

Vedecko-výskumný profil Katedry biochémie PFUK

Výučba biochémie na Prírodovedeckej fakulte UK začala v polovici päťdesiatych rokov, keď bola vytvorená Katedra organickej chémie a biochémie s autonómnym Oddelením biochémie. Externým vedením Oddelenia bol poverený Josef Tamchyna, ktorý bol zároveň riaditeľom Chemického ústavu SAV. Tamchyna ako farmaceutický chemik so zameraním na izoláciu prírodných látok zamýšľal orientovať výskum Oddelenia biochémie na izoláciu a charakterizáciu alkaloidov. Po vlne politických čistiek v roku 1957 však musel Tamchyna z vedúcej funkcie odísť a za vedúceho Oddelenia biochémie bol menovaný Ladislav Kováč. Ten vyštudoval odbor biochémie na Karlovej univerzite v Prahe a v Československej akadémii vied v Prahe ukončil vedeckú aspirantúru z biochémie. On potom, po príchode z Prahy na Univerzitu Komenského v Bratislave v roku 1957, určil vedecko-výskumné zameranie pracoviska, ktoré sa po čase stalo samostatnou katedrou. Toto zameranie si katedra v podstate udržiava doteraz. Možno ho charakterizovať ako „výskum vzniku a evolúcie biochemických procesov eukaryotickej bunky, s dôrazom na bioenergetiku, s využitím mikroorganizmov ako experimentálnych modelov a kombinovaním konceptov a metód biochémie a genetiky“.

Toto zameranie od jeho počiatkov určili tri faktory:

(1) Nadviazanie na jeden z výskumných smerov katedry biochémie v Prahe, ktorý bol do Prahy prenesený Arnoštom Kleinzellerom z biochemického prostredia v Anglicku. Myslenie, stratégia výskumu a výučby, organizovanie kolektívu a charakter ľudských vzťahov v pracovnom kolektíve biochemikov na Prírodovedeckej fakulte UK predstavujú **kontinuitu s anglickou biochemickou školou** a s jej protagonistami Davidom Keilinom, Hansom Krebsom a Josephom Needhamom.

(2) Vedecké bádanie katedry bol od samého počiatku chápané ako neoddeliteľná súčasť výučby. Základná idea bola: vychovávať slovenských biochemikov osobnou účasťou študentov na experimentálnom skúmaní **najakútnejších, najexponovanejších a najvzrušujúcejších problémov** súčasnej biochémie.

(3) Veľmi obmedzené technické možnosti a núdza o prístroje a chemikálie znemožňovali ísť štandardnými cestami svetových laboratórií a vynucovali si jednoduché a lacné, ale o to viac neštandardné výskumné prístupy. Zásadou bolo skúmať to, čo vo svete skúmajú najlepší odborníci na najlepších pracoviskách, no skúmať originálnymi **metódami, ktoré nepoznajú a nepoužívajú nik**.

Všetky tri faktory jednoznačne určili, že sa experimentálnym objektom na katedre stali **kvasinky**. Spočiatku obyčajné pekárské a pивné droždie, postupne čisté laboratórne kmene, neskôr neštandardné (netradičné) kvasinky a geneticky zmenené bunky, mutanty, pripravené na katedre. Vedľa kvasiniek slúži dnes výskumu na katedre aj iný mikroorganizmus, streptomycéty.

Kredit, ktorý si katedra získala vo svete, je daný predovšetkým neštandardnosťou, originalnosťou zvolených ideí a metód. I dnes, keď je spojenie biochémie a genetiky v podobe molekulárnej biológie triviálnou záležitosťou skúmania života, sa všeobecne uznáva, že zavedením **biochemickej genetiky** do výskumu bioenergetiky a biogenézy bola bratislavská katedra biochémie pionierskym pracoviskom vo svetovom meradle.

1. Hlavné výsledky vedeckého bádania katedry

(1) Počiatkom šesťdesiatych rokov bolo na katedre zistené, že eukaryotické bunky potrebujú bunkové organely, **mitochondrie**, o ktorých sa dovtedy predpokladalo, že slúžia len k aerobnému generovaniu voľnej energie, aj k iným než energetickým účelom. Táto idea bola neskôr potvrdená na katedre pomocou biochemických mutantov. Viedla k výskumu transportných procesov v mitochondriách kvasiniek, najmä prenášača pre adenínové nukleotidy. Dôsledný výskum tohoto prenášača a jeho roly v bunkovom raste, delení a v programovanej bunkovej smrti pokračuje na katedre doteraz.

(2) Po niekoľkoročnom hľadaní jednoduchých metód, ako preniknúť do kvasinkovej bunky, bola v roku 1968 z katedry publikovaná prvá účinná **metóda izolácie** funkčných mitochondrií z kvasiniek. Táto metóda sa dodnes používa vo všetkých svetových laboratóriách, v ktorých sa pracuje s kvasinkami a jej základný princíp je východným stupňom pri izolácii aj iných komponentov kvasinkovej bunky.

