

B I P R O S P E C T

Dvacátý první ročník
Číslo 3/2011

Adresa společnosti: VŠCHT v Praze, Technická 3, 166 28 Praha 6, tel.: 220 443 151, fax: 233 334 769, e-mail: Danka.Pokorna@vscht.cz, IČO 00570397, číslo účtu: 19534-061/0100 Komerční banka Praha 6, Dejvická 52, SWIFT CODE: COMBCZTPP

BULLETIN BIOTECHNOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI

zakládajícího člena Českého svazu
vědeckotechnických společností
(ČSVTS)

a
člena „European Federation
of Biotechnology“ (EFB)

Redakční rada

Ing. Petra Lipovová, Ph.D.
VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6
(Editor in Chief)

Prof. Ing. Jan Káš, DrSc.
VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6

Prof. Ing. Ladislav Fukal, CSc.
VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6

Prof. Ing. Alena Čejková, CSc.
VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6
(Editor)

RNDr. Milan Fránek, DrSc.
Výzkumný ústav veterinárního lékařství
Hudcova 70, 621 32 Brno

Ing. Pavel Ulbrich, Ph.D.
VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6
(Editor)

RNDr. Vladimír Vala
Teva, Ostravská 29, 747 70 Opava

Ing. Jan Kopečný, DrSc.
(Ústav živočišné fyziologie a genetiky, AV ČR, v.v.i., Praha)

Prof. RNDr. Pavel Peč, CSc.
(Katedra biochemie, Univerzita Palackého v Olomouci)

Doc. RNDr. Petr Zbořil, CSc.
(Ústav biochemie, PřF MU, Brno)

RNDr. Ivan Babůrek, CSc.
(Ústav experimentální botaniky AV ČR, v.v.i., Praha)

Prof. RNDr. Gustav Entlicher, CSc.
(Katedra biochemie PřF UK, Praha)

Doc. Ing. Radovan Bílek, CSc.
(Endokrinologický ústav, Praha)

<http://bts.vscht.cz>

B I P R O S P E C T

21th Volume
No. 3/2011

Society address: Institute of Chemical Technology, Technická 3, 166 28 Prague 6, Czech Republic.
Tel.: 420-220 443 151, fax: 420-233 334 769, e-mail: danka.pokorna@vscht.cz, IČO 00570397,
account No.: 19534-061/0100 Komerční banka Praha 6, Dejvická 52, SWIFT CODE: COMBCZTPP

BULLETIN OF CZECH BIOTECHNOLOGY SOCIETY

member of European Federation
of Biotechnology

SUMMARY

Bioprospect, the bulletin of the Biotechnology Society is a journal intended to inform the society members about the most recent developments in this field. The bulletin should supply the vitally important knowledge directly to those who need it and to those who are able to use it properly. In accordance with the rules of the Society, the Bulletin also deals with both theoretical and practical questions of biotechnology. Articles will be published informing about the newest theoretical findings, but many planned papers are devoted to fully practical topics. In Czech and Slovak Republic there is a growing gap between basic research and production. It is extremely important to reverse as soon as possible the process of further opening of the scissors, and we hope the Bulletin will help in this struggle by promoting both

research and practice in our biotechnology. The Bulletin should facilitate the exchange and targeted delivery of information. In each issue there will be advertisements of products such as chemicals, diagnostics, equipment and apparatus, which have already appeared on the Czech and Slovak market, or are projected enter it. Services, free R&D or production facilities can also be advertised. The editorial board, together with the executive committee of the Biotechnology Society, hope that maybe some information published in the Bulletin, or some new contacts based on it, will give birth to new cooperations with domestic or foreign research teams, to collaborations, joint ventures or strategic alliances providing access to expertise and financing in international markets.

The editorial board invites all of You, who are involved in the field called biotechnology, and who are seeking contacts in Czech and Slovak Republic, to advertise in the Bulletin BIOPROSPECT, which is mailed directly to more than one and a half thousand Czech and Slovak biotechnologists.

For more information contact the editorial board or directly:

Petra Lipovová, PhD. (editor in chief)
ICT, Technická 3
166 10 Prague 6, Czech Republic
Phone +420 220 443 028
e-mail: petra.lipovova@vscht.cz

ÚVODEM

Vážení přátelé,

jak všichni dobře víte, ve dnech 15. – 17. června 2011 proběhlo v Národní technické knihovně v Praze biotechnologické symposium Biotech 2011 společně s 5. Česko-švýcarským symposiem. Symposium bylo velmi úspěšné a bylo podpořeno řadou spolupracujících organizací a průmyslových podniků. O jeho průběhu přinášíme v tomto čísle podrobnou zprávu. Zájemci o prezentované přednášky a postery mohou nahlédnout do knihy abstrakt (ISBN 978-80-7080-782-8). Atmosféru symposia připomene účastníkům a přiblíží ostatním zájemcům řada fotografických snímků, které jsou k nahlédnutí a případnému stažení na webových stránkách www.olymparchiv.rajce.net/Biotech i na webových stránkách symposia (www.biotech2011.cz), které zůstávají v provozu a jsou i aktualizovány. K dispozici je i videozáznam zahajovacího dne symposia.

Ihned po pražském symposiu následovalo ve dnech 19. – 22. června 2011 postsymposium Olomouc Biotech 2011 organizované našimi partnery z Centra pro biotechnologický a zemědělský výzkum regionu Haná a Palackého univerzity v Olomouci. Toto symposium bylo specializované na rostlinné biotechnologie. O jeho průběhu přinášíme v tomto čísle Bioprospectu rovněž podrobnou zprávu. Zájemci o abstrakta přednesených přednášek a prezentovaných posterů mohou nahlédnout do knihy abstrakt (ISBN 978-80-254-9794-4).

Vybrané přednášky z obou symposií budou publikovány ve vysoce impaktovaném časopise *Biotechnology Advances*, vydávaném nakladatelstvím Elsevier a přístupném na webovém portálu Science Direct.

V podzimním období Vás zveme na konferenci ANAEROBIE 2011, která se bude konat 14. – 15. září 2011 v KD Družba Klatovy. Tématem konference jsou anaerobní biotechnologie zpracování kalů a organických odpadů s energetickým využitím, více na <http://www.czwa.cz>.

Rádi bychom Vás upozornili na dvě významné biotechnologické publikace. První z nich je monografie Klause Buchholze a Johna Collinse: *Concepts*

in Biotechnology (History, Science and Business) vydaná nakladatelstvím WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA (www.wiley-vch.de). Kniha je rozdělena do tří částí. První se podrobně zabývá historií biotechnologií, druhá část nazvaná „The New Paradigm Based on Molecular Biology and Genetics“ se v zásadě zabývá základy biotechnologií, snaží se vymezit jejich aplikační oblasti a nezapomíná ani na etické aspekty a problematiku intelektuálního vlastnictví. Třetí část je věnována konkrétním aplikacím. Je sice dobře napsána, ale rozhodně není vyčerpávající. V každém případě je to kniha zajímavá, která stojí za přečtení a doporučil bych ji i jako výukový materiál. Druhá doporučená publikace má jiný charakter. Je to rozsáhlé šestičlenné kompendium vydávané již ve druhé aktualizované edici nakladatelstvím Elsevier (www.elsevierdirect.com/biotechnology). Hlavním editorem „Comprehensive Biotechnology“ je profesor prestižní kanadské university ve Waterloo Murray Moo-Young, který byl i účastníkem obou našich symposií. Editory jednotlivých dílů jsou další významné vědecké osobnosti. Názvy jednotlivých dílů jsou *Scientific Fundamentals of Biotechnology*, *Engineering Fundamentals of Biotechnology*, *Industrial Biotechnologies and Commodity Products*, *Agriculture and Related Biotechnologies*, *Medical Biotechnology and Healthcare* a *Environmental Biotechnology and Safety*. Všechny díly kompendia jsou vzájemně propojeny křížovými odkazy. Kompendium bude k dispozici jak v elektronické, tak i tištěné formě. Tištěná forma (ISBN 978044453524) bude k dispozici jen po omezenou dobu. Z toho je vidět, že se předpokládá, že bude větší zájem o elektronickou formu než o tištěnou. Elektronická forma je uváděna na trh pod ISBN 9780080885049.

Těšíme se na Vaše příspěvky pro další čísla Bioprospectu a Vaší účast na našich akcích.

S pozdravy Vaši
Jan Káš a Petra Lipová

V období od 15. do 17. června 2011 organizovala naše společnost s FPBT VŠCHT v Praze za součinnosti s partnery z České republiky a Švýcarska (viz níže uvedená loga partnerů) biotechnologické symposium Biotech 2011, které bylo současně již 5. Česko-švýcarským symposiem. Symposium se konalo v Národní technické knihovně v Praze-Dejvicích, přičemž přednášky zvaných hostů se uskutečnily v Ballingově sále. Ještě před vlastním zahájením symposia se uskutečnil seminář „Jak psát vědecké články, aby byly přijaty k publikaci v renomovaných časopisech“. Organizátoři na něm umožnili účast všem zájemcům, tedy i těm, kteří se nezúčastnili symposia. Úvodní přednášku přednesl Anthony Newman, redaktor nakladatelství Elsevier. O seminář byl velký zájem.

Oficiální zahájení symposia mělo slavnostní ráz. Účastníky pozdravili významní hosté. Úvodní slovo pronesl rektor VŠCHT v Praze profesor Josef Koubek, který připomněl dlouholetou spolupráci mezi českými a švýcarskými chemiky, naznačil současný profil VŠCHT a podpořil konání takových akcí jako je právě zahajované symposium. Druhým významným řečníkem byl, jeho excellence André Regli, velvyslanec Švýcarska v České republice, který vyslovil potěšení nad úzkou spoluprací českých a švýcarských biotechnologů, českých a švýcarských biotechnologických společností a popřál účastníkům úspěšný průběh symposia. Pan velvyslanec se zúčastnil celého zahajovacího jednání i neformálních rozhovorů s účastníky po jeho skončení. Třetím významným hostem byl PhDr. Ondřej Balatka Ph.D., radní Prahy 6, který pozdravil účastníky symposia v zastoupení pí. starostky Ing. Marie Kousalíkové, vyjádřil potěšení nad pořádáním tohoto symposia na území Prahy 6 a popřál účastníkům příjemný pobyt v Praze.

Po oficiálních projevech byli účastníci symposia seznámeni se stavem biotechnologií ve Švýcarsku a v České republice. Zprávu o biotechnologiích ve Švýcarsku přednesl za Švýcarskou biotechnologickou asociaci Dr. Hans-Peter Meyer. Situaci v České republice postupně demonstrovali Ing. Martin Partl (CzechInvest), Mgr. Marek Polach (CzechBio) a Doc. Ing. Martin Fusek, CSc. (MedChemBio).

Slavnostní zasedání zakončila plenární přednáška RNDr. Marka Minárika, Ph.D. (fy. Genomac), která se zabývala analýzou individuálních lidských genomů.

Následující „Welcome Party“, která se uskutečnila v prostorné galerii Národní technické knihovny, byla příležitostí pro rozhovory mezi známými z předchozích česko-švýcarských symposií a k navázání nových kontaktů. Večer byl zakončen diskusí u kulatého stolu

mezi českými a švýcarskými účastníky symposia a jejich hosty („Czech-Swiss partnership“).

Následující dva dny byly nabity přednáškami, diskusemi u posterů a dvěma workshopy. Ve čtyřech sekcích (Biotechnologie ve farmacii, Biotechnologie ve výživě, Biotechnologie pro udržitelný rozvoj a Nové přístupy v bioprocesech) bylo předneseno 25 zvaných přednášek řečníky z České republiky, Švýcarska, Německa a Kanady). Téma rostlinných biotechnologií bylo rezervováno pro postsymposium v Olomouci, které ve dnech 19. – 22. června 2011 zorganizovalo nově vytvořené Centrum regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum. Zpráva o průběhu tohoto symposia je uvedena dále.

Vybrané přednášky z obou symposií budou publikovány v prestižním časopise *Biotechnology Advances*.

Na vědeckém programu pražského symposia se podílelo 135 účastníků z 19 zemí (mimo VIP hostů a vystavovatelů), z nichž zhruba 50 % tvořili účastníci z České republiky, 20 % ze Švýcarska a 30 % z ostatních zemí (Alžírsko, Belgie, Brazílie, Německo, Itálie, Kanada, Mexiko, Moldavie, Uzbekistan, Rumunsko, Saudská Arábie, Srbsko, Jižní Korea, Španělsko, Thajsko a Nizozemí). Několik přihlášených zájemců z dalších zemí se nemohlo zúčastnit, protože nedostali vstupní víza, což nám bylo líto.

Na symposiu byl presentován neočekávaně vysoký počet 80 posterů. Díky vstřícnosti našich partnerů se nám podařilo nejlepší postery ocenit. Presentované postery byly rozděleny do dvou kategorií.

V seniorské kategorii byly uděleny následující 3 ceny:

Golden Award (sponzorovala fy. Lonza Biotec) obdržel Dominik Lüthy, Zurich University of Applied Sciences, Švýcarsko za poster „Novel approaches to the design of processes for enzyme production with recombinant *Pichia pastoris*“.

Silver Award (sponzorovala fy. Unimills) obdržela Teresa Gervasi, University of Messina, Itálie za poster „Development of probiotics to combat *Clostridium perfringens*“.

Bronze Award (sponzorovala fy. Zentiva/Sano-fiaventis) získal Jiří Kučera, Masarykova universita v Brně, Česká republika za poster „Anaerobic ferric iron reduction by acidophilic biomining bacteria“.

V juniorské kategorii (PhD studenti) byly uděleny 3 ceny sponzorované fy. Sigma-Aldrich (poukázky na nákup výrobků Sigma-Aldrich) a 3 ceny sponzorované nakladatelstvím Elsevier (knihy s biotechnologickou tematikou).

Ceny od fy. Sigma-Aldrich obdrželi:

Gita Procházková, VŠCHT v Praze za poster "Magnetite: the promising agent for harvesting *Chlorella vulgaris*".

Petra Junková, VŠCHT v Praze za poster "The role of Mason-Pfizer monkey virus matrix protein in virion budding".

Ondřej Staněk, Mikrobiologický ústav AV ČR, Praha za poster "A novel tool for induction of specific T cell immune responses: Complexes of steptavidin-fused antigen with bionylated antibodies targeting endocytic receptors of antigen presenting cells".

Ceny od nakladatelství Elsevier obdrželi:

Petr Hyka, Zurich University of Applied Science, Švýcarsko za poster "Current opportunities for flow cytometry-based methods in monitoring and development of bioprocesses with microalgae".

Ilona Bíbová, VŠCHT v Praze za poster "Application of quantitative PCR in tuberculosis diagnostic".

Rafeek Shaikh, Zurich University of Applied Sciences, Švýcarsko za poster "Monitoring of protein glyco-forms built during a high cell density process with recombinant *Pichia pastoris*".

Během posledního dne symposia byly ještě organizovány dva zajímavé workshopy. První "Exchange opportunities for biotechnology students in Switzerland and the Czech Republic" byl organizován na podporu možnosti biotechnologického studia v partnerské zemi a byl podpořen zejména vysokými školami (VŠCHT a ZHAW) a také asociací biotechnologických společností v ČR CzechBio.

Druhý workshop "Workshop on industry-academia relationship and job opportunities" byl organizován s cílem umožnit komunikaci mezi vysokými školami a biotechnologickými organizacemi reprezentovanými především jejich personálními pracovníky a samozřejmě umožnit studentům, účastníkům symposia, se seznámit s pracovními příležitostmi v biotechnologických společnostech.

Pro účastníky symposia byl připraven i další program, a to prohlídka večerní Prahy a zejména exkurse do biotechnologické továrny Lonza Biotech v Kouřimi, která byla spojena i s návštěvou Kutné Hory.

Úspěšný průběh symposia byl umožněn díky jeho organizátorům, zájmu a podpoře všech partnerů, podpoře a porozumění účastníků symposia i vzorným přístupem dodavatelů služeb, zejména pracovníků Národní technické knihovny, dodavatele gastronomických služeb i tiskárny Venice Praha s.r.o. Závěrem této krátké zprávy o průběhu našeho symposia bych chtěl všem zmíněným poděkovat a vyslovit přesvědčení, že se opět sejdem na dalším symposiu.

Zájemci si mohou přečíst některé ohlasy na naše symposium na následujících internetových odkazech:

http://www.biotech.net.ch/&c=news&news_id=35#35

<http://www.swissbiotech.org/php5/aa2/index.php?id=320234>

http://www.myscience.ch/wire/institut_fuer_biotechnologie_der_zhaw_praesentiert_sich_in_prag-2011-zhaw

<http://www.lsfm.zhaw.ch/de/science/ueber-uns/aktuelles/medien/medien-detail/news/institut-fuer-biotechnologie-der-zhaw-praesentiert-sich-in-prag.html>

Některé okamžiky symposia jsou zachyceny na DVD a též na fotografiích, které jsou volně ke stažení na adrese:

http://olymparchiv.rajce.idnes.cz/Biotech_15.6.2011/

http://olymparchiv.rajce.idnes.cz/Biotech_16.6.2011/

http://olymparchiv.rajce.idnes.cz/Biotech_17.6.2011/

Předpokládáme, že některé odkazy a zprávy dáme postupně na náš původní symposiální web.

