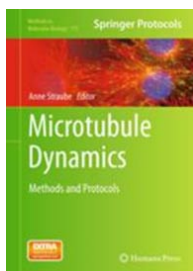


RECENZE



Anne Straube:
**Microtubule Dynamics –
Methods and Protocols**

Vydal Humana Press, New York 2011.
Stran 319, pevná vazba. Cena 94,95
Euro.
ISBN 978-1-61779-251-9

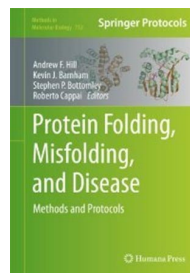
Mikrotubuly jsou jedním ze tří cytoskeletálních systémů. Podílejí se, podobně jako mikrofilamenta, na mnohých buněčných dějích od úderu bičků přes mitotickou segregaci chromozomů a transport vezikul v cytosolu po cílenou buněčnou migraci. Pochopení molekulárních principů regulace dynamiky mikrotubul je tedy nevyhnutelné pro studium téměř všech buněčných procesů. Autoři se pokusili o shrnutí již dříve zavedených jako i nově vyvinutých metod a postupů, které slouží pro výzkum dynamiky mikrotubul *in vitro* nebo v buňce.

První kapitola se v poměrně rozsáhlé rešerši zabývá dynamikou mikrotubul od jejího objevu po nejnovější zjištění, prezentuje zajímavé způsoby vizualizace těchto dějů v *in vitro* systémech jako i v kontextu živé buňky. Poslední část této kapitoly je věnována instrumentaci analýzy, jsou diskutovány parametry vhodné pro co nejlepší popsání dynamiky mikrotubul u divokého typu buněk a případných změn v dynamice mikrotubul mutantů, různých chorobných stavů nebo jako následek vlivu inhibitorů. Druhá až pátá kapitola se zabývá detailním popisem izolace tubulinu z různých zdrojů a s různými posttranslačními modifikacemi. Metody studia dynamiky mikrotubul a jejich interakcí *in vitro* jsou probrány v kapitolách šest až třináct. Následující dvě kapitoly obsahují protokoly pro studium ultrastruktury mikrotubul a s nimi asociovaných proteinů. Kapitoly 16 až 19 nabízejí protokoly pro analýzu nukleace mikrotubul, jejich fluktuace a síly produkce v buňkách. Poslední dvě kapitoly jsou věnovány způsobům izolace proteinů asociovaných s mikrotubuly, regulátorů a jejich interakčních partnerů.

Každá kapitola této publikace obsahuje krátký abstrakt a klíčová slova, přehlednou teoretickou rešerši, seznam materiálů potřebných pro daný experiment, podrobně a přehledně zpracovaný protokol (hodně nápomocné pro experimentátora jsou upozornění na časovou následnost a náročnost přípravy na experiment jako i jeho jednotlivých kroků). Teoretická rešerše a protokoly jsou často doplněny přehlednými a názornými schématy nebo fotografiemi. Na konci každé kapitoly jsou poznámky, které obsahují návrhy alternativ zpracování, pojednávají se zde jejich výhody a nevýhody, dále jsou zde obsaženy praktické rady a postřehy, možné způsoby urychlení nebo zlehčení si některých kroků protokolu.

Publikaci lze doporučit jak již zavedeným laboratorům, tak i kolegům začínajícím svůj výzkum v oblasti dynamiky mikrotubul.

Petra Grznárová



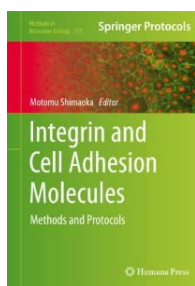
Hill A., Barnham K., Bottomley S., Cappai R. (ed.):
**Protein Folding, Misfolding,
and Disease: Methods and
Protocols (Methods
in Molecular Biology)**

Vydal Humana Press, 2011, vydání
první, 230 stran, pevná vazba,
cena 95 Euro.
ISBN 978-1603272216

V současnosti existuje již více než 20 proteinů, jejichž špatné sbalení může u člověka způsobit onemocnění (amyloidózu). V úvodu se text věnuje technikám rekombinantní produkce správně sbalených proteinů, těžiště knihy však leží v diagnostice a analýze špatně sbalených proteinů do struktury amyloidů.

