Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i.

Akademie věd České republiky

www.uochb.cz

Počet publikací v impaktovaných časopisech za rok 2014:	275
Počet mezinárodních projektů:	26
Počet významných patentů, vynálezů, užitných vzorů, licenčních smluv a ochranných známek za rok 2014:	19
Počet zaměstnanců:	634
Počet PhD.-studentů:	137
Počet diplomantů:	56

KONTAKTY:
Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i.

Flemingovo nám. 2
166 10 Praha 6

tel.: +420-220 183 111
fax: +420-220 183 578
e-mail: uochb@uochb.cas.cz

Účinnější léky a lepší materiály

Když se po druhé světové válce obnovila činnost vysokých škol, dala se na Fakultě chemicko-technologického inženýrství ČVUT dohromady skupina nadšených chemiků, v jejichž čele stanul profesor František Šorm.

V roce 1951 se tým přesunul do budovy na Flemingově náměstí. Zemědělský výzkum vystřídaly chemické pokusy. Zformoval se Ústřední chemický institut. Formálně byl ústav založen až 1. ledna 1953; jeho jméno se změnilo na Ústav organické chemie Československé akademie věd.

Největší záshluhu na vzniku a rozvoji ústavu měl profesor František Šorm, který se stal generálním sekretářem akademie a později dokonce jejím předsedou.

Náplní práce ústavu je základní výzkum v oblastech organické chemie, biochemie a příbuzných disciplínách, převážně orientovaný k aplikacím v lékařství a životním prostředí. Ústav se podílí na vzdělávání na universitní úrovni a vedení diplomových a doktorských prací; je sídlem komise pro obhajoby doktorských disertací v oboru organická a bioorganická chemie.

Prof. František Šorm

Na základě vynikajících výsledků prof. Antonína Holého ÚOCHB dlouhodobě spolupracuje s americkou biofarmaceutickou společností Gilead Sciences, která se zabývá výzkumem, vývojem a distribucí inovativních léků. Ústav s touto firmou založil 13. 7. 2006 výzkumné centrum.

Prof. RNDr. Antonín HOLÝ, DrSc., dr.hc.mult.

1. září 1936 – 16. července 2012

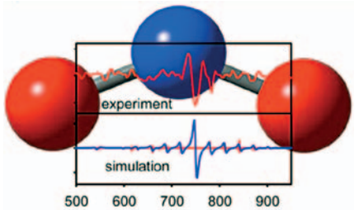
Organický chemik Antonín Holý byl jedním z nejúspěšnějších českých vědců současnosti. K jeho nejznámějším objevům patří jeho léky pro pacienty trpící nemocí AIDS nebo virovou hepatitidou typu B. Na ÚOCHB se zabýval chemií analogů složek nukleových kyselin, přednášel na univerzitách a vysokých školách a na řadě zahraničních pracovišť. Osm let strávil ve funkci ředitele ÚOCHB AVČR. Je držitelem 60 patentů a spoluautorem 600 vědeckých prací. Počet citací jeho publikací přesahuje 10000, což ho řadí k nejúspěšnějším světovým chemikům. Jeho práce byla m.j. oceněna čestnými doktoráty Univerzity v Manchesteru, Univerzity Palackého v Olomouci či VŠCHT, Descartovou cenou Evropské Unie za vědecký výzkum, členstvím v Učené společnosti ČR atd. atd.

Jak vzniká „mokrý“ elektron?

Každý, kdo někdy solil polévku tuší, jak se ionty solí rozpouštějí ve vodném prostředí. Jak se ale ve vodě rozpouští elektron? Rozpouštění elektronů ve vodě a jejich následné reakce jsou významné jak pro pochopení mechanismů radiační terapie nádorů, tak pro chemické procesy probíhající v meziskladech s jaderným odpadem. Výpočty provedené v Ústavu organické chemie a biochemie spolu s ultrarychlými laserovými experimenty v oblasti teraherzového záření realizovanými na Curyšské univerzitě dávají odpověď na základní otázky, týkající se vzniku hydratovaného elektronu.

Paramagnetická Ramanova optická aktivita plynů

Otáčení roviny polarizovaného světla při interakci s asymetrickými molekulami přitahuje pozornost veřejnosti již od doby Luise Pasteura (1848), jako zajímavý fyzikální jev a vzhledem k jeho vztahu k biologickým látkám. Zhruba ve stejné době byly také pozorovány první magneto-optické jevy, jako např. Faradayův efekt. Do dnešní doby bylo vyvinuto několik dalších technik, které jsou běžně dostupné v laboratořích, např. cirkulární dichroismus nebo Ramanova optická aktivita, včetně jejich magnetických podob. V této studii představujeme nový druh magneto-optické spektroskopie, paramagnetickou Ramanovu optickou aktivitu plynů. To bylo považováno za obtížné kvůli jejich slabému signálu. Nám se to podařilo díky konstrukci magnetické cely, silnému signálu molekuly NO_2, a podrobné teoretické analýze. Výsledky ukazují, že technika poskytuje unikátní informace o studovaných molekulách, a možná ji bude možné použít i pro analýzu průmyslových plynů.



V tradičním i novém

Od roku 2012 prochází ústav důkladnou rekonstrukcí a dostavbou, během které v areálu ústavu vyrostla nová, architektonicky výrazná budova se špičkově vybavenými laboratořemi pro organickou syntézu.

„Všechny vědecké skupiny na ÚOCHB procházejí náročným periodickým hodnocením, v němž některé skupiny neobstojí a své místo opustí. Zároveň pravidelně vypisujeme otevřené mezinárodní konkursy na nové juniorské vedoucí. O tyto pozice soutěží talentovaní mladí vědci z celého světa, z nichž jen ti nejlepší dostanou šanci rozvíjet svůj vlastní výzkum. Takový dynamický systém je důležitým faktorem pro neustálé zvyšování kvality výzkumu na ústavu.“

RNDr. PhDr. Zdeněk Hostomský, CSc.
ředitel ÚOCHB AV ČR, v. v. i.

IOCB TTO Centrum pro transfer technologií ÚOCHB

Centrum bylo jako s.r.o. ustaveno v roce 2009. Spojuje výzkum prováděný odborníky na Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR s patentovým a licenčním procesem.

Spojením základní výzkumné práce vědců ÚOCHB s komerčními partnery přináší nové myšlenky do lékařské chemie, materiálových věd, biologie a dalších oblastí aplikované chemie. Pomáhá zaměstnancům ÚOCHB přeměňovat myšlenky v patenty a spravuje intelektuální bohatství ÚOCHB. Nedílnou součástí činnosti IOCB je organizace a rozvoj spin-off společností na technologicképlatformě ÚOCHB.

Centrum pro transfer technologií ÚOCHB se podílí na projektu Centra pro vývoj původních léků (CDOD), financovaném Technologickou agenturou České republiky.

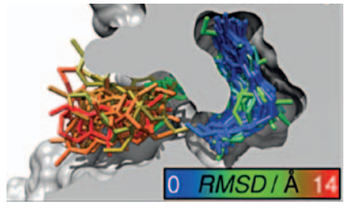
www.iocb-tto.cz

VÝPOČETNÍ CHEMIE

Hledáme rychle a spolehlivě nové léky s pomocí kvantověchemických výpočtů

Vedoucí skupiny: prof. dr.h.c. Pavel Hobza DrSc.

Hlavním tématem skupiny je studium nových typů nekovalentních interakcí (např. halogenových, chalkogenových a dvouvodíkových vazeb) a jejich aplikace na biomedicinální problémy řešené na ÚOCHB AV ČR, v.v.i. a na materiálové projekty ve spolupráci s několika univerzitami v ČR. Abychom cíle dosáhli, zaměřili jsme se na vývoj nových kvantověchemických metod poskytujících přesné hodnoty interakčních energií velkých biomolekulárních klastrů, jako např. komplexů proteinů s ligandy. Pro tyto komplexy nelze použít běžně aplikované empirické potenciály, protože nepopisují kvantové efekty. Vyvinuli jsme proto v naší laboratoři metodu PM6-D3H4X, která tyto efekty popisuje, je dostatečně rychlá a lze ji tudíž použít pro výpočty různých typů komplexů. Metodu jsme úspěšně použili při vylepšování ligandů účinných při léčbě AIDS, rakovině či cukrovce. Navíc v kombinaci s výpočty solvatačních energií dovoluje tento přístup získat rychle odhady vazebných volných energií komplexů proteinů s ligandy. Metoda byla porovnána s nejčastěji používanými skórovacími funkcemi pro různé komplexy proteinů s ligandy a poskytla přesvědčivě nejlepší odhady vazebných volných energií. Tímto jsme získali výpočetní nástroj, který nám umožňuje rychle a spolehlivě hledat nové účinné látky (potenciální léky) proti různým nemocem.



Ligand acetylcholinesterasy počítačově vložený (*molecular docking*) do aktivního místa enzymu. Modře je krystalograficky zjištěný způsob vazby, červeně nejméně podobné pozice.

VÝPOČETNÍ CHEMIE

Teoretická chemie organických a bioanorganických sloučenin s komplexní elektronovou strukturou

Vedoucí skupiny: RNDr. Zdeněk Havlas, DrSc.

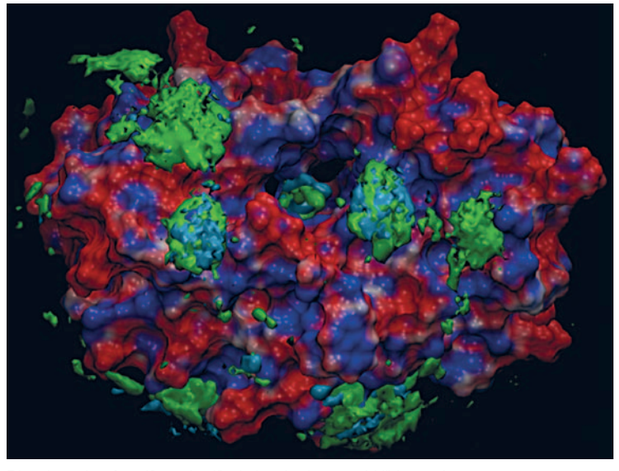
Kromě většiny známých sloučenin s takzvanou konfigurací uzavřených slupek existuje řada molekul s výrazně komplexnější elektronovou strukturou, kterou nelze pomocí této konfigurace popsat ani v prvním přiblížení. Do této skupiny látek patří například organické biradikály či bioanorganické sloučeniny přechodných kovů jako jsou metaloproteiny. Tyto sloučeniny obvykle vykazují výrazně odlišné chemické a fyzikální vlastnosti, od chemické a fotochemické reaktivity až po jejich spektroskopickou charakteristiku, jejichž detailní studium je nezbytné jak pro vývoj moderních aplikací například v oblasti fotovoltaiky, tak pro hlubší pochopení mnoha procesů důležitých pro život na naší planetě. Ve skupině Dr. Havlase se zabýváme studiem některých vlastností zmíněných sloučenin založeným na nejmodernějších metodách výpočetní chemie, a zároveň i vývojem metod samotných. K nim patří například mechanismus takzvaného „štěpení singletu“, které je jednou z nadějných alternativ pro zvýšení efektivity levných fotovoltaických článků založených na organických materiálech. Zde by hlubší pochopení vlastností studovaných materiálů mohlo v ideálním případě vést až k zavedení relativně jednoduchých pravidel, jak dosáhnout maximální možné efektivity, a k návrhu nových sloučenin vhodných k sestrojení článků nové generace. V oblasti organických sloučenin s biradikálovým charakterem se dále zabýváme jevem zvaným „porušení parity“, který má za následek rozdílné vlastnosti enantiomerů, či vlivem těžkých atomů na rychlost spinově zakázaných procesů, který nachází uplatnění v oblasti fotochemie a fotofyziky. V neposlední řadě se věnujeme též studiu chemických a spektroskopických vlastností sloučenin přechodných kovů, které hrají především ve formě metaloenzymů nezastupitelnou roli pro životní procesy. Díky tomu je zřejmé, že hlubší pochopení například mechanismů reakcí, které tyto sloučeniny katalyzují, je pro pochopení biologických procesů v organismech klíčové. Vzhledem k zaměření skupiny je většina výzkumu prováděna v úzké spolupráci s dalšími českými i zahraničními pracovišti z oblasti teoretické i experimentální chemie.

VÝPOČETNÍ CHEMIE

Slaná voda a bílkoviny

Vedoucí skupiny: prof. Pavel Jungwirth, PhD.

