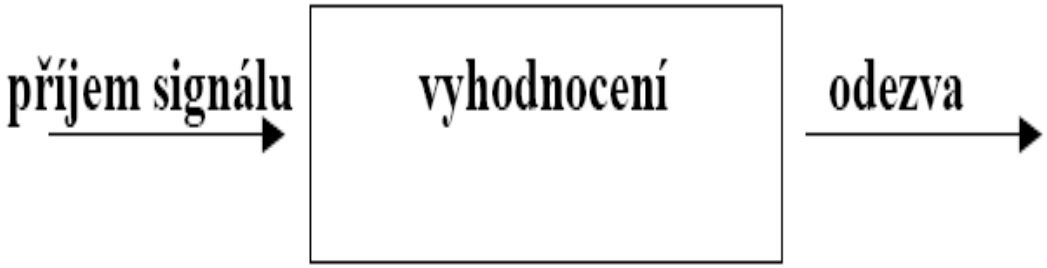
Organismus → výměna energie a informací s okolím → otevřený systém

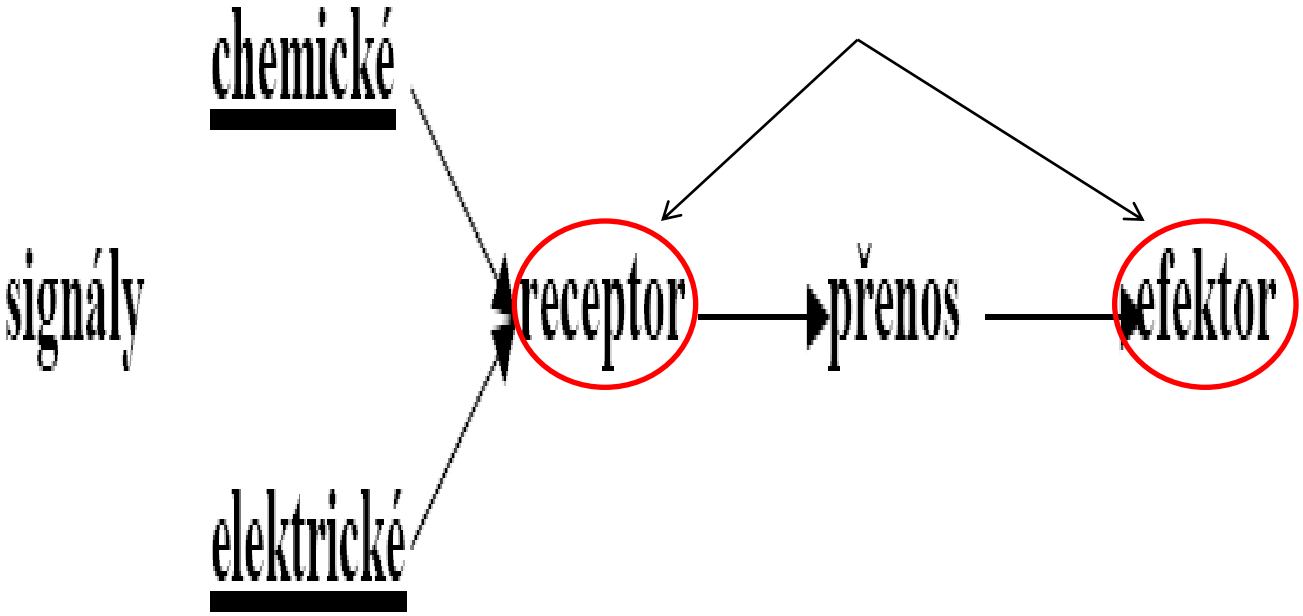
Stálost vnitřního prostředí - homeostáza

BIOCHEMIE REGULACE

WIENER – kybernetika



Bílkoviny

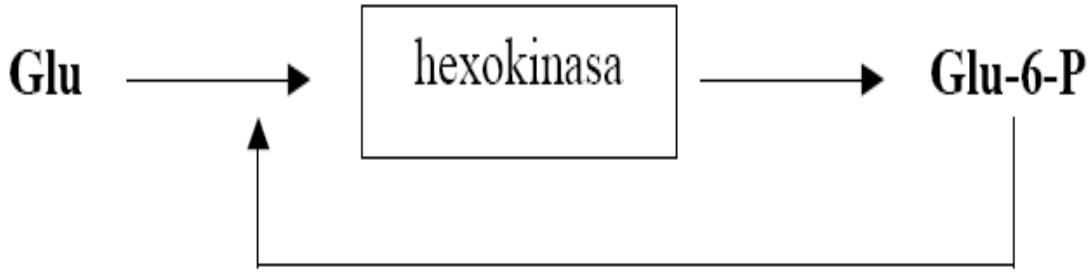


Regulační mechanismy

Regulace na enzymové úrovni – rychlá odezva

- Michaelisovskou kinetikou – hexokinasa Km 10^{-4} M
  – glukokinasa Km 10 mM

- Inhibicí produktem



- Zpětnou vazbou – allosterie negativní x pozitivní

- Řídícími enzymy v cyklech – citrátový cyklus - ICDH

  – glykolysa PFK

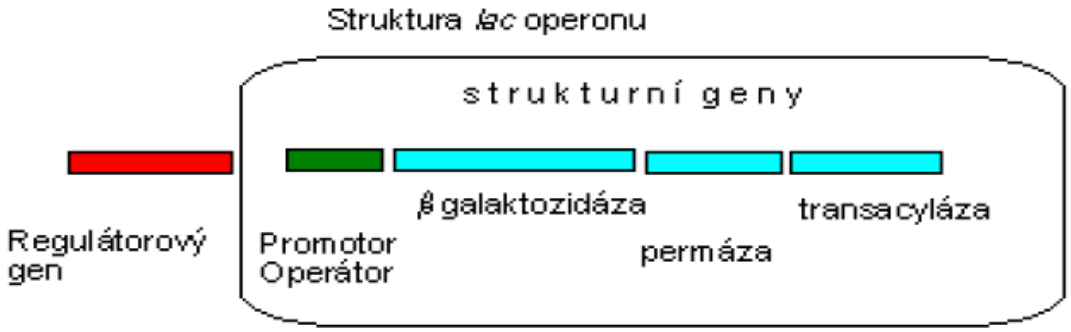
- Kovalentí modifikací – proteasy

  – fosforylasa A B

  – trombin

Regulace hladiny enzymů v buňce

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

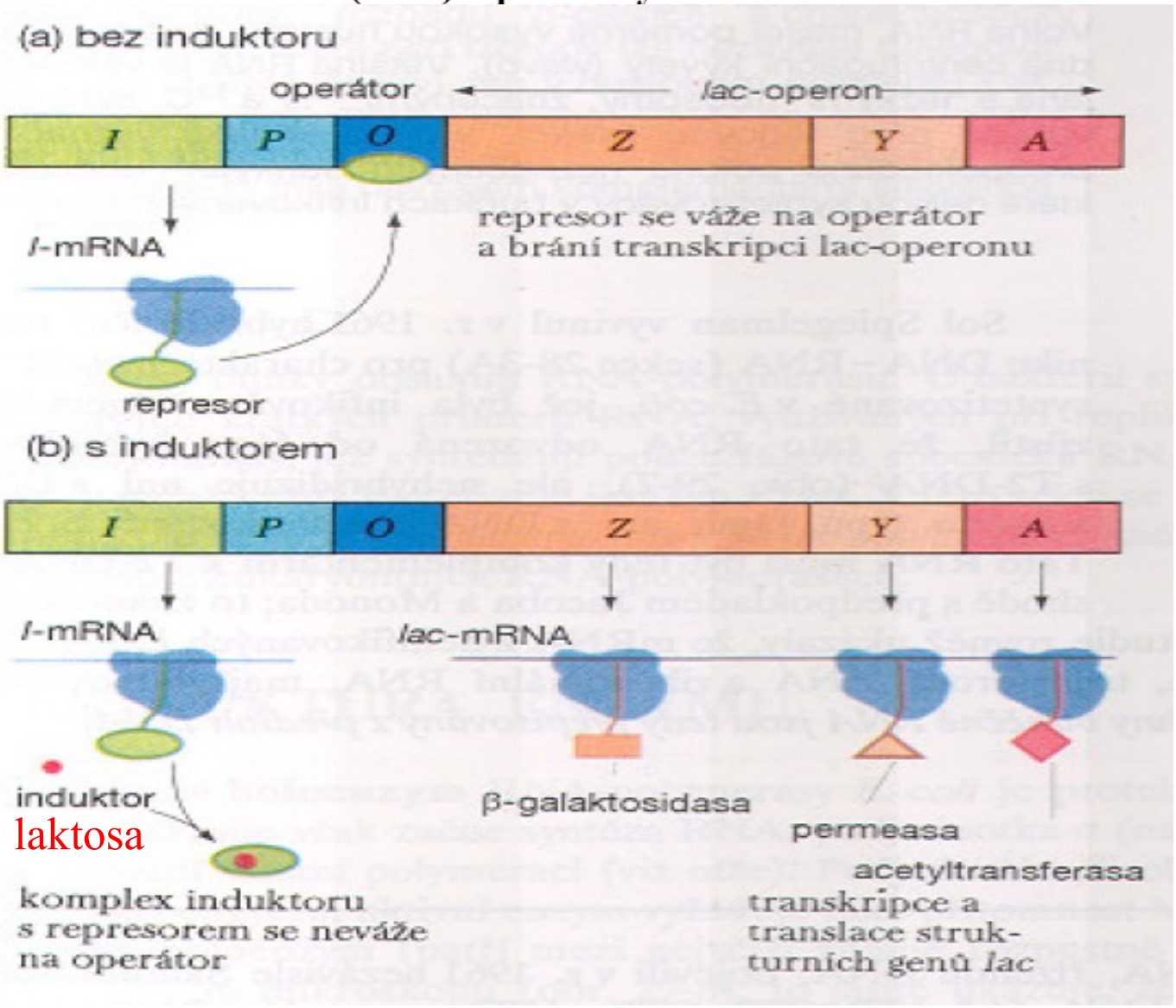


Regulace hladiny enzymů v buňce

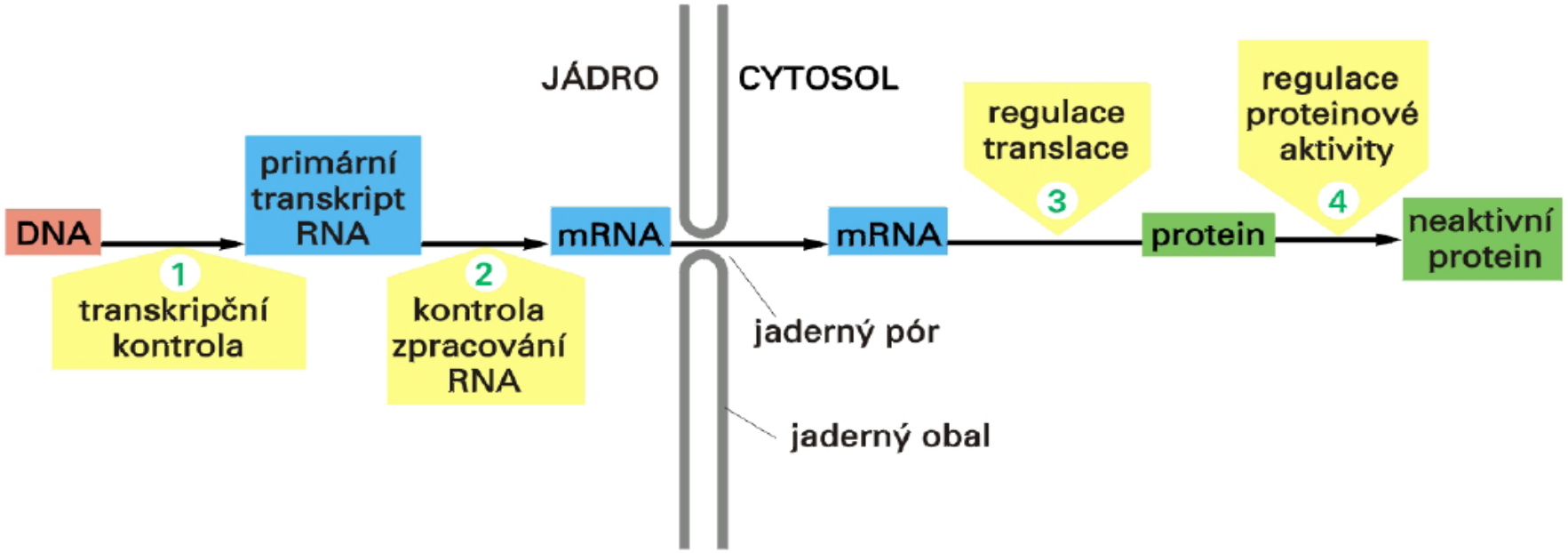
- Promotor - oblast poblíž genu, kde se váže RNApolymerasa
- Regulátorový gen - gen produkující represor
- Operátor - místo vazby represoru

Regulace na úrovni NK – indukce a represe – pomalá odezva

JACOB MONOD (1961) operonový model



Čtyři kroky, ve kterých může být regulována exprese eukaryontních genů



© Espero Publishing, s.r.o.

Prostorové uspořádání

- Kompartmentace - mitochondrie – βoxidace, citrátový cyklus, respirace
  - cytoplasma – glykolysa, synthesa mastných kyselin

- Transportní systémy - ATPasa
  - karnitinový cyklus

Humorální regulace

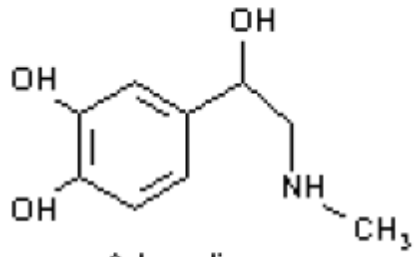
Endokrinní systém – žlázy s vnitřní sekrecí → hormony

BAYLISS, STARLING (1904) - hormony

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

Hormony

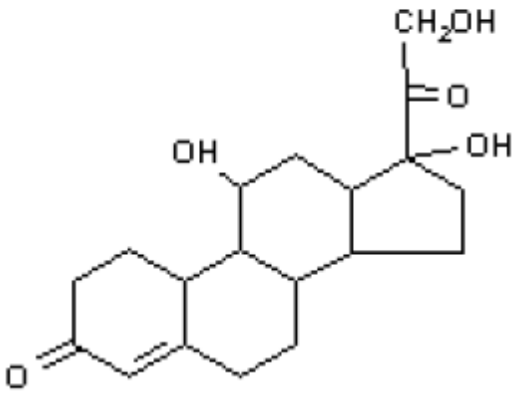
- -aminokyselinové, peptidové, steroidní, pocházející z MK



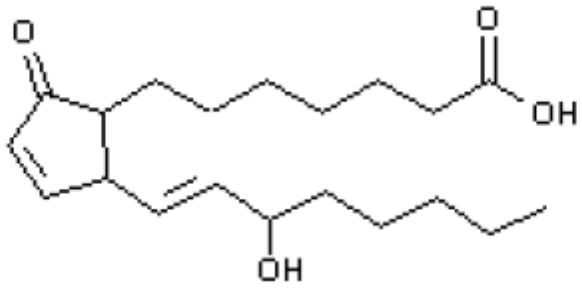
Adrenalin

$^{+}H_3N$.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^{-}

Glukagon



Kortisol



Prostaglandin PGA1

Hormony

Působení

- regulace proteosyntesy
- regulace katalytické funkce enzymů
- regulace transportvních pochodů

Hormony

Rozdělení :

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

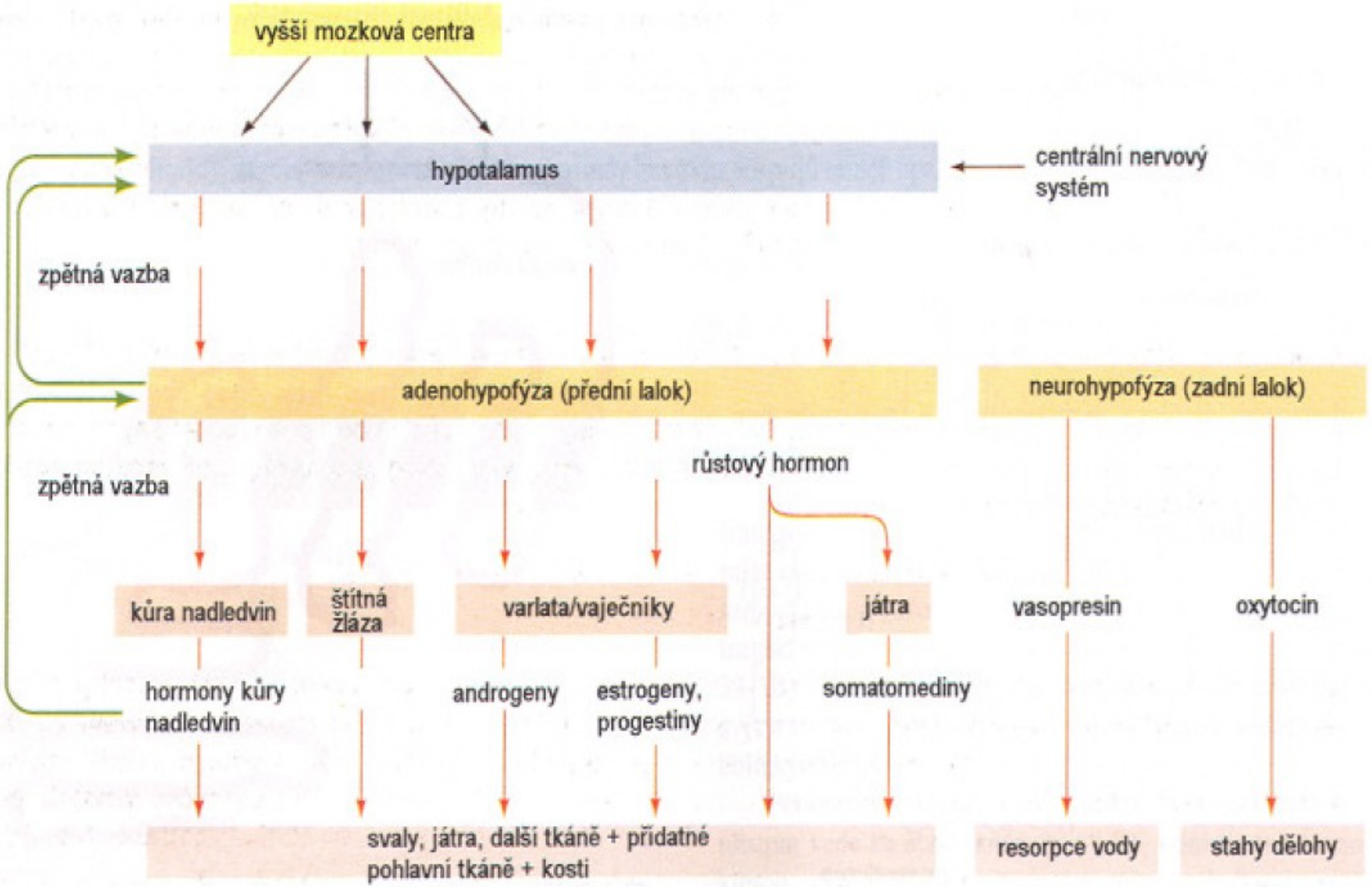
b) **neurohormony** hypothalamu (liberiny a statiny) a v neurohypofýze (oxytocin a vasopresin)

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

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

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

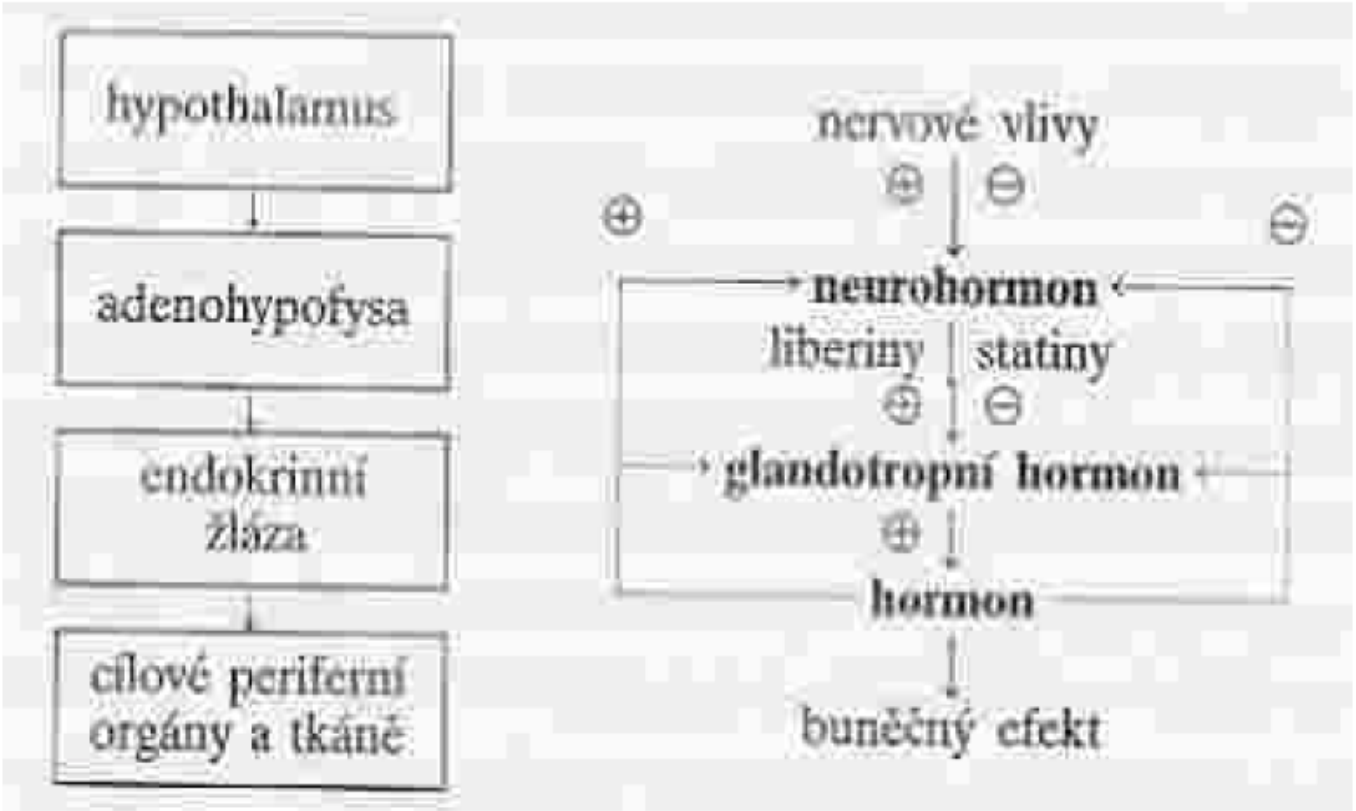
Řízení


vyšší mozková centra
hypotalamus
centrální nervový systém
zpětná vazba
adenohypofýza (přední lalok)
neurohypofýza (zadní lalok)
zpětná vazba
růstový hormon
kůra nadledvin
štítná žláza
varlata/vaječníky
játra
vasopresin
oxytocin
hormony kůry nadledvin
androgeny
estrogeny, progestiny
somatomediny
svaly, játra, další tkáně + přídatné pohlavní tkáně + kosti
resorpce vody
stahy dělohy