V úvodních kapitolách podávají autoři seznam víceméně standardních protokolů pro zvýšení množství správně sbaleného proteinu při rekombinantní produkci, ať již v *E. coli* či v bezbuněčném systému, tyto informace jsou doplněny protokoly, umožňující solubilizaci a refolding proteinů z inkluzních tělísek. Několik dalších kapitol se věnuje instrumentaci, používané při studiu sbalení proteinů, čtenář je seznámen se základy využití cirkulárního dichroismu, EPR (electron paramagnetic resonance) spektroskopie a NMR. Jak již bylo řečeno, specializační knihy jsou protokoly zaměřené na detekci a analýzu amyloidních fibril. Jsou popsány metody rentgenové difrakce, NMR, sedimentační analýzy i metody využívající elektronovou mikroskopii. Tyto víceméně tradiční techniky jsou doplněny kapitolou o využití povrchové plasmonové rezonanční spektroskopie, konkrétně při studiu vazby amyloidogenního transthyretinu na membránu na komerčních biosensorech. Poslední kapitolou je potom ukázka, jak může být hmotnostní spektrometrie (konkrétně SELDI TOF) využita při objasnění role kovů při Alzheimerově chorobě. Ač je kniha trochu o něčem jiném, než se zdálo podlé jejího názvu a je hodně zaměřená na využití netriviálně dostupné instrumentace, své čtenáře si jistě najde.

Jan Lipov



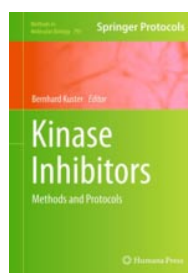
Motomu Shimaoka (ed.):
**Integrin and Cell Adhesion
Molecules: Methods and Protocols**

Vydal Humana Press 2011, 529 stran,
97 obrázků. Cena 124,95 Euro.
ISBN 978-1-61779-165-9

Integriny jsou klíčové molekuly v různých biologických procesech od buněčného růstu a diferenciaci, morfogeneze tkání, imunitní odpovědi, hojení ran až po patologické procesy jako například autoimunitní pochody, trombózy, či progresi nádorových onemocnění k metastáze. S tím souvisí často multidisciplinární přístup k jejich studiu. Kniha „Integrin and Cell Adhesion Molecules: Methods and Protocols“ si klade za cíl poskytnout, kromě základních protokolů pro studium funkce integrinů, i přehled současných technik, používaných pro zodpovězení otázek, týkajících se funkce těchto proteinů v různých úrovních od molekulární a strukturní, přes buněčnou, až po úroveň celého organismu. Kniha je rozdělena do šesti částí, přičemž první je souhrnem protokolů pro studium integrinů *in vitro* od studia buněčné adheze a interakcí, až po použití lentivirových vektorů pro modifikaci buněk, tak aby mohly být studovány různé aspekty funkce integrinů. Část nazvaná „Strukturně biologické přístupy ke studiu integrinů a molekul buněčné adheze“ obsahuje přehled poznatků o strukturní biologii integrinů, možnostech jejich exprese a purifikace, jejich elektron-mikroskopické zobrazování, studium interakcí pomocí NMR a některé metody studia molekul, jako jsou molekulové pinzety či mikroskopie atomárních sil. Třetí část přináší návody pro zobrazování buněčné adheze a migrace například pomocí FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer), či vysokorozlišovací fluorescenční mikroskopii. Další část, pojednávající o signalizaci zprostředkované integriny, uvádí na některých specifických případech obecně použitelné metody, včetně proteomických přístupů. Pátá část se soustředí na buněčnou adhezi a migraci na úrovni modelových organismů tj. myši a hlenky (*Dictyostelium discoideum*). Závěrečná část ukazuje možnosti využití integrinů pro diagnostické a terapeutické účely.

Kniha „Integrin and Cell Adhesion Molecules: Methods and Protocols“ je vyčerpávajícím přehledem této problematiky. Předpokládám, že splní svůj cíl, deklarovaný na obalu, tj. poskytnout cenné a rozsáhlé informace jak expertům, orientovaným na integriny, tak začátečnickům v této oblasti.

Tomáš Ruml



Bernhard Kuster (ed.):
**Kinase Inhibitors: Methods and
Protocols**

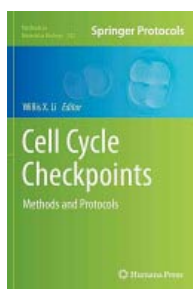
Vydal Humana Press 2011, 1. vydání,
256 stran, 47 obrázků,
cena 94,95 Euro.
ISBN 978-1-61779-336-3

