

5. ročník (2020/2021)



1. SADA

Termín odevzdání: 22. listopadu 2020

MUNI | RECETOX
SCI

MUNI Ústav
SCI experimentální
biologie

Jak psát řešení

Milá řešitelko, milý řešiteli,

než se vrhneš na řešení IBISích úloh, věnuj prosím chvílku i těmto řádkům.

IBIS je korespondenční seminář **pro jednotlivce**, který by ti rád kromě řešení zajímavých biologických témat nabídl i nahlédnutí do zákulisí VŠ, což tě lépe připraví na budoucí studium.

Proto se (ve vlastním zájmu) řiď následujícími radami:

- **Nekopíruj** – Neboj se hledat informace na nejrůznějších webech, v učebnicích či knížkách, vyvaruj se však opisování textu. Máš přeci vlastní hlavu a dokážeš parafrázovat (přepsat text vlastními slovy).
- **Vlastní tvorba** – Pokud je v zadání napsáno, že máš použít vlastní obrázky, myslí se tím opravdu vlastní obrázky (ať již nakreslené v ruce či vytvořené na počítači), nikoliv stáhnutý obrázek z internetu.
- **Odpovídej k věci** – Utříd' si myšlenky a vyber to podstatné. Při práci s textem se dá lehce ztratit (sami to známe), proto se nikdy neboj udělat krok zpět a znovu si zopakovat otázku. Pokud připojíš nějaké zajímavosti, nebo věcně (a přesto krátce) odpověď rozvedeš, rozhodně se nebudeme zlobit. Ale hodnotit budeme pouze odpovědi na položené otázky.
- **Úlohy tvoř sám za sebe** – Ber to jako příležitost překonat sám sebe a zasoutěžit si s kamarády. Je Franta lepší v zoologii? Nevadí, dotáhneš ho na mikře.
- **Hraj fér** – Nezapomeň, že nepodvádíš nás, nýbrž především sám sebe. IBIS je práce navíc, ale vyplatí se ti. Pokud se nám něco nebude zdát, vždycky se ti ozveme. Kdyby tě přesto podvádění lákalo, budeme tě penalizovat ztrátou bodů, což nikdo z nás nechce, tak to prosím nedělej.
- **Hlídej si termíny** - Dávej si pozor na termíny odevzdání, ať úlohy neděláš na poslední chvíli a stihneš je včas odevzdat.
- **Řešení odevzdávej ve formátu .pdf**. Můžeš ho psát ručně a pak naskenovat, ale lépe jsou pro nás čitelná řešení psaná elektronicky.

Kdyby ti cokoliv nebylo jasné, neboj se nás kontaktovat na adrese ibis@sci.muni.cz. Jsme tu od toho, abychom ti pomohli.

Doufáme, že se ti IBIS bude líbit a užiješ si s ním spoustu zábavy, protože my už se nemůžeme dočkat tvých odpovědí.

Tvůj IBIS tým

Daniel Pluskal (e-mail: pluskal.daniel@gmail.com)

1. Zničehonic něco

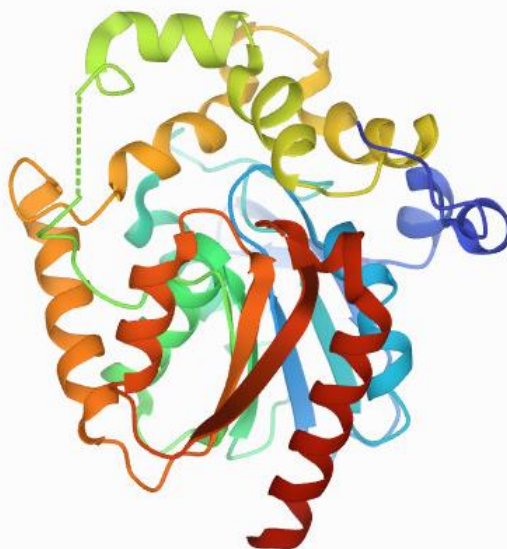
20 bodů

Proč těsto kyne? Jak se z moštu stane víno a proč může zoctovatět, když se nechá na vzduchu? Jak to, že když namočíme a zahřejeme ječná zrna, začnou sládnout? A jak je možné, že mléko stářím houstne, tuhne a stává se z něj jogurt? Od dávných věků si lidé všímali všemožných spontánních procesů, které si nedovedli racionálně vysvětlit. Od těchto dob již protéklo mnoho vody, nicméně chléb, víno, ocet, pivo i jogurt dodnes rádi a hojně používáme. Co se ale změnilo, je naše chápání procesů, které naši předkové brali jako dar shůry. Nyní již víme, že za vším stojí mikroorganismy společně se svými nejmocnějšími nástroji: enzymy. Výzkum enzymů, ale i proteinů obecně byl v minulosti ovšem velmi složitý. Chcete zkoumat nějaký enzym? Nezbude vám než získat dostatečný počet organismů, ve kterých se enzym vyskytuje, náročně zpracovat jejich části, ve kterých se produkuje nebo shromažďuje, obtížně protein vyizolovat za použití řady purifikačních technik a možná, jenom možná získáte enzym v dostatečném množství a kvalitě, aby jej bylo možné zkoumat. Takto fungovala enzymologie téměř dvě stovky let, od přelomu 18. a 19. století až do roku 1972, kdy byla připravena první rekombinantní DNA. A jen o deset let později byl pomocí rekombinantní technologie připraven první umělý protein nevyizolovaný z druhu svého přirozeného výskytu – lidský inzulin. Pomocí rekombinantní technologie bylo najednou možné produkovat v podstatě jakýkoliv protein v libovolném množství přímo v laboratoři, což byl pro vědu obrovský skok kupředu.

1. Co znamená v molekulárně biologickém smyslu pojem „rekombinace“? Jak se liší rekombinantní protein od běžných proteinů? [0,5 b]

Rekombinantní technologie spočívá v identifikaci genu z původního organismu, který kóduje protein našeho zájmu, a vložení tohoto genu do organismu jiného. Tento hostitelský organismus je zvolen tak, aby byla práce s ním co nejjednodušší. Hostitelský organismus kultivujeme, tedy necháme jej pomnožit, dokud jej není dostatečné množství, a potom v něm vhodným způsobem spustíme expresi, tedy výrobu našeho proteinu. Jakmile máme pocit, že naše malé továrničky už navyráběly našeho proteinu dostatek, narostlou biomasu sklídíme a zamrazíme při velmi nízkých teplotách. Výsledkem jsou jakési malé a snadno zpracovatelné konzervy, většinou s velmi vysokým obsahem rekombinantního proteinu našeho zájmu. Jak je z tohoto shrnutí jasné, produkce rekombinantních enzymů je vysoce komplexní soubor procesů s řadou variací, my si tedy představíme variantu úplně nejjednodušší, ale zato zdaleka nejčastěji využívanou.

Prvním krokem produkce rekombinantních proteinů je samozřejmě získání genu, ve kterém je zakódován náš protein. Už v této počáteční fázi se objevuje první obrovská síla rekombinantní technologie. Pokud totiž víme, jakou má náš protein nebo jeho gen sekvenci, nemusíme se vůbec zdržovat se sháněním původního organismu a izolací genu z něj. Naopak na začátku našeho procesu gen vůbec nemusíme fyzicky mít, což je zdaleka nejčastější případ, co může nastat. Gen je totiž možné na základě jeho sekvence připravit prostřednictvím metody syntézy umělých genů. Tato metoda je nicméně velice specializovaná a obtížná, a proto ji většinou neprovádějí přímo výzkumné laboratoře ale specializované firmy. Takto můžeme připravit jakýkoliv protein, jehož sekvence je známá. O tom, že takových proteinů není vůbec málo, vás přesvědčí například krátká návštěva internetového archivu PDB a o tom, že získání jejich sekvence je velmi jednoduché, vás přesvědčí následující úkol. Pokud ale nevíme, jak náš protein nebo jeho gen vypadá, je rekombinantní technologie stále velmi mocným spojencem: ve spojení s vhodnou screeningovou technologií je schopná relativně snadno a rychle takový gen v genomu původního organismu identifikovat.



Enzym s kódovým označením 2PSH.

