

5. ročník (2020/2021)



3. SADA

Termín odevzdání: 7. března 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 se 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 neděleáš na poslední chvíli a stihneš je včas odevzdat.
- **Řešení vkládej do odevzdávacího formátu .pdf** – Můžeš ho psát ručně a pak naskenovat, ale lépe jsou pro nás čitelná řešení psaná elektronicky. Odevzdávací formát najdeš na našich stránkách po přihlášení.

Kdyby ti cokoliv nebylo jasné, neboj se nás kontaktovat na adrese ibis@sci.muni.cz nebo piš autorovi konkrétní úlohy. 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

Průlet touto sadou aneb na co se můžete těšit?

1. Co kdyby neexistoval odpad? (Zuzana Nováková) 4
2. Kdopak by se lepku bál? (Hana Seličová) 8
3. Zachraň vodu, vykácej les!? (Jaroslav Rohel) 12
4. Praní špinavých proteinů (Daniel Pluskal, Martin Marek) 15
5. First aid (Jan Macek)..... 24

Zuzana Nováková (e-mail: zuzana.novakova@recetox.muni.cz)

1. Co kdyby neexistoval odpad?

20 bodů

Jistě jste si často při procházce v přírodě řekli, že by to bylo krásné, kdyby naši krajinu (planetu) nemusely hyzdit černé skládky v lesních roklích či obaly od tatranek a plechovky od piva na hřebenech našich hor. Nebo se vám prostě jen nelíbí ty přetékající kontejnery na komunální odpad v ulici, kde bydlíte. Snad s každou lidskou činností je spjata produkce odpadu. A tak, v našem reálném světě, bohužel odpad existuje.

Pozn.: kde jen můžete, uvádějte u vašich odpovědí zdroje, odkud jste čerpali.

1. Celková produkce odpadů v EU se ročně pohybuje v řádu: [1 b]

- a) stovek tun
- b) tisíců tun
- c) milionů tun
- d) tisíců milionů tun

2. Kolik odpadu se ročně vyprodukuje v ČR v přepočtu na obyvatele? A jak si v této kategorii stojíme v porovnání s ostatními členskými státy? [2 b]

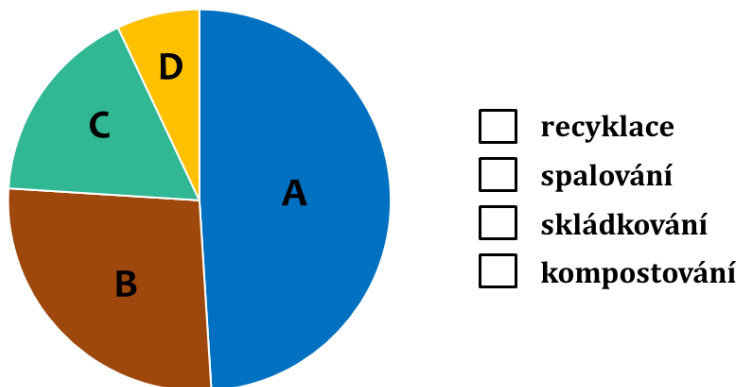
Ne všechna odvětví ale do těchto statistik přispívají stejně. Nejvíce odpadů je produkováno ve stavebnictví a při povrchové a důlní těžbě (minerální odpady a zemina), dále pak při výrobě a okolo 8 % odpadů pochází z domácností.



43,5 %	Minerální odpady
16,4 %	Zemina
7,4 %	Odpady z domácností a podobné
5,0 %	Odpad ze spalování
4,4 %	Odpady živočišného a rostlinného původu
3,9 %	Kovový odpad
2,5 %	Chemický a nemocniční odpad
2,5 %	Odpad ze dřeva
2,3 %	Odpad z papíru a kartonu
12,2 %	Jiné odpady

Ačkoli komunální odpad tvoří jen 8 %, je to část, která se týká našeho každodenního života nejvíce. Podíváme-li se blíže na odpad z domácností, každý ročně vyprodukuje průměrně **desítky kg/stovky kg/jednotky tun [vyberte množství; 0,5 b]** komunálního odpadu. A jak jsou na tom Češi s tříděním takového množství komunálního odpadu? V porovnání s ostatními členskými státy EU jsme pod průměrem a na nejvíce třídící stát, Německo, máme ještě co dotahovat. V Německu totiž zrecyklují nebo zkompostují až 68 % komunálního odpadu. A jak končí komunální odpad v Česku?

4. Doplněte ke grafu správnou legendu: [0,5 b]



5. Třídíte doma odpad? ANO/NE + Odůvodněte :) [0 b; otázka položena čistě ze zvědavosti autorky]

6. Doplňte chybějící údaje. [1 b]

Dle zákona _____ je odpad definován jako _____.

Nakládání s odpady a jejich likvidace má důsledky nejen pro životní prostředí, ale i pro nás představují odpady ohromnou ztrátu materiálu a energie. Mnoho lidí se však na odpad dívá jako na zdroj zisku. Že odpad stále představuje komoditu, kterou lze využít, a co víc, se kterou lze obchodovat, dokládá mezinárodní trh s elektronickým odpadem (*e-waste*). Tento odpad je často vyvážen/prodáván do rozvojových zemí, kde sice dochází ke zpětné recyklaci např. drahých kovů, ale ...

7. Vyjmenujte alespoň 3 negativní dopady této činnosti. [2 b]

Dalším příkladem činnosti, kdy lidé nahlízejí na odpad zároveň jako na zdroj, je využití gastroodpadu. Jedná se např. o odpadní produkty potravinářské výroby (např. pivovarské mláto), odpad ze stravovacích zařízení či již neprodejné potraviny v supermarketech. Zajímavým projektem v této oblasti je výzkum využití zmíněného gastroodpadu pro bráněnky.

8. Zjistěte, kdo nebo co jsou bráněnky a co s gastroodpadem dělají. Na co by se výsledný produkt dal využít/na co se již využívá? [2 b]

Oba výše uvedené příklady mají jedno společné: odpad se v nich stává zdrojem, z něž můžeme znovu něco vyrobit a získat hodnotu. Kruh se uzavírá. Tímto bych vám ráda představila tzv. cirkulární ekonomiku (nebo též oběhové hospodářství). Že vám tento

koncept zní povědomě? Divila bych se, kdyby ne. Jen si vzpomeňte na to, jak fungují toky látek v ekosystémech. Příroda je mistrem cirkulární ekonomiky.

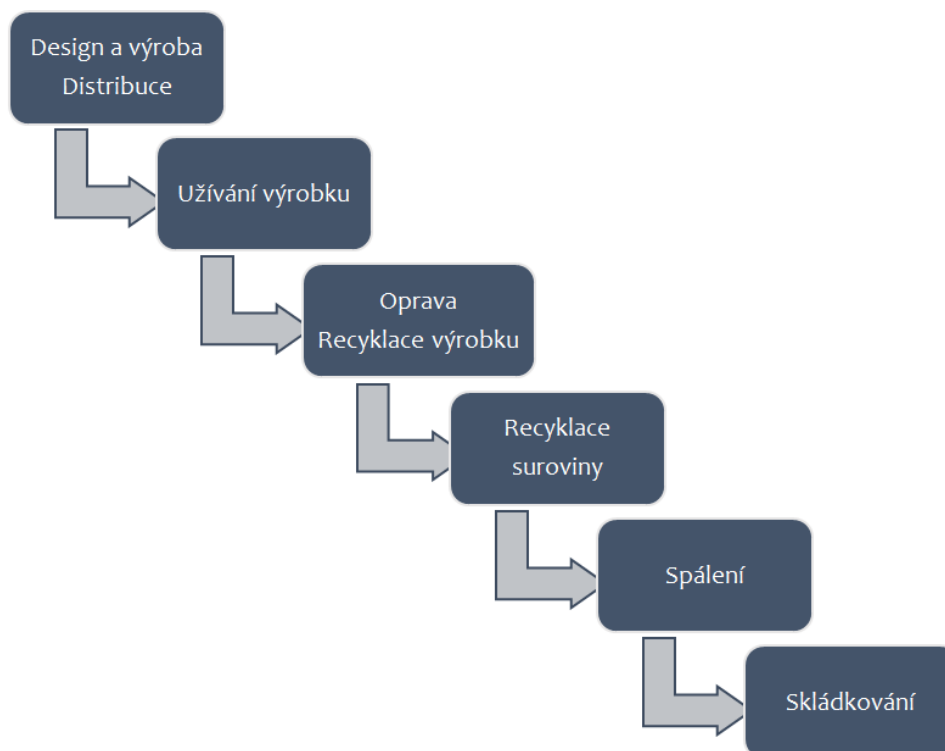
9. Vyberte, co je pro tento koncept typické? [1,5 b]