Prvním badatelem, který se začal systematicky zabývat vlivem solí na bílkoviny byl koncem 19. století slavný pražského rodák Franz Hofmeister, po němž je i pojmenována tzv. lyotropní řada iontů solí. Purifikace bílkovin z roztoku pomocí vysolování je dnes, kdy máme k dispozici mnohem sofistikovanější techniky, více méně historickou záležitostí. Stejné by to bylo i s Hofmeisterovou řadou, kdyby se ovšem postupně neukázalo, že se uplatňuje v mnoha dalších biologických procesech, jako je například denaturace bílkovin a enzymatická aktivita. Díky molekulovým simulacím prováděným ve skupině Pavla Jungwirtha se dnes blížíme pochopení specifických iontových efektů, přičemž se ukazuje, že vysvětlení úzce souvisí s rozpouštěním iontů ve vodě, s jejich přímou interakcí s bílkovinami a s iontovým párováním v roztoku. Zjišťujeme nakonec, že samotná Hofmeisterova řada je určitým (byť takřka geniálním) zjednodušením, a že výjimky z její platnosti poukazují na komplexní charakter těchto molekulových interakcí, které si Franz Hofmeister koncem 19. století mohl představovat jen v hrubých obrysech.

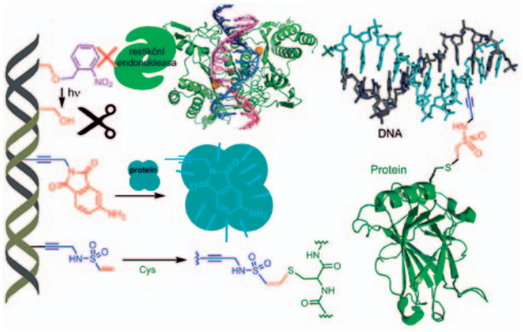


Distrubuce iontů sodíku a draslíku kolem hydratované HIV proteázy.
Literatura: Cremer, P. S.; Jungwirth, P.: Beyond Hofmeister. Nature Chemistry, 2014, 6, 261.

BIOORGANICKÁ A MEDICINÁLNÍ CHEMIE

Nukleové kyseliny

Vedoucí skupiny: prof. Michal Hocek, Ph.D., Dsc.



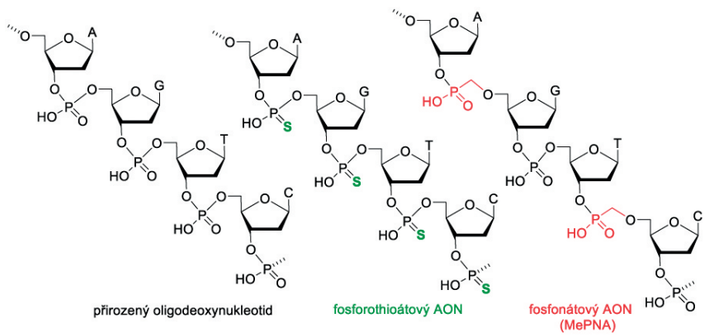
Vědecká skupina Prof. Hocka (Společná laboratoř ÚOCHB AVČR a PřF UK) se zabývá bioorganickou a medicinální chemií nukleových kyselin a jejich stavebních kamenů, nukleosidů a nukleotidů. Pomocí moderních metod organické syntézy s využitím katalýzy přechodnými kovy vyvíjí metodiku přípravy nových unikátně modifikovaných nukleosidů a nukleotidů, které jsou buď designovány a zkoumány jako protinádorové nebo protivirové látky nebo slouží jako stavební bloky pro enzymovou syntézu nukleových kyselin. V oblasti medicinální chemie tým v současnosti pracuje na několika nových typech nukleosidových cytostatik s novým mechanismem účinku, které vykazují in vitro i in vivo protinádorové aktivity při nanomolárních koncentracích a několik nadějných látek je v preklinickém vývoji. V oblasti bioorganické chemie a chemické biologie tato skupina vyvinula originální metody enzymových syntéz oligonukleotidů a DNA obsahující různě strukturně modifikované nukleobáze, které mají ve velkém žlábku DNA připojenou nějakou užitečnou funkční skupinu nebo molekulu. Potenciální aplikace zahrnují zavedení fluorescenčních nebo redoxních značek pro využití v diagnostice a bioanalýze (např. sekvenace krátkých úseků DNA, detekce interakcí s proteiny apod.), reaktivní skupiny pro biokonjugace a vychytávání molekul rozpoznávajících danou sekvenci DNA (zejména proteinů) a v neposlední řadě i chránící skupiny pro regulaci vazby proteinů na DNA (využitelné např. při chemické regulaci genové exprese). Propojení syntetické chemie nukleosidů a nukleových kyselin s jejich biochemií a bioanalýzou otevírá zcela nové horizonty ve zkoumání této důležité skupiny biomolekul a procesů jejich replikace a transkripce a rovněž objevuje nové potenciální cíle budoucí protinádorové terapie.

BIOORGANICKÁ A MEDICINÁLNÍ CHEMIE

Fosfonátové oligonukleotidy pro antisensní technologie

Vedoucí skupiny: Ivan Rosenberg, Ph.D.

Řízená regulace exprese genetické informace pomocí antisensních technologií je z medicinálního hlediska budoucím významným nástrojem v boji proti lidským patogenům – např. virům, a bakteriím. Vytvoření hybridního duplexu (RNA*DNA) překrytím určitého úseku mesenger RNA krátkým komplementárním vláknem DNA, může v tomto místě vést k rozštěpení RNA vlákna enzymem ribonukleasa H (RNasa H) a tím k zastavení proteosyntézy konkrétní bílkoviny, např. důležitého enzymu kódovaného nějakou patogenní mRNA. Krátké, syntetické, chemicky modifikované DNA – antisensní oligodeoxynukleotidy (AON), které jsou schopné stimulovat štěpící aktivitu RNasy H, byly a jsou předmětem výzkumu řady laboratoří a farmaceutických firem. Jedinými prakticky používanými modifikovanými AON, které fungují mechanismem RNasy H jsou fosforothioátové AON. Námi objevená fosfonátová modifikace internukleotidové vazby AON vykazuje parametry vhodné pro použití v antisensních technologiích k potlačení přenosu genetické informace.



BIOCHEMIE A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

Objasnění interakce inzulinu s jeho receptorem – naděje pro diabetiky

Vedoucí skupiny: RNDr. Jiří Jiráček, CSc.

Hormon insulin a jemu strukturně podobné růstové faktory IGF-1 a IGF-2 tvoří spolu s jejich buněčnými receptory komplikovaný systém, který reguluje jak bazální metabolismus organismu, tak i jeho vývoj, růst a délku života. Detailní porozumění tomu jak tyto látky spolu interagují a spouštějí biologické procesy je důležité pro vývoj nových léčiv proti cukrovce a pro léčbu rakoviny. Cukrovka i rakovina jsou v současné době považovány jedny z největších hrozeb pro zdraví lidstva. Naše skupina v ÚOCHB připravuje pozměněné molekuly insulinu i obou IGF a studuje jejich interakci s receptory a jejich biologické aktivity. Cílem je zjistit, které části molekul insulinu a IGF jsou zapojeny do aktivace receptorů, rozluštit tak strukturní kód jejich biologické selektivity a vyvinout nové látky pro léčbu cukrovky a rakoviny. V nedávné době se naše skupina podílela na objasnění interakce insulinu s jeho receptorem. Podařilo se nám vyvinout vysoce aktivní derivát insulinu, který stabilizoval vazbu na receptor a umožnil tak následnou strukturní analýzu.

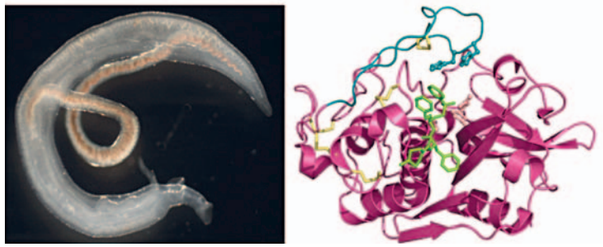
Struktura růstového faktoru IGF-1 navázaného na podjednotky L1, CR (*šedě*) a α-CT (*žlutě*) receptoru insulinu. Domény A a B IGF-1 jsou znázorněny červeně, doména D modře a doména C zeleně. Obrázek byl vytvořen na základě krystalové struktury tzv. komplexu IGF-1 a receptoru. Podobné struktury jsou velmi důležité pro pochopení mechanismu působení růstových faktorů a hormonů.

BIOCHEMIE A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

Katepsinové proteázy v patologii

Vedoucí skupiny: RNDr. Michael Mareš, CSc.

Výzkum katepsinových proteáz (katepsinů) patří mezi nejvíce se rozvíjející oblasti proteolýzy. Důvodem je zásadní účast těchto enzymů ve vážných patologiích jako jsou nádorová onemocnění nebo osteoporóza. Velký zájem dále přitahují katepsiny produkované parazity, kteří se živí krví člověka: umožňují vznik parazitárních onemocnění jako je např. schistosomóza nebo přenos patogenů jako je tomu u infekčních onemocnění přenášených klíšťaty. Práce týmu na ÚOCHB je zaměřena na výzkum molekulárních mechanismů řídících katepsiny v patologických procesech a na jejich regulaci. V sérii projektů se zabýváme funkční a strukturní biochemií medicinálně významných katepsinů a vývojem specifických inhibitorů katepsinů, které představují účinný nástroj pro nové intervenční strategie v biomedicíně a vývoj léčiv.



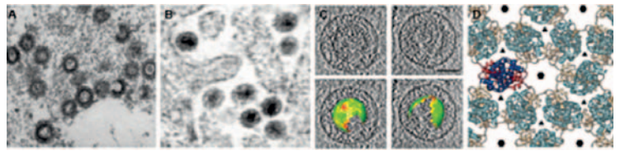
Vlevo: Pár dospělých červů krevničky střevní (*Schistosoma mansoni*) způsobujícího infekční parazitární onemocnění schistosomózu, kterým je infikováno přes 200 milionů lidí.
Vpravo: 3D struktura katepsinu SmCB1, pomocí kterého krevnička tráví proteiny z krve hostitele. Funkci enzymu blokuje syntetický inhibitor (zeleně), který je pro krevničku toxický. Vývoj léčiva na bázi inhibitoru SmCB1 je realizován ve spolupráci s University of California San Diego.

BIOCHEMIE A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

Strukturní a biochemická studie interakcí vedoucích k vytvoření nezralých a zralých retrovirových částic

Vedoucí skupiny: Ing. Iva Pichová, CSc.

Retroviry, jako např. virus lidské imunitní nedostatečnosti (z angl. Human imunodeficience virus, HIV), mají velký lékařský význam. Tvorba retrovirové částice probíhá ve dvou krocích. V prvním kroku se díky vzájemným interakcím mezi virovými polyproteiny Gag vytvoří hexamerní proteinová síť, která je základem pro tvorbu nezralých retrovirových částic. Následně dochází k vypučení a uvolnění nezralé částice z infikované buňky. Během druhého kroku dochází k proteolytickému štěpení polyproteinu Gag virovou proteasou, které vede k internímu přeuspořádání viru do zralé, infekční formy. Pomocí modelového opičího retroviru, (Mason-Pfizer monkey virus, M-PMV) jsme studovali strukturní organizaci retrovirových částic a interakce vedoucí k tvorbě jak nezralých, tak i zralých retrovirových částic. Poskytli jsme biochemická i strukturní data potvrzující obecný význam krátkého úseku strukturního polyproteinu Gag pro tvorbu nezralé a zralé virové částice a její následnou infektivitu (Strohalmová-Bohmová et al., 2014). Kombinací biochemické a strukturní NMR analýzy jsme identifikovali síť podpůrných interakcí, stabilizujících kapsidový protein M-PMV ve zralé konformaci (Obr et al., 2014). Přispěli jsme také k vyřešení struktury ve vysokém rozlišení intaktních HIV-1 a M-PMV virových částic pomocí kryo-elektronové mikroskopie a tomografie. Výsledný model odhaluje terciální a kvartérní struktury kapsidových proteinů a jejich vzájemné interakce vedoucí k vytvoření HIV-1 a M-PMV nezralých částic. Srovnání struktur nezralých HIV-1 a M-PMV částic ukázalo, že zatímco terciární struktura kapsidového proteinu HIV-1 a M-PMV je konzervována, kvarterní uspořádání je odlišné (Schur et al., 2014).



(**A**) Snímek z transmisní elektronové mikroskopie (TEM) nezralých částic M-PMV. (**B**) Snímek z TEM zralých částic M-PMV. (**C**) Kryo-elektronová mikroskopie a tomografie nezralé M-PMV částice. (**D**) Uspořádání kapsidového proteinu v nezralé částici M-PMV.

BIOCHEMIE A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

Strukturní biologie

Vedoucí skupiny: Pavlína Řezáčová, PhD.

Proteiny mají v organismu mnoho různých rolí, které jsou zakódovány v jejich prostorové struktuře. Znalost struktury proteinů nám pomáhá pochopit jejich funkci. Pokud se jedná o protein viru, patogenní bakterie, případně protein důležitý pro růst rakovinné buňky, poslouží struktura například k návrhu konkrétních léků.

Náš tým se zabývá několika projekty, v nichž znalost struktury pomáhá pochopit biologickou funkci bílkoviny, anebo kdy může být znalost struktury využita pro návrh látek, které modulují nebo inhibují funkci biloviny. Tým Strukturní biologie určuje struktury proteinů pomocí rentgenové difrakce a nukleární magnetické rezonance.