Jan Káš



OLOMOUC BIOTECH 2011 – PLANT BIOTECHNOLOGY: GREEN FOR GOOD

Mária Šmehilová

Univerzita Palackého v Olomouci, Centrum regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum, Oddělení molekulární biologie, www.cr-hana.eu

Na Univerzitě Palackého v Olomouci se ve dnech 19. – 22. června 2011 uskutečnila mezinárodní konference s názvem Olomouc Biotech 2011 – Plant Biotechnology: Green for Good. Olomouc tak znovu potvrdila své významné postavení mezi špičkovými vědeckými centry mezinárodní úrovně. Organizaci konference zajistilo Centrum regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum, jehož výstavba právě probíhá v univerzitním areálu v Olomouci-Holici na ulici Šlechtitelů, kde se konference odehrála.

Konferenci zahájil svou řečí primátor města Olomouce Martin Novotný, který ocenil přínos C. R. Haná pro region a zdůraznil historickou roli Olomouce ve světové vědě. „Green for Good“ uvítala přes stovku vědců z domácích i zahraničních pracovišť, mimo jiné například z Francie, Německa, Švýcarska, USA nebo Kanady. Na konferenci byly prezentovány nejnovější poznatky a trendy rostlinné genetiky a molekulární biologie, byly také představeny moderní biotechnologické aplikace a způsoby jejich využití v zemědělství. Součástí konference byla kromě přednášek i posterová sekce se studentskou soutěží, která vytvořila příjemné prostředí pro diskusi studentů doktorských programů s renomovanými vědci. Na programu nechyběly ani průmyslové a komerční prezentace společností (Teva Czech Industries, Fosfa, BioTest, Sigma Aldrich, Monsanto), jejichž spolupráce mezi akademickou a aplikační sférou připomněla svou důležitou roli.

Sérii přednášek zahájil svou prezentací „Crop biofortification: GMO or non-GMO“ profesor Wilhelm Gruissem ze švýcarského ETH v Curychu. Významná část přednášek a posterových sdělení byla zaměřena na využití poznatků metabolismu rostlinných hormonů cytokininů, jejichž výzkum má v Olomouci-Holici tradici. Z této oblasti představil například doktor Lukáš Spíchal z Laboratoře růstových regulátorů C. R. Haná možnou aplikaci přípravku INCYDE v zemědělství. Z domácích vědců dále představili práci svých týmů profesor Jozef Šamaj a docent Jaroslav Doležel, vědecký ředitel Centra. Mimo domácí pracoviště představila na konferenci svůj výzkum i profesorka Olga Valentová z ICT Praha. Ze zahraničních hostů pak prezentoval například profesor Heribert Hirt z francouzského UGRV v Evry nové strategie zlepšování odolnosti rostlin vůči stresu. Doktor Viktor Korzun, prezident Evropské organizace pro výzkum rostlin,

představil úspěchy a perspektivy v oblasti šlechtění obilnin německé společnosti KWS Lochow GmbH. Dále představila pokroky v přípravě transgenních obilovin doktorka Wendy Harwood z anglického John Innes Centra v Norwichi. K významným hostům patřil například emeritní profesor z kanadské University of Waterloo Murray Moo-Young, který ve své prezentaci vyzval studenty, aby vzali svou roli v budoucnosti biotechnologií do vlastních rukou. Inspirující přednášku o biotechnologii kořenových systémů rostlin uvedl v rámci konference doktor Ian Dodd z anglické Lancaster University. Vítězkami studentské soutěže o nejlepší poster se staly Helena Staňková, Jana Čížková a Renáta Balážová. Konferenci ukončil svou řečí profesor Brian F. C. Clark, viceprezident Evropské biotechnologické federace, který apeloval na vědce a zástupce komerčních společností s poselstvím vzájemné spolupráce pro udržení a rozvoj konkurenceschopnosti naší země v celosvětovém měřítku. Na závěr setkání se účastníci konference mohli seznámit s „tradiční“ hanáckou biotechnologií v podobě výroby olomouckých tvarůžků návštěvou společnosti A. W. v Lošticích. Konference se stala příjemným prostředím ke komunikaci o rostlinných biotechnologiích pro všechny zúčastněné, a jak řekl profesor Ivo Frébort, ředitel C. R. Haná: „Věřím, že jsme touto konferencí zahájili sérii a že se nám podaří z těchto setkání vytvořit tradici.“ Zároveň tímto přáním pozval všechny zúčastněné do Olomouce znovu 17. – 21. června 2013, do v té době již hotových nových prostor Centra.

Realizace projektu C. R. Haná byla zahájena v dubnu loňského roku, kdy byly spuštěny klíčové vědecké aktivity Centra. Ty zahrnují celou škálu oblastí intenzivního výzkumu, zejména v oblasti proteinové biotechnologie, rostlinné biotechnologie, molekulární biologie a genetiky. Díky Centru vznikly mimo jiné i nové výzkumné skupiny. „Ačkoli jsou budovy Centra regionu Haná teprve ve výstavbě, našim vědeckým týmům nebrání nic v jejich výzkumu. Konference Olomouc Biotech 2011 je toho živým důkazem,“ dodal profesor Frébort. Celková dotace projektu C. R. Haná dosáhne na 832 mil. Kč, samotná stavba včetně unikátních technologií představuje investici přes 500 mil. Kč a přístrojové vybavení asi 150 mil. Kč. Předání objektů k výzkumu se uskuteční koncem roku 2012. Projekt Centra je financován z Operačního programu Výzkum a vývoj pro inovace.

MOŽNOSTI TRANSFORMACE PENTOS NA ETHANOL

Michaela Jirků

Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT v Praze, michaela.jirku@vscht.cz

Úvod

Výroba bioethanolu z rostlinné biomasy se v současné době těší značné pozornosti nejen vědců, ale i laické veřejnosti. Důvody pro jeho produkci jsou následující – zmírnění globálního oteplování a nalezení alternativní suroviny pro pohonné hmoty namísto ropy. Bioethanol se prozatím vyrábí převážně ze škrobnaté a další zkvasitelné cukry obsahující biomasy, jako je například cukrová třtina nebo cukrová řepa. Protože se tyto rostliny však využívají i v potravinářském průmyslu a jako krmiva pro hospodářská zvířata, hledají se alternativní zdroje pro jeho produkci. Možná již byly nalezeny. Jednou z alternativ se ukázala možnost lihového kvašení z předpřipravené lignocelulosové biomasy.^{1,2}

Lignocelulosová biomasa

Jako lignocelulosovou biomasu označujeme zemědělský odpad, traviny a dřevo převážně listnatých stromů. Tento rostlinný materiál je bohatý na celulosu, hemicelulosu a lignin. Z nich je možné využít pro kvašení pouze celulosu a hemicelulosu. Lignin se separuje a slouží dále jako pevné palivo a surovina pro další chemické produkty.^{1,3}

Prvním krokem zpracování lignocelulosové biomasy je chemická (kyselá nebo zásaditá) nebo enzymatická (celulasy, hemicelulasy) hydrolýza β -1,4-glykosidické vazby. Hlavní složkou takto získaných hydrolyzátů je glukosa (vznikající z celulosy), ale poměrnou část monosacharidů tvoří dva pentosové cukry pocházející z hemicelulosy: D-xylosa a L-arabinosa. Jejich poměr se liší v závislosti na použité surovině a způsobu hydrolýzy. D-xylosa je druhým nejhojnějším sacharidem a její obsah je zvláště vysoký v travinách a tvrdém dřevě. Proto by její využití mohlo být zajímavé, pokud se vyřeší hlavně ekonomika výroby a snížení ekologické zátěže.^{1,3,4}

Používané mikroorganismy

Mezi mikroorganismy přirozeně fermentující pentosy patří jak bakterie a kvasinky, tak i vláknité houby. Zástupci bakterií jsou obligátně anaerobní kmeny *Zymomonas mobilis*. Tyto mikroorganismy mají potlačený funkční systém pro oxidační fosforylaci, proto produkují ethanol a oxid uhličitý jako hlavní produkty kvašení ve vyšším množství. Tato bakterie však není příliš odolná k derivátům lignocelulosových inhibitorů, proto jsou pro průmyslové využití připravovány rekombinantní kmeny *Escherichia coli*. Do geneticky modifikované *E.coli* byly vloženy geny pro pyruvátdekarboxylasu a alkohol dehydrogenasu právě ze *Zymomonas*

mobilis. Bylo tím dosaženo významné nadprodukce ethanolu a zároveň byla bakterie schopna účinně metabolizovat různé druhy substrátů (hexosy i pentosy).^{2,4,5}

Kvasinkami přirozeně fermentujícími pentosy jsou například *Candida shehatae*, *Pachysolen tannophilus* a *Pichia stipitis*. Jsou však stejně jako bakterie *Zymomonas mobilis* vysoce citlivé k inhibičním lignocelulosovým sloučeninám a dále jsou velmi náročné na přísun kyslíku pro dosažení efektivního kvašení.^{1,4,5,6}

Tím nejvýznamnějším producentem ethanolu z lignocelulosové biomasy jsou však rekombinantní kmeny *Saccharomyces cerevisiae* (např. kmeny TMB 3006, TMB 3050, TMB 3400). Tato kvasinka se používá proto, že už geneticky neupravená *S.cerevisiae* je nejúčinnějším producentem ethanolu (z hexos), zároveň je relativně tolerantní k vysokým koncentracím vznikajícího ethanolu a dalším inhibičním látkám přítomným v hydrolyzátu rostlinného materiálu. Další výhodou pro její širší využití je možnost růstu kvasinky i při relativně nízkém pH, které brání kontaminaci jinými bakteriemi.^{1,4,6,7}

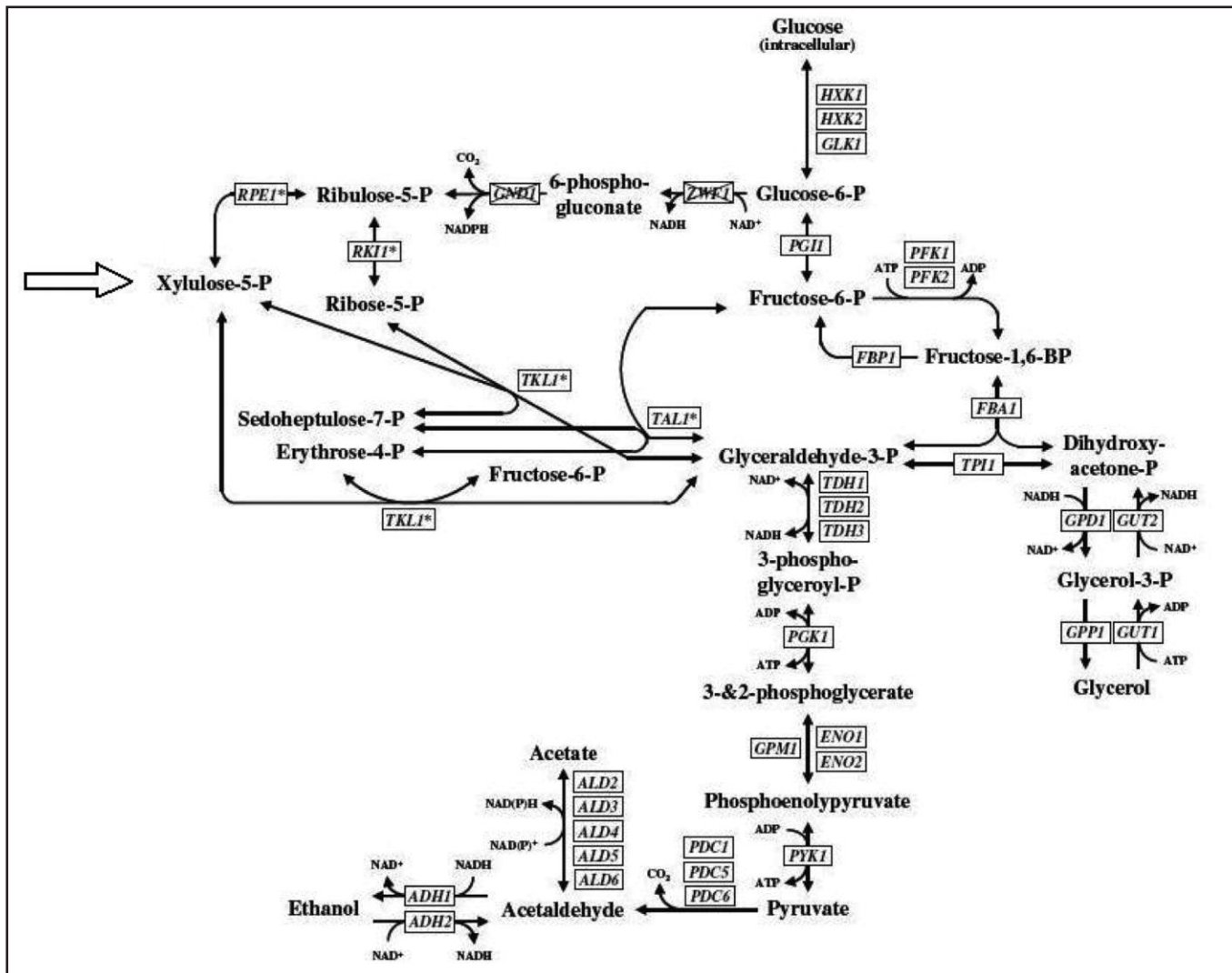
V neposlední řadě se k výrobě bioethanolu z pentos mohou využít vláknité houby. Výťažnost je však velmi malá, proto se neplánuje jejich průmyslové využití.²

Odbourávání xylosy

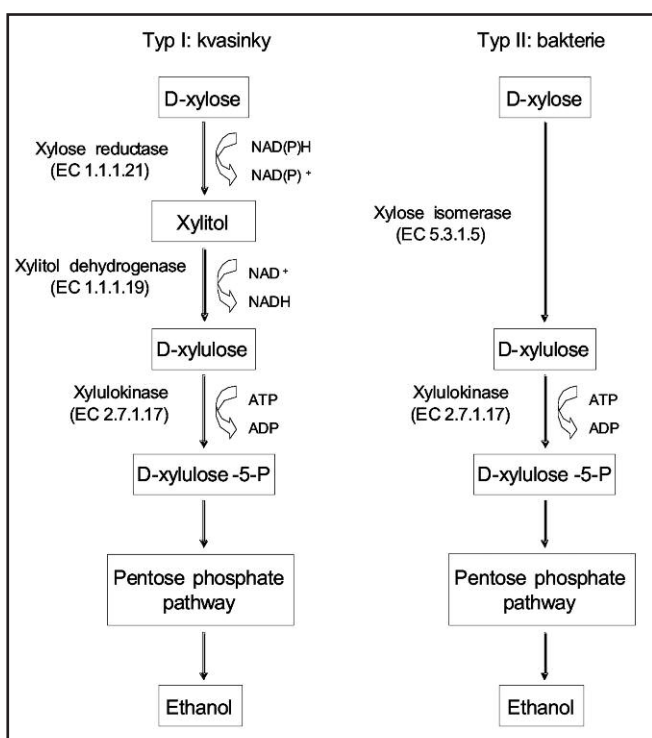
Xylosa je u kvasinek a bakterií odbourávána částečně stejným způsobem. Několika kroky nejprve dochází k přeměně D-xylosy na D-xylulosu-5-fosfát, která je dále zpracována v pentosovém cyklu. Ten se pak napojuje na glykolýzu, v níž je za anaerobních podmínek produkován ethanol (Obr. 1).^{1,6}

U kvasinek je D-xylosa nejprve ve dvou krocích převedena pomocí oxidoreduktas na D-xylulosu, která je dále fosforylována xylulokinásou na D-xylulosa-5-fosfát (Obr. 2). Těmito oxidoreduktasami jsou: xylosa reduktasa (EC 1.1.1.21) a xylitol dehydrogenasa (EC 1.1.1.19). Xylosa reduktasa nejprve D-xylosu redukuje za účasti NAD(P)H na xylitol a ten je pak xylitol dehydrogenasou oxidován (za účasti NAD⁺) na D-xylulosu. Následující reakce katalyzovaná xylulokinásou (EC 2.7.1.17) je pak vzhledem k tomu, že využívá adenosin trifosfát (ATP), limitujícím krokem celé dráhy.^{1,2,5,7}

Bakterie naproti tomu D-xylosu zpracovávají na D-xylulosu pouze jedním krokem – isomerací, využívají k tomu enzymu xylosaisomerasu (EC 5.3.1.5). Následná fosforylace na D-xylulosa-5-fosfát je katalyzována xylulokinásou (EC 2.7.1.17) stejně jako u kvasinek (Obr. 2).^{1,2,5,7}