Kinasy, fosforylující proteiny a lipidy, jsou významné regulátory buněčného cyklu a řady dalších klíčových pochodů v eukaryotických buňkách. V lidském genomu bylo identifikováno více než pět set genů, kódujících kinasy, přičemž mutace řady z nich způsobují vážné změny; například vznik a rozvoj některých onemocnění; zejména rakoviny, autoimunitních a jiných, zánětlivých onemocnění. Tím se stávají kinasy zajímavým terapeutickým cílem a řada farmaceutických společností se zabývá vývojem a testováním inhibitorů kinas. První dvě kapitoly knihy uvádějí čtenáře do problematiky a poskytují dobrý přehled o současném stavu vývoje inhibitorů kinas určených pro terapii rakoviny a zánětlivých onemocnění. Nejedná se o pouhý přehled látek, ale je zde vysvětlen i způsob jejich vazby do vazebného místa pro ATP, využívaného jako zdroj fosfátu pro fosforylaci. Jsou zmíněny i o nové přístupy k hledání inhibitorů a negativní aspekt dlouhodobé aplikace kinas, tj. vývoj rezistence. Několik kapitol je věnováno problému specifity, neboť řada inhibitorů je schopna inhibovat více kinas. V některých případech může být tento jev výhodný (inhibice více kinas stimulujících buněčnou proliferaci zároveň), ale obecně je spíše problémem, zejména při dlouhodobé aplikaci.

Jsou zde podrobné protokoly pro identifikaci a izolaci kinas, založené na jejich prokřížení s inhibitorem, afinitní chromatografii na nosiči s navázaným substrátem, nebo jiné separaci po vazbě inhibitoru, ať v přímém nebo kompetitivním uspořádání. Jedna z metod např. popisuje kompetitivní stanovení afinity kinas k inhibitorům, za použití známého, méně specifického inhibitoru současně s testovanou látkou a následné proteomické analýzy. Kniha neopomíná ani důležité aspekty hepatotoxicity inhibitorů a způsob jejího testování s použitím primární kultury hepatocytů, dále možnosti studia vzniku rezistence v modelovém uspořádání, či sledování odezvy fosfoproteomu na působení inhibitorů.

Problematika inhibitorů kinas je natolik široká, že není možné ji pokrýt, byť jen v průřezu, celou. Vybrané kapitoly mají dát návod k provedení některých moderních metod. Případný zájemce o knihu, by měl zvážit, zda je výběr několika kapitol, jejichž seznam lze nalézt na internetu, pro jeho práci vhodný. Pokud ano, mohla by tato kniha být dobrým pomocníkem, neboť všechny protokoly jsou poměrně detailně zpracovány.

Tomáš Ruml



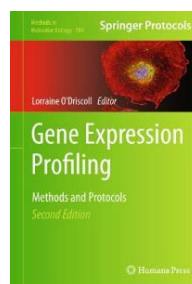
Willis X. Li (ed.):
**Cell Cycle Checkpoints:
Methods and Protocols**

Vydal Humana Press 2011, 307 str.,
94,95 Euro.

Důležitým molekulárním mechanismem buněčného cyklu jsou tzv. kontrolní body, které zajišťují bezchybné dělení. Tyto kontrolní body ověřují, přesnost předchozích procesů buněčného cyklu eukaryotických buněk a rozhodují o tom, zda buňka postoupí do další fáze dělení. Řada z těchto mechanismů je zaměřena na kontrolu integrity genomu. Pokud je detekováno poškození genomu, jsou indukovány signální mechanismy, blokující progresi buněčného cyklu a v případě rozsáhlého poškození je buňka vedena k apoptose. Kniha „Cell Cycle Checkpoints: Methods and Protocols“ přináší popis vybraných metod, zavedených pro běžně používané modelové systémy, tj. kvasinky *Schizosaccharomyces pombe* a *Saccharomyces cerevisiae*; háďátka (*Caenorhabditis elegans*) a mušku, octomilku obecnou (*Drosophila melanogaster*). Jako modely obratlovců zde slouží myši oocyty a bezbuněčné extrakty žáby, *Xenopus laevis*, které umožňují zaměřit se např. na roli jednotlivých klíčových proteinů po jejich imunodepleci. Jednotlivé kapitoly obsahují krátký obecný úvod, následovaný detailním protokolem celého postupu od kultivace buněk a jejich synchronizace, způsobu poškození, vedoucího k indukci kontrolních bodů a možnosti identifikace jejich aktivace. Kniha ukazuje různé přístupy ke studiu kontrolních bodů; stanovením aktivity kinas. Řada protokolů je založena na finálním měření poškození DNA průtokovou cytometrií. Pro kvasinkové buňky lze použít např. zde popsané měření velikosti buněk centrifugační elutriací (rozdělení podle rychlosti sedimentace).