2. Navštivte webové stránky rcsb.org a v databázi PDB naleznete položku s kódem 2PSH. Jako odpověď na otázku uveďte, o jaký enzym se jedná (zkratka nebo celý název), z jakého organismu pochází a vložte jeho úplnou sekvenci (319 aminokyselin, tedy 319 písmen). [2 b]

Jakmile víme, jaký protein potřebujeme, přichází čas pro zvolení správného náhradního rodiče, tedy organismu, pomocí kterého protein vytvoříme. Správný hostitelský organismus musí být dostatečně komplexní, aby pokryl veškeré procesy nutné při přípravě kterého konkrétního enzymu, ale stále co nejjednodušší, aby byla práce s ním co nejpohodlnější. Věda tedy nepoužívá leckteré organismy, ale takové, který jsou pečlivě vybrané, dobře prostudované a snadno geneticky modifikovatelné se zvážením všech jejich výhod a nedostatků.

3. Nejvyužívanější typy organismů využívané pro produkci rekombinantních proteinů jsou bakterie, kvasinky, hmyz infikovaný bakulovirem anebo savčí dělivé buňky. Který z těchto čtyř hostitelů byste zvolili, pokud byste chtěli vyprodukovat: [3 b]
 - a) Větší protein (cca 70 kDa), který obsahuje disulfidické můstky a vyžaduje posttranslační modifikace a nevyžaduje glykosylaci, přičemž vám jde o co nejvyšší výtěžek, co nejrychlejší provedení a co nejnižší cenu?

- b) Malý (cca 30 kDa), jednoduchý protein bez obsahu disulfidických můstků, přičemž vám jde o co nejvyšší výtěžek, co nejrychlejší provedení a co nejnižší cenu?
- c) Větší (cca 100 kDa) a složitý protein vyžadující posttranslační úpravy a chaperony, přičemž nejste omezeni časem a jde o co nejvyšší výtěžek?

Jakmile máme vybraného správného hostitele, je načase mu nějakým způsobem předat náš gen. To se provádí pomocí takzvaných vektorů. Vektor z biologického hlediska nemá „směr a velikost“, jak si můžete pamatovat z hodin matematiky; jedná se o jakýkoliv nosič našeho genu, který umožňuje gen vpravit do hostitelského organismu, a to takovým způsobem, že jej bude organismus schopen správně číst a používat. Správný vektor musí hostitel umět také autonomně replikovat a předávat dalším generacím, zároveň by však měl být nepřenositelný horizontálně, aby se nemohl nekontrolovatelně šířit do buněk, ve kterých ho nechceme. Takových možností je obrovské množství: jen pro bakterie můžeme volit jako vektor plasmidy, bakteriofágy, kosmidy nebo i celé umělé bakteriální chromozomy a řadu dalších nukleovou kyselinu nosných elementů. Ještě obsáhlejší knihovnu možností můžeme použít při modifikaci kvasinek, hmyzích nebo savčích buněk. My se ale nyní spokojíme s bakteriemi jako hostitelskými organismy a vektory pro ně zdaleka nejvíce využívanými – plasmidy.

Plasmidy jsou kruhové molekuly DNA, které se v bakteriích přirozeně vyskytují. Obsahují doplňkovou genetickou informaci – taková informace není nutná k přežití, nicméně může šance na přežití značně vylepšit například poskytnutím informace nutné pro resistenci k určitému antibiotiku. A právě tohoto je možné dobře využít. Vezmeme plasmid, který by bakterii obvykle poskytl resistenci k určitému antibiotiku, například ampicilinu, a přidáme do něj gen našeho proteinu. Takové modifikace DNA nám umožňují příslovečné „genetické nůžky“ – enzymy zvané restriční endonukleázy. Tyto enzymy jsou schopné v sekvenci nukleové kyseliny hledat určité konkrétní sekvence a na jejich základě řetězec definovaně přestřihnout. Protože víme, jakým způsobem byla plasmidová DNA přestřižena, můžeme náš gen navrhnout přesně tak, aby do přestřiženého místa pasoval jako dílek do puzzle. Pak nám zbývá už jenom přidat trochu DNA ligázy, enzymu, který přestřižené řetězce znovu spojí, a náš fúzní vektor je na světě.

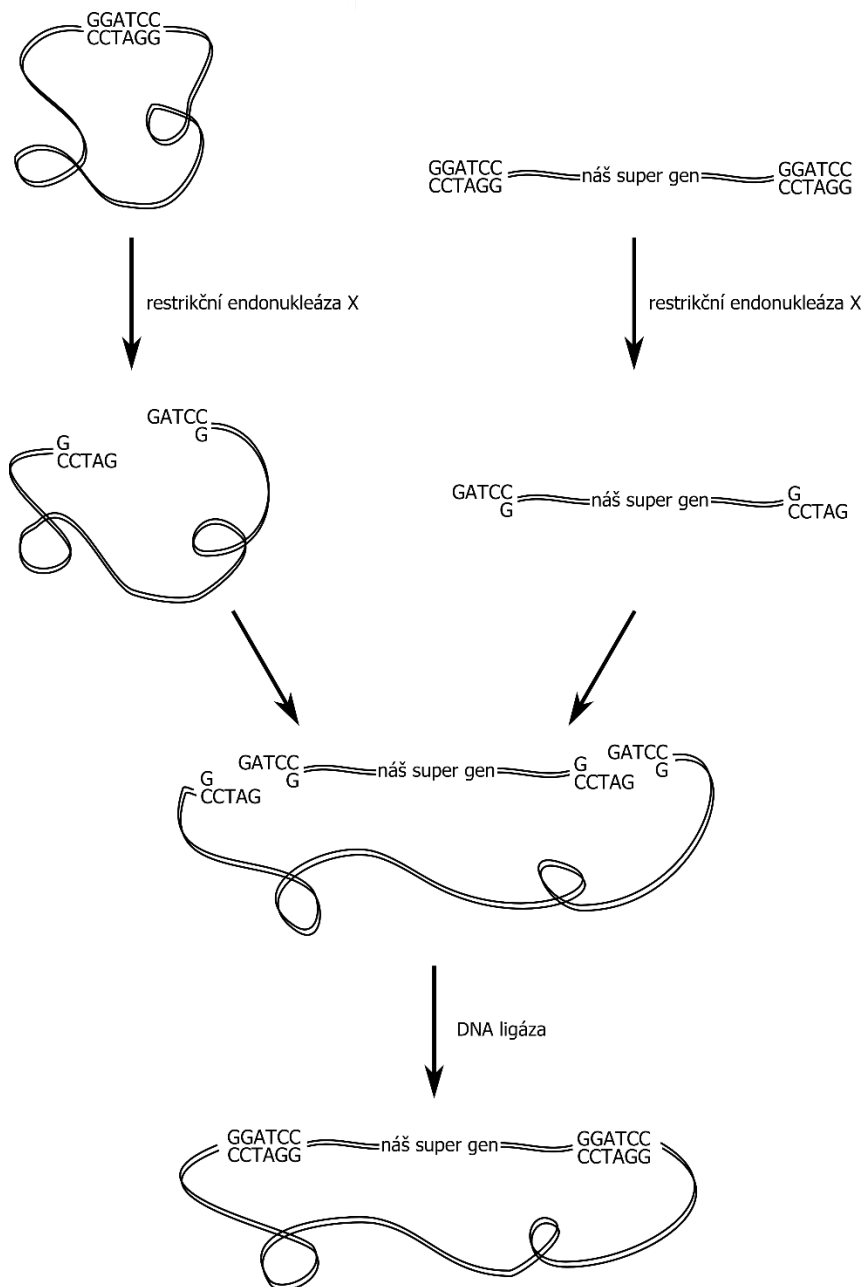


Schéma procesu vkládání genu do plasmidu.

4. Prostudujte schéma vkládání cílového genu do vektorového plasmidu a rozhodněte, která konkrétní restriční endonukleáza (např. *NdeI*) byla pro proces použita. [1 b]
5. Jaký je rozdíl mezi transkripčním a translačním fúzním vektorem? [1 b]

Jakmile je vektor připraven, musíme jej předat našim bakteriím. Tomuto procesu se říká transformace buněk a lze provádět hned několika způsoby, které využívají jevu, že bakterie v krizových situacích umožňují vstup cizorodým látkám do cytoplazmy: zkrátka tonoucí se stébla chytá, co kdyby některá z těch látek pomohla krizi přežít? Nejpoužívanějším z takových metod je metoda teplotního šoku. K malému množství suspenze buněk, které chceme transformovat, přidáme trošku vektoru a směs necháme vychladit na teplotu pod

4 °C. Buněčnou suspenzi poté skokově krátce zahřejeme na teplotu 42 °C; tím se ve stěnách buněk vytvoří mikroskopické trhlinky vlivem různých fyzikálních jevů, zejména teplotní roztažnosti vody v buňce. Mikrotrhlinkami může náš vektor vniknout do cytoplazmy, nicméně takto poškozené buňky jsou nyní velmi citlivé a snadno umírají. Buňky proto opět zchladíme a přidáme regenerační medium – roztok různých pro bakterie výživných látek – aby se buňky mohly vzpamatovat. Transformovanou a regenerovanou buněčnou suspenzi rozetřeme na pevném, například agarovém živném mediu na Petriho miskách. Agarové medium obsahuje za účelem selekce buněk antibiotikum, vůči kterému jsou nyní transformované buňky odolné – jakákoliv bakterie, která by vektor nepřijala, v prostředí antibiotika zkrátka nepřežije, a tak máme prakticky jistotu, že všechny kolonie, které na agaru narostou, vektor obsahují.