Obř. 1: Napojení odbourávání xylosy na pentosový řetězec a glykolýzu¹



Obř. 2: Metabolická dráha odbourání D-xylosy u kvasinek a bakterií¹

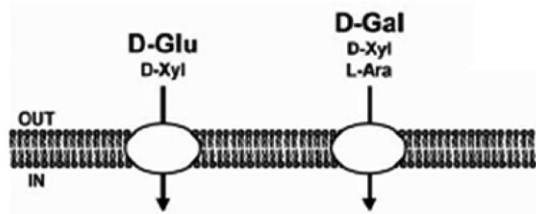
Rekombinantní *Saccharomyces cerevisiae*

Genetickými modifikacemi (vneseím genů pro xylosa reduktasu a xylitol dehydrogenasu např. z *Pichia stipitis*) byly získány kmeny *Saccharomyces cerevisiae* zkvašující xylosu. Tím však snahy genetických inženýrů nekončí, je nutné dosáhnout rychlého a účinného odbourávání. Současné výnosy ethanolu jsou malé, pouze 30 % xylosy obsažené v hydrolyzátu je kvasinkami zpracováno na xylitol (tzn. vzniká 0,3 g ethanolu na 1 g xylosy). Předpokládá se však, že vhodnými úpravami genomu by bylo možné dosáhnout až 90% účinnosti přeměny pentosových cukrů na ethanol. Těmi nejdůležitějšími faktory, na které se vědci zaměřují, jsou: nadprodukce xylulokinasy, navýšení produkce enzymů pentosového cyklu, změna intracelulární redoxní rovnováhy a xylosový transport do buňky.^{1,5,6,8}

Navýšením produkce xylulokinasy a enzymů pentosového cyklu (např. transaldolasa, transketolasa, ribulosa-5-fosfát-3-epimerasa) se zrychlí zpracování xylosy. Dochází k dostatečnému odebírání produktů a proces odbourávání tedy není inhibován produkty.^{1,5,6}

Pro změnu intracelulární redoxní rovnováhy se vnaší geny transhydrogenasy například z *Azotobacter vinelandii*, protože dostatek NADPH je regulačním fakto-

rem pro počáteční reakci v metabolické dráze xylosy. *S. cerevisiae* tento enzym chybí, proto u ní dochází poměrně brzy k vyčerpání NADPH a nahromadí se NADH v cytosolu. Vnesením genu pro transhydrogenasu nedojde sice k urychlení vzniku meziproductu xylytolu, ale vznikající nadměrné množství NADH je využito k produkci glycerolu – nedochází tedy k inhibiční produktem.¹



Obr. 3: Transportní mechanismus cukrů u *Saccharomyces cerevisiae* (D-Glu: D-glukosa, D-Xyl: D-xylosa, D-Gal: D-galaktosa)²

Posledním faktorem, na který se vědci zaměřují, je ovlivnění xylosového transportu do buňky. Divoké kmeny *Saccharomyces cerevisiae* nemají specifické

transportéry pro pentosové cukry, k přenosu xylosy do buňky využívají glukosové nebo galaktosové (Obr. 3). Ty ale mají podstatně nižší afinitu ke xylose než ke glukose a zároveň je přenos pentos kompetitivně inhibován právě glukosou. Právě proto jsou do *S. cerevisiae* vnášeny geny pro specifické xylosové transportéry z *Pichia stipitis* nebo *Candida shehatae*.^{1,2,6,7}

Závěr

Do dnešního dne bylo provedeno velké množství studií týkajících se možného využití kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* pro průmyslovou produkci bioethanolu z lignocelulosové biomasy. Bohužel nebyl prozatím nalezen vhodný kmen, který by toto umožňoval ve velkém – průmyslovém měřítku. Současná výroba ethanolu využívající jako substrát glukosu je mnohonásobně rychlejší a poskytuje vyšší výnosy. Výzkum ale pokračuje dál, doufejme tedy, že již brzy budeme moci rostlinný materiál zpracovávat efektivněji.

Literatura:

1. Matsushika A, Inoue H, Kodaki T, et al.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 84, 37 (2009).
2. Hahn-Hägerdal B, Karhumaa K, Fonseca C, et al.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 74, 937 (2007).
3. Olofsson K, Bertilsson M, Lidén G: *Biotechnology for Biofuels* (2008).
4. Abbi M, Kuhad RC, Singh A: *Process Biochemistry* 31, 555 (1996).
5. Nigam JN: *J. Biotechnol.* 87, 17 (2001).
6. Unrean P, Srienc F: *J. Biotechnol.* 150, 215 (2010).
7. Keshwani DR, Cheby JJ: *Bioresource Technol.* 100, 1515 (2009)
8. Jeppsson M, Johansson B, Hahn-Hägerdal B, Gorwa-Grauslund MF: *Appl. Environ. Biotechnol.* 68, 1604 (2002).

Souhrn

Jirků M.: Možnosti transformace pentos na ethanol

Výroba bioethanolu je jedním z často diskutovaných témat současnosti. Možnost jeho získávání z lignocelulosové biomasy – pentosových cukrů, by zvýšilo jeho celkové výnosy a zároveň umožnilo efektivně zpracovávat zemědělský odpad. V posledních 20 letech se výzkum konverze xylosy na ethanol zaměřil zejména na využití rekombinantních kmenů *Saccharomyces cerevisiae*, dosud ale nebyl nalezen vhodný pro průmyslové využití.

Klíčová slova: pentosa, xylosa, ethanol, lignocelulosová biomasa

Summary

Jirků M.: Options for transformation of pentoses to ethanol

Today, production of bioethanol is one of the most frequently discussed topics. The possibility of obtaining it from lignocellulose biomass – pentose sugars, would increase its total revenue and enable efficient processing of agricultural wastes. In the last 20 years, research on the conversion of xylose to ethanol focused on using recombinant strains of *Saccharomyces cerevisiae*, but it did not reach suitable conditions for the industrial use.

Keywords: pentose, xylose, ethanol, lignocellulosic biomass

DO JAKÉ MÍRY MOHOU PREBIOTIKA A PROBIOTIKA OVLIVNIT ZMĚNU OSÍDLENÍ ZAŽÍVACÍHO TRAKTU

Maršálová Lucie

Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT, Praha, marsalol@vscht.cz

Úvod

Základními funkcemi tlustého střeva jsou zpětná absorpce vody a minerálů (např. enterocyty transportují sodík a chloridy¹), ukládání a následná exkrece odpadních produktů metabolismu. Další funkce, jako je syntéza vitamínů či stimulace imunitního systému, již ovšem souvisí se střevní mikroflórou.

Střevní mikroflóra

Člověk žije v těsném soužití s různými druhy mikroorganismů. Velké množství jich sídlí v lidském gastrointestinálním traktu. Nejnovější metagenomické studie udávají až 20 000 druhů, z nichž je ovšem většina nekultivovatelná. Největší podíl mikroorganismů, především bakterií, je v tlustém střevě, kde může být až 10^{11} – 10^{12} mikroorganismů na gram tkáně². Udává se, že na osídlení našeho tlustého střeva se podílí na 500 jejich různých kultivovatelných druhů³. Tyto bakterie patří do skupiny anaerobních organismů a jejich převážná část jsou obligátní anaeroby⁴. Ze zástupců gram-negativních mikroorganismů se jedná o rod *Bacteroides*, který tvoří až 30 % celé střevní mikroflóry. Z gram-positivních bakterií kmene *Firmicutes* jsou to především rody *Bifidobacterium* (tvoří až 25 % střevní mikroflóry dospělého jedince), *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Peptococcus*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Enterococcus* a *Eubacterium*. Dále jsou tu přítomné koliformní bakterie (*Escherichia coli*), methanogenní bakterie (rod *Methanococcus*), acetogenní bakterie a síru redukující bakterie (rod *Desulfovibrio*)¹. Tyto mikroorganismy jsou bohaté na proteiny (ty tvoří až 55 % hmotnosti sušiny), na RNA (ta tvoří cca 20 % hmotnosti sušiny) a na lipidy (9 % hmotnosti sušiny). Množství proteinů, které mikroorganismy vyprodukují a exkretují do okolí, je těžké určit, ale 15 g biomasy vyloučené denně z organismu obsahuje 1 g dusíku pocházejícího z jejich metabolismu².

Lidský zažívací trakt je osídlen mikroorganismy již od narození. Novorozenci jsou při průchodu roditelkou kolonizováni nejprve rodem *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*. Během dospívání dochází k ustanovení rovnováhy mezi všemi výše zmíněnými rody bakterií. Studie ale ukazují, že je rozdíl mezi osídlením zažívacího traktu kojenců krmených mateřským mlékem a kojenců krmených příkrmí. Při kojení je množství rodu *Lactobacillus* 10^7 na gram tkáně a rodu *Bifidobacterium* 10^{11} na gram tkáně. U dětí krmených z láhve je množství rodu *Lactobacillus* 10^6 na gram tkáně a rodu *Bifidobacterium* 10^{10} na gram tkáně, stoupá také množství rodů *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Streptococcus*, *Clostridium* a bakterie *Escherichia coli*⁵.

Primární funkcí střevní mikroflóry je získání energie ze sloučenin, které nepodléhají štěpení v předchozích částech zažívacího traktu. Energie z těchto látek je uvolňována pomocí fermentace, jejímiž produkty jsou krátké řetězce mastných kyselin (SCFA = Short Chain Fatty Acids), které představují 40 – 50 % veškeré energie získatelné z uhlovodíků. Řadí se mezi ně zejména acetát, propionát a butyrát. Dalšími funkcemi střevní mikroflóry jsou syntéza vitamínů skupiny B a vitamínu K, podílění se na katabolismu žlučových kyselin, dalších sterolů a xenobiotik a na stimulaci imunitního systému².

Faktory ovlivňující nárůst biomasy střevní mikroflóry lze rozdělit do dvou skupin – na faktory vycházející z vlastností samotných mikroorganismů a na faktory související se stavem tlustého střeva. Mezi vlastnosti mikroorganismů, které se podílejí na nárůstu jejich biomasy, patří individuální fermentační strategie jednotlivých bakterií, produkce bakteriálních metabolitů a imunologické interakce. Do skupiny faktorů souvisejících se stavem tlustého střeva je možné zařadit dosažitelnost míst pro kolonizaci, množství, chemickou strukturu a retenční čas živin, dosažitelnost anorganických elektronových akceptorů, pH, redox potenciál a přítomnost antimikrobiálních látek a xenobiotik. V neposlední řadě hraje též důležitou úlohu věk, zdraví, peristaltika střev a životní styl jedince (stres či užívání antibiotik může vést k porušení rovnováhy střevní mikroflóry – k usmrcení příznivých mikroorganismů a k přemnožení škodlivých jako je rod *Clostridium*)^{2,4}.

Prebiotika

Jako prebiotikum je označována nestravitelná část potravy (zahrnující nestravitelné polysacharidy, některé peptidy a proteiny, případně některé lipidy), která příznivě působí na organismus stimulací růstu a aktivity jednoho či limitovaného množství druhů bakterií ve střevě, čímž posiluje zdraví jedince⁶. Jedná se o látky se stupněm polymerizace dvě a větší, které jsou rozpustné v 80 % ethanolu a nejsou štěpitelné pankreatickými enzymy a enzymy tenkého střeva⁷. Prebiotický efekt je nepřímý, jelikož různé látky se stávají živinami pro rozdílné druhy mikroorganismů, což následně vede k modifikaci střevní mikroflóry⁸.

Typickými prebiotiky jsou fruktooligosacharidy (FOS). Patří sem inulin (β -D-fruktany se stupněm polymerizace 2 – 60) a oligofruktosa se stupněm polymerizace 2 – 20. Obě skupiny obsahují několik β (1,2)- nebo β (1,6)- vázaných fruktosových zbytků, které jsou vázané na glukosové zbytky. Další jsou glukooligosacharidy

(GOS), galaktooligosacharidy, transgalaktooligosacharidy (TOS), isomaltooligosacharidy a xylooligosacharidy¹. Potraviny, které jsou označovány jako prebiotika, musí splňovat určitá kritéria. Hydrolyzovány a vstřebávány musí být pouze v tlustém střevě. Jsou substrátem pro fermentaci jednoduše či limitovanému množství druhů bakterií. Stávají se příčinou změny v osídlení střevní mikroflóry vedoucí k udržení či ke zlepšení zdraví jedince¹. Jsou-li prebiotika používána jako potravinářská surovina, pak musí být odolná vůči teplotě, nízkému pH a Maillardově reakci⁸.

Prebiotika se vyrábí extrakcí z rostlin (např. inulin z čekanky), enzymatickou hydrolyzou (např. oligofruktosa z inulinu), syntézou pomocí trans-glykosylačních reakcí z mono- či disacharidů jako je sacharosa (fruktooligosacharidy) nebo laktosa (trans-galaktosylované oligosacharidy či galaktooligosacharidy). Mimo účinků na zdraví jedince také zlepšují organoleptické vlastnosti potravin, jako jsou textura a chuť. Přidávají se či jsou přirozenou součástí jogurtů, nápojů, pečiva, čokolády, dortů, sušenek, dehydratovaných omáček a polévek, dětských příkrmů a dietních produktů⁸.

Fermentací v tlustém střevě jsou prebiotika štěpena na SCFA a laktát, což stimuluje růst hlavně rodů *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*, které při následných fermentacích produkují plyny, a současně dochází k pozastavení růstu rodu *Clostridium* a dalších potenciálně patogenních mikroorganismů. Produkce především oxidu uhličitého a vodíku může mít mírně laxativní účinky, které se ale u většiny jedinců neprojeví. Také dochází k interakcím se střevní mukosou a tím pádem ke změně adhesivních schopností bakterií. V tenkém střevě prebiotika podporují zvýšenou absorpci vápenatých a hořečnatých iontů a iontů železa^{3,9}.

Probiotika

Probiotika jsou živé mikroorganismy využívané jako doplněk stravy, které příznivě působí na hostitelský organismus tím, že ovlivňují rovnováhu střevní mikroflóry. První probiotický koncept je znám od roku 1900, kdy Metchnikoff studoval dlouhověkost bulharských rolníků, a zjistil, že je způsobena nadměrnou konzumací fermentovaného mléka. Z tohoto mléka izoloval a popsal bakterii známou jako bulharský bacil – *Bacillus bulgaricus*, dle dnešního názvosloví je známa pod označením *Lactobacillus delbrueckii* subs. *bulgaricus*¹⁰.

Jako probiotika se využívají rody *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. plantarum*, *L. salivarius*), *Bifidobacterium* (*B. longum*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, *B. thermophilum*), dále se využívají gram-pozitivní koky (*Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecium*), *Bacillus subtilis*, kvasinky (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*) a plísně (*Aspergillus oryzae*)^{5,11}. Probiotika jsou součástí jogurtů a ostatních fermentovaných potravin (kefíry, acidofilní mléko, podmáslí). Je možné je také užívat ve formě prášku, tablet či kapslí, které obsahují jeden či více druhů mikroorga-

nismu⁵. Má-li být mikroorganismus klasifikovaný jako probiotikum, musí splňovat několik podmínek. Musí se jednat o vysoce životaschopný a rychle se množící organismus. Měl by být stabilní během skladování a měl by být schopen přežít ve střevním ekosystému. V neposlední řadě musí mít příznivý vliv na zdraví jedince¹¹.

Typickými vlastnostmi probiotik jsou vysoká míra přilnavosti vůči lidským buňkám vlivem hydrofóbního efektu, stabilita vůči žlučedním a žlučovým kyselinám, aktivita vůči patogenním mikroorganismům a produkce řady antimikrobiálních látek¹¹. Zástupci gram-pozitivních bakterií produkují látky zvané bakteriociny, což jsou proteiny či komplexy proteinů mající antagonistický efekt na druhy příbuzné producentům. Bakteriociny se dělí do čtyř skupin: antibiotika, malé hydrofobní molekuly, které jsou tepelně stabilní (menší než 13 kDa, typické pro rod *Lactobacillus*), velké tepelně nestabilní proteiny s hmotností větší než 30 kDa a poslední skupinou jsou komplexy bakteriocinů s lipidy a/nebo sacharidy. Další antimikrobiální látkou produkovanou bakterií *Lactobacillus reuteri* je reuterin. Rody *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* jsou producenty celé řady přírodních antibiotik, jako jsou např. laktociny, helveticiny, laktaciny, nisin či bifidociny⁴. Mezi látky mající antimikrobiální aktivitu ale také patří produkty fermentace, jako jsou např. organické kyseliny, peroxid vodíku či diacetyl. SCFA mají také antagonistický efekt na potenciálně patogenní rody jako je *Listeria*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, jejich akumulace totiž vede ke snížení pH⁵.

Bylo prokázáno, že probiotika mohou do určité míry pomoci lidem trpícím laktosovou intolerancí. Jedná se o poruchu trávení, která je způsobena jednak poruchou orgánů zažívacího ústrojí a jednak deficitem trávicích enzymů. Touto poruchou trpí již dvě třetiny dospělé populace hlavně v Asii a Africe, v Evropě je rozmezí od 2 % populace, ve Skandinávii, až po 70 % populace, na Sicílii. Mezi symptomy tohoto onemocnění patří řídká stolice, nadýmání a plynatost, bolest a borborygmus, což je „kručení“ žaludku způsobené pohybem plynu v žaludku a střevech. Pomoci může především rod *Lactobacillus*, jenž produkuje velké množství β -galaktosidasy^{1,3}.