Projekt Bakteriální represory (transkripční faktory metabolických drah). Bakteriální represory plní funkci molekulárních přepínačů: vazba efektorové molekuly moduluje jejich schopnost interagovat s DNA operátorem a tak je zapínána či vypínána transkripce genů. Znalost 3D struktury represorů napomáhá pochopení molekulárního mechanismu, kterým jednotlivé represory vykonávají svou regulační funkci. Naše výsledky přispívají k pochopení modulace transkripčních represorů na molekulární úrovni a v obecné rovině též mechanismu regulace transkripce v bakterii *B. subtilis*.

Projekt Racionální návrh inhibitorů (potenicálních léků). V tomto projektu využíváme znalosti struktury bílkoviny v komplexu s chemickými látkami k návrhu látek, které se váží lépe a tím blokují funkci bílkoviny. Strukturní informaci získáváme rentgenovou krystalografií, rychlou informaci o vazbě látek nám poskytují NMR experimenty. V centru našeho zájmu je návrh inhibitorů enzymu, jenž je důležitý pro rakovinné buňky (konkrétně enzym CAIX). Dále pak návrh látek, které by blokovaly interakci dvou proteinů, které se uplatňují při vzniku a rozvoji leukemie (konkrétně interakce MLL1 a LEDGF/p75).

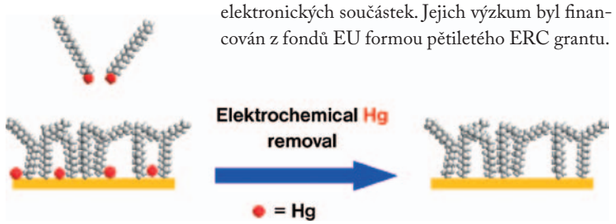
Krystaly bílkovin používané pro rentgenostrukturní analýzu

ORGANICKÁ CHEMIE

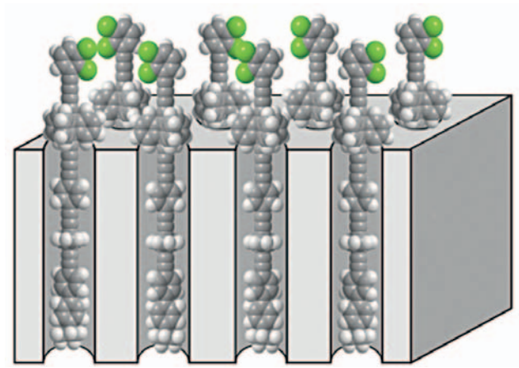
Nové materiály

Vedoucí skupiny: prof. Josef Michl, Ph.D.

Jedním z výzkumných témat, která řešíme je studium dvou- nebo třídimenzionálních polí vzájemně interagujících molekulárních rotorů s permanentním dipólem. Tato pole mohou vznikat organizací zmíněných rotorů na povrchu kapalin nebo uvnitř pórů vhodných pevných látek. Nově připravené materiály mají možné využití v mikroelektronice jako přenašeče signálu, díky svým vlastnostem mohou vést ke značné miniaturizaci příslušných elektronických součástek. Jejich výzkum byl financován z fondů EU formou pětiletého ERC grantu.



Působení roztoku $C_{18}H_{37}HgOTs$ na zlatý povrch za mírných podmínek rezultuje v tvorbu kovaletně adsorbované monovrst obsahující alkylové řetězce vázané přímo na zlato.



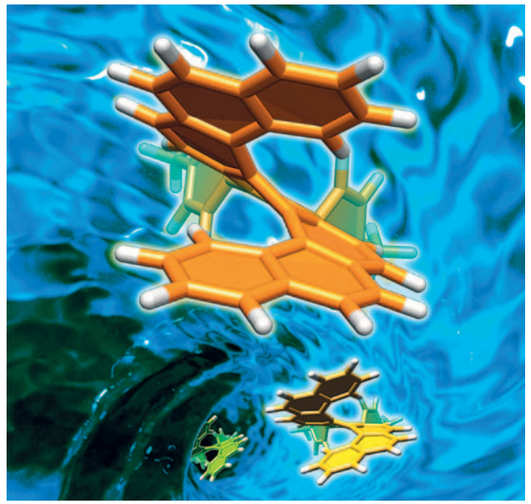
Pole rotorů ukotvených v porézní pevné látce

Další z projektů řeší pokrývání povrchu kovů, například zlata, uhlovodíkovými řetězci, které jsou ke zmiňovanému povrchu poutány přímou vazbou mezi atomy uhlíku a kovu. Takto ošetřené materiály vykazují zajímavé vlastnosti, pro které mohou být využity například při navrhování biosenzorů. Právě potenciální technologická významnost těchto materiálů přitáhla pozornost vědců společnosti SONY, kteří na projektu spolupracovali. V současné době je podporován i z prostředků GAČR.

ORGANICKÁ CHEMIE

Aromatické systémy

Vedoucí skupiny: Ivo Starý, Ph.D.

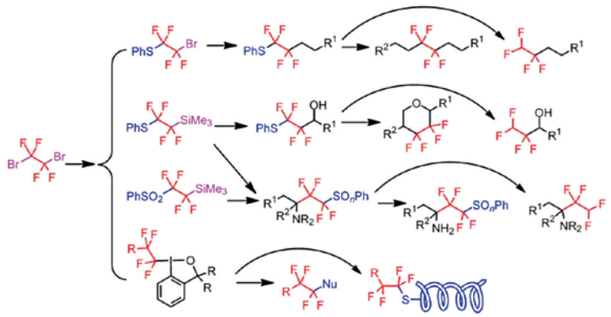


Společným rysem aromatických systémů, které tvoří součást bílkovin, nukleových kyselin, léčiv, polymerů, barviv či displejů, je jejich planární uspořádání. Existují však výjimky, kdy aromatické molekuly mají prostorovou strukturu. Ikonickými představiteli této skupiny látek jsou heliceny, které se skládají z benzenových jader spojených do tvaru připomínajícího točité schodiště. Toto uspořádání vede k porušení zrcadlové symetrie a heliceny tak existují ve formě pravotočivé a levotočivé šroubovice. Pro jejich uplatnění v enantioselektivní katalýze, materiálové chemii či nanovědě jsou většinou potřeba šroubovice jen jednoho druhu. V letošním roce byla publikována práce, která řeší více než padesát let starý problém obecné přípravy helicenů výlučně ve formě jedné šroubovice. Syntetický postup, který kombinuje biokatalýzu s katalýzou tranzitními kovy, vychází z jednoduchých stavebních bloků a je zakončený „sbalením“ příslušné šroubovice v jediném kroku. Univerzálnost této metody podtrhuje skutečnost, že lze tímto způsobem připravit tzv. opticky čisté heliceny o různé velikosti a délce, které nesou funkční skupiny potřebné pro další aplikace v různých oblastech chemie a fyziky.

ORGANICKÁ CHEMIE

Metodologie, reakční meziprodukty a nová činidla

Vedoucí skupiny: Petr Beier, Ph.D.



Zaměřujeme se hlavně na vývoj metodologie, reakční meziprodukty a zavádění nových činidel pro syntézu selektivně fluorovaných organických sloučenin s využitím chemie prvků hlavních skupin (S, P, Si, I).

Vybrané oblasti výzkumu:

1. Činidla pro přenos tetrafluoroethylové a tetrafluoroethylenové skupiny

Vyvíjíme činidla s obsahem síry a jodu pro zavádění tetrafluoroethylových a tetrafluoroethylenových skupin v pozdním stadiu s využitím radikálových, nukleofilních a elektrofilních činidel. Využití jodových činidel pro thiolovou biokonjugaci představuje rozsáhlou oblast výzkumu.

2. Syntéza a reaktivita pentafluorosulfanylových (SF5) sloučenin

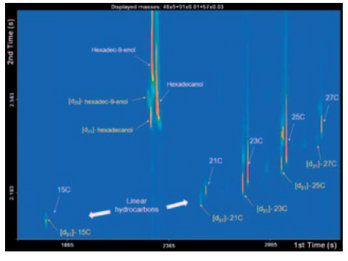
Organické sloučeniny s pentafluorosulfanylovou skupinou vykazují unikátní sadu fyzikálně-chemických vlastností, které z nich činí zajímavý strukturní motiv pro návrhy bioaktivních sloučenin a nových materiálů. V tomto projektu zkoumáme nové cesty vedoucí k SF5-sloučeninám.

CHEMIE PŘÍRODNÍCH LÁTEK

Biosyntéza samčích značkovacích feromonů čmeláků

Vedoucí skupiny: doc. RNDr. Irena Valterová, CSc.

Samci čmeláků používají značkovací feromon k přilákání samiček za účelem spáření. Tento feromon je uložen v hlavové části labiální žlázy, z níž ho samec nanáší na značky ohraničující jeho hájené území. Feromon je mnohasložková směs skládající se z alifatických a terpenických látek. Testovali jsme hypotézu, že alifatické složky feromonu vznikají transformací mastných kyselin, uložených v tukovém tělese. K ověření hypotézy jsme provedli pokusy, které spočívaly v aplikaci isotopicky značených mastných kyselin (^{2}H, ^{13}C) *in vivo*. Vzniklé značené metabolity – složky feromonu – byly analyzovány technikou GCxGC-MS, která byla nejprve optimalizována pro analýzu a kvantifikaci značených látek.



Dvourozměrný chromatogram analýzy extraktu labiální žlázy čmeláka skalního po aplikaci ^{2}H-značené kyseliny palmitové *in vivo*.

Samec čmeláka skalního (*Bombus lapidarius*)

Použité isotopy ^{2}H i ^{13}C byly inkorporovány do většiny alifatických složek feromonu. Ze získaných výsledků je zřejmé, že lipidy uložené v tukovém tělese mohou být prekursory feromonových složek. Výsledky tak ukazují na propojení primárního a sekundárního metabolismu u samců čmeláků.

VÝPOČETNÍ CHEMIE

Teoretická bioanorganická chemie a spektroskopie

Vedoucí skupiny: RNDr. Lubomír Rulíšek, PhD.

Bioanorganická chemie v nejobecnějším smyslu pojednává o interakcích iontů kovů s biomolekulami (proteiny, DNA, či různé nízkomolekulárními látkami přítomnými v organismech). Mezi těmito biomolekulami mají prominentní pozici metaloproteiny, které katalyzují mnohé biochemické reakce v živých organismech a díky tomuto faktu se řadí mezi základní stavební bloky přírodních procesů. Téměř žádný z těchto procesů by v nepřítomnosti katalyzátoru (metaloproteinu) za normálních fyziologických podmínek fakticky neprobíhal. Přítomnost iontu kovu je nutná téměř ve všech oxidačně-redukčních procesech, ve spinově zakázaných reakcích a v tzv. „obtížně proveditelných“ reakcích jako jsou štěpení velmi pevných vazeb N≡N, O=O, či C–H. Netřeba zmiňovat, že tyto reakce lze nalézt v tak základních biologických procesech, jakými jsou fotosyntéza či dýchání. Zcela pochopitelně bylo tudíž v několika posledních desetiletích vyvinuto nesmírné úsilí, abychom porozuměli funkci a struktuře metaloproteinů. Zatímco experimenty (lze zmínit např. rentgenovou strukturní analýzu, rozličné spektroskopické techniky, či elektrochemii) hrají nezastupitelnou roli v prvotních krocích zkoumání daného metaloenzymu, výpočetní metody teoretické a kvantové chemie je postupně doplňují a to především možností poskytnout často jednoznačné přiřazení strukturní a energetické charakterizace daného metaloproteinu, či alespoň jeho aktivního místa, a to v libovolném kroku enzymové reakce. Spojením a porovnáním (korelací) experimentálních a teoretickýh dat lze pak plně popsat reakční mechanismus studovaného metaloproteinu. To nejen umožnuje pochopit fyzikálně-chemické principy těchto biologických dějů, ale zároveň přispívá k pochopení specifity vazby iontů kovů v biomolekulách. Jednoho dne tak možná budeme znát odpověď na jednu z ústředních otázek (nejen) bioanorganické chemie: „Proč si příroda vybrala ten který iont kovu pro příslušný chemický či biologický děj?“ Cílem úsilí ve skupině Dr. Rulíška je porozumění těmto jevům za použití nejmodernějších metod výpočetní chemie, v delším časovém horizontu snad i návrh malých metalopeptidů, které by mohly plnit stejnou katalytickou funkci jako jejich (mohutné) protějšky – metaloproteiny.

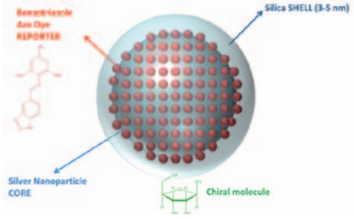
SPEKTROSKOPIE A FYZIKÁLNÍ ORGANICKÁ CHEMIE

Světlo odkrývá strukturu a chování molekul

Vedoucí skupiny: Prof. RNDr. Petr Bouř, DSc.