6. Aby bylo bakterie možné transformovat metodou teplotního šoku, musí být tzv. chemokompetentní, čehož je dosahováno přidáním vysokých koncentrací chloridu vápenatého. Jakým způsobem chlorid vápenatý pomáhá při transformaci bakteriálních buněk? [1 b]
7. Jaký je rozdíl mezi pojmy transformace, transfekce a transdukce? [0,5 b]
8. Pro vkládání vektoru do obtížnějších, například rostlinných buněk se někdy využívá metoda tzv. genové pistole. V čem tato metoda spočívá? Jedná se o metodu transformace, transfekce nebo transdukce? [1 b]



Transformace buněk není příliš efektivní proces. Ne každá buňka plasmid přijme, nicméně ty, které jej nepřijmou anebo by se do média dostaly náhodnou kontaminací, vyselektujeme zmíněným použitím antibiotika v reakčním mediu. Samotná příprava vektoru ale také není příliš efektivní proces. Část molekul plasmidu je sice upravená vložením našeho genu tak jak chceme, část molekul plasmidu ale náš gen nepřijme a po aplikaci DNA ligázy se molekuly spojí přesně tak, jak vypadaly na začátku, před štěpením. Obě tyto varianty plasmidu (plasmid bez našeho genu a plasmid s naším genem) jsou ale bakterie schopny přijmout a obě tyto varianty zároveň bakteriím poskytnou odolnost vůči použitému antibiotiku.

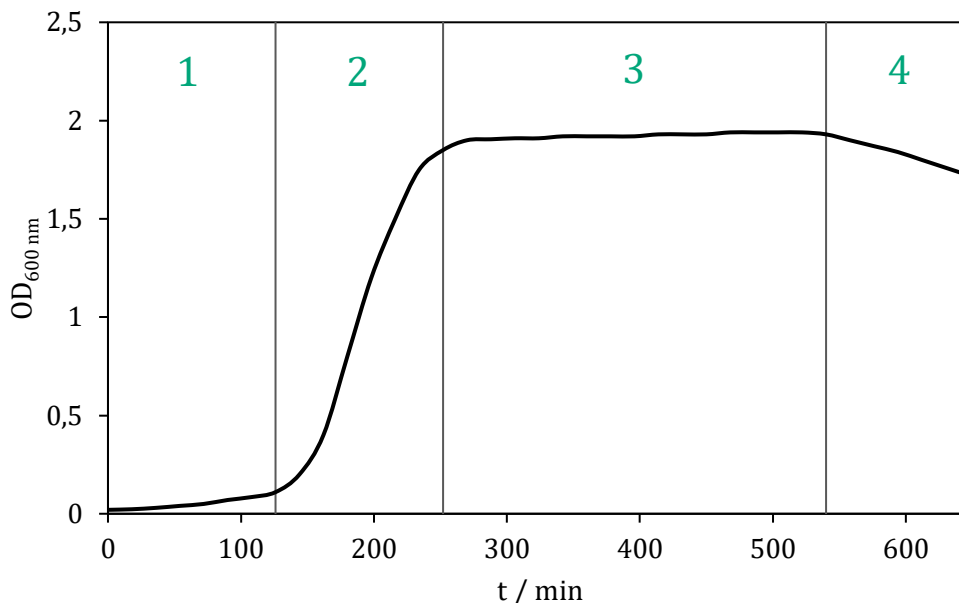
9. Pro řešení tohoto problému se často využívá metoda tzv. modrobílého screeningu. V čem tato metoda spočívá? Jak na agaru vypadají kolonie bakterií,

kteřé přijaly vektor bez vloženého genu a jak vypadají kolonie, které přijaly námi modifikovaný vektor? [3 b]

Bakterie máme připravené. Všechny spolehlivě obsahují vektor, který je upraven vložením našeho genu. Bakterie ale náš protein stále neprodukují. Ptáte se proč? Chyba nikde nenastala, naopak, vše funguje tak, jak má. Správná kombinace hostitele a vektoru totiž umožňuje kontrolu nad tím, kdy se protein zájmu v buňkách začne vyrábět, a bakterie proto zatím čekají na náš signál. Jejich čas ale ještě nenadešel – zatím máme buněk pro produkci moc málo. Na agarové plotniče si tedy vybereme nějakou pěknou kolonii a hezky sterilně touto kolonií zaočkujeme namísto pevného média medium tekuté, zpravidla jenom trošku, třeba 10 mililitrů. Takové médium potom udržujeme provzdušňované, například třepáním na laboratorních třepačkách, a teplé, kultivace probíhají často při 37 °C. A najednou se bakterie mají. Spoustu živin, spoustu prostoru, spoustu kyslíku, krásně teplíčko, to se jim líbí, a tak se množí a množí. Když máme buněčnou kulturu dostatečně narostlou, našim tekutým médii můžeme zaočkovat více média, třeba už i litr. A buňky rostou a rostou a dělí se a dělí se. Nyní už ale musíme být na pozoru a pečlivě monitorujeme optickou hustotu naší kultury. Jakmile totiž nastane správný čas, zchladíme kulturu na 20 °C, to abychom co nejvíce zpomalili buněčné dělení a zabránili přemnožení, a buňkám dáme signál – můžeš exprimovat náš protein. Buňky, které jsou nyní v rozpuku, se nemohou množit, živin na přežití mají více než dost, a tak exprimují náš protein v daleko, daleko vyšší míře, než by jej exprimovaly v přirozených podmínkách, přestože jej nepotřebují. Prostě protože můžou. Naše mikrotovárničky pracují a pracují. V tomto stavu kulturu udržujeme zpravidla kolem 20 hodin. Opět si ale musíme dát pozor, tentokrát aby bakterie nevyprodukovaly proteinu příliš. Pokud taková situace nastane, buňky začnou protein ukládat jako odpad nebo zásoby do inkluzních tělísek, ze kterých se protein získává zpět jen se značnými ztrátami.

10. Níže na obrázku vidíte růstovou křivku bakteriální kultury jako závislost optické hustoty kultury na čase kultivace, pokud by růst NEBYL zpomalen ochlazením kultury na 20 °C. Pojmenujte fáze růstu buněčné kultury označené čísly 1-4 a stručně vysvětlete, co se během jednotlivých fází děje. Kdy během růstu kultury by bylo vhodné růst zastavit a indukovat expresi rekombinantního proteinu? Stručně zdůvodněte svoji odpověď. [3 b]

Růstová křivka bakteriální kultury



11. Bakterií zdaleka nejčastěji využívanou pro produkci rekombinantních proteinů je velice známá *Escherichia coli*, přesněji její geneticky modifikovaný kmen DE3 v kombinaci s plazmidem typu pET jako vektorem. Při této kombinaci hostitele a vektoru je možné indukovat expresi rekombinantního proteinu z vektoru pouhým přidáním látky označované zkratkou IPTG. Jaká látka se pod touto zkratkou ukrývá? Na jakém principu funguje spouštění exprese pomocí IPTG? Proč se pro spouštění exprese nevyužívá laktóza, přestože to řídicí mechanismus teoreticky umožňuje? [4 b]



Nakonec už nezbývá než výtobytky našeho zemědělského družstva sklídit. Kulturu odstředíme, aby se bakterie usadily na dně v podobě béžové pasty. Medium odlijeme, dezinfikujeme a zlikvidujeme. Bakterie opět resuspendujeme v malém množství vhodného pufru a hluboce zamrazíme, zpravidla na -70 až -80 °C. A výsledek naší práce? Malé, úhledné konzervičky plné bakterií obsahující velké množství našeho vysněného proteinu, v zamraženém stavu skladovatelné po velmi dlouhou dobu, klidně v řádu let.