Mezi nepříjemné projevy různých onemocnění patří průjem. Ten může být způsobený různými druhy mikroorganismů. Dětské průjmy jsou nejčastěji způsobené rotavirovou infekcí. Tato infekce zvyšuje permeabilitu střev. Průjmy následující po užívání antibiotik vznikají přemnožením bakterie *Clostridium difficile* a cestovatelské průjmy přemnožením patogenních zástupců bakterie *Escherichia coli*. Mezi patogeny vyskytující se v jídle, které při přemnožení také mohou způsobovat průjmy, patří rody *Salmonella*, *Campylobacter*, a *Shigella*⁵. Probiotika jsou aktivní vůči výše uvedeným potenciálním patogenům způsobujícím intestinální infekce. Mechanismus jejich účinku zahrnuje kompetici o živiny, produkci antimikrobiálních látek, redukci pH pomocí SCFA, blokování adhesivních

míst, blokaci receptorů pro toxiny, zeslabení produkce toxinů, oslabení virulence či stimulaci imunitního systému¹.

Bakterie *Helicobacter pylori*, která kolonizuje sliznici jícnu, žaludku a dvanáctník, je zodpovědná za gastritidy a může vést až k rozvoji rakovinného bujení. Probiotika obsahující bakterie *Lactobacillus acidophilus* a *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* inhibují růst této bakterie⁵.

Stimulací imunitního systému působí probiotika proti alergiím či hypersenzitivě na potraviny i proti atopickému ekzému. Vlivem této stimulace obsahují T-lymfocyty více γ -interferonu. Rod *Lactobacillus* podporuje fagocytující schopnosti makrofágů. Rod *Bifidobacterium* stimuluje tvorbu interleukinů a tumor nekrosis faktoru α ^{5,12}. Probiotika ovlivňují i hladinu cholesterolu v krvi. Ve střevě zapřičiňují interference cholesterolové absorpce, přímo cholesterol asimilují či produkují metabolity, které mění hladinu lipidů v krvi¹.

Byl také studován vliv probiotik na potlačení rakovinného bujení pomocí suprese prokarcinogenů či karcinogenů tím, že se na ně naváží, blokují je nebo pomáhají při jejich odstranění. Vlivem probiotik dochází také k supresi enzymů, které indukují změnu prokarcinogenu na karcinogen. Redukcí pH se mění aktivita mikroflóry a její rozpustnost pomocí žlučových kyselin, což vede ke změně retenčního času mutagenů a k jejich dřívějšímu vyloučení¹.

Literatura:

1. Fook LJ, Fuller R, Gibson GR: *Inter. Dairy J.* 9, 53 (1999).
2. Cummings JH, Macfarlane GT: *Clinical Nutrition* 16, 3 (1997).
3. Tuohy KM, Probert HM, Smejkal ChW, Gibson GR: *Drug Discovery Today* 8, 692 (2003).
4. Gibson GR: *J. Nutr. S.* 1438 (1999).
5. Fook LJ, Gibson GR: *British J. Nutr.* 88, 39 (2002).
6. Gibson GR, Roberfroid MB: *J. Nutr.* 125, 1401 (1995).
7. Cummings JH, Macfarlane GT, Englysi HN: *American Society for Clinical Nutrition* 73, 415 (2001).
8. Wang Y: *Res. Int.* 42, 8 (2009).
9. Cummings JH, Macfarlane GT: *British J. Nutr.* 87,145 (2002).
10. Metchnikoff E: *The Prolongation of Life.* Ileinemann, London 1907.
11. Gismondo MR, Drago L, Lombardi A: *Int. J. Antimicrob. Agents* 12, 287 (1999).
12. Reid G: *Int. Dairy J.* 18, 969 (2008).
13. Lodinová-Zádníková R, Cukrowska B, Tlaskalova-Hogenova H: *Int.Arch.Allergy Immunol.* 131, 209 (2003).

Souhrn

Maršálová L.: Do jaké míry mohou prebiotika a probiotika ovlivnit změnu osídlení zažívacího traktu

Střevní mikroflóra je tvořena mnoha různými druhy bakterií. Za nejprospěšnější se pokládají rody *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*. Tyto rody jsou často obsaženy v probiotických preparátech a jsou nejčastěji ovlivňována prebiotiky. Užívání probiotik a prebiotik se projevuje ovlivněním rovnováhy střevní mikroflóry a posílením její funkce.

Klíčová slova: Střevní mikroflóra, probiotika, prebiotika

Summary

Maršálová L.: How could prebiotics and probiotics affect changes of digestive tract colonization

Intestinal microflora is represented by different kinds of bacteria. The most beneficial are strains of bacterial genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. These strains are components of probiotics and they are influenced by prebiotics. Usage of probiotics and prebiotics manifest changes in balance of gut microflora and its build up functions of gut microflora.

Keywords: gut microflora, probiotics, prebiotics

V České republice byl prováděn experiment, při němž byla novorozencům podávána probiotika obsahující nepatogenní rod bakterie *Escherichia coli*, sérotyp 083:K24:H31. Tento kmen po několik měsíců tvořil dominantní osídlení tlustého střeva a stimuloval také tvorbu lokálních protilátek. Výsledky ukazují, že došlo ke snížení počtu patogenních mikroorganismů nejen v tlustém střevě, ale i v ostatních částech těla, což také vedlo ke snížení počtu infekcí a ke změně v rozmístění protilátek¹³.

Stále častěji se používají tzv. synbiotika, což je kombinace probiotik a prebiotik. Jedná se o živé mikroorganismy se specifickými substráty podporujícími jejich růst, např. rod *Bifidobacterium* s fruktooligosacharidy⁵.

Závěr

Tlusté střevo je kolonizováno rody *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* již při narození a v průběhu dospívání se ustaluje rovnováha mezi různými druhy mikroorganismů, i když tyto dva rody zůstávají nejprospěšnější. Střevní mikroflóra plní řadu důležitých funkcí. K výrazným změnám v osídlení sice nedochází, ale užíváním probiotik a prebiotik je možné posunout rovnováhu střevní mikroflóry směrem k prospěšným druhům mikroorganismů a potlačit druhy potenciálně patogenní.

KMENOVÉ BUŇKY A JEJICH POUŽITÍ V MEDICÍNĚ

Štěpán Jeřábek

Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha, Ústav molekulární genetiky, AV ČR, v.v.i., jerabeks@img.cas.cz

Je možno považovat za velkou ironii, že problematika kmenových buněk je v dnešní době obecně stále stigmatizována nedostatkem informací, jež jsou často plně nahrazovány emocemi. Není přítom mnoho oblastí výzkumu, které mají potenciál naplnit Ciceronova slova *Hominem ad deos nulla re propius accedunt quam salutem hominibus dando*.^{*} Cílem tohoto článku je přiblížit čtenáři stručnou formou současné poznatky o kmenových buňkách a rovněž lehce nastínit obrovský rozsah možností jejich využití v medicíně.

Obecná charakteristika kmenových buněk

Kmenové buňky jsou primární nediferencované buňky, které vykazují dvě unikátní vlastnosti. První z nich je schopnost diferencovat na jiné, specializované buněčné typy. Druhou pozoruhodnou charakteristikou kmenových buněk je možnost dlouhodobé obnovy sebe sama procesem buněčného dělení.^{1,2,3}

Ne všechny kmenové buňky jsou z hlediska svého potenciálu produkovat specializované buněčné typy vzájemně rovnocenné. Rozlišujeme buňky totipotentní, které stojí v pomyslné hierarchii nejvýše a mohou tedy produkovat jakýkoli jiný buněčný typ, včetně další totipotentní buňky. Rozhodující vliv na výslednou přeměnu má bezprostřední okolí, do něhož je kmenová buňka přemístěna. To mikroprostředí, anglicky nazýváno „niche“, je podrobně studováno. Cílem je zjistit, jaké faktory jsou zodpovědné za epigenetické přeprogramování původní kmenové buňky na buňku specializovanou. Technicky velice zajímavý je například vývoj speciálních proteinových mikročipů pro vysoko-kapacitní identifikaci konkrétních faktorů v daném mikroprostředí.⁴

Takové buňky, které mohou dát vzniknout jakýmkoli jiným buňkám kromě totipotentních, nazýváme pluripotentními. Je možno z nich získat buňky všech tří zárodečných listů – ektodermu, entodermu i mezodermu. O stupeň níže stojí multipotentní buňky. Ty mohou produkovat pouze příbuzné buněčné typy, známe například kmenové buňky krve, kůže, nervové tkáně aj. Poslední v tomto rozdělení jsou unipotentní buňky, také označované jako progenitorové. Mají schopnost se samy obnovit, jejich možnost diferenciaci je však omezena pouze na jediný buněčný typ.

Kmenové buňky podle svého přirozeného zdroje

Embryonální kmenové buňky (Embryonic stem cells, ESCs) jsou získávány z ranných fází vývoje embrya. Pět až šest dnů po oplodnění vzniká ze zygoty dutý sférický útvar zvaný blastocysta. Její vnější vrstva se nazývá trophoblast a uvnitř je tzv. vnitřní buněčná

hmota (inner cell mass, ICM). Buňky ICM je možno z blastocysty vyjmout, adaptovat na *in vitro* podmínky a udržovat je jako buněčnou kulturu v laboratoři. Ačkolí je většina embryonálních kmenových buněk získávána z embryí po *in vitro* fertilizaci, proces zničení embrya vyvolává širokou debatu o etické podstatě tohoto kroku, resp. o zahubení (budoucího) živého organismu.

Embryonální kmenové buňky jsou pluripotentní a je možné je dlouhodobě udržovat v kultuře.⁵ Pro ověření identity embryonálních kmenových buněk se používá řada technik. Patří mezi ně především ujištění o jejich zmíněné schopnosti dělit se v buněčné kultuře po dobu několika měsíců. Jiným významným testem je detekce transkripčních faktorů charakteristických pro nediferencované buňky. Dva nejvýznamnější faktory, které udržují stabilitu kmenových buněk a jejich obnovu se nazývají Oct 4 a Nanog.⁶ Dále připadá v úvahu možnost zjištění přítomnosti specifických povrchových markerů, mikroskopické vyšetření buněk nebo například schopnost tvořit teratomy po injekci embryonálních kmenových buněk do myši s potlačeným imunitním systémem.⁶

Zajištění kontrolované diferenciaci je nezbytné k získání kultur konkrétního buněčného typu. Nabízí se změna chemického složení růstového media, úprava povrchu nádoby s buněčnou kulturou nebo přímá modifikace buněk insercí specifických genů.⁶

Významnou a o poznání méně kontroverzní alternativou embryonálních buněk představují **dospělé kmenové buňky** (Adult stem cells, ASC). Vyskytují se mezi plně diferencovanými buňkami a jejich primární úkol spočívá v obnově a případné opravě tkání, v nichž se vyskytují (většina dospělých kmenových buněk je multipotentní). Takových tkání je celá řada, od dlouho známé kostní dřeně až po tkáň jako srdce nebo mozek. Dospělé kmenové buňky jsou velkým příslibem pro transplantační terapii. Jistý problém však představuje nízký počet dospělých kmenových buněk v tkáních a omezená schopnost dělení *in vitro* po izolaci.⁷ Z těchto důvodů je třeba dále hledat cesty k získání většího výtěžku ve výsledné buněčné kultuře.

Jako výhodné se jeví využití kmenových buněk tukové tkáně, především pro rychlou dostupnost tkáně a snadnou izolaci.⁸ Rovněž kmenové buňky, které obsahuje zubní dřeň jsou zajímavou možností, navíc jsou z pohledu svého potenciálu diferencovat buňkami pluripotentními.⁹

Kmenové buňky lze získat také z **pupečnickové krve**.¹⁰ Tyto nejsou eticky kontroverzní, navíc oproti „starším“ dospělým kmenovým buňkám neobsahují

^{*}V ničem se lidé více nepřibližují bohům, než v poskytování zdraví jiným.

mutace, ke kterým může během let docházet. Multipotentní kmenové buňky je možno izolovat také z plodové vody.¹¹

Indukované pluripotentní kmenové buňky

V posledních letech je věnováno velké úsilí na výzkum tzv. indukovaných kmenových buněk (Induced pluripotent stem cells, iPS cells). Jedná se o uměle připravené kmenové buňky. Za průkopníka na tomto poli lze považovat japonského vědce jménem Shinya Yamanaka. Jeho týmu na Univerzitě v Kyotu se v roce 2006 podařilo vytvořit pluripotentní buňky vnesením čtyř transkripčních faktorů (Oct-3/4, SOX2, c-Myc, and Klf4) do myších fibroblastů pomocí retrovirů.¹²

Cílem vědeckého pokroku na tomto poli je dosáhnout takových buněk, které budou molekulárně a funkčně ekvivalentní embryonickým kmenovým buňkám, považovaným za zlatý standard všech pluripotentních buněk. Je třeba překonat řadu obtíží, souvisejících např. se zvýšeným rizikem rakovinného bujení. Samotný princip indukce rovněž prodělal bouřlivý vývoj. Za nejčerstvější průlom je možno označit indukci pluripotentních buněk s použitím syntetické mRNA.¹³

V práci z května 2010, jež měla za cíl komplexně srovnat rozdílnosti mezi myšími embryonickými a indukovanými pluripotentními kmenovými buňkami, byl nalezen překvapivě nízký počet rozdílných transkriptů. Navíc všechny tyto transkripty byly odvozeny jen od jednoho klastru v myším genomu¹⁴, což demonstruje vysoký potenciál výzkumu indukovaných pluripotentních kmenových buněk.

Terapeutické možnosti kmenových buněk

Již řadu let je běžně využíváno dospělých kmenových buněk k transplantaci kostní dřeně. Tím je dosaženo nahrazení buněk zničených silnými dávkami záření například při chemoterapeutické léčbě leukémie. Velký rozruch vzbudil nedávno publikovaný článek skupiny berlínských vědců vedené Dr. Schneiderem, kteří uvedli, že při transplantační léčbě pacienta majícího leukémii došlo k vymizení jeho příznaků HIV infekce.¹⁵ Tento objev by mohl předznamenat léčbu HIV pozitivních pacientů pomocí geneticky modifikovaných kmenových buněk.

V posledních letech však zasahuje výzkum využití kmenových buněk k léčebným účelům do enormě širokého spektra odvětví medicíny. Seznam zdravotních

komplikací, které je anebo nadějně bude možno léčit nově objevenými metodami, zahrnuje mimo jiné mnoho druhů rakoviny, Parkinsonovu chorobu, poranění míchy, hluchotu, slepotu, diabetes a mnohé další.

Velkým pojmem se v oblasti lékařství stává regenerativní medicína. Její ambicí je tvorba živých a funkčních tkání a nahrazení poškozených nefunkčních tkání a dokonce orgánů.¹⁶ Často je při regeneraci tkání využívána nosná matrice připravená na základě nejnovějších poznatků materiálového inženýrství a nanotechnologií.¹⁷ Samotná tvorba orgánů „šitých na míru“ pro pacienta může leckomu znít jako hudba budoucnosti, přesto na americké Wake Forrest University před časem „vypěstovali“ pomocí kmenových buněk malá funkční játra.¹⁸ V tomto největším centru regenerativní medicíny na světě se v současné době snaží vědci o vývoj 22 orgánů a tkání.¹⁹ Velmi výmluvně pak působí vládní dotace této instituce ve výši 85 milionů dolarů směřovaná na aplikaci tkáňového inženýrství při léčbě válečných zranění.¹⁹

Rovněž indukované kmenové buňky jsou studovány z hlediska možnosti použití k léčbě, např. mozkových onemocnění. Bylo například zjištěno, že reprogramované fibroblasty jsou schopny funkční integrace do mozku fétu krysy a napravit symptomy Parkinsonovi nemoci.²⁰ Špičkovou finesou, dokazující nejnovější technické dovednosti, bylo vytvoření chimér krysy a myši. Ve zmíněném případě byly použity krysy indukované pluripotentní buňky dokonce schopny nahradit celý orgán u postižené myši.²¹

Závěr

Kmenové buňky nepochybně představují velký příslib do budoucnosti a díky intenzivnímu výzkumu podporovanému silným kapitálem pravděpodobně dramaticky ovlivní možnosti terapie ve 21. století. V následujících letech budou s velkou pravděpodobností překonány některé dosud trvající obtíže spojené s dospělými a indukovanými kmenovými buňkami a ustoupí tlak na používání buněk embryonálních. Kmenové buňky se tak stanou nástrojem pomoci a definitivně se zbaví nálepky něčeho kontroverzního.

Zdrojem racionálního optimismu mohou být vědecké a především pak klinické výsledky z poslední doby. Ty ukazují, že výše zmíněná budoucnost již možná začala. Ať už tomu tak je či nikoli, faktem zůstává, že možnosti pro vědce bádající v oblasti kmenových buněk jsou nyní takřka neomezené.

