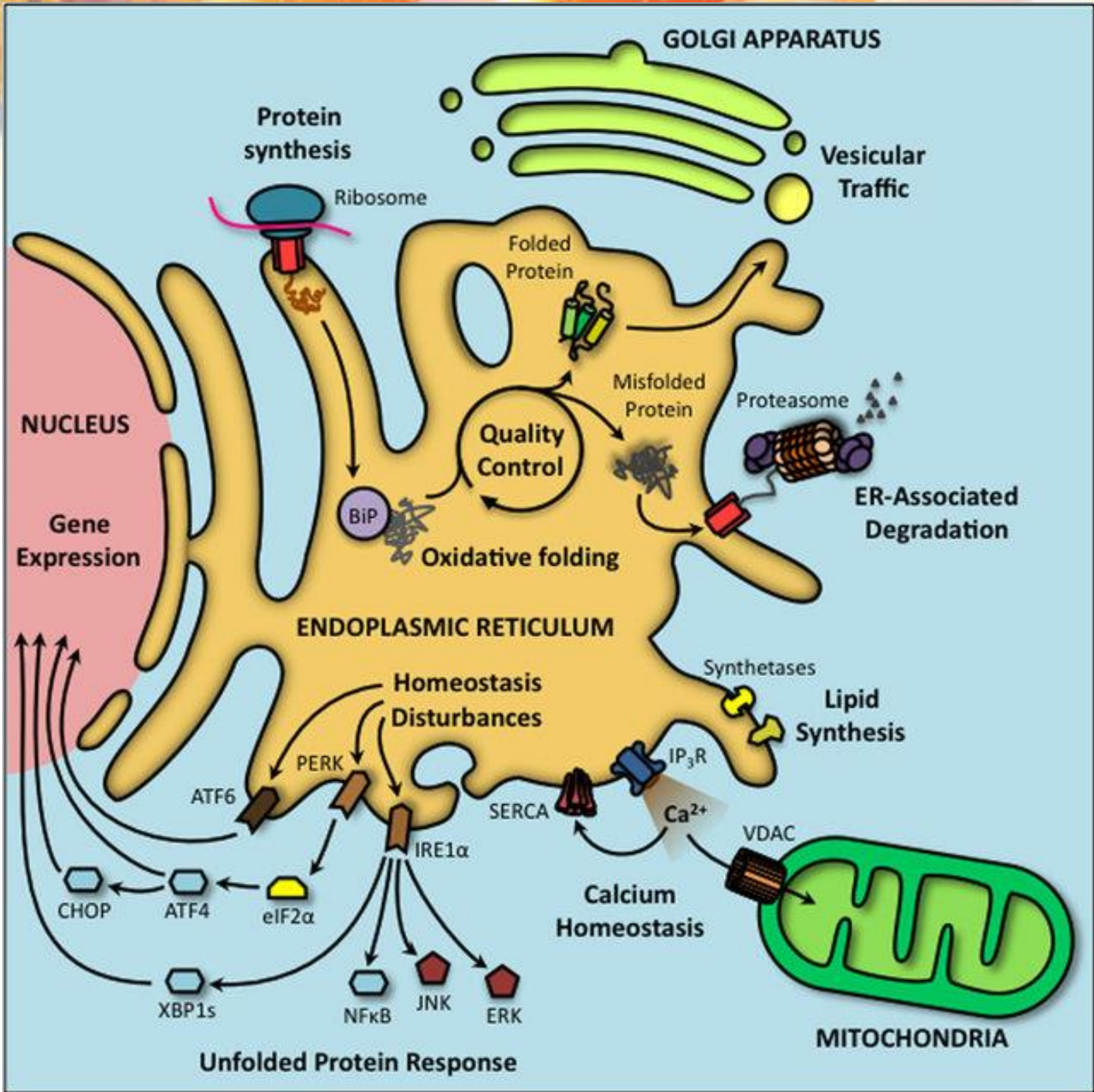
Funkce endoplasmatického retikula II

➤ chemická modifikace proteinů

- tvoří se disulfidové můstky oxidací cysteinových párů postranních řetězců
- tvorba glykoproteinů kovalentním napojením krátkého oligosacharidového postranního řetězce – dokončuje se v GA
- prekurzor oligosacharidu je napojován O- nebo N-vazbou na molekulu proteinu
- výstup proteinu je kontrolován = nesprávně sbalený protein je zadržen chaperonem nebo degradován