Produkce enzymu tímto končí, práce s ním ale teprve začíná. Rekombinantní protein je možné zkoumat přímo v buňkách, většinou je ale nutné jej z buněk vyizolovat a důkladně přechistit – purifikovat. Tento krok se stává nezbytným, pokud by měl být protein přímo aplikován v průmyslu nebo lékařství. Pro tyto účely se využívá řada metod zejména chromatografických nebo elektroforetických, nicméně jejich soubor je tak obsáhlý, že by vydal (a v průběhu letošního ročníku IBISu ještě vydá) na celou další úlohu. Proto prosím neodcházejte od přijímače a nepromeškejte naše další toulky biotechnologickou divočinou.

Vít Procházka (e-mail: wydeg@email.cz)

2. Barevná úloha

20 bodů

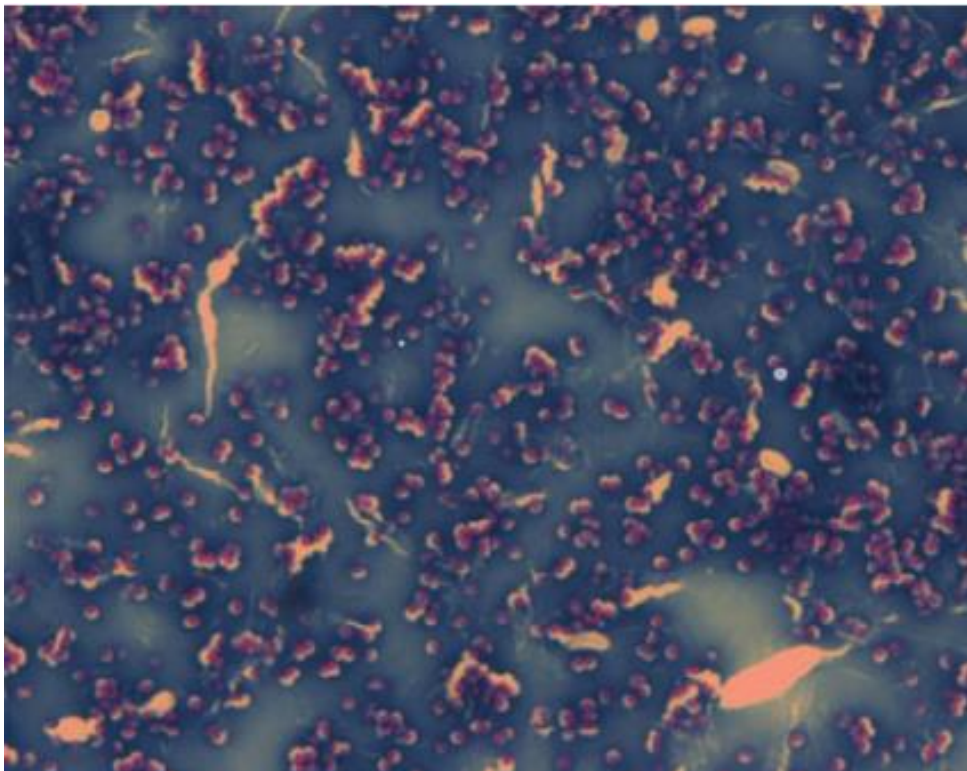
Nenechte se zmást názvem – tato úloha je ve skutečnosti čistě „bílá“ (tj. laboratorně zaměřená). Budeme se v ní věnovat možnostem pozorování různých biologických preparátů (především bakteriálních a živočišných) za využití mikroskopu a různých barviček.

Bakterie a další mikroorganismy

Preparát na podložním sklíčku se před obarvením zpravidla nechá uschnout a fixuje buď trojím protažením plamenem kahanu, nebo chemicky. Lze pozorovat i tzv. nativní preparát bez těchto kroků, pouze kapka vody s kulturou mezi podložním a krycím sklíčkem. Nativní preparát umožňuje pozorovat pohyb buněk či obtížně barvitelné struktury. Jelikož není příliš zřetelný, pozoruje se často s využitím fázového nebo Nomarského kontrastu, nastaveného na mikroskopu.

Negativní barvení spočívá v obarvení pozadí, buňky vidíme jako bezbarvé, takže můžeme snáze pozorovat jejich obrysy. Lze je použít i v kombinaci s barvením buněk.

1. Napiště alespoň dvě využití negativního barvení. [2 b]



2. Tento preparát byl obarven podle Manevala, pozadí je obarveno Kongo červení. Proč má tedy modrou barvu? [1 b]

K pozorování bakteriálních bičků lze použít preparát, ke kterému se přidá nejen barvivo (např. krystalová violet), ale i mořidlo tanin. Bičky jsou křehké – preparát není vhodné fixovat a neměly by se používat skleněné pomůcky kromě krycího a podložního skla.

3. Co bychom ve světelném mikroskopu pozorovali, kdybychom nepoužili mořidlo? Vysvětlete proč. [2 b]

Nejspíše nejznámější bakteriologickou barvicí technikou je Gramovo barvení, které rozděluje bakterie na _____ a _____ podle struktury jejich buněčné stěny. Fixovaný preparát je nabarven krystalovou violetí, mořen Lugolovým roztokem, promyt acetonem či ethanolem a nabarven safraninem. _____ bakterie mají nad fosfolipidovou membránou silnou vrstvu buněčné stěny, která se obarví krystalovou violetí a ve výsledném preparátu je fialová. _____ bakterie mají peptidoglykanovou vrstvu jen tenkou, nad ní se nachází další membrána obsahující lipopolysacharidy. Při promývání organickým rozpouštědlem se tato vnější membrána odplaví a z tenké buněčné stěny se snáze vyplaví barvivo. Pro snazší rozpoznání jsou všechny buňky obarveny znovu, například safraninem; jelikož je světlejší (ružový), je toto zbarvení vidět pouze u _____ bakterií.

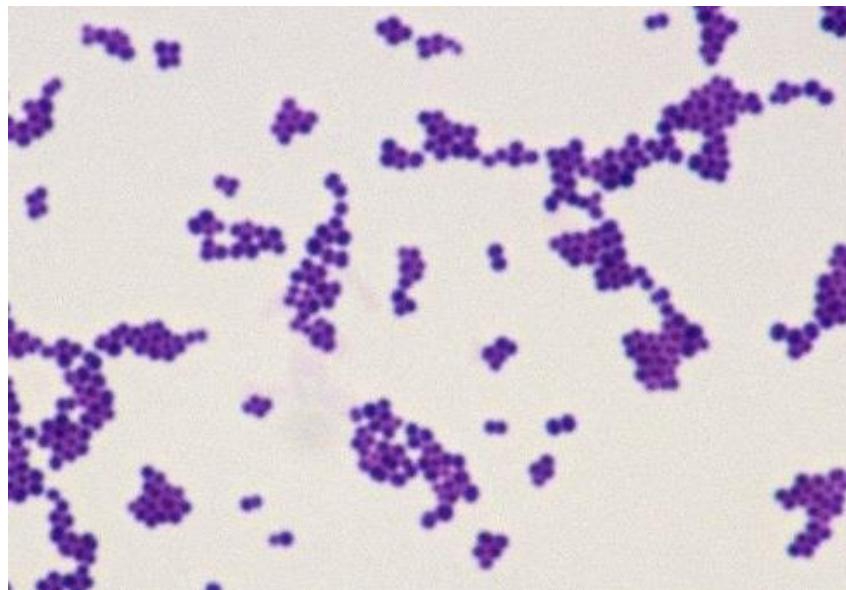
4. Doplňte pojmy. [2 b]

Některé bakterie mají buněčnou stěnu silně impregnovanou hydrofobními glykolipidy, např. s obsahem mykolových kyselin. Tato vlastnost zkresluje výsledky Gramova barvení, a tak je třeba použít odlišné techniky, např. barvení podle Ziehla a Neelsena. Při něm jsou fixované buňky barveny karbolfuchsinem, poté promyty. Pozadí a odbarvené buňky jsou dobarveny methylenovou modří nebo malachitovou zelení.