- Využívání obnovitelných zdrojů energie
- Proudění materiálů v uzavřených cyklech
- Použití technologií a designu, který prodlužuje životnost
- Vyšší produktivita využívaných zdrojů
- Pronájem výrobků
- Je zakotven v legislativě EU

10. Zkuste najít nějakou firmu nebo produkt, kde se tento koncept využívá a popište jak. [2 b]

11. Zní to vlastně pohádkově. Napadly by vás nějaké překážky, které stojí cirkulární ekonomice v cestě? Proč tak ideální věc ještě nefunguje všude? [3 b]

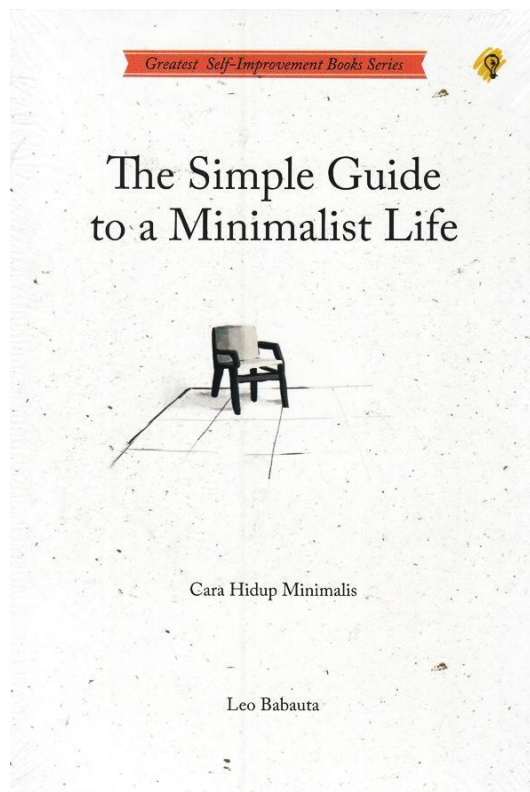
Abychom uzavřeli kruh, vraťme se na závěr této úlohu k jejímu úvodu. Množství odpadu, které produkujeme, je enormní a stále se zvyšuje. Odpadu se tedy jen tak nezbavíme. Odpad, který už vznikne, můžeme recyklovat a znova využívat. Snad nejhorší variantou, jak s odpadem naložit, je skládkování. Ukázali jsme si, že existují možnosti, jak odpad znovu využívat a vnímat jako zdroj.



Další cestou je pak odpad vůbec nevytvářet a výrobky třeba opravovat a hledat pro ně další využití, aby se ani odpadem nestaly. Sympatickou možností, jak se dá taky k výrobkům a vzniku odpadů přistupovat, je nevlastnění věcí, tedy jejich sdílení. Jeden výrobek pak slouží co nejvíce lidem. Krásným příkladem jsou u nás v Brně sdílená Rekola.

12. Jaké možnosti sdílení věcí jsou dostupné v místě, kde žijete? Uveďte příklady firem, výrobků, věcí či institucí, které obdobným způsobem snižují množství vlastněných věcí. Pokud některé z nich sami využíváte, podělte se o své zkušenosti. :) [4,5 b]

Pokud se vám líbí mít trochu méně věcí, prozkoumejte směr zvaný [minimalismus](#).



Hana Seličová (e-mail: h.selicova@seznam.cz)

2. Kdopak by se lepku bál?

20 bodů

Co je to vlastně lepek a proč by nás měl zajímat?

Lepek, který v cizojazyčné nebo odborné literatuře můžeme najít také pod názvem gluten, je obecně označení pro skupinu složitých glykoproteinů (prolaminů). Tyto látky poté můžeme v různém zastoupení a složení nalézt společně se škroby ve vnitřním živném pletivu semen (v tzv. endospermu) některých rostlin z čeledi lipnicovitých, např. v pšenici, ječmeni, žitu a ovsu. Jedná se o hlavní zásobní bílkovinu obilných zrn. Zastoupení složitých glykoproteinů se pak liší u jednotlivých druhů obilovin kvůli jejich rozdílným genotypům, podmínkám růstu a technologickým způsobům zpracování. Lepek jako takový pak těstu z nich zajišťuje pružnost a výslednému pečivu nadýchanost. Z toho vyplývá, že čím více lepku těsto obsahuje, tím lepší bude vzniklý produkt vlastnostmi i chutí. Pšeničný, ječný a žitný lepek budou tedy pečivu poskytovat konkrétní vlastnosti charakteristické právě pro daný druh obilniny, z něž bylo vyrobeno.

1. V první otázce se nejprve trochu zahřejeme a zorientujeme v problematice lepku. Jak již bylo řečeno, lepek se liší svým složením u jednotlivých obilnin. Napište k níže vypsáním obilovinám názvy v nich přítomných glykoproteinů tvořících lepek. Každá mezera reprezentuje jeden prolamin. Napište, která z těchto obilovin obsahuje nejvíce lepku a kolik procent z jejího bílkovinného obsahu tento protein představuje. [2 b]

Pšenice = _____ + _____

Ječmen = _____

Žito = _____

Oves = _____

S lepkem se pojí velké množství moderních výživových směrů, které jej radí z jídelníčku pro jistotu úplně vyřadit, aby člověk dosáhl kýženého úbytku hmotnosti a ručička na váze se posunula směrem doleva. Automaticky pak vzniká názor, že lepek je něco, co nám škodí a že se jeho vyřazením stáváme zdravějšími a krásnějšími. Není tomu ale tak. Co si lidé na dobrovolné bezlepkové dietě s cílem zhubnout neuvědomují, je, jak tato dieta v principu funguje a díky čemu vlastně hubnou.

2. Na jakém principu funguje hubnutí pomocí vyřazení lepku ze stravy? Zkuste porovnat klasický tukový rohlík s přirozeně bezlepkovým rýžovým nesoleným chlebíčkem Sondey z hlediska kalorické hodnoty (myslete přitom také na to, kolik kusů jednotlivých příloh je potřeba k nasycení, můžete si to klidně zkusit sami na sobě). Je tento způsob hubnutí zdravý? Na co by lidé dobrovolně vyřazující lepek ze své stravy měli myslet? [3 b]



Onemocnění způsobená přítomností lepku ve stravě

Druhou stranou mince jsou onemocnění, při kterých člověk musí lepek ze své stravy vyřadit chtě nechtě. Mezi ně patří například celiakie, alergie na lepek nebo neceliakální senzitivita na lepek. My se tady postupně na všechna z nich podíváme.

Celiakie je chronické onemocnění sliznice tenkého střeva, které je způsobené přecitlivělostí právě na námi zmiňovaný lepek. Celiakie je celoživotní diagnóza, jejímž jediným možným řešením k „uzdravení“ pacienta – rozuměj k dosažení stavu, kdy pacientovo tělo nevykazuje žádné příznaky ani potíže, nikoliv vyléčení celiakie – je doživotní bezlepková dieta. V dřívějších dobách tato diagnóza byla něčím šíleným, hlavně z důvodu nedostatku bezlepkových potravin na trhu, dnes už je ale situace naštěstí jiná a bezlepkový chléb se dá mimo všudypřítomné velké supermarkety sehnat i v některých lépe vybavených obchodech v menších městech.