Kontrolní body buněčného cyklu jsou předmětem zájmu rozsáhlé vědecké komunity, zabývající se jak základním výzkumem mechanismů regulujících buněčný cyklus, tak i související problematikou, tj. podstatou vzniku rakoviny či účinkem léků cílených na inhibici kontrolních bodů buněčného cyklu. Proto lze očekávat, že by si kniha, která poskytuje detailní protokoly, mohla najít čtenářskou základnu zejména mezi nováčky hledajícími orientaci v této oblasti, jak ostatně naznačují i sami autoři. I když je nutno konstatovat, že pro splnění tohoto cíle by měla být zpracována systematictěji. Není totiž zdaleka vyčerpávajícím přehledem, poskytujícím porovnání jednotlivých metod a možností jejich aplikace, ale spíše souborem vybraných metod v této oblasti. U takto rozsáhlé problematiky by pravděpodobně bylo vhodné zaměřit se spíše na vybranou oblast nebo experimentální model.

Tomáš Ruml



Lorraine O'Driscoll (ed.):
**Gene expression profiling:
Methods and Protocols**

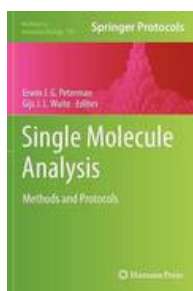
Vydal Humana Press 2011, 94,95 Euro.

Hromadná analýza genové exprese se stává neocenitelnou metodou, která nachází uplatnění zejména v diagnostice a molekulární biologii. Umožňuje získat informaci o celkovém stavu buňky, či např. její reakci na působení různých faktorů. Na úrovni celého organismu lze na základě této analýzy indikovat například typ některých onemocnění nebo reakci pacienta na léčbu.

V knize „Gene Expression Profiling: Methods and Protocols“, která vychází již ve druhém vydání, jsou popsány jak obecně použitelné základní metody pro studium genové exprese ve velkém formátu, tak některé speciální aplikace. Kniha poskytuje detailní protokoly pro řadu, v současnosti dostupných, metod analýzy exprese genů na úrovni DNA, RNA i proteinů. Úvodní kapitola je věnována analýze mRNA reverzně transkripční polymerázovou řetězovou reakcí (PCR) v uspořádání multiplex pro porovnání exprese tumor-asociovaného genu v buněčných liniích a tkáních. Další kapitoly pojednávají o PCR analýze miRNA, extracelulární mRNA, nebo mRNA cirkulujících buněk, indukujících nádory. Je zde uveden i protokol izolace exosomů pro následnou analýzu mRNA nebo miRNA. Tyto metody, jichž je možné využít pro včasnou diagnostiku rakoviny, jsou rozebrány od přípravy vzorků až po analýzu např. použitím mikročipů v běžném formátu, či WG-DASL (WG – whole genome; DASL – cDNA-mediated annealing, selection, extension and ligation) analýzu exprese ve formaldehydem fixovaných řezech tkání. Kapitoly zaměřené na analýzu proteinů obsahují návody pro studium tyrosin kinas pomocí western blotu, proteomickou analýzu sestávající z 2D gelové elektroforézy ve spojení s hmotnostní spektrometrií, přípravu a analýzu buněčných a tkáňových mikročipů a možnosti imunohistochemické a imunofluorescenční analýzy proteinů. Dvě, tematicky poněkud vzdálenější ostatním, jsou kapitoly popisující fluorescenční mikroskopii a mikroskopii atomárních sil.

Kniha „Gene Expression Profiling: Methods and Protocols“ je souborem kapitol, poskytujících detailní návody pro některé techniky této široké problematiky. Kniha sice může posloužit pracovníkům, hledajícím orientaci v tomto rychle se rozvíjejícím poli výzkumu, ale působí poněkud neuceleně a dává jen kusou informaci o tomto širokém spektru technik.

Tomáš Ruml



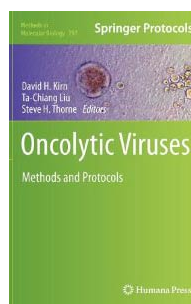
Erwin J. G. Peterman,
Gijs J. L. Wuite:
**Single Molecule Analysis:
Methods and Protocols**