Řízení

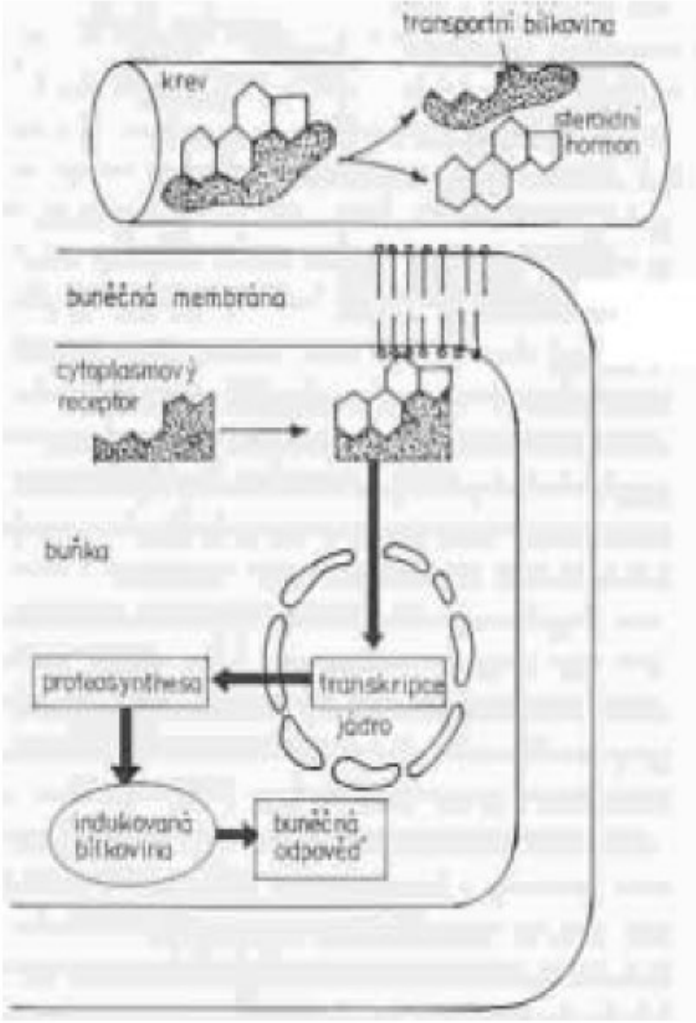
CNS

↓

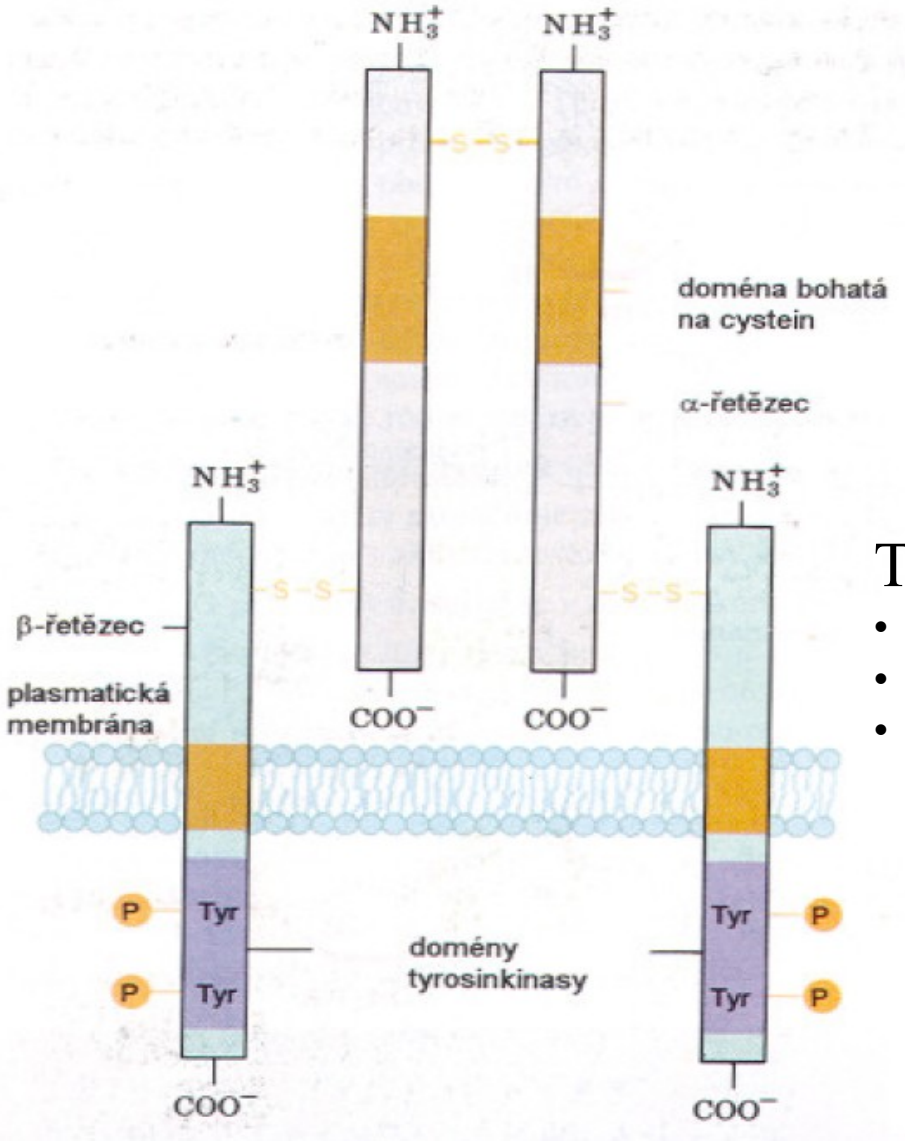

hypothalamus
adenohypofysa
endokrinní žláza
cílové periferní orgány a tkáně
nervové vlivy
⊕
⊖
⊕
⊖
neurohormon
liberiny
statiny
⊕
⊖
glandotropní hormon
⊕
hormon
buněčný efekt

Receptory pro hormony

Steroidy-tyroidní hormony



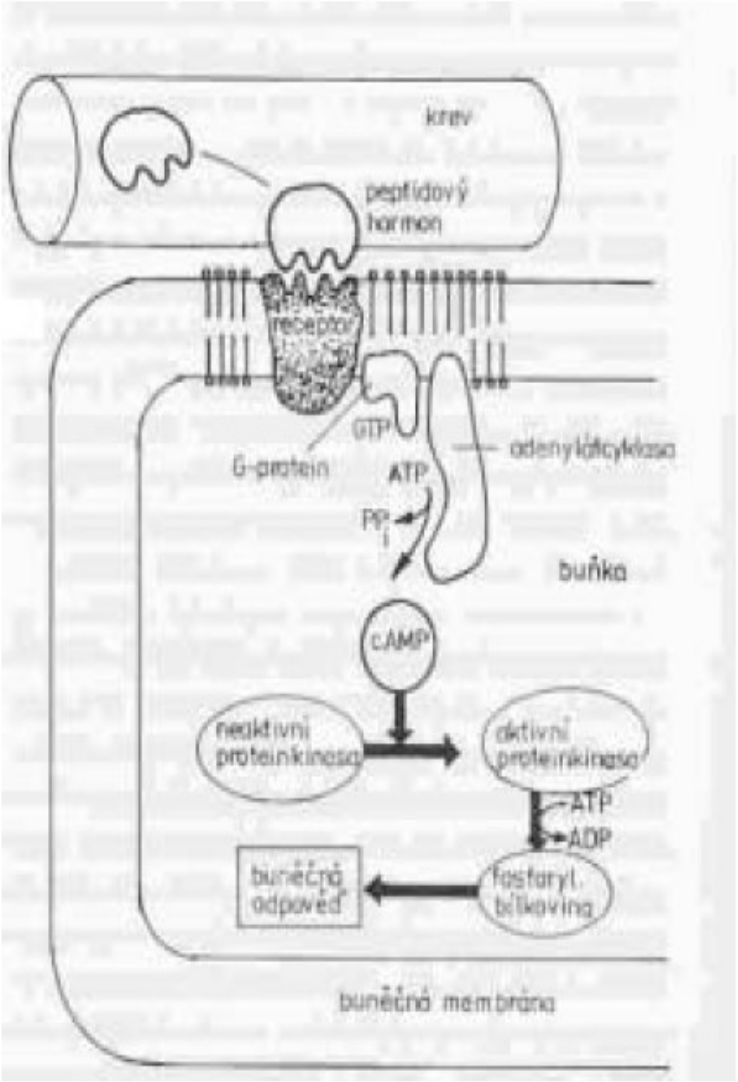
Inzulín



Tyrosinkinasa

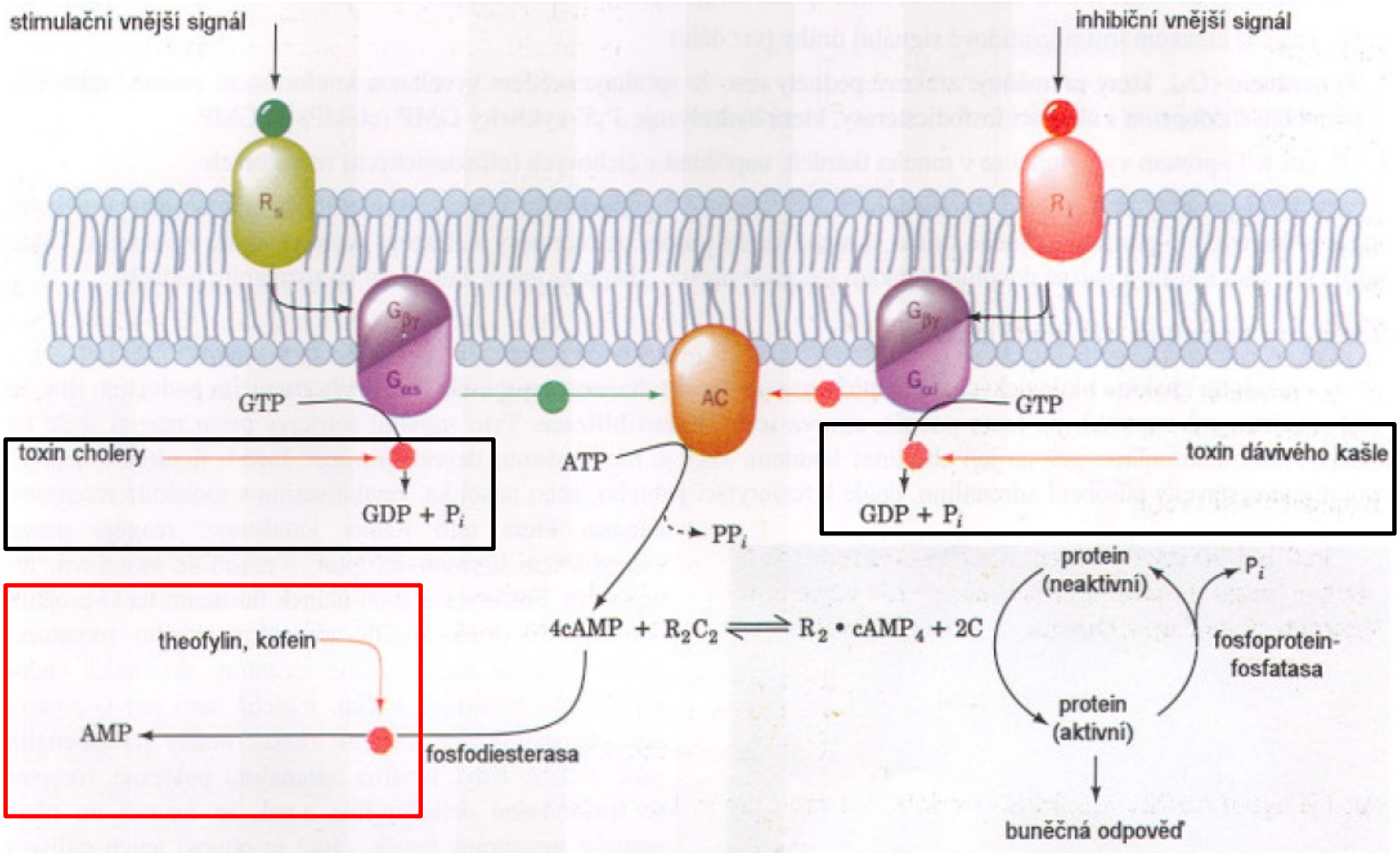
- Navazaní inzulínu
- Autofosforylace
- Defosforylace enzymů
  - Glykogenfosforylasa
  - Pyruvátdehydrogenasa
  - H.C. lipasa

Peptidy


krev
peptidový hormon
receptor
GTP
G-protein
ATP
adenylátcykláza
PP
i
buňka
cAMP
neaktivní proteinkináza
aktivní proteinkináza
ATP
ADP
buněčná odpověď
fosforyl. bílkoviny
buněčná membrána