Těžiště výzkumu skupiny molekulové spektroskopie je vývoj teoretických a experimentálních metod umožňujících odkrývat strukturu a vlastnosti molekul. Myslíme si, že je to důležité například pro ovlivňování jejich funkce (léčiva); teoretické metody zas mohou přinejmenším omezit budoucí nákladné pokusy (i na zvířatech).

Molekuly nelze vidět prostým okem, a spektroskopie, tj. jejich zkoumání pomocí světla, představuje praktickou možnost jak je pozorovat. Tradičně rozvíjíme tzv. chirální spektroskopii (chiros = řecky ruka, tj. citlivou in na symetrii s jakou se k sobě má levá a pravá ruka) pracující s kruhově-polarizovaným světlem. Jednou z nich je otáčení roviny polarizovaného světla, což u kyseliny vinné už pozoroval Luis Pasteur v roce 1848. Moderní chirooptické metody využívají současných možností např. laserové optiky a výpočetní chemie. U Ramanovy optické aktivity (ROA) jsme nedávno spolu s kolegy v Anglii zjistili, že signál hledané molekuly lze neobyčejně zvýšit při přítomnosti stříbrné částice.



Pokročilá forma chirální spektroskopie, ROA, založená na Ramanově rozptylu 1926 indickým fyzikem J. V. Ramanem, v kombinaci s koloidní částicí, umožnila detekovat molekulu cukru v roztoku (Pour, S. O.; Rocks, L.; Faulds, K.; Graham, D.; Parchaňský,V.; Bouř, P.; Blanch, E. W. Nature Chem. 2015, 7, 591–596).

Na Ústavu organické chemie a biochemie byla také měřena první ROA spektra molekul v plynném stavu, poprvé byla popsána detekce cirkulárně polarizované luminiscence v Ramanově rozptylu, poprvé byla s vysokou přesností simulována spektra globulárních proteinů, a chirální spektroskopie v magnetickém poli byla navržena jako analytická metoda to fullereny a podobné uhlíkové nanomateriály.

ANALYTICKÁ CHEMIE A SEPARAČNÍ VĚDY

Elektromigrační metody

Vedoucí skupiny: RNDr. Václav Kašička, CSc.

Skupina se zabývá výzkumem a vývojem instrumentace, metodiky a využití vysokoúčinných kapilárních a průtokových elektromigračních separačních metod. V oblasti instrumentace vyvinula řadu unikátních přístrojů, v poslední době to byl například kapilární elektroforetický analyzátor s multidimenzionálním detekčním systémem složeným ze tří typů detektorů: bezkontaktního vodivostního, UV fotometrického a fluorescenčního. Přístroj umožňuje provádět separaci a detekci širokého spektra látek – ionogenních i elektroneutrálních malých molekul, středně velkých (bio)oligomerů i velkých (bio)polymerů. Metodický rozvoj zahrnuje všechny hlavní elektromigračních techniky: zónovou elektroforézu, izotachoforézu, afinitní elektroforézu, izoelektrickou fokusaci, elektrokinetickou chromatografii a elektrochromatografii. Využití těchto metod je zaměřeno na separaci, rychlou a vysoce citlivou kvalitativní i kvantitativní ultramikroanalýzu, purifikaci a fyzikálně-chemickou a biochemickou charakterizaci aminokyselin, peptidů, bílkovin, nukleosidů, nukleotidů a jiných biomolekul (léčiv, hormonů, enzymů, protilátek a ionoforů) a funkčních organických molekul (helquatů a helicenů). Různé módy kapilární afinitní elektroforézy jsou využívány ke studiu nekovalentních interakcí (bio)molekul ve volném roztoku i na rozhraní pevné a kapalné fáze.

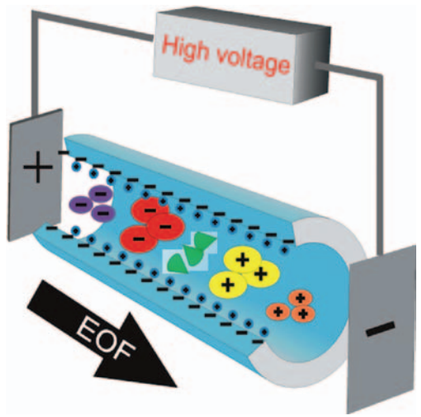
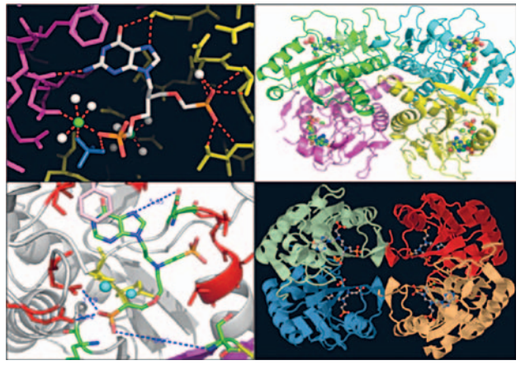


Schéma elektromigračního dělení kationtů, aniontů a směsné zóny elektroneutrálních látek v křemenné kapiláře se silným elektroosmotickým tokem (EOF) ve směru ke katodě.

BIOORGANICKÁ A MEDICINÁLNÍ CHEMIE

Nejen proti virům

Vedoucí skupiny: Ing. Zlatko Janeba, Ph.D.

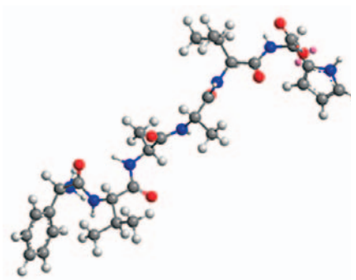


Skupina „Cílené analogy složek nukleových kyselin“ vedená Dr. Zlatkem Janebou se zabývá medicinální chemií biologicky aktivních analogů nukleobazí, nukleosidů a nukleotidů. Tyto analogy přirozených složek nukleových kyselin mohou v organismu působit jako antimetabolity a inhibovat důležité enzymy metabolismu rakovinných buněk nebo některých patogenních organismů. Návrhy nových látek vycházejí z detailních strukturně-aktivitních studií a využívají hlavně krystalových struktur komplexů enzymů s jejich inhibitory. Při vývoji nových efektivních metod přípravy cílových molekul jsou využívány moderní postupy organické syntézy. Hlavním typem studovaných látek jsou tzv. acyklické nukleosidfosfonáty (ANPs). Současné projekty týmu prokázaly, že ANPs mohou mít nejen protivirový efekt, ale i imunomodulační, antiparazitické a antibakteriální účinky. Příkladem mohou být nedávno vyvinuté selektivní inhibitory enzymů purinového metabolismu (6-oxopurinfosforibosyltransferáz), které jsou strukturními analogy přirozeného produktu reakce nezbytné pro některé typy parazitů a bakterií (např. *Plasmodium falciparum a vivax, Helicobacter pylori*). Profarmaka těchto inhibitorů prokázala výraznou antimalarickou aktivitu se zcela novým mechanismem účinku a v současné době je studován jejich potenciál proti *Mycobacterium tuberculosis* a *Trypanosoma brucei*. Další výrazný projekt se zabývá inhibitory adenylát cyklázy, které by mohly být využity při léčbě černého kašle a antraxu. Mechanismus působení nadějných látek a jejich potenciální biomedicínské aplikace jsou studovány ve spolupráci s několika biochemickými skupinami.

MEDICINÁLNÍ CHEMIE

Syntéza i analýza

Vedoucí skupiny: Pavel Majer, Ph.D.



Zabýváme se syntézou peptidů v pevné fázi až do 50 aminokyselinových zbytků. Syntetizujeme deriváty peptidů obsahujících fluorescenční značky, hydrofobní modifikace, PEG linkery, speciální aminokyseliny, dendritická větvení, násobné sulfidové můstky atd. Podle potřeby syntetizujeme malé molekuly, hlavně enzymové inhibitory s různým zacílením.

Provádíme kvantitativní a kvalitativní aminokyselinovou analýzu peptidů a proteinů. Sekvenujeme proteiny a peptidy Edmanovou metodou ve standardním měřítku a mikroměřítku. Zajišťujeme údržbu a standardní servis zařízení LC-MS-TOF a analýzy vzorků na zakázku.

Provádíme kvantitativní aminokyselinovou analýzu fluorescenční derivatizací a vysokotlakou kapalinovou chromatografií (HPLC).

BIOORGANICKÁ A MEDICINÁLNÍ CHEMIE

Zničit nádory

Vedoucí skupiny: Marcela Krečmerová, Ph.D.

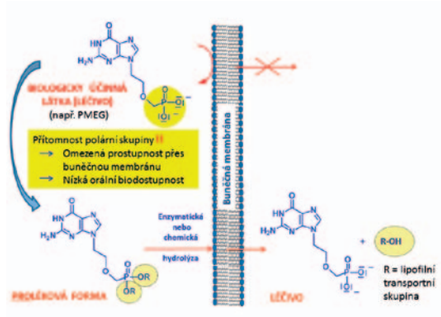
Demethylační látky pro epigenetickou terapii nádorů

Epigenetická léčiva, antileukemické 5-azacytosinové nukleosidy 5-azacytidin a 2´-deoxy-5-azacytidin (decitabin) působí jako demethylační činidla, která dokážou reaktivovat methylací utlumené tumorsupresorové geny. Jejich principielní nevýhodou je však nízká stabilita, díky níž musí být aplikovány v podobě studených infúzí, což je pro pacienta silně traumatizující.

Na našem ústavu se podařilo nově objevit epigenetickou aktivitu u dvou stabilních analogů s 5,6-dihydro modifikací: 5,6-dihydro-2'-deoxy-5-azacytidinu a alfa anomeru 5,6-dihydro-2'-deoxy-5-azacytidinu. Experimenty, které ověří skutečný terapeutický potenciál těchto látek se provádějí v rámci spolupráce s UP Olomouc.

Proléčiva

K úkolům medicinální chemie patří nejen syntéza nových aktivních struktur, ale též hledání způsobu jak zlepšit biodostupnost a terapeutický efekt u látek již známých, a to jejich převedením na tzv. proléčiva. Proléčivo je biodegradabilní sloučenina, která vznikne navázáním další pomocné látky nebo funkční skupiny na molekulu léčiva. Tím lze ovlivnit buď jeho fyzikální vlastnosti (např. rozpustnost) nebo zajistit transport přes gastrointestinální trakt do plasmy, případně



do konkrétního cílového orgánu. Ve spolupráci s USC Los Angeles jsme se zaměřili hlavně na peptidomimetická a aminokyselinová (zejména tyrosinová) proléčiva antivirálních a cytostatických acyklických nukleosidfosfonátů, která jsou netoxická a v organismu uvolňují jako vedlejší produkt látky tělu vlastní (aminokyseliny).

BIOCHEMIE A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

Jak se buňky domlouvají

Vedoucí skupiny: Kvido Stříšovský, Ph.D.

Každá buňka na Zemi Dje obalena lipidovou membránou a celá čtvrtina všech proteinů každé buňky je do ní stabilně zanořena. Takovéto membránové proteiny zajišťují pro buňku klíčové funkce, například interakci s okolními buňkami ve tkáních nebo mezibuněčnou signalizaci nutnou k vývoji a homeostáze tkání. Jsou však relativně málo prozkoumány, jelikož se obtížně studují. Laboratoř Dr. Kvida Stříšovského (www.strisovskylab.org) se zabývá interakcemi mezi membránovými proteiny a lipidy a katalysou chemických reakcí v membráně. Náš hlavní zájem tkví v intramembránových proteasách, což jsou všudypřítomné, nedávno objevené enzymy, které regulují velké množství membránových proteinů jejich štěpením uvnitř lipidové membrány. Tímto způsobem intramembránové proteasy kontrolují množství biologických procesů, od regulace metabolismu cholesterolu, přes invazi parasita způsobujícího malárii, zánětlivé reakce, až po signalizaci receptory růstových faktorů u savců.

Cílem našeho výzkumu je pochopit na systémové i atomární úrovni komplexní mechanismy regulace mezibuněčné signalizace přes EGF receptor se zaměřením na roli intramembránových proteas z rodiny rhomboidů a tak identifikovat a validovat nové terapeutické cíle. Náš přístup je interdisciplinární na pomezí buněčné, strukturní a chemické biologie. Jako první a zatím jediní na světě jsme vyřešili strukturu komplexu intramembránové proteasy s fragmentem substrátu a vysvětlili tak její substrátovou specifitu. To nám dalo unikátní nástroje a znalosti k vývoji specifických inhibitorů, které bude možné uplatnit farmakologicky v kontextu procesů migrace buněk, hojení ran, regulace zánětlivých reakcí a infekce parazitem způsbujícím malárii, kde proteiny z rodiny rhomboidů hrají klíčovou roli.

CHEMIE PŘÍRODNÍCH LÁTEK

Ze života hmyzu

Vedoucí skupiny: Robert Hanus, Ph.D.