(3) V roku 1968 bolo zavedené použitie geneticky zmenených kvasiniek, mutantov, vo výskume mechanizmu premien energie v bunke, procesu oxidatívnej fosforylácie. Táto práca inšpirovala bádateľov, ktorí o niekoľko rokov neskôr začali skúmať premeny energie pomocou mutantov baktérií. Od svojich počiatkov prinášala podstatné argumenty o správnosti chemi-ozmotickej teórie oxidatívnej fosforylácie. Jej autor Peter Mitchell sa stal v roku 1978 laureátom Nobelovej ceny.

(4) V roku 1968 bolo na katedre pomocou biochemických mutantov zistené, že na vytvorení funkčných mitochondrií spolupracujú produkty jedného génu lokalizovaných priamo v mitochondriách a jedného génu bunkového jadra. Otvorila sa tým cesta k štúdiu mechanizmov **topogenézy**, priestorového preskupovania stavebných komponentov v bunke. V tomto roku bola tiež na katedra vyvinutá metóda synchronizácie delenia kvasinkových buniek, ktorá poskytovala iný originálny prístup k štúdiu topogenézy. Za rozpracovanie teórie topogenézy v sedemdesiatych rokoch a jej experimentálny výskum v nasledujúcich desaťročiach dostal v roku 1999 Guenter Blobel Nobelovu cenu.

(5) Do výskumu topogenézy prispela katedra rozvinutím ďalšieho originálneho prístupu: využitím biochemických mutantov ku skúmaniu **biogenézy membránových lipidov**. Toto zameranie dnes úspešne rozvíjajú žiaci katedry na mimokatedrových pracoviskách. Jeho začiatky však siahajú do prvých rokov existencie pracoviska, keď sa pionierskym spôsobom dokázalo, že lipidové zložené kvasiniek je možno výrazne modifikovať menením metabolických stavov bunky.

(6) Skúmanie syntézy proteínov a nukleových kyselín v mutantoch kvasiniek s defektnými mitochondriami poskytlo v roku 1969 závažné experimentálne doklady pre **symbiotickú teóriu** evolúcie bunkových organel. Podľa tejto teórie predchodcami terajších mitochondrií (a chloroplastov) boli baktérie, ktoré v ranných fázach biologickej evolúcie prenikli do väčších buniek a stali sa ich symbiontami. To viedlo v predposlednej a poslednej dekáde 20. storočia k experimentálnemu preverovaniu symbiotickej teórie vypracovaním terajšími pracovníkmi katedry originálnej metódy medzibunkového prenosu, **transplantácie organel**. Tento smer sa na katedre ďalej rozvíja.

(7) K pochopeniu evolúcie bunkových organel dnes výrazne prispieva výskum na katedre kvasinky *Candida parapsilosis*. Pracovníci katedry zistili, že DNA v mitochondriách tejto kvasinky nie je kruhovou molekulou, ako je to v prípade štandardných pekárskejších a pivných kvasiniek, a ako je tomu aj v prípade ľudských mitochondrií, ale je **lineárna**. Na katedre sa teraz testuje hypotéza premeny kruhových a lineárnych molekúl DNA procesom **evolučnej brikoláže**. Dnes sa svetové laboratória, používajúce kvasinky ako experimentálne bunkové modely, začínajú postupne orientovať na výskum takýchto **neštandardných kvasiniek**. Z katedry však boli už pred tromi desaťročiami uverejnené dve práce, ktoré programovo zaviedli použitie v biochemickom a genetickom výskume neštandardných druhov

kvasiniek. I na tomto príklade je zrejmé, ako výskum na katedre predbiehal bádania, ktoré sa stali bežnými vo svete iba roky alebo desaťročia neskôr.

(8) V snahe pochopiť fundamentálny evolučný prechod od biologického sveta ktorému dominovala RNA k dnešnému svetu, v ktorom sú nositeľmi génov molekuly DNA, skúmajú sa na katedre mechanizmy **redukcie ribonukleotidov** na dezoxyribonukleotidy. Namiesto kvasiniek sa v tomto výskume osvedčili streptomycéty.

Ako je zrejmé z krátkeho prehľadu, na katedre sa dnes na novej úrovni laboratórnych techník pracuje na problémoch, ktoré boli formulované pracovníkmi katedry už v jej počiatkoch. Je tiež zrejmé, že rozhodujúce základy k ich skúmaniu i originálne výsledky, ktoré vzbudili pozornosť vo svete, boli získané v rokoch 1968 a 1969. Ak v roku 1970 bola katedra zlikvidovaná a jej výskum v načatom smere na dve desaťročia prerušený, nemožno vyhnúť záveru, že politické čistky v roku 1970 poslúžili len ako zámienka a sú iba paradigmatickou ukážkou **ničivej tradície rovnostárstva a závesti**, ktorá je smutným znakom slovenského spoločenstva. To, že dnes tú istú štafetu z konca šesťdesiatych rokov nesie na katedre mladá generácia, je nádejou, že táto tradícia na Slovensku končí. Katedra sa programovo snaží podporovať a chrániť výnimočné talenty a pestovať **profesionálny elitizmus**.