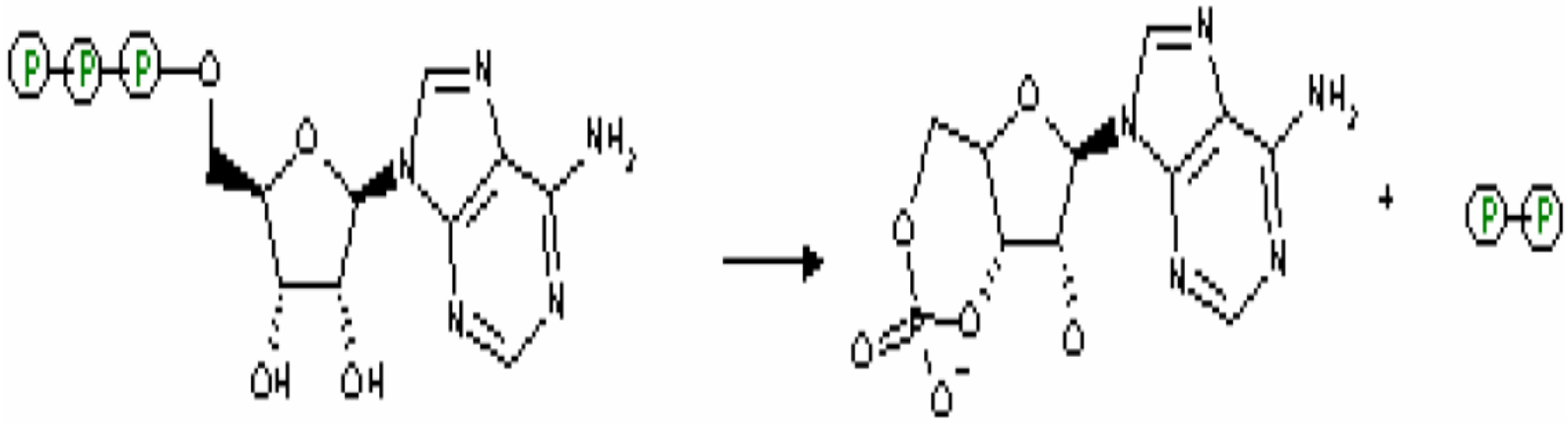
Druzí poslové

cAMP



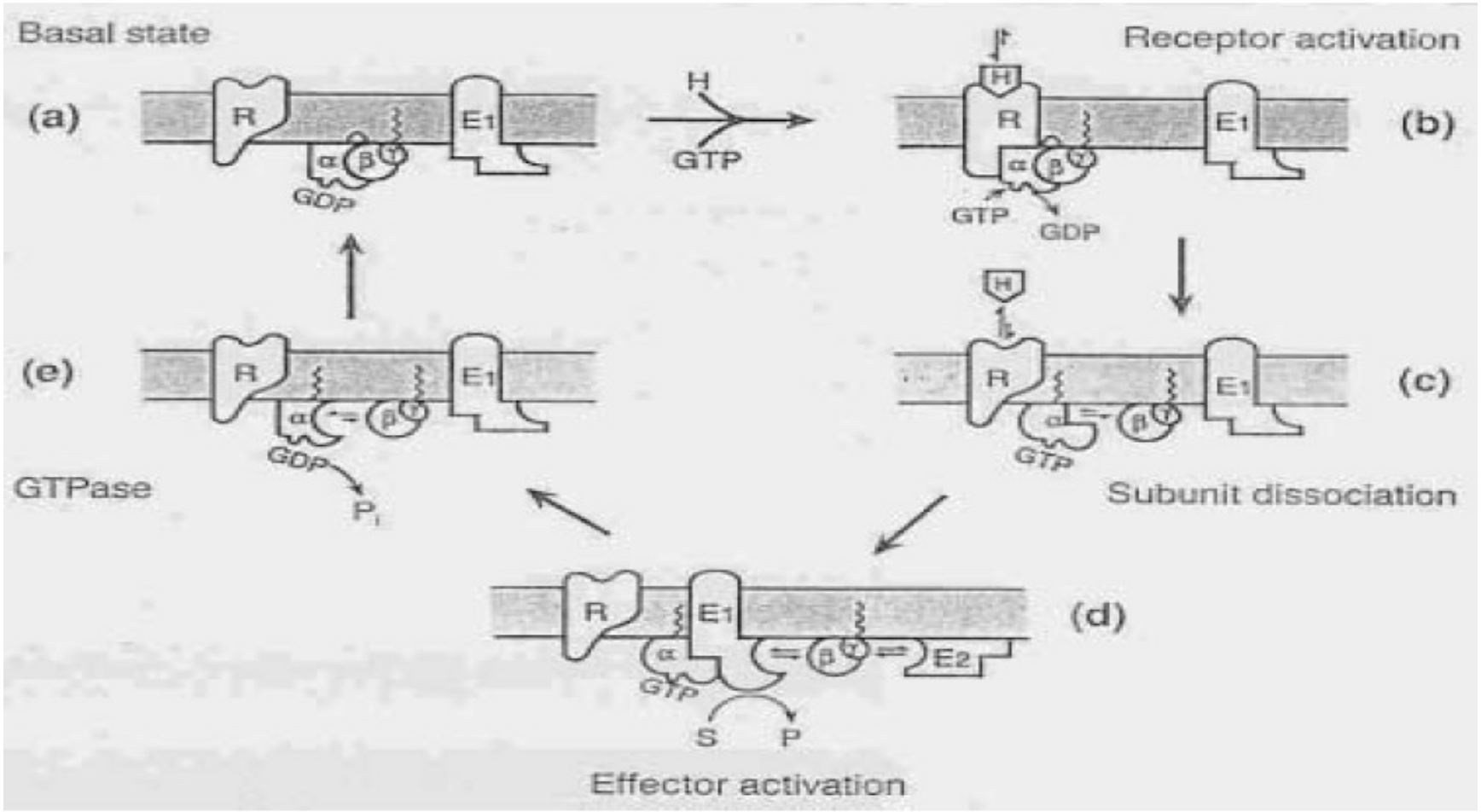
ATP → c-AMP

Cílový enzym: aktivace proteinkinasy A

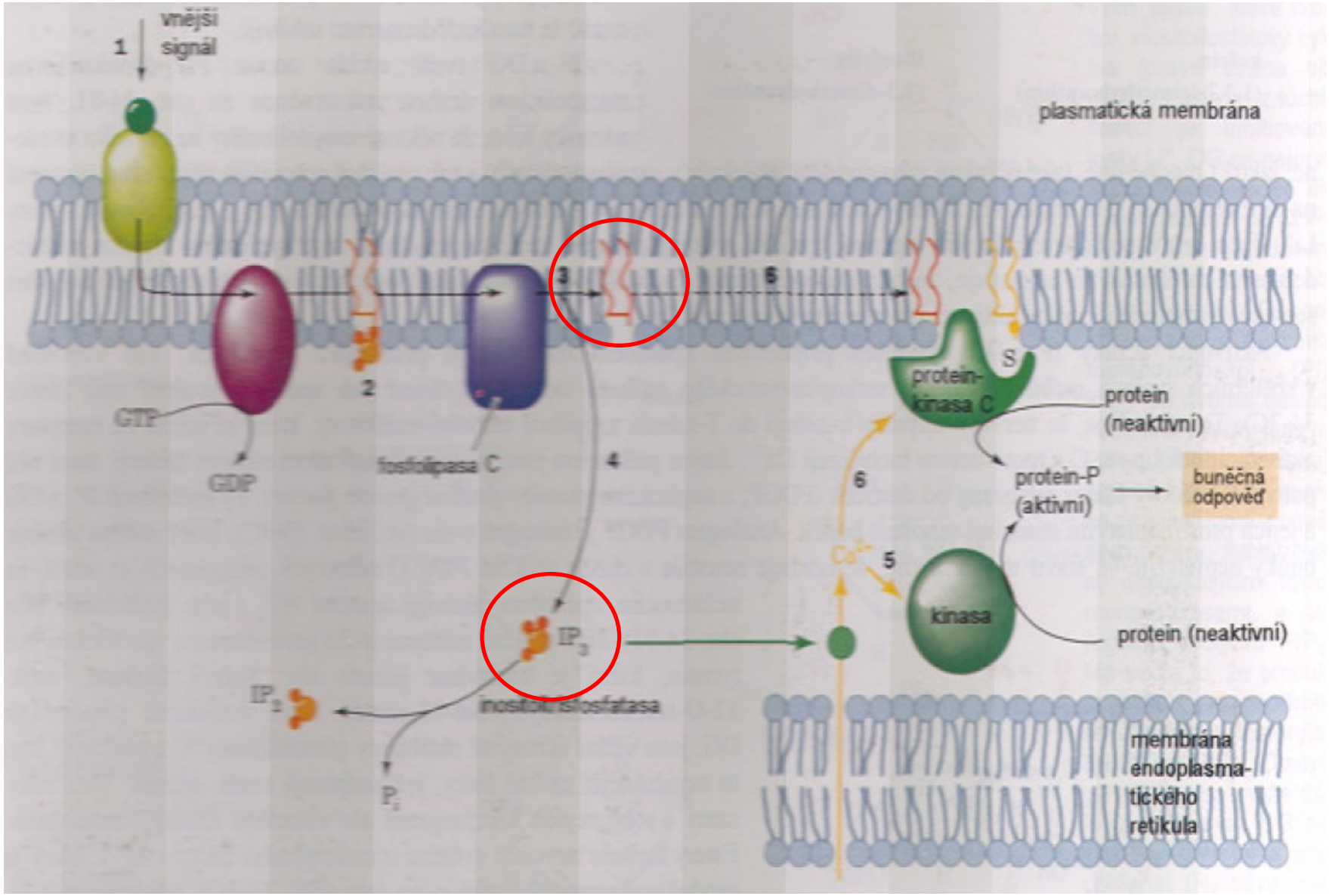


G-proteiny

R J. Lefkowitz a K. Kobilka NC 2012

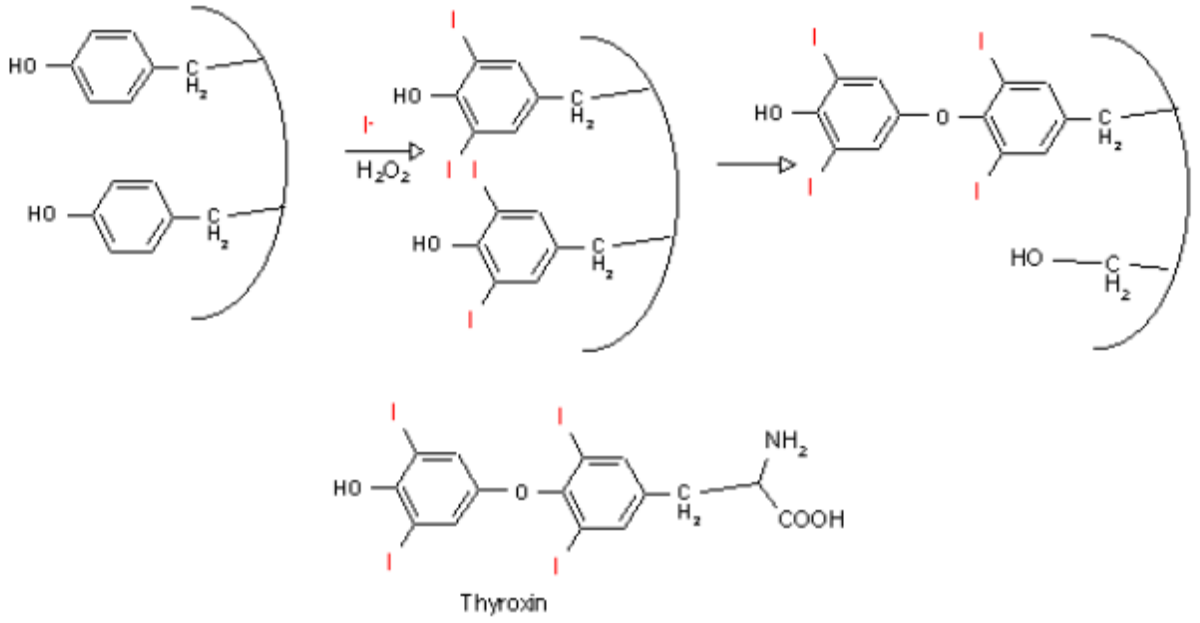


Fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát



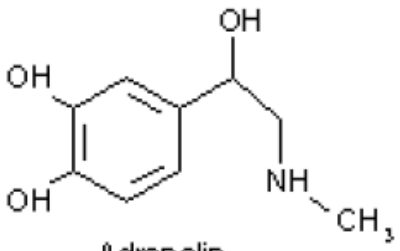
Hormony

- Thyroxin - celková stimulace metabolismu

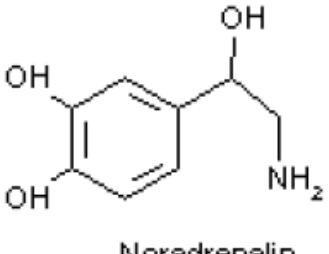


Hormony

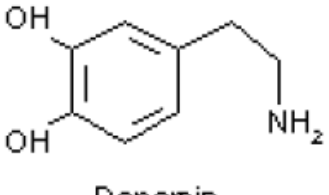
- adrenalin, noradrenalin (regulace odbourávání glykogenu ve svalech)
- Tyr → DOPA → dopamin → noradrenalin → adrenalin



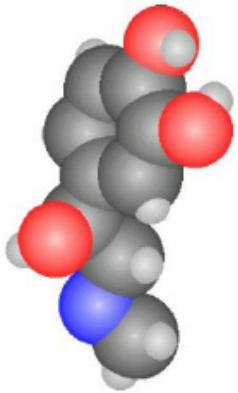
Adrenalin



Noradrenalin

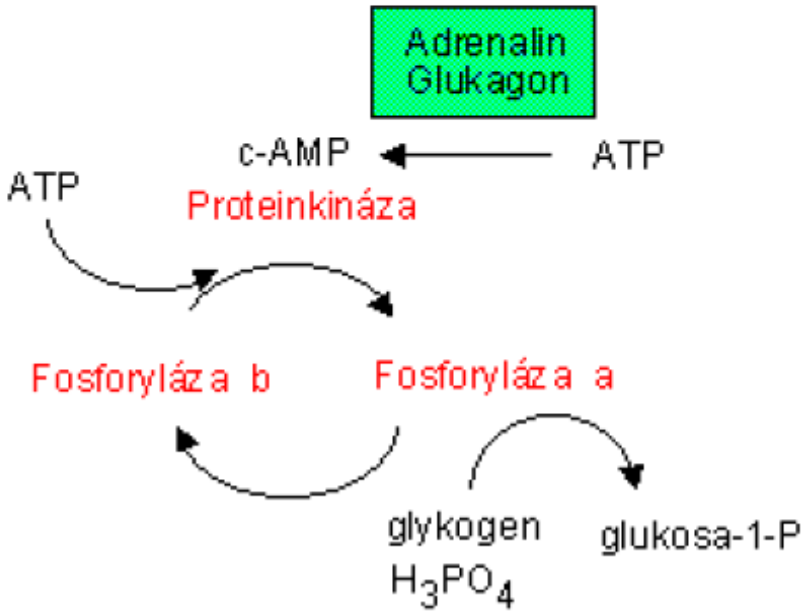


Dopamin



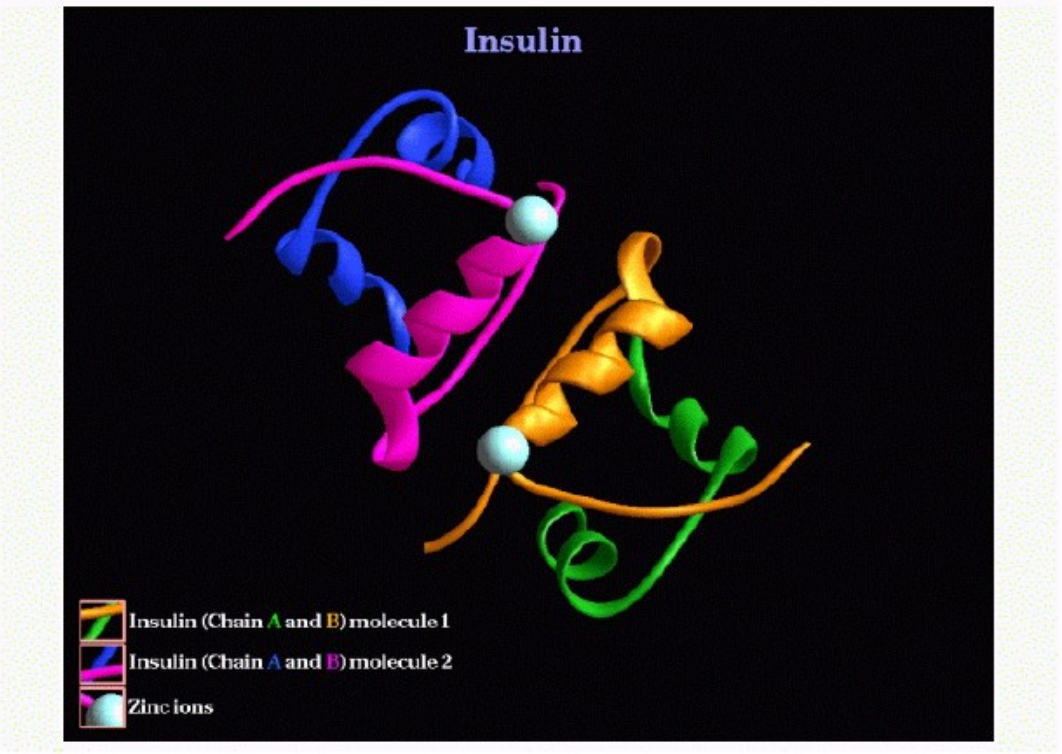
Metabolismus sacharidů

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



Hormony

- Inzulin
- Mr 11,5 kDa



Hormony

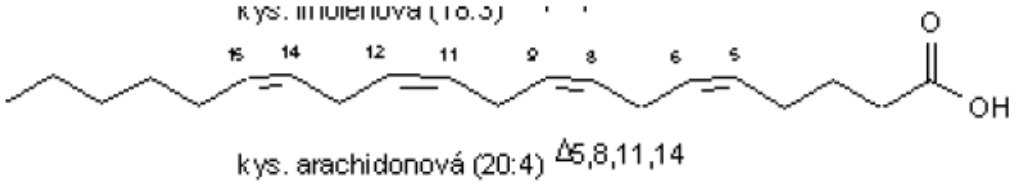
- Efekt inzulinu
  - Játra: hromadění glukosy uvnitř buněk - syntéza glykogenu
- Efekt glukagonu
  - regulace odbourávání glykogenu v játrech (nízká hladina glukosy stimuluje sekreci glukagonu - fosforolýza, stimulace lipas adipocytů))

Hormony

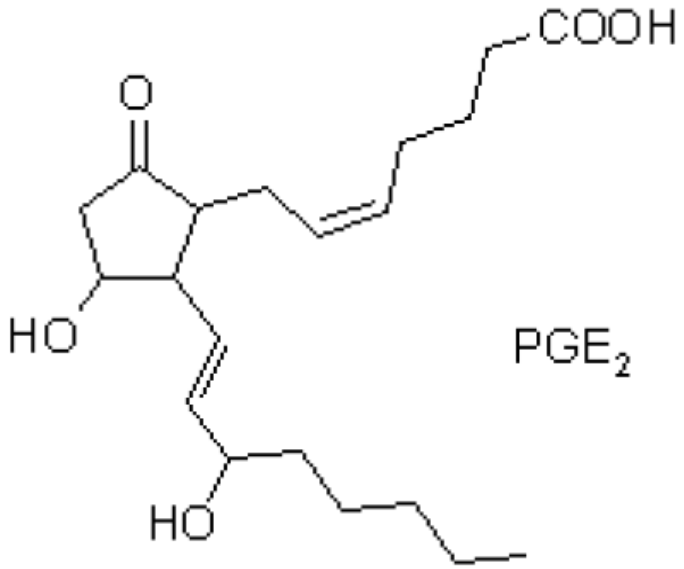
- Diabetes mellitus
  - nízký poměr inzulin/glukagon, hladina glukosy 15 mM, vylučování močí
  - blokování an. glykolýzy, stimulace glukoneogeneze
  - mobilizace tuků, tvorba ketolátek

Hormony

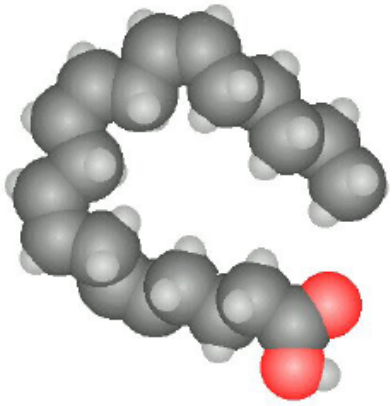
- Prostaglandiny



kys. arachidonová (20:4) $\Delta 5,8,11,14$



PGE_2

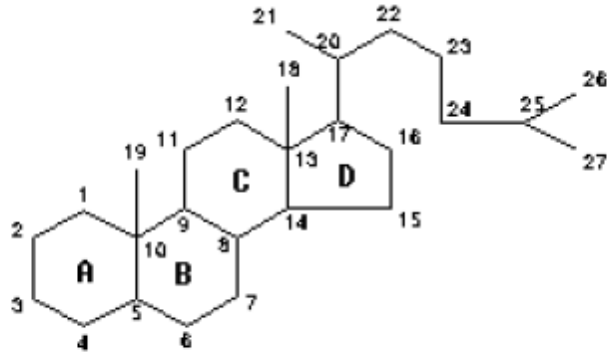


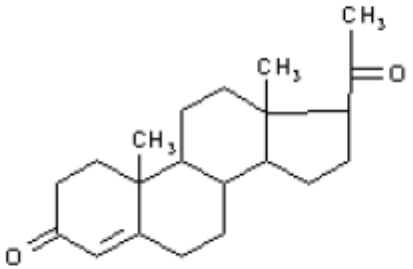
Hormony

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

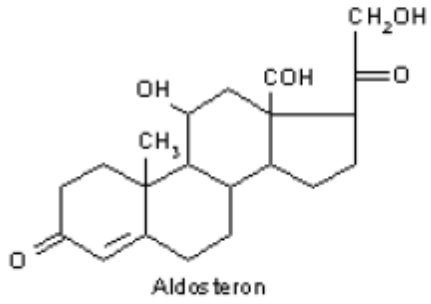
Hormony

- Steroidní hormony

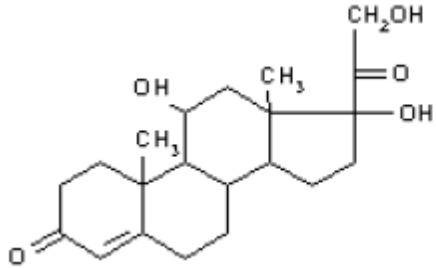




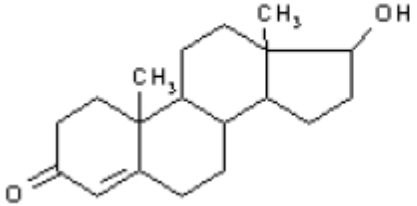
Progesteron



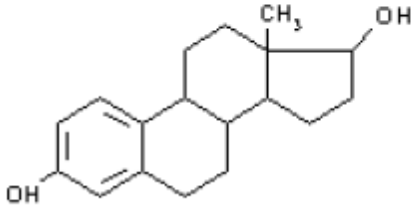
Aldosteron



Kortisol



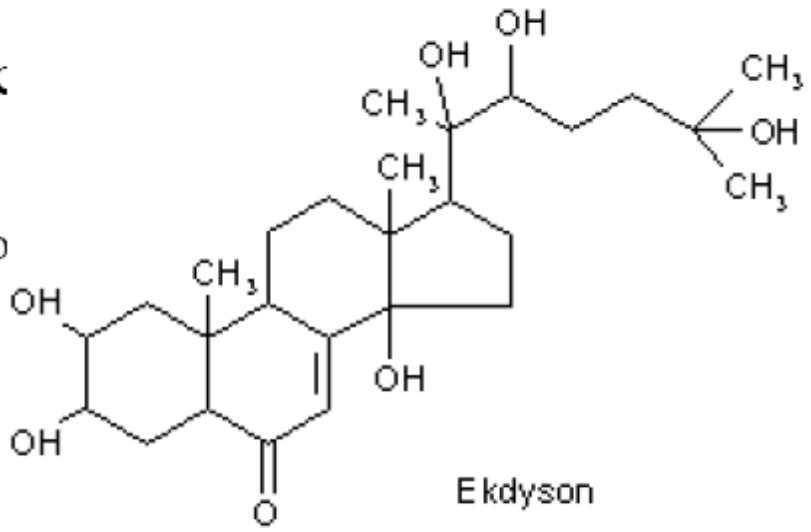
Testosteron



Estradiol

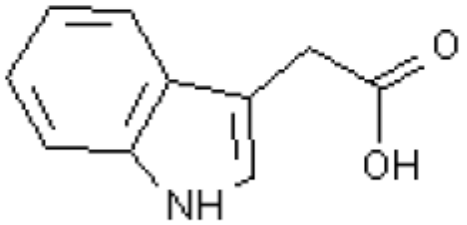
Hormony

- Hormony bezobratlýc
- (ekdyson + juvenilní hormon)
- Regulace svlékání a metamo hmyzu



