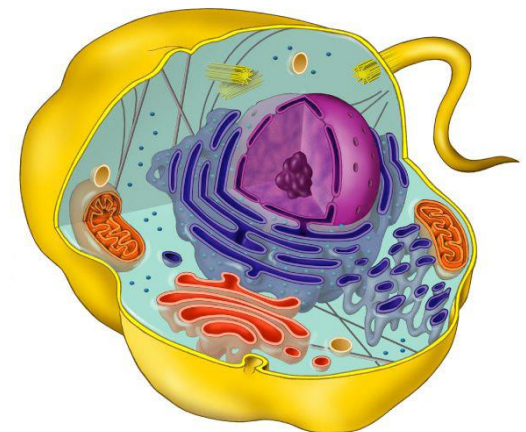


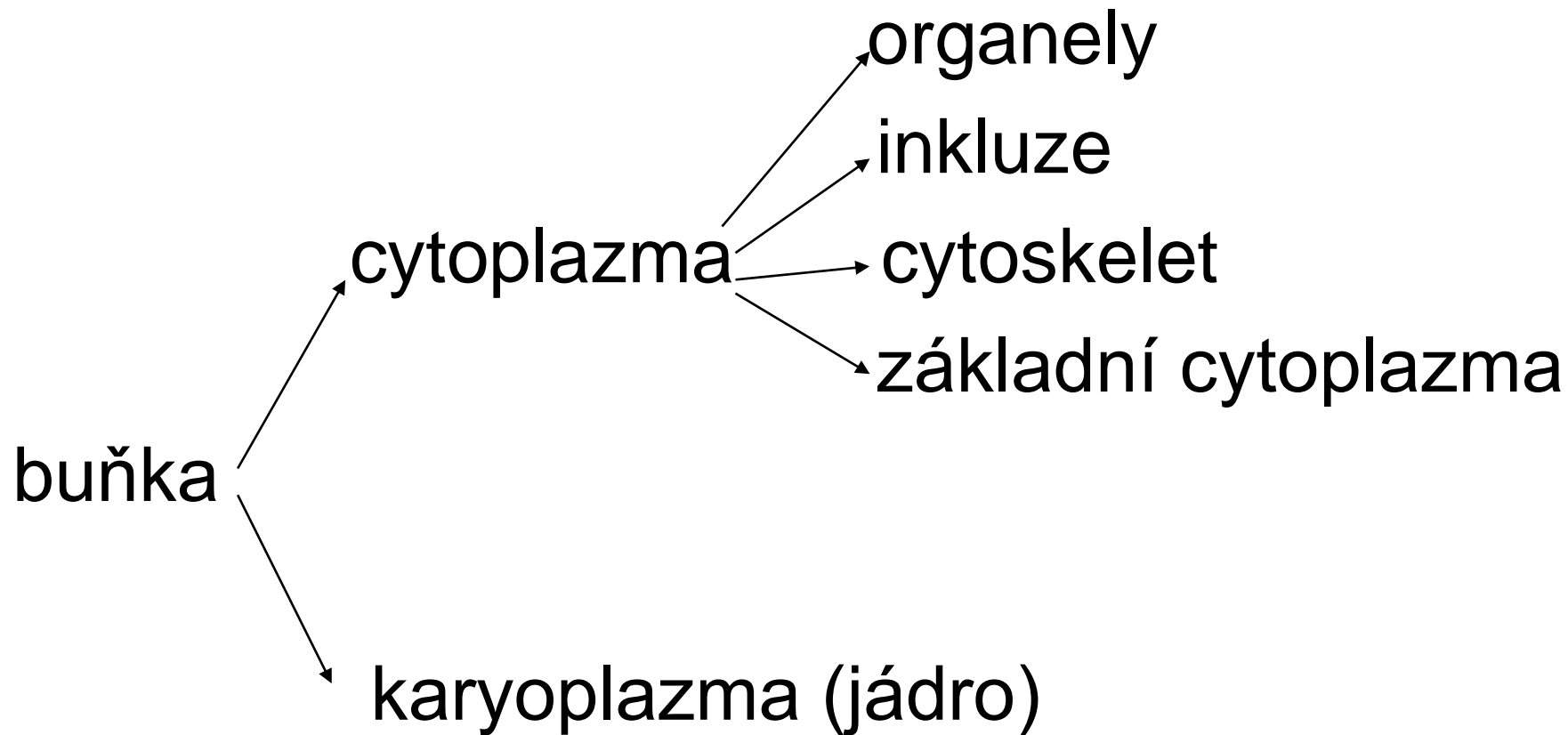
# Cytologie 2

Aleš Hampl

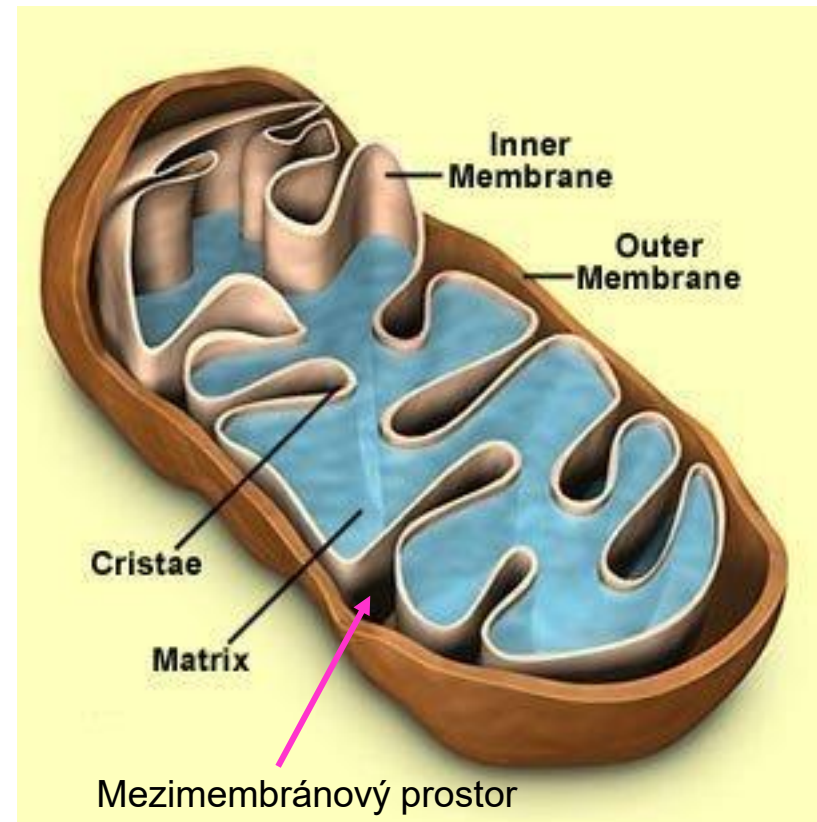