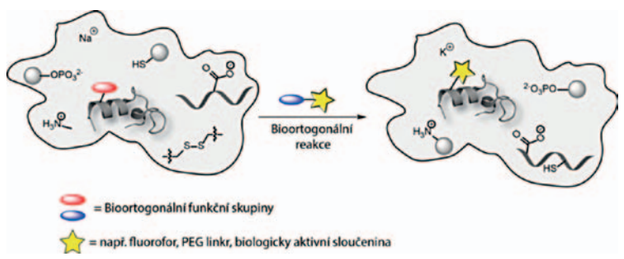
Tajemství úspěchu společenského hmyzu spočívá v nevšedních způsobech rozmnožování a schopnosti používat rozmanité chemické látky pro obranu a komunikaci. Právě tyto stránky života společenského hmyzu zkoumáme u společenstev termitů. V rámci jednoho z našich projektů jsme u několika druhů tropických termitů popsali unikátní rozmnožovací strategii, která se podílí na jejich obrovské produktivitě. Zatímco velká většina mnohobuněčných organismů se rozmnožuje s pomocí pohlavního rozmnožování, královny zmíněných druhů dokázaly skloubit výhody sexuální reprodukce s rozmnožováním nepohlavním. Zatímco všichni dělníci a vojáci v jejich koloniích vznikají tradičním pohlavním procesem z vajíček oplozených králem, nové královny, které zakladatelku kolonie po její smrti nahrazují, vznikají z neoplozených vajíček s pomocí partenogeneze – jsou tedy genetickými kopiemi matky. Tímto jedinečným způsobem královna na jedné straně zachovává kýženou genetickou rozmanitost svých potomků, zároveň si však zajišťuje stoprocentní účast vlastních genů v následujících generacích královen. Královna zakladatelka, stejně jako její věrné partenogenetické kopie navíc vylučují na povrch svých těl velké množství terpenických látek, které se podílejí na královské vůni, jež je odlišuje od všech ostatních členů kolonie a přispívá k udržení jejich dominantního královského postavení.

Vlevo termití královna zakladatelka společně s králem a jejich potomky, vpravo král spolu se skupinou genetických kopií královny zakladatelky (*Silvestritermes minutus*).

BIOORGANICKÁ A MEDICINÁLNÍ CHEMIE

Vylepšit známé a vyvinout nové

Vedoucí skupiny: Milan Vrábel, Ph.D.



Naše skupina se zabývá bioortogonálními reakcemi a jejich následným využitím při studiu biomolekul a při vývoji nových typů léčiv nebo diagnostických nástrojů. Bioortogonální reakce jsou chemické reakce s unikátními vlastnostmi umožnují jejich provádění na biomolekulách, buňkách nebo celých živých organizmech. Na rozdíl od normálních reakcí známých z organické chemie, bioortogonální reakce probíhají ve vodném prostředí, za pokojových teplot a s vysokou selektivitou i za přítomnosti velkého množství jiných funkčních skupin vyskytujících se v přírodě.

Jedním z hlavních cílů naší skupiny je vylepšování známých a vývoj nových bioortogonálních reakcí. Celý proces začíná v organické laboratoři, kde se jednotlivé chemické reakce postupně optimalizují tak aby je bylo možné efektivně provádět za fyziologických podmínek. Následně se jedna z funkčních skupin, které se dané reakce účastní, zabuduje do struktury cílové biomolekuly. Tato funkční skupina je jakýmsi specifickým místem v rámci dané biomolekuly, které slouží pro připojení dalších užitečných skupin nebo značek pomocí příslušné bioortogonální reakce. Tímhle způsobem je možné naznačit danou biomolekulu různými skupinami, jako jsou např. fluorescenční značka pro vizualizaci dané biomolekuly v buňce, nebo polyetylenglykolovým (PEG) linkerem pro stabilizaci dané biomolekuly. Tahle metoda umožnuje také konstruovat hybridní bio-konjugáty, které kombinují vlastnosti biomolekul a malých organických sloučenin. Vhodnou volbou obou těchto částí je možné připravit vysoce efektivní a specifická léčiva nebo diagnostické nástroje pro různá onemocnění.

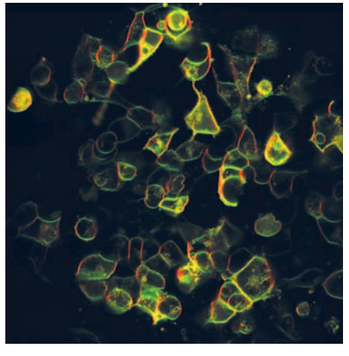
Naše skupina kombinuje klasickou organickou chemii, chemickou biologii a biochemii s cílem vytvořit nové postupy a metodiky které nám umožní lépe porozumět komplexním biologickým pochodům a vyvinout účinnější terapeutika a nové diagnostické nástroje.

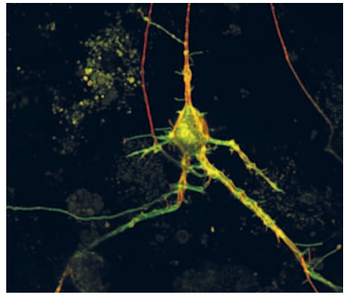
BIOCHEMIE A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

V buňkách a organismech

Vedoucí skupiny: Josef Lazar, Ph.D.

Skupina Josefa Lazara se zabývá vývojem nových technik pokročilé optické mikroskopie a jejich využitím k pozorování molekulárních procesů odehrávajících se v živých buňkách a organismech. Nejdůležitějším počinem skupiny je vyvinutí techniky dvoufotonové polarizační mikroskopie (2PPM). Tato technika umožňuje za pomoci speciálního mikroskopu sledovat změny tvaru molekul bílkovin způsobené například aktivitou hormonu nebo neurotransmitteru, změnou elektrického napětí na buněčné membráně či přítomností potenciálního léčiva. Technika 2PPM tak umožňuje sledování velkého počtu důležitých buněčných pochodů. O významu této techniky svědčí publikace rozsáhlého článku v časopise *Nature Methods* a udělení českého i amerického patentu. Skupina J. Lazara spolupracuje s řadou pracovišť na prestižních světových univerzitách, např. při vývoji bílkovin, které by umožnily sledování elektrické aktivity mozku pomocí optického mikroskopu. Práce v této laboratoři je velmi multidisciplinární a zahrnuje matematické modelování, počítačové programování, optické inženýrství, spektroskopii, biochemii, molekulární a buněčnou biologii i genetiku.





NMR A MOLEKULOVÁ SPEKTROSKOPIE

Do nitra molekul

Vedoucí skupiny: David Šaman

Počátky metody na ÚOCHB se datují do šedesátých let, kdy tuto dnes základní strukturně analytickou techniku propagoval na ústavu ing. Otto Knesl. Ten se úspěšně pokoušel společně s ing. Chloubovou o vývoj spektrometru s pracovní frekvencí 40 MHz. Studijní pobyt ing. Jiřího Jonáše v USA pomohl prolomit embargo na nákup nového spektrometru firmy Varian HA-100 o pracovní frekvenci 100 MHz. Po emigraci ing. Jonáše do USA se stal vedoucím laboratoře ing. Zdeněk Samek, který pokračoval ve spolupráci se skupinou na Ústavem přístrojové techniky v Brně vedeným ing. J. Dadokem a firmou TESLA na vývoji dalších generací spektrometrů. Tato brněnská skupina potom stála za vznikem a výrobou „českých" NMR spektrometrů s frekvencí 60, 80 a 100 MHz. V té době byl již ing. Dadok v USA. Uvedené spektrometry pracovaly i v ÚOCHB. V roce 1978 byl zakoupen sdruženými prostředky chemických chemických ústavů AV nový spektrometr Varian XL-200 - první spektrometr se supravodivým magnetem ve Střední Evropě. Následně byla vzniklá Centrální laboratoř NMR spektrotrometrie v roce 1989 dovybavena dalším spektrometrem Varian 500 MHz. V té době už vedoucím laboratoře byl dr. Miloš Buděšínský, který nahradil předčasně zesnulého ing. Samka a byl jím do roku 2012, kdy jej nahradil současný vedoucí laboratoře ing. David Šaman.

Po listopadu 1989 díky finančním možnostem ÚOCHB z prodeje license na výrobu sloučenin produkovaných skupinou prof. Holého se podařilo NMR laboratoř postupně modernizovat nákupem spektrometrů firmy Bruker 400 a 500 MHz (2002), modernizací spektrometru Varian 500 Hz na verzi Bruker 500 MHz pro měření v kapalné i pevné fázi (2007) a nákupem spektrometrů 600 MHz a 300 MHz ve stejném roce. Posledním rozšířením laboratoře byla potom komplexní modernizace všech stávajících spektrometrů na nejmodernější verze elektroniky a nákup spektrometrů 400 a 850 MHz. Současná situace je tedy následující: 300, 400, 400, 500, 500, 600 a 850 MHz.

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Analyzovat nově a lépe

Vedoucí skupiny: Doc. RNDr. Josef Cvačka, Ph.D.

Vědecko-servisní skupina používá hmotnostní spektrometrii a další techniky pro objasňování struktury, charakterizaci a identifikaci širokého spektra organických sloučenin. Výzkum je zaměřen na vývoj nových metod včetně vývoje instrumentace a softwaru a jejich aplikace v analýze zejména přírodních látek. Spojení s chromatografickými metodami umožňuje charakterizovat i velmi komplexní směsi analytů. Skupina Hmotnostní spektrometrie měří pro spolupracovníky z ÚOCHB velký počet vzorků zakázkovým způsobem. Tato měření zahrnují ověřování a určování molekulové hmotnosti a struktury látek, identifikace a kvantifikace proteinů a další typy analýz.

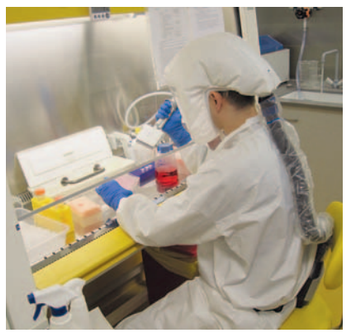
Jeden z projektů skupiny se zaměřuje na výzkum chemického složení novorozeneckého mázku. Novorozenecký mázek (vernix caseosa) je krémovitá hmota, která je produkována kůží lidského plodu v posledním trimestru těhotenství a většinou pokrývá kůži novorozence i po narození. Soudí se, že hlavní funkcí mázku je ochrana plodu před macerací v plodové vodě. Mázek pomáhá dokončit vývoj kůže a gastrointestinálního traktu, po porodu usnadňuje adaptaci kůže a chrání ji proti infekcím. Mázek má unikátní antimikrobiální a hojivé účinky, které lze potenciálně využít v lékařství. Synteticky připravený analog mázku by tak mohl být využitý v péči o velmi předčasně narozené jedince, které ještě nemají dokončený vývoj kůže, a také pro léčbu popálenin a některých kožních nemocí. Novorozenecký mázek je složený z vody, bílkovin, peptidů a velmi bohaté směsi lipidů (tuků), jeho součástí jsou i odloučené buňky pokožky a zbytky lanuga. V rámci projektu se členové skupiny snaží najít a optimalizovat metody analýzy lipidů novorozeneckého mázku tak, aby byli schopni identifikovat jednotlivé složky tohoto materiálu a zároveň pochopit biologické souvislosti jeho tvorby. Dosavadní výsledky například ukazují na rozdílnou dynamiku tvorby mázku u chlapců a dívek. Současně se daří odhalovat chemickou strukturu řady unikátních lipidů a získávat velmi podrobné informace o tomto jedinečném a velmi komplexním materiálu.

VIROLOGIE

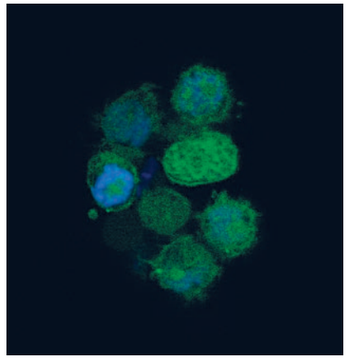
Testujeme antivirotika

Vedoucí skupiny: Jan Weber, Ph.D.

Vědecko-servisní skupina Virologie byla založena koncem roku 2011, aby poskytovala v rámci ÚOCHB možnost testovat látky s antivirovým účinkem a podpořila základní výzkum ústavu v oblasti virologie. V současnosti testujeme látky proti viru lidské imunodeficience (HIV), viru chřipky, viru dengue, herpes simplex viru a coxsackie viru. Spolupracujeme také s ostatními týmy a skupinami v ÚOCHB na výzkumných projektech zahrnujících práci s viry. Příkladem může být práce na vývoji systému pro dopravu léčiv do buněk jak pomocí polymerů tak pomocí makrocyklických sloučenin nebo výzkum vlivu inhibitorů na průběh štěpení virových polyproteinů HIV proteázou. Vědecká část skupiny se soustředí na úlohu kapsidového proteinu viru žloutenky typu B při replikaci viru. Zkoumáme hlavně proteiny interagující s kapsidovým proteinem, které jsou zapojeny v epigenetických modifikacích. Dále hledáme nové strategie inhibice HIV a zkoumáme roli virové replikační zdatnosti na HIV patogenesi a vývoj onemocnění AIDS.



