

7. ročník (2022/23)



IBIS

Interaktivní Biologický Seminář

4. sada

Autorské řešení

MUNI | RECETOX

MUNI Ústav experimentální
SCI biologie

Níže naleznete řešení následujících úloh:

1. Rodinu si nevybereš (Eliška Pirnosová).....	3
2. Microcirculation (Magdalena Dohnalová).....	11
3. Návrat divočiny (Dorota Víchová).....	16
4. Když myš s krocanem snídá... (Vera Hanušová).....	22
5. Můžeš utíkat, ale neschováš se... (Daniel Pluskal; ve spolupráci s Ing. RNDr. Martinem Markem, Ph.D.).....	25
6. Milk (Eliška L. Frolová).....	33

Eliška Pirnosová (e-mail: eliska.pirnosova@gmail.com)

1. Rodinu si nevybereš

10 bodů

Není žádné tajemství, že to jak vypadáme, jak se chováme a na co máme talent jsme všichni do jisté míry zdědili po svých rodičích. Co když jsme od nich ale zdědili mnohem víc, než sami chceme?

V některých rodinách se dědí barva očí, jinde výrazný nos nebo podivně tvarované ušní boltce. Zdědit můžeme třeba i náchylnost zubů ke kazům, různé typy alergií, krátkozrakost nebo dalekozrakost. Mnoho rodin pak má historii nějakého dědičného onemocnění, tato onemocnění někdy také označujeme jako nemoci s familiárním výskytem, což naznačuje, že mají nějakou přímou souvislost s našimi geny. Taková onemocnění můžeme získat od svých rodičů a pak je zase s určitou pravděpodobností předat svým potomkům. V některých rodinách jsou taková onemocnění mnohem častější. Proč?

Vůbec nejzávažnějším faktorem, který násobně zvyšuje riziko opakovaného výskytu onemocnění v rámci rodiny, je příbuzenské křížení. Mezi genetiky je označováno jako inbreeding, obecně je spíše známé pod pojmem incest, který je však synonymem pro inbreeding pouze u člověka. Jak je již nasnadě, inbreeding je křížení (reprodukce nebo také rozmnožování) geneticky příbuzných jedinců. Zajisté jste o něm již někdy slyšeli a pokud jste dávali pozor, zaznamenali jste několik poměrně významných případů incestu v učebnicích dějepisu.

1. Pomocí stručných nápověd níže se pokuste odhalit 3 z nejčastěji zmiňovaných příkladů příbuzenského křížení u člověka. Pokuste se být co nejkonkrétnější – ideálně uveďte přímo jména osob, můžete připojit i obrázek rodokmenu. [1.5 b]

- a) Beagle; tangarovití; 10 dětí, avšak pouze 7 se dožilo vyššího věku než 10 let; medicína a teologie; sestřenice

Charles Robert Darwin, slavný evoluční biolog, si vzal svou sestřenicí Emmu Wedgwood. Tento Darwinův osud může některým připadat velmi ironický, protože sám se v jednom ze svých výzkumů věnoval inbreedingu (samosprašnosti) u rostlin, kde pozoroval, co bychom dnes nazvali inbrední depresí. Ze 7 dětí, které přežily věk 10 let, měly údajně alespoň 3 z nich problémy s neplodností.

- b) Císařský rod; epilepsie; výrazný spodní pysk; listopad 1700; jeho/její rodiče byli strýc a neteř

Císařský rod Habsburků. Podle nápovědy jste měli odhalit konkrétně Karla II. Španělského, posledního ze španělské větve Habsburků, který v listopadu roku 1700 zemřel a zanechal trůn bez svého následníka. Jeho otcem byl Filip IV. a matkou Marie Anna Habsburská, manželé avšak zároveň byli strýc a neteř. Karel byl velmi náchylný k mnohým nemocem, trpěl mimo jiné hydrocefalem nebo Fanconioho syndromem a vadami fyzického i mentálního vývoje. Byl také impotentní a samozřejmě nesmí chybět deformace známá jako „Habsburská čelist“, Karel kvůli ní údajně nedokázal jídlo pořádně rozžvýkat a v důsledku toho trpěl chronickými žaludečními problémy.

- c) Diabetes; alopecie; 15. stol. př. n. l.; 18. dynastie; jeho/její manželství bylo příbuzenské (nevlastní sourozenec), to samé pravděpodobně platí o svazku jeho/jejích rodičů a dokonce i prarodičů

Nápověda odkazuje na staroegyptskou královskou dynastii (18. dynastii), konkrétně na panovnici Hatšepsut (cca 1507 – 1458 př. n. l.). Vzala si svého nevlastního bratra Thutmose II. V rodokmenech 18. dynastie se vyskytuje mnoho sporů a nejasností, avšak mnohé zdroje se shodují na tom, že zde došlo hned k několika příbuzenským sňatkům. Nejčastěji se jedná o svazky mezi nevlastními sourozenci.

Zejména v posledním případě uvedeném výše v otázce byla míra inbreedingu velmi vysoká a k příbuzenským svazkům docházelo v několika po sobě jdoucích generacích. Měli bychom se ale zamyslet nad tím, že jsme si vlastně všichni do nějaké míry příbuzní a teoreticky k inbreedingu dochází vždy. K posuzování příbuznosti slouží **koeficient příbuznosti** a pro vyhodnocení hrozícího rizika výskytu dědičného onemocnění pro děti konkrétního páru používáme **koeficient inbreedingu**.

Koeficient inbreedingu odpovídá pravděpodobnosti autozygotnosti pro všechny geny jedince. Koeficient příbuznosti je v podstatě koeficient inbreedingu vyhodnocen mezi dvěma příbuznými jedinci. Říká nám jak velká je šance, že jsou jejich geny autozygotní.

2. Vysvětlete pojmy autozygotnost a alozygotnost. Co mají společného a jak se navzájem liší? [1 b]

Autozygotnost je stav, při kterém jsou dvě alely u homozygotního jedince tzv. „identické původem“ (identical by descent). Jedná se tedy o dvě kopie jedné a té samé ancestrální alely. Příkladem může být například potomek dvou sourozenců, kteří zdělili stejnou alelu od své matky. U takového potomka se pak může stát, že se sejde stejná alela od otce a stejná alela od matky, obě dvě jsou však kopií jedné původní alely, kterou měla babička tohoto jedince. Zřejmě z definice autozygotnosti vidíme, že autozygotní jedinec nemůže být pro daný gen heterozygot.

Alozygotnost je naopak stav, při kterém jsou dvě alely téhož genu nejsou identické původem. Takový jedinec může být i heterozygotní, u homozygota pak říkáme, že jsou jeho alely tzv. „identické stavem“ (identical by state). Pokud se například u takového jedince projeví recesivní onemocnění, které je způsobeno ztrátou funkce nějakého genu, znamená to, že se u něj sešly dvě nefunkční alely. Každá z těchto alel však může nést zcela jinou mutaci, která gen vyřazuje z provozu a u tohoto jedince se takové alely „náhodou potkaly“. Alely tedy nemusí být přesně shodné na úrovni genetického kódu, ale mají stejný efekt na organismus.

Tak to by byla přesná definice. Ale samozřejmě stačí velmi jednoduše říci, že koeficient příbuznosti ukazuje, jak jsou si dva jedinci příbuzní. Vůči každému z rodičů je náš koeficient příbuznosti $1/2$, jelikož, ve zkratce, máme polovinu genů od maminky a polovinu od tatínka. Vůči našim sourozencům je také $1/2$; pokud se však jedná o jednovaječná dvojčata, je koeficient příbuznosti 1, tzn. jsou geneticky identická. Jelikož i naši rodiče jsou se svými rodiči příbuzní („identičtí“) pouze z jedné poloviny, je náš koeficient příbuznosti vůči prarodičům $1/4$. A takto bychom mohli dále pokračovat.

3. Předchozí zmíněné případy incestu pocházely z více či méně vzdálené historie. Dnes je ve většině společností naprosto tabuizován a často dokonce protizákonný. S jakým nejbližším příbuzným můžete dle české legislativy uzavřít sňatek nebo „vykonat soulož“? Jaký je váš koeficient příbuznosti vůči této osobě? [1 b]

Trestní zákoník, část druhá, hlava III, § 188: Soulož mezi příbuznými

Kdo vykoná soulož s příbuzným v pokolení přímém nebo se sourozencem, bude potrestán odnětím svobody až na tři léta.

Občanský zákoník, část druhá, hlava I, § 675

Manželství nemůže být uzavřeno mezi předky a potomky, ani mezi sourozenci; totéž platí o osobách, jejichž příbuzenství vzniklo osvojením.

Správnou odpovědí tedy je, že nejbližší příbuzný, se kterým legálně můžeme uzavřít manželství a také „vykonat soulož“, je teta/strýc nebo také neteř/synovec. Nejsou totiž našimi sourozenci, ani s námi nejsou příbuzní v přímé linii, jako naši rodiče, prarodiče, děti nebo vnoučata.

Náš koeficient příbuznosti vůči této osobě by byl $1/4$. Vezměme si například příbuznost s tetou nebo strýcem. „Mezičlánkem“ této příbuznosti jsou naši rodiče, kde máme s každým z nich koeficient příbuznosti $1/2$. Naše teta nebo náš strýc je pak sourozencem jednoho z našich rodičů a tyto dvě osoby vůči sobě mají také koeficient příbuznosti $1/2$. Násobením tedy získáme, že náš koeficient příbuznosti vůči tetě/strýci je $1/2 \times 1/2 = 1/4$.

Doplnění: Jako odpověď jste také často uváděli vztah bratranec–sestřenice. Zde jsem uznávala 0,5 bodu, pokud byl správně stanoven jejich koeficient příbuznosti tj. $1/8$.

Už několikrát jsme se dostali k tomu, že je inbreeding rizikový, a to zejména pro potomky páru, kde k příbuzenskému křížení dochází. Pojd'me se na to podívat blíže.

4. Vysvětlete pojem inbrední deprese [0.5 b]

Inbrední deprese je snížení fitness neboli schopnosti přežít a předání své genetické informace do další generace (tj. schopnosti rozmnožit se) určité populace (rodu) v důsledku inbreedingu. Inbreeding vede ke snížení genetické variability v populaci a také k vyšší četnosti recesivních alel a zejména k vyšší četnosti jedinců, kteří jsou recesivními homozygoty, u kterých dochází k manifestaci recesivně přenášeného znaku. Mezi takové znaky často patří různá onemocnění, proto jsou k těmto onemocněním inbrední populace náchylnější. Mimo onemocnění se k inbrední depresi často váže sterilita jedinců, která jejich fitness sníží na úplnou nulu, neboť již nejsou schopni reprodukce, řekli bychom, že jsou „evolučně mrtví“.

Právě kvůli inbrední depresi je příbuzenské křížení tolik nebezpečné, a to i pro celou populaci. Je zde totiž větší šance, že se u potomka vyskytne recesivně dědičné onemocnění.

Recesivně dědičná onemocnění jsou taková, která se projeví pouze v případě, že jedinec má oba geny na jednom páru chromozomů mutované (je tzv. recesivní homozygot) nejčastěji takovým způsobem, že dochází ke tvorbě nefunkčního proteinu, a tedy

částečnému nebo úplnému vyřazení funkce, kterou standardní protein zastává. Mezi recesivně dědičná onemocnění patří například srpkovitá anémie, cystická fibróza nebo fenylketonurie. Naproti tomu dominantně dědičná onemocnění se projeví i u jedinců, kteří mají pouze jednu kopii mutovaného genu (tzv. heterozygotů) a samozřejmě pak i u dominantních homozygotů. Mutovaný gen nejčastěji kóduje abnormální protein, který může být hyperfunkční, nebo je hromaděn ve tkáni, a tím ji poškozuje. Příkladem onemocnění s dominantní dědičností je například Marfanův syndrom nebo polydaktylie.

Inbrední deprese však nemusí postihnou pouze člověka. Velký problém s výskytem různých dědičných chorob je také u zvířat držených v zajetí, zejména u populací v ZOO nebo u domácích mazlíčků.

5. Jmenujte 3 silně inbrední psí plemena. Jakými problémy tito psi nejvíce trpí? [0.5 b]

Mezi 10 vůbec nejvíce inbredních plemen (zdroj: instituteofcaninebiology.org/blog/inbreeding-of-purebred-dogs-determined-from-dna) patří:

Norský lundehund, Bulteriér, Basenji, Miniaturní bulteriér, Kolie, Clumber španěl, Irský jemnosrstý pšeničný teriér, Kromfohländer, Erdelteriér, Skotský deerhound

Zdravotní problémy 3 nejvíce inbredních psích plemen:

Norský lundehund: plemeno má dokonce vlastní naprosto typické onemocnění trávicí soustavy tzv. lundehund syndrom, plemeno je náchylné k dalším střevním onemocněním, koeficient inbreedingu dosahuje přes neuvěřitelných 0,8

Bulteriér: můžeme si všimnout, že tito psi velmi sliní a často „chrochtají“ to je způsobeno cílenou deformací nosu, pro kterou jsou mimo jiné šlechtěni, která může mimo jiné způsobit špatné rovnání zubů v čelisti a problémy se zavíráním a otevíráním tlamy, mezi často přítomná onemocnění a další zdravotní komplikace patří dysplazie kyčelního kloubu, loketní dysplazie, luxace pately, oční zákal nebo různé alergie, hluchota, problémy se srdcem a ledvinami

Basenji: dědičné onemocnění ledvin Fanconioho syndrom, progresivní atrofie sítnice vedoucí k slepotě, Hypotyreóza, dysplazie loketního kloubu nebo pupeční kýla

Obecně se inbrední psi dožívají velmi nízkého věku, zvyšuje se riziko neplodnosti a mají velmi nízkou životaschopnost potomstva.