2. Zámery a vízie

Výskumná orientácia, vložená do základov katedry v šesťdesiatych rokoch, evolučný prístup a kombinovanie biochémie a genetiky, je nosnou a perspektívnou i na začiatku nového milénia. Pokiaľ ide o chemické disciplíny, koncepcie katedry vo veľkej miere vychádzali z fyzikálnej chémie a tvoria predpoklady pre ďalšie zblíženie s **fyzikálnou chémiou**; ale stále viac aj s fyzikou a informatikou. Pokroky v organickej chémii sú tak závažné, že možno uvažovať o racionálnych syntézach nielen liečiv, ale aj génov, membrán a postupne aj proteínov, ba aj o konštruovaní umelého života spočívajúceho na iných autoreplikujúcich molekulách než sú nukleové kyseliny. Biochémia bude preto poskytovať rozhodujúce impulzy pre ďalší rozvoj **organickej chémie**.

Pred samotnou biochémiou stoja tieto výzvy a takto sa s nimi bude konfrontovať ďalší výskum na Katedre biochémie:

(1) Do rozhodujúcej fázy sa dostáva pochopenie bunkového rastu, delenia, diferenciácie a dediferenciácie. Je podmienkou pre odstránenie, alebo aspoň dokonalé terapeutické zvládnutie, rakoviny. Ukazuje sa, že konce lineárnych molekúl DNA chromozómov, teloméry, hrajú závažnú, možno aj podstatnú rolu v nádorovom zvrhnutí bunky. Preto výskum na katedre lineárnych molekúl DNA v mitochondriách kvasiniek, ukončených telomérmi, molekúl jednoduchších než sú DNA chromozómov, je sľubným, a opäť naprosto originálnym prístupom k **teórii i terapii rakoviny**.

(2) Génom kvasiniek bol vôbec prvý, u ktorého sa podarilo určiť sekvenciu báz v DNA. Dnes sú známe sekvencie DNA desiatok iných organizmov, včítane ľudského. Nastupuje postgénomová éra, v ktorej sa bude skúmať ako relatívne malý počet génov určuje neobmedzený počet vlastností organizmov tým, že gény sú spojené do kontextuálnych sietí a inštrukcie v nich uložené sa realizujú v presne určených časových poradiach. Pre odhalenie základných princípov **kontextuálnej interpretácie génových inštrukcií** je najvhodnejšie štúdium diferenciácie a morfogénzy organizmov. Neštandardné druhy kvasiniek, ale aj streptomycéty, budú na katedre modelovými organizmami štúdia morfogénzy.

(3) V postgénomovej ére do ohniska biochemického výskumu vstupujú namiesto molekúl DNA molekuly proteínov. Na katedre bola pioniersky vypracovaná koncepcia proteínov ako **molekulových motorov**. K jej potvrdeniu treba poznať spôsoby, akým sa z primárnej štruktúry proteínov, zo sekvencií aminokyselín, vytvárajú vyššie, sekundárne a

terciárne štruktúry. Po úspešnej kryštalizácii a určení vyšších štruktúr jedného enzýmu streptomycét bude výskum v tomto smere cielene sledovať vyjasnenie mechaniky a energetiky fungovania proteínov ako enzýmov, translokátorov a receptorov.

(4) Dnes už vari poslednou principiálnou záhadou biológie je konštrukcia a fungovanie nervového systému aj s jeho najkomplexnejšími prejavmi, psychikou. Výskum ľudského mozgu si vyžaduje techniky u nás nedostupné a navyše môže narážať na principiálne konceptuálne bariéry. Preto aj v skúmaní tohoto finálneho problému biológie a biochémie (a pravdepodobne aj chémie a fyziky) budú na katedre využité jednoduché organizmy, počínajúc kvasinkami. Skúmaná budú povrchové i vnútrobunkové receptory kvasinkovej bunky a medzibunková komunikácia kvasiniek v kolóniách. Sekrečné mechanizmy kvasiniek budú modifikované tak, aby kvasinková bunka mohla byť využitá ako model neurónu. Skúmanie evolučných princípov vzniku a fungovania nervového systému a psychiky bude vychádzať z novej koncepcie, vypracovanej na katedre, ktorá nesie názov **kognitívna biológia**.

Práve vyvrcholenie výskumu katedry v kognitívnej biológii je ale dôkazom **neprerušenej kontinuity** vedeckého výskumu katedry: kognitívnu biológiu možno považovať za špecifické rozvinutie bioenergetiky, ale s presahom biochémie nie už iba do chémie a genetiky, ale aj neurobiológie, psychológie a kultúrnych vied.