Práce v laboratoři s úrovní technického zabezpečení 3



MT-4 buňky infikované HIV-1 exprimující zelený fluorescenční protein

BIOINFORMATIKA

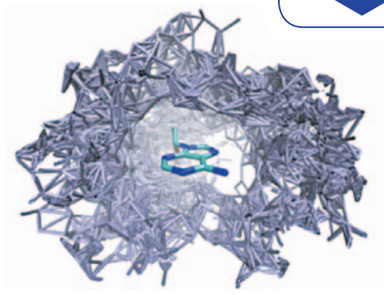
Lépe poznat strukturu

Vedoucí skupiny: Jiří Vondrášek, Ph.D.

Základním tématem vědeckého programu skupiny Bioinformatika jsou strukturní a funkční charakterizace základních biologických molekul – proteinů a DNA . Tyto molekuly jsou studovány pomocí statistických a informatických metod ve spojení se simulačními metodami a metodami výpočetní chemie a pracují s velkým množstvím dat uložených ve strukturních a biologických databázích. Centrem zájmu jsou především souvislosti mezi sekvencí, strukturou a funkcí proteinů, zvláště pak jejich interakcí. V poslední době se zvláště zaměřujeme na otázku protein-protein interakcí a interakcí proteinů s nukleovými kyselinami. Na toto téma jsme publikovali několik základních prací v časopisech americké chemické společnosti.

Znalost a kombinace metod molekulárního modelování, molekulárních simulací, výpočetní chemie, bioinformatiky a matematické statistiky nám dovolují využívat tyto postupy v rámci spolupráce a servisu s ostatními vědeckými skupinami v mnoha oblastech strukturní biologie a biochemie. Součástí našeho servisu jsou predikce a modelování struktur proteinů, jejich interakcí ať už s nízkomolekulárními ligandy nebo jinými biomolekulami.

Skupina Bioinformatiky spravuje také centrální uzel české infrastruktury pro biologická data ELIXIR CZ která je součástí evropské infrastruktury ELIXIR. UOCHB AV ČR je vedoucí institucí českého konzorcia ELIXIR CZ a vedoucí skupiny Jiří Vondrášek je nositelem projektu MŠMT pro velké infrastruktury. V rámci evropských aktivit je skupina zapojena do projektu H2020 – Excelerate, implementačního programu infrastruktury ELIXIR. Kromě integrace národních bioinformatických zdrojů jsou ve skupině vytvářeny sémantické databáze pro chemickou biologii a ve spolupráci s Fakultou Informačních Technologií ČVUT také národní koncept pro biologická data.

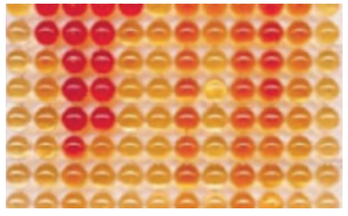


BIOCHEMICKÁ FARMAKOLOGIE ANTIMETABOLITŮ

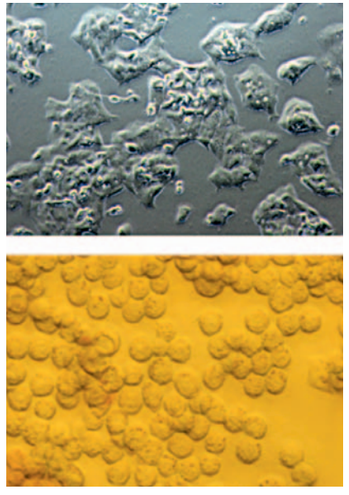
Hledání jehly v kupce buněčných kultur

Vedoucí skupiny: Helena Mertlíková Kaiserová, Ph.D.

Vývoj potenciálního léčiva od myšlenky až po naleštěnou pilulku v krabičce je nesmírně zdlouhavý proces. V časných fázích výzkumu hrají nezastupitelnou roli „nesmrtelné“ buněčné kultury odvozené od lidských nádorových novotvarů. S jejich pomocí doslova prosíváme nově syntetizované molekuly a zjišťujeme nejen to, jak působí látka na buňku (např. zda ji zabíjí, zpomaluje v růstu, mění její vzhled), ale také, jak buňka naloží s látkou ve smyslu její metabolické přeměny či transportu dovnitř a vně buňky. Jen jedna z mnoha látek projde základním testováním úspěšně a je jí věnována další péče. Přichází detektivní fáze hledání zásahového místa v buňce. Tím bývají často struktury bílkovinné povahy např. enzymy nebo receptory, ale též nukleové kyseliny (DNA, RNA). Znalost mechanismu účinku a vztahů mezi strukturou a biologickou aktivitou pak umožňuje poskytnout zpětnou vazbu do chemické laboratoře, kde dochází k návrhu a syntéze „vylepšené“ molekuly. Jen ty látky, které obstojí v buněčných kulturách, má smysl dále studovat na živých organismech.



Mikrotitrační destička s buňkami a testovanými látkami. Po obarvení speciální sondou dochází k barevné reakci, která je úměrná životnosti buněk.



Buněčné kultury odvozené od buněk jaterního nádoru (*nahoře*) a leukemie (*dole*).

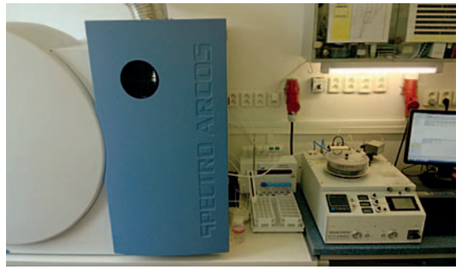
ANALYTICKÁ LABORATOŘ

Analýza nových látek

Vedoucí skupiny: Mgr. Stanislava Matějková

Úkolem pracoviště je zejména elementární analýza nově syntetizovaných organických látek. Stanovení prvkového složení je nedílnou součástí charakterizace látky a kritériem její čistoty. Specifikem naší práce je často velmi malé množství vzorku, které máme pro analýzu k dispozici – obvykle jen několik mg. Základní stanovení obsahu C, H a N se provádí pomocí automatického analyzátoru PE 2400 (Perkin Elmer). Fluor je stanovován po mineralizaci pomocí iontově selektivní elektrody. Obsahy makroprvků v rozsahu (Na) Mg – U jsou měřeny po převedení do metanolové matrice na simultánním ED-XRF spektrometru Spectro iQII (Spectro A.I.); stopové nečistoty je možno identifikovat měřením v pevné fázi. Kvantitativní stanovení dalších makro- a mikro-elementů je prováděno pomocí ICP-OES spektrometru Arcos s optikou v Paschenově-Rungeho montáži umožňující plně simultánní měření a identifikaci prvků na analytických čarách v rozsahu 130 – 770 nm s limity detekce v řádu ppb – ppt ve vodném prostředí i v těžkých organických matricích. V případě stanovení stopových prvků v (sub)miligramových vzorcích používáme přímé stanovení v pevné fázi metodou ETV-ICP-OES, kdy je vzorek v unikátním zařízení pro elektrotermickou vaporizaci ETV 4000c (Spectral Systems) vypařen a analyty ve formě suchého aerosolu transportovány do plasmatu a analyzovány. Metoda je rychlá a relativně jednoduchá, umožňuje automatizaci, a provedení analýzy i z minimálního množství např. biologických vzorků a ve forenzních aplikacích.

Dále stanovujeme optickou rotaci látek přístrojem Autopol IV (Rudolph Research) a provádíme archivaci a přípravu vzorků pro testování v rámci Knihovny UOCHB.



Simultánní ICP-OES spektrometr **Spectro Arcos SOP** (Spectro A.I., SRN) a zařízení pro elektrotermickou vaporizaci **ETV-4000c** (Spectral Systems, SRN) synchronizované prostřednictvím „Trigger"-signálu, spojení PTFE trubicí.

LABORATOŘ RADIOIZOTOPŮ

Poskytujeme cenné služby

Vedoucí skupiny: RNDr. Tomáš Elbert, Ph.D.

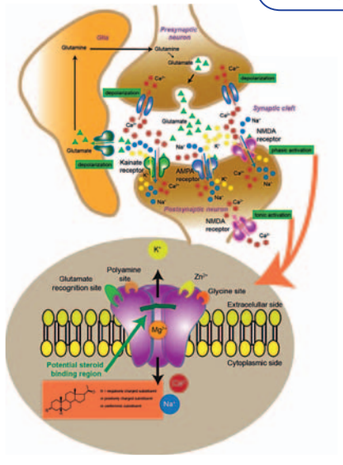
- Konzultace k radioaktivitním měřením pomocí kapalných scintilátorů na LSC spektrometru a měření gama aktivit na gama spektrometru. K dispozici je rovněž radio-TLC scanner pro vyhodnocování rozložení radioaktivity na tenkých vrstvách. Provádíme rutinní kontroly, kalibrace a údržbu těchto přístrojů.
- Kontrola čistoty komerčních značených sloučenin s využitím radio-HPLC a jejich přečištění, pokud je to nutné.
- Syntézy komerčně nedostupných sloučenin značených radionuklidy ^{3}H, ^{14}C a ^{125}I.
- Měření ^{3}H NMR spekter.
- Školení a přezkušování zaměstnanců v ochraně proti ionizujícímu záření.
- Dohled nad pracemi se zdroji ionizujícího záření a vedení dokumentace spojené s používáním zdrojů ionizujícího záření v souladu s platnou legislativou České republiky.
- Likvidace radioaktivního odpadu.

NEUROPROTEKTIVA

Ochránit nervovou soustavu

Vedoucí skupiny: RNDr. Eva Kudová, Ph.D.

Navazujeme na dlouhou a významnou tradici chemie steroidů v České republice a zejména na ÚOCHB novými moderními prostředky i s novými cíli. Ve spolupráci s Fyziologickým ústavem AV ČR vyvíjíme sloučeniny, které by se mohly stát neuroprotektivními léčivy s minimálními vedlejšími účinky, která dosud nejsou na trhu dostatečně zastoupena. S tím, jak se zvyšuje průměrný věk populace a roste poměrný podíl seniorů, potřeba takových přípravků úměrně stoupá. Steroidy ovlivňují nejen fyzickou výkonnost, ale velmi významně působí i na funkci, činnost a kondici mozku. Mozek si některé takové molekuly produkuje pro svoji potřebu sám. Jmenují se neurosteroidy. Ale stejně jako produkce steroidů v celém organismu i neurosteroidy s vyšším věkem ubývají. Nejlépe prozkoumaná je aktivita steroidních molekul vůči GABAA a NMDA receptorům. To jsou nejvíce zastoupené neuronové receptory. GABAA je receptor pro inhibiční neurotransmiter – kyselinu gama-aminomáselnou zatímco NMDA pro aktivační kyselinu glutamovou. My se soustředíme na steroidní ligandy, které modulují NMDA receptor. Jeho správná funkce za fyziologických podmínek podmiňuje připravenost nervové soustavy přijímat a zpracovávat informace, zapamatovat si je a schopnost jedince se učit. Patologické fungování je spojeno s mnoha nervovými chorobami i poškozeními; jako například následky poranění mozku, mozkové mrtvice, Alzheimerovy, Parkinsonovy, Huntingtonovy choroby, amyotrofické laterální sklerózy, schizofrenie a mnoha dalších.



ANTIOBEZITNÍ PEPTIDY

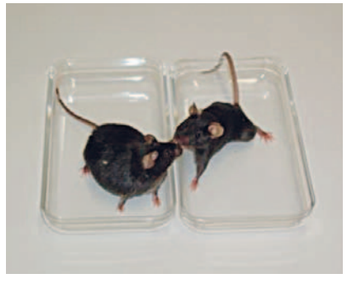
Modifikované peptidy k léčbě obezity

Vedoucí skupiny: RNDr. Lenka Maletínská, CSc.

Obezita a komplikace s ní spojené představují vážný zdravotní problém, pro který zatím neexistuje účinná léčba. V přirozené regulaci příjmu potravy hrají důležitou úlohu peptidy, které se vylučují a působí v různých částech mozku a které by mohly fungovat v léčbě metabolických poruch včetně obezity. V posledním desetiletí 20. století pak byla objevena řada peptidů (neuropeptidů) vylučovaných a působících v mozku, které zásadně ovlivňují regulaci energetického metabolismu, a mezi nimi i neuropeptid PrRP (prolactin-releasing peptide, peptid uvolňující prolaktin).

Peptidy jako potenciální terapeutika mají své výhody a nevýhody. Výhodou je určitě fakt, že jsou to látky tělu vlastní, které se v organismu snadno odbourávají. Tato vlastnost je ale zároveň jejich nevýhodou z hlediska terapie, protože jsou velmi rychle enzymaticky štěpeny v krvi či cílových tkáních, mnohdy pouze za několik minut. Proto se pro terapeutické účely vyvíjejí modifikované analogy těchto peptidů, které mají prodloužený účinek a jsou odolné vůči rychlému odbourávání.