6. Jmenujte 3 silně inbrední kočičí plemena. Jakými problémy tyto kočky nejvíce trpí? [0.5 b]

Některá ze silně inbredních kočičích plemen: Perská kočka, Perská krátkosrstá kočka, Munchkin kočka, Manská kočka, Skotská klapouchá kočka

Obecně tyto kočky trpí zdravotními problémy spojenými s deformitou pro kterou jsou šlechtěny např. problémy s dýcháním a deformace nosu, nosní dutiny (Perské kočky), trpasličí vzrůst (Munchkin kočky, „Teacup“ kočky), deformace všech tělních chrupavek a kostí, která mimo jiné stojí za charakteristickým vzhledem sklopených uší (Skotská klapouchá kočka). Dále trpí často dědičně vázanými chorobami kardiovaskulárního systému nebo ledvin. A samozřejmě stejně jako u psů je zde riziko úmrtí v nízkém věku, zvyšuje se riziko neplodnosti a mají velmi nízkou životaschopnost potomstva.

Jak tedy inbreeding způsobí vyšší výskyt recesivních onemocnění? Pokud k inbreedingu dochází v populaci opakovaně, postupně se snižuje počet heterozygotů v populaci a liší se od četnosti, kterou bychom očekávali. Častěji se totiž „setkávají“ stejné alely, místo toho, aby došlo k „promíchávání“. To ale nemusí být vždy špatně!

Naopak se díky dlouhodobému inbreedingu může celá populace „uzdravit“, tedy snáze se zbavit mutantních alel. Recesivní onemocnění se totiž projevují častěji a u dominantních se častěji jedná o homozygoty – pokud mají takoví jedinci kvůli onemocnění nižší reprodukční zdatnost (sterilita, nízká životnost potomstva, nebo např. smrt jedince před nabytím reprodukčního věku), bude se v následujících generacích čím dál tím více snižovat četnost mutantních alel. Toto se samozřejmě děje i samovolně, ale spíše u chorob (obecně znaků) s dominantním typem dědičnosti, recesivní alely se totiž mohou „skrývat“ v heterozygotech a stále se přenášet do dalších generací.

7. Mezi dominantně dědičná onemocnění patří např. i Huntingtonova choroba, která je smrtelným a nevléčitelným onemocněním. Proč se v lidské populaci stále poměrně hojně vyskytuje, a to i v silně inbredních populacích, přestože by podle výše zmíněné logiky měla být v podstatě úplně eliminována? [1 b]

Huntingtonova choroba nastupuje s prvními příznaky až ve věku 35–40 let. Ačkoliv se tedy jedná o smrtelné onemocnění, které logicky snižuje reprodukční schopnost jedince na úplnou nulu, je nemocný ještě plně schopen se před nástupem onemocnění rozmnožit. Často tak svým potomkům nevědomky předá alelu pro příslušné onemocnění. Moderní medicína tento problém u rodin s familiární Huntingtonovou chorobou (tedy dědičně předávanou) řeší důkladným screeningem plodu, který může být v brzkém stádiu těhotenství potracen v důsledku lékařské indikace, a nebo přímo umělým oplozením, kde se embrya kontrolují ještě před implantací a matce jsou pak implantována už pouze zdravá embrya. Více např. na: huntington.cz/o-nemoci/geneticke-testovani-hch/

V případě tohoto onemocnění není vzácností, že se objeví u potomka ve zcela zdravé rodině. Může totiž vznikat i de novo mutací. Vysvětlování přesné příčiny Huntingtonovy choroby by bylo na dlouho, ve zkratce nám postačí, že k tomuto typu mutací je naše DNA při replikaci podstatně náchylnější. V případě, že se jedná o nově vzniklou mutaci nemůžeme ji v mnohých případech podchytit. Proto se jí nevyhneme lékařsky ani evolučně.

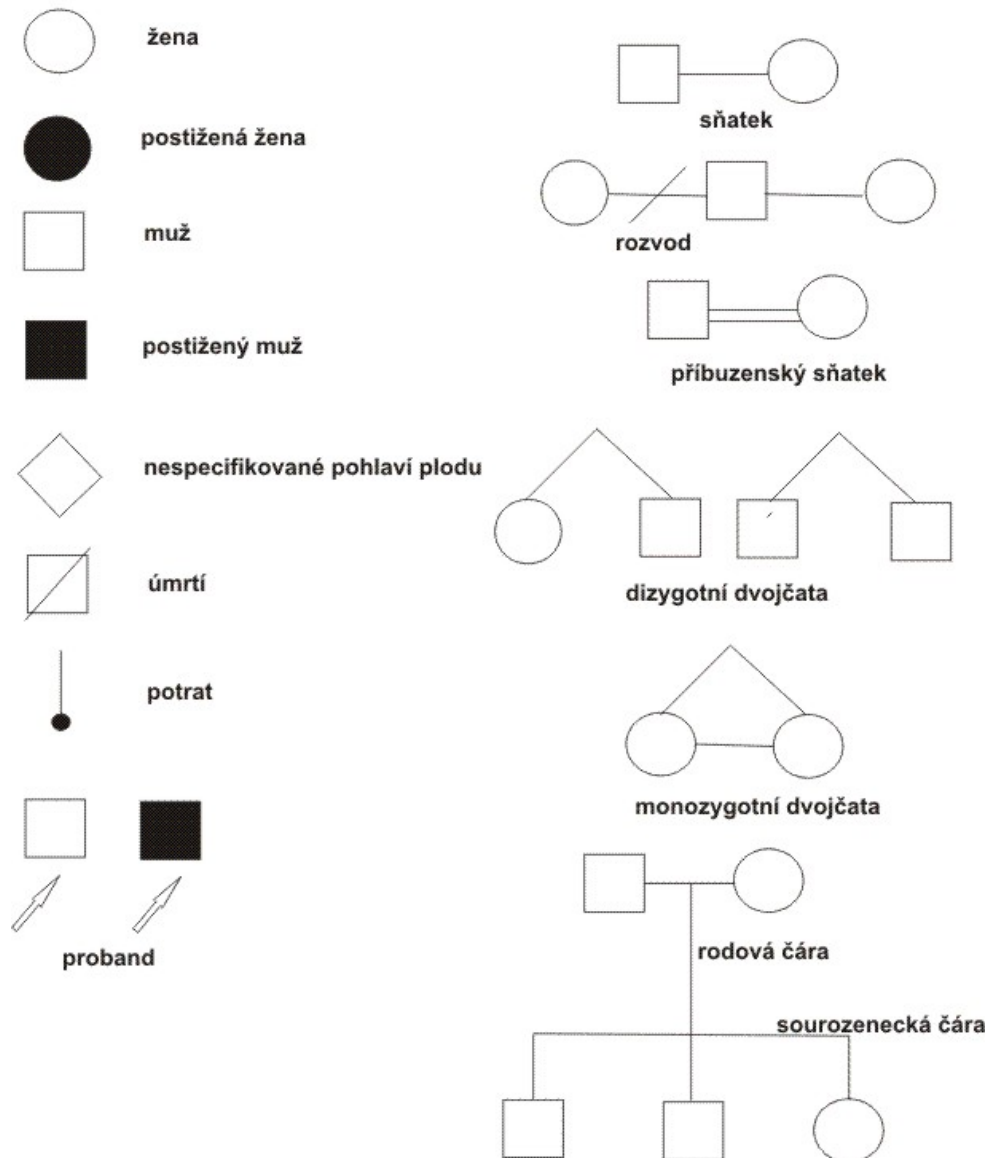
Ať se snažíme vypočítat koeficient příbuznosti, koeficient inbreedingu nebo riziko onemocnění pro budoucí potomky páru, používáme k tomu genealogickou analýzu – tedy sestavujeme rodokmen. Genealogická analýza nám také může pomoci odhalit, jakým způsobem se některé z onemocnění nebo libovolný znak dědí. U člověka totiž nemůžeme provádět genetické pokusy – například tzv. zpětná křížení, tedy křížení potomstva s jedním z rodičů (při výzkumu u rostlin nebo živočichů je to běžná praktika, u člověka je to však zřejmý incest). Proto, aby byly rodokmeny jednotné a dobře čitelné, se používají zavedené značky, které můžete vidět na obrázku níže.

Genetici se ze známých a viditelných znaků, jako je přítomnost onemocnění, konkrétní barva očí nebo vlasů, barva kůže aj. – obecně označovaných jako fenotyp, snaží určit soubor alel jednoho nebo více genů daného jedince – označujeme jako genotyp. Mluvili jsme například o dominantně dědičných onemocněních, která se projeví již u heterozygotů. V takovém případě podle fenotypu – onemocnění – nejsme schopni jednoznačně

určit genotyp – jedinec může být heterozygotní, nebo dominantní homozygot. S určením genotypu se pak obracíme právě na rodokmen, nejdříve ze všeho na rodiče probanda a jejich fenotyp. K přesnému určení je však často potřeba zaznamenat několik generací včetně vedlejších větví – tj. minimálně včetně prarodičů a bratranců/sestřenic.

Na to, jak sestavené rodokmeny vypadají a jestli z nich dokážete něco vyčíst, se podíváme v následující otázce.

Vybrané symboly potřebné pro sestavení rodokmenu



Obrázek 1: Symboly používané při sestavení rodokmenu. Proband je osoba, pro kterou rodokmen sestavujeme (pacient nebo člověk, který o gen. analýzu zažádá).

8. U následujících rodokmenů se pokuste určit, jaká je dědičnost sledovaného znaku (one-mocnění) v rodině – dominantní nebo recesivní. Ke každému určení připojte krátké a jasné vysvětlení, proč tomu tak podle vás je a doplňte genotypy jednotlivých členů rodiny (může se vám stát, že genotyp některého člena rodiny nebude jednoznačný). [4 b]

Poznámka pro řešení této úlohy: pro určení genotypu používejte **AA** pro dominantního homozygota, **Aa** pro heterozygota, **aa** pro recesivního homozygota

U dominantně dědičného znaku se projeví u všech členů rodiny, kteří nesou alelu **A** (tj. u **Aa** i **AA**) – dominantní alela **A** způsobuje znak (onemocnění). Znak s dominantní dědičností se většinou projeví v každé generaci.

Recesivně dědičný znak se projeví pouze u jedinců s genotypem **aa**, heterozygoti jsou tzv. přenašeči znaku, oni sami nejsou nemocní, neprojevuje se u nich daný znak, ale mohou jej předat potomkům – recesivní alela **a** způsobuje znak (onemocnění).

Rodič svému potomkovi předává pouze jednu ze svých alel a to s 50% pravděpodobností. Tedy heterozygotní rodič **Aa** předá přibližně polovinu svých dětí alelu **A** a zbývající polovinu alelu **a**. (Tak tomu ale být vůbec nemusí, je to pouze otázka náhody, může se stát, že heterozygotní rodič bude mít 5 potomků a všem předá jen alelu **A**. Jedna rodina je poměrně malý statistický soubor, proto ne vždy odpovídá očekávaným četnostem.) Homozygotní rodič předá všem svým potomkům stejnou alelu (buď **A** nebo **a**).

- a) Sledovaný znak má recesivní dědičnost. Jednoznačně to lze vyvodit ze sňatku muže a ženy ve 2. generaci, kteří znak nenesou, ale jeden z jejich potomků (konkrétně dcera) ano. V tomto páru musí být oba heterozygoti **Aa** pro daný recesivní znak, který je v jejich fenotypu „schovaný“ za dominantní alelou, která se vždy projeví/recesivní znak potlačí. Možná vás zmátl velký počet jedinců se sledovaným znakem v levé „větvi“ rodokmenu, ale takováto situace může velmi běžně nastat, zejména pokud sledovaným znakem není onemocnění.

U několika členů rodiny – muže v první generaci a také dvou mužů ve třetí generaci – nemůžeme jednoznačně určit jeho genotyp, který může být **Aa** i **AA**. Je tedy uveden ve tvaru **A-**, což značí, že jedinec určitě má jednu dominantní alelu **A** a druhá může být libovolná – z rodokmenu to nepoznáme.