3. Právě kvůli těmto onemocněním je lepek řazen mezi alergeny, které mohou ohrozit konzumenta. Od kterého roku je zavedena v platnost povinnost provozovatele poskytnout spotřebiteli informace o alergenních látkách v pokrmech, která se vztahuje na všechny typy zařízení společného stravování (např. restaurace, bufety, jídelny, ...)? [1 b]
4. Představte si situaci, že jste v restauraci a držíte v ruce jídelní lístek, ze kterého si chcete vybrat oběd. Ale zároveň máte diagnostikovanou celiakii, takže je pro vás tento výběr značně omezen. Po jakém číselném označení alergenu se budete dívat a co všechno toto číslo zahrnuje? Musí alergeny být vypsány i u nápojů? [3 b]
5. Musí údaje o alergenech být uvedeny v jídelním lístku? Pokud ano, co je třeba do jídelního lístku doplnit? Pokud ne, jak jinak se k této informaci můžete dostat? [3 b]

Problematice celiakie ve spojení se stravováním mimo dům už jsme se pověnovali, teď se pojďme zaměřit více na lékařskou stránku tohoto autoimunitního onemocnění. Celiakie je sice celoživotní onemocnění, není ale pravidlem, že je diagnostikována už v brzkém dětském věku. Většinou pacienta s touto poruchou zavedou k lékaři až obtíže, které se s neléčenou celiakií pojí, mezi které klasicky patří zažívací obtíže, jako jsou nevolnosti po jídle, vleklé průjmy či zvracení. Zhoršené trávení a příjem živin (dyspepsie a malabsorpce) vedou ke

komplikacím ve formě poruch metabolismu. Další komplikace jsou způsobeny poškozením tkání a orgánů autoimunitní reakcí. To vede ke stavu chronického zánětu, který spolu s poruchou metabolismu vede k ovlivnění stavu imunitních molekul, růstových faktorů, hormonů a neurotransmiterů v celém organismu. Toto vše se projevuje jako ztráta hmotnosti, únava, rozmrzelost, bledá kůže, lámavé nehty a vlasy, u dětí často poruchy růstu, anémie a defekty zubní skloviny.

6. Jakým kódem se označuje diagnóza celiakie a k čemu může vést pozdní nebo žádná diagnóza tohoto onemocnění u pacienta jím trpícího? Jaké jsou nejčastější přidružená onemocnění ve spojení s celiakií? [2 b]

Každé onemocnění má svůj původ – ať už jde o původ genetický nebo původ vnější. Celiakie se vyvine v kombinaci obou faktorů. Pacienti s celiakií mají dědičné genetické predispozice dané alelami HLA-DQ2 a HLA-DQ8, které jsou přítomny u velké většiny z nich. K rozvinutí obtíží a „rozběhnutí“ nemoci může přispět např. zvýšený příjem lepku ve stravě či virová infekce, která způsobí porušení tight-junctions (těsných mezibuněčných spojů) a vyšší propustnost střevní membrány. Kvůli tomuto dochází ke vstupu špatně štěpitelných glutenových peptidů do vazivové vrstvy sliznice, které tam následně indukují zánětlivou reakci.

Řekli jsme si, jakým způsobem se celiakie projevuje a indukuje. Neléčená celiakie ale může způsobovat různě rozsáhlé poškození střevní sliznice – konkrétně vilózní atrofii, což je v podstatě destrukce střevních klků způsobující malabsorpci živin, střevo neléčeného celiaka je pak v porovnání se střevem zdravého člověka prakticky vyhlazené (viz obrázek). K získání vzorku střevní sliznice je potřeba provést invazivní biopsii duodenální sliznice, při které se odebere kousek sliznice z dvanáctníku tenkého střeva.

7. Pomocí jaké škály definujeme poškození střevní sliznice? Jaké jsou další testy potřebné pro diagnostiku celiakie? Vypište alespoň 3 parametry stanovované z krve pacienta. [3 b]



Celiakie není jediným onemocněním, které souvisí s autoimunitní patogenezi a s lepkem. Patří sem také například **Duhringova herpetiformní dermatitida**, která se kromě běžných příznaků neléčené celiakie projevuje také bolestivými puchýři na kůži po sebemenším vystavení lepku, a **glutenová ataxie**, která při dlouhodobé expozici lepku způsobuje neuropatie, které se projevují jako poruchy citlivosti a koordinace pohybu, především chůze. Po vyřazení lepku ze stravy dochází k zastavení neuropatických procesů, ke zlepšení stavu už ale dojít nemůže.

Lepek nemusí indukovat pouze reakci autoimunitní, ale také reakci alergickou, jak je tomu například u **alergie na pšenici**. Ta je definována jako obranná imunologická reakce zprostředkovaná specifickými IgE i non-IgE protilátkami na složky pšeničného lepku.

8. Jaké části těla může postihovat alergie na pšenici, resp. na jaké alergie se dále alergie na pšenici dělí? [2 b]

Poslední kategorií onemocnění, která indukují přítomnost lepku ve stravě, je zvýšená citlivost na lepek, která nemá ani alergický, ani autoimunitní charakter – neceliakální glutenová senzitivita (NCGS). Jde o diagnózu, při které je stejně jako u celiakie nutno dodržovat celoživotní bezlepkovou dietu. Příznaky jsou stejné jako u celiakie.

9. Jak probíhá diagnostika neceliakální glutenové senzitivity a jak poznáme, že nejde o celiakii? [1 b]

Jaroslav Rohel (e-mail: jarek.rohel@gmail.com)

3. Zachraň vodu, vykácej les!?

20 bodů

Na úvod začněme příkladem na zamyšlení. Představte si situaci: Chcete pomoci krajině zadržovat vodu a rozhodnete se vysadit stromy na mez mezi poli. Vytvoříte tak remízek uprostřed vyprahlých polí, který by mohl plnit funkci jakési oázy – zadržovat vodu, vytvářet stín a poskytnout útočiště mnoha živočichům. Argumentuje s vámi člověk, který se vás ptá, nač chcete sázet strom, který odpaří mnohem více vody a tím napomáhá k vysušování krajiny. Pokud vám jde o vodu, proč nenecháte jen travnatý pás či jedno velké pole? Kdo z vás má pravdu?

1. Celá situace není nijak jednoduchá. Přesto se však pokuste nad danou problematikou zamyslet a do několika vět shrnout důvody pro a proti oběma tvrzením. Také se zamyslete nad důvody, proč tato problematika není úplně jednoduchá. [2 b]

Než se však vrhneme dále, bylo by vhodné ujasnit si, co znamenají některé pojmy.

2. Co je to transpirace, evaporace a evapotranspirace? [2 b]

Na evapotranspiraci existují dva hlavní pohledy. S tím souvisejí dva přístupy k hospodaření s vodou, které jsou mnohdy bouřlivě diskutovány. Oba přístupy bych vám chtěl ve zkratce představit.

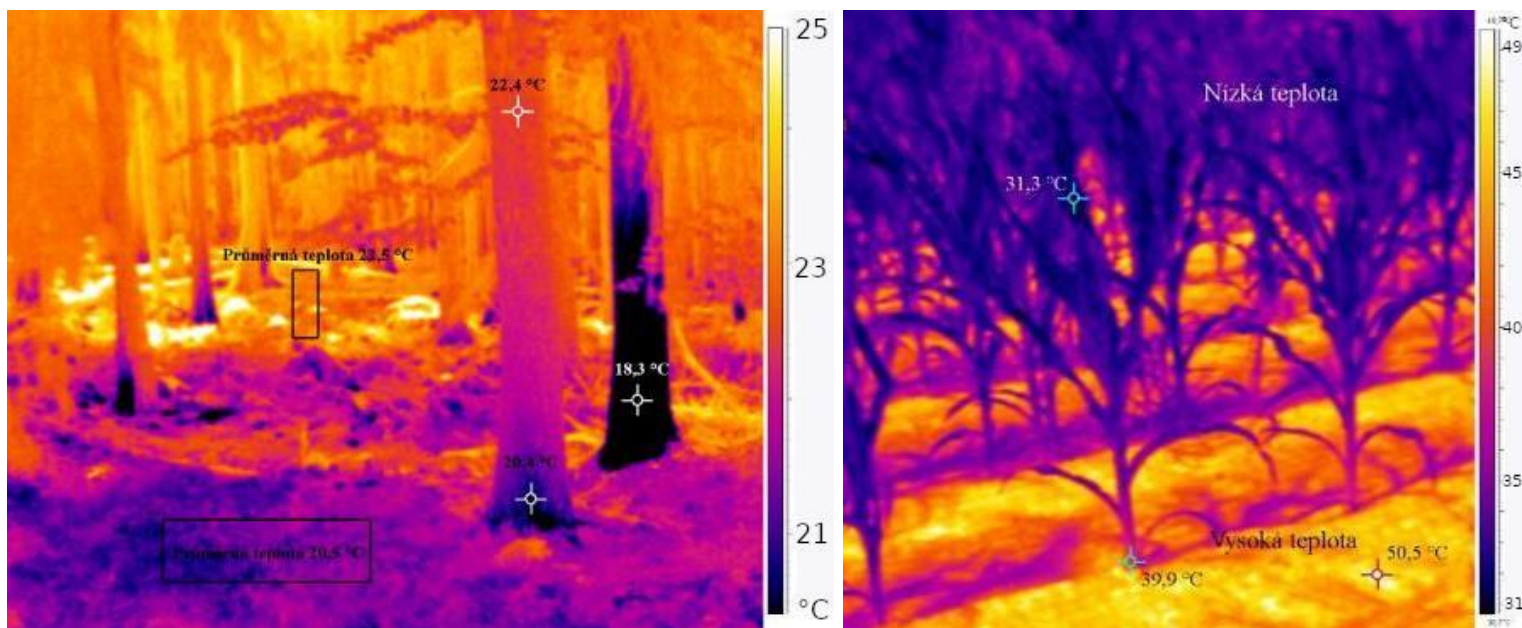
a) minimalizovat výpar a efektivně využít každou kapku – jedná se o metodu šetření s vodou a její nejoptimálnější využití. Evapotranspirace je považována za zbytečné plýtvání vodou, které je potřeba omezit. Stromy spotřebují obrovské množství vody. Pokud bychom se jich zbavili, budeme moci vodu, kterou by vydaly transpirací, využít účelněji. Třeba pro zavlažování plodin (např. kapénkovou závlahou) upravených tak, aby spotřebovaly co nejméně vody a nakládaly s ní co nejeftivněji. V rámci snížení evapotranspirace je nejlepší udržovat pole po sklizni holá.