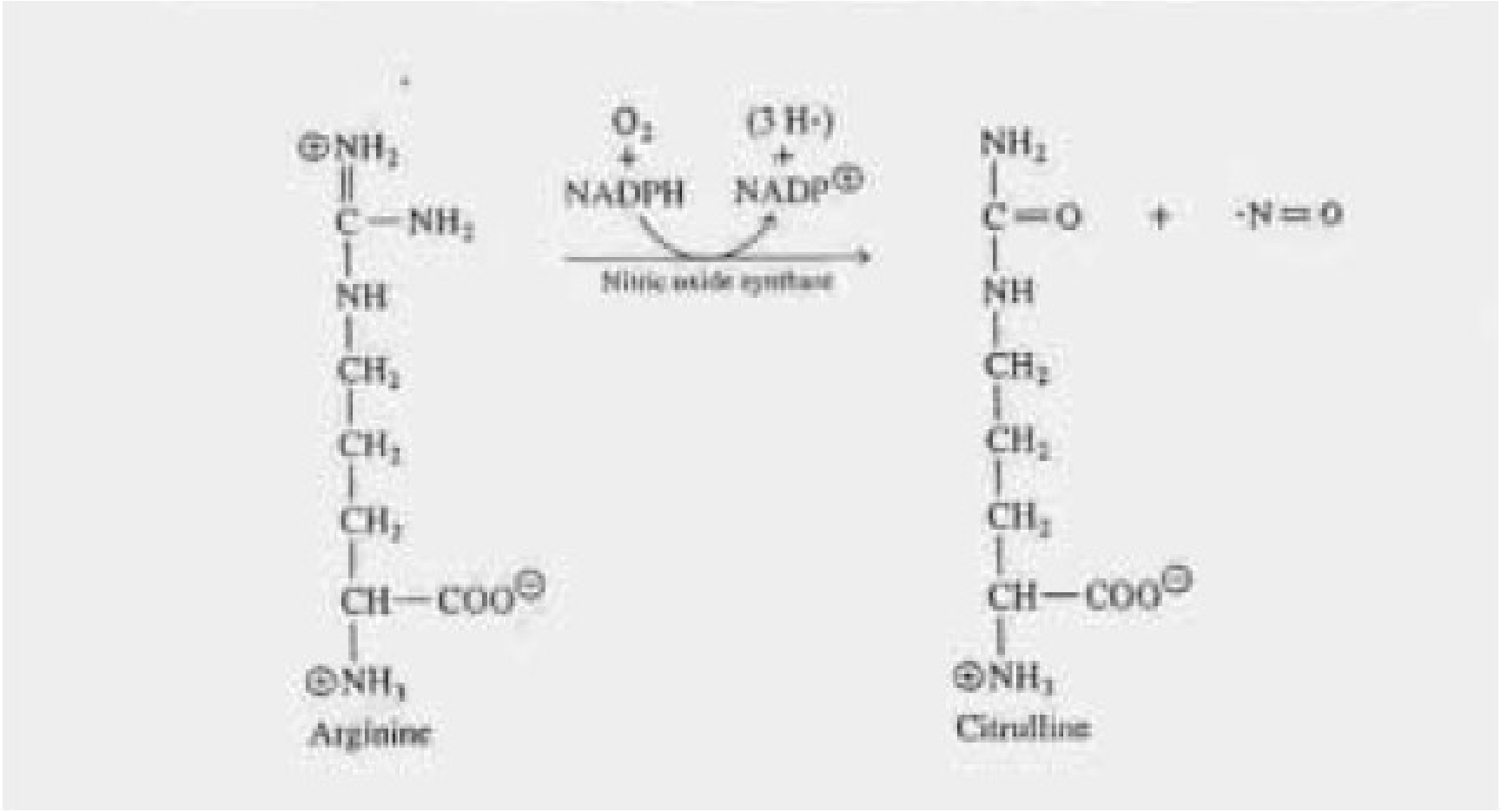
Ekdyson

- rostlinné hormony
- Mechanismus – aktivace plasmatické H+-ATPasy



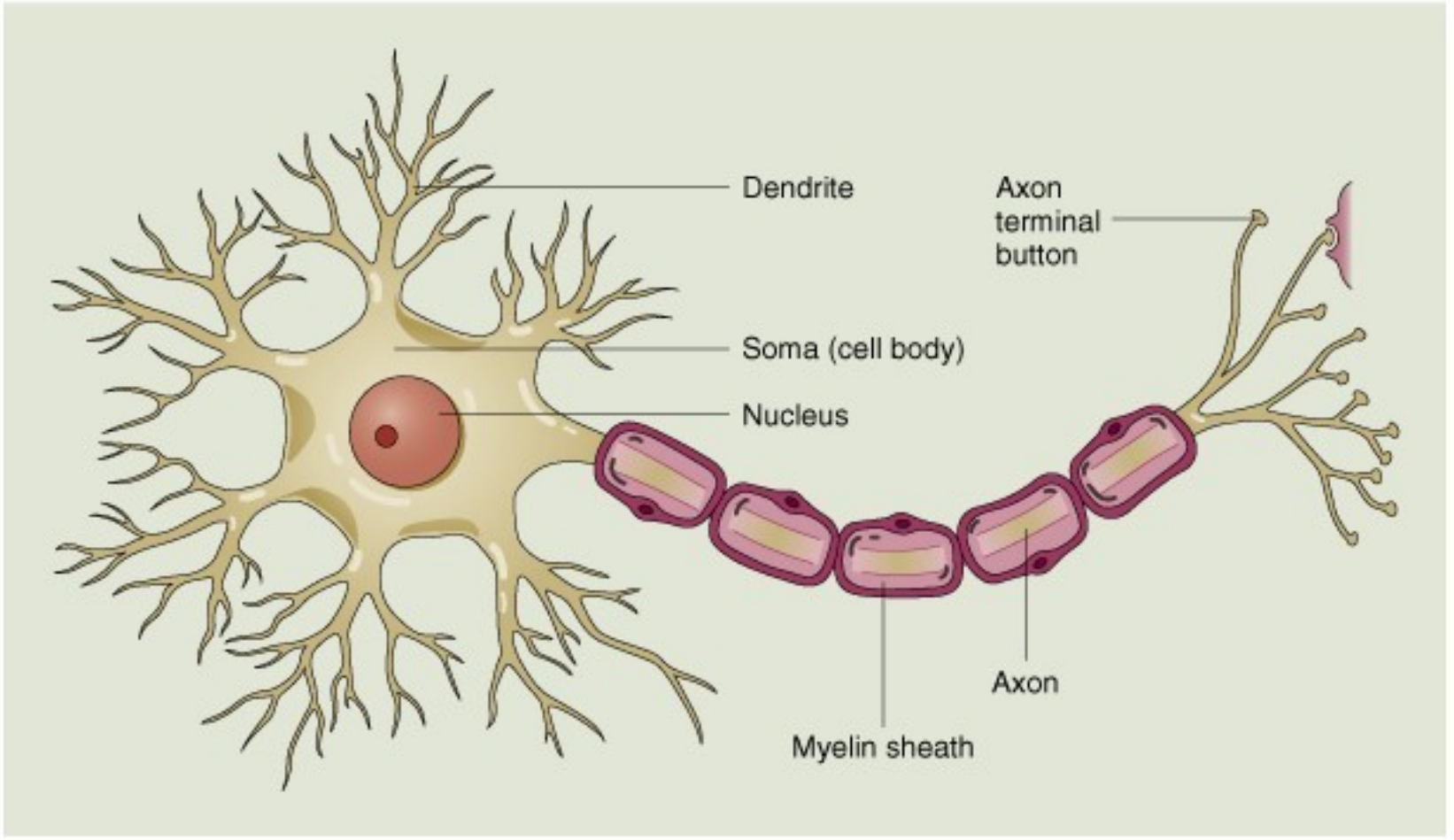
·NO jako hormon

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



Nervový vzruch

Neuron

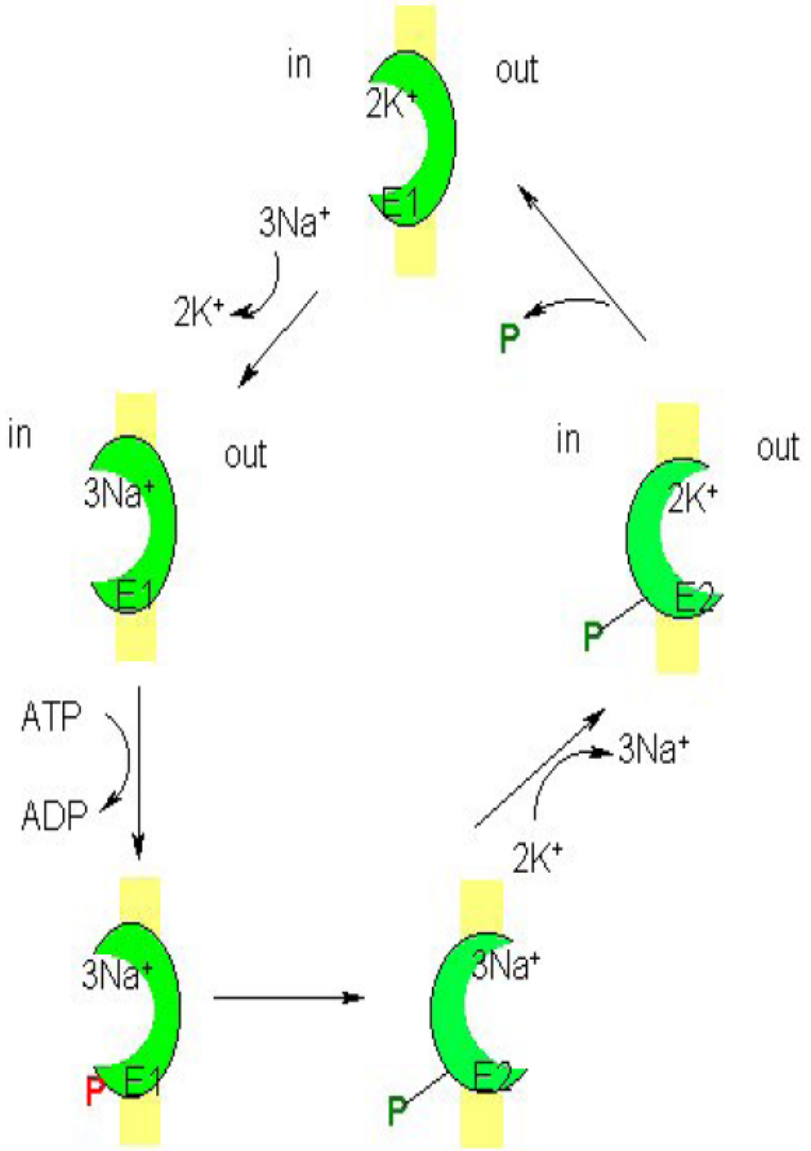


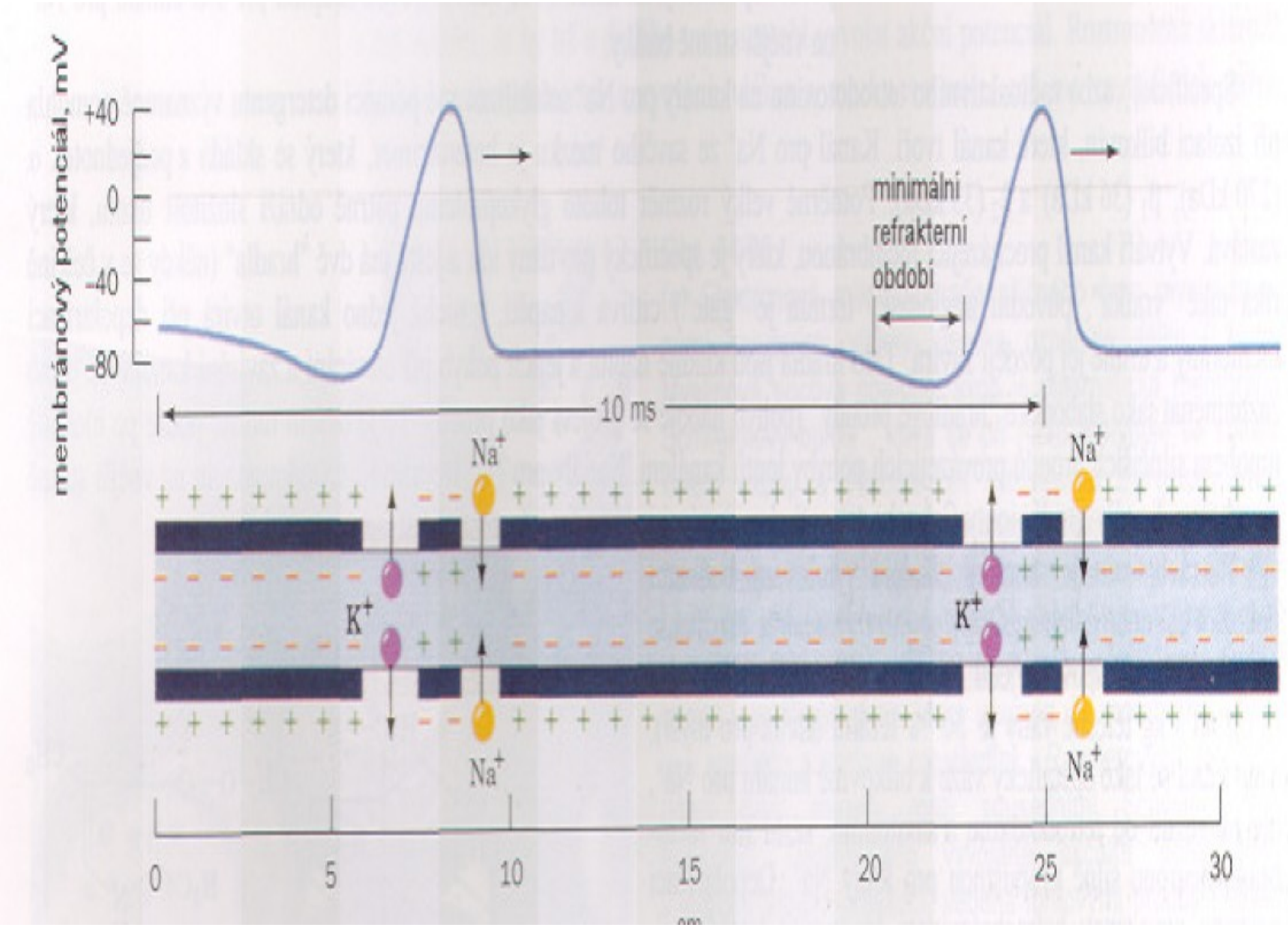
© 2000 John Wiley & Sons, Inc.

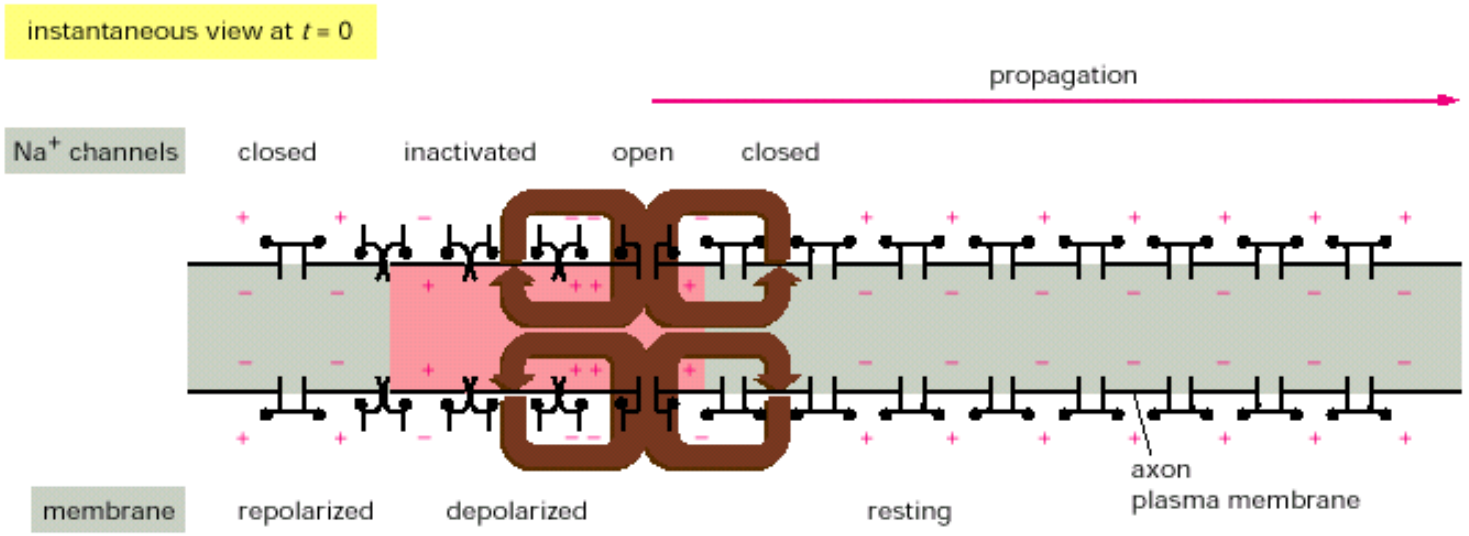
- ATPasa, Na^+-K^+

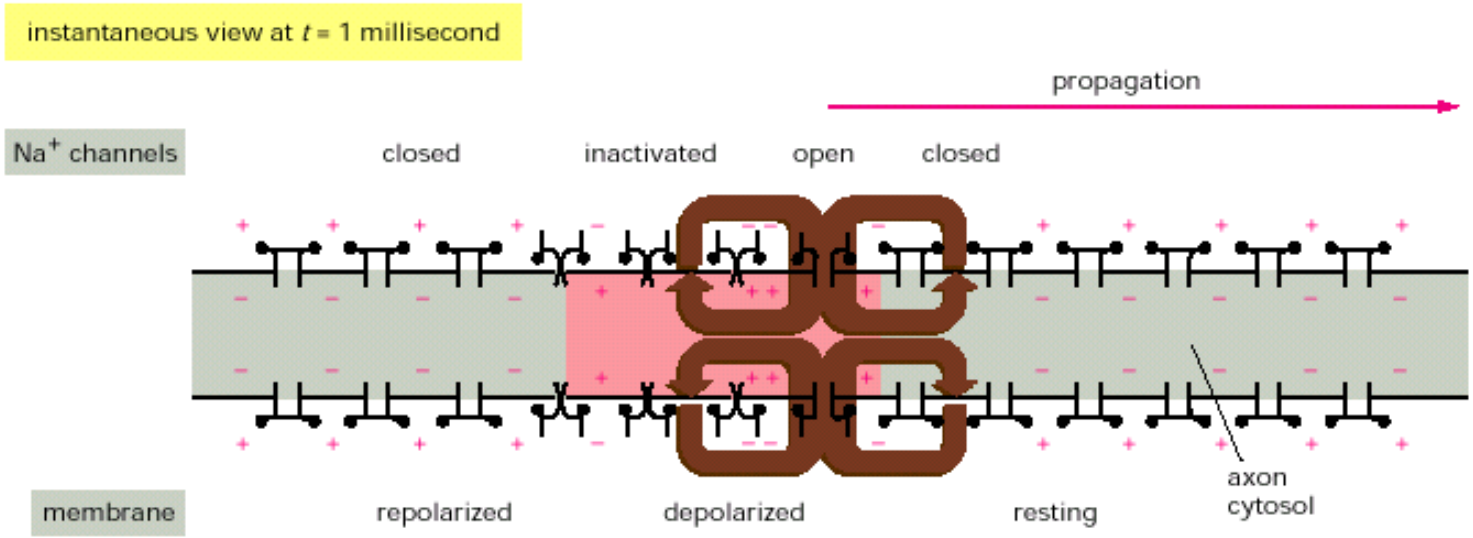
Uvnitř K^+ 139 mM
Na^+ 12 mM

Vně K^+ 9 mM
Na^+ 145 mM

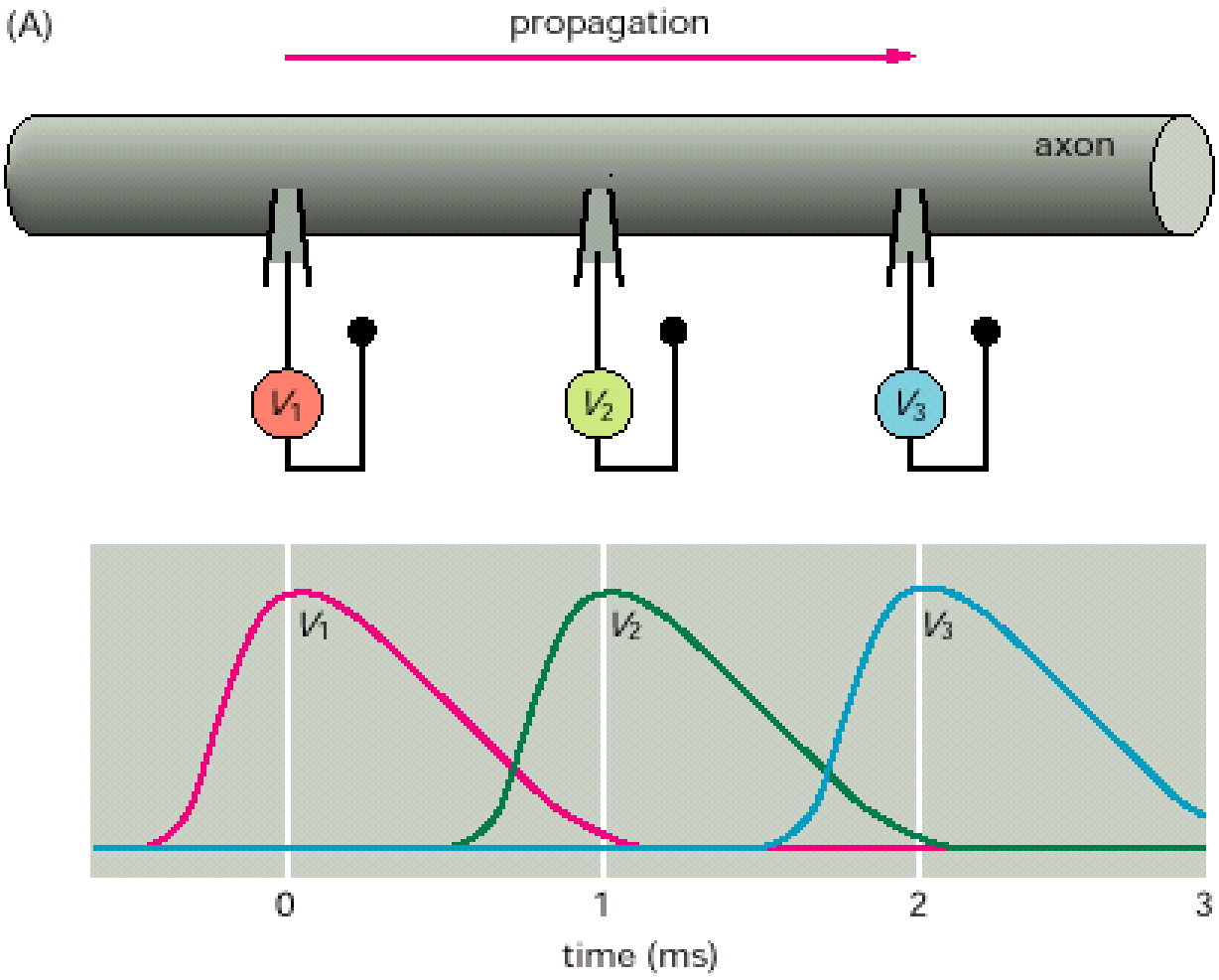


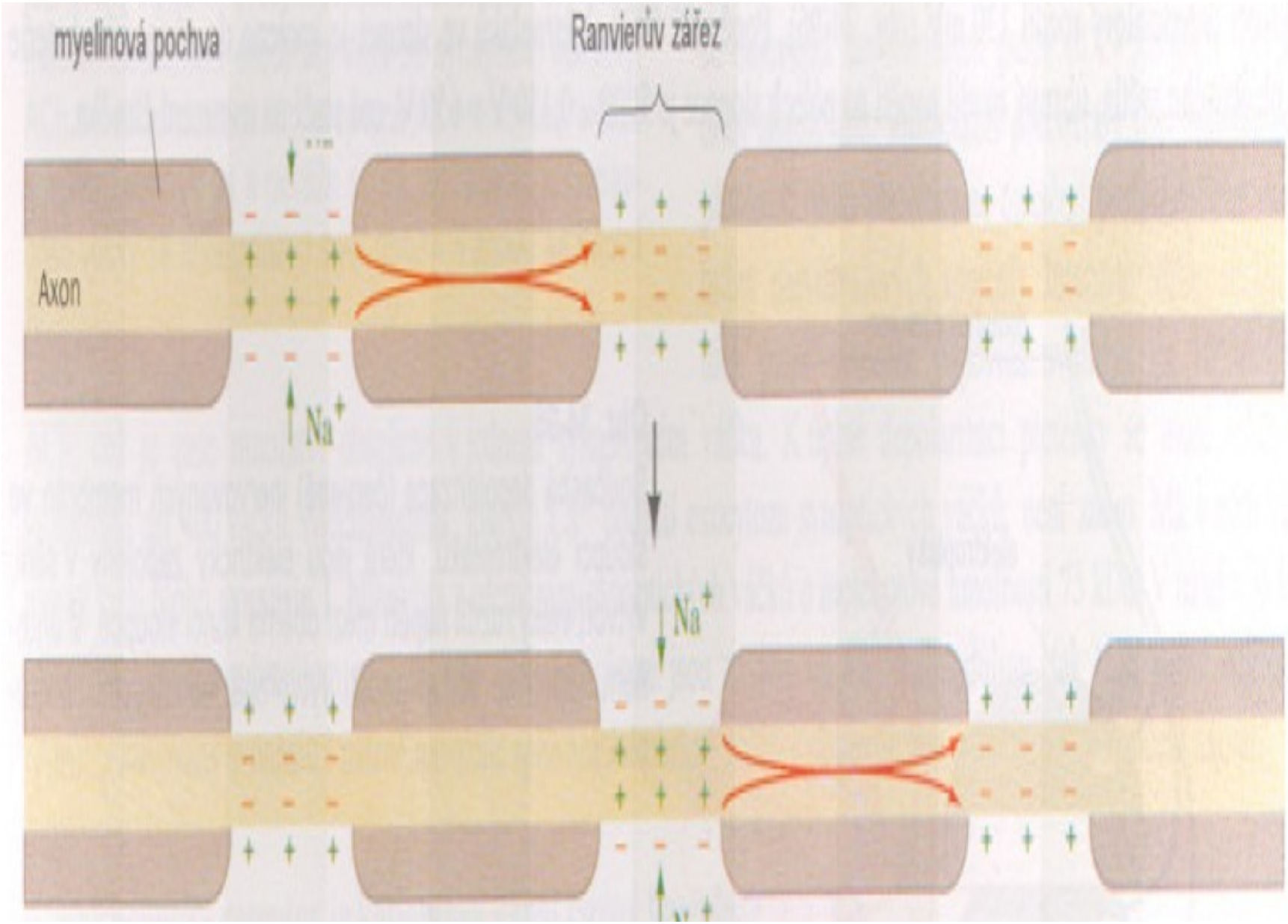

membránový potenciál, mV
+40
0
-40
-80
minimální
refrakterní
období
10 ms
Na+
Na+
K+
K+
Na+
Na+
0
5
10
15
20
25
30