Literatura

1. Committee on the Biological and Biomedical Applications of Stem Cell Research: Stem Cells and The Future Of Regenerative Medicine, National Academy Press, Washington, D.C. 2002
2. Buněčná terapie, Občanské sdružení: <http://bunecnaterapie.cz/2010/zakladni-definice--co-jsou-kmenove-bunky>, staženo 3. 1. 2010
3. Explore Stem Cells: <http://www.explorestemcells.co.uk/PropertiesStemCell.html>, staženo 3. 1. 2010
4. Kobel, S., Lutolf, M.: *Biotechniques* 48 (2010).
5. Preeti Gokal Kochar: What are stem cells: ProQuest (2004): <http://www.csa.com/discoveryguides/stemcell/overview.php>, staženo 3. 1. 2010

6. National Institutes of Health, Stem Cell Information:
<http://stemcells.nih.gov/info/basics/basics3.asp>, staženo 3. 1. 2010
7. National Institutes of Health, Stem Cell Information:
<http://stemcells.nih.gov/info/basics/basics4.asp>, staženo 3. 1. 2010
8. Zuk, A. P., Zhu, M., Ashjian, P., et al: *Mol.Biol.Cell* 13, 4279 (2002).
9. Gronthos, S., Brahim, J., Li, W., et al.: *J.Dent.Res.* 81 (2002)
10. Ratajczak, M. Z., Machalinski, B., Wojakowski, W., et al.: *Leukemia* 21 (2007)
11. De Coppi, P., Bartsch, G. Jr, Siddiqui, M. M., et al.: *Nat.Biotechnol.* 25 (2007)
12. Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., et al.: *Cell* 131 (2007)
13. Warren, L., Manos, P. D., Ahfeldt, T., et al.: *Cell Stem Cell* 7 (2010)
14. Stadfeld, M., Apostolou, E., Akutsu, H., et al.: *Nature* 465 (2010)
15. Allers, K., Hutter, K., Hofmann, J., et al.: *Blood* 117, 2791 (2011)
16. National Institutes of Health, Fact Sheet, Regenerative Medicine:
<http://www.nih.gov/about/researchresultsforthe-public/Regen.pdf>, staženo 3. 1. 2010
17. Place, E. S., Evans, N. D., Stevens, M. M.: *Nat. Mat.* 8 (2009)
- 18 Wake Forrest University, School of Medicine:
http://www.wfubmc.edu/News-Releases/2010/Researchers_Engineer_Minature_Human_Livers_in_the_Lab.htm, staženo 3. 1. 2010
19. Wake Forrest University, School of Medicine:
<http://www.wfubmc.edu/Research/WFIRM/Fast-Facts-and-Video.htm>, staženo 3. 1. 2010
20. Wering, M., Zhao, J.-P., Pruszkak, J., et al.: *Proc.Nat.Acad.Sci.* 105 (2008)
21. Kobayashi, T., Yamaguchi, T., Hamanaka, S., et al.: *Cell* 142 (2010)

Souhrn

Jeřábek Š.: Kmenové buňky a jejich použití v medicíně

Kmenové buňky představují zajímavou oblast pro výzkum a současně jsou do nich vkládány velké naděje ze strany potenciálních pacientů. Cílem článku je stručně shrnout současné znalosti o kmenových buňkách a zmínit některé z perspektivních možností jejich využití v medicíně. V první části jsou popisovány hlavní vlastnosti kmenových buněk. Následující pasáž rozděluje kmenové buňky podle zdrojů, z nichž je možné tyto buňky získat. Je zmíněn také výzkum indukovaných kmenových buněk. V závěru článek rovněž nastíní rozsáhlé aplikace poznatků o kmenových buňkách v léčbě.

Klíčová slova: kmenové buňky, buněčná potence, indukovaná pluripotence, umělé orgány, regenerativní medicína

Summary

Jeřábek Š.: Stem cells and their use in medicine

Stem cells represent an interesting field for researchers and lots of prospective patients lay hopes on therapeutic potential of these cells. The aim of the article is to briefly characterize our up to date knowledge about stem cells and to mention some examples of their medical capability. At first, the main features of stem cells are described. The following text tries to divide stem cells according to original source, the research on induced pluripotent stem cells is mentioned too. Finally, the article outlines wide applications of stem cell findings in therapy.

Keywords: stem cells, cell potency, induced pluripotency, artificial organs, regenerative medicine

MIKROBIÁLNÍ PRODUKCE OMEGA-3 MASTNÝCH KYSELIN

Petr Šimandl

Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT v Praze, simandle@vscht.cz

Úvod

V průběhu posledních 150 let zažila lidská populace drastické zvýšení konzumace živočišných tuků a olejů bohatých na omega-6 mastné kyseliny se současným snížením příjmu omega-3 mastných kyselin. Výsledkem se stalo několikanásobné zvýšení poměru omega-6/omega-3 mastných kyselin z 1-2:1 až na 15:1 až 20:1, jež se týká životosprávy obzvláště zemí na americkém kontinentu. To ukazuje na výrazně nižší příjem omega-3 mastných kyselin, jejichž bohatým zdrojem jsou mořští živočichové a ryby. A právě ty v mnoha případech chybí na pravidelném jídelníčku.^{1,2}

V součastnoti vlády států Francie, Belgie, Velká Británie, Nizozemsko, Nový Zéland, Austrálie a zdravotnické organizace jako jsou FAO/WHO, American Dietetic Association, American Heart Association vydaly doporučení přijímat omega-3 polyneenasycené mastné kyseliny v celkovém množství od 1,4 do 2,5 g/den, s hodnotami 140 až 600 mg/den konkrétně pro EPA a DHA. Toto množství odpovídá přibližně dvěma porcím ryby za týden (30-40 g/den). Samozřejmě nejlépe druhu s vyšším obsahem tuku, mezi něž se mohou počítat například losos, tuňák, makrela, sardinka.³

Pro ALA je zdravotně prospěšný příjem pohybující se od 1,5 do 3 g/den.⁴

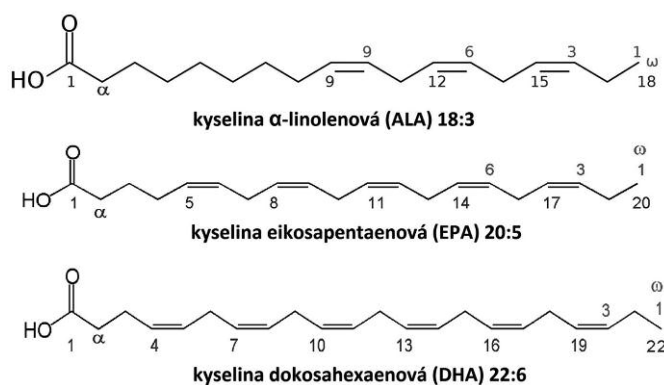
Zdraví

Velké množství EPA a DHA se nachází v nervové tkáni, a proto je důležitý dostatečný příjem omega-3 mastných kyselin obzvláště v mladém věku a v těhotenství pro správný vývoj nervové soustavy. Po místně specifické oxidaci cyklooxygenasou (substrátem je EPA) či lipoxygenasou (substrátem je EPA nebo DHA), vznikají rozdílné signální molekuly. Jako třeba eikosanoidy, k nimž patří prostaglandiny, thromboxany a leukotrieny. Ty snižují hypertenzi, zánětlivou reakci a riziko rozvoje aterosklerosy vasodilatací cév a rozpouštěním aterosklerotických plátů. Jiné zase snižují agregaci krevních destiček a tím předchází vzniku thrombů, snižují LDL cholesterol.⁵

Struktura mastných kyselin

Existuje několik kritérií, podle kterých lze dělit mastné kyseliny. Podle délky uhlíkového řetězce, stupně nasycenosti, tedy počtu C=C dvojných vazeb a podle jejich rozložení. Tento článek je zaměřen na omega-3 (n-3, ω -3) mastné kyseliny, jejichž společným znakem je, že mají první C=C dvojnou vazbu na třetím uhlíku od koncového methyly. Z výživového hlediska nejvýznamnější z této skupiny jsou kyselina α -linolenová (ALA), eikosapentaenová (EPA) a dokosahexaenová

(DHA) (Obr. 1). Tyto tři látky patří také do skupiny tzv. esenciálních, tedy látek, které si tělo nedokáže samo vytvořit a musí je tedy přijímat v potravě. Tato definice není v případě EPA a DHA úplně přesná, jelikož lidské tělo disponuje enzymy ($\Delta 6$ a $\Delta 5$ desaturasa), jež přeměňují ALA postupně na EPA a DHA. Ale jejich aktivita je natolik nízká, že pro samotné zásobení organismu nestačí.



Obr. 1. Nutričně důležité omega-3 mastné kyseliny (převzato^{9, 10, 11} a upraveno)

Syntesa mastných kyselin a olejnaté mikroorganismy

Aby v mikroorganismu došlo k hromadění lipidů, je zapotřebí zajistit růst v mediu s přebytkem uhlíku a zároveň omezeným množstvím dusíku (ačkoliv podobným způsobem mohou být použity i ostatní živiny, dusík je v tomto ohledu použit nejčastěji). Jak mikroorganismus roste, rychle spotřebuje zásoby dusíku. Stále však pokračuje vstřebávat zdroj uhlíku, kterým bývá často glukosa nebo jí podobný cukr. Ten je přímo využíván na tvorbu lipidů s následnou akumulací triacylglycerolů v buňce v podobě drobných olejových kapének. Ty následně mohou tvořit až 70 % buněčné biomasy, avšak ne ve všech olejnatých mikroorganismech, které podle definice jsou schopny hromadit lipidy. Protože tedy můžeme rozlišit mikroorganismy olejnaté a ty olej v nadbytku netvořící, musí existovat také odlišnost v mechanismu, jakým oleje produkují. Rozdíl není však v biosyntéze mastných kyselin, protože ta je společná všem mikroorganismům, nýbrž ve schopnosti tento mechanismus dostatečně zásobit. Ony důležitými látkami jsou acetyl-CoA jako prekurzor pro enzymový komplex syntasy mastných kyselin (FAS, Fatty Acid Synthase) a NADPH jako nezbytný redukční činidlo. Vznik acetyl-CoA v olejnatých organismech je přisuzován aktivitě

ATP:citrátlyasy (ACL, reakce č. 1), jež se nevyskytuje ve většině neolejnatých druhů.⁶



Aby produkce acetyl-CoA byla dostatečně efektivní, musí reaktanty zmíněné reakce, konkrétně citrát, být snadno dostupné a co je důležitější, dostupné v cytosolu buňky, kde probíhá syntéza mastných kyselin. Citrát je ovšem syntetizován v Krebsově cyklu v mitochondriích. (Jak již zmíněno výše, všechny olejnaté mikroorganismy jsou eukaryota, mají tedy mitochondrie). To, co je pro olejnaté mikroorganismy unikátní a co jim umožňuje hromadit citrát je, že aktivita isocitrátdehydrogenasy jako jednoho z článků Krebsova cyklu je závislá na přítomnosti AMP. Žádná takováto závislost se neobjevuje u enzymu z neolejnatých mikroorganismů. Samotná koncentrace AMP je regulována enzymem AMPdeaminasou (reakce č. 2).



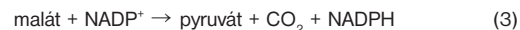
A je to právě aktivita AMPdeaminasy, která je u olejnatých mikroorganismů navýšena, pokud v růstovém mediu začne docházet k úbytku zdroje dusíku. Buňky se tím zřejmě snaží získat potřebné amonné ionty z vnitrobuněčných zdrojů.

Pro shrnutí jak tedy vypadá celá kaskáda reakcí v olejnatých mikroorganismech vedoucí ke vzniku acetyl-CoA, pokud dojde při jejich kultivaci ke snížení obsahu dusíku v růstovém mediu:

- s postupným vyčerpáním dusíku z kultivačního media začne růst aktivita AMPdeaminasy, jež se může zvýšit až 5 krát oproti stavu, kdy je zásobení dusíku z media pro buňky dostatečné
- zvýšená aktivita AMPdeaminasy snižuje množství AMP v buňce, stejně tak i v mitochondriích
- jelikož je v olejnatých mikroorganismech aktivita isocitrátdehydrogenasy závislá na přítomnosti molekul AMP, dochází ke snížení schopnosti tohoto enzymu zpracovávat isocitrát jako svůj substrát
- následné hromadění isocitrátu je však rychle vyrovnáno vznikem citrátu přes reakci katalysovanou enzymem akonitasou
- přebytečný citrát je z mitochondrie do cytosolu exportován za současné výměny s malátem
- v cytosolu je citrát rozštěpen ATP-citrátlyasou na acetyl-CoA a oxalacetát
- acetyl-CoA je následně využit pro syntézu mastných kyselin a oxalacetát je převeden malátdehydrogenasou na malát, který je jak už zmíněno převeden do mitochondrie výměnou s citrátem

Mastné kyseliny jsou vysoce redukované látky, a aby bylo možné zajistit jejich biosyntézu, je zásadní zajistit i dostačující přísun redukčního činidla jakým je NADPH. Jako hlavní zdroj přísunu NADPH pro syntézu mastných

kyselin je v dnešní době považován jablečný enzym (malátdehydrogenasa) (reakce č. 3).



Předpokládá se, že aby byl v olejnatých mikroorganismech zajištěn přímý přísun acetyl-CoA k tvorbě mastných kyselin, tvoří malátdehydrogenasa multienzymový komplex s ATP-citrátlyasou a syntasou mastných kyselin. Vzniklé mastné kyseliny jsou nakonec estřifikovány s glycerolem za vzniku triacylglycerolů a po průchodu endoplasmatickým retikulem inkorporovány do olejových váčků.⁶

Některé olejnaté mikroorganismy mohou představovat vhodný zdroj polynenasycených mastných kyselin a mohou tak být využity jako alternativa k olejům produkovaným ze zemědělských plodin a hospodářských zvířat. Ačkoliv v současnosti zastoupení mikrobiálních lipidů na trhu je zanedbatelné, je zde několik důvodů pro jejich možné uplatnění: (i) jejich schopnost rychlého růstu na paletě různých substrátů umožňuje použití levných či nulových nákladů na materiál; (ii) produkce oleje může probíhat celý rok a není závislá na nepříznivém počasí a podnebí; (iii) mikrobiální kultury mohou tvořit koncentrovanější a farmaceuticky kvalitnější polynenasycené oleje; (iv) snazší zavádění nových mutací pro zvýšení produkce mastných kyselin jako takových či konkrétně žádané mastné kyseliny.⁷

Mikroorganismů se zdatně vyšší produkcí polynenasycených mastných kyselin a s možným komerčním využitím se nabízí několik. Pro tvorbu DHA například jednobuněčné řasy *Cryptocodinium cohnii* patřící do kmene Dinophyta⁸, *Gyrodinium*, *Amphidinium* a *Gonyaulax*⁷ a heterotrofní houby *Schizochytrium spp.*, *Thraustochytrium* a *Ulkenia* patřící do kmene Heterokonta⁸. A pro produkci EPA to mohou být například řasy *Chlorella*, *Monodus*, *Polysiphonia*, *Porphyridium*, *Phaeodactylum*, *Nanochloropsis*, *Amphidinium*, *Thalassiosira*; či houby jako *Mortierella* a *Pythium*.⁷

Užitečnou zajímavostí u jednoduchých hub je, že koncentrace EPA ve vyprodukovaném oleji roste se snížením produkční teploty. Speciálně u druhu *Mortierella*, kde $\Delta 17$ desaturasa přeměňující AA na EPA je aktivována za nízké teploty, aby vzniklá EPA mohla zajistit dostatečnou fluiditu membrány i za nízkých teplot. Zároveň přidáváním AA do media je pak dosaženo výtěžku 1,9 g EPA na litr kultury.⁷

DHA produkuje několik mořských hub, z nichž *Thraustochytrium* může nahromadit až 50% této mastné kyseliny v oleji. Bohužel, ale produkce oleje u této houby je na nízkých 10 – 15% a rychlost růstu buněk taktéž. Zato druh *Schizochytrium* se jeví jako vhodnější, jelikož za 5 dnů kultivace je schopen vytvořit 15,5 g DHA/L.⁷

Závěr

Rostoucí zájem o polynenasycené mastné kyseliny spolu s jejich důležitostí pro zdraví a správnou výživu,

otevřít dveře pro hledání nových zdrojů těchto mastných kyselin, než které nabízejí tradiční procedury produkce ze zemědělských plodin a zvířat. S rozmachem biotechnologie v posledních desetiletích se zdají mikroorganismy jako vhodný nevyužitý zdroj se značným potenciálem. Avšak zaměření se na produkci vysoce ceněných polynenasycených omega-3 mastných kyselin mikroorganismy jako nižší houby a řasy, vyžaduje poznání, jak mikroorganismy řídí a regulují biosyntetický aparát tvorby mastných kyselin, aby bylo možno získat žádané mastné kyseliny v dostatečně vysokém výtěžku. Využití biotechnologie mikroorganismů sebou

přináší nespočet výhod jako použití levných kultivačních medií a celoroční produkce oproti prozatím zcela převažující výrobě rostlinné a živočišné. Zásadním parametrem rozšíření se mikrobiologicky vyprodukovaných mastných kyselin se v současné době jeví samotné prosazení na trhu a schopnost ekonomicky konkurovat zaběhlému a nesrovnatelně většímu odvětví tradiční výroby. V neposlední řadě zde také hraje roli společenské povědomí a určitá skepse vůči mikroorganismům samotným, nehledě pak na ty, které by nesly označení GMO.