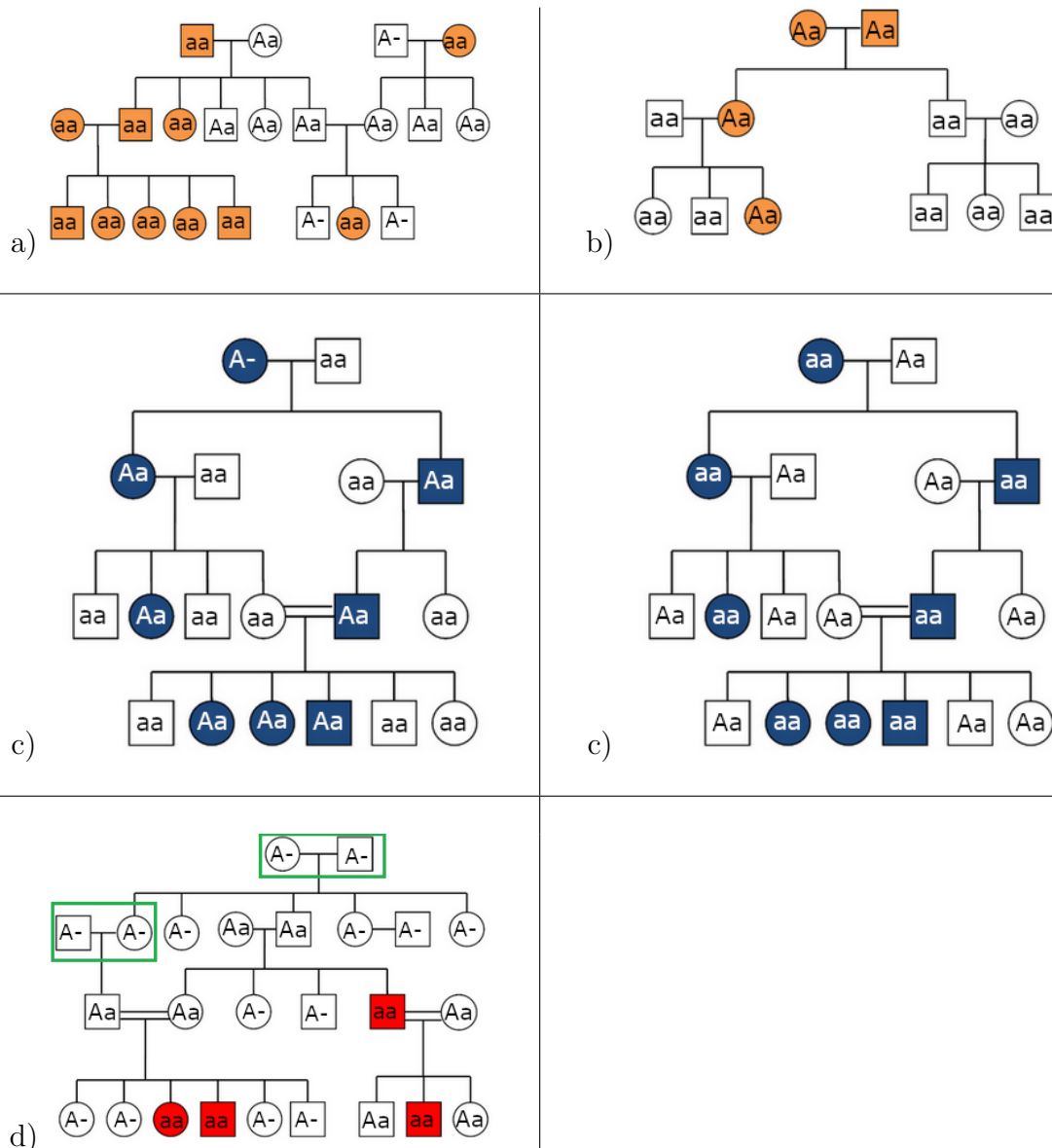
- b) Sledovaný znak má dominantní dědičnost. Jednoznačně to lze vyvodit ze sňatku v 1. generaci, kde oba rodiče nesou sledovaný znak, ale jejich syn už ne. Z toho tedy můžeme vyvodit, že nepřítomnost tohoto znaku odpovídá recesivní dědičnosti (syn tohoto páru má genotyp **aa**) a znak je podmíněn přítomností dominantní alely **A**. Jedná se o opačný případ než v příkladu a), kde byl sledovaný znak recesivní a „náhle“ se objevil u jedinců bez tohoto znaku.
- c) Tento příklad je zajímavý tím, že znak může mít oba typy dědičnosti a nelze jednoznačně určit, které dědičnosti spíše odpovídá. Správnou odpovědí je tedy uvedení obou rodokmenů, jeden kde je znak podmíněn dominantní alelou **A**, druhý kde je znak podmíněn recesivní alelou **a**.

V případě kdy by se nejednalo o obecný znak, ale o onemocnění, by se genetici spíše přiklonili k názoru, že se jedná o znak s dominantní dědičností. Znak se totiž vyskytuje v každé generaci a pouze v rámci rodiny – vidíme že do rodiny přivdání a přiřazení jedinci byli všichni zdraví. Četnost onemocnění v populaci je vždy výrazně nižší než četnost zdravých jedinců. Co by tedy znamenalo, kdyby bylo onemocnění recesivní? Z doplněného rodokmenu vidíme, že v takovém případě by museli být všichni do rodiny přiřazení a přivdání jedinci heterozygoti pro takové onemocnění. Taková pravděpodobnost je velice malá – přesto to neznamená, že taková situace nemůže na-

stat! – proto bychom v případě onemocnění uvažovali dominantní dědičnost. Obecně však toto říci nelze.

- d) Sledovaný znak má recesivní dědičnost. Jednoznačně to lze vyvodit ze sňatku muže a ženy ve 2. generaci, kteří znak nenesou, ale jeden z jejich potomků (konkrétně syn) ano. To samé se opakuje i v jednom (příbuzenském) sňatku jedinců bez sledovaného znaku ve 3. generaci, kde znak nesou 2 děti (dcera a syn) tohoto páru.

V tomto rodokmenu bylo nejvíce jedinců, u kterých genotyp nešel jednoznačně určit. Jejich genotyp je uveden ve tvaru **A-**, což značí, že jedinec určitě má jednu dominantní alelu **A** a druhá může být libovolná **A** i **a** – z rodokmenu to nepoznáme. Povšimněte si dvou zeleně orámovaných párů. U těchto párů nemůžeme obecně určit jestli jsou to dominantní homozygoti nebo heterozygoti. Máme ale jednu informaci navíc! Jelikož se mezi jejich potomky určitě alespoň jednou vyskytuje alela **a**, je vždy minimálně jeden z partnerů heterozygot **Aa**. Bohužel nevíme a bez další analýzy ani nemáme jak zjistit, zda je heterozygotem muž, žena nebo snad oba partneři.



Zdroj obrázků: is.muni.cz/elportal/estud/prif/ps08/gen_prikl/web/pages/page06.html

Magdalena Dohnalová (e-mail: dohnalova.majda@seznam.cz)

2. Microcirculation

10 points

A friendly reminder:

Your solution of this task is expected to be written in English.

You have definitely heard about the cardiovascular system. Blood travels from the heart to the arteries that carry oxygenated blood. They lead to the arterioles and then capillaries, where the blood loses O₂ and gains CO₂. The cycle continues with veins and back to the heart. But have you ever wondered what happens during blood's time in the capillary system? That's called microcirculation and is exactly what this task will be about.

Let's first focus on blood itself. What does it consist of?

1. Name: [0.5 pt]

a) three main types of blood cells that can be found in blood

red blood cells, white blood cells, platelets

b) the main components of plasma

water (95 %), proteins, glucose, clotting factors, electrolytes, hormones, carbon dioxide, oxygen, lipoproteins

2. What is the **most abundant protein in plasma** and how many **percent** of the **plasma** proteins it makes? [0.5 pt]

Albumin – it makes about **55–65 %** of all plasmatic proteins.

To understand the way arterioles become venules, it is essential to talk about differences in pressure. Specifically oncotic and hydrostatic pressure.

When blood gets pushed from the heart, that creates pressure on the walls of the artery. This pressure is exactly the one that we measure during your preventive check-ups. You might get a number like 113/74.

3. What does the number mean: **name the pressures** and tell me **what exactly causes them**. (*Hint: the answer is not oncotic and hydrostatic*) [1 pt]

The first number (113) is called **systolic pressure** and is the pressure that your arteries have to withstand **during the heart contraction**. The second one (74) is the **diastolic pressure** – the one your arteries withstand **during heart muscle relaxation**.

4. What units are used when talking about **blood pressure**? Name **three main ones** and give the measurement (113/74) in **these three units**. [1 pt]

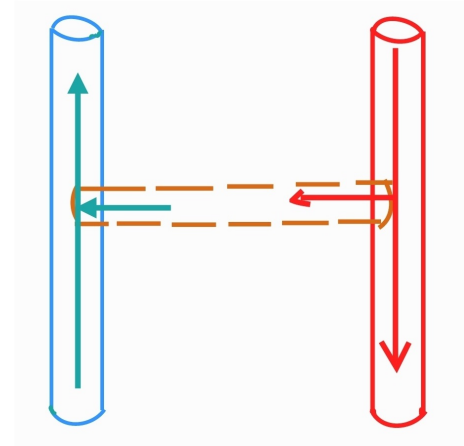
The initial measurement is given in millimeters of mercury (**mmHg**) which is an unit equal to **Torr**. Another unit is Pascal (**Pa**). One mmHg/Torr equals 133,3 Pa.

So here is the pressure in these units: 113/74 mmHg; 113/74 Torr; 15000/9900 Pa

But in physics we don't call the pressure inside your arteries "blood pressure", we call it hydrostatic.

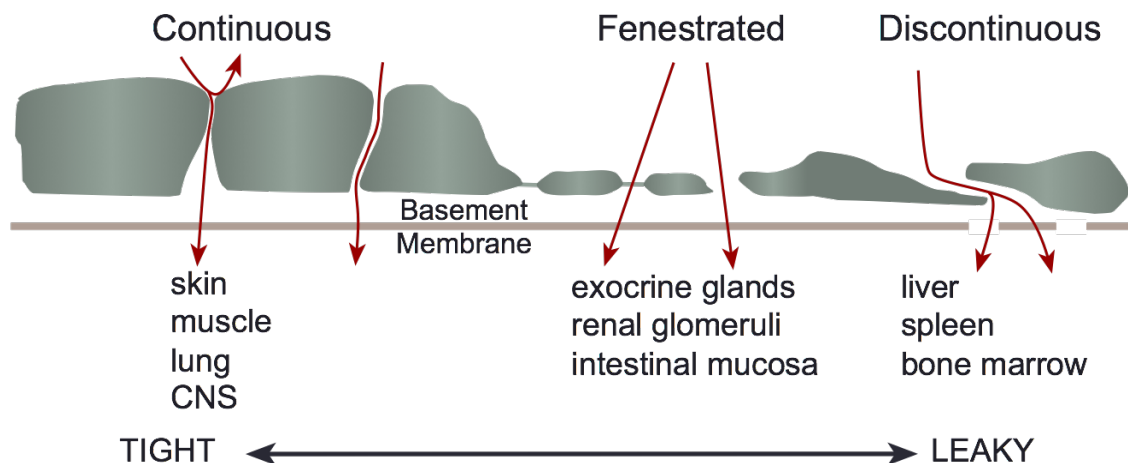
So, let's use a diagram to symbolize a capillary: the red part is an arteriole, the blue one is a venule and the connection symbolizes one capillary.

As you can see, the walls of the capillary have holes in them, that is so some molecules can pass easily through them to the surrounding cells. Such molecules would be water, CO₂ and O₂.



For the curious people out there: we differentiate between three types of capillaries depending on how

big the holes are – the ones with tight junctions can be found in brain, the ones with leaky junctions can be found in the liver, and the ones with middle-sized junctions are in the intestines and kidneys. The size of the junctions affect what can the holes let in or out. The bigger ones are permeable not only for gasses but also for glucose, amino acids and hormones. Which means faster transport of such molecules but less control over what gets in or out.



The fact that some molecules like water can pass easily and others, like proteins, cannot, creates another form of pressure – oncotic pressure. That is basically just a fancy name for pressure created by osmosis.

Another term we have to explain! Osmosis. Have you ever wanted to be at a different place than everyone? It seems to be the most common behavior of compounds inside your body! In short – if there is a lot of one type of molecule in one place, it tries to get away from this place. Or, when it cannot, it relies on another helpful molecule to help dilute its concentration. So, when water "feels" that there is a big concentration of proteins on one side of the semi-permeable membrane, it goes to that place to make the ratio of water to protein equal.

Curious people, this one's for you again: there is a difference between oncotic and osmotic pressure. The osmotic describes the force that makes the solvent move. That can be caused by molecules like glucose or ions (think about how adding salt to blood makes blood cells lose their shape). Oncotic pressure, however, only refers to the pressure caused by proteins in plasma.

For even more curious people among the curious people: the words oncotic and oncology share the same prefix onco-, which means 'mass' 'bulk' or 'tumor'. That refers to the mass of the fluid that builds up during edemas that can be caused by disbalances of pressures.

5. And that is basically what happens with blood and water inside the capillary. So now it's up to you to put it all together:

a) What do we call the pressure coming from the heart that **drives fluid out** of the capillary and into the surrounding tissues? [0.5 pt]

Hydrostatic pressure

b) What do we call the pressure of proteins that **drives fluid into** the capillary from the surrounding tissues? [0.5 pt]

Oncotic pressure

c) What are **the values** of typical hydrostatic and oncotic pressure in the **arterial end** of the capillary? What is the **result of the difference between the pressures**? What does that mean for **fluids inside the vessel**? [1 pt]