b) maximalizovat pokrytí vegetací – od předchozího řešení se radikálně liší v pohledu na transpiraci, která je místo plýtvání považována spíše za naši spásu. Představuje řešení založené na snížení maximálních teplot povrchu Země odpařováním vody prostřednictvím vegetace. Převládá snaha redukovat jakoukoliv volnou půdu a snažit se, aby byla neustále pokryta vegetací.

3. Vegetace má významný vliv na každodenní počasí. Do odpovědi v několika větách rozveďte, jak ovlivňuje vegetace počasí, respektive jaký má dopad na klima. [2 b]

Jak velký může být teplotní rozdíl mezi lesem a polem, si můžeme demonstrovat na následujících fotografiích z termokamery.

4. Popište obrázky níže a s jejich pomocí vysvětlete a srovnajte proudění vzduchu ve vzrostlém lese a na poli a vliv proudění vzduchu na odpar vody. Pro účely této úlohy předpokládejte, že obě fotografie byly vytvořeny v podobný čas během horkého slunného dne. [3 b]



Obr. 1 a 2: Zdroj bude uveden v autorském řešení, upraveno

Nyní už víte, jak velice se může lišit teplota v různých prostředích. Důležité ale je si uvědomit, že teplota zcela zásadně ovlivňuje, kolik vody může vzduch pojmout. Proto území, které je u nás pro malé množství srážek velmi suchou oblastí, může být v chladnějších oblastech zamokřené. Bližší představu by vám mohly dát následující úkoly. **Ve všech příkladech počítejte s normálními podmínkami (např. normální tlak) a výsledky uvádějte s přesností na jedno desetinné místo.**

5. Jaké nejvyšší množství vody (g) může pojmout 1 metr krychlový vzduchu při teplotě $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$? [0,5 b]
6. Jaká je absolutní vlhkost vzduchu o relativní vlhkosti 70 % (okolo této hodnoty se pohybuje průměrná relativní vlhkost v ČR) při teplotě $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$? [0,5 b]

Ve velice zjednodušeném příkladu se můžeme podívat i na princip vzniku srážek.

7. Ráno jsme naměřili teplotu $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ a relativní vlhkost 90 %. Jaké je maximální množství vody, které může metr krychlový takového vzduchu ještě pojmout, když se během dne ohřeje na $30\text{ }^{\circ}\text{C}$? Pokud by dosáhl 50% relativní vlhkosti a následující noc by byla o něco teplejší, přičemž by teplota klesla na $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, vysráží se nějaká voda? Pokud ano, kolik? Při ochlazení na jakou teplotu ($^{\circ}\text{C}$) nastane rosný bod? (Výsledek stačí s přesností na celé stupně.) V této úloze předpokládejte, že hustota vzduchu se s teplotou nemění (ve skutečnosti tomu tak úplně není, s rostoucí teplotou se vzduch roztahuje). Uveďte stručný postup. [2 b]

Zásadní význam mají nejen pro člověka také odtoky vody z území. Ať už kvůli povodním, (ne)dostatku pitné vody, či jestli bude možné daný rok využít vodní plochy k rekreaci. V této souvislosti se často mluví o lesích či mokřadech, které mají do jisté míry podobné vlastnosti.

8. Jaký je vliv lesů na odtoky vody? [2 b]

9. Jak se změní režim odtoku po vykácení lesa? [1 b]

Problém nedostatku vody (stejně tak jako jejího nadbytku) lidstvo řeší snad už od samého počátku. Na závěr se však ještě podívejme na příklad z bližší minulosti. V moři mezi Jižní Amerikou a Afrikou se nachází osamocený ostrov. Leží asi 1300 km od ostrova Svaté Heleny. Když na něm Britové v 19. století pro jeho významnou polohu chtěli zbudovat vojenskou základnu, narazili na zásadní problém – nedostatek pitné vody.

10. Jak se tento ostrov jmenuje a jak byl vyřešen problém nedostatku pitné vody? (Nápověda: název ostrova začíná na A) [2 b]

11. Jak si myslíte, že mohlo toto řešení fungovat? [2 b]

12. Mělo toto řešení i nějaké negativní důsledky pro život na ostrově? [1 b]

Bonus na konec

Téma silně související s vodou a evapotranspirací je dezertifikace, slovo, které zní hrozivě už jen samo o sobě. Koho zajímá boj s dezertifikací či jen prostě příroda a životní prostředí, tomu vřele doporučuji následující video „How to green the world's deserts and reverse climate change“ dostupné na: <https://youtu.be/vpTHi7O66pl> (je i s českými titulky o:), které je sice trošku delší, ale rozhodně stojí za to! Pokud nad tím někdo zapátrá víc, zjistí, že výsledky jsou skutečně v mnoha případech ohromující. Samozřejmě vždy je potřeba brát vše s rezervou a poohlížet se i nad možnými negativními důsledky. Důležitá myšlenka, a sice, že nekontrované přezvěšení také není správnou cestou, je ve videu zmíněna, ale mezi hromadou ostatních může snadno zapadnout, a proto bych doporučil ještě jeden, tentokrát krátký příběh, „How wolves change rivers“, který můžete najít na adrese: <https://youtu.be/ysa5OBhXz-Q>.

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

Martin Marek pochází z malé zemědělské vsí 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 Loschmidtových laboratořích na Masarykově univerzitě nyní vede tým Strukturní biologie, který se zabývá studiem molekulární struktury a mechanismů proteinových katalyzátorů (enzymů) a dekodováním 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.



4. Praní špinavých proteinů

20 bodů

V první sadě letošního ročníku IBISu vyšla úloha s kryptickým názvem „Zničehonic něco“. Pokud si na ni milí řešitelé, pamatujete, tak již víte, jak moc je rekombinantní technologie vědě nápomocná, odkud bereme informace o proteinech, které chceme vyrábět, jaké hostitelské organismy pro jejich výrobu volíme, jak do nich naši informaci dostáváme, jak odlišíme mikroorganismy, které naši informaci opravdu mají, od těch, které se tak jen tváří, a nakonec jak je přesvědčíme, aby nám náš protein vyrobily. A pokud si na ni pamatujete opravdu dobře, vzpomenete si také na autorovu výhrůžku, že k úloze chystá pokračování. No, a tak je to tady.

V závěru „Zničehonic něčeho“ jsme dospěli do bodu, kdy máme protein zájmu vyprodukovaný a hezky uskladněný v hlubokozmražené biomase. Protein se v této chvíli nachází uvnitř buněk hostitele ve směsi s všelijakými běžnými buněčnými proteiny, nukleovými kyselinami a dalšími složkami hostitelského organismu; takto „špinavý“ protein má ale jenom omezené využití, a proto se musíme zabývat tím, jak jej získat v co nejčistším stavu: jak jej **purifikovat**.