Literatura

1. Simopoulos A. P.: *Poultry Sci.* 79, 961 (2000).
2. Russo GL: *Biochem.Pharmacol.* 77, 937 (2009).
3. Harris WS: *J.Cardio.Med.* 8, 50 (2007).
4. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ: *J.Am. Assoc.* 106, 2747 (2002).
5. Coste OM, Legry V, Leclercq IA: *Gastroenterol.Res.Practice* 2011, (2010).
6. Ratledge C: *Biochimie* 86, 807 (2004).
7. Certik M., SHIMIZU S.: *Journal of Bioscience and Bioengineering* 87, 1 (1999).
8. Yang HL, Lu CK, Chen SF, Chen YM, Chen YM: *Marine Biotechnol.* 12, 173 (2010).
9. <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/b1/ALAnumbering.png> (19. 2. 2011)
10. <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/02/EPAnumbering.png> (19. 2. 2011)
11. <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0f/ALAnumbering.svg> (19. 2. 2011)

Souhrn

Šimandl P.: Mikrobiální produkce omega-3 mastných kyselin

V průběhu posledních několika desetiletí se upírá stále větší pozornost na roli omega-3 mastných kyselin pro lidský organismus. Mnoho mezinárodních studií upozorňuje na snížený příjem těchto mastných kyselin, jež je spojován s nárůstem kardiovaskulárních onemocnění, hypertensí, mentálních retardací, obezity a diabetes 2. typu. Tento zvýšený zájem se promítá i do hledání nových zdrojů produkce omega-3 mastných kyselin. To spolu s rozvojem biotechnologií vede ke snaze vyrovnat se stávající tradiční produkci olejů z rostlin a živočichů kontrolovanou výrobou pomocí olejnatých mikroorganismů, které vykazují vyšších lipidových výtěžků.

Klíčová slova: polynenasycené mastné kyseliny (PUFA), omega-3 (n-3) mastné kyseliny, esenciální mastné kyseliny, eikosapentaenová kyselina (EPA), dokosaheptaenová kyselina (DHA), olejnaté mikroorganismy, kardiovaskulární onemocnění

Summary

Šimandl P.: Microbial production of omega-3 fatty acids

Attention to the role of omega-3 fatty acids to the human health and disease has been continuously increased during last decades. Many international studies alert, that insufficient dietary income of omega-3 fatty acids can be connected with higher risk of cardiovascular disease, hypertension, mental illnesses, obesity and type 2 diabetes. Because of such interest, there appears to be hunger for new suitable sources of these fatty acids. All together with development of biotechnology industry lead to an effort to manage economically sustainable controlled production by oleaginous microorganisms in comparison with conventional agricultural and animal oils production.

Keywords: polyunsaturated fatty acids (PUFA), omega-3 (n-3) fatty acids, essential fatty acids, eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA), oleaginous microorganisms, cardiovascular disease

SOUČASNÉ TRENDY V GENOVÉ MODIFIKACI RÝŽE

Lucie Ježková

Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT v Praze

Úvod

Rýže je v současné době jednou z nejdůležitějších plodin na světě a základním zdrojem obživy pro většinu obyvatel asijského kontinentu. Po stovky let zemědělci tuto rostlinu pěstovali a šlechtili klasickými metodami především za účelem zvýšení produkce. S rozvojem technik genového inženýrství se stále častěji dostávají do popředí metody moderního šlechtitelství, kdy se cíleně do genomu rostliny vnese gen nebo geny (nejčastěji transformací pomocí agrobakterií – agroinfekce, či biolistickým „nastřelením“ DNA do buněčného jádra) zodpovědné za vylepšení některých vlastností rostliny (zvýšení nutriční hodnoty, rezistence, odolnosti vůči stresu, ...). Tento relativně nový způsob umožňuje oproti klasickým metodám šlechtitelství vnášet do rostliny definované geny, z různých organismů, propůjčující rostlině nové vlastnosti. Takové rostliny (nazývány též geneticky modifikované, GM) podléhají přísným opatřením kontrolních institucí a především pokud jsou určeny k přímé konzumaci člověkem, bývá jejich uvedení do běžného provozu velmi vzácné.

Odrůdy se zvýšenou nutriční hodnotou

Rýže je dobrý zdroj proteinů, vlákniny, lipidů, různých minerálů (K, P, Mg, Ca, Na, I, Cu) a vitamínů (thiamin-difosfát, riboflavin, niacin, vitamin B6, kyselina listová, ...), avšak obsah vitamínu A, E, železa a zinku je minimální či žádný. V mnoha rozvojových zemích, kde rýže představuje hlavní zdroj výživy, nedostatek vitamínu A a železa (Fe) přispívá k vysoké úmrtnosti dětí a matek. Přes 400 milionů lidí trpí nedostatkem vitamínu A, který je nezbytný pro zajištění funkcí imunitního systému – působí antioxidantně a chrání tělní buňky, především sliznice a kůži, kde se podílí na ochraně před UV zářením. Jeho prekurzor betakaroten, je rovněž důležitou látkou v obraně organismu proti nádorům, infekčním chorobám, dně, překyselení organismu a je nezbytný pro správnou funkci zraku. Každý rok v důsledku nedostatku vitamínu A oslepne až 500 000 dětí a 70 % z nich umře. Anémie způsobená nedostatkem Fe je patrně ještě větším problémem než zmiňovaný nedostatek vitamínu A. Podle statistik postihuje deficienci Fe až 3 miliardy osob a to především děti mladší pěti let a těhotné ženy. Pomocí tradičního typu, jako je rozvoz kapslí Světovou zdravotnickou organizací pomáhají, ale vzhledem k neúnosným nákladům a nedostatečně rozšířené infrastruktuře v cílových zemích k zásadnímu snížení počtu úmrtí a oslepnutí nepřispívají. Právě zvýšené množství a dostupnost těchto látek v rýži může podstatně snížit výskyt onemocnění spojených s jejich nedostatkem^{1,2}.

S cílem řešit problém výše zmíněné deficienci vitamínu A, byla v roce 1999 vědci Ingo Potrykem a Peterem Beyerem za podpory Rockefellerovy nadace vyvinuta tzv. zlatá rýže. Své označení nese díky charakteristickému zlatavému zbarvení, které je způsobené obohacením o přidané geny umožňující syntézu betakarotenu (prekurzor vitamínu A) v zrníčkách rýže. Celý projekt se však setkal s poměrně velkým nesouhlasem odpůrců GM rostlin, ekologických skupin, představitelů katolické víry a spousty dalších. Jedním z argumentů byl také fakt, že hladina provitaminu v této rýži je malá, dosahuje jen asi 2 µg/g rýže, přičemž doporučený denní příjem je 500 – 850 µg vitamínu^{1,3}. Takové množství ochraňuje tělo před klinickými znaky avitaminózy a umožňuje tělu normální růst a vývin. Tento problém byl vyřešen s nástupem nové „výkonnější“ GM rýže. Zlatá rýže 2 tvoří ve srovnání se svou starší předchůdkyní mnohonásobně více žádoucího provitaminu A. Původní zlatá rýže byla obohacena o tři vektory nesoucí mimo jiné důležité geny pro biosyntetickou dráhu betakarotenu v endospermu. První gen z půdní bakterie *Erwinia uredovora* kóduje enzym fytoen desaturasu, druhý gen z karafiátu fytoen synthasu a třetí gen lycopen β-cyklasu rovněž z karafiátu. Právě produkt druhého zmíněného genu bránil vyšší produkci provitaminu u rostlin a tak byl o několik let později nahrazen odpovídajícím genem z kukuřice, čímž bylo dosaženo až třicetisedminásobné produkce provitaminu A. Tvůrcem zlaté rýže 2 je společnost Syngenta, která své vlastnictví věnovala humanitární organizaci Humanitarian Rice Board. Produkce zlaté rýže by měla být schválena ve Filipínách, Indii a Bangladéši začátkem roku 2012, následně pak v Indonésii a Vietnamu. Předpokládá se, že bude poskytována zdarma malým farmářům z rozvojových zemí^{1,2,3}.

Dlouhodobou strategií pro snížení anémie z nedostatku Fe je klasická prevence fortifikací jídla, která však s sebou nese několik technických problémů. Sloučeniny železa s relativně vysokou dostupností jako je například síran železnatý, často způsobují nevhodné barevné a chuťové změny, zatímco látky, které tuto vadu nemají, jako je elementární železo, jsou často velmi málo absorbovány. Po vzoru zlaté rýže tak přišli vědci s nápadem vytvoření GM rýže se zvýšeným obsahem Fe. Zrna běžné rýže obsahují malé množství Fe a navíc kyselinu fytoovou, která výrazně snižuje absorpci Fe lidským zažívacím traktem. Pro zvýšení jeho obsahu byl vědci Lucca a kol. do rýže vnesen gen ze zelených fazolí pro syntézu proteinu ferritinu (hlavní zásobní forma Fe) a pro zvýšení jeho biologické dostupnosti termotolerantní fytasy z *Aspergillus fumigates* degradující kyselinu fytoovou. Dále byla u této rýže zvýšena

exprese endogenního metallothioneinu bohatého na cysteinové zbytky, které jsou považovány za hlavní "posilovače" absorpce Fe. Těmito modifikacemi byl v rostlinách zvýšen obsah dostupného Fe na přibližně dvojnásobnou hladinu⁴.

Odrůdy se zvýšenou odolností vůči škůdcům a chorobám

Rýže je náchylná k mnoha škůdcům a chorobám způsobenými různými mikroorganismy. Zemědělci proti nim bojují především chemickými postřiky, které jsou však většinou toxické i pro člověka. Často se potom stává, že nehledě na to, že na plantážích vyhubí vše živé, dochází i k otravám rolníků pracujících na poli. Škůdci se navíc postupem času postřikům přizpůsobují. S objevem a dostupností genů zodpovědných za rezistenci vůči různým škůdcům rýže začali genetici vyvíjet nové odolné GM odrůdy.

Zamoření rýžových farem motýlem travaříkem (*Chilo suppressalis*), jehož housenky se zavrtávají do stonku rýže a požírají ho, způsobuje velmi vysoké škody na úrodě, až kolem 30%. Klasické vyšlechtění rezistentní odrůdy je velmi obtížné, protože rýže přirozeně neobsahuje žádný gen umožňující rezistenci k tomuto škůdci. Mnoho laboratoří proto využívá moderních šlechtitelských metod k vytvoření lokálních kultivarů obsahujících *Bt* (*Bacillus thuringiensis*) geny (*cry1Aa*, *1Ab*, *1Ac*, *2A*, *1B* nebo kombinaci těchto genů) zodpovědné za tvorbu toxické bílkoviny pro můry a motýly. Dalším genem, který je genetickou modifikací vnesen do rýže je gen rostliny Vigny čínské kódující syntézu proteinu s vlastností inhibitoru proteas, který housenkám travaříka blokuje trávení bílkovin. První polní testování *Bt* rýže bylo uskutečněno v roce 1998, avšak do dnešní doby nebyla žádná *Bt* rýže legalizována ani komerčně využita. V roce 2009 vydalo čínské ministerstvo zemědělství bezpečnostní certifikát pro dva kultivary *Bt* rýže (Huahui No. 1 a Shanya 63) s možností širokoplošného pěstování od roku 2012. Očekává se, že do roku 2015 bude dále schválena ve Filipínách, Bangladéši, Indii, Indonésii a Vietnamu^{5,6,7}.

Xanthomonas oryzae je původcem bakteriální sněti rýže. Vyskytuje se převážně v jižních oblastech Asie a při vypuknutí epidemie může vést až k 50 % ztrátám na úrodě. S objevem genu *Xa21*, který je přítomný v divokém typu rýže *Oryza longistaminata* a který propůjčuje rostlině rezistenci vůči této chorobě, bylo vytvořeno několik odrůd rýže odolných vůči této chorobě. Testování některých transgenních linií bylo provedeno v Číně, Indii a Filipínách, zatím však nebyly využity komerčně⁸.

Dalším významným škůdcem rýže je houbový patogen *Rhizoctonia solani*. Snahy pro vytvoření rýže s rezistencí k tomuto patogenu vedly k inkorporaci genů kódujících chitinasu, β -1,3-glukanasové enzymy, které metabolizují fungální buněčnou stěnu a další tzv. patogen-related proteins (PR proteiny). Zvýšení aktivity těchto PR proteinů je indukováno houbovými elicitory a vede k obraně rostliny před patogenem^{5,9}.

Virus žluté skvrnitosti rýže je přenášen hmyzími vektory a způsobuje vysoké ztráty výnosu produkce rýže v Africe, až kolem 70 %. Transgenní odrůda rýže rezistentní vůči tomuto viru byla vytvořena vložením ORF2 (open fading frame 2) obsahující geny pro serinovou proteasu a RNA dependentní RNA polymerasu) z viru žluté skvrnitosti do genomu rýže. Bylo využito faktu, že expresí a translací transgenního genu patogenu může docházet k interakci se samotným virovým replikačním cyklem a může tak být přerušena patogenese viru. Touto metodou skupina Pinto a kol. vytvořila 12 transgenních linií rezistentních k viru způsobujícímu žlutou skvrnitost rýže, a jedna linie dokonce vykazovala rezistenci k izolátům získaných z různých míst Afriky¹⁰.

Odrůdy se zvýšenou rezistencí k abiotickému stresu, herbicidům a pesticidům

Rýže je rostlinou, která pro svůj růst vyžaduje vysoké množství vody – přibližně dvakrát až třikrát více než ostatní plodiny. Problémy jako je nedostatek vody a vysoká salinita vedly ke snaze vyprodukovat rostlinu odolnou vůči těmto stresovým podmínkám. Užitím *HRD* genů modelové rostliny *Arabidopsis thaliana* v rýži, byla díky zvýšení fotosyntetické asimilace a snížení respirace zvýšena účinnost využití vody rostlinou a vytvořena tak rýže s odolností vůči suchu. Navíc byly do rostliny vloženy geny *CBF3/DREB1A* a *ABF3* zvyšující toleranci k vyšší salinitě a suchu a bakteriální geny *E. coli* pro syntézu a akumulaci trehalosy, která rovněž zvyšuje toleranci rostliny k suchu, solím a chladu¹¹. Užití trehalosy, neredukujícího disacharidu glukosy, který stabilizuje dehydratované enzymy, proteiny a lipidové membrány a chrání biologické struktury před poškozením během vysychání u rostlin rýže, bylo popsáno vědci Garg a kol. v roce 2002¹².

Již v roce 1992 bylo publikováno vytvoření transgenní linie rýže rezistentní ke komerčnímu herbicidu vyvinutého firmou Bayer CropScience často používaného v zemědělství. Postupem času byly stejnou firmou vytvořeny kultivary rezistentní vůči aktivní složce vlastních herbicidů – LL601, LL62 a LL06. Kultivary rýže umožňují selektivní ničení plevelu, aniž by došlo k poškození samotné rýže. Za rezistenci vůči herbicidu byl zodpovědný vnesený bakteriální gen pro tvorbu fosfinothricin acetyltransferasy, která převádí aktivní toxickou molekulu fosfinothricin (také glufosinát) přítomnou v herbicidu na netoxickou neacetylovanou formu. Nebezpečí užívání této GM rýže nespočívá ani tak v rýži samotné, jako spíše v herbicidu, vůči kterému je rezistentní. Fosfinothricin inhibuje aktivitu glutaminsynthetasy, která je nezbytná pro produkci amino-kyseliny glutamin a pro detoxifikaci amoniaku. Aplikace herbicidů s touto látkou tedy vede k redukci glutaminu a nárůstu hladiny amoniaku v rostlinných tkáních což má za následek zastavení fotosyntézy a smrt rostliny během několika dní. Glufosináty také inhibují stejný enzym u zvířat a byl prokázán nepříznivý vliv na jejich zdraví. V USA byl kultivar LL62 povolen k pěstování^{13,14}.

Japonským vědcům se podařilo zvýšit odolnost rýže dokonce vůči 13 herbicidům a pesticidům. Do rostliny rýže vložili lidský gen, jehož produkt, protein CPY2B6, odbourává v lidském těle chemické škodliviny. Zjistili, že insercí tohoto genu z lidských jater, poskytuje rýži odolnost vůči třinácti druhům chemických prostředků na hubení plevelu. Doposud byl k posílení této schopnosti využíván pouze gen z bakterie, který však byl účinný pouze proti jednomu prostředku (viz předchozí odstavec)¹⁵.

Využití GM rýže v biofarmacii

V současné době směřují genetické modifikace rýže k tvorbě odrůd, využívaných jako prostředek k produkci některých farmaceutických látek, včetně vakcín. Jedním z příkladů je vývoj orální vakcíny obsahující podjednotku antigenu cholera toxin B (CTB), která je produkována transgenní odrůdou rýže. Antigen je akumulován v proteinových tělískách škrobových buněk endospermu, které při trávení interagují se slizničními buňkami gastrointestinálního traktu a dochází tak k indukci antigen specifické slizniční odpovědi a neutralizační aktivity. Vakcína je navíc poměrně stabilní. Může se uchovávat při laboratorní teplotě po dobu minimálně 1,5 roku a není štěpena pepsinem *in vitro*. S využitím stejného principu mohou být v rýži produkovány i další vakcíny proti nemocem dýchacího a gastrointestinálního traktu¹⁶.