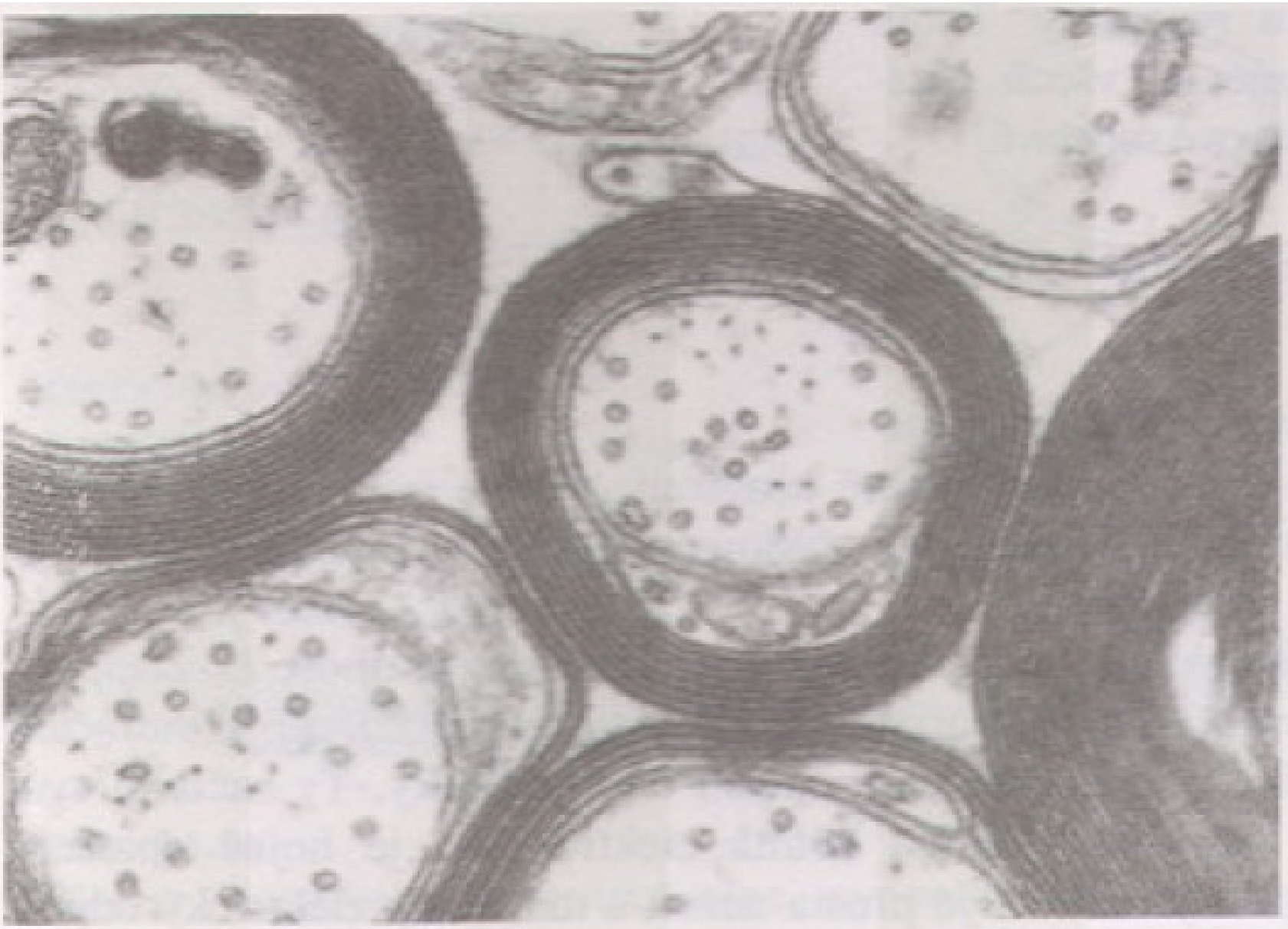

instantaneous view at t = 0
propagation
Na^+ channels
closed
inactivated
open
closed
membrane
repolarized
depolarized
resting
axon
plasma membrane


instantaneous view at t = 1 millisecond
propagation
Na^+ channels
closed
inactivated
open
closed
membrane
repolarized
depolarized
resting
axon
cytosol

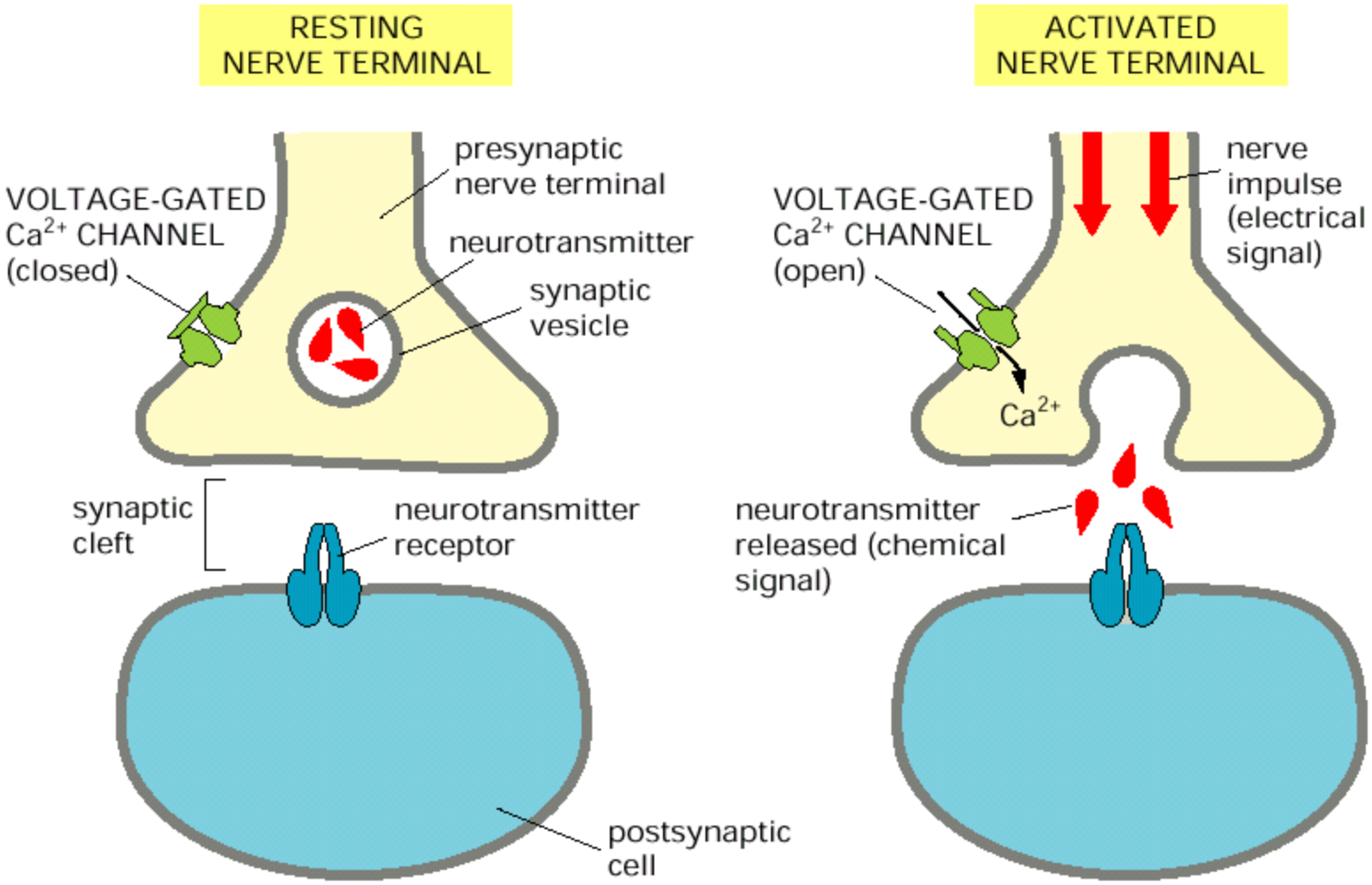
Vedení nervového vzruchu

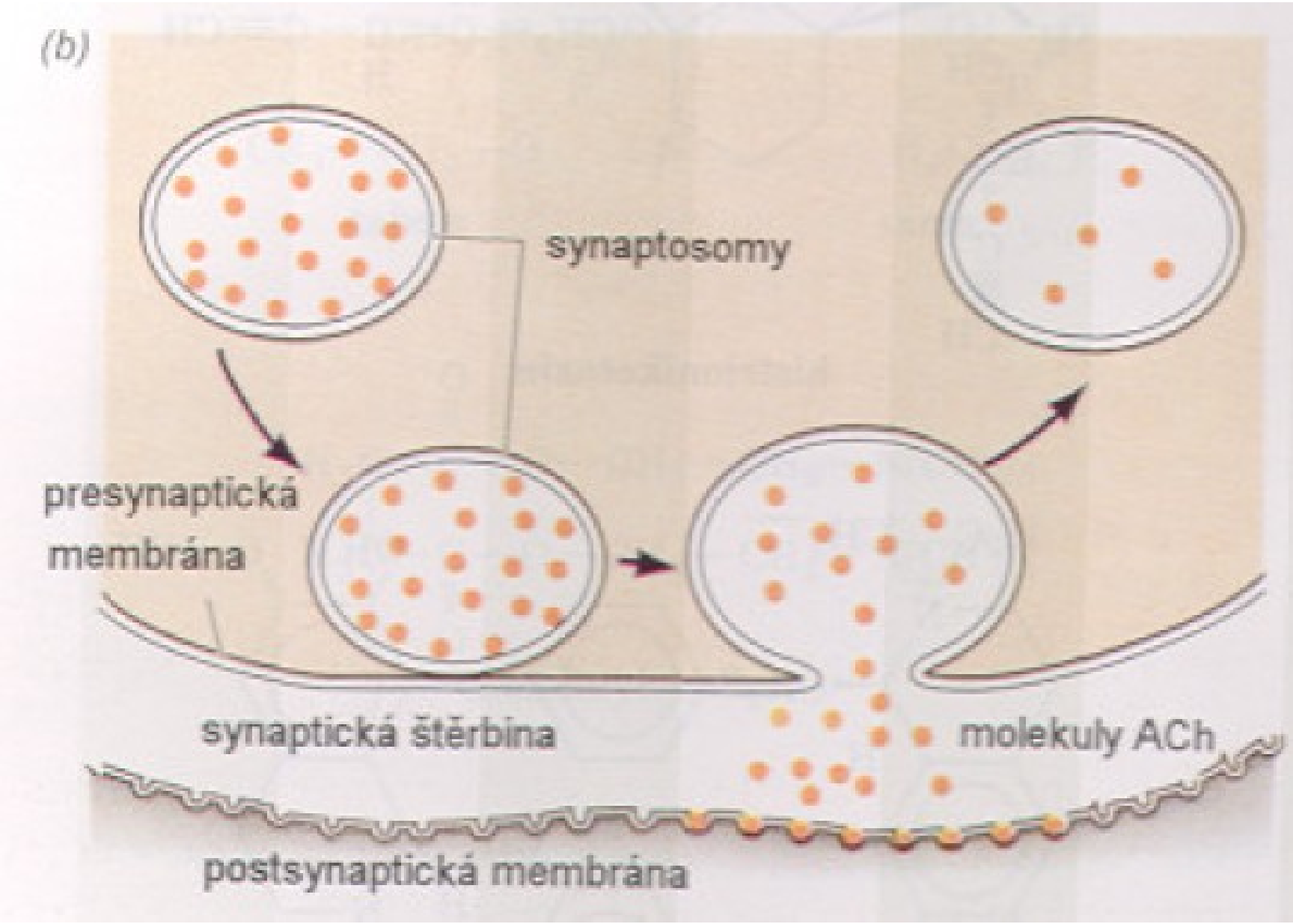



myelinová pochva
Ranvierův zářez
Axon
Na+
Na+

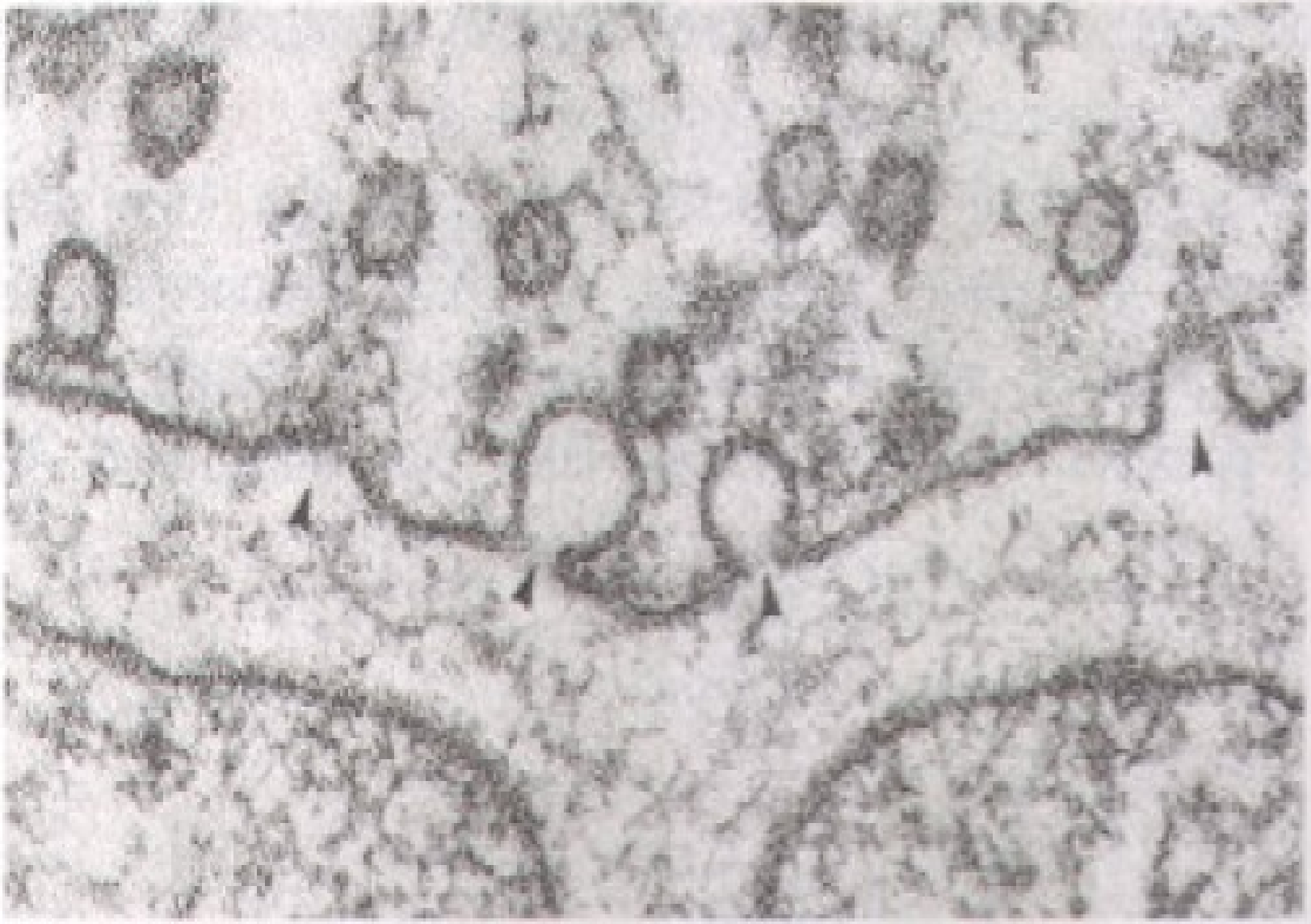


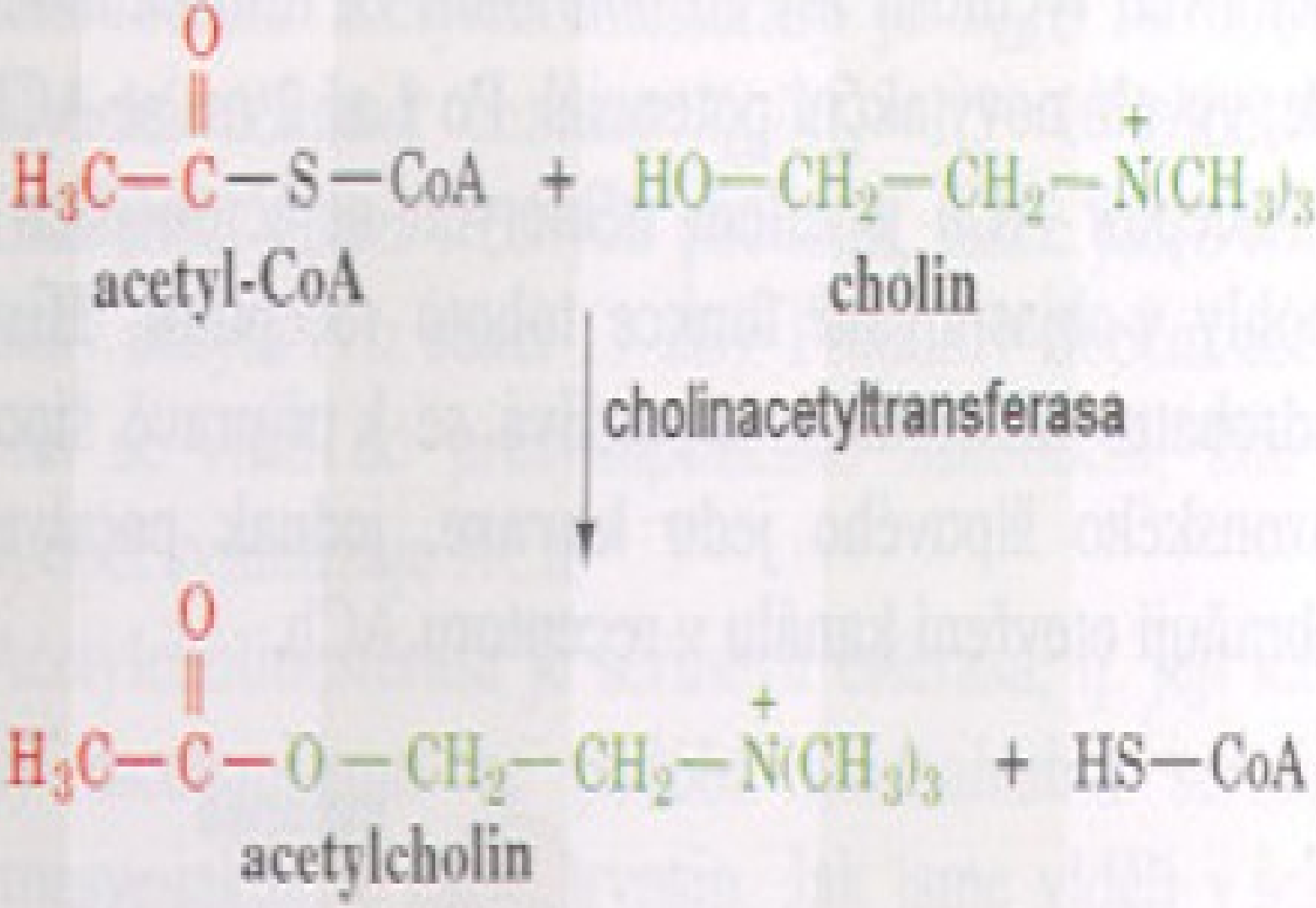
Synapse


RESTING
NERVE TERMINAL
ACTIVATED
NERVE TERMINAL
presynaptic
nerve terminal
VOLTAGE-GATED
Ca2+ CHANNEL
(closed)
neurotransmitter
synaptic
vesicle
synaptic
cleft
neurotransmitter
receptor
postsynaptic
cell
nerve
impulse
(electrical
signal)
VOLTAGE-GATED
Ca2+ CHANNEL
(open)
Ca2+
neurotransmitter
released (chemical
signal)


(b)
synaptosomy
presynaptická membrána
synaptická štěrbina
molekuly ACh
postsynaptická membrána

(a)




acetyl-CoA
cholin
cholinacetyltransferasa
acetylcholin

Imunochemie

ZÁKLADNÍ ÚKOLY IMUNITNÍHO SYSTÉMU

- OBRANA PROTI PATOGENŮ
- ODSTRAŇOVÁNÍ ABNORMÁLNÍCH BUNĚK (NÁDOROVÝCH, POŠKOZENÝCH, INFIKOVANÝCH…)

BUŇKY IMUNITNÍHO SYSTÉMU:

RŮZNÉ TYPY BÍLÝCH KRVINEK (LEUKOCYTŮ):