Vydal Humana Press 2011, 327 str.,
94,95 Euro.
ISBN 978-1-61779-281-6

Zobrazování biomolekul v buňkách se stalo nevyhnutelným při studiu procesů buněčných procesů, jako jsou molekulární interakce a transport, reakce buněk na stres jak environmentální, tak např. způsobené patogeny. Kniha se tedy věnuje velmi aktuální problematice a ve svých kapitolách přináší recentní informace. Samozřejmě kniha tohoto rozsahu (327 stran) nemůže přinést vyčerpávající přehled všech metod na tomto poli, což sami autoři v úvodu konstatují. Proto je možná škoda, že se nesoustředili pouze na hlubší rozpracování některé z tématik např. fluorescenční mikroskopie, mikroskopie atomárních sil nebo optické pinzety. Způsobem zpracování je tedy tato kniha, na rozdíl od řady dalších stejné série, spíše souborem různých metod. Ani tady však nechybí pro každou kapitolu dobře zpracovaný teoretický úvod, následovaný návodem k provedení příslušné metody. Přehledy literatury jsou převážně z poslední dekády a tak mohou vést k případnému doplnění nutných informací. Vybrané metody jsou zaměřeny na biologicky relevantní molekuly, jako DNA, DNA-vazebné proteiny a proteiny molekulových motorů. Úvodní část, věnovaná optickým pinzetám, sestává ze čtyř kapitol. První z nich popisuje principy, používaných systémů, možnosti aplikací a jejich technická provedení. V dalších dvou kapitolách jsou prezentovány metody práce s RNA a DNA. Závěrečná kapitola této části přináší protokol použití optických pinzet pro studium funkce dyneinového molekulového motoru v nanometrovém měřítku. Druhá část, věnovaná fluorescenčním metodám, obsahuje obecnější kapitoly zaměřené na přehled metod, způsobů fluorescenčního značení proteinů a teoretické základy fluorescenční korelační mikroskopie. Dále následují specializované kapitoly podávající návod na zobrazování kinesinových motorů, strukturu a dynamiku bakteriálních buněk a studium jednotlivých molekul DNA, natažených v nanotrubičkách. Část zabývající se mikroskopií atomárních sil popisuje, kromě principu techniky, také způsob přípravy vzorků, možnosti použití metody pro studium skládání proteinů a povrchových vlastností virů. Dále je popsána možnost studia topologie DNA magnetickou pinzetou.

Kniha „Single Molecule Analysis: Methods and Protocols“ tak poskytuje dobrý, i když ne vyčerpávající přehled o možnostech analýzy biomolekul. Kniha si klade za cíl informovat vědce o metodických možnostech interdisciplinárního výzkumu pohybujícího se na hranici molekulární biofyziky, biochemie a molekulární buněčné biologie. Dá se říci, že tento cíl byl z převážné části splněn.

Tomáš Ruml



David H. Kirn, Ta-Chiang
Liu, Stephen H. Thorne (ed.):
**Oncolytic Viruses: Methods
and Protocols**

Vydal Humana Press 2012, 241 stran,
35 ilustrací, cena 94,95 Euro.
ISBN 978-1-61779-339-4

Onkolytické viry jsou, vzhledem ke své schopnosti cíleně napadat nádorové buňky, perspektivním nástrojem pro léčbu rakoviny. Prostřednictvím virů upravených jako vektory může být dosaženo jak likvidace buňky, tak cílené změny vedoucí k zastavení buněčné proliferace (růstu nádorů). Dalším cílem může být modifikace virů pro jejich využití k zobrazování nádorů.

Kniha „Oncolytic Viruses: Methods and Protocols“ je souborem metod zaměřených na konstrukci onkolytických virů např. metodou homologní rekombinace. Jsou zde detailně popsány metody jejich propagace a purifikace. Onkolytické viry jsou připravovány na bázi různých rodů virů, jako je adenovirus, herpes simplex virus, vesicular stomatitis virus, virus newcastleské nemoci, virus spalniček, vakcinia virus či onkolytický reovirus. Jsou zde uvedeny protokoly pro použití modelů vhodných pro studium působení onkolytických virů; jedná se o křečka zlatého a explantát lidského nádoru. Kapitoly věnované zobrazování nádorů jsou zaměřeny na aplikaci luciferázy a *in vivo* pozitronové emisní tomografie s využitím symportéru pro jodid sodný, jako reportéru. Zajímavou možností je i použití neuronových zárodečných buněk, infikovaných onkovirem, jako nosiče pro cílení do mozkového nádoru. Tento přístup by měl „zamaskovat“ onkovirus, a tak jej ochránit před imunitní odpovědí.

Kniha „Oncolytic Viruses: Methods and Protocols“ je spíše než vyčerpávajícím přehledem této problematiky, souborem vybraných metod pro přípravu a testování onkolytických virů. Nejsem si jist, zda zcela splní svůj cíl, deklarovaný na zadní straně obalu, tj. posloužit kromě expertů také začátečníkům v tomto oboru. Pro prvně jmenované může však být přínosem nejen pro svoji aktuálnost a poměrně recentní data (soudě dle uvedených citací), ale zejména, protože zde čtenáři naleznou cenné rady a detailně rozpracované protokoly.

Tomáš Ruml