Ve světě je běžnou praxí přidávat antibiotika do krmiva hospodářských zvířat za účelem "vylepšení" jejich zdraví, produktivity, kvality masa a nárůstu svalové hmoty (v EU je tato praxe zakázána). Takovéto obohacování potravy zvířat je však poměrně nebezpečné pro člověka kvůli možnému vzniku multirezistentních kmenů bakterií. Proto lidé hledají alternativní strategii k nahrazení antibiotik. V březnu 2002 byla publikována studie, ve které byli krmeni brojleři GM rýží s vloženými geny pro lidský lactoferin a lysozym ochraňující střevní trakt stejně jako subterapeutické dávky antibiotik (bacitracin a roxarson). Lactoferin a lysozym jsou antibakteriální látky přirozeně přítomné ve slizničním sekretu a mléce, kde poskytují ochranu vůči bakteriím a navíc jsou vysoce rezistentní k hydrolýze kyselinami a proteasami přítomnými v gastrointestinálním traktu. Experiment ukázal, že brojleři krmění touto GM rýží měli prokazatelně lepší histologický index zdraví střeva a zvýšenou bakteriostatickou aktivitu¹⁷.

Alergenní reakce v současné době postihují stále více obyvatel naší planety. Současná terapie je často nespecifická, drahá a je spojena s nežádoucími vedlejšími efekty. Japonští vědci připravili GM rýži, která by měla pomoci lidem trpícím alergií, která postihuje 20% japonské populace a je způsobena bílkovinami z japonského cedrového pylu. Pojídáním této rýže se imunitní systém "posílí" a přestane na pylová zrna přehnaně reagovat. Vědci do genomu vložili geny, které kódují 7 peptidů s rolí epitopů (*7Crd*) odvozených právě z cedrového pylu. Vzhledem k tomu, že se tyto peptidy v transgenní rýži akumulují především v tzv.

prolaminových proteinových tělískách odvozených od endoplasmatického retikula, jsou při požití odolné i k enzymům v gastrointestinálním traktu. V roce 2009 byly provedeny studie s makaky, které potvrdily bezpečnost této rýže při požití. Nyní je vývoj ve fázi čekání na zahájení testů s lidskými dobrovolníky¹⁸.

Začátkem března roku 2008 byla publikována studie, ve které bylo využito buněčné suspenze rýže k produkci lidského růstového hormonu (hGH). hGH hraje zásadní roli v růstu, ovlivňuje buněčnou proliferaci, metabolismus i proteosyntézu a spouští dalších biologických funkcí. Vnesený transgen je syntetickou formou hGH pod kontrolou silného rýžového promotoru pro amylasu. Výhodami produkce hGH v buněčné suspenzi rýže je jednoduchá purifikace, nízká cena kultiivačního média a nízká možnost kontaminace savčími viry a bakteriálními toxiny¹⁹.

Zhruba před třemi lety byl v *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* publikován článek, ve kterém se vědci zabývají GM odrůdou rýže, která by mohla produkovat 2 důležité proteiny k urychlení zotavení z průjemových onemocnění. Ta jsou ročně příčinou smrti až 1,8 milionů dětí. GM rýže produkuje dva proteiny vyskytující se v mateřském mléce – lactoferin a lysozym, které jsou aktivní vůči širokému spektru bakterií, virů, parazitů a plísní. Klinické studie v Peru provedené na 140 chlapcích ve věku 5 – 33 měsíců s akutním průjemovým onemocněním prokázala, že po přidání těchto dvou rekombinantních lidských proteinů produkovaných v rýži do roztoku pro dehydrataci nemocných, vede ke snížení doby trvání průjemových onemocnění a urychluje celkové zotavení. V březnu roku 2007 společnost Venteria Bioscience, které patří výše zmíněná GM rýže, obdržela povolení od ministerstva zemědělství USA k velkoplošnému pěstování rýže v Kansasu²⁰.

Odrůdu GM rýže publikované v článku kolektivem Shrawat a kol. nelze zařadit ani do jedné z popsaných skupin. Popisují v něm vývoj GM rýže, která by absorbovala dusík mnohem účinněji než normální odrůdy a potřebovala by tak méně hnojiv. Dusík z hnojiv nespotebovaný rostlinami je využíván půdními mikroorganismy a přeměňován na oxid dusný, který v současnosti představuje největší nebezpečí pro ozonovou vrstvu a velkou měrou tak přispívá ke klimatickým změnám. Transgenní rostliny vytvořené insercí genu ječmene *AlaAT* kódujícího alaninaminotransferasu řízeného tkáňově specifickým promotorem rýže vykazují nárůst biomasy, výrazné změny v obsahu klíčových metabolitů a celkovém obsahu dusíku. Tyto změny skutečně ukazují na vyšší účinnost absorpce dusíku GM rostlin rýže²¹.

Závěr

Potenciál využití rýže ke genovým modifikacím je obrovský. Řadí se mezi nejvíce pěstované plodiny na světě a již několik let je znám její genom. Tento článek dává přehled, jakými směry se genové manipulace rýže ubírají. Celkem pochopitelně se nejdříve vyvíjely

GM odrůdy se zvýšenou odolností vůči různým škůdcům, mikroorganismům a stresovým faktorům, se kterými rýže přichází nejčastěji do styku, a které výrazně snižují její výnosy. Následovala generace GM rýže se zaměřením na zvýšení nutriční hodnoty. Jedná se především o obohacení rýže o látky, které jsou v ní přítomny v minimálním či žádném množství jako je například vitamin A, vitamin E a Fe. Tyto odrůdy jsou vyvíjeny téměř výlučně pro obyvatele rozvojových zemí, kde je rýže hlavní potravinou a kteří v důsledku nedostatku těchto esenciálních látek trpí různými nemo-

cemi. V posledních několika málo letech se vyčleňuje třetí rozsáhlá skupina GM rýže určená k produkci vakcín či různých terapeutických látek s pozitivním efektem na zdraví člověka. Ačkoliv jsou vědečtí pracovníci schopni transgenozí vytvořit mnoho vylepšených odrůd rýže, pouze malému procentu se dostane skutečného využití. Zdlouhavé schvalovací protokoly, strach z GM plodin, nedostatečné zkušenosti s dlouhodobým pěstováním a mnohdy i etický odpor zabraňují využití těchto velmi užitečných produktů.

Literatura:

1. Miller HI.: *Trends Biotechnol.* 27, 129 (2009).
2. Paine JA, Shipton CA, Chaggar S, et al.: *Nat Biotechnol.* 23, 482 (2005).
3. Ye X, Salim AB, Kloti A, et al.: *Science* 287 (2000).
4. Lucca P, Hurrell R, Potrykus I.: *J Am Coll Nutr.* 21, 184 (2002).
5. <http://www.isaaa.org/resources/publications/pocketk/37/default.asp>, staženo 8. listopadu
6. Ho NH, Baisakh N, Oliva N, et al.: *Crop Sci.* 46, 781 (2006).
7. High SM, Cogen MB, Shu QY, et al.: *Trends Plant Sci.* 9, 286 (2004).
8. Zhang S, SongWY, Chen L, et al.: *Mol Breed* 4, 551 (1998).
9. Datta K, Tu J, Oliva N, et al.: *Plant Sci.* 160, 405 (2001).
10. Pinto YM, Kok RA, Baulcombe DC.: *Nat Biotechnol.* 17, 702 (1999).
11. Karaba A, Dixit S, Greco R, et al.: *Proc Natl Acad Sci USA* 104, 15270 (2007).
12. Garg AK, Kim JK, Owens TG.: *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 15898 (2002).
13. Datta SK, Datta K, Soltanifar N, et al.: *Plant Mol Biol.* 20, 619 (1992).
14. <http://ucbiotech.org/resources/factsheets/LibertyLink.pdf>, staženo 8. listopadu
15. Hirose S, Kawahigashi H, Ozawa K, et al.: *J Agric Food Chem.* 53, 3461 (2005).
16. Nochi T, Takagi H, Yuky Y, et al.: *Proc Natl Acad Sci USA* 26, 10986 (2007).
17. Humphrey BD, Huang N, Klasing KC.: *J. Nutr.* 132,1214 (2002).
18. Domon E, Takagi H, Hirose S, et al.: *J Agric Food Chem.* 57, 5633 (2009).
19. Kim TG, Baek MY, Lee EK, et al.: *Plant Cell Rep.* 27, 885 (2008).
20. Zavaleta N, Figueroa D, Rivera J, et al.: *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 44, 258 (2007).
21. Shrawat AK, Carroll RT, DePauw M, et al.: *Plant Biotechnol J.* 6, 722 (2008).

Souhrn

Ježková L.: Současné trendy v genové modifikaci rýže

Díky důležitosti rýže jako hlavního zdroje obživy většiny asijského kontinentu, poměrně malé velikosti genomu (cca 430 milionů bp) a díky známé nukleotidové sekvenci genomu, je tato rostlina velmi častým organismem pro genetické manipulace. Transgenoze umožňuje oproti klasickému šlechtění cíleně vytvářet nové – lepší odrůdy kulturních rostlin. Tento souhrnný článek podává přehled různých odrůd geneticky modifikované rýže a jejich využití jak k ochraně rostlin samotných (rezistence vůči herbicidům, virům, bakteriím), tak i k ochraně zdraví člověka (zlatá rýže, produkce vakcín).

Klíčová slova: geneticky modifikované rostliny, transgenní rýže

Summary

Ježková L.: Current trends in gene modification of rice

Due to the importance of rice as a main source of food of almost whole Asian continent, relatively small size of genome (430 millions bp) and due to the known nucleotide sequence of genome – this plant is very frequently used for gene manipulation. In contrast to classical breeding, the transgenese makes possible to create new and better cultivars of plants. This article gives overview of variety of cultivars of genetically modified rice and their usage for protection of own plants (herbicide resistance, virus and bacterial resistance), as well as for the protection of human health (golden rice, production of vaccines).

Keywords: genetically modified plants, transgenic rice

SOUČASNÝ POHLED NA VZTAH LUTEINU A ZDRAVÍ ČLOVĚKA

Kamila Šigutová

Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha, sigutovk@vscht.cz

Úvod

Karotenoidy jsou nyní často skloňovány jakožto anti-kancerogenní a antioxidační látky. Jedná se o rostlinná a mikrobiální barviva mající jak pomocnou úlohu v procesu fotosyntézy, tak protektivní funkci vůči fotooxidativnímu poškození buněčných membrán.¹ V živočišném těle mají nezastupitelnou funkci jako prekurzory vitamínu A i v boji proti volným radikálům. Mohou tak pomoci předcházet některým onemocněním, jako jsou šedý zákal, různé druhy rakoviny nebo onemocnění kůže.² Jednou ze skupin karotenoidů jsou xantofyly neboli oxokarotenoidy, například lutein a jeho isomer zeaxantin. Oba tyto karotenoidy mají velký význam při zachování správné funkce oka. Lutein ale blahodárně působí i jinde v organismu, například v kůži nebo při obraně proti rakovinnému bujení a kardiovaskulárním chorobám. Je tedy v poslední době intenzivně zkoumán a doporučován jako vhodný doplněk stravy.²

Xantofyly

Xantofyly nepatří mezi prekurzory vitamínu A a v organismu mají pravděpodobně hlavně ochrannou funkci. Jejich struktury (obr. 1) obsahují hydroxylové skupiny na obou β-iononových kruzích, což velmi ovlivňuje jejich vlastnosti.^{2,3} Jsou více hydrofilní než ostatní karotenoidy, mohou tedy po rozpuštění v lipidových dvojvrstvách reagovat s reaktivním singletovým kyslíkem nejen uvnitř, ale i ve vodné fázi okolo membrán.^{3,4,5} Tato ochrana proti poškození je doplněna schopností luteinu i zeaxantinu absorbovat záření o vlnové délce okolo 446 nm, čímž odfiltrují z viditelného spektra vysokoenergetické modré světlo, které je nebezpečné jak pro rostlinné, tak pro živočišné buňky.² Polární karotenoidy byly nalezeny

i v membránách halofilních a termofilních bakterií. Pravděpodobně zde mohou, podobně jako v živočišných buňkách cholesterol, ovlivňovat rigidnost a odolnost vůči průniku malých molekul.⁴

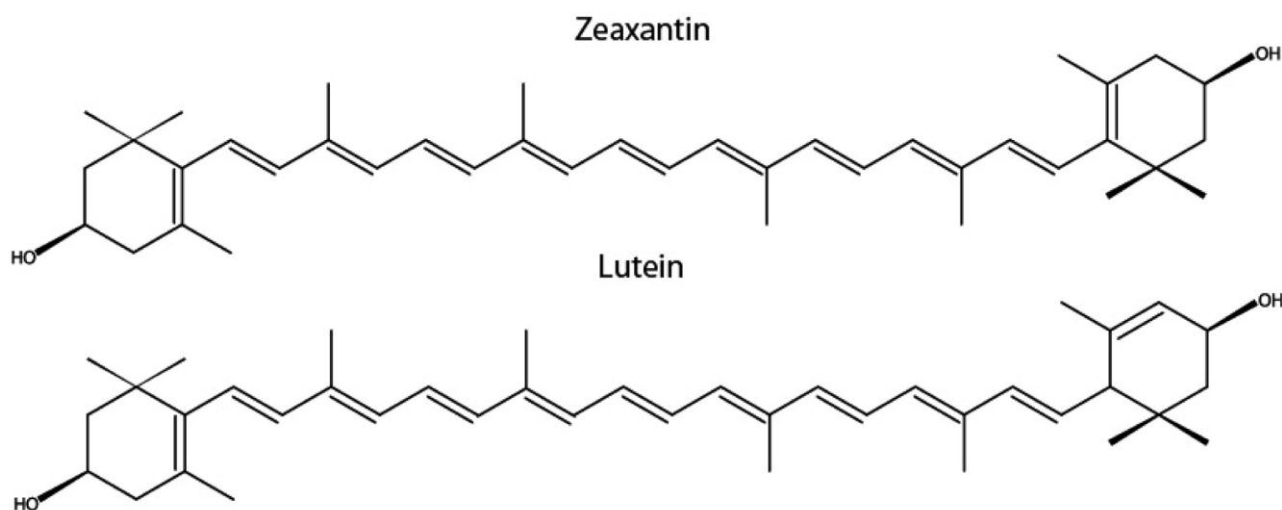
Lutein v lidském těle

Lutein je druhým nejvíce zastoupeným karotenoidem v lidském séru. Jelikož jej člověk ani zvířata nedokáží syntetizovat, je nutné jej přijímat potravou. Bohaté jsou na něj některé druhy zeleniny, obzvláště ty s tmavě zelenými listy, nebo ovoce a zelenina oranžové barvy. Vysoký obsah luteinu byl zjištěn také ve vaječných žloutcích.^{2,3,4} Bylo zjištěno, že xantofyly jsou z gastrointestinálního traktu lépe vstřebávány než ostatní karotenoidy.⁴ V tělním oběhu je lutein transportován pomocí různých druhů lipoproteinů.^{4,5}