Hydrostatic 35 mmHg

Oncotic 25 mmHg

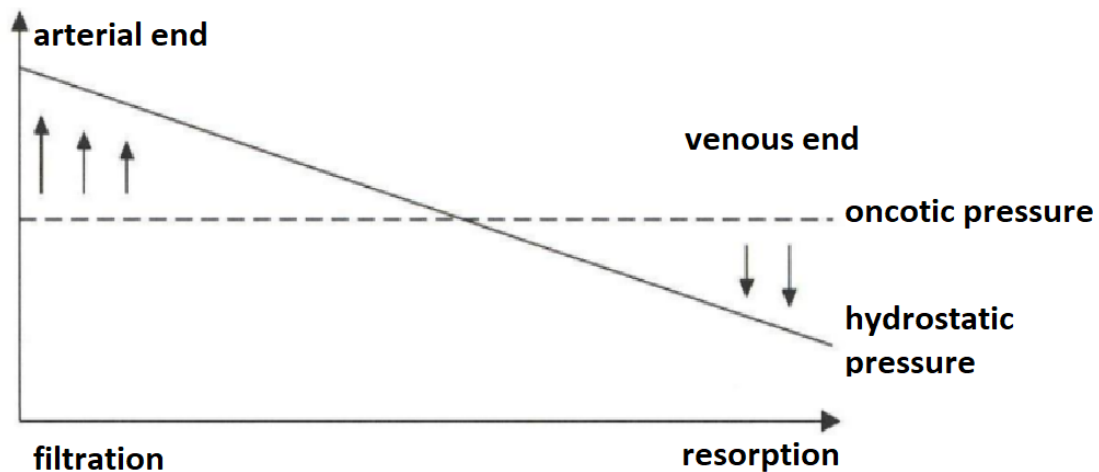
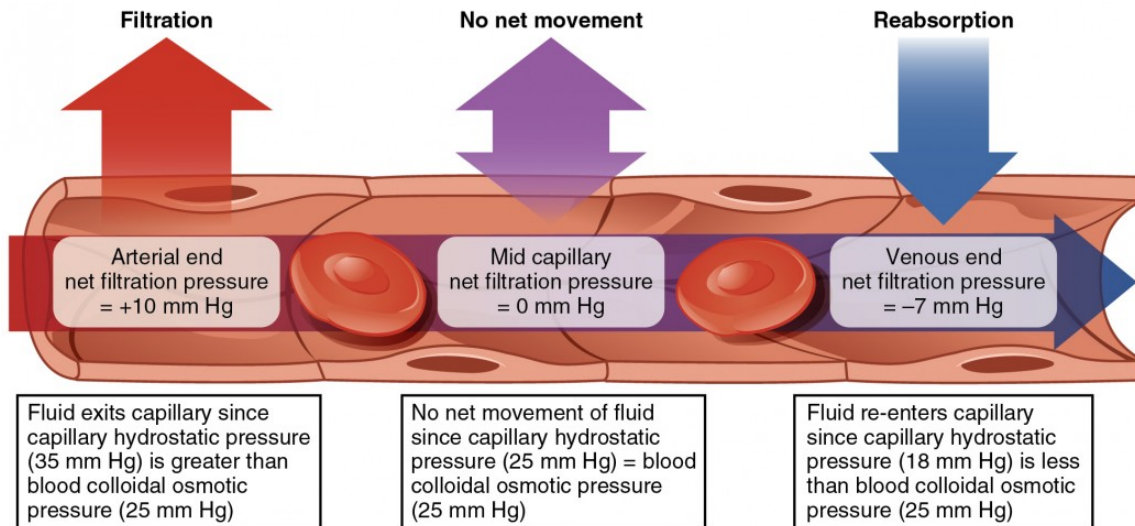
The difference between these pressures is called "**net filtration pressure**". On the arterial end it equals $35 - 25 = 10 \text{ mmHg}$. That means the **fluid is filtered out** of the capillary on this end.

d) What are **the values** of the typical hydrostatic and oncotic pressure in the **venules end** of the capillary? What is the **result of the difference**? What happens with **fluids**? [1 pt]

Hydrostatic 18 mmHg (because of the holes in the vessels walls, blood has lost some of its pressure - imagine poking holes into a garden hose, it would gradually lose pressure too). **Oncotic still 25 mmHg**, because no proteins were lost during the blood's course.

The difference between these pressures equals $18 - 25 = -7 \text{ mmHg}$. That means that some **fluids get reabsorbed** into the venule.

Here are some pictures to help you understand the solution:



- e) What happens with the **volume balance of fluid** transferred from and into the vessel during the course of the blood? [1 pt]

The pressure of the fluid getting pushed out is 10 mmHg, the pressure of it getting in is -7 mmHg, that means some fluid does not reach the vessel again.

- f) What happens with **fluids that are not reabsorbed** (what catches the excess fluid)? [1 pt]

Leaving the fluid balance like that would be very bad! It could lead to swelling and edema, so that's what **lymphatic vessels** are for – they take the remaining fluid and carry it to bigger veins. (They also check it for anything suspicious as a bonus.)

g) What is the relation between this task and the picture (on the right)? [2 pt]

The picture illustrates what happens when the oncotic pressure is not high enough due to malnutrition. This child suffers from lack of proteins, which leads to not enough albumin in blood – that leads to fluid not being reabsorbed into the veins – and that means extreme swelling.

And that's it! Thank you for your effort.



Dorota Víchová (e-mail: dorota.vichova@seznam.cz)

3. Návrat divočiny

20 bodů

Na většině území České republiky, které by se dalo charakterizovat jako příroda, se můžete pohybovat naprosto volně, bez obav. Jedinou vaší starostí mohou být případní vlastníci pozemků, na kterých se vyskytujete, nebo stráž přírody, pohybujete-li se ignorantsky mimo vyznačené cesty v cenných lokalitách, což ale předpokládám není v případě vás, uvědomělých biologů, reálná situace. Co kdybych vám ale řekla, že v hustých pohraničních lesích na vás mohou čekat smečky hladových vlků nebo vám hrozí přepadení ze zálohy v podobě rysa ostrovida. Anebo že se dost možná pohybujete v teritoriu hladového medvěda snažícího se dobře se zásobit tukem na zimu. Začínáte se bát?

Obecně je problematika velkých šelem obývajících území využívané člověkem stará jako základní ekologické vztahy mezi organismy samy. Akorát se ten vztah podstatně během evoluce lidstva změnil. Naši předci byli původně kořistí, lidé se ale postupně zdokonalovali ve zdatnější predátory a mohli si tedy s šelmami navzájem konkurovat. Dnes je situace již přesně opačná. Lovec je loven.

1. Asi každé malé dítě zná velké šelmy, které by se na našem území mohly vyskytovat. Ale pro jistotu bychom si měli ujasnit některé skutečnosti ohledně šelem. Do obecné charakteristiky některých aspektů tohoto řádu doplňte vynechané pojmy: [3 b]

Jako šelmy se označují pouze savci, kteří se v průběhu evoluce přizpůsobili k masožravosti odborně zvané *carnivorie* – kterou se rozumí konzumace hlavně obratlovců. Samozřejmě k masožravosti se přizpůsobily i jiné obratlovcí skupiny, jako třeba ptáci, u nich se ovšem používá pojem dravci. Šelmy jako pojem jsou tedy rezervovány pouze pro savce. Latinsky se nadřád kam bychom řád šelmy mohli zařadit se nazývá *Ferae*.

Je to živočišný řád velmi rozmanitý nejen ve smyslu tělních plánů ale také životních stylů. Už jen když zvážíme zástupce jednotlivých druhů napříč řádem, můžeme získat čísla v rozmezí od 50 g do 5000 kg. Různé jsou i lovecké strategie. Jsou tu šelmy pracující ve skupinách jako vlci, lvi nebo třeba méně známé drobné šelmy příbuzné surikatám mangusty. Ale i šelmy striktně asociální, které se potkávají jen v době páření, a to ještě s velkou nevolí.

Kdy šelmě končí život? Když přijde o zuby!

Dentice je hlavní charakteristikou savců. Savčí zub a jeho uspořádání v čelisti je unikátním fenoménem, která dosahuje obrovské disparity¹ v rámci této skupiny. Rozlišujeme homodontní a heterodontní dentici, tedy čelisti osazené zuby stejného tvaru (např. u ozubených kytovců) nebo tlamu plnou zubů tvarů různých sloužících k různým účelům.

2. Jaké druhy chrupu u savců rozlišujeme a jak to souvisí s typem potravy? [1 b]

Haplodontní – okluzní plocha má podobu „dláta“. Příkladem jsou řezáky lidí nebo přežvýkavých sudokopytníků. Využívat je můžou například k oloupávání kůry stromů a okusování.

¹disparita = různost, rozdílnost

Sekodontní – okluzní plocha má podobu „ostrých hrbolů“. Příkladem jsou stoličky a třenové zuby hmyzožravců, letounů a šelem. Slouží pro lepší zpracování masité kořisti a taky pro případné přidržení.

Bunodontní – okluzní ploška má podobu „tupých hrbolů“. Příkladem jsou stoličky a třenové zuby prasat, ježků, primátů, pand a některých myšovitých hlodavců. Slouží pro drcení tvrdé potravy (zrní).

Selenodontní – okluzní plocha má podobu „půlměsíců“. Příkladem jsou stoličky a třenové zuby jelenovitých a turovitých sudokopytníků.

Lofodontní – okluzní plocha má podobu „vlnek“. Příkladem jsou stoličky a třenové zuby klokanů, damanů, tapírů, koní a opic „Starého světa“.

Loxodontní – okluzní plocha má podobu „příčných lamel“. Příkladem jsou stoličky a třenové zuby slonů a většiny hlodavců.

Tyto poslední tři typy jsou typické pro savce živící se rostlinou stravou a někteří i přežvykáváním.

3. Jako predátor s ambicí žít se jinými zvířaty potřebujete v mnoha případech nejen kořist dobře chytit během procesu lovu, ale také si v případě úspěchu poradit s často tuhými částmi těla vašeho úlovku. Charakterizujte dentici šelem obecně (zubní vzorec, hlavní rysy, způsob fungování). [4 b]

Dentice šelem je úplná s 28–48 zuby, rozlišená na jednotlivé typy. Kuželovité protáhlé špičáky jsou využívány k chytání a usmrcení kořisti. Pro zpracování potravy slouží zuby třenové a stoličky. Poslední horní třenový zub a dolní stolička fungují jako trháky – odtrhávají maso z kořisti a drtí. Tyto zuby mají ostré a hřebenovité korunky. Takto přizpůsobený chrup doplňují silné žvýkací svaly a čelisti schopné otevřít se do velkého úhlu. Šelmy jsou tedy schopny nůžkovitým skusem zpracovávat svoje kořisti.

Základní zubní vzorec šelem je $3\ 1\ 4\ 3 / 3\ 1\ 3\ 4 \times 2 = 44$ zubů. Ale tento vzorec je u různých skupin modifikován.

U kočkovitých šelem je univerzální zubní vzorec $3\ 1\ 3\ 1 / 3\ 1\ 2\ 1$. M3, tedy třetí stolička, chybí. To souvisí i se zkrácením lebky u kočkovitých. U ostatních našich šelem je vzorec $3\ 1\ 4\ 2 / 3\ 1\ 4\ 3$.

Samozřejmě dochází k modifikacím v rámci čeledí a druhů, které se odvíjejí od potravy, jakou se dotyčné šelmy živí. Např. medvěd hnědý má bunodontní stoličky – živí se také omnivorně (tedy všežravě).

K mírné změně dochází u psíka mývalovitého, který má jen dvě stoličky.

Šelmy ČR

4. Na našem území se vyskytují už výše zmíněné velké šelmy, tedy vlk obecný (*Canis lupus*), rys ostrovid (*Lynx lynx*) a medvěd hnědý (*Ursus arctos*). Také byste mohli potkat po nocích, stmívání a rozednávání drobné zabijáky ze skupiny lasicovitých, menší zástupce

kočkovitých a psovitých a nebo některou z šelem na našem území nepůvodních a invazních. Kolik takových šelem se u nás vyskytuje? Stručně rozeberte případ jedné z nich. Jak a odkud se k nám dostala? Jaké jsou dopady její přítomnosti na naše ekosystémy? [3 b]

Tři invazní šelmy – Psík mývalovitý (*Nyctereutes procyonoides*), Mýval severní (*Procyon lotor*), Norek americký (*Neovison vison*)

Psík mývalovitý

- Jeho původní oblastí rozšíření jsou země východní Asie – Japonsko, Korea a část východní Sibíře
- Do Evropy se dostal po vysazení v Rusku (na začátku 20. století). Důvodem pro vysazování byl lov pro jeho žádanou kožušinu. Odtamtud se šíří směrem na západ. V šíření psíkovi pomáhá jeho oportunistický způsob stravování, malý počet nebo přímo absence přirozených predátorů a vysoká reprodukční aktivita.
- Jako nepříliš dobří a obratní lovci mají negativní dopad hlavně na pomalé ohrožené obojživelníky, může také vybírat ptačí hnízda.
- Jsou přenašeči různých parazitů a onemocnění (vzteklina, leptospiróza, toxoplazmóza, svrab, echinokokóza a další).

Mýval severní

- Pochází ze Severní Ameriky. Ve 30. letech minulého století byl vysazen pár mývalů v Německu do volné přírody. Odtud se šíří do ostatních států. Dnes se vyskytuje prakticky na celém území ČR. Obsazuje jak niky ve volné přírodě, tak v lidských obydlích (= žije tedy synantropně). Zde se může zabydlovat přímo v domech, kůlnách, stodolách a páchá zde škody. To by mohl být jeden negativní dopad, ale tento je závažný jen pro člověka. Daleko horší je situace v přírodě.
- Jako potravní oportunisté nepohrdnou téměř ničím. V tom tkví jejich schopnost se rychle šířit – potravu najdou v podstatě kdekoli. Jako lovci se nejvíce uplatňují při lovu zemních ptáků a vybírají jim hnízda. Také jsou zdatnými lezci po stromech a jejich přední končetiny jim umožňují i vytahování kořisti z dutin stromů.
- I zde platí tvrzení, že mýval je přenašečem parazitů a chorob.

Norek americký

- Původní oblastí výskytu je Severní Amerika. Invazním druhem se často stává po úniku z kožešinových farem, na kterých se pěstuje. U nás k tomu došlo na začátku 20. století. V okolí farem se taky vytvářely divoké populace. V Rusku se vypouštěli norci právě za účelem vytvořit tyto populace pro následný kožešinový odstřel.
- Když v u nás 90. letech farmy zanikaly norci se hromadně vypouštěli do přírody. Často ochránci práv zvířat. V současné době se norek vyskytuje na většině území.

Za úspěchem norka také stojí fakt, že v době jeho pronikání do přírody nebyly přítomné jeho konkurenční druhy. Vydra říční i norek evropský byli tehdy buď neexistující nebo vyskytující se ve velmi malých množstvích.

- Vliv norka na naše ekosystémy spočívá ve velmi intenzivním lovu našich často chráněných druhů. Také praktikují tzv. surplus-killing, tedy loví více kořisti, než jsou schopni sami zkonsumovat. Nejvíce ohrožuje vodní ptáky, preduje také užovky, ještěrky, a hlavně raka kamenáče a raka říčního.
- Mimo vliv na druhy, které pro norka představují kořist, je tu i vliv na druhy, které norkovi konkurují. Byla zaznamenána přímá agrese vůči norkovi evropskému a tchoři stepnímu. Také představuje konkurenci pro jiné lasicovité šelmy.