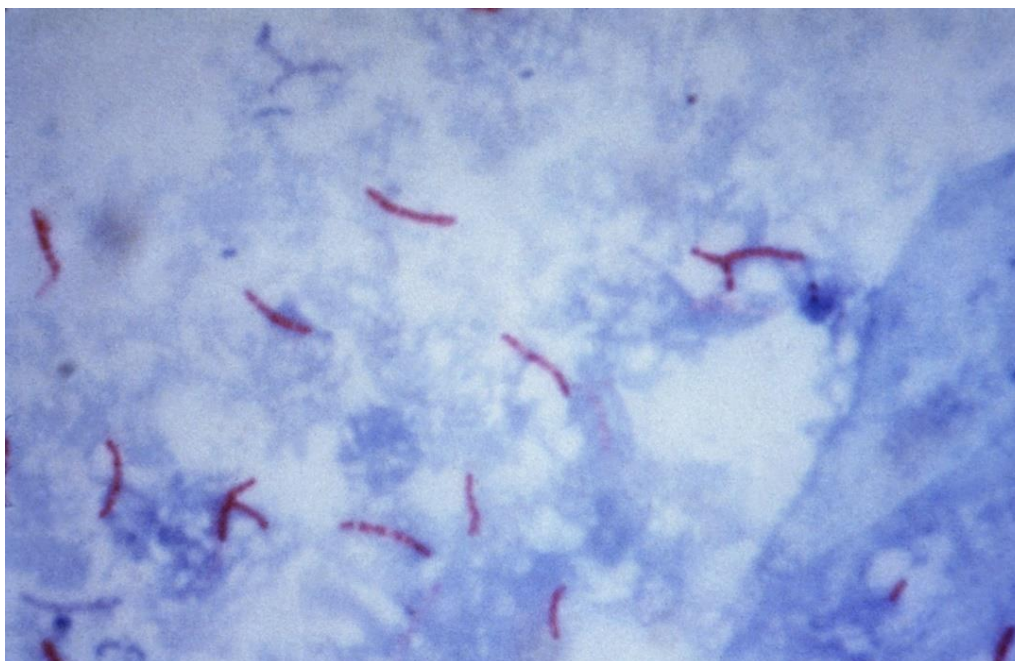
5. Jak se souhrnně označují bakterie, které Ziehlovým-Neelsenovým barvením zčervenají? Proč se jim říká zrovna takto? [1 b]

6. Tento způsob barvení se provádí s koncentrovaným barvivem a za horka. K čemu by došlo, kdybychom barvili za laboratorní teploty? A co kdybychom zahřívali preparát až k varu? [2 b]

Nyní se pokusíme určit dvě bakterie na základě barvených preparátů a dalších indicií.



Preparát 1



Preparát 2

Preparát 1 byl obarven dle Grama. Na Petriho miskách s masopeptonovým agarem tvoří bakterie hladké okrouhlé kolonie světle žluté barvy. Bakterie je kataláza pozitivní, výsledek bacitracinového testu (0,04 U) byl negativní. Bakterie způsobila pooperační infekci.

Preparát 2 byl obarven dle Ziehla a Neelsena (karbolfuchsin, methylenová modř). Gramovo barvení neposkytlo jednoznačný výsledek. Pacient, z jehož hlenu byla bakterie získána, trpí horečkou a vykašlává krev.

7. Které bakterie jsou podle vás v preparátech? [4 b]

Živočišné tkáně

Histologické preparáty se připravují následujícím postupem:

- odběr tkáně – bloček max. 1 cm³
- fixace vhodným činidlem (např. formaldehyd, ethanol, ledová kys. octová, kys. trichloroctová) nebo směsí činidel
- vypírání fixačního činidla (vodou nebo ethanolem)
- odvodnění vzestupnou alkoholovou řadou, projasnění xylenem
- zalití do parafinu
- krájení na mikrotomu (tloušťka zpravidla 6-8 μm)
- umístění na podložní sklíčko
- deparafinace xylenem, zavodnění sestupnou alkoholovou řadou
- barvení
- znovu odvodnění a projasnění
- uzavírání pod krycí sklíčko, upevnění kanadským balzámem

8. V postupu jsou zmíněny celkem tři změny rozpouštědla (zavodnění či odvodnění). Zdůvodněte každou z nich – proč nelze preparát připravit třeba s jedinou změnou rozpouštědla? [2 b]

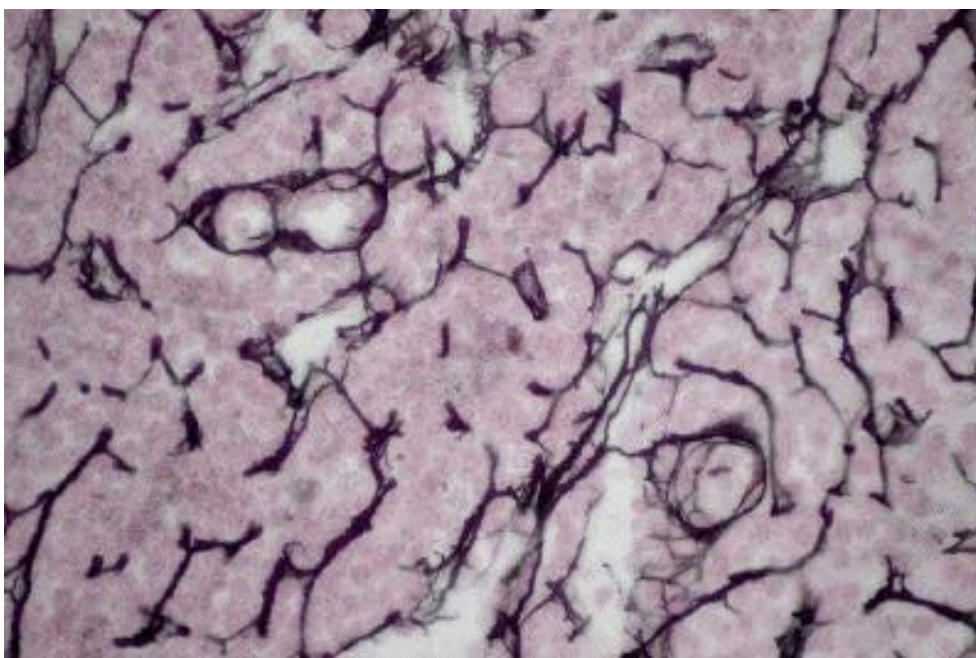
Nejčastější barvení v histologii je pomocí hematoxylinu a eosinu. Různé buněčné struktury se přednostně barví jedním, druhým nebo žádným barvivem. Fialový hematoxylin barví především jádro, červenorůžový eosin pak cytoplasmu a její proteiny. Lipofilní struktury, např. tuk v adipocytech, se nebarví.

9. Jak se nazývají struktury s vyšší afinitou k hematoxylinu, resp. eosinu? (Odpovědi jsou dvě adjektiva.) [1 b]

10. Jistá skupina buněk se dělí na tři podskupiny pojmenované podle vlastností z předchozí otázky. Jak se tato konkrétní skupina souhrnně nazývá? [1 b]

11. Hematoxylin samotný je žlutá krystalická látka. Které dva kroky je třeba provést, aby se stal fialovým barvivem? [1 b]

Některé buněčné struktury či formy mezibuněčné hmoty vyžadují speciální barvení, například impregnaci stříbrnou solí. Tímto barvením lze mj. zviditelnit retikulární vlákna tvořící oporu lymfatických orgánů, viz obrázek (preparát lymfatické uzliny):

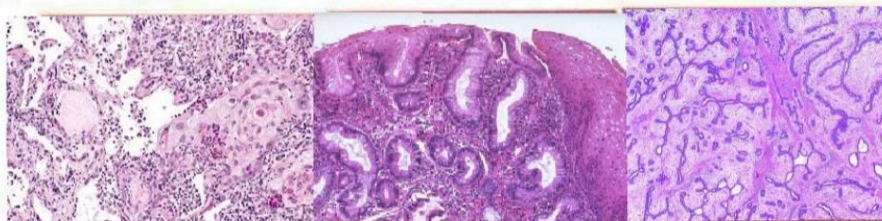


12. Proč jsou na obrázku vidět pouze retikulární vlákna a ne retikulocyty? Odpověď si pečlivě rozmyslete. [1 b]

Pokud vás někdy čeká poznávačka z tkání, ať už ve středoškolských soutěžích nebo na vysoké škole, přeji vám, abyste nedopadli takto. :)

Histopathology in a nutshell

What doctors see

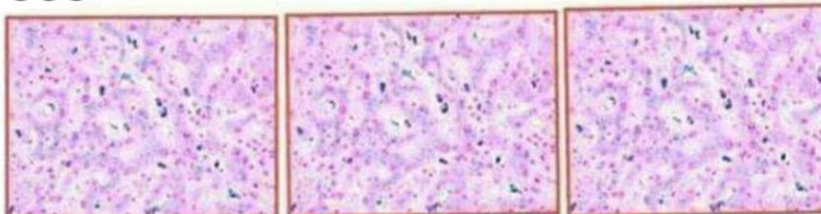


Squamous cell carcinoma lung

Barrett's oesophagus

Fibroadenoma breast

What I see



Jan Macek (e-mail: janmacek249@gmail.com)

3. Mustausaf Czechoslovak

21 bodů



Alberta Schweizera, francouzského lékaře z nemocnice v Lambaréné, zná kde kdo. Málokdo však zná doktorku Vlastu Kálalovou Di-Lotti, „českého Schweizera“. Kálalová byla jednou z prvních žen, které vystudovaly medicínu na Univerzitě Karlově. Po absolvování praxe v Brně, řídíc se svým heslem „v samostatném státě nutno budovat“, se Kálalová rozhodla vybudovat československý ústav v Bagdádu, v Iráku.