Počátečním krokem purifikace je rozrušení hostitelských buněk, aby nám protein vyplaval do roztoku a tím se nám zpřístupnil pro další práci. Buněčná suspenze je tedy opatrně rozmrazena a dezintegrována například ultrazvukem ve speciálních sondových sonikátorech anebo vysokým tlakem v přístrojích principiálně připomínajících french press na kávu. Pokud uznáme za vhodné, v této fázi přidáváme také DNázy, RNázy či jiná činidla likvidující různé rozpustné složky buněk, které by dříve či později v procesu purifikace mohly dělat neplechu. Jakmile biomasu řádně potrápíme, umístíme ji do preparativní centrifugy a odstředíme¹ ji tak dlouho, dokud se všechny nerozpustné složky směsi pevně neusadí na dně centrikonu

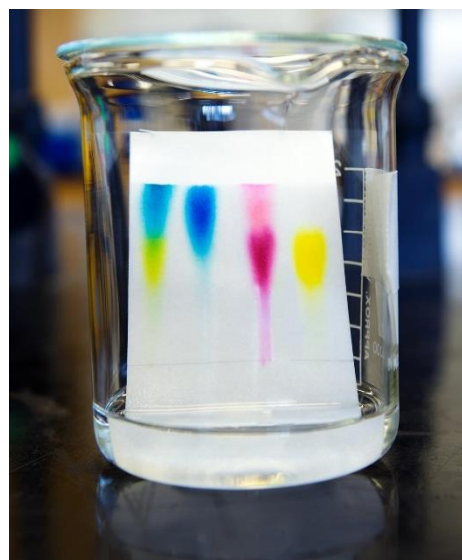
¹ Výrazy „odstředovat“ a „centrifugovat“ jsou synonymní.

(centrifugační zkumavky). Rostok nad usazeninou opatrně odlijeme, přefiltrujeme od posledních zbytků pevných látek a získáme tak tzv. **bezbuňčný extrakt** (anglicky „cell-free extract“, zkráceně CFE).

1. Pokud centrifugujeme suspenzi, dochází k jejímu rozdělení na dvě složky – pevnou (zpravidla usazenou na dně) a kapalnou. Jakými termíny či pojmy v kontextu centrifugace tyto dvě složky nazýváme? [0,5 b]
2. Při centrifugaci, obzvláště při vyšších otáčkách, si musíme dávat pozor, aby byl rotor centrifugy dobře vyvážený. Představte si, že do rotoru centrifugy proti sobě vložíte dva vzorky, které ale zapomenete vyvážit: jeden z nich váží 10 gramů, druhý z nich 11 gramů (váženo při běžném tíhovém zrychlení, tedy $1 \times g$). Jaký bude rozdíl v tíhové síle působící v centrifuze na tyto dva vzorky, pokud na ně při centrifugaci působí tíhové zrychlení $20\,000 \times g$? Výsledek uveďte v newtonech, hodnotu tíhového zrychlení uvažujte $9,81 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$. [1 b]

Bezbuňčný extrakt je stále vysoce komplexní směs všeho rozpustného, co se jen v hostitelských buňkách nacházelo – nyní se ale na rozdíl od původní biomasy jedná o roztok, vysoce homogenní kapalnou směs, při jejímž zpracování se nabízí rozsáhlá paleta preparativních metod a technik sloužících k oddělování složek směsi od sebe. Tyto tzv. **separační metody** složky směsi rozdělují na základě rozdílů v jejich fyzikálně-chemických vlastnostech. První rodina takových rozdělovacích metod, kterou se budeme zabývat, je **chromatografie**.

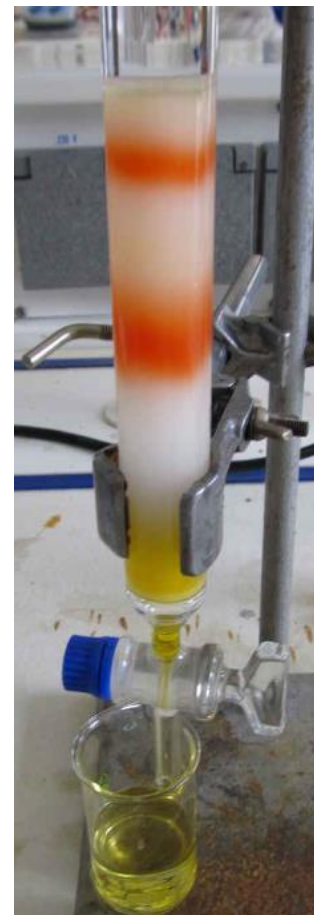
Zkoušeli jste někdy v hodinách chemie nebo fyziky chromatograficky rozdělit barvu z lihovky? Běžně se postupuje tak, že se černou lihovkou udělá tečka na proužek filtračního papíru, jehož jeden konec se ponoří do vody nebo nízkoprocentního alkoholu (viz obrázek 1). Když pak kapalina vzlíná papírem, bere s sebou i černou barvičku, která se, světe div se, rozděluje na modrou, červenou a žlutou skvrnu, která každá cestuje jinou rychlostí. To jsou věci, co? A kromě toho, že taková papírová chromatografie je pokus hezký a barevný, můžeme na ní pozorovat všechny znaky chromatografie jako takové. V kostce: roztok směsi, kterou chceme rozdělovat, necháváme cestovat prostředím, takzvanou maticí, se kterým rozličné složky směsi interagují různou měrou, a tak jsou různou



Obr. 1: Tenkovrstevná chromatografie různých barev inkoustu, 4 vzorky vedle

měrou zpomalovány ve svém cestování. Matrice se při chromatografii nehýbe, říkáme jí proto **stacionární fáze**, v případě naší papírové chromatografie je stacionární fází náš filtrační papír. Kapalina, která přes stacionární fázi unáší náš vzorek, se logicky nazývá **mobilní fáze** – to je voda či alkohol, který našim filtračním papírem vzlíná. A právě typem stacionární i mobilní fáze a typem interakcí, které zprostředkovávají, se od sebe jednotlivé typy chromatografie liší.

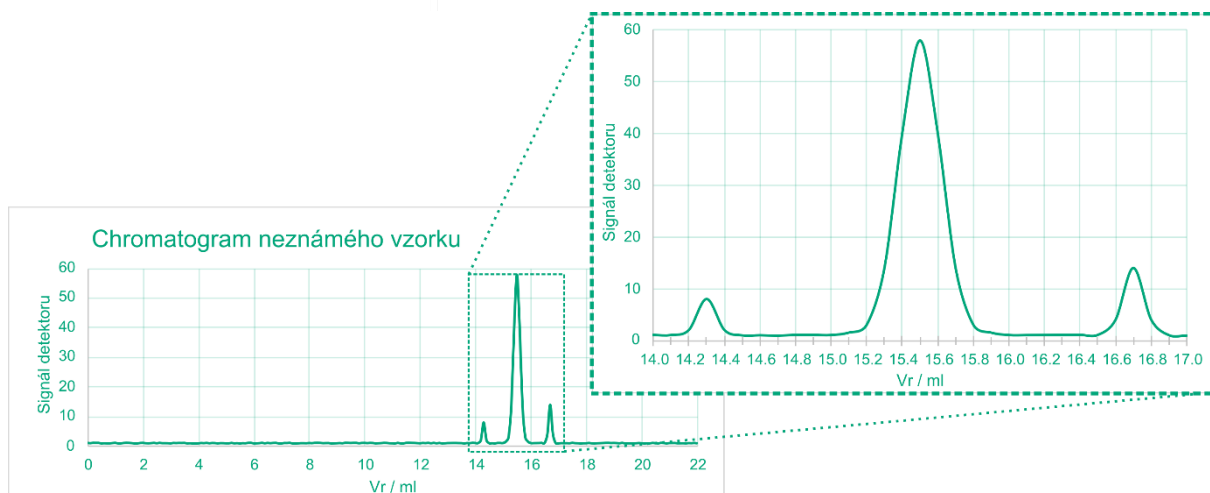
Učebnicovým typem chromatografie využívané pro separaci proteinů je **gelová permeační chromatografie**, také nazývaná jako **gelová filtrace**. Při této metodě putuje rozdělovaná směs trubicí (tzv. **kolonou**, viz obrázek 2) naplněnou maličkými kuličkami gelu, často založeného na bázi polysacharidů nebo oxidu křemičitého. Tyto kuličky v sobě mají mikroskopické póry. Když gelem cestují objemově velké molekuly, do pórů v gelu se nevejdou, a tak kolonou prochází rychle. Čím jsou však cestující molekuly objemově menší, tím více a častěji do pórů gelu po cestě kolonou zabloudí, v pórech se zdržují a tím déle jim následkem toho trvá kolonou projít. Gelová chromatografie tedy rozděluje molekuly na základě jejich objemu, tvaru a hmotnosti. V praxi to vypadá tak, že na jednu stranu kolony nanese náš vzorek a na druhé straně protékající mobilní fázi zachycujeme po malých frakcích – prvních X mililitrů do jedné zkumavky, dalších X mililitrů do další zkumavky a tak dále po celý průběh separace – kdybychom takovou frakcionaci neprováděli, po skončení procesu bychom vlastně získali stejnou směs jako na začátku. Důležitou veličinou, kterou nejen při gelové chromatografii, ale i u ostatních typů chromatografie měříme, je tzv. **retenční objem** (značeno V_r) – to je takový objem mobilní fáze, který musí chromatografickou kolonou projít, aby se určitá látka dostala od začátku kolony na její konec. Když tedy na kolonu nanese vzorek směsi a víme, že jeho složky mají na naší koloně retenční objem třeba 20 a 30 mililitrů, pak víme, že kolonou musí protéct právě 20 mililitrů mobilní fáze, aby z kolony vytekla první ze složek směsi, a dalších 10 mililitrů mobilní fáze, aby vytekla i složka druhá.