Nepůvodní druhy, ať už rostlin nebo živočichů, se na nové území dostávají zpravidla díky antropogennímu vlivu. Tato introdukce může být chtěná, třeba s cílem eliminovat nějakého škůdce, nechtěná (úniky z chovů nebo zahrad), nebo i nevědomá (přivezení druhu ze zámoří při obchodní plavbě). Ne všechny nepůvodní druhy se ovšem stanou invazními. Za invazní druh se považuje druh, který je velice dobře schopen se šířit a množit. Jsou to druhy zpravidla s rychlým rozmnožováním, snadno přizpůsobitelné – generalisté a mající dobré disperzní schopnosti. Často mívají nějakou výhodu nad původními druhy využívající stejnou ekologickou niku. Pak je boj s takovým druhem velice těžký.

Trusu na stopě

Pozorování, monitoring nebo studium savců obecně se vyznačuje svou obtížností. Jsou to zvířata tichá, skrytě žijící a převážně v noci aktivní. Zároveň je žádoucí živočichy studovat, aniž by došlo k jejich vyrušení. Proto se využívá neinvazivního monitoringu pomocí takzvaných pobytových znaků. Těmi mohou být samozřejmě stopy, trus, ale také chuchvalce chlupů, zbytky kořisti, viditelně používané hračky vlčat nebo škrábane v kůře stromů.

5. V této části úlohy se podíváte poněkud blíže na hlavní pobytový znak využívající se v monitoringu velkých šelem a to trus. Přiřaďte výrobek k jeho stvořiteli. [3 b]

- | | |
|--|--|
| • Medvěd hnědý (<i>Ursus arctos</i>) | • Kuna lesní (<i>Martes foina</i>) |
| • Vlk obecný (<i>Canis lupus</i>) | • Vydra říční (<i>Lutra lutra</i>) |
| • Rys ostrovid (<i>Lynx lynx</i>) | • Kočka divoká (<i>Felis silvestris</i>) |



Obrázek 1: Vlk obecný



Obrázek 2: Vydra říční



Obrázek 3: Kočka divoká



Obrázek 4: Medvěd hnědý



Obrázek 5: Kuna lesní



Obrázek 6: Rys ostrovid

6. Jak se dá takový vzorek trusu využít pro zkoumání populací šelem? Jaké se využívají postupy a metody k jeho zpracování? [3 b]

Po nalezení trusu při stopování šelmy je prvním krokem zdokumentování a záznam nálezu, které je stejné jako při nálezu stopy. Dalším krokem je prozkoumání čerstvosti exempláře. Takový vzorek se totiž nejčastěji používá ke dvěma účelům. Ke genetickým analýzám a analýzám potravním. Zatímco na potravní analýzu může být vzorek i starší, pozůstatky DNA v trusu (v odumřelých buňkách střevního epitelu) podléhají rychle degradaci. Takže pokud je trus už viditelně starý, na „genetiku“ nemá smysl jej brát.

Genetické analýzy se využívají k určování konkrétních jedinců, také k potvrzení, že se jedná opravdu o domnělý druh, případně odkud jedinec pochází. Vzorky pro tento typ analýzy tedy je nutné sbírat čerstvé a ukládat do lihu (96 %). Při manipulaci je důležité dát si pozor, aby vzorek nebyl nijak kontaminován lidskou DNA sběratele. V lihu se DNA uchová před degradací a je možno vzorek dopravit do genetických laboratoří.

V laboratoři se provede izolace DNA a analyzují se genetické markery (mikrosatelity). K těmto analýzám se využívají i programy pracující s Bayesiánskou analýzou.

Potravní analýza se využívá při studiích jednotlivých populací, ekologie konkrétních druhů a jejich vlivu na ekosystémy. Tento typ vzorku se dá sbírat jen do plastového sáčku. Vlastní studium složení potravy spočívá poté v určení jednotlivých složek na základně nestrávených zbytků. Nejčastěji se jedná o identifikaci chlupů pomocí mikroskopu a makroskopické určení zbytků peří, kostí a jiných nestravitelných složek potravy.

Stopování a sběr trusu není jedinou metodou monitoringu. Také se využívají fotopasti, chlupové pasti a telemetrické obojky. Telemetrie v ochraně přírody se využívá od druhé poloviny dvacátého století, tento způsob umožňuje vědcům pozorovat pohyb označeného jedince a pomocí těchto informací pak určovat stavy populací. Možnosti takového telemetrického obojku jsou samozřejmě také omezené. Musí být navrhnout a připevněn tak, aby konkrétní zvíře nijak neomezoval v pohybu a neovlivňoval jeho chování.

7. Na jakém principu funguje telemetrický obojek? Jaká je maximální váha obojku, který může zvíře nosit? [1 b]

Jeden typ (VHF) telemetrie využívá radiový signál pro dálkový přenos dat. V telemetrickém zařízení je umístěn vysílač, který je napojen na zdroj energie a prostřednictvím antény odesílá radiové vlny o unikátní frekvenci (zpravidla 27–401 MHz). Radiové vlny jsou poté přijímány zařízením s displejem či reproduktorem a přijímací anténou. K vyhodnocení polohy zvířete se potom může využít akustický signál, který se zesiluje v závislosti

na vzdálenosti zvířete. Druhou možností je určení pozice zvířete pomocí průsečíku dvou přímk procházejících body o známých souřadnicích.

Druhým typem jsou telemetrická zařízení pracující v systému GPS a využívají k přesnému zaměření pozice satelitní sestavu na oběžné dráze Země. GPS telemetrická zařízení zaznamenávají polohu sledovaného jedince na základě přijímaných UHF (ultra krátké vlny) signálů. GPS telemetrická zařízení pracují o frekvenci v rozmezí 0,3–3 GHz. Uložená data (např. poloha jedince, čas a datum záznamu) mohou být z telemetrického zařízení odeslána na VHF přijímač, formou SMS nebo prostřednictvím satelitu na emailovou adresu.

Maximální váha, akceptovatelná jako zátěž v podobě telemetrického obojku je 5 % celkové tělesné hmotnosti konkrétního zvířete.

8. Jak se jmenoval zástupce medvěda hnědého, který obcházel kopce na československém pohraničí v roce 2019 a byl právě také sledován pomocí těchto obojků? [0.5 b]

Ema

9. Kdy myslíte, že jsou nejlepší podmínky pro stopování zvěře a jaká jsou jeho základní pravidla? [1 b]

Ideálně při sněhové pokrývce, která není příliš sypká (čerstvý prašan) ale ani vyloženě tající. Když sníh taje, stopy se potom zvětšují a zkreslují, determinace je potom obtížnější. Stopy se také dobře otiskávají do měkkého bláta na lesních cestách. Například vlci rádi tyto cesty využívají pro rychlé přesuny a šance najít stopy zde je větší než ve volném lesním terénu.

Při nálezu stop je nejdůležitější dokumentace. Nejprve místo prozkoumáte v okruhu 50–100 metrů do všech směrů. Díky tomuto můžete určit, zda šelma šla, běžela či skákala, jestli byla jedna nebo více. Poté místo co nejpřesněji lokalizujete pomocí GPS souřadnic. Dalším krokem je vyfotografování stopy. Fotografujete zásadně s relevantním měřítkem (tedy ne ruka, bota, větev...). Nejvhodnější je samozřejmě metr, dále jakýkoli předmět unifikované velikosti (občanský průkaz, mince, víčko od lahve...)

Pokud narazíte na čerstvé stopy, je zásadní šelmu nestopovat po směru stopy více než 500 metrů, abyste ji nevyrušili. Zpravidla se tedy stopuje opačným směrem, než šelma šla. Při tomto stopování se vám může podařit najít také další pobytové znaky (trus, moč, kořist).

10. Výše byly zmíněny chlupové pasti. Ty se využívají v rámci monitoringu tajnůstkářské šelmy kočky divoké. Jsou to dřevěné kolíky natřené atraktantem. Ten vyvolává u koček otírání a na hrubém povrchu kolíku pak zůstávají chlupy použitelné pro genetickou analýzu. Která látka se jako takový atraktant používá? [0.5 b]

Extrakt z kozlíku lékařského nebo šanty kočičí. Také se používá bobrovina (castoreum).

Vera Hanušová (e-mail: verra.hanusova@gmail.com)

4. Když myš s krocanem snídá. . .

20 bodů

Jídelníček našich zvířecích přátel bývá často velmi překvapující a neobvyklý. V trávicím ústrojí zvířat se občas dějí psí kusy, a to nejen u psa. Pojd' me se tedy podívat na to, jak vypadá taková chutná a vyvážená snídaně u několika zvířecích druhů.

1. Dieta zvířat by měla být vyvážená, ale jistě by měla být také vyrovnaná. Dokážeš vysvětlit, jaký rozdíl je mezi vyváženou a vyrovnanou dietou? [1 b]

Vyrovnaná dieta – dokáže udržet veškeré metabolické funkce zvířete v rovnovážném stavu. Vyvážená dieta – dieta, ve které je vyvážený obsah živin vzhledem k obsahu energie. Nevyrovnaná dieta bývá obvykle i nevyvážená a naopak, nicméně to nemusí být podmínkou (například při nedostatku/nadbytku energie ve stravě.)

2. Základními makroživinami ve výživě zvířat jsou, stejně tak jako u lidí, bílkoviny, tuky a samozřejmě sacharidy. Škrob, cukry a celulóza jsou nejdůležitějšími sacharidy pro výživu zvířat. Které monosacharidy se v přírodě ve volné formě nenachází? V jaké formě je můžeme nalézt? [1 b]

Arabinóza, xylóza a ribóza. Arabinóza a xylóza jsou součástí vlákniny. Ribóza je součástí nukleových kyselin.

Přestože jsou makroživiny nesmírně důležité, ve výživě bychom neměli zapomínat ani na mikroživiny, tedy nejrůznější vitaminy a minerály. Možná někomu z vás radily maminky či babičky brát v zimě „céčko“ pro zlepšení imunity. Vitamin C čili kyselina askorbová je důležitým stimulem imunitního obranného systému. Většina savců si dokáže vitamin C syntetizovat sama, nicméně i zde najdeme výjimky.

3. Kterí savci si nedokáží sami syntetizovat vitamin C a který konkrétní enzym jim chybí? [2 b]

Člověk, morče, chybí jim enzym L-gulonolaktón oxidáza, který katalyzuje poslední krok v syntéze vitamínu C z glukózy

Nyní se přesuneme k jednomu z největších hospodářských zvířat, krávě. Jak nejspíš víte, skot má tříkomorový složený předžaludek a vlastní žaludek, trávení krav je tak poměrně zdlouhavé a složité. Zde najdete charakteristiku jednotlivých oddílů předžaludku a vlastního žaludku. Dohromady se složený žaludek skotu skládá ze 4 částí (oddílů). A přestože ani jeden předžaludek či žaludek mléko nevyrobí, dějí se zde pozoruhodné věci.

4. Ke každému oddílu doplň název, kterému daná charakteristika odpovídá. K jednotlivým názvům oddílů také přiřaď čísla (1–4), jak tyto oddíly po sobě chronologicky následují v procesu trávení. [4 b]

3. KNIHA

- mechanické zpracování krmiva
- vstřebávání H_2O , minerálních látek, těkavých MK
- filtrace a drcení tráveniny

1. BACHOR

- Provlhčení a fermentace krmiva
- Vypuzování plynů
- Chemické trávení

4. SLEZ

- Má objem až 20l
- Navazuje na vrátník

2. ČEPEC

- Separace hrubých částic krmiva
- Potrava se vrací do předchozího oddílu, případně do ústní dutiny k přežvykování
- Zásadité pH

5. Ještě chvíli u skotu zůstaneme. Glykémie krávy by jistě vyděsila nejednoho diabetika. Zkus vysvětlit, proč má kráva na rozdíl od člověka a jiných domácích zvířat velmi nízkou glykémii. [1 b]

Přežvýkavci mají nižší hladinu glykémie než ostatní zvířata z toho důvodu, že mohou využívat mastné kyseliny jako zdroj energie.

Pro své psí miláčky se jejich páničci často snaží obstarat ta nejvíc vytuněná a živinami nabitá krmiva, nicméně ani chovatelé skotu nezůstávají nikterak pozadu. Na trhu můžeme najít široký výběr krmných směsí pro krávy, býky, telata i jalovice.

6. Do krmných směsí skotu se často přidává močovina, dokážeš vysvětlit proč? [1 b]

Skot má v bachoru symbiotické bakterie, které využívají dusík ze štěpení močoviny pro syntézu svých vlastních bílkovin – toho se někdy využívá přidáním močoviny do krmiva.

Zajímavé je také to, že krávy vlastně nikdy nejsou samy. Kromě svých kravích společníků má totiž každá kráva i své vlastní symbiotické společníky, kteří žijí uvnitř jejího trávicího traktu.

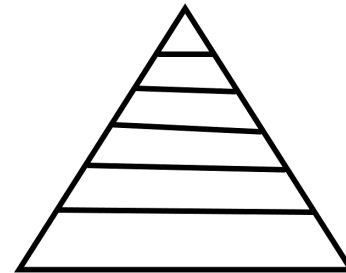
7. Jaké rozdílné symbiotické organismy v trávicím traktu najdeme? (napiš alespoň 3). [1.5 b]

Bakterie, nálevníci, plísňe, houby

Nyní se posuneme od krav dále, k něčemu, co už alespoň z části jistě znáte. Často vidáme potravinovou pyramidu, z níž můžeme jako lidé zjistit míru, s kterou jsou jednotlivé složky potravy důležité v našich jídelnících. Svou vlastní potravinovou pyramidu mají také psi.