MONOCYTY, MAKROFÁGY, GRANULOCYTY, LYMFOCYTY…

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

ROZEZNÁVAJÍ HLAVNĚ FRAGMENTY (VNITROBUNĚČNÝCH) PROTEINŮ NA POVRCHU JINÝCH BUNĚK

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

ZNIČENÍ INFIKOVANÝCH BUNĚK

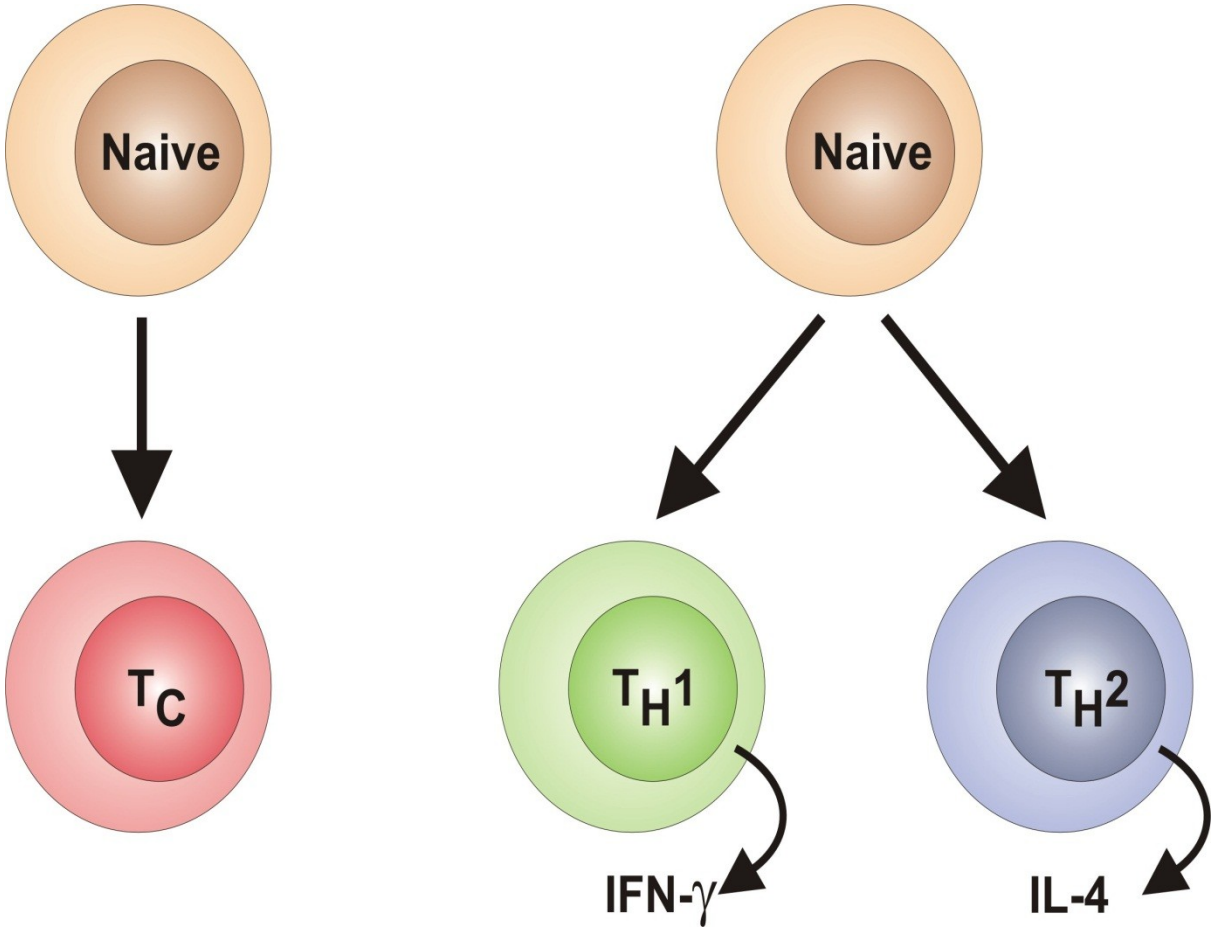
T LYMFOCYTY:

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

T_{H2} - POMOCNÉ TYPU 2 (POMÁHAJÍ JINÝM BUŇKÁM (B LYMFOCYTŮM) DĚLAT PROTILÁTKY)

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

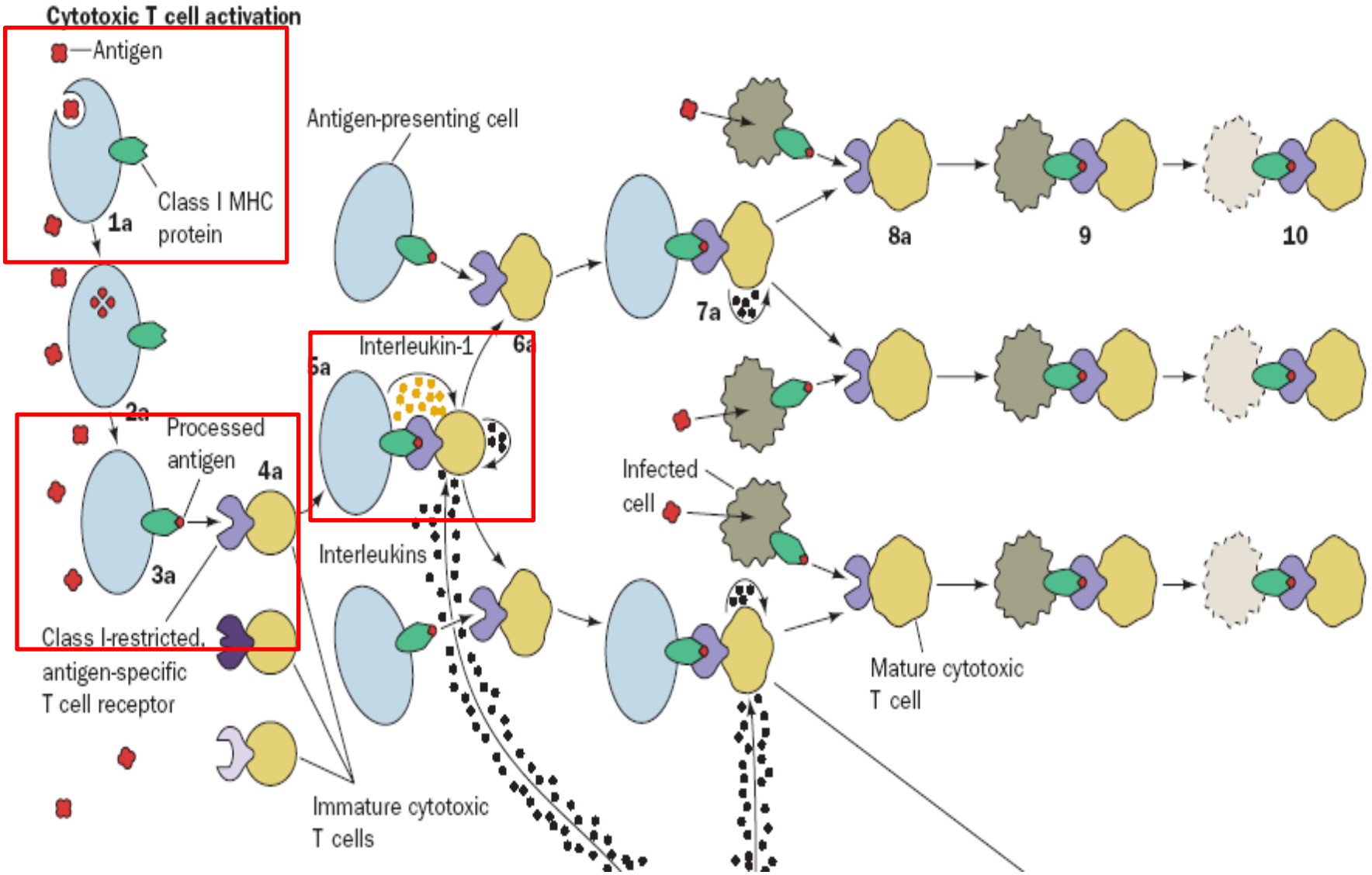
T LYMFOCYTY:
DŮLEŽITÉ FUNKČNÍ SUBPOPULACE



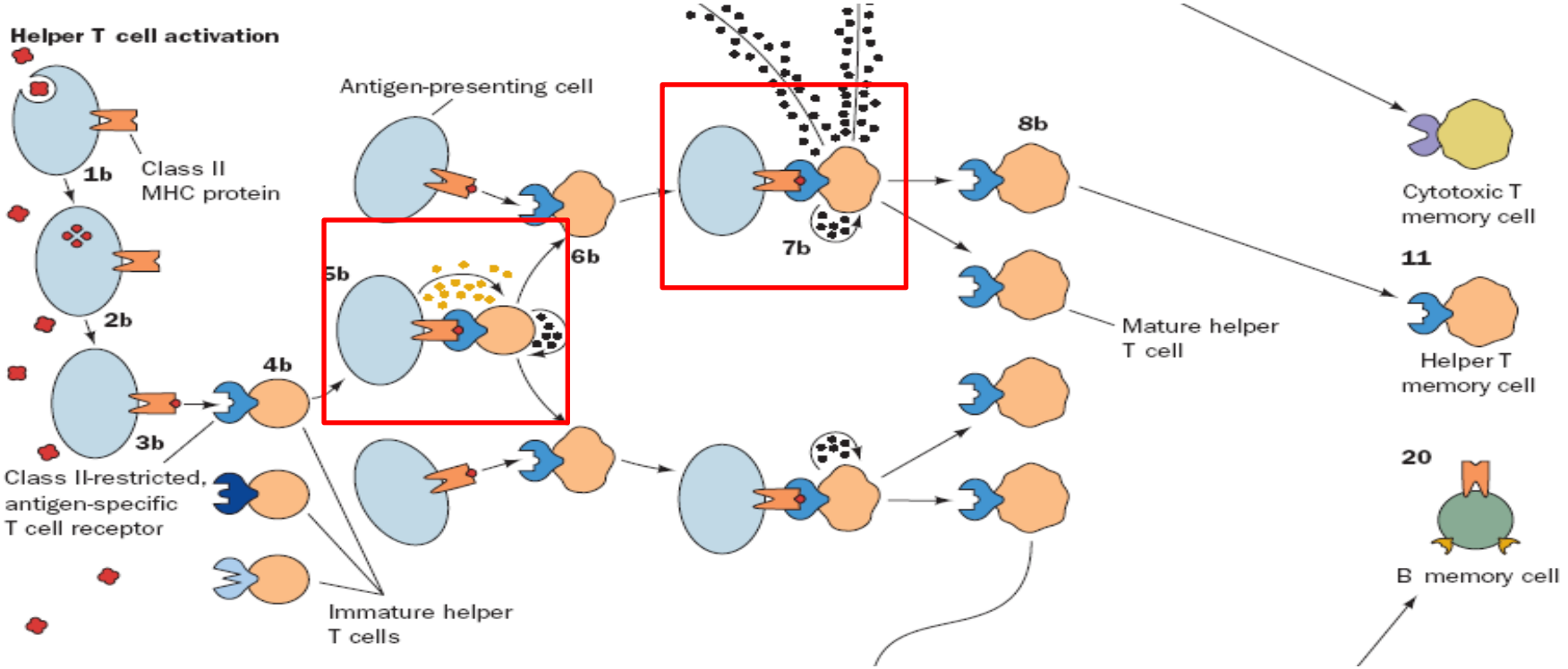
T_H T_C (B)

T_C
(killer)

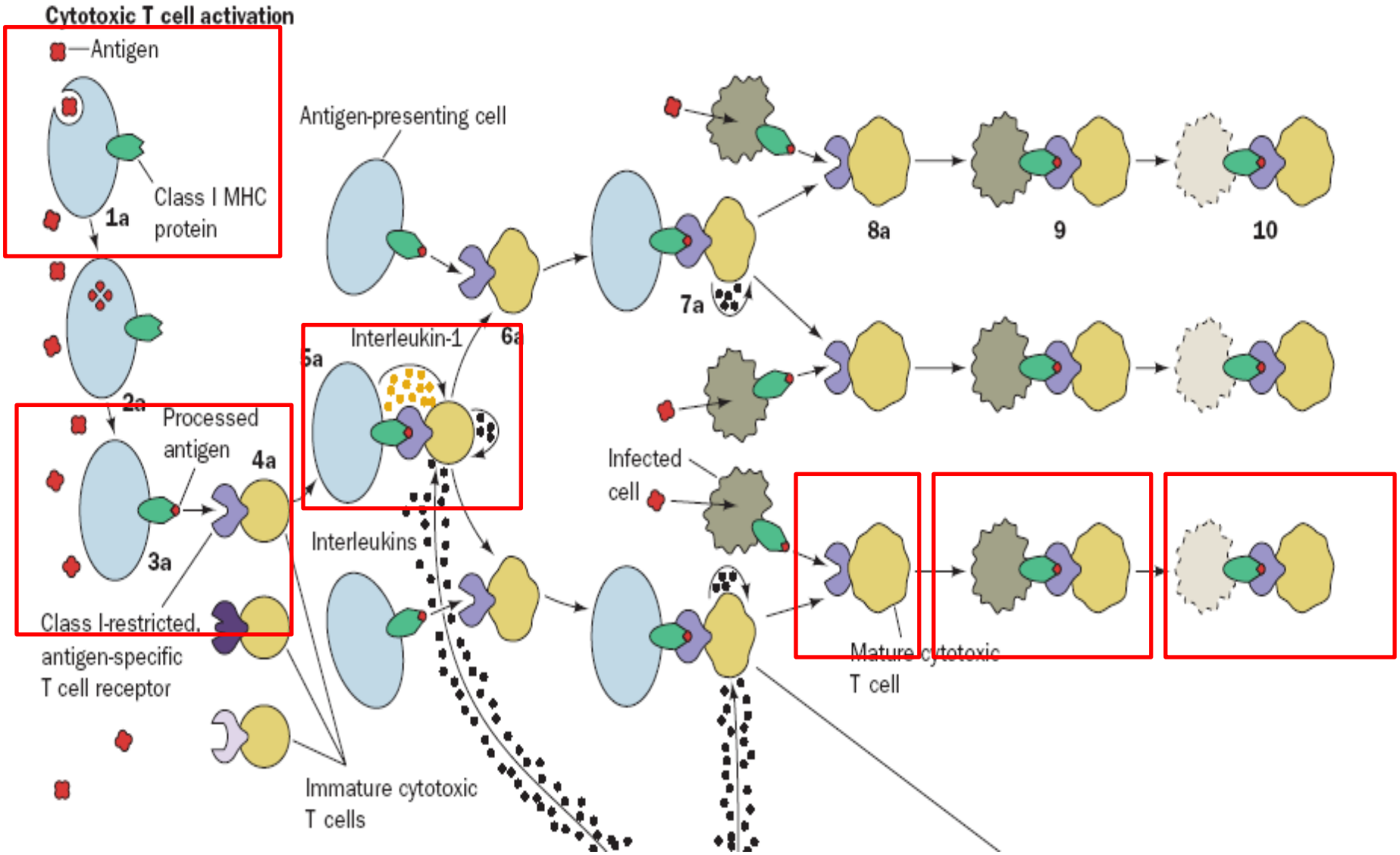
Funkce T_C


Cytotoxic T cell activation
Antigen
Class I MHC protein
1a
2a
Processed antigen
4a
3a
Class I-restricted, antigen-specific T cell receptor
Antigen-presenting cell
Interleukin-1
6a
5a
Interleukins
Immature cytotoxic T cells
7a
8a
9
10
Infected cell
Mature cytotoxic T cell

Funkce T_{H1}


Helper T cell activation
1b
Class II
MHC protein
2b
3b
4b
Class II-restricted,
antigen-specific
T cell receptor
Antigen-presenting cell
5b
6b
7b
8b
Mature helper
T cell
Immature helper
T cells
Cytotoxic T
memory cell
11
Helper T
memory cell
20
B memory cell

Funkce T_C


Cytotoxic T cell activation
Antigen
Class I MHC protein
1a
2a
Processed antigen
4a
3a
Class I-restricted, antigen-specific T cell receptor
Antigen-presenting cell
Interleukin-1
6a
5a
Interleukins
Immature cytotoxic T cells
7a
8a
9
10
Infected cell
Mature cytotoxic T cell

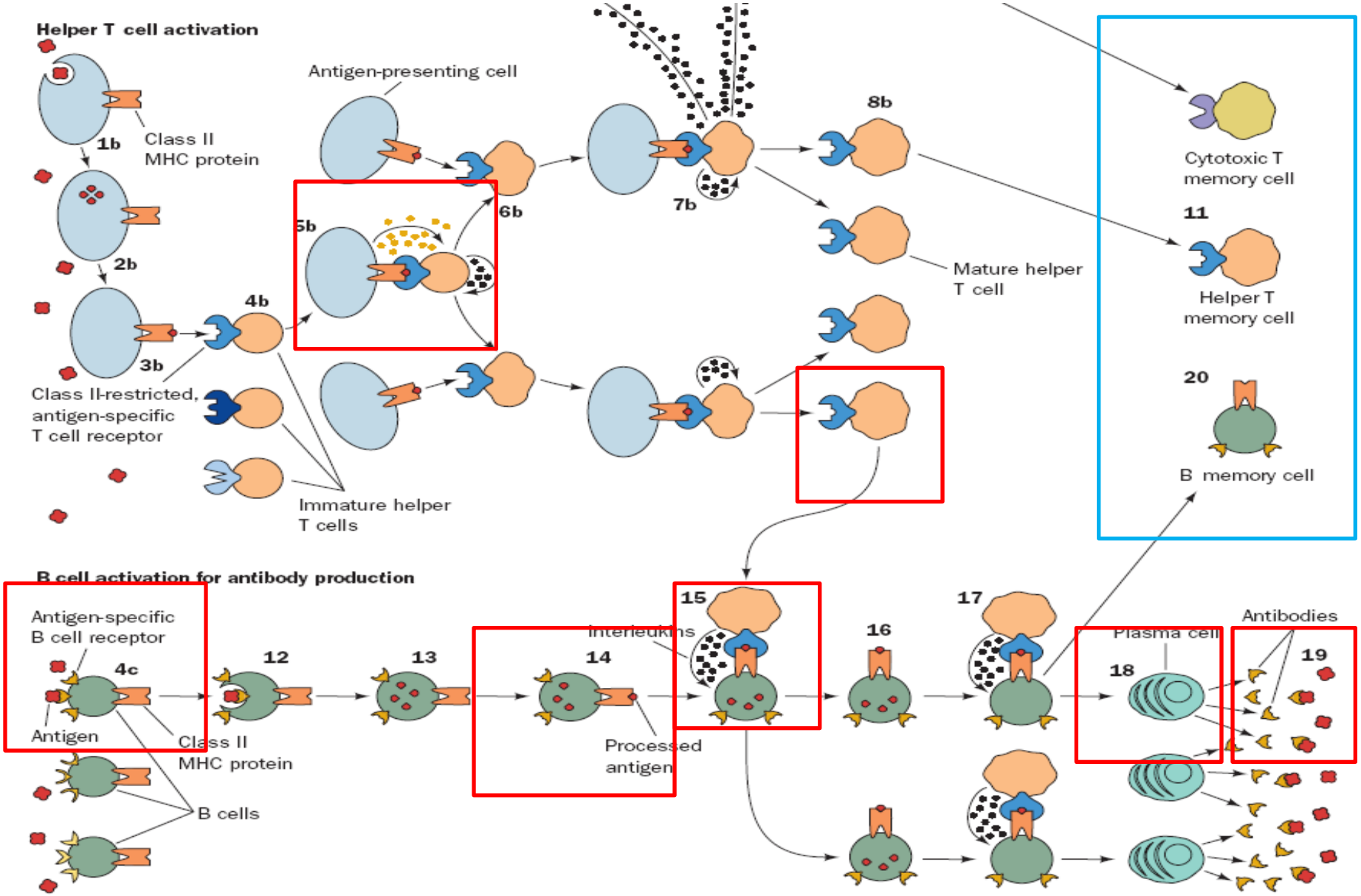
B(ones)- LYMFOCYTY:

VZNIKAJÍ V KOSTNÍ DŘENI

VYRÁBĚJÍ PROTILÁTKY (VĚTŠINOU ZA VYDATNÉ POMOCI T-LYMFOCYTŮ)

OZNAČENÍ INFIKOVANÝCH BUNĚK

Funkce T_{H2}


Helper T cell activation
1b
Class II
MHC protein
2b
3b
4b
Class II-restricted,
antigen-specific
T cell receptor
Antigen-presenting cell
5b
6b
7b
8b
Mature helper
T cell
Immature helper
T cells
Cytotoxic T
memory cell
11
Helper T
memory cell
20
B memory cell
B cell activation for antibody production
Antigen-specific
B cell receptor
4c
Antigen
Class II
MHC protein
B cells
12
13
14
Interleukins
Processed
antigen
15
16
17
Plasma cell
18
Antibodies
19