Schématické znázornění funkcí ER

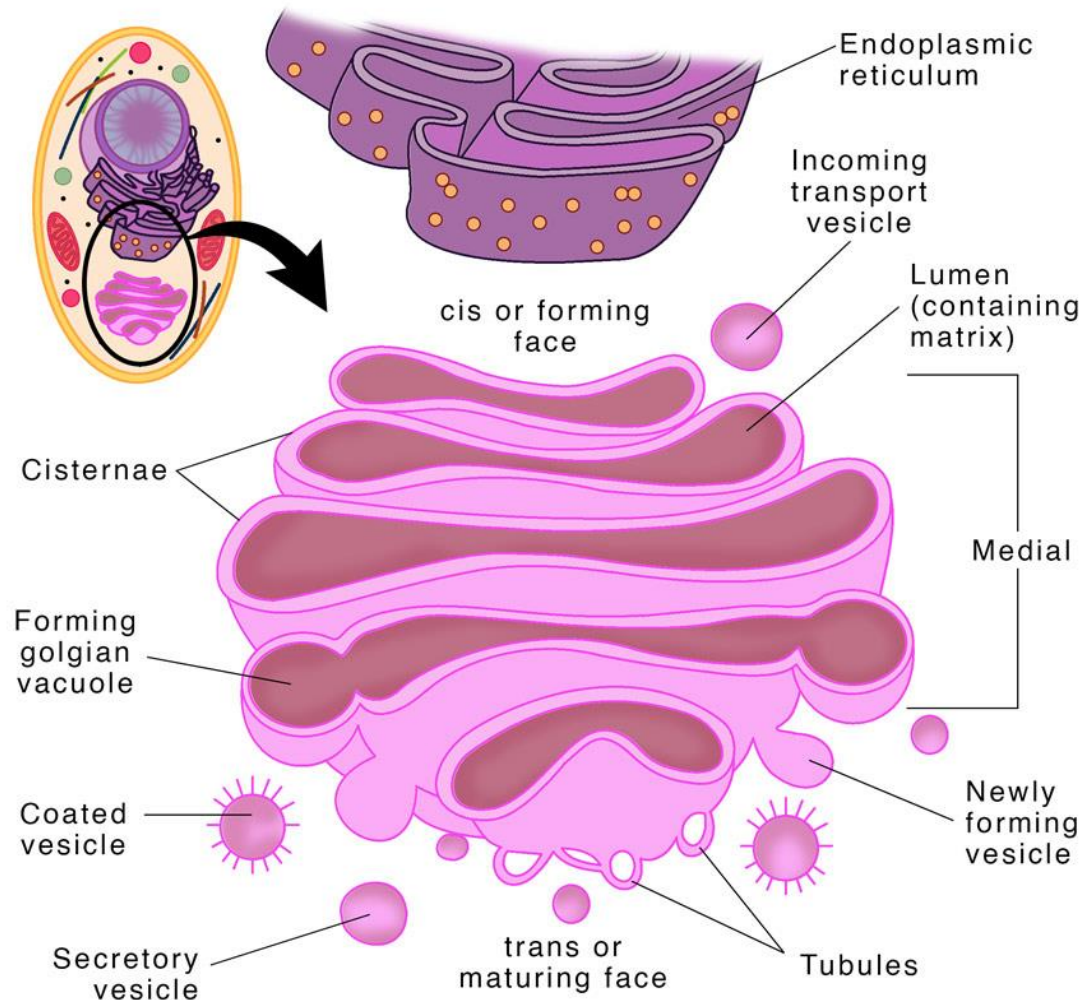




Golgiho aparát

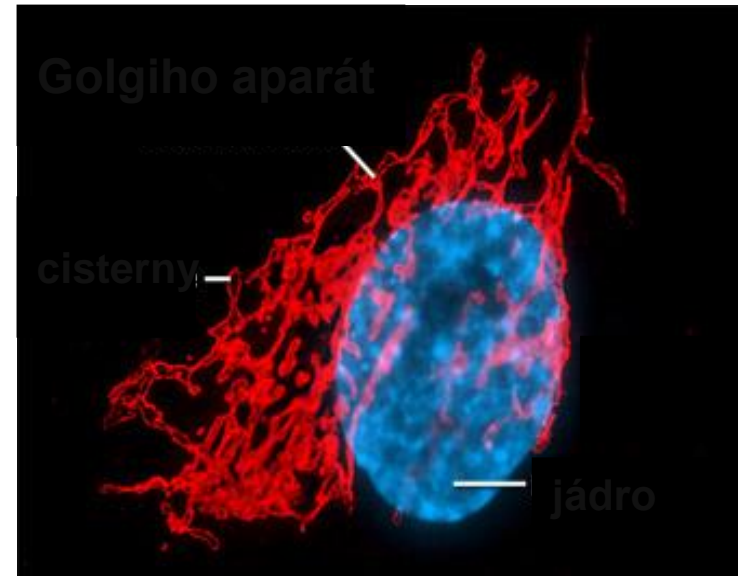
Golgi Apparatus

ScienceFacts.net



<https://www.sciencefacts.net/golgi-apparatus.html>

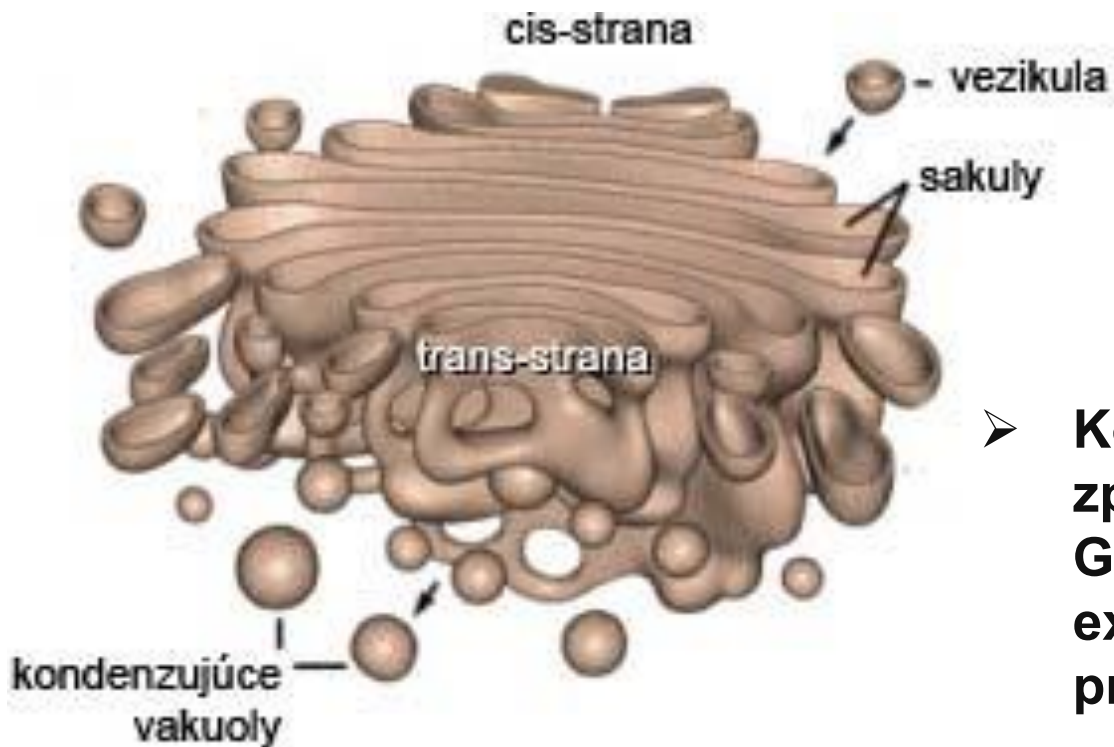
- **úprava a třídění proteinů a lipidů pro sekreci nebo k předání jiné organele**



Popsán v roce 1898 italským cytologem Camillo Golgim v nervových buňkách

Struktura Golgiho aparátu

- Komplex tzv. dyktiozómů, shluků cisteren a váčků (vezikulů) (3 až 10 váčků)
- Nacházejí se poblíž jádra a ER, u rostlin rozptýlené po celé cytoplasmě (dispersní GA)



- Sakuły - zploštělé váčky rozšiřující se od centrální části směrem k okraji
- Vezikuly – měchýřky obsahující proteiny vyprodukované v drsném ER, obsah odevzdávají cis-straně GA se kterou splývají
- Kondenzující vakuoly – vezikuly obsahující zpracované proteiny a odškrucující se z trans-strany GA odkud putují k plasmatické membráně kde exocytózou vylučují svůj obsah do extracelulárního prostředí

Funkce Golgiho aparátu

- Diktiozómy jsou navzájem propojené a zpravidla na straně přivrácené k jádru neustále přijímají váčky odštěpené od ER a intenzívně odštěpují váčky naplněné různými buněčnými sekrety.