8. Do každého stupně pyramidy uveď jeden pojem, který je uveden v závorce: (sacharidy, vitaminy, vláknina, tuky a oleje, proteiny, minerální látky) [3 b]

1. Proteiny
2. Sacharidy
3. Tuky a oleje
4. Vláknina
5. Vitaminy
6. Minerální látky



9. Každý psí páníček dá jistě svému čtyřnohému miláčkovci čas od času nějaký ten pamlsek, a pokud je takový páníček kreativní, může se mezi psími pamlsky objevit le-dacos. V následujícím výčtu potravin najdete takové, které jsou jako pamlsek pro psy vhodné/nevhodné/vhodné po uvaření. Ke každé z potravin napište, zdali je tato potravina pro psa vhodná/nevhodná/vhodná po uvaření. [4 b]

- | | |
|-------------------------------|------------------------------|
| • Jablko – vhodné | • Žampiony – nevhodné |
| • Dýně – vhodná po uvaření | • Čokoláda – nevhodná |
| • Rajče – nevhodné | • Borůvky – vhodné |
| • Česnek – nevhodný | • Špenát – vhodný |
| • Avokádo – nevhodný | • Vodní meloun – vhodný |
| • Cibule – nevhodná | • Batáty – vhodné po uvaření |
| • Banán – vhodný | • Hroznové víno – nevhodné |
| • Zelené fazolky – vhodné | • Ořechy – nevhodné |
| • Jahody – vhodné | • Arašídové máslo – vhodné |
| • Popcorn – vhodný po uvaření | |

Trávení je fyziologický proces, bez nějž by se neobešli naši čtyřnozí ani dvounozí přátelé. Trávíme dnes a denně bez toho, aniž bychom se nad tím nijak zvlášť pozastavovali. Zkusme se teď nad tím to pozoruhodným procesem ještě naposledy na chvíli pozastavit. Přemýšlel/a jsi už někdy nad tím, z čeho se vlastně skládají naše výkaly? Že ne? Teď je ta chvíle!

10. Zkus se zamyslet a napsat alespoň 3 složky, z nichž jsou výkaly složeny. [1.5 b]

- Nestravitelné a nestrávené zbytky potravy
- Těkavé mastné kyseliny, sterol, katol, indol
- Zbytky trávicích šťáv, mucinu, epitelie
- Hlen
- leukocyty

Daniel Pluskal (e-mail: pluskal.daniel@gmail.com)
ve spolupráci s Ing. RNDr. Martinem Markem, Ph.D.

5. Můžeš utíkat, ale neschováš se...

20 bodů

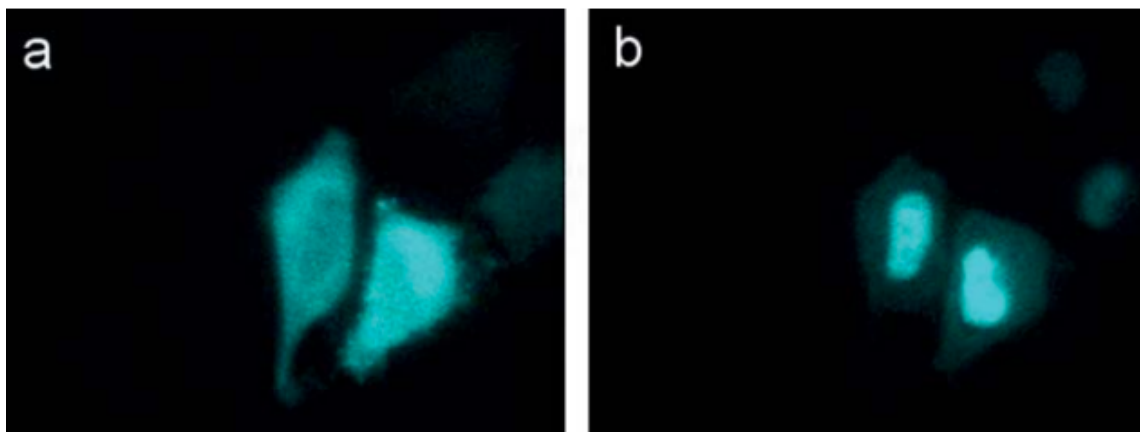
Martin Marek pochází z malé zemědělské vsi na Vysočině, a tak není velkým překvapením, že jeho kroky nejprve vedly na pražskou zemědělskou univerzitu, kde vystudoval zemědělské inženýrství. Jelikož však toto studium nedokázalo úplně odpovědět na všechny jeho otázky, tak se posléze přihlásil ke studiu odborné biologie na Karlově univerzitě, aby se prostě dozvěděl co nejvíce o tom, jaké formy organismů se vyvinuly na této planetě a jak tyto tvorové fungují na molekulární úrovni. V rámci dlouhodobých postdoktorandských stáží působil několik let ve virologické laboratoři Wageningenské univerzity (Nizozemí) a v Ústavu molekulární a buněčné biologie ve Štrasburku (Francie), kde získával zkušenosti s přípravou proteinových komplexů a jejich strukturní analýzou. Martin je spoluautorem více než 40 vědeckých publikací, 4 kapitol v knihách a 2 mezinárodních patentů. V Loschmidových laboratořích na Masarykově univerzitě nyní vede tým Strukturní biologie, který se zabývá studiem molekulární struktury a mechanismů proteinových katalyzátorů (enzymů) a dekódováním principů jejich evoluce. Získané poznatky se snaží dále využít v konstrukci vylepšených forem enzymů pro biotechnologické aplikace či syntetickou biologii. Ve volném čase si rád zahraje fotbal, squash, nebo se prostě jen tak kochá krásami přírody. Mezi jeho nejoblíbenější živé tvory patří hmyz a houby.



„Vědci pozorovali přenos nervového impulsu v přímém přenosu!“

„Vědci na úrovni genů rozluštili, jak rostliny odpovídají na hudbu!“

„Vědci dokázali vypnout gen klíčový pro metastázování!“



Obrázek 1: Vizualizace translokace glukokortikoidního receptoru z cytosolu (a) do jádra (b) buněk linie HeLa indukovaná dexamethasonem.

Podobné poutavé titulky jistě vídáte každou chvíli. Už vás ale někdy napadlo, jak vlastně ti kouzelní vědci dovedou podobné jevy, často velmi obtížně vůbec zachytitelné, natož

pak kvalitně zaznamenané, tak zdánlivě jednoduše pozorovat, rozluštit či dokazovat? Představte si třeba řidiče za volantem osobního auta jedoucího po dálnici – to je náš vědec. Jeho automobil je komplexní stroj se spoustou součástí, které každá interaguje s další spoustou součástí – to je naše buňka – a pro řidiče je při řízení klíčové vědět, co a jak se s autem zrovna děje. Jak jedu rychle? Mám dost benzínu? Nemám otevřený kufr? Všechny tyto informace může řidič získat triviálně, například tak, že dostane pokutu za překročení rychlosti, že zůstane viset na krajnici po tom, co motor spotřebuje poslední zbytek paliva, anebo že dveře od kufru s teatrální ránou odplachtí vzad po razantním vjezdu do podzemních garáží. Ve všech případech se řidič nakonec dozvěděl o tom, co se s autem dělo, avšak zpětně, ale hlavně, pozdě. Proto je auto vybaveno palubní deskou. Jedu moc rychle? Aha, tady je rafika, která mi to řekne. Dochází mi benzín? Blik, rozsvítí se kontrolka, a dozvím se to včas. Nezapomněl jsem zavřít kufr? Blik a zvukový signál. A přesně takto můžou naši zázrační vědci vědět, k expresi² kterého genu zrovna dochází, kde je jaká molekula v buňce uložena a jak, kam a při jaké příležitosti buňkou proplová či které buněčné systémy odpovídají na tu kterou nastalou událost – prostě si k čemukoliv obtížně pozorovatelnému, co ale je potřeba pozorovat, přidají vlastní „kontrolky“, které se ve vědě označují jako tzv. **reportéry**, resp. **reportérové systémy**.

1. Zamyslete se a uveďte alespoň šest vlastností, které by měl mít ideální biologický reportérový systém. [1.5 b]

Takových vlastností je vskutku spousta. Ideální reportérový systém se: i) snadno zavádí do organismu, ii) v buňkách daného organismu se běžně nevyskytuje, iii) měl by mít jasné identifikovatelný fenotypový projev, iv) jeho přítomnost lze stanovit s vysokou citlivostí a v) vysokým dynamickým rozsahem, vi) pro organismy by měl být netoxický a vii) nejlépe by měl být zcela ortogonální k jiným biologickým procesům, viii) jeho zavedení by mělo být levné, ix) bezpečné, x) rychlé, jak zavádění do organismu, tak odezva reportérového systému by měla být reprodukcibilní. . .

Reportér je ve zkratce takový gen, jehož činnost, resp. fenotypové vlastnosti, můžeme nějakým způsobem propojit s vybranou vlastností či jevem, které nás zajímají a které chceme pozorovat. A podle toho, jakým způsobem takové „označení“ našim reportérem provedeme, se o původním jevu zájmu dozvídáme informace různého typu.

2. Dva základní typy reportérů, podle toho, jakým způsobem jsou propojené s původním jevem zájmu, jsou reportéry **promotorové** a reportéry **fúzní**. Vysvětlete, jaký je rozdíl mezi promotorovým a fúzním reportérem a jakým způsobem jsou tyto reportéry propojené s původním jevem zájmu. [2 b]

Reportér promotorový vkládáme prakticky na libovolné místo v genomu, důležité však je, že daný gen pro reportér je kontrolován stejným promotorem, jako náš gen zájmu. Jak gen zájmu, tak gen pro reportér jsou exprimovány odděleně (produkt genu zájmu a reportér existují jako dvě oddělené molekuly), avšak navzájem naprosto závisle – pokud

²Expresí genu je proces, při kterém, zjednodušeně řečeno, dochází k projevu vlastností daného genu, resp. vlastností, které daný gen svou přítomností v genomu propůjčuje svému organismu. Pokud je exprimován strukturální gen, tvoří se mRNA kterou gen kóduje, a eventuálně dochází k syntéze daného proteinu na ribozomech. Pokud je exprimován gen pro tRNA či rRNA, dochází k syntéze konkrétních molekul tRNA/rRNA atp.

je exprimován jeden z genů, pak je nutně exprimován i ten druhý.

Reportér fúzní do genomu vkládáme přímo vedle genu zájmu, a to tak, aby byl gen zájmu i gen pro reportér součástí jednoho čtecího rámce a zároveň geny nebyly oddělené terminátorem transkripce nebo STOP kodonem. Výsledkem pak je daný produkt genu zájmu, který je fyzicky propojen, zfúzován s naším reportérem – na každé molekule sledovaného proteinu je přímo navázána molekula reportéru.

3. Který z typů reportérů (promotorový vs. fúzní) by bylo vhodné využít, pokud byste chtěli zjistit:

- a) Kam v buňce se ukládá protein kódovaný genem *AQP1*? [0.5 b]

Reportér fúzní

- b) Za jakých okolností dochází k expresi genu *PR5*? [0.5 b]

Reportér promotorový

- c) Zda-li proteiny kódované geny *ATP5A1* a *ATP5F1B* fungují nezávisle, anebo tvoří proteinový komplex? [0.5 b]

Reportér fúzní

- d) V jakém pořadí dochází k aktivaci exprese jednotlivých genů při vývoji myšího embrya? [0.5 b]

Reportér promotorový

Nejstarším využívaným typem takových zpravodajských systémů jsou reportéry **enzymové**. Pokud se v buňce děje to, co jsme si naším reportérem označili, dochází zároveň k produkci určitého enzymu. Každý enzym se vyznačuje katalytickou aktivitou – je schopen urychlovat či dokonce umožňovat určitou chemickou reakci. A my své enzymové reportéry schválně volíme tak, aby reakce, kterou katalyzují, pro nás byla výrazná a dobře měřitelná.

4. Jedním z nejčastěji používaných enzymových reportérových systémů se nazývá **α -komplementace**. Tento systém se nejčastěji používá jako indikátor toho, zda-li geneticky modifikované buňky správně přijaly cizorodé geny.



Obrázek 2: Tzv. „modrobílý screening“, aneb praktické využití mechanismu α -komplementace pro selekci geneticky modifikovaných bakterií

- a) Pokuste se stručně vysvětlit, jak α -komplementace funguje a co je jejím principem. Kde v systému se obvykle nachází gen *LacZ- α* a kde v systému se nachází zbytek genu *LacZ*? [2 b]

β -galaktosidáza je enzym schopný rozkládat určité sacharidy, β -galaktosidy, na monosacharidy. Aby však správně fungoval, musí dojít ke spojení čtyř těchto enzymů do komplexu, který je teprve potom schopen nějaké katalýzy. Pro modrobílý screening se využívají geneticky upravené bakterie, které umějí z β -galaktosidázy syntetizovat je-

nom část, takzvaný ω -peptid, který sám o sobě není schopen β -galaktosidy rozkládat, protože mu chybí druhá část – takzvaný α -peptid, který je nutný ke spojení jednotlivých enzymů do zmiňovaného aktivního komplexu („zbytek“ resp. nekompletní či nefunkční gen LacZ tedy musí být nutně přítomen v genomu hostitelské buňky). Ke transformaci těchto bakterií se využije speciální typ plasmidu, který nese gen právě pro buňce chybějící α -peptid. Tento gen je ale strategicky modifikován jedním či více restrikcími místy. Pokud tedy do vektoru vložíme náš gen, dojde k přerušení a tím deaktivaci genu pro α -peptid. K samotnému provedení screeningu je ale potřeba ještě jedna biochemická klička – přídavek chromogenního substrátu X-gal do živného média. X-gal je analogem laktózy, jehož štěpením β -galaktosidázou vzniká mimojiné vždy jedna molekula 5,5-dibrom-4,4-dichlorindiga. Tyto molekuly spontánně dime-
rizují a získávají intenzivní modrou barvu.