VZNIK REPERTOÁRU B LYMFOCYTŮ

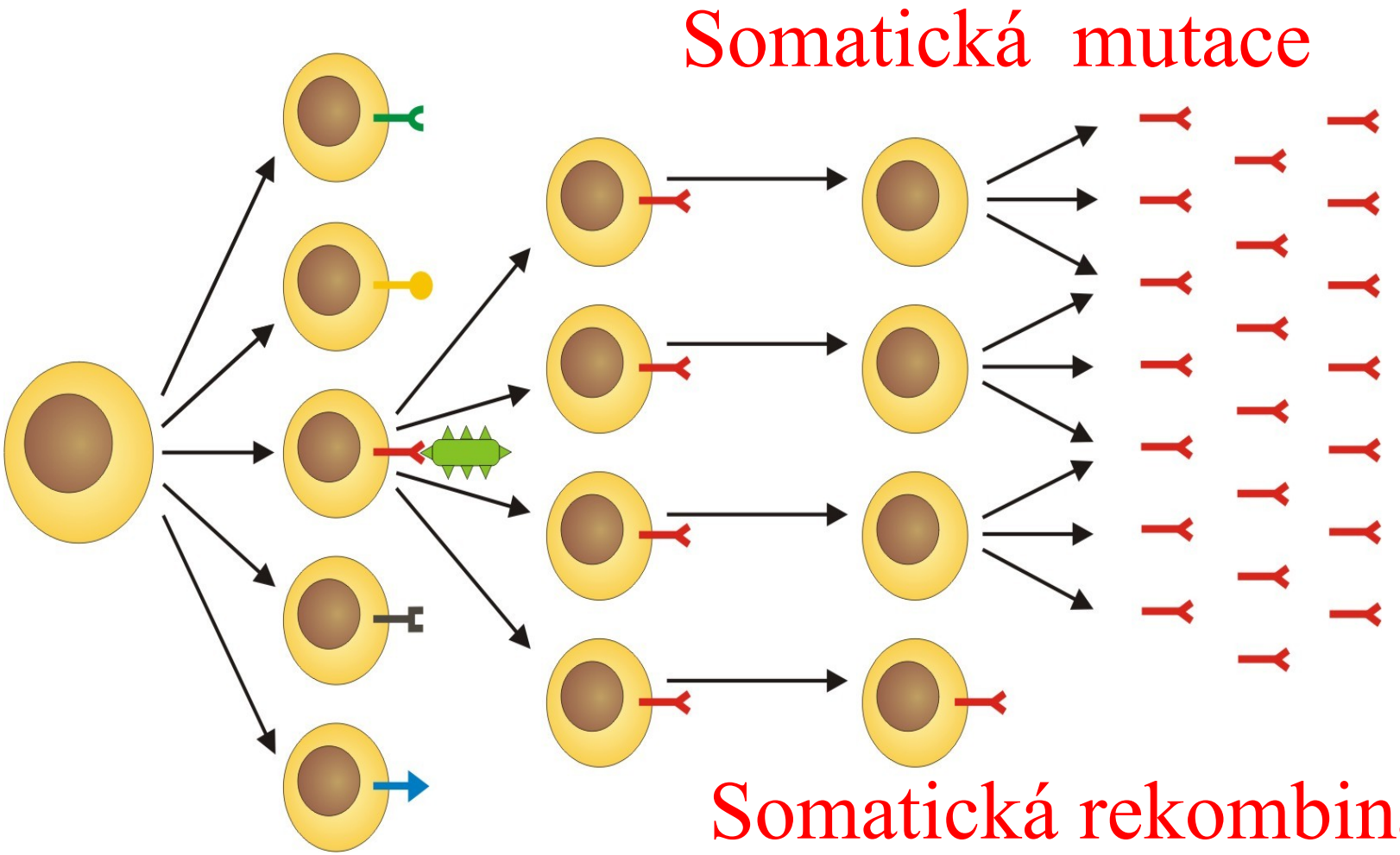


TABLE 35-2 Isotypes of Human Immunoglobulins

Class	Heavy Chain	Light Chain	Subunit Structure	Molecular Mass (kD)
IgA[b]	α	κ or λ	$(\alpha_2\kappa_2)_n J^a$	360–720
			$(\alpha_2\lambda_2)_n J^a$	
IgD	δ	κ or λ	$\delta_2\kappa_2$	160
			$\delta_2\lambda_2$	
IgE	ε	κ or λ	$\varepsilon_2\kappa_2$	190
			$\varepsilon_2\lambda_2$	
IgG[b]	γ	κ or λ	$\gamma_2\kappa_2$	150
			$\gamma_2\lambda_2$	
IgM	μ	κ or λ	$(\mu_2\kappa_2)_5 J$	950
			$(\mu_2\lambda_2)_5 J$	

Ig G(D,E)

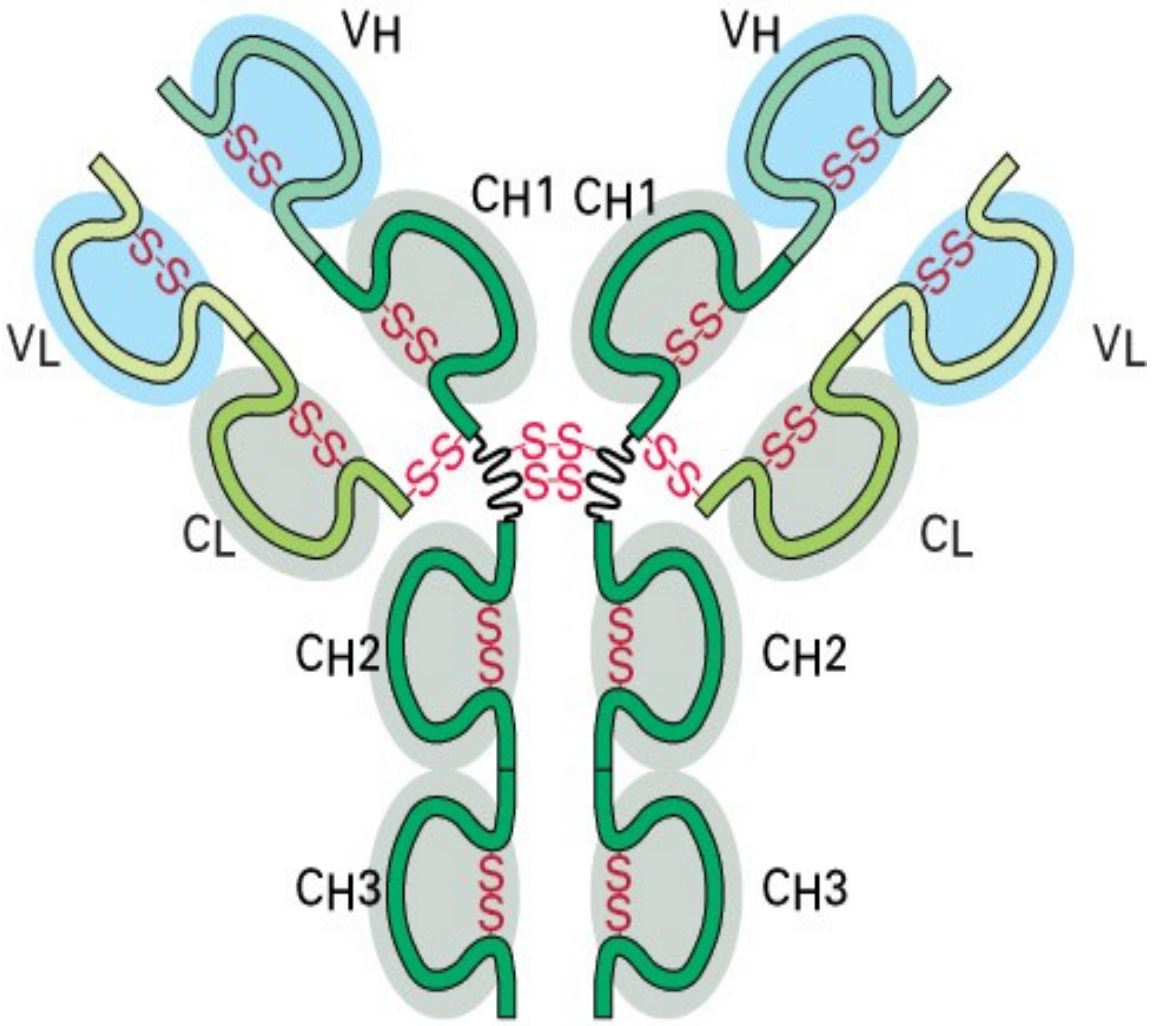


Figure 24–32. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Ig M

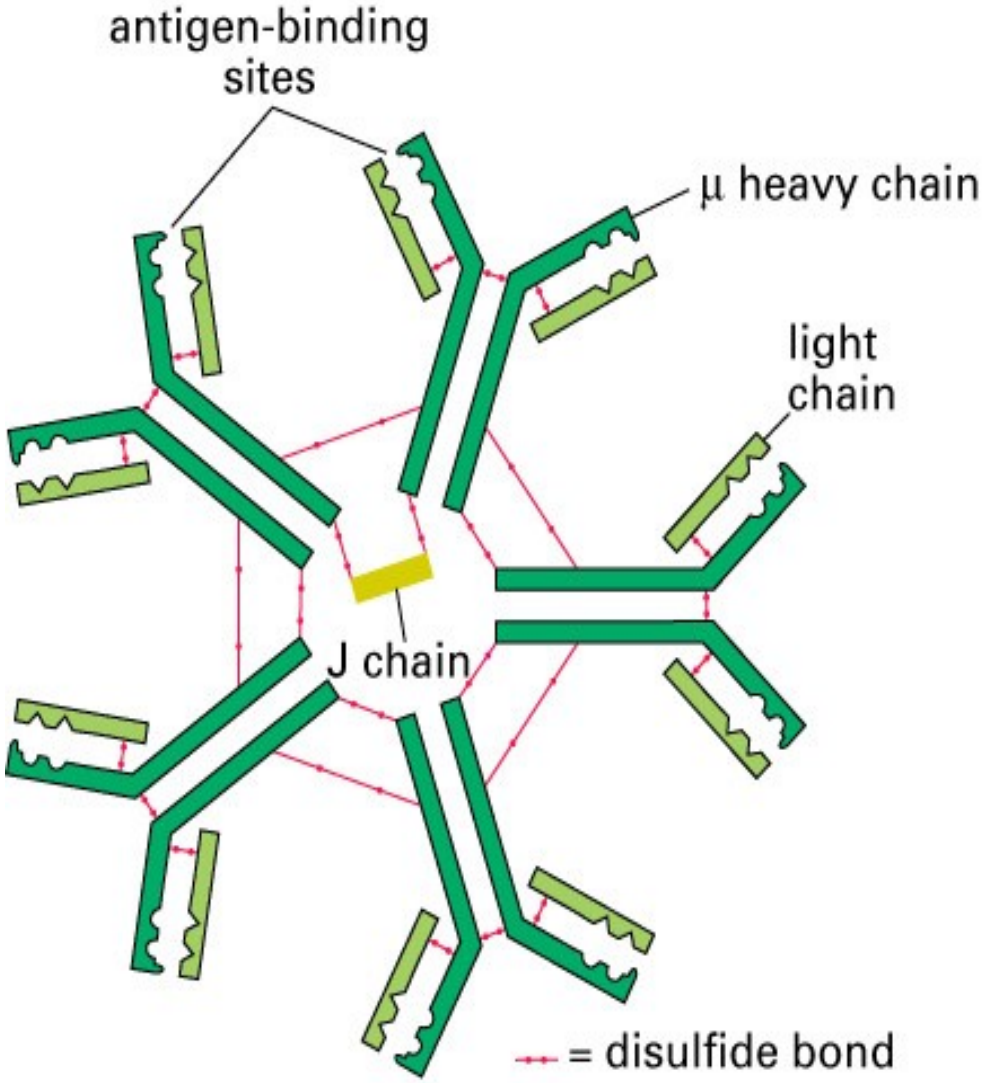
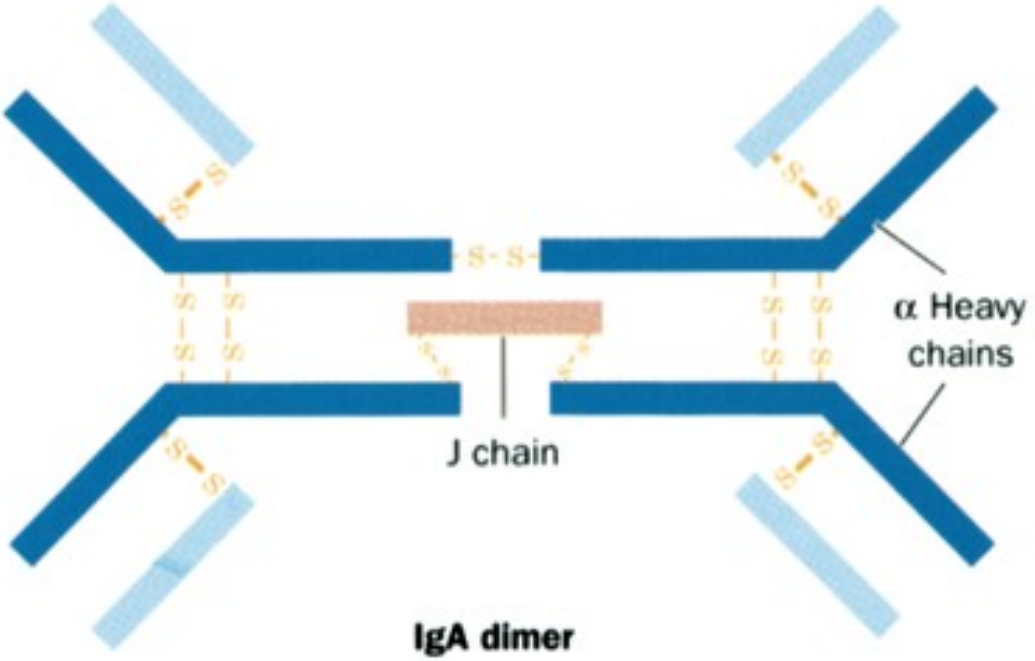


Figure 24–23. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

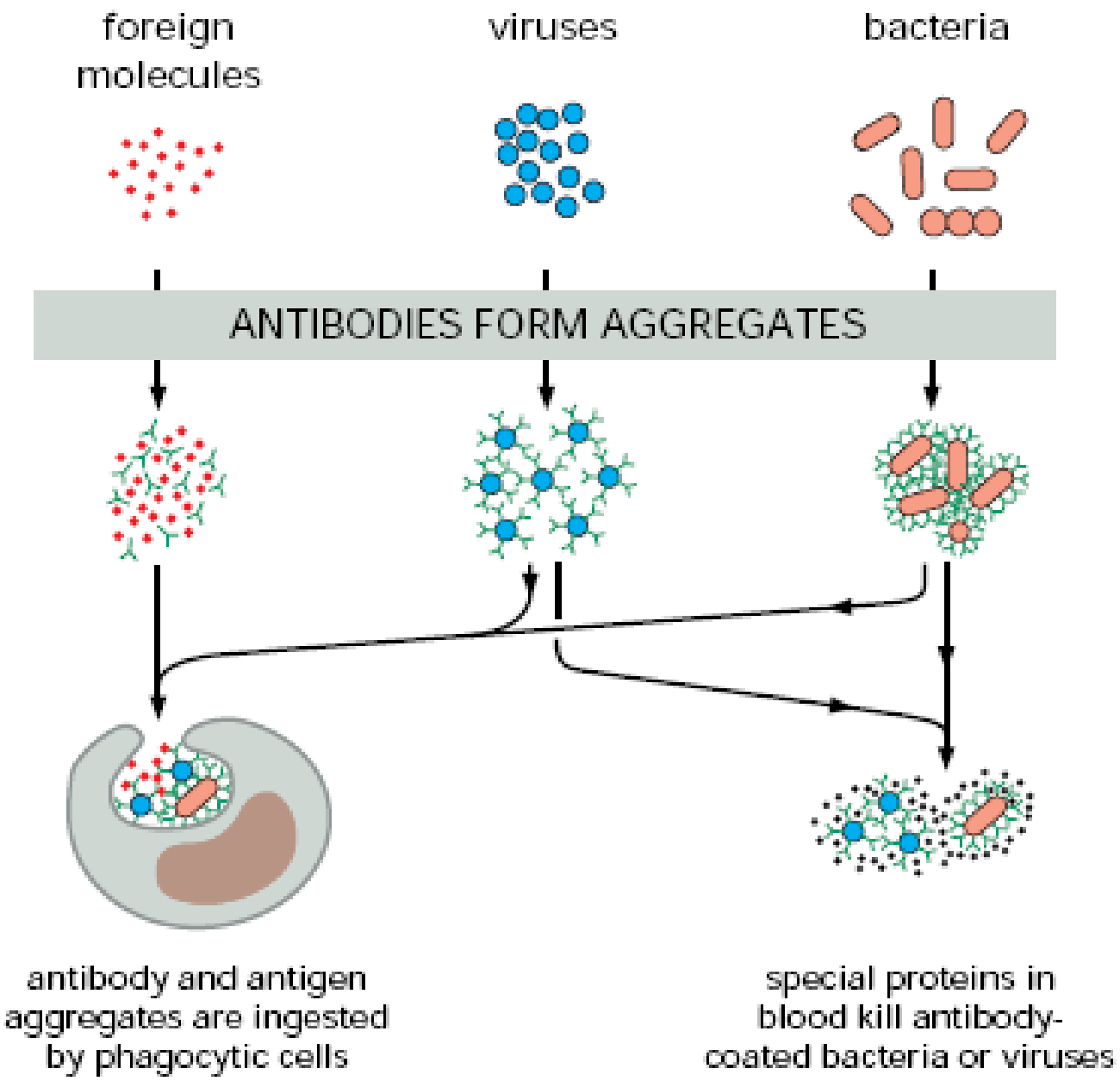
Ig A



PROTILÁTKY:

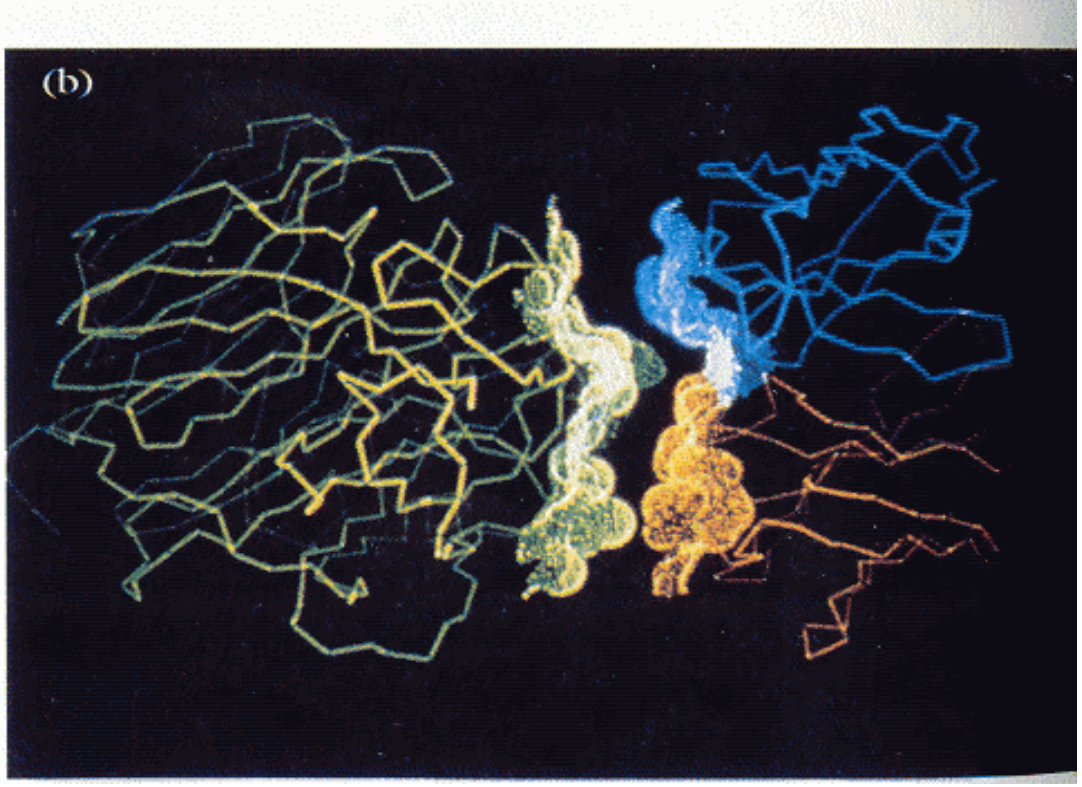
OBALÍ MIKROORGANISMY A ZNEMOŽNÍ JIM NASEDNOUT NA BUŇKY

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 → KOMPLETNÍ (funkční) IMUNOGEN

ANTIGEN → NEKOMPLETNÍ HAPTÉN

Antigen je většinou užíván ve významu kompletního antigenu

IMUNOGEN → IMUNOGENNOST

IMUNOGEN → SPECIFIČNOST

IMUNOGENNOST schopnost vytvořit imunitní odpověď (vznik protilátky)

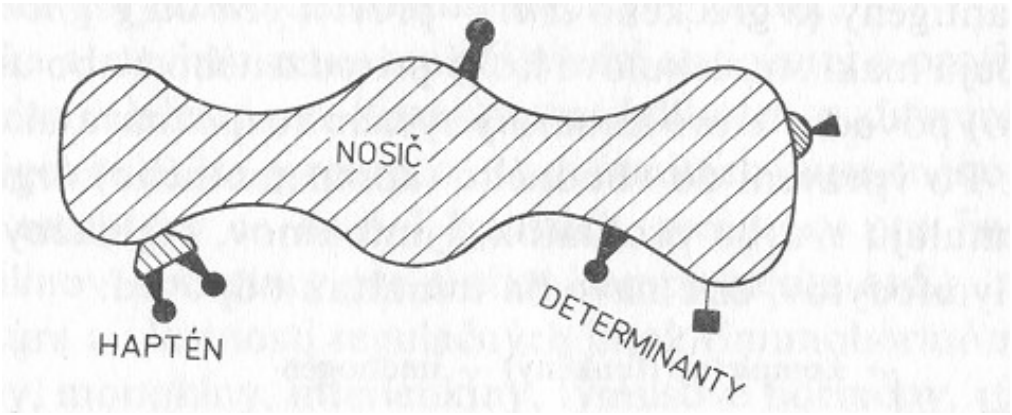
SPECIFIČNOST schopnost reagovat s těmito protilátkami, jejichž tvorbu vyvolal.
S jinými protilátkami nereaguje

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

IN VITRO

IN VIVO REAKCE

-prospěšná (vznik imunity)
-škodlivá (imunopatologická)
-indiferentní (neodpovídá)