V naší skupině jsme navrhli nové modifikované analogy PrRP, které mají navázánu mastnou kyselinu v biologicky neaktivní části peptidu (tzv. lipidizace). Výrazného snížení příjmu potravy a hmotnosti u myší obézních po vysokotukové dietě po podání těchto lipidovaných peptidů PrRP bylo zcela nově dosaženo i po periferním (podkožním) podání. Tyto nové lipidované peptidy představují tedy stabilní látky snižující příjem potravy, které po periferním podání působí v mozku, protože jsou díky lipidizaci schopny projít přes hematoencefalickou bariéru. V současné době pokračuje testování nejúspěšnějších – nejvíce účinných analogů v preklinických testech s výhledem na klinické testování.



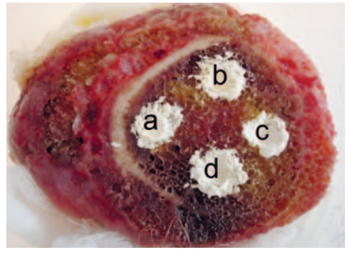
Dietou indukovaná obézní myš (*vlevo*) a její kontrola (samci kmene C57BL/6)

ANTIMIKROBIÁLNÍ PEPTIDY

Proti mikrobům

Vedoucí skupiny: RNDr. Václav Čeřovský, CSc.

Narůstající rezistence mikrobiálních patogenů k dostupným antibiotikům představuje závažný problém současné medicíny v celosvětovém rozsahu. Možným řešením je jednak revize v používání tradičních antibiotik, ale zároveň i výzkum nových antimikrobiálních látek mající odlišný mechanismus působení. Mezi takovéto látky patří antimikrobiální peptidy (AMP), které se vyskytují v celé živočišné i rostlinné říši. Jedná se o peptidy složené z 10 až 50 aminokyselin, které zabíjejí mikroby rozbitím jejich povrchových struktur, což vede k úniku jejich vnitrobuněčného obsahu a následné smrti. Tento proces, který je poměrně rychlý, se děje díky specifickému prostorovému tvaru AMP. V naší laboratoři jsme objevili několik nových AMP, které mohou nalézt uplatnění při lokální léčbě infekce kostí (osteomyelitis), okolních tkání a prevenci infekce implantátů používaných v medicíně. Jedná se o peptidy původně izolované z jedu volně žijících včel, jejichž syntetická analoga prokázaly účinnost v pokusech prováděných na vzorcích uměle infikovaných lidských kostí obdržených ze sbírky pražské nemocnice Motol. Bakteriální nálož je v infikované oblasti kosti po působení peptidů, které byly smíchané s lokálním nosičem používaným v ortopedii, výrazně nižší než v infikované oblasti, kde byl aplikován pouze lokální nosič bez peptidu nebo i lokální nosič s antibiotiky jako je vancomycin či gentamicin. Významným výsledkem naší skupiny byl objev lucifensinu - antimikrobiálního peptidu medicinálních larev, které se v nemocnicích běžně používají k léčbě obtížně hojitelných ran dolních končetin, převážně diabetických pacientů. V průběhu této larvální terapie larvy mouchy *Lucilia sericata* lucifensin vylučují do rány a tím infikovanou ránu desinfikují. Zároveň je lucifensin hlavní složkou jejich obranného mechanismu proti infekci.



Hlavice kyčelního kloubu s infikovanými otvory vyplněnými nosičem (ChronOS Inject) obsahující peptidy (*a, b*), antibiotikum (*c*) a samotný nosič (*d*).

CHEMIE A BIOLOGIE HELQUATŮ

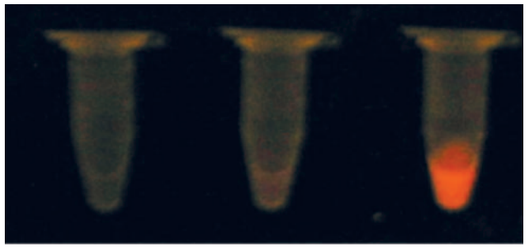
Zářivě nové

Vedoucí skupiny: Filip Teplý, Ph.D.

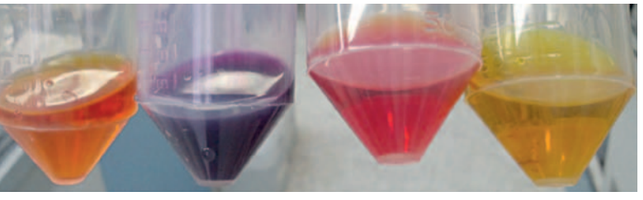
Helquaty jsou sole s výrazně kladně nabitou částí ve tvaru šroubovice. Tyto látky představují hybridy vzniklé kombinací strukturních motivů dvou velmi známých skupin látek helicenů a viologenů. Podobně jako viologeny jsou i helquaty dvojnásobně kladně nabité a zároveň jsou tyto látky helikálně chirální jako heliceny. Úsilí při rozvoji této oblasti chemie je motivováno hypotézou, že křížení privilegované chemie viologenů s chemií helicenů povede ke zrodu velmi zajímavých a aplikovatelných poznatků.

Dosavadní výzkum těchto nových helikálních kationtů ukazuje, že tyto látky jsou snadno dostupné a vykazují řadu zajímavých vlastností potenciálně využitelných v chemii a biologii. U některých helquatů byly například popsány intenzivní chirální optické efekty, které lze snadno ovlivnit změnou pH či změnou oxidačního stavu.

V současnosti jsou studovány helquaty s různými substituenty, které se váží na biologické cílové molekuly jako jsou například DNA G-kvadruplexy. Změna vlastností systému po navázání helquatu na DNA G-kvadruplex může mít využití nejen ve výzkumu rakovinových onemocnění ale i v jejich diagnostice a terapii.



Fluorescence substituovaného helquatu po navázání na DNA G-kvadruplex (*zcela vpravo*) se výrazně odlišuje od jeho fluorescence v přítomnosti běžné dvoušroubovice DNA (*uprostřed*).



Roztoky vybraných derivátů helquatů

SYSTÉMY PRO DOPRAVU LÉČIV

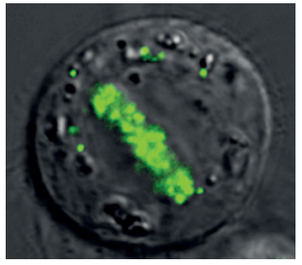
Až na místo určení

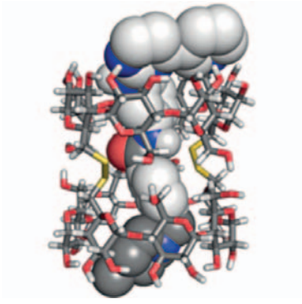
Vedoucí skupiny: Tomáš Kraus, Ph.D.

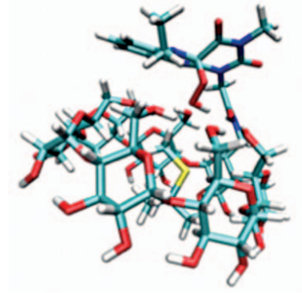
Naše skupina se zbývá přípravou funkčních receptorů organických molekul a iontů. Připravili jsme cyklodextrinové duplexy, které jsou velmi silnými a specifickými receptory organických molekul včetně klinicky užívaných léčiv. Makrocykly jsou spojeny dynamickými vazbami – dislufidovými můstky , které mohou být rozpštěpeny redukujícími látkami, které se nacházejí v buněčném prostředí, a tím může být komplexovaná látka uvolněna.

Ve spolupráci s Ústavem chemické technologie VŠCHT jsme vyvinuli řadu cyklodextrin-flavinových konjugátů, které jsou velmi aktivními katalyzátory sulfoxidací s peroxidem vodíku jako oxidačním činidlem. Oxidace aromatických sulfidů probíhají s vysokou enantioselektivitou.

V poslední době se naše skupina zabývala přípravou syntetických transportérů nukleosid trifosfátů (NTP) přes buněčné membrány. Podařilo se nám připravit aktivní látky, které jsou schopny přenést modifikované NTP (např. fluorescenčními sondami) do cytosolu, odkud jsou dále transportovány do buněčného jádra, kde dojde k jejich inkorporaci do genomické DNA.







BIOCHEMIE A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

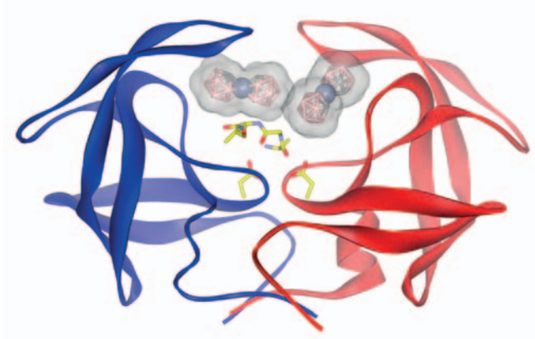
Proteázy lidských patogenů

Vedoucí skupiny: RNDr. Jan Konvalinka, CSc.

Skupina Jana Konvalinky nese tradiční název „Proteázy lidských pathogenů“. Název odráží původní zaměření skupiny, která byla začátkem devadesátých let založena s cílem studovat proteasy retrovirů, především HIV, zkoumat jejich substrátovou specifitu a hledat jejich nové inhibitory. Proteasa z viru HIV je totiž klíčovým enzymem pro životní cyklus viru, a inhibitory tohoto enzymu jsou velmi účinnými protivirovými léky. Podařilo se nám připravit některé nové typy inhibitorů, a pak ve spolupráci s lékaři ve Fakultní nemocnici Bulovka sledovat vznik resistence vůči proteázovým inhibitorům na molekulární úrovni. Později jsme rozšířili svou pozornost i na další proteolytické enzymy, které hrají důležitou roli při vzniku chorob. Soustředili jsme se hlavně na enzym zvaný glutamátkarboxypeptidáza II, který se podílí na poškození nervových buněk při neurodegeneraci, a zároveň je specifickým markerem nádorů prostaty. I v tomto případě vyvíjíme specifické inhibitory, které mohou nejen chránit nervové buňky před poškozením, ale i směrovat protinádorová léčiva přímo k nádorovým buňkám.

Skupina velmi úzce spolupracuje s katedrou biochemie PřF UK v Praze, kde je její vedoucí současně docentem (a prorektorem pro vědu UK). Mladý tým je téměř výhradně složen z pre- a postgraduálních studentů PřF UK.

Více o naší práci na **http://www.uochb.cz/web/structure/185.html**



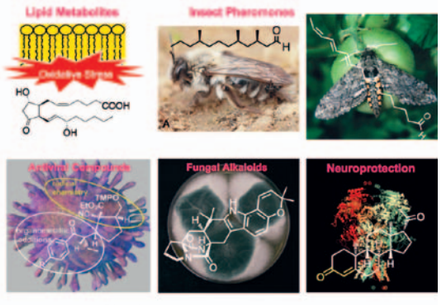
Struktura proteasy viru HIV s navázaným metalokarboranovým inhibitorem (Cígler et al, PNAS 2005).

CHEMIE PŘÍRODNÍCH LÁTEK

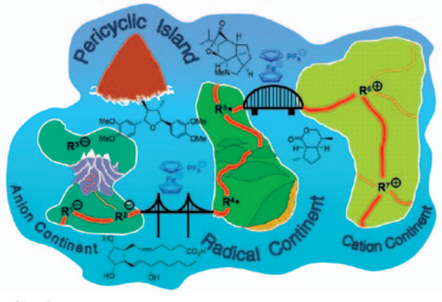
Syntetizovat přírodní a vytvořit analoga

Vedoucí skupiny: Ullrich Jahn Ph.D.

Hlavní výzkumnou oblastí Jahnovy skupiny je totální syntéza přírodních produktů a jejich analog, stejně jako jejich biologické vyhodnocení ve spolupráci s partnerskými skupinami (*obrázek 1*). Současné úsilí zaměřujeme na úplnou syntézu autooxidativně utvářených lipidových metabolitů, hmyzích feromonů, antivirových sloučenin, biologicky aktivních houbových alkaloidů, zvláště přemostěných diketopiperazinových alkaloidů a ent-steroidů jako molekulárních nástrojů ke studiu neuroprotekce, kterou vykazují steroidy na NMDA-receptoru. To vyžaduje silný rozvoj metodologie, která umožní unikátní a účinné postupy úplné syntézy (*obrázek 2*). Na tomto poli se skupina zvláště věnuje chemii přenosu elektronu, vývoji nových tandemových procesů, které začleňují řadu meziproduktů v různém oxidačně-redukčním stavu. Nedávno jsme se začali zajímat také o nové přístupy ke katalýze kovy a fotokatalýze.



Obr. 1



Obr. 2

BIOORGANICKÁ A MEDICINÁLNÍ CHEMIE

Co se děje v buňkách?

Vedoucí skupiny: Dmytro Yushchenko, Ph.D.