To se jí po mnohých nesnázích skutečně podařilo a v roce 1925 založila v Bagdádě vlastní ordinaci, kterou (po příjezdu české zdravotní sestry) proměnila na Mustausaf (=malou nemocnici), kde léčila místní obyvatele (zejména místní ženy, u kterých nepřipadalo v úvahu navštívit lékaře). V Bagdádu se setkala se širokou škálou nemocí, úrazů, předsudků a pověr. Ve volném čase prováděla vědecký výzkum a starala se o dobrou pověst naší zemičky v zahraničí.

Památce doktorky Kálalové je věnována tato úloha.



(Obr. 1: Vlasta Kálalová)

1. Představte si Bagdád v roce 1925. S jakými nemocemi byste se asi jako tamní lékaři nejčastěji setkávali? Zamyslete se i nad tím, proč a jak se tyto nemoci tak moc šířily. Zkuste také vymyslet, proč byla v Bagdádu enormně vysoká kojenecká úmrtnost. [2 b]

Nyní se spolu podíváme na trošku sociologie. Irák je samozřejmě muslimská země, což se pojí s celou řadou kulturních specifik, která evropskému lékaři notně ztěžují život. Jako příklad bych uvedl vykladače „chíre“ – byli to muži, kteří otevřeli Korán na náhodné stránce a z obsahu této stránky vyvozovali budoucnost – ku příkladu k jakému lékaři jít nebo zda podstoupit doporučenou operaci.

2. Jaké další zvyky i kulturní odlišnosti mohly lékaři v Bagdádu komplikovat život (uvažujte i to, že do Bagdádu přijížděli za léčením i obyvatelé okolní pouště)? Jaké výhody měla Kálalová oproti svým ostatním kolegům? Jak se musela lišit její ordinace oproti těm, které ošetřovaly výhradně křesťanské pacienty? [2 b]



(Obr. 2: vyšetřovna bagdádské nemocnice)

S konzervativností tehdejší bagdádské společnosti souvisí i následující příběh:

Seděly v čekárně, teď odpoledne už tam byly samy, a přesto zůstaly zahaleny. Na dvoře se opíral o zeď podmračený mladý muž, bratr pacientky. „Co se jí stalo?“ Zeptala se Vlasta. Starší žena pod závojem cosi zmateně mumlá, mladá se třese.

„Má horečku?“

Ba ne, spíš to bude šok, tak ať už se odhodlá a sundá ten hábit, abych jí mohla vyšetřit. „Upadla, upadla na schodech do serdábu (podzemního „obýváku“, kde je v bagdádském létě relativní chlad)“, vysvětluje matka. „Spadla na konev.“ Konečně je závoj dole a mladá Arabka na vyšetřovacím lehátku.

„Kam se uhodila?“

Nic, jenom se třese a pláče. Žádnou ránu nemá, zlomeninu zřejmě také ne, nekrvácí, nikde ani oděrka. „Upadla na kropící konev,“ opakuje s úzkostným důrazem matka. Tak pochopí to nebo ne? „Nic na ní nevidím. Možná upadla, ale nic si neudělala, ani modřinu nemá, zbytečně jste se polekaly.“

Děvče brečí čím dál tím víc...

3. Co se asi tak dívce mohlo stát? Jako pomůcku můžete vzít, že jí bylo zhruba 17 let. Jaký chirurgický výkon chtěla rodina po doktorce Kálalové? [3 b]

Jedním z „cejchů“ Bagdádu je tzv. Bagdádská boule (kožní leishmanióza/cutaneous leishmaniasis). Touto nemocí se aktivně zabývala i Kálalová a i ji sama prodělala. O této nemoci napsala svůj jediný bagdádský lékařský článek (KÁLALOVÁ – DI-LOTTI Vlasta: „Imunizační metoda proti orientální bouli“, *Časopis Lékařů českých číslo 38, 1932, s. 1-8*). Nejedná se o smrtelné (kožní forma) onemocnění, ale vzniklé papuly vedou ke znetvoření obličeje, zvláště pokud jedinec prodělá leishmaniózu v raném věku.

4. Co za organismus způsobuje leishmaniózu? Jaký (v Bagdádu) je primární vektor této nemoci? Z jaké geografické oblasti pochází většina případů? Z jakého důvodu je lézí většinou více (obvykle v řadě za sebou) na jednom místě? [2 b]
5. Dohleďte referovaný článek Dr. Kálalová (je k dispozici online a zadarmo), popište jak a na základě kterého fenoménu předcházela Kálalová kožní leishmanióze. Je v současné době proti leishmanióze dostupná nějaká vakcína? Pokud ne, jak tuto nemoc (kožní formu) léčíme? Jak jí v roce 1925 léčila Kálalová? [4 b]
6. Jaké jsou další formy leishmaniózy? Co to je Kala Azar? Co znamená zkratka DNDi a jak je spojena s leishmaniózou? Vyjmenujte alespoň 3 „zapomenuté nemoci“ a rozepište, z jakého důvodu jsou „zapomenuté“. [4 b]



(Obr. 3 Kala Azar – chcete-li se dozvědět něco více o „zapomenutých nemocech“, doporučuji zejména: <https://nevsimejtesinas.cz/>)

Kromě léčení pacientů, vědeckého výzkumu a dalších povinností byla Kálalová i výkonnou amatérskou entomoložkou. Do Čech posílala krabice vzácného hmyzu (i přes to, že její první dodávku zdemolovali turečtí celníci v domnění, že se snaží pašovat opium), které významně obohatily sbírky Národního muzea.

7. Zjistěte, který brouk z čeledi krascovití (*Buprestidae*) je pojmenován po Vlastě Kálalové. Který z velikánů české entomologie jej popsal a pojmenoval? [1 b]



(Obr. 4 Kálalová na lovu hmyzu, Mezopotámie)

A jak to s doktorkou Kálalovou dopadlo? V Bagdádu přerušovaně žila a pracovala až do roku 1932. Také se tam oženila s Italem Giorgiem Di-Lottim. Spolu odjeli z Bagdádu do Čech poté, co Kálalová onemocněla horečkou Dengue. Kálalová si zařídila ordinaci v rodných Bernarticích, kde i se svými dvěma dětmi žila spokojeně skoro až do konce druhé světové války. Několik dní před vyhlášením míru protáhla Bernarticemi ustupující divize SS a zmasakrovala tamní obyvatelstvo, včetně Vlastiny rodiny (Kálalová vyvázla s těžkým zraněním). Dožila se 74 let, zemřela v Písku v roce 1971. Do Bagdádu jí komunistický režim již nikdy nepustil a nenašel se nikdo, kdo by byl ochoten její kliniku převzít (a klinika tak zanikla).



(Obr. 5 památní deska v Bernarticích)

Do Bagdádu se z Československa vydal až v roce 1962 MUDr. Jaroslav Slípka a obdržel od Kálalové mnohé rady a doporučení, v zemi však nezůstal.

8. Představte si, že chcete pokračovat ve šlépějích Kálalové a založit v Bagdádu vlastní nemocnici. Na jaký lékařský problém byste se zaměřili (léčbu jaké nemoci atp.) a proč? Čím byste vybavili svou nemocnici? (ve smyslu jakými zařízeními („facilities“), netřeba vypisovat: hromada hraček, bazének s balónky a tobogán, stačí prostě napsat dětský koutek :) [3 b]

A to už je úplně všechno! 😊 Pokud jste došli až sem, můžete se poplácat po zádech a pográtulovat si. A pokud vás příběh doktorky Vlasty Kálalové zaujal, nemohu než doporučit k přečtení knihu *Doktorka z domu trubačů* z pera Ilony Borské.