Obr. 2: Gravitačně poháněná gelová chromatografie.

3. Gelová chromatografie rozděluje molekuly na základě jejich tvaru a velikosti. Pokud danou kolonu nakalibrujeme tak, že jí necháme projít sadu molekul o podobném tvaru a známých molekulových hmotnostech, můžeme získat závislost molekulové hmotnosti procházejících látek na jejich retenčním objemu. Když pak kolonou necháme projít molekulu o neznámé molekulové hmotnosti, na základě jejího retenčního objemu můžeme její hmotnost vypočítat, což také bude váš úkol. Po pravé straně naleznete tabulku proteinů, kterými jsme nakalibrovali naši kolonu a níže chromatogram vzorku získaný na stejné koloně (vzorek byl na kolonu nanesen v čase 0).

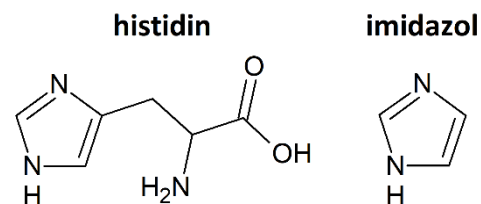
Složky kalibračního roztoku		
Protein	M_w / kDa	V_r / ml
Ferritin	440	12,10
Conalbumin	75	15,20
Cananhydráza	28	16,90
RNáza	13,7	18,09
Aldoláza	158	13,95
Ovalbumin	44	16,05
Aprotinin	6,5	19,40



- Sestrojte kalibrační křivku naší kolony pomocí údajů zadaných v tabulce tak, že v grafu vynesete závislost logaritmu molekulové hmotnosti proteinů na jejich retenčním objemu a vzniklou závislost proložíte přímkou. Získaná rovnice přímky je řešením této části úlohy. [2 b]
- Z poskytnutého chromatogramu vzorku odečtěte retenční objemy všech složek vzorku v jednotkách ml s přesností na jedno desetinné místo. Pozor, hodnoty z grafu odečítejte v bodě, kde pík dosahuje maxima, tedy nikoliv v bodě, ve kterém začíná! [1,5 b]
- Na základě rovnice přímky získané v první části této úlohy vypočtete molekulovou hmotnost všech složek vzorku v jednotkách kDa. [1,5 b]
- Pokud víte, že ve vzorku se nacházel jediný protein, co můžete říct o jeho kvarterní struktuře? [1,5 b]

Pro separaci proteinů je velice významná chromatografie založená na chemické afinitě. A co to vlastně je? Chemická afinita obrazně řečeno vyjadřuje, jak se mají molekuly rády. Pokud k sobě mají dvě molekuly vysokou afinitu, rády zůstávají pohromadě, tvoří vazebné i nevazebné interakce, zkrátka jsou rády spolu. Taková kombinace molekul s vysokou afinitou je třeba ethanol a voda – když tyto dvě látky smícháme, rády se smísí, protože jsou molekuly obou látek polární. Opak nastává, pokud se molekuly rády nemají, třeba jako voda a olej, které nesmísíte, ani kdybyste se opravdu snažili. Pamatujete na salátovou zálivku? Při naší chromatografii ale nevyužíváme jen tak nějaké molekuly – využíváme takové, které jsou vybíravé, které se nemají rády jen tak s někým, a tak vykazují afinitu k velmi omezenému počtu jiných molekul. Jak tedy samotný proces probíhá? Představte si, že stojíte na ulici a okolo vás proudí davy lidí (samozřejmě s rouškami, maximálně po dvou a s patřičnými rozestupy). Tu a tam se ale v davu mihne nějaký váš známý. Zavoláte na něj, on se zastaví, zamává na vás, dojde k vám, a tak si začnete povídat. Uvidíte ale dalšího známého, tak na něj zase zavoláte a už jste v kolečku tři. A už jste čtyři. A najednou je vás pět, šest... Tak si tak povídate, začíná se stmívat a ulice je najednou prázdná kromě vás a vašeho hloučku známých. Co se ale nestane, najednou vidíte, že se k vám blíží skupinka vašich nejlepších kamarádů, prostě těch pravých BFF – ty máte rádi víc než nějaké známé, k těm máte větší

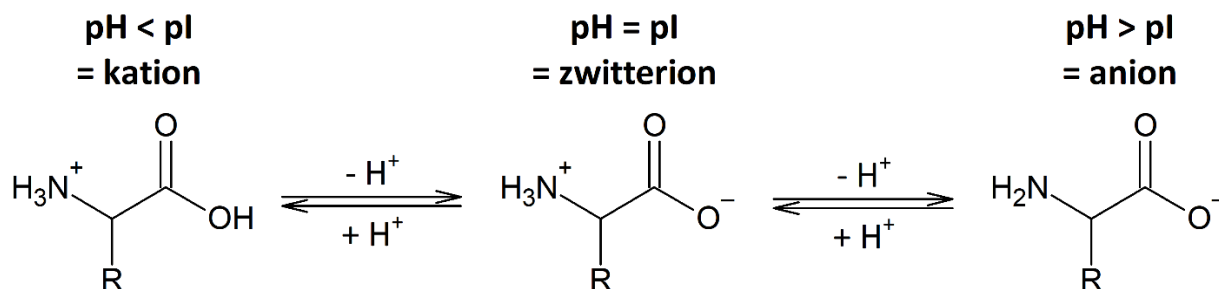
dalšími koordinačními pozicemi, které jsou obsazené pouze slabě vázanými molekulami vody, a tak hledají pro koordinační vazbu stabilnějšího partnera. Gen pro protein, který tímto systémem plánujeme purifikovat, ještě před vložením do hostitelského organismu upravíme tak, aby měl finální protein na jeden konec připevněných šest histidinů za sebou – takzvanou hexahistidinovou kotvu: při purifikaci se pak histidinová kotva velmi dobře váže na zmíněné (téměř) volné koordinační pozice niklu a způsobuje vychytávání proteinu zájmu ze směsi. Vyplavení našeho navázaného proteinu se pak provádí roztokem imidazolu nebo volného histidinu, který histidinovou kotvu z komplexu s niklem vytěsňuje. (Podobnost histidinu a imidazolu můžete vidět v obrázku 4).



Obr. 4: Srovnání struktury molekul histidinu a imidazolu.