- b) Jak při využití α -komplementace odlišíme buňky, které i) vůbec nepřijaly cizorodou DNA, ii) přijaly pouze prázdný vektor a iii) správně přijaly vektor³ s vloženou cizorodou DNA? Předpokládejte, že za přítomnosti ampicilinu, IPTG a chromogenního substrátu X-gal využíváme buňky *Escherichia coli* DH5 α , vektorem je plasmid pUC19. [2 b]

Bakterie, které plasmid vůbec nepřijaly, v prostředí antibiotika nepřežijí. Bakterie, které přijaly plasmid bez námi vloženého genu produkují α -peptidy, které se spojují s ω -peptidy produkovanými buňkou, tvoří funkční β -galaktosidázu, dochází k rozkladu X-gal a kolonie na agaru se tedy jeví výrazně modré. A nakonec bakterie, které přijaly náš gen sice v prostředí antibiotika přežijí, nicméně nemohou produkovat α -peptid. Přeměna X-gal se v nich tedy nekoná a kolonie na agaru zůstávají bílé.

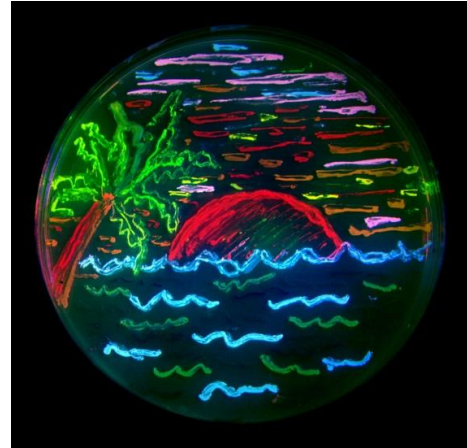
Dalším jevem, který se používá pro účely selekce organismů, je tzv. **auxotrofie** – stav, při kterém si daný organismus neumí sám vyrábět nějaký k životu nezbytný metabolit, a tak je závislý na jeho dodávce zvenčí. My toho můžeme využít např. tak, že organismu odstraníme gen nezbytný pro jeho přežití, a tento gen umístíme do našeho vektoru – pokud chce organismus přežít, musí náš vektor přijmout, jinak zkrátka zahyne.

5. Auxotrofie byla pro podobné účely „využita“ i ve filmu Jurský Park. Všichni klonovaní dinosauri byli geneticky modifikováni tak, aby nemohli produkovat aminokyselinu lysin. Tím mělo být docíleno toho, že kdyby daný dinosaur utekl z parku, nemohl by přežít, protože by mu lysin, v parku obvykle doplňovaný speciálním krmivem, zkrátka chyběl. Autoři filmu ale při vymyšlení tohoto fiktivního „selektivního“ systému učinili jednu zásadní chybu – jakou? [2 b]

Lysin je pro všechny živočichy včetně člověka tzv. esenciální aminokyselina. Jinak řečeno, neexistuje žádný živočich, který by lysin uměl samostatně syntetizovat a tedy nějaká genetická úprava, která by organismu inherentně neschopnému syntetizovat lysin znemožnila syntetizovat lysin je nesmyslná. Organismy tedy nutně musejí lysin získávat z prostředí v potravě, a to se jim očividně velmi dobře daří i bez potravinových doplňků podávaných veterináři a dinosauri uprchlí z výběhů by tak mohli vesele přežívat dál, stejně jako každý jiný živočich.

³„Vektor“ je v biologii prakticky ekvivalentní výrazu „přenašeč“ – způsob, jakým se něco dostává odněkud někam jinam. Můžete se dočíst, že vektorem spavé nemoci je moucha tse-tse, či vektorem malárie je komár rodu *Anopheles*. V kontextu molekulární biologie a genetiky je vektorem něco, co zajišťuje přenos genů zvenčí do cílového organismu – nejčastěji plasmidy, ale také viry, umělé chromozomy, nanočástice...

Novější reportérové systémy využívají **fluorescenci**. Fluorescence je jev, při kterém určité molekuly po absorpci fotonu, nejčastěji ultrafialového či viditelného záření, dovedou vyzařovat vlastní světlo, které se od pohlčeného světla liší svou vlnovou délkou. Jde si tak snadno představit, že využití fluorescence jako reportéru je neuvěřitelně pohodlné. Na buňky stačí posvítit a víme, co víme. Není potřeba žádný substrát ani aktivátor chemického charakteru, jen světlo. Molekul, které dovedou samy od sebe fluoreskovat, je nepřeberně množství – avšak pro účely reportérových systémů potřebujeme, aby byla daná fluorescenční molekula zakódovatelná do genu; musí to tedy být nějaký protein. Nejčastěji využívaným fluorescenčním reportérem je tzv. **zelený fluorescenční protein** (GFP = green fluorescent protein) s původem v medúze, pohárovce rodu *Aequorea victoria*, za jehož objev a využití byla Nobelova cena udělena teprve v roce 2008.



Obrázek 3: Mikrobiologický obrázek namalovaný různě fluoreskujícími kmeny bakterií.

6. Jedním ze způsobů využití fluorescenčních proteinů v praxi je studium molekulárních interakcí za pomoci tzv. **FRET = Försterova rezonančního přenosu energie**. Pokud například potřebujeme zjistit, zda-li protein A tvoří komplex s proteinem B, každý z těchto proteinů označíme pomocí jiného fluorescenčního reportéru (nutně způsobem, který je odpovědí na otázku 3c). Pak již jen pozorujeme, zda-li mezi těmito dvěma reportéry dochází k přenosu energie mechanismem FRET; zkrátka, pokud naše dva proteiny interagují a tvoří komplex, jakmile vhodně excitujeme (čti: posvítíme na) jeden z fluorescenčních reportérů, uvidíme, že fluoreskuje i druhý fluorescenční reportér, byť tento námi excitován není.

- a) V čem se FRET principiálně odlišuje od tzv. triviálního (zářivého) přenosu energie? [1 b]

Při triviálním transferu energie dochází k emisi fotonu donorovou molekulou a její reabsorpci molekulou akceptoru – při přenosu energie tedy dochází k vyzáření fotonu. Při FRET dochází k nezářivému přenosu energie mezi donorem a akceptorem rezonančně prostřednictvím dipol-dipolových interakcí, při energetickém transferu nedochází k emisi fotonu.

- b) Který z těchto dvou typů přenosu energie je účinnější? [0.5 b]

FRET

- c) Jaké jsou tři základní předpoklady pro to, aby mezi danými dvěma fluorescenčními molekulami mohl probíhat FRET (resp. aby byla účinnost FRET nenulová)? [1.5 b]

i) emisní spektrum donoru se musí překrývat s excitačním spektrem akceptoru (jinak řečeno, energie poskytovaná donorem musí stačit a být vhodná pro excitaci akceptoru), ii) donor a akceptor musí být velmi blízko, nanejvýš několik nanometrů od sebe a iii) donor a akceptor musí být vhodně orientovány v prostoru (aby mohla probíhat dipol-dipolová interakce, která přenos energie zprostředkovává, vektory dipolových momentů obou molekul na sebe nesmí být kolmé).

- d) Který z těchto předpokladů pro FRET je podkladem pro důkaz, že dochází k interakci našich dvou proteinů? [0.5 b]

Druhý zmíněný předpoklad – nutnost, aby donor a akceptor byly ve značné blízkosti, jen o něco dále, než délka běžných chemických vazeb.

7. Za využití své odpovědi na předchozí otázku a databáze fluorescenčních proteinů fpbase.org zjistěte, zda-li může docházet k efektivnímu transferu energie mechanismem FRET mezi molekulami (v pořadí donor-akceptor):

- a) α GFP a ccalOFP1 [0.5 b]

Ano, může

- b) mCherry a Sirius [0.5 b]

Ne, nemůže

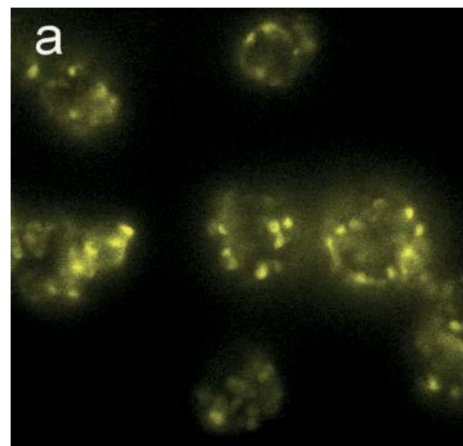
- c) mBlueberry2 a LSSmScarlet [0.5 b]

Ano, může

Jevem, který fluorescenci poslední dobou začíná konkurovat, je **bioluminiscence**. Zdrojem bioluminiscence, a tak i naším reportérem, je enzym zvaný **luciferáza**, který oxidací energeticky bohatého substrátu, **luciferinu**, uvolňuje obrovské množství energie ve formě světla. Na rozdíl od fluorescence je sice potřeba aktivace systému chemickou látkou (přídavkem luciferinu), avšak to bioluminiscenční reportéry více než vynahrazují svojí neuvěřitelnou citlivostí – stačí jen pár molekul luciferázy a velmi dobře měřitelný světelný signál je na světě.

8. Světelný výstup bioluminiscenčních reakcí může být v závislosti na bioluminiscenčním reportéru, který používáme, různě „dávkován“. Reakce mohou být buďto zábleskového typu („flash-type bioluminescence“), tedy velmi jasné, ale celá světelná reakce proběhne během několika sekund či minut, anebo svítivého typu („glow-type bioluminescence“), kdy světelný výstup není tak intenzivní, avšak reakce po zažehnutí běží klidně hodiny či dny. Uveďte vždy alespoň **dva** příklady biologického procesu, který je výhodné sledovat pomocí zábleskového a svítivého typu bioluminiscenčního reportéru. [2 b]

Pomocí zábleskového typu bioluminiscenčního reportéru je vhodné sledovat jevy, které chceme kvantifikovat okamžitě, velmi rychle, v diskrétních bodech, anebo jevy, při kterých stanovujeme nějaký důležitý metabolit, pro bioluminiscenční reportéry typicky ATP anebo Ca^{2+} . V tomto případě je např. nutné kvantifikovat koncentraci dané látky, avšak takovým způsobem, abychom jí spotřebovali co nejméně. Při použití zábleskového typu bioluminiscence můžeme získat silný signál v krátkém čase za velmi nízké spotřeby daného metabolitu, kdy během chvilky dojde ke spotřebování veškerého dodaného luciferinu, čímž se reakce zastaví. Organismus tak před a po měření zůstává prakticky



Obrázek 4: Zobrazení Langerhansových ostrůvků v lidských pankreatických buňkách kombinací fluorescence a bioluminiscence

nezměněn. Takové procesy jsou např. stanovení okamžité energetické bilance buňky, zjištění kyslíkového stavu buňky, sledování činnosti iontových kanálů, nervových impulsů atd.; je však nutné dodat, že zábleskový typ bioluminiscence je spíše na škodu a ke sledování většiny biologických procesů se nehodí.

Pokud bychom podobné procesy sledovali pomocí svítivého typu bioluminiscence, pak bychom po dlouhou dobu organismu ATP či Ca^{2+} trvale ubírali, což by na jeho fyziologii mohlo mít následky – měření bychom ovlivnili stav organismu. Pro reportéry vykazující svítivý typ bioluminiscence tedy volíme reportéry ortogonální, aby se ani jejich dlouhodobou činností nenarušila choulostivá rovnováha, kterou si organismus tak horkotěžko udržuje. Pak je ale takovou luminiscenci výhodné použít prakticky k čemukoliv, co jsme již dříve diskutovali – stanovení rozmístění určité molekuly v buňce či její transport, interakce molekul, sledování viability buněk, dlouhodobé sledování exprese určitých genů. . .

9. I bioluminiscenční reportéry umožňují podobné uspořádání, jako dříve zmiňovaný FRET; v tomto případě se jedná o tzv. **BRET = rezonanční přenos bioluminiscenční energie**. Zdrojem energie tentokrát není excitační záření, ale luciferin, který pohání luciferázovou reakci, která zase pohání fluorescenci fluorescenčního proteinu. Zamyslete se a uveďte alespoň tři výhody, které má využití BRET (energie je reportéru dodávána ve formě chemické látky) oproti využití klasického FRET (kde je energie reportéru dodávána ve formě elektromagnetického záření). [1.5 b]

Největší výhodou BRET je, že k vyvolání odezvy kombinovaného reportéru nepotřebujeme obvykle velmi silné excitační záření. Dosáhneme tak nižšího stresu pro organismus, který je vyvolán fototoxickými reakcemi, během času nedochází k vyhasínání fluorescence reportéru mechanismem photobleachingu, můžeme dosáhnout mnohem vyšší citlivosti měření, protože se zcela vyhýbáme autofluorescenci a zbytečnému rozptylu světla na buněčných elementech (při měření máme daleko nižší pozadí = stanovíme i mnohem méně intenzivní odezvu reportéru), a také falešným výsledkům – při FRET je velice jednoduché excitačním zářením, původně zamýšleným pro excitaci donoru, alespoň částečně excitovat i akceptor, čímž můžeme získat informace, které ale neodpovídají skutečnosti.

Jak můžete vidět, kreativní využití molekulárně biologických nástrojů společně s vhodnými způsoby sondování nám umožňuje doslova si posvítit na jevy na škále jednotlivých molekul, buněk, ale i celých organismů. Kromě zmíněných reportérů enzymových, fluorescenčních či bioluminiscenčních existuje mnoho dalších mechanismů pro naše mikroskopické „kontrolky“: **reportéry receptorové**, které vycytávají a vážou specifické molekuly a tím umožňují značení prakticky jakoukoliv látkou, ke které máme receptor, reportéry, které jsou viditelné pro MRI⁴, PET⁵, SPECT⁶, CT⁷, anebo ultrazvuk, čímž jsou nedocenitelné v klinické diagnostice, a tak dále a tak dále, reportérové systémy tedy dnes slouží nejenom výzkumu, ale také medicíně. Reportérové systémy umožňují sledování jinak nesledovatelného, zachycování jinak nezachytitelného, odhalení jinak neodhalitelného – a tak takovým objevům zbývá jen říci: „Můžete utíkat, ale neschováte se. . .“

⁴MRI = zobrazování magnetickou rezonancí

⁵PET = pozitronová emisní tomografie

⁶SPECT = tomografická scintigrafie

⁷CT = počítačová tomografie



Obrázek 5: Využití bioluminiscenčního zobrazování pro vizualizaci genové exprese ve striatu živých, volně se pohybujících myší; pro video viz eurekaalert.org/multimedia/543197

Eliška L. Frolová (e-mail: elfrol006@gmail.com)

6. Milk

20 points

A friendly reminder:

Your solution of this task is expected to be written in English.