*František Váňa (e-mail: vana.frantik@seznam.cz)
ve spolupráci s MVDr. Oldřichem Tomáškem Ph.D.*

Oldřich Tomášek vystudoval veterinární lékařství na Veterinární a farmaceutické univerzitě v Brně a doktorské studium zoologie na Univerzitě Karlově. V současné době pracuje na Ústavu biologie obratlovců Akademie věd ČR, kde se zabývá fyziologií stárnutí a pohlavního výběru a evolučními a fyziologickými mechanismy souvisejícími s evolucí životních strategií a s životem v různých typech prostředí. Tyto mechanismy studuje především u ptáků.



20 bodů

4. Červená královna a pohlavní výběr

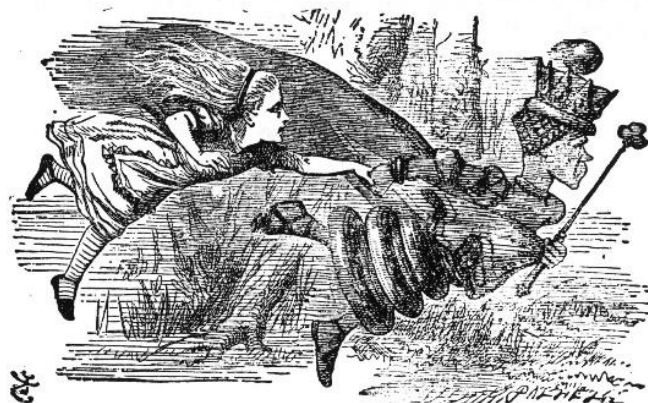
Červená královna

Připravte se na pořádnou jízdu! Poženeme se nyní společně závratnou rychlostí po poli evoluční biologie a přece pas potřebovat nebudeme, jelikož se nepohneme z místa.

Nejprve začneme jednou tématickou písni, jež kromě textu o touze po druhém pohlaví s naším tématem souvisí i méně zjevně. Je totiž svého druhu komplexním namlouvacím chováním vyprodukovaným lidskou inteligencí, která je dost možná sama do určité míry důsledkem pohlavního výběru.

<https://www.youtube.com/watch?v=6t7EPbnZUz8>

„No, v našem kraji,“ řekla Alenka, dosud ještě trochu udýchaná, „se obvykle dostaneme někam jinam – když takhle rychle dlouho běžíte, jako jsme my běžely.“ „Nějaký pomalý kraj!“ řekla Královna. „Nu, zde, jak vidíte, potřebujete běžet, kolik dovedete, abyste zůstaly na místě. Chcete-li se dostat někam jinam, musíte utíkat aspoň dvakrát tak rychle!“
(Carroll, 1871; překlad J. Císař)



Muž z Chicagské university s plnovousem

1. Doplňte do následujícího textu slova na vynechaná místa. [0,5 b]

... .. byl význačný badatel v oblasti evoluční biologie. Roku 1973, to ještě neměl vous tak protkaný šedinami, dospěl k jednomu významnému objevu při studiu Tím objevem byla skutečnost, že pravděpodobnost vyhynutí druhu nezávisí na tom ..., ale je dána Tato myšlenka je dnes známa jako ... a dala vznik v dnešní době asi nejuznávanější teorii o evoluci sexuality, teorii Červené královny (z anglického Red Queen Hypothesis) pojmenované podle Červené královny z knihy Luise Carrolla Za zrcadlem a co tam Alenka našla.

Červená královna zasahuje

Běh Červené královny může probíhat v mnoha podobách. Je totiž poháněn jak změnami v abiotických faktorech prostředí, tak zejména interakcemi mezi jedinci stejného druhu či interakcemi mezidruhovými.

2. Uveďte dvě hlavní mezidruhové interakce, které jsou nejtypičtějším příklady běhu Červené královny. Vysvětlete, jak podle teorie červené královny tyto příklady koevoluce probíhají. Proč jde o závod, který nemá vítěze? [1 b]

K čemu jsou pohlaví

Červená královna je považována za hlavní příčinu evoluce pohlavního rozmnožování neboli sexuality. V tomto kontextu ji nejvíce proslavila stejnojmenná kniha Matta Ridleyho. Pohlavní rozmnožování nemá podle teorie Červené královny nic společného s adaptacemi na neživé prostředí. Je důsledek boje s mnohem vážnějším protivníkem, který nikdy nespí.

„Zaposlouchejte se do konverzace nad ranní kávou v kterémkoliv hlavním centru současného evolučního myšlení a zjistíte, že k nejméně frekventovanějším termínům patří slovo ... (viz otázku 2), ti jsou pokládáni za primární příčinu evoluce sexuality a čeká se od nich konečné řešení tohoto problému všech problémů.“ (Dawkins 1990)

3. Vyberte nyní hlavního podezřelého z předešlé úlohy, kterého můžeme považovat za hnací sílu evoluce pohlavního rozmnožování a doplňte jej do výše uvedeného citátu Richarda Dawkinse. Vysvětlete, jak podle Červené královny změnila evoluce pohlavního rozmnožování podmínky závodu ve zbrojení mezi těmito útočníky a těmi, kdo se jeho útokům s přispěním sexuality brání. [1,5 b]

6. Aby mohlo dojít k evoluci sexuality, je nutné, aby její výhody převážily výhody nepohlavního rozmnožování (asexuality). Uveďte výhody a nevýhody obou rozmnožovacích strategií. [1 b]

	Pohlavní rozmnožování	Nepohlavní rozmnožování
Výhody		
Nevýhody		

Vnitrogenomový konflikt

Pro lepší pochopení doporučuji se předem obeznámit s teorií sobeckého genu, kterou zpopularizoval Richard Dawkins. Teorie sobeckého genu navrhuje, že hlavní jednotkou přirozeného výběru je gen, nikoliv jedinec. Těla jedinců jsou podle této hypotézy pouze stroje vytvořené geny za účelem jejich vlastního přežití a replikace. Tato hypotéza umožnila vysvětlit mnohé do té doby neřešitelné problémy, jako jsou třeba konflikty genů uvnitř genomu jednoho jedince.

„Oněch 75 tisíc genů, které vytvářejí průměrné lidské tělo a vládnu mu, můžeme přirovnat k 75 tisícům obyvatel středně velkého města. Lidské tělo – tak jako existence lidské společnosti – závisí na nelehké rovnováze svobodného podnikání a sociální kooperace. Bez kooperace a solidarity by obyvatelé města netvořili komunitu. Všichni by lhali a podváděli a snažili se o nezákonné zbohatnutí na úkor všech ostatních; veškeré sociální aktivity – obchod, vláda, vzdělání, sport – by se zhroutily. Bez spolupráce mezi geny by těla, v nichž geny sídlí, nemohla být použita k přenosu do další generace. Nebyla by totiž nikdy vybudována.“ (Ridley, 1993)

V následující sekci se podíváme na jeden z nejzajímavějších dopadů Červené královny podle teorie Haiga a Grafena z roku 1991.

Chromozomální bratrovražda

7. Co to jsou geny meiotického tahu a jakým způsobem zvyšují svou fitness (tzn. úspěšnost svého přenosu do další generace)? Tyto geny jsou však velmi vzácné. Jak se nazývá a funguje mechanismus, který podle teorie Haiga a Grafena meiotickému tahu brání? Který pár chromozomů by byl podle této teorie k meiotickému tahu nejnáchylnější? [2 b]

Tahle teorie je však navzdory své elegantnosti těžce testovatelná. Sám Haig se k tomu vyjádřil těmito slovy: „(Námi navržený mechanismus) je jako sprej proti slonům. Věříte, že funguje, protože okolo sebe nevidíte žádné slony.“

Pohlavní výběr

Pohlavní výběr vedl u mnoha druhů k evoluci nápadných až extravagantních znaků, tzv. ornamentů. Mezi nejznámější případy patří například prodloužená a avantgardně zdobená či tvarovaná ocasní pera samců páva či rajek nebo parohy u jelenovitých sudokopytníků. Ornamentální znaky však nemusí být pouze vizuální, ale lze mezi ně zařadit i komplexní vokální projevy (např. zpěv pěvců), či prvky chování. Jak komplexní a mnohdy až bizarní namlouvací chování pohlavním výběrem vzniká, lze vidět na následujících videích:

<https://www.youtube.com/watch?v=wTcfDCjBqV0>

<https://www.youtube.com/watch?v=rX40mBb8bkU>

Ornamentální znaky jsou často považovány za indikátory, kterými jedinci signalizují druhému pohlaví své genetické kvality a tělesnou kondici. Aby takové indikátory fungovaly, musí však být nějak zajištěno, že jedinci ve špatné kondici nebudou moci podvádět – tedy že jejich ornamente budou méně intenzivní než u jejich kvalitnějších konkurentů. Jedním z mechanismů, který by tuto čestnost signalizace kvality a kondice mohl zajišťovat, je tzv. alokační trade-off.