- Pokud pomocí Ni-NTA kolony izolujeme hexahistidinovou kotvou značený protein přímo z bezbuněčného extraktu, promývání kolony roztokem imidazolu probíhá obvykle dvoustupňově: kolona se promyje nejprve roztokem o nízké koncentraci imidazolu (tím dojde k vyplavení frakce, kterou si označíme písmenem A) a až potom roztokem o finální, vysoké koncentraci imidazolu (tak dojde k vyplavení frakce B). Zatímco frakce B je obvykle velmi čistá a obsahuje pouze hexahistidinovou kotvou značený protein, frakce A může být do jisté míry znečištěna některými složkami bezbuněčného extraktu, které se na Ni-NTA kolonu mohou nespecificky vázat. Co jsou tyto nečistoty zač? Proč se na kolonu vážou? [2 b]
- Při metaloafinitních purifikacích se někdy namísto nikelnatých iontů využívají ionty kobaltnaté. Jak nahrazení niklu kobaltem ovlivní výsledek purifikace? Proč tomu tak je? [1 b]

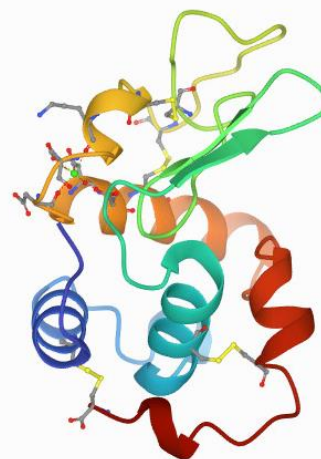
Jako amfolyt označujeme takovou molekulu, která obsahuje jak kyselé, tak zásadité funkční skupiny. Taková molekula se pak může vyskytovat jak ve formě aniontu, tak kationtu a to, v jaké formě se amfolyt zrovna nachází, záleží hlavně na pH prostředí: při nízkém pH je v roztoku spousta H^+ iontů, amfolyt je přijímá a nabývá kladný náboj, při vysokém pH je zase H^+ iontů nedostatek, a tak amfolyt uvolňuje vlastní H^+ ionty, čímž získává náboj záporný. Někde mezi těmito stavy ale existuje rovnováha: takové pH, při kterém je v molekule stejné množství záporných a kladných nábojů, a tak molekula na venek vystupuje jako neutrální – náboje v molekule se zkrátka navzájem vyruší. Takovému stavu se říká **zwitterion** a pH, při kterém daná molekula existuje ve formě zwitteriontu, označujeme jako její **izoelektrický bod**, zkratkou pI. Typickým příkladem amfolytů jsou aminokyseliny. Ty vždy obsahují jak kyselou karboxylovou skupinu ($-COOH$), tak zásaditou aminoskupinu ($-NH_2$) a díky změnám v pH prostředí tak může docházet ke změnám v jejich náboji (viz obrázek 5 níže).



Obr. 5: Přechod iontových forem obecné aminokyseliny v závislosti na pH. Schéma nezahrnuje iontové změny, ke kterým dochází v postranním řetězci aminokyseliny. R = postranní řetězec.

Toho, že náboj aminokyselin, a tak i proteinů můžeme měnit pouhou změnou pH roztoku, využíváme při další chromatografické metodě pro separaci proteinů: takzvané **ionexové chromatografii**. Stacionární fází je v takovém případě **ionex**, což je látka, která také nese nějaký elektrostatický náboj. Pokud ionex nese kladný náboj, označujeme jej jako **anex** (protože z roztoku vychytává anionty), pokud nese záporný náboj, nazýváme jej analogicky **katex**. Pokud ionex označíme za silný, znamená to, že svůj náboj nese při téměř jakémkoliv pH, slabé ionexy svůj náboj mohou za určitých podmínek měnit, nicméně těmi se v této úloze pro zjednodušení zabývat nebudeme.

Jak taková ionexová chromatografie v praxi vypadá? Nejprve stanovíme pI našeho proteinu, buďto teoreticky, nebo experimentálně. Dle zjištěného pI si zvolíme, zda pro purifikaci zvolíme katex nebo anex: pro proteiny se zásaditým pI obvykle volíme katexy, pro proteiny s kyselým pI zase anexy. Na kolonu s ionexem pak protein nanese při takovém pH, aby náboj proteinu a ionexu byl opačný: protein se tedy na ionex elektrostatickými silami naváže. Kolonu promyjeme, abychom vyplavili všechny nenavázané nečistoty, a pak kolonu promyjeme roztokem o pH, při kterém má protein stejný náboj jako ionex, přitažlivá síla mezi proteinem a ionexem se tedy změní na odpudivou a náš protein se tím uvolní.



Obr. 6: Lysozym z mléka ježury australské (*Tachyglossus aculeatus*).

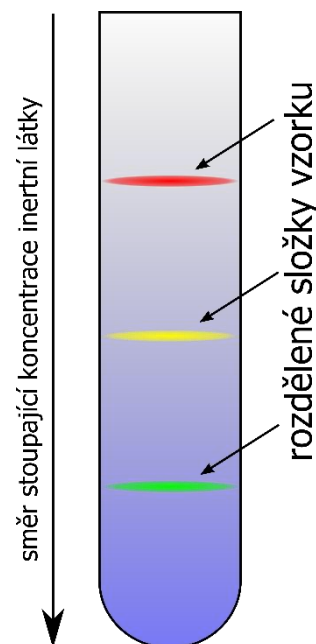
7. Představte si, že chcete purifikovat protein lysozym z mléka ježury australské (struktura proteinu pro zajímavost v obrázku 6), jehož sekvence je:

KILKKQELCKNLVAQGMNGYQHITLPNWVCTAFHESSYNTRATNHNTDGSTDYGILQI
NSRYWCHDGTKTPGSKNACNISCSKLLDDDDITDDLKCAKKIAGEAKGLTPWVAWKSCK
RGHDLSKFKC

- a. V prohlížeči si otevřete nástroj [ProtParam](#), vložte do něj sekvenci vašeho proteinu a zjistěte jeho teoretickou hodnotu pI. [1 b]

- b. Protein budete purifikovat na silném katexu. Navrhněte pH, při kterém budete protein na katex nanášet a následně pH, při kterém protein z katexu uvolníte. [1 b]

Na začátku této úlohy jsme si představili centrifugaci jako preparativní metodu, pomocí které rutinně oddělujeme směsi složené z více fází – směsi jsou při odstředování vystavovány obrovským přetížením dosahujícím až dvacetitisícinásobku gravitačního zrychlení a složky směsi se následkem toho rozdělují. Co kdybych vám ale řekl, že tato už tak působivá metoda má ještě mladšího, zato dost nasvaleného sourozence jménem **ultracentrifugace**. Při této metodě vzorky vystavujeme neskutečným přetížením dosahujícím až 1 000 000×g, což je síla tak obrovská, že se v centrifugovaných vzorcích rozdělují nejenom jednotlivé fáze, ale dokonce i látky rozpuštěné v jedné a té stejné fázi! V praxi se nejčastěji využívá ultracentrifugace gradientová. Do centrikonu připravíme gradient nějaké inertní látky, často sacharózy anebo chloridu cesného. Pokud chceme pracovat s gradientem inertní látky v rozmezí koncentrace třeba 20–60 %, na dno centrikonu napipetujeme trochu 60% roztoku, na něj opatrně stejný objem 55% roztoku, na něj zase stejný objem 50% roztoku, a tak pokračujeme, dokud se nedostaneme k 20% koncentraci. Takto připravený centrikon pak necháme v chladu odstát, aby se ostré hranice mezi jednotlivými koncentracemi látky samovolně promísily a vznikl tak její kontinuální koncentrační gradient, jaký můžete vidět na obrázku 7: směs je tedy od hladiny ke dnu plynule koncentrovanější a koncentrovanější, a tím i hustší a hustší. Na hladinu takového roztoku pak velice opatrně nanese náš vzorek a necháme jej v ultracentrifuze odstředovat. A to, co se s ním při centrifugaci stane, záleží na tom, jestli jej budeme centrifugovat izokineticky nebo izopyknicky.



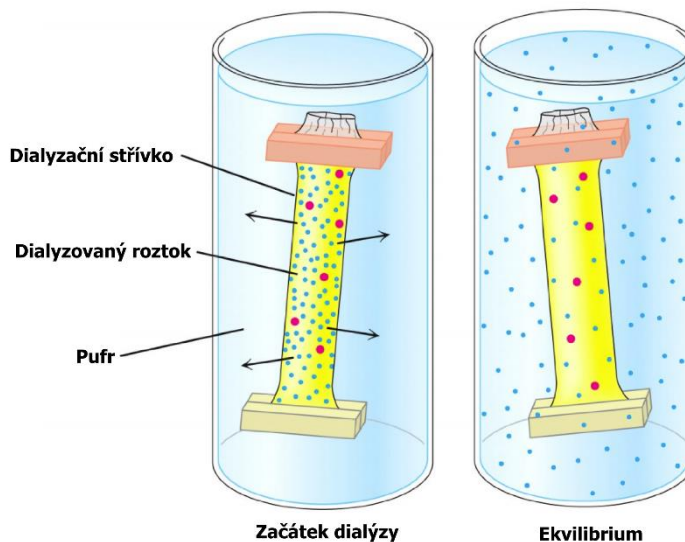
Obr. 7: Zjednodušené schéma rozdělávání složek směsi centrifugací v gradientu.