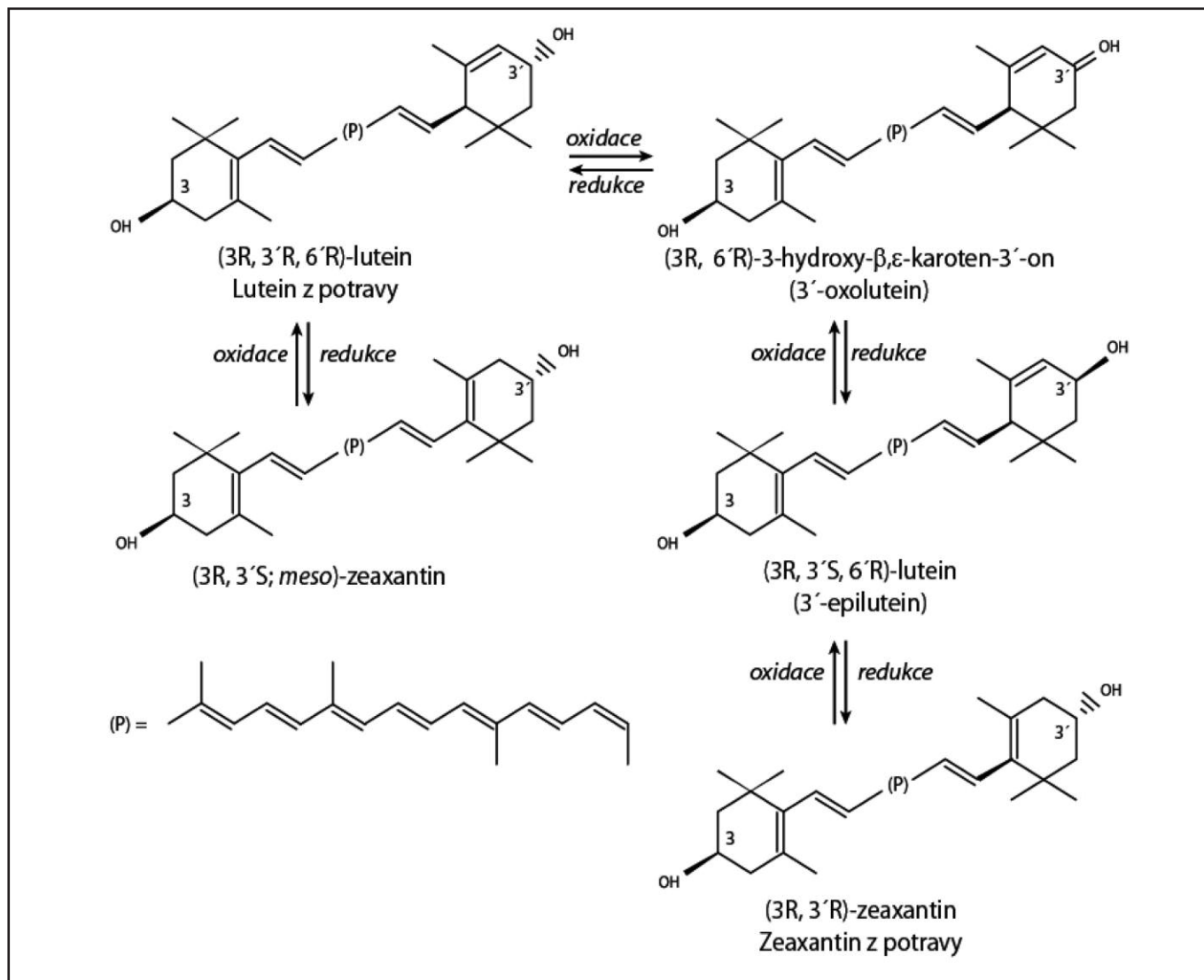
Lutein se nachází v mnoha tkáních, nejvíce je však akumulován v čočce a na sítnici oka, hlavně v místě tzv. žluté skvrny (Macula lutea), oblasti, díky níž dokážeme kupříkladu rozlišit jemné detaily.^{4,5} Tvoří zde nejvyšší koncentraci karotenoidů v těle (až 1 mmol/l).⁵ Tak vysokého množství xantofylu je docíleno i účastí nedávno identifikovaného lutein-vázacího proteinu.^{7,4}

Věkem podmíněná makulární degenerace

Degenerativní onemocněním postihujícím právě žlutou skvrnu je věkem podmíněná makulární degenerace (VPMD, age-related macular degeneration, AMD). Tako choroba je nejčastější příčinou zhoršení zraku a slepoty lidí po 65. roce života.⁶ Projevuje se hlavně v centrálním vidění. Pacienti mají problémy se čtením, řízením i rozeznáváním tváří.⁵ Jsou známy dvě formy nemoci. „Suchá“ VPMD má pomalejší průběh a je čas-



Obr. 1: Struktura zeaxantinu a luteinu



Obr. 2: Produkty oxidačního metabolismu luteinu a zeaxantinu nalezené v buňkách sítnice¹³

tější (85 % pacientů) a neléčitelná, při „vlhké“ formě dochází k rozvoji daleko rychleji, ale existuje zde možnost terapie.^{6,8}

S rostoucím věkem postupně dochází ke snižování aktivity retinálního pigmentového epitelu, který s cévnatkou a Bruchovou membránou tvoří hemoretinální bariéru. Klesá tudíž jak výživa, tak odstraňování odpadních látek. Na sítnici začínají vznikat tzv. drůzy. Dále pak onemocnění pokračuje degenerací retinálního pigmentového epitelu, což se projeví úbytkem fotoreceptorů v makule a ztrátou centrálního vidění.^{6,8}

Při „vlhké“ formě může dojít díky změnám v Bruchově membráně k neovaskularizaci, přičemž nové cévy prorůstají do prostor pod pigmentovým epitelem, což vede ke vzniku otoku, krvácení, případně až zjizvení tkáně. Následkem je rychlé zhoršení zraku.^{6,8}

Mnoho studií naznačuje, že zvýšený příjem luteinu potravou zvyšuje jeho množství v plasmě i ve žluté skvrně, což může snížit riziko vzniku nebo zhoršení VPMD.^{2,5,6,10} Při některých studiích bylo dokonce zaznamenáno i zlepšení stavu při VPMD.¹¹

Významnou roli hraje ochrana proti volným radikálům. Sítnice je totiž velmi náchylná k oxidativnímu

poškození díky vysokému obsahu polynenasycených mastných kyselin (polyunsaturated fatty acids, PUFA), které jsou snadno peroxidovatelné. V této oblasti také dochází díky vysokoenergetickému krátkovlnnému záření ke vzniku reaktivních forem kyslíku (reactive oxygen species, ROS), které poškozují lipidy, proteiny a nukleové kyseliny v makule. Toto kumulativní oxidační poškození je pravděpodobně příčinou věkem podmíněné makulární degenerace. Lutein podobně jako ostatní karotenoidy dokáže likvidovat ROS a vychytávat volné radikály. Zabráni tak peroxidaci membrán.^{3,5}

In vitro lutein snížil i tvorbu lipofuscinu, který je potenciálním fotoindukovaným generátorem ROS. Oslabuje totiž aktivitu katalasy, superoxidodismutasy a katepsinu D, což vede k peroxidaci lipidů, dysfunkci buněk retikulárního pigmentového epitelu a vzniku drůz, které jsou charakteristické pro VPMD.^{5,12}

Antioxidační vlastnosti luteinu dokazují nálezy jeho oxidačních metabolitů (jako je 3'-oxolutein, obr. 2) v buňkách oční sítnice. Tyto sloučeniny nejsou přijímány potravou, nýbrž vznikají až v organismu při reakcích s volnými radikály a ROS.^{5,13}

Další ochranou je schopnost luteinu absorbovat vysoce energetické modré světlo. Bez této pomoci by rychle došlo k poškození fotoreceptorů a následně k jejich apoptóze. Xantofyly tedy dokáží zmírnit věkem získané zhoršení zraku.⁵

Šedý zákal

Výše zmíněnými mechanismy působí lutein i proti rozvoji katarakty neboli šedého zákalu.^{2,3} Toto onemocnění, podobně jako VPMD, nejčastěji souvisí s vyšším věkem. Na oční čočce postupně díky působení oxidativního stresu dochází k precipitaci poškozených proteinů a vzniká zákal. Zhoršení zraku může vést až ke slepotě.² Studie ukazují, že lutein a zeaxantin na rozdíl od ostatních karotenoidů, dokáží snižovat rizika vzniku této choroby.^{2,3}

Kardiovaskulární choroby

Přibývá studií, které poukazují na lutein jako na prevenci kardiovaskulárních onemocnění. V pokusech *in vitro* se ukázalo, že tento xantofyl je schopen redukovat oxidaci lipoproteinů o nízké hustotě (low density lipoprotein, LDL) a inhibovat zánětlivou odpověď monocytů na LDL proniklé do stěn artérií.^{2,3,14} V jiných pokusech lutein snižoval expresi adhezivních molekul na povrchu buněk endotelu.^{2,15} Lutein a zeaxantin také vychytávají peroxydusitanové radikály.³ Výsledky epidemiologických studií jsou však nejasné. V části z vyšší hladiny luteinu v plazmě rizika kardiovaskulárních chorob snižovaly. Některé práce však žádný významný vztah nenašly.³

Zdraví kůže

Vystavení kůže UVA a UVB záření vede díky vzniku ROS k zánětlivé reakci v kožních buňkách. Na zvířecích modelech lutein toto poškození snižoval. Studie na lidech napovídají podobné výsledky, nejsou však tak jednoznačné.^{2,16}

Rakovina

Lutein jako ostatní karotenoidy má antimutagenní a antikancerogenní potenciál. Jeho vlivem na rakovinné

bujení *in vivo* se tedy zabývá mnoho studií. Na zvířecích modelech rakoviny střeva a prsu byla chemopreventivní aktivita luteinu patrná. Možnými mechanismy protirakovinného působení by dle nich mohly být regulace angiogeneze a apoptózy,^{3,17} prevence oxidativního poškození nebo modulace imunitního systému.³

Výzkumy suplementárního podávání luteinu lidem postupně potvrzují pozitivní vliv na snížení rizika vzniku rakoviny plic, kolorektálnímu karcinomu, karcinomu prostaty, vaječníků a v neposlední řadě i kůže.³

Antivirální působení

Virus hepatitidy typu B (HBV) je i přes možnost očkování i protivirovou léčbu stále hrozbou, protože může vyústit v cirhózu a hepatocelulární karcinom. Skupina Pang et al.¹⁸ zkoumala možné působení luteinu proti tomuto DNA viru *in vitro*. Z jejich pokusů na buněčné linii HepG2 vyplývá, že koncentrace luteinu vyšší než 40 µg/ml již působí cytotoxicky na jaterní buňky. Dále pomocí transienční transfekce zjistili, že lutein významně inhibuje aktivitu nezkráceného HBV promotoru a tím i transkripci virového genomu.¹⁸

Bezpečnost

Na rozdíl od vitamínu A lutein pravděpodobně nemá výrazné toxické účinky. Při podávání vyšších dávek lidem se v několika studiích objevilo jen žlutavé zabarvení kůže. Testy na zvířatech tuto bezpečnost potvrzují.^{2,19}

Závěr

Xantofyl lutein se zdá pro svou nízkou toxicitu a vysokou biologickou aktivitu ideálním doplňkem stravy. Jeho schopnost absorbovat krátkovlnné modré záření i antioxidační vlastnosti jsou velmi důležité pro udržení dobrého zraku. Působí jako prevence před onemocněním věkem podmíněné makulární degenerace i šedého zákalu. Studie napovídají i pozitivnímu vlivu na kardiovaskulární onemocnění a zdraví kůže. Nemalý je i potenciál luteinu jakožto antikancerogenní látky. Zajímavá je též jeho inhibice viru hepatitidy typu B.

Literatura

1. Tapiero H, et al.: *Biomed. Pharmacother.* 58, 100 (2004).
2. Alvares-Rodrigues A, Shao A: *Toxicol. Lett.* 150, 57 (2004).
3. Ribaya-Mercado JD, et al.: *J. Am. Coll. Nutr.* 23(6), 567S (2004).
4. Subczynski WK, et al.: *Arch Biochem Biophys* 504, 61 (2010).
5. Ma L, Lin XM, *J. Sci. Food Agri.* 90, 2 (2010).
6. Chopdar A: *Česká geriatrická revue* 3, 54 (2003).
7. Bhosale P, et al.: *Biochemistry* 48 (22), 4798 (2009).
8. Studnička J: *Interní Med.* 10 (5), 240 (2008).
9. Krinsky NI, et al.: *Annu. Rev. Nutr.* 23,171 (2003).
10. Seddon JM, et al.: *JAMA* 272,1413 (1994).
11. Richer S, et al.: *Optometry* 75, 216 (2004).
12. Sundelin SP, Nilsson SE: *Free. Radic. Biol. Med.* 31, 217 (2001).
13. Khachik F, et al.: *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 43, 3383 (2002).
14. Dwyer JH, et al.: *Circulation* 103, 2922 (2001).
15. Martin KR, et al.: *Atherosclerosis* 150, 265 (2000).
16. Roberts RL, et al.: *Clinics in Dermatology* 27, 195 (2009).
17. Chew BP, et al.: *Anticancer Res.* 23, 3333 (2003).
18. Pang R, et al.: *Phytother. Res.* 24, 1627 (2010).
19. Shao A, Hathcock JN: *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 45, 289 (2006).

Souhrn

Šigutová K.: Současný pohled na vztah luteinu a zdraví člověka

Karotenoidy jsou významnými přírodními antioxidanty, jedním z nich je i lutein. Obsahuje ve své struktuře hydroxylové skupiny, díky nimž může efektivněji vychytávat volné radikály a reaktivní formy kyslíku. Absorbuje také vysoce energetické modré záření. Tyto vlastnosti jsou důležité pro jeho působení v oku. V žluté skvrně působí proti vzniku a rozvoji věkem podmíněné makulární degenerace. Oční čočka je místem ochrany před šedým zákalem. Může přispívat ochraně před kardiovaskulárními chorobami, a to především ovlivněním vlastností epitelu a svou antioxidační aktivitou. Působí jako prevence některých typů rakoviny. *In vitro* byla prokázána jeho schopnost inhibovat transkripci genů viru hepatitidy typu B.

Klíčová slova: Lutein, Xantofyly, Věkem podmíněná makulární degenerace, Rakovina, Kardiovaskulární onemocnění, Virus hepatitidy typu B

Summary

Šigutová K.: Current view to relationship between lutein and human health

Carotenoids are important natural antioxidants. Lutein is one of them. There are hydroxyl groups in its structure and these enable lutein to scavenge free radicals and reactive oxygen species more effectively than other carotenoids. Lutein also absorbs high energy blue light. These properties play critical role in the eye. In macula lutea lutein prevents age-related macular degeneration and in lens it probably prevents formation of cataract.

Lutein can also help in fight with cardiovascular diseases, mainly due to its antioxidant properties and is also able to change the properties of epithelial cells. Lutein was also found as an anticancerogenic agent. *In vitro* it is able to inhibit transcription of the hepatitis B virus genes.

Keywords: Lutein, xanthophylls, Age-related macular degeneration, Cancer, Cardiovascular diseases, Hepatitis B virus

O B S A H

Úvodem	49
Biotech 2011 a 5. Česko-švýcarské symposium, Praha 15 – 17. 6. 2011	50
Šmehilová M.: Olomouc Biotech 2011 – Plant Biotechnology: Green for Good	52
Jírků M.: Možnosti transformace pentos na ethanol	53
Maršálová L.: Do jaké míry mohou prebiotika a probiotika ovlivnit změnu osídlení zažívacího traktu	56
Jeřábek Š.: Kmenové buňky: charakteristika, zdroje, výzkum a terapie – drobné úpravy	59
Šimandl P.: Mikrobiální produkce omega-3 mastných kyselin	62
Ježková L.: Současné trendy v genové modifikaci rýže	65
Šigutová K.: Současný pohled na vztah luteinu a zdraví člověka	69

C O N T E N T S

Editorial	49
Biotech 2011 and 5th Czech-Swiss Symposium, Prague June 15 – 17 2011	50
Šmehilová M.: Olomouc Biotech 2011 – Plant Biotechnology: Green for Good	52
Jírků M.: Options for transformation of pentoses to ethanol	53
Maršálová L.: How could prebiotics and probiotics affect changes of digestive tract colonization	56
Jeřábek Š.: Stem cells and their use in medicine	59
Šimandl P.: Microbial production of omega-3 fatty acids	62
Ježková L.: Current trends in gene modification of rice	65
Šigutová K.: Current view to relationship between lutein and human health	69

POKYNY PRO AUTORY

Rukopisy je třeba zaslat v elektronické formě e-mailem na adresu jan.kas@vscht.cz nebo na petra.lipovova@vscht.cz. Rukopis musí být opatřen plným jménem autora, názvem jeho pracoviště a e-mailovou adresou autora.

Článek má tyto části: název práce, jména autorů a pracoviště, e-mailová adresa autora, úvod, vlastní text členěný do kapitol, závěr (příp. poděkování), citace literatury, český souhrn, klíčová slova a anglický souhrn a klíčová slova.

Odkazy na literaturu se číslují v pořadí, v jakém přicházejí v textu práce, a jsou uváděny formou exponentu (bez závorek) v příslušném místě textu (včetně tabulek a obrázků). Seznam citací musí být uveden v závěru článku. Zkratky časopisů se používají podle Chemical Abstract Service Source Index.

Příklad: Guest JD, Rao A, Olson L, et al.: *J.Biochem.* 148, 502 (1997).

Novák Z.: Diplomová práce. VŠCHT, Praha 2008.

Lowestein K A: *Silicones. A Story of Research.* Wiley, New York 1979.

<http://en.wikipedia.org/wiki/Lipidomics>, staženo 3. září 1999.

Tabulky se označují římskými číslicemi. Každá tabulka je opatřena názvem a popisem umístěným nad tabulkou. Obrázky se číslují arabskými číslicemi. Každý obrázek musí být opatřen legendou umístěnou pod obrázkem, která jej činí jednoznačně srozumitelným (tj. bez nutnosti hledat nezbytné informace v textu). Obrázky zasílejte **zvlášť** v některém z běžných formátů např. TIF, JPG, CDR, EPS.

Technické parametry: typ písma Arial velikost 11, řádkování jednoduché.

BIOPROSPECT

Vydavatel:
BIOTECHNOLOGICKÁ SPOLEČNOST
Technická 3
166 28 Praha 6
IČ: 00570397

Zapsán do evidence periodického tisku a bylo mu přiděleno evidenční číslo:

MK ČR E 19409

Tiskne:
Venice s.r.o.
Za Hanspaulkou 13/875
160 00 Praha 6

ISSN 1210-1737

Neprodejné – jen pro členy Biotechnologických společností