8. Vysvětlete pojem alokační trade-off. Uved'te příklad alokačního trade-off ve vašem životě. Vysvětlete, jak je možné, že alokační trade-off mezi dvěma znaky může vyústit v jejich pozitivní korelaci. [1 b]
9. Jedním z velmi zajímavých sekundárních pohlavních znaků, vyskytujících se u některých lidských populací, je tzv. steatopygie. Vysvětlete, co tento pojem znamená a jak je steatopygie podle moderních medicínských standardů definována. Má ji Věstonická venuše? Vysvětlete, proč ano či ne. Uved'te alespoň dvě v současnosti žijící etnické skupiny, kde se vyskytuje. [1 b]
10. Vysvětlete následující pojmy související s pohlavním rozmnožováním: monogamie, polygamie, polygynie a polyandrie. Je u savců a ptáků častější polygynie či polyandrie a proč? Jedinci jakého pohlaví si mohou polygamií zajistit více potomků? A jaké jsou potenciální přínosy polygamie pro to druhé pohlaví? [2 b]
11. Vysvětlete následující termíny: předkopulační a pokopulační fáze pohlavního výběru, vnitropohlavní a mezipohlavní forma pohlavního výběru. Zařaďte následující znaky a procesy do relevantních kolonek v tabulce: vaginální zátka, infanticida, loubí lemčků, záměrný potrat (vyvolaný samicí), parohy, ejekce spermií samicí. Který z těchto znaků lze označit jako rozšířený fenotyp? [3 b]

	vnitropohlavní výběr	mezipohlavní výběr
předkopulační fáze		
pokopulační fáze (před oplozením)		
pokopulační fáze (po oplození)		

Mezipohlavní konflikt aneb Červená královna opět zasahuje

U kachny divoké (*Anas platyrhynchos*) dochází v rámci pohlavního výběru ke konfliktu mezi pohlavími. Samice jsou v podstatě znásilňovány samci, přičemž samců často na tomto aktu spolupracuje i několik. Na rozdíl od většiny druhů ptáků, kteří mají pro přenos spermatu do reprodukčního traktu samice jen drobný výběžek na kloace, se u kačerů za tímto účelem vyvinul až absurdně dlouhý a vývrtkovitě zatočený kopulační orgán, který jim slouží jako obdoba savčího penisu. (Na obrázku je vývrтка inspirovaná oním extravagantním kopulačním orgánem kačerů.)



12. U samic však došlo mechanismem Červené královny k evoluci protiadaptace, která jim umožňuje rozhodnout, zda ji kopulující samec oplodní či ne. Co je podstatou této protiadaptace u samic kachny divoké a jak to vysvětluje evoluci extrémně prodlouženého a tvarovaného kopulačního orgánu kačerů? [1 b]

Pokopulační pohlavní výběr aneb i spermie plavou podle Červené královny

Pohlavní výběr může pokračovat i po kopulaci. Pokud samice kopuluje s více než jedním samcem, dochází soutěži jejich spermií o oplození samičích vajíček, tzn. kompetici spermií. Tento mechanismus vedl k evoluci některých zajímavých až bizarních forem spermií.

13. Který současný živočišný druh má nejdelší známé spermie? Kolik jeho spermie měří a jak zhruba dlouhé by byly u 180 cm vysokého muže, pokud by měly mít stejný poměr k velikosti těla? Jak dlouhé jsou ve skutečnosti mužské spermie? [1 b]
14. Samci běžného druhu motýla běláška řepkového (*Pieris napi*) produkují neplodné bezjaderné spermie, které tvoří až 90 % jejich ejakulátu. Jaký je jejich význam? [1 b]
15. A ještě jedna zajímavost z našich luhů a hájů. Samci nenápadného druhu hlodavce myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*) mají na hlavičce spermií háčky. K čemu jim tato zajímavá struktura slouží? [1 b]

Hana Seličová

5. OK, but coffee first!

20 points

You wake up in the morning, you're not even ready to get out of bed yet, and your first thought is heading to the kitchen for a coffee machine. Do you recognize yourself in this description of the morning routine? A lot of people don't have it different in today's busy world, so I decided to introduce you to the issue of stimulants and serve you, as well as freshly brewed coffee, interesting facts about some of them.

Stimulants in general are psychoactive substances, which can temporarily improve your mental and physical performance. These magicians can be natural or synthetic, the effects of each type of stimulant differ in the type of effect and in its mechanism of operation in human body. Stimulants include caffeine, thein, nicotine, cocaine, phenylethylamine stimulants or methyldioxymethamphetamine (popularly known as ecstasy). So let's get boosted by some information about these substances!

1. One of the well-known stimulants is undoubtedly caffeine. It is found in a large number of drinks - whether it is coffee, tea, hot chocolate or energy drinks. We can also find it in products made from cocoa beans. Caffeine has many benefits for human health. List at least two of caffeine effects that you think are most important and can help to the health of user. (for example – caffeine can reduce fatigue and improve concentration. [2 p]

We will stick with caffeine for a while. Like any other substance affecting human health, this stimulant is monitored, in Europe particularly by the European Food and Safety Authority (EFSA). This institute has set a safe amount for caffeine that does not adversely affect health. This value was set for healthy adult at _____ of caffeine in a single dose, the total daily dose of caffeine should not exceed _____.

2. Fill in the missing values with their unit. [1 p]
3. Find out how many mg of caffeine has: a regular espresso, flat white, green tea, energy drink (e.g. Redbull) and NOCCO BCAA drink, which is often used by athletes as a pre-workout kick. [3 p]

Espresso = ___ mg of caffeine

Flat white = ___ mg of caffeine

Green tea = ___ mg of caffeine

Energy drink = ___ mg of caffeine

NOCCO BCAA drink = ___ mg of caffeine

4. As soon as we get caffeine in circulation, its metabolism begins. About 99% is absorbed within the first 45 minutes after ingestion. The half-life of this stimulant is on average 4 hours. In the assignment you always have clues to the word we are looking for. All terms refer to caffeine metabolism. [3 p]

_____ : one of the metabolites of caffeine, accounts for about 12% of the total volume of caffeine; dilates blood vessels and increases urine volume

_____ : location of caffeine metabolism

_____ : skeleton structure of caffeine

_____ : any biological process in an organism that recurs with a regularity of approximately 24 hours

_____ : pyragallol, resorcinol, hydrochinon, cinnamic acid belongs to the group of chemicals named

5. Recently, the trend of so-called boosted coffee has grown a lot. It consists of "improving" morning coffee by adding a few drops of oil - usually MCT oil (medium-chained-triglycerides) or coconut oil. What benefits does boosted coffee provide to this busy society - especially to people who can't keep up with breakfast? [1 p]
6. In 1827, the caffeine contained in tea was first discovered and began to be called thein. Unlike caffeine in coffee, thein is less aggressive in terms of agitation and has a longer effect - it does not have such a rapid onset and also the effects fade longer. What causes this difference in the absorption of the same substance? [1 p]
7. Another stimulant that can activate the centers of the brain focused on concentration and learning is nicotine. We hear about the negative effects of smoking from all sides. What diseases it causes and how many smokers a year die from the causes of smoking. But nicotine alone can theoretically be a useful helper and therapeutic retarder for a certain disease. Which disease is it? Write a possible principle of slowing down symptoms of this disease with nicotine. [3 p]
8. Amphetamines - stimulants, substances used to treat narcolepsy or loss of attention in ADHD. At the same time, however, they are also used as a recreational drug. What is the slang name of this drug starting with the letter S? [0,5 p]
9. In what chemical form are these substances most often used? [0,5 p]

10. The stimulatory effect of this drug (MDMA) is primarily the inhibition of catecholamine depletion in the brain as well as their release from cells. List at least two known catecholamines and the place where these hormones are produced in the human body. [2 p]
11. Other stimulants of the new age are substances called AMPAkinases, such as CX717 or ampalex. Both substances are still in the clinical testing phase. What are the advantages of using these memory-promoting substances? [2 p]
12. AMPAkinases are a class of pharmacological agents that act as positive modulators of AMPA receptors. The AMPA receptor is an ionotropic transmembrane receptor for the sodium salt of one of the essential amino acids. What substance are we talking about? [1 p]