8. Centrifugaci v gradientu můžeme dle provedení rozdělit na centrifugaci **izokinetickou** a **izopyknickou**. Čím se od sebe tyto dva typy centrifugace liší? Na základě kterých svých vlastností se při nich látky separují? [3 b]

Možná jste si všimli, že při množství separačních metod, které jsme si v této úloze představili, získáváme naše biomolekuly nikoliv čisté, ale ve směsi s nějakým činidlem. Například v případě afinitní chromatografie vzorek znečišťuje látka, pomocí které biomolekulu uvolňujeme z kolony, v případě ultracentrifugace zase látka, pomocí které jsme vytvářeli gradient. Jak se těch malých potvůrek zbavit? Právě fakt, že jsou tyto látky oproti obrovským biomolekulám maličkaté, je naše záchrana. V tomto případě nám totiž pomůže proces jménem **dialýza**.

Jak jste v hodinách biologie již určitě slyšeli, dialýza je proces přestupu látek přes semipermeabilní, tedy polopropustnou membránu: taková membrána si nějakým způsobem vybírá, jaké látky skrze ni projdou a jaké ne. V našem případě bohatě stačí membrána, která

v sobě má póry dostatečně velké na to, aby jimi prošly nízkomolekulární látky, kterých se chceme zbavit, ale ne dost velké na to, aby jimi prošly naše biomolekuly. Do střívka z takové membrány dáme vzorek naší biomolekuly, střívko uzavřeme a necháme plavat ve velkém nadbytku roztoku, ve kterém chceme naši biomolekulu nakonec mít. Zatímco nízkomolekulární látky membránou projdou a rozředí se v celém objemu (objem střívka + objem roztoku, proti kterému vzorek dialyzujeme), velká biomolekula ve střívku setrvává (viz obrázek 8). Dialýzu můžeme ještě zefektivnit tak, že po první dialýze vzorek dialyzujeme znovu proti čerstvému dialyzačnímu roztoku. Nízkomolekulárních potvůrek se sice nezbavíme úplně, ale naředíme je natolik, že jejich přítomnost ve vzorku pro nás bude zanedbatelná.



Obr. 8: Schematický náčrt stavu dialyzační aparatury před začátkem dialýzy a po dosažení ekvilibria. Velké červené kuličky znázorňují protein či jinou makromolekulu, modré kuličky jsou nízkomolekulární látky.

9. Vzorek proteinu, který jsme purifikovali metodou metaloafinitní chromatografie, má objem 5 ml. Ve vzorku se nachází protein o koncentraci 5 mg/ml, Tris² o koncentraci 50 mM a imidazol o koncentraci 400 mM. Vzorek umístíme do dialyzačního střívka a dialyzujeme proti 5000 ml roztoku Tris o koncentraci 100 mM. Jaká je výsledná koncentrace proteinu, Tris a imidazolu uvnitř střívka potom, co dialýza dosáhne ekvilibria? [1,5 b]

A tak jsme spolu, milí řešitelé, došli až na konec úlohy. A věřte mi, že jste vykonali kus práce. Seznámili jste se s těmi nejvyužívanějšími a nejdůležitějšími metodami purifikace proteinů i jiných biomolekul, věřte mi však, že jsme si v celém tom biotechnologickém oceánu sotva omočili chodidla. Snad mi odpustíte, že jsme si metod představili pouze těch pár nejprominentnějších, myslím si však, že úloha je už takto dost našlapaná všemožnými postupy a principy. Obor biotechnologie a biochemických metod obecně ale rozhodně nebyl vyčerpán, to vůbec ne: v blíže nespécifikovaném budoucnu se tedy určitě můžete těšit na úlohy pojednávající třeba o elektroforéze, optických metodách a dalších metodách přípravy a výzkumu nejen proteinů.

„A tím končí naše komédie...“

² Tris je triviální název pro nízkomolekulární látku tris(hydroxymethyl)aminomethan.

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

5. First aid

20 points

Everyone has heard about first aid (or so I do hope), but as an old Turkish proverb says “repetition is the mother of wisdom”. So in this assignment, we will be running through some basics of first aid, which are useful to know very well.

Let us start with the basics of basics, what is the purpose of first aid? – it’s quite simple really, it’s to keep the afflicted in an as good as possible state until the ambulance arrives. And that is the first problem – There are two numbers (as you probably know from kindergarten) that you can call – 155 and 112 (talking, here and in the rest of the assignment, about Czechia)

1. What is the difference between these two numbers? When would you use 112 and when 155? [1 b]
2. How would you describe your exact position to a 155 operator? Write at least 5 things/ways that accurately pinpoint your location (imagine being in a city, in the mountains...) [1 b]

Well done, the paramedics are on their way. Now it is down to the business of not letting your patient die. There are standardized procedures to achieve this – so-called first aid “algorithms”.

3. Describe one such algorithm. The one I have learned is SSS ABC, but there are some others (DR’S ABC). Please write down what the individual letters stand for and then in one or two sentences summarize what are you supposed to do according to each point. [2 b]

The evergreen of first aid is CPR or cardiopulmonary resuscitation. Its sole purpose is to maintain a little bit of blood circulation when the heart stops working.

4. What is the most common reason for heart failure in adults? Is it the same in children? How does the defibrillator (AED – automatic external defibrillator) work and is it more commonly used in adults or children? [1 b]

And how is it done? The best explanation I have ever seen can be found here: <https://www.youtube.com/watch?v=tD2qTmDsiHk> (but there is a ton of other sources.)

5. Describe CPR in adults (when do you start with CPR, frequency, hand placement, when do you stop resuscitating) What would you do differently when you should resuscitate a) a baby 0,5-year-old b) a child 5-years old. [1 b]
6. In the video there is little mention of “rescue breaths” (except for the “no kissing” line) – why is that? Are rescue breaths dangerous for the patient? Should we do them or not? [1 b]

With heart failures out of the way, we can take a closer look at some other life-threatening situations. One of the most common ones is the obstruction of the airways – “choking”. When the airways are obstructed there is no fresh air in your lungs, meaning no oxygen in your blood (which is not particularly good for you).

7. You are sitting in a restaurant, eating as usual when you see a person getting up from a table. He is coughing like mad and is unable to breathe. What are you going to do? What if a) the person stops coughing? b) loses consciousness? [1 b]

Next thing we are going to talk about is haemorrhage. We have external bleeding (you see red stuff flowing/squirting from the patient) and internal bleeding (no red stuff). Both can be quite dangerous. Let's start with the external bleeding, as it is much easier to detect. Whenever dealing with blood think about SAFETY. The blood can bore many contagious diseases! Always wear some kind of protection (gloves are ideal, but plastic bags, condoms or the hand of the patient will do as well).

8. How do you stop external bleeding (when you have no access to first aid kit)? Then describe how to construct a pressure dressing. [1,5 b]
9. When is it appropriate to use a tourniquet? Where (along which bones) would you apply a tourniquet? [1 b]
10. What are the symptoms of internal bleeding? [1 b]
11. What is a hypovolemic shock? How would you treat a person in shock? (note we are discussing the circulatory shock). [1 b].

The two last things that we are going to discuss in this assignment are stroke and allergic reactions. Starting with the latter – allergy is an overly aggressive reaction of an organism to a harmless (more or less) stimulus. The person can react by swelling (can obstruct airways...), coughing, rash... the most severe of these is a condition called anaphylactic shock.

12. What is an epi-pen and how does it work? [1 b]
13. What is a stroke? [1 b]
14. Decipher the acronym FAST, comment each point with one or two sentences. [1,5 b]

Now, with the acquired knowledge, you are going to try to solve some situations. When formulating the answer try to remember the SSS ABC algorithm and stick to it. Also, try not to forget simple things, such as sitting the person down or turning the stove off – I know it sounds trivial, but these are (sadly) quite essential... Good luck :)

15. Midsummer idyll, you are watching the birds and hearing the monotone sound of the chainsaw. Suddenly the deep hum changes and you hear your grandpa crying out loud and swearing like a drunken sailor. You run toward him and see him

standing there looking at his forearm. There is a deep wound, blood squirts out of it in regular intervals, grandpa is turning pale. What are you going to do? [2 b]

16. You are on a spring stroll with your best friend who is the mother of a charming 1-year old. You have stopped for a brunch and your friend is desperately trying to feed her daughter (who is fiercely opposing any form of cooperation and the vegetable puree is flying al around you). Suddenly, the little girl stops laughing. She is coughing, waving her little hands and quickly turning purple. What are you going to do? [2 b]