Jsme laboratoř chemické biologie na ÚOCHB. Vyvíjíme chemické nástroje, které pomáhají vizualizovat a modulovat interakce biomolekul v živých buňkách, abychom mohli studovat jejich funkce a jejich zapojení do patologických stavů. Mezi takové nástroje patří fluorescenční sondy, chemické dimerizéry, zsloučeniny v „klíckách“ a světlem přepínatelné sloučeniny. Používáme fluorescenční sondy ke sledování a chemické dimerizéry k zavádění protein-proteinových a protein-lipidových interakcí. Se sloučeninami v „klíckách“ a světlem přepínatelnými molekulami modulujeme hladiny a aktivitu signálních lipidů v buňkách. Zvláště usilujeme o pochopení původu tvorby amyloidních fibril zodpovědných za vývoj a postup neurodegenerativních onemocnění, jako je třeba Parkinsonova choroba. Používáme své nástroje k výzkumu poruch regulace interakcí mezi proteiny a membránou a proteiny navzájem, které vedou k neurotoxicitě. Naše nástroje nacházejí uplatnění i při studiu takových základních procesů, jako je lipidová signalizace a regulace exocytózy.

BIOCHEMIE A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

Neobyčejné schopnosti RNA

Vedoucí skupiny: Edward A. Curtis, Ph.D.

Po objevu katalytických molekul RNA na počátku 80. let 20. století se ukázalo, že je RNA schopna celé řady zajímavých funkcí; kromě jiného dokáže chemicky vázat různé ligandy a katalyzovat různé chemické reakce. Většinu z těchto příkladů se podařilo odhalit díky technice zvané *in vitro* selekce, při níž se provádí mnoho cyklů transkripce, selekce a RT-PCR s cílem izolovat vzácné molekuly s neobvyklými a zajímavými vlastnostmi ze směsi obsahující až 10^{15} náhodných sekvencí RNA. Naše laboratoř se zajímá o využití *in vitro* selekce k dalšímu studiu funkčních vlastností umělých i přirozeně se vyskytujících molekul RNA. Jedním z cílů mé skupiny je generovat funkční molekuly RNA, které mohou být využity v praktických aplikacích. Dále hledáme nové příklady funkčních molekul RNA v přírodě. V posledních 10 letech byla učiněna celá řada objevů a mnoho dalších zatím čeká na svou chvíli.

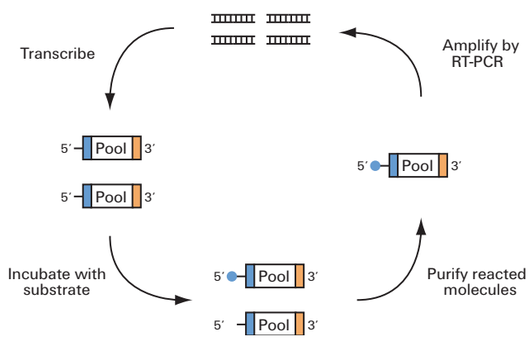
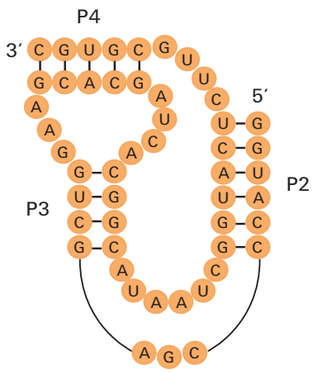


Schéma *in vitro* selekce.



Sekundární struktura ribozymu thiofosforyl-kinázy, izolované s použitím *in vitro* selekce (Curtis a Bartel, 2013).

SYNTETICKÁ NANOCHEMIE

Nanočástice pro zdraví

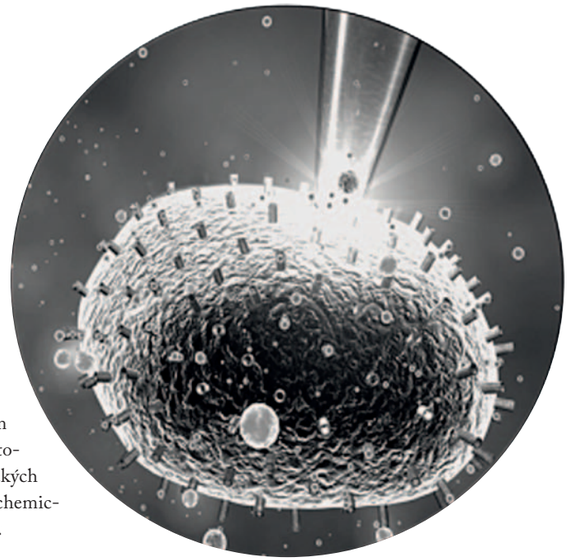
Vedoucí skupiny: Petr Cígler, Ph.D.

Studujeme nové typy nanočástic a jejich využití pro léčebné účely, zobrazovací techniky a diagnostiku nemocí. Hlavní uplatnění nacházejí v boji se zhoubnými nádory. Úkolem nanočástic je nalezení rakovinné buňky nebo patogenu a jeho označení, případně jejich likvidace. Povrch nanočástic můžeme naprogramovat tak, aby reagovaly jen s určitými buňkami těla. Vhodně navržené struktury povrchu jsou pak důležité, pokud mají nanočástice fungovat jako kontrastní látky pro zobrazování. Např. při magnetické rezonanci, kterou pacienti znají jako „vyšetřovací tunely,“ jsou takové částice rozpoznávány a nemocná tkáň je lépe zobrazitelná. Naše nanomateriály mají buď bioorganický, nebo anorganický základ a zahrnují částice podobné virům, fluorescenční nanodiamanty a plazmonické systémy. Zaměřujeme se na to, abychom nanočástice připravili v biokompatibilní a netoxické podobě, a na neinvazivní, dálkové ovládání jejich činnosti v buňkách pomocí externích podnětů.

BIOCHEMIE A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

Význam vápníkových kanálů

Vedoucí skupiny: Norbert Weiss, Ph.D.

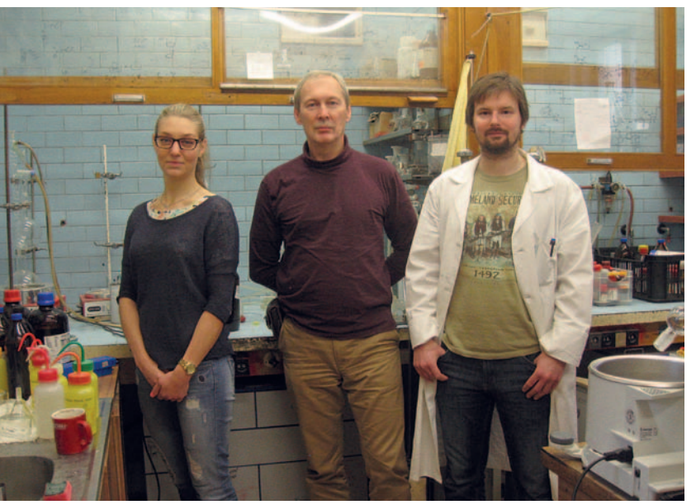


Cílem naší práce je pochopení molekulárních a buněčných mechanismů, které stojí v pozadí lidských emocí způsobených špatnou funkcí iontových kanálů, zvláště vápníkových kanálů. Vápník si Matka Příroda vybrala pro sladění základních buněčných funkcí: přispívá k vzrušivosti nervů, svalovým stahům, přepisu genů a celé řady dalších klíčových procesů, které se podílejí a zajištění normální fyziologie těla. Vápníkové kanály, které slouží jako uzavíratelní vstupní otvory pro pohyb vápníku přes buněčné membrány, hrají ústřední roli v iniciaci vápníkových signálů, a poruchy funkce vápenatých kanálů mají dramatické důsledky vedoucí k závažným lidským nemocem. V naší laboratoři identifikujeme mechanismy změn iontových kanálů u neurologických poruch s využitím elektrofyziologických záznamů, konfokální zobrazovací mikroskopie, molekulárních a biochemických metod, abychom na základě výsledků navrhli nové způsoby léčby.

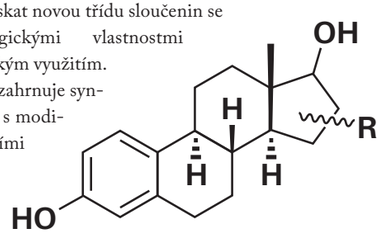
STEROIDNÍ INHIBITORY

Nové steroidní inhibitory

Vedoucí skupiny: prof. RNDr. Martin Kotora. CSc.



Skupina steroidních inhibitorů se zabývá vývojem nových sloučenin na bázi estronu – potenciálních antagonistů pro hydroxysteroiddehydrogenázy a ligandů pro estrogenové receptory. Cílem je získat novou třídu sloučenin se selektivními biologickými vlastnostmi a možným terapeutickým využitím.



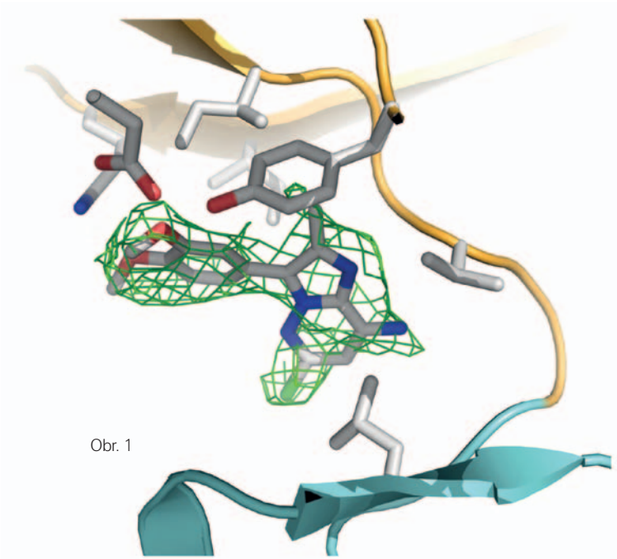
Současný projekt zahrnuje syntézu derivátů estronu s modifikovanými steroidními D-kruhy. Modifikace zahrnuje hlavně připojení různých postranních řetězců s vhodnými funkčními skupinami, umožňujícími další úpravy a modifikace. prvním cílem je navrhnout a syntetizovat látky, které by působily jako antagonisté vybraných hydroxysteroiddehydrogenáz (HSD). Druhým cílem je vyvinout nové typy ligandů pro selektivní navázání k alfa- nebo beta-receptorům estrogenu.

BIOORGANICKÁ A MEDICINÁLNÍ CHEMIE

Širokospektrální antivirotika

Vedoucí skupiny: Radim Nencka, Ph.D., Evžen Bouřa, Ph.D.

Viry nesoucí svou genetickou informaci zakódovanou v RNA, tzv. RNA viry, jsou důležitými původci onemocnění u lidí i zvířat. Příkladně viry z čeledi *Picornaviridae* způsobují nepříjemná onemocnění jako je rýma, ale také choroby, které mohou být až fatální jako je virová meningitida, obrna nebo hepatitida. Struktura i enzymová výbava těchto virů je poměrně jednoduchá, přesto jsou schopny efektivně napadat lidské buňky. Dokáží totiž zneužívat přirozené mechanismy v napadených buňkách pro svou vlastní replikaci. Jedním ze zneužívaných buněčných procesů je fosforylace vnitřních membrán buněk, která je zprostředkovaná enzymy ze skupiny fosfatidylinositol 4-kináz (*Obr. 1*). Řada RNA virů využívá tyto enzymy pro stavbu vlastních „replikačních továren“ uvnitř našich buněk.



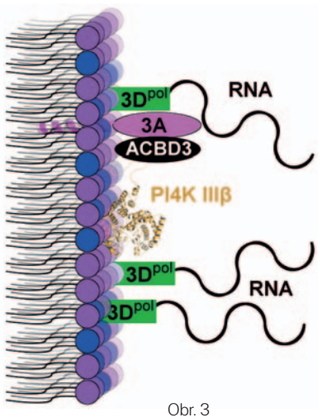
Obr. 1

Obr. 2

Na ÚOCHB studujeme strukturu a vlastnosti fosfatidylinositol 4-kináz. Skupina Dr. Bouři vyřešila krystalovou strukturu několika z nich (PI4KB, PI4K2A, PI4K2B). Získaná informace byla použita skupinou Dr. Nencky pro vývoj látek, které jsou schopny blokovat tyto kinázy a tím zabránit množení virů v lidských buňkách. Ukázali jsme, že tyto látky jsou schopny zabraňovat množení celé skupiny virů způsobujících rýmu, virové záněty srdce, ale také např. hepatitidu typu C.

Plus RNA viry potřebují PI4P lipid pro svou replikaci

Plus RNA viry využívají PI4 kinázy na začátku svého replikačního cyklu – zhruba hodiny po proniknutí do hostitelské buňky. Různí zástupci této rodiny virů si vyvinuli odlišné mechanizmy „kradení“ PI4 kináz. Nejčastější je mechanismus znázorněný na Obr. 3. Virový protein 3A pronikne do membrány a přes hostitelský ACBD3 rekrutuje PI4 kinázu na membránu. Ta následně vytvoří velké množství PI4P lipidu, což rozpoznají další virové proteiny např. RNA polymeráza $3D^{pol}$. Tak vznikají virové „replikační továrny“.



Obr. 3