IN VITRO REAKCE

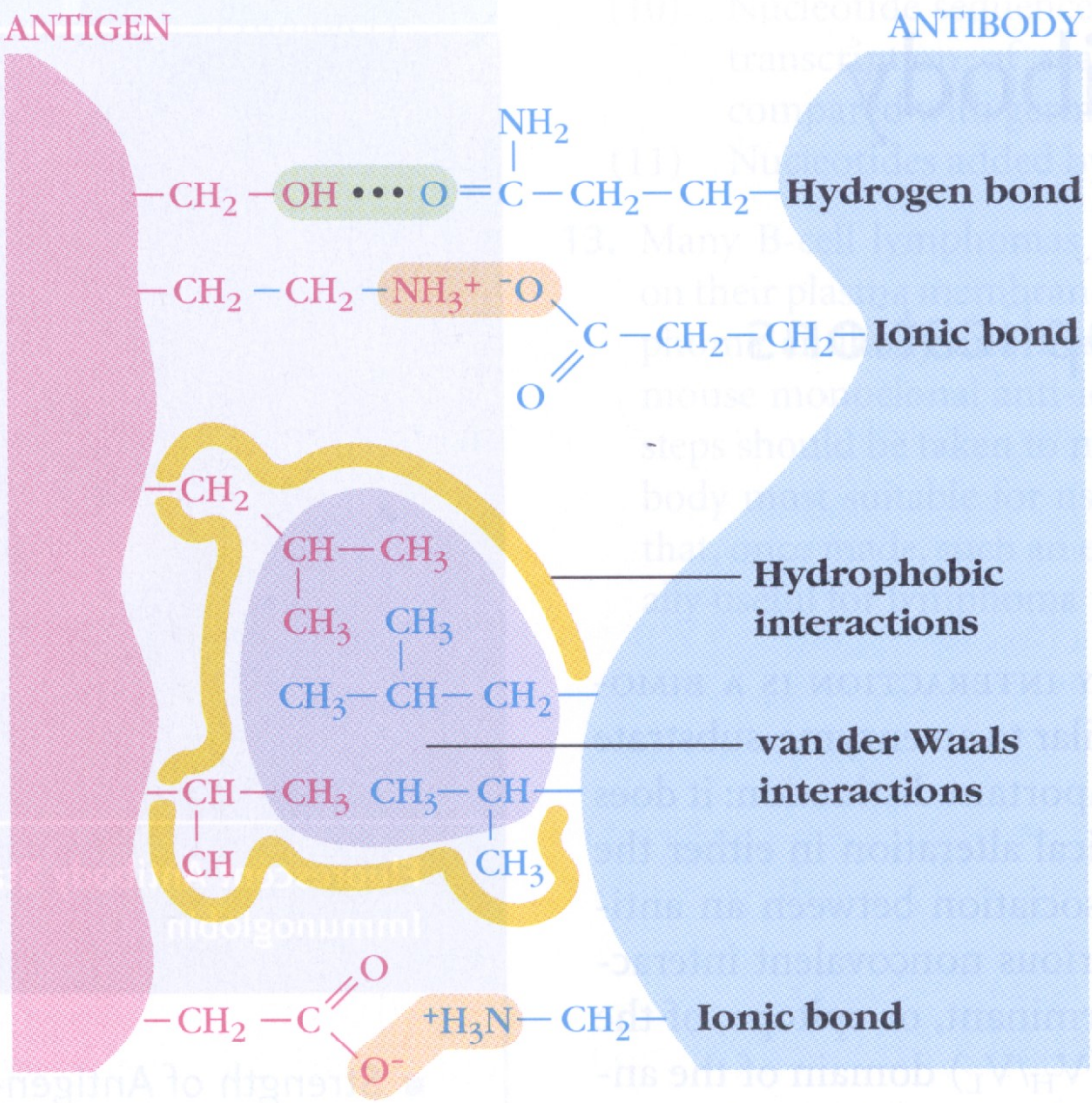
jsou základem imunochemických metod

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.

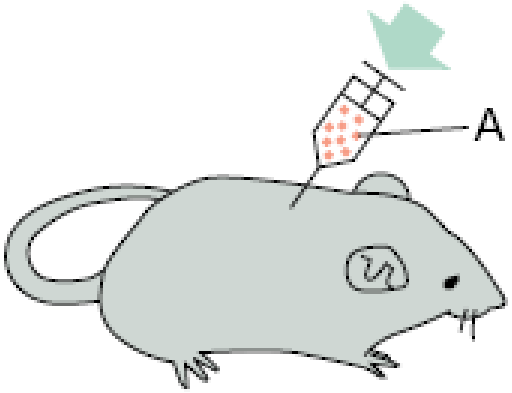
ROZDÍL: protilátky nemění strukturu antigenu irreverzibilně

SÍLY, KTERÉ SE UPLATŇUJÍ PŘI VAZBĚ ANTIGENU S PROTILÁTKOU

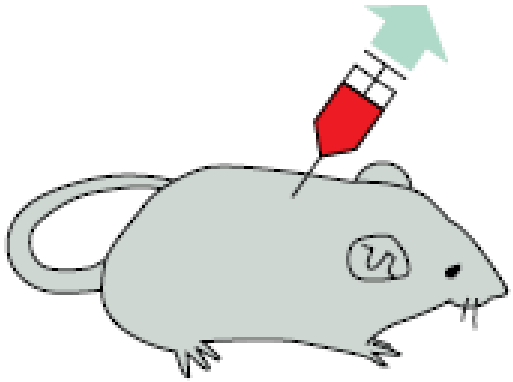
- VODÍKOVÉ VAZBY
- NEPOLÁRNÍ HYDROBÓBNÍ INTERAKCE
- COULOMBOVY SÍLY
- VAN DER WAASOVY SÍLY
- LONDONOVY DISPERZNÍ PŘITAŽLIVÉ SÍLY
- STÉRICKÉ ODPUDIVÉ SÍLY


ANTIGEN
ANTIBODY
Hydrogen bond
Ionic bond
Hydrophobic interactions
van der Waals interactions
Ionic bond

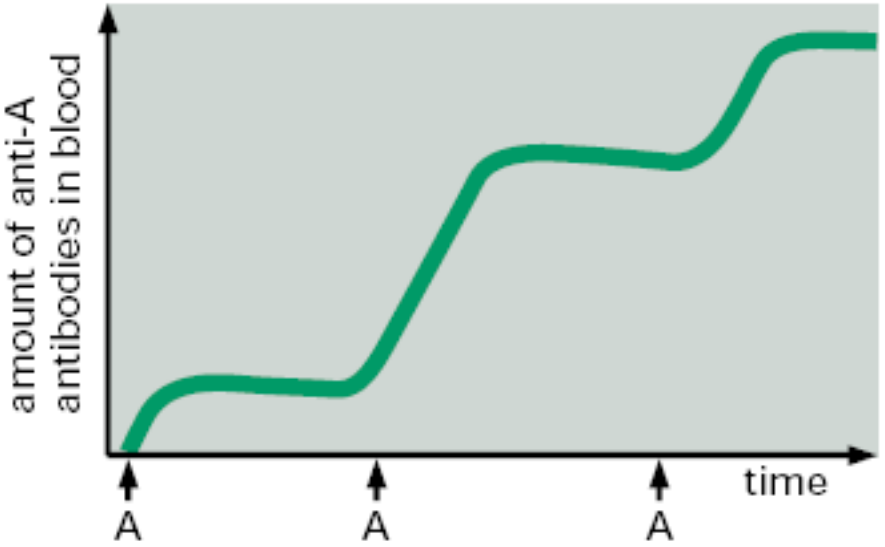
Příprava polyklonálních protilátek



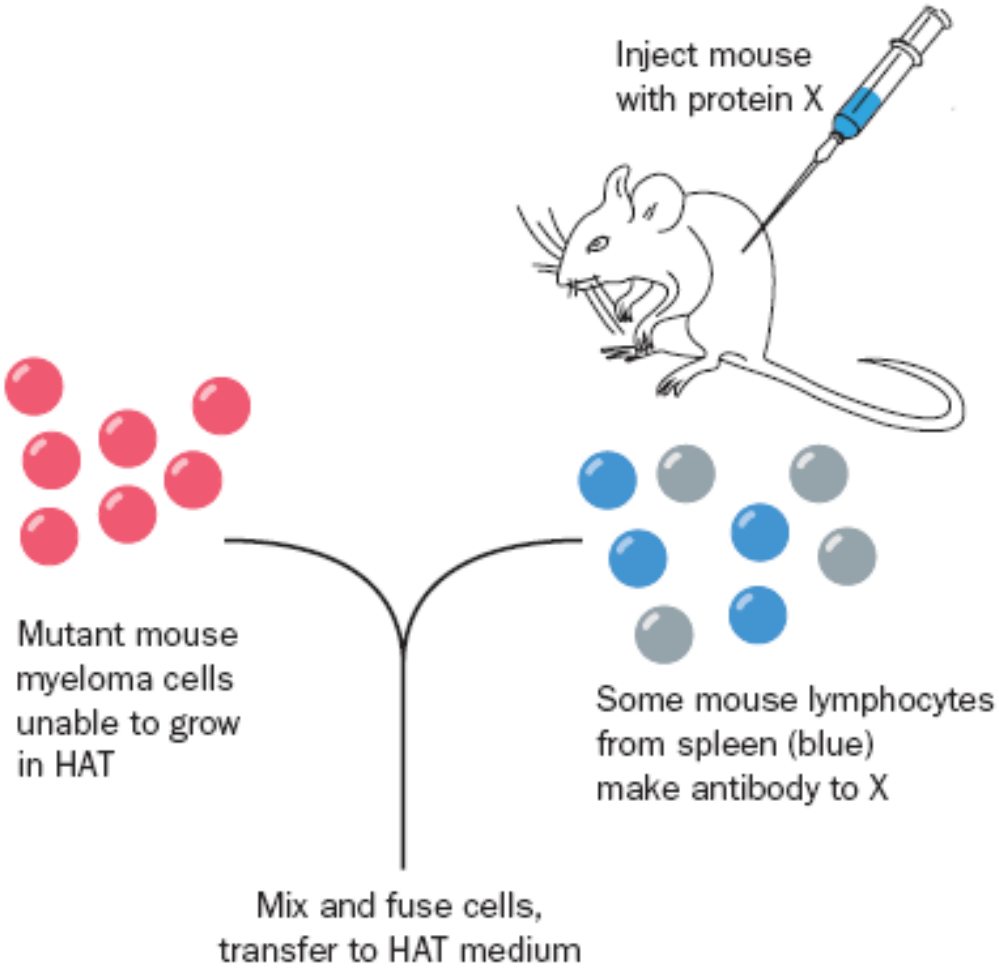
inject antigen A



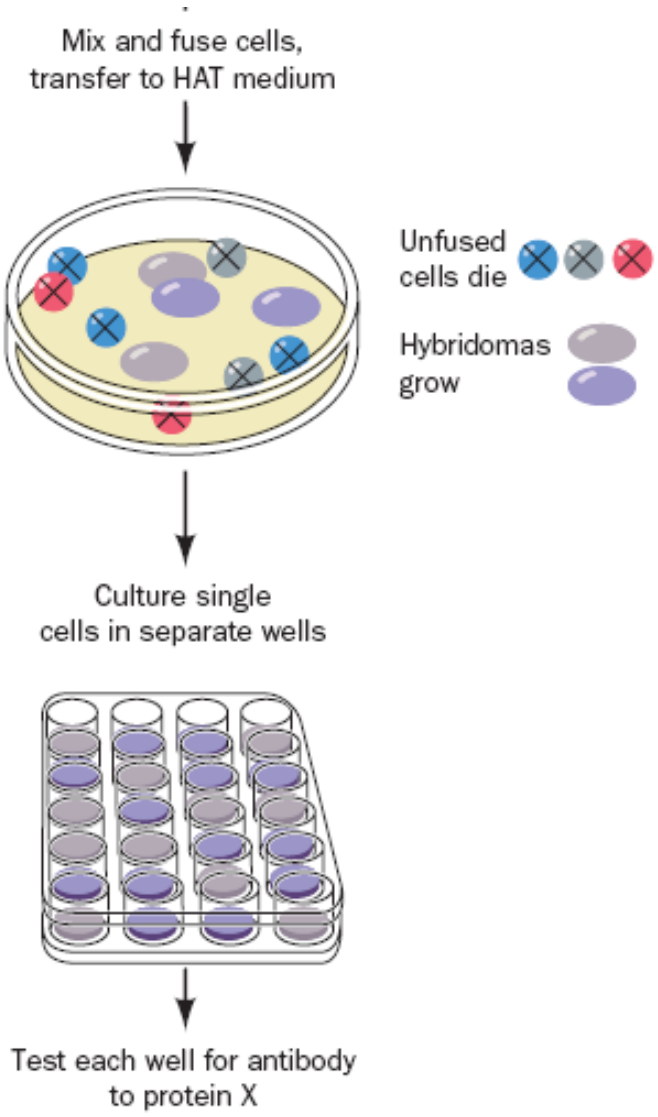
take blood later



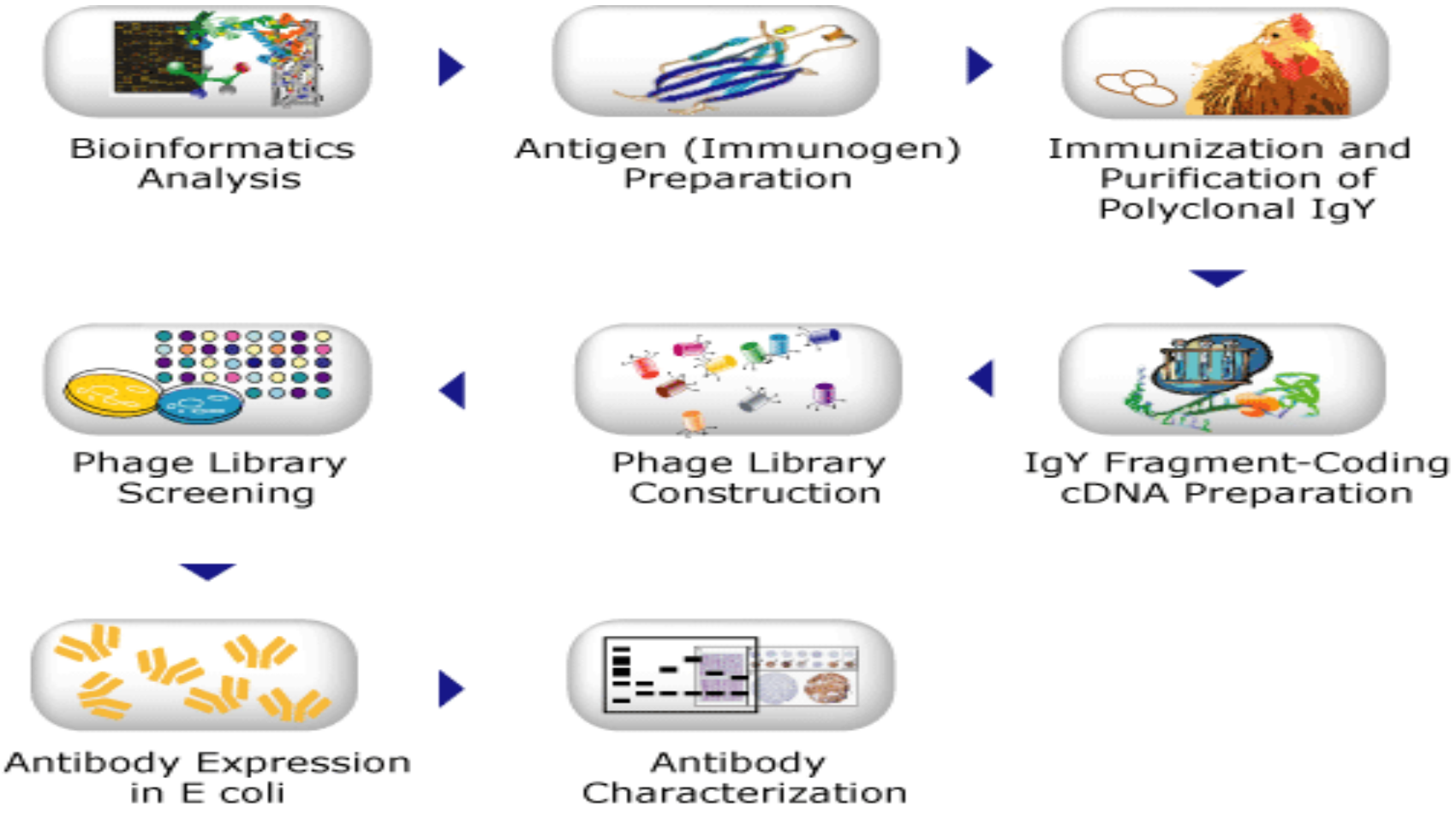
Příprava monoklonálních protilátek



Příprava monoklonálních protilátek

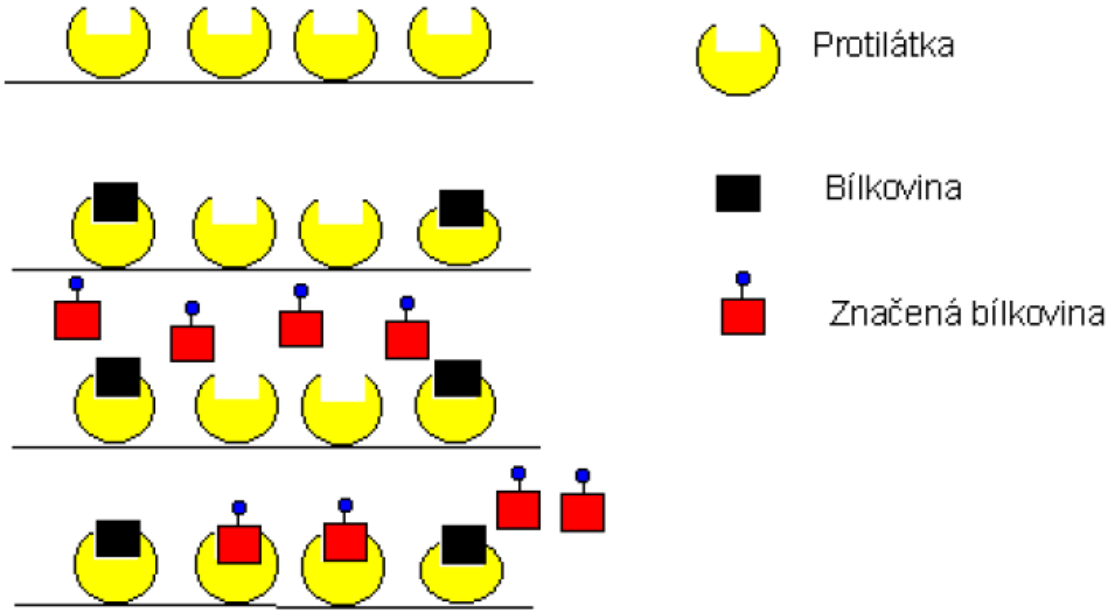


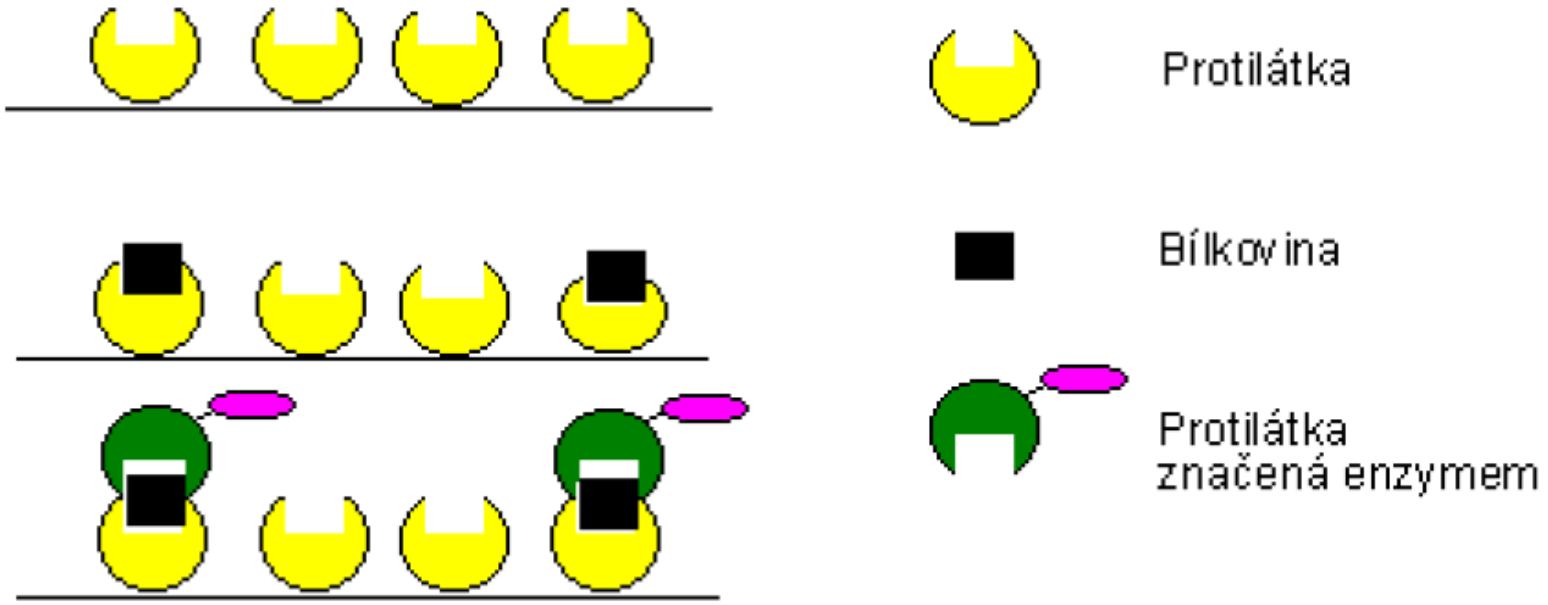
Příprava rekombinantních protilátek



Imunochemické metody

- RIA
  (radioimunoanalýza)



Imunochemické metody

- (ELISA- enzyme linked immunosorbent assay)