 - **Transport a přechovávání látek**
 - **Posttranslační úpravy proteinů**
 - **Syntéza polysacharidů a imunoglobulinů**
 - **Tvorba váčků (sekrečních granul) využívaných při exocytóze**
 - **Vzniká zde materiál pro tvorbu buněčné stěny**
 - **Tvorba a diferenciacce lysozómů**
 - **Reparace buněčných povrchů**
 - **Tvorba vakuol**

Genofory

- Jaderné chromosomy
- Mitochondriální a chloroplastová DNA
- Bakteriální nukleoid
- Plasmidy

Pro farmaceutického biotechnologa jsou to zdroje genetické informace a nástroje genových manipulací



Buněčná struktura	Metabolický děj
jádro	biosyntéza DNA, biosyntéza a modifikace RNA
cytoplazma	glykolysa, pentosový cyklus, biosyntéza sacharidů a mastných kyselin
mitochondrie	dýchací řetězec a oxidativní fosforylace, citrátový cyklus, odbourávání MK, metabolismus AK
ribozomy	biosyntéza bílkovin
EPR	syntéza, modifikace a transport některých bílkovin, syntéza cholesterolu, fosfolipidů a triacylglycerolů, detoxikace
Golgiho komplex	modifikace, třídění, transport a vylučování některých bílkovin
lysozomy	odbourávání opotřebených biomakromolekul a cizorodých struktur
peroxizomy	oxidace za vzniku peroxidu vodíku, fotorespirace
chloroplasty	fotosyntéza, syntéza MK
glyoxizomy	glyoxylátový cyklus