Milk is a complicated liquid. Some people love it and drink it every day, however some people can't stand it. What is the reason? What kind of nutrients does milk contain? Is it harmful or beneficial? I hope you get to know new facts about milk and processes which relate to it.

From newborn to adult...

Let's start with a crossword. The words are components of breast milk which almost everyone consumed as a newborn. You'll see that it's so good it could be called a cocktail of nutrients!

This is the last task of our 7th year of our seminar so I would like to introduce you to "milk" in a playful and interesting way, at least a little bit.

1. What kind of nutrients does breast milk contain in general? Add selected components – nutrients (TERMS) to the crossword and answer additional questions somewhere else (do not write them in the crossword). "CH" counts as 2 letters and one 2-word term is written without a gap to the crossword. The numbers correspond to the numbers in the crossword.

How to solve it? For instance:

TERM: mammal – the term belonging to the crossword

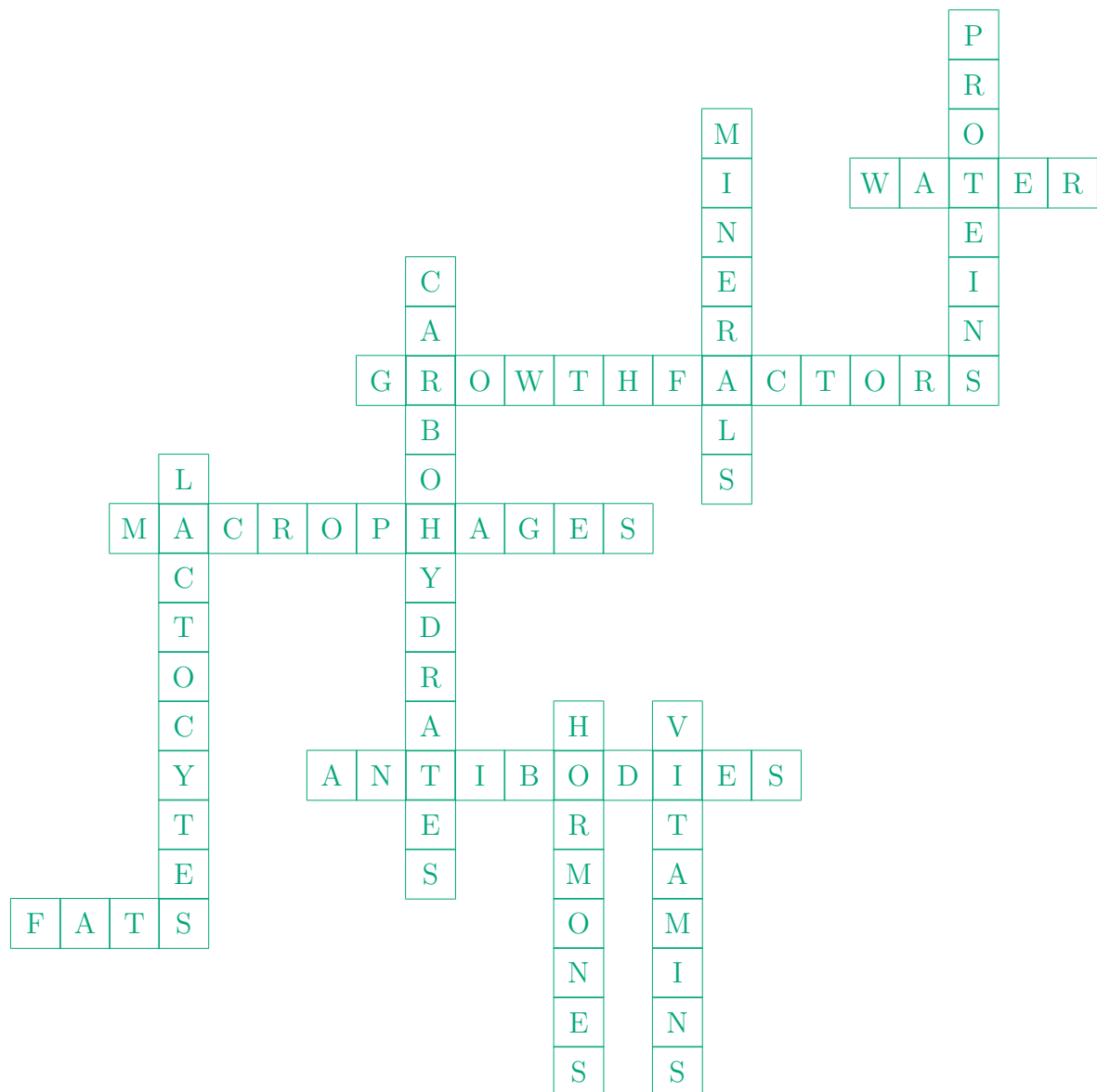
QUESTION: Which species of this class of animals gives us the most milk?

ANSWER: Cow

[8 pt]

1. TERM: PROTEINS QUESTION: The type of the nutrient which is responsible for the apparent white color of milk ANSWER: casein
2. TERM: MINERALS QUESTION: The components responsible for healthy and strong growth, especially ensuring nerve function, muscular function and growth of the bones ANSWER For example: (name 3) Ca_2^+ , Fe_2^+ , Zn...
3. TERM: WATER HINT: Milk contains 85–90 % of that component
4. TERM: CARBOHYDRATES QUESTION: Bacteria of the milk fermentation (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, ...) can transform this kind of nutrient Lactose to Lactic acid
5. TERM: GROWTH FACTORS QUESTION: The components can support right development of the child, the two (TERM) have significant healing effect on injured GIT mucosa
6. TERM: LACTOCYTES HINT: The most represented cells in breast milk.

7. TERM: MACROPHAGES crossword HINT: In addition to neutrophils, milk contains another type of immune cells called: TERM
8. TERM: HORMONES QUESTION: Name the kind of component which could be provided in breast milk (end up in from the mother's body) and could influence the level of antibodies and so on. . .
9. TERM: VITAMINS QUESTION: What kind of nutrient can vegans have a problem with due to a deficiency? ANSWER: B12
10. TERM: ANTIBODIES crosswords QUESTION: Name the important part of the immune system of the newborn which helps to pass immunity to a baby occurring the most ANSWER: IgA in breast milk
11. TERM: FATS crosswords HINT: Mother can influence the level of the nutrients in breast milk by different diet. It could be said It is the main source of energy in milk



2. What is the name of the first milk of a mammalian? Write 2 functions of it. [1 pt]

The name is colostrum (or beestings). It contains high amount of antibodies so it is protective for the new-borns and it helps to form and develop the immune and digestive system. Another role is to create the first stool of a newborn, called meconium.

3. We will stay with new-borns. Surely you have come across the term milk teeth. In Czech or English, it is the same. Why do people have these so-called baby teeth, as well? And why are these teeth called “milk”? [1 pt]

People have milk teeth because they help shape the jaw into an arch and create openings and a path for permanent teeth that have not yet developed. Milk teeth are also important for the development of children’s speech. They are called “milk” teeth because of the color of the first teeth (milk teeth are whiter than permanent teeth) or because mothers breastfeed their babies when their first teeth grow.

4. Describe the process of formation of the glands and milk formation in the glands before the birth of the child (during pregnancy) and after the birth of the baby by using these terms and more: glands, lobes, alveolar cells, prolactin, oxytocin. [2 pt]

Mammary glands are divided into lobes where milk is produced. During pregnancy, breast stem cells are divided into three different types of breast cells (alveolar, ductal, myoepithelial) cells. Lobels gradually grow and the lipid content of milk is produced as droplets by alveolar cells. When a new-born suckles from a breast, the mother’s nerve system is stimulated and it helps to release two hormones, prolactin and oxytocin. Prolactin stimulates the breast alveolar cells to increase and initiate milk production. Oxytocin causes the breast to push out the milk. Oxytocin also has a calming effect on the mother.

5. It’s a little strange, that almost every baby loves milk, but some adults can’t stand it, right? It is connected with lactose intolerance. What is it and what are its symptoms? Is milk really dangerous for people with lactose intolerance? [1 pt]

People with lactose intolerance can’t fully digest lactose (sugar) in milk. Symptoms: gas, vomiting, diarrhea, bloating and so on – stomach discomfort in general. Milk isn’t dangerous in general – you can just suffer from gastrointestinal troubles.

6. Describe the genetic origin of lactose tolerance (persistence). [1 pt]

Lactose tolerance is caused by mutation, it is an autosomal dominant trait. Specifically, the nucleotide C is substituted by nucleotide T. People without the mutation can’t digest milk as adults, the enzyme lactase has ceased to be produced.

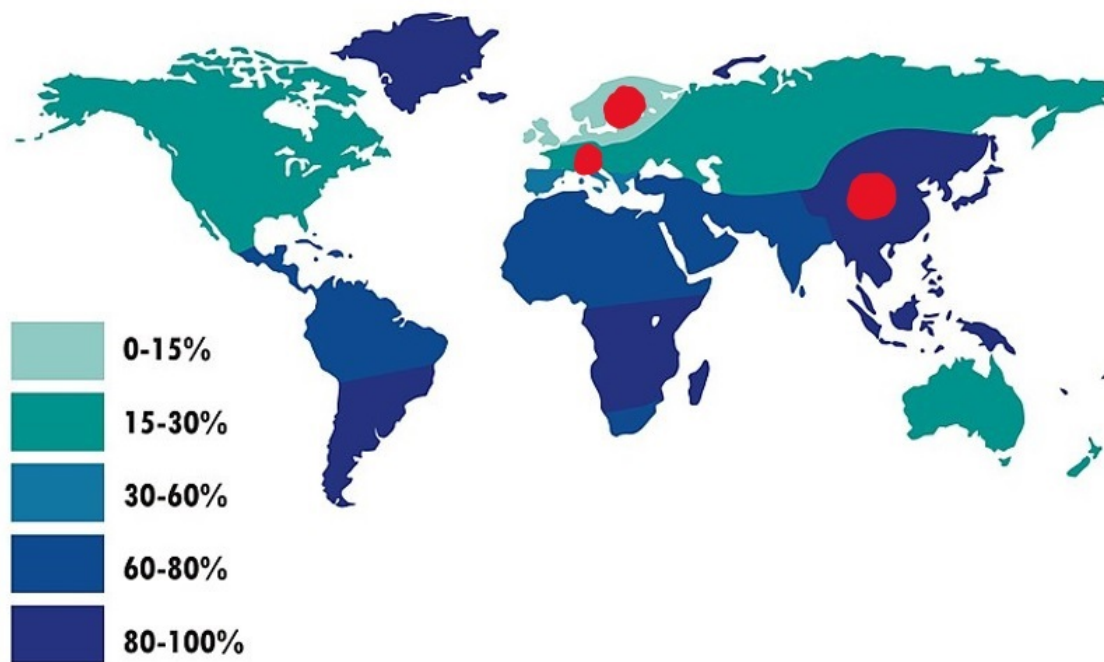
7. Study and briefly describe the reasons and theories why and where lactose tolerance spread or, on the contrary, why lactose intolerance persisted. (With the help of marked places on the map - you can focus on these places or not.) [2 pt]

Rated individually, my solution:

There are many theories as to why lactose tolerance has spread so successfully, even on specific continents. The most discussed are Europe, the Scandinavian region, Africa, Asia.

The most famous theory talks about the gene-culture coevolution. Lactose persistence probably appeared after the emergence of agriculture, specifically after the emergence of milk production. It was a desirable source of nutrients beneficial for survival. In Northern Europe, Scandinavia, there could be another reason. Scandinavians suffer from vitamin D deficiency, which can cause rickets and other troubles. Drinking milk eliminates these troubles. Scandinavians are generally very focused on drinking a lot of milk. On the other hand, most Asian ancestors lived in conditions that were unfavorable to dairy farming, so lactose intolerance has persisted here.

Worldwide prevalence of lactose intolerance in recent populations (schematic)



8. What is the difference between lactose intolerance and lactose allergy? The two terms are often confused. [1 pt]

Lactose intolerance is a problem of the digestive system and allergy is a problem of the immune system and it can be more serious. Many people with lactose intolerance can consume yogurt but not milk, even though the two contain roughly similar amounts of lactose.

9. Are animals also lactose intolerant? Would you offer milk to an adult cat, as it is usually the custom? – why yes or why not. [1 pt]

Yes, they are. Even if it is the custom, adult cats are lactose intolerant and what is more, they lack receptors for the sweet taste of milk.

Random facts about milk

10. Milk could be beneficial for people, who ate very spicy meals (for instance at Indian restaurants). Can you describe the mechanism by which milk can help us to eliminate a spicy taste? And for people with lactose intolerance, is there another possibility to eliminate a spicy taste? Name one another food/liquid which helps with a very spicy taste. [1 pt]

The mechanism: Milk contains a protein called casein which replaces a capsaicin at the tongue receptor. Capsaicin molecules floating around the mouth because of the effect of casein. Another option are potatoes or carrots, which are able to absorb a large amount of spices or a cup of oil.

11. Question for overthinkers: Is almond, coconut, soya or another plant milk a milk as it is written and sold in stores? Argue why or why not – by at least two sentences, it is up to you. [1 pt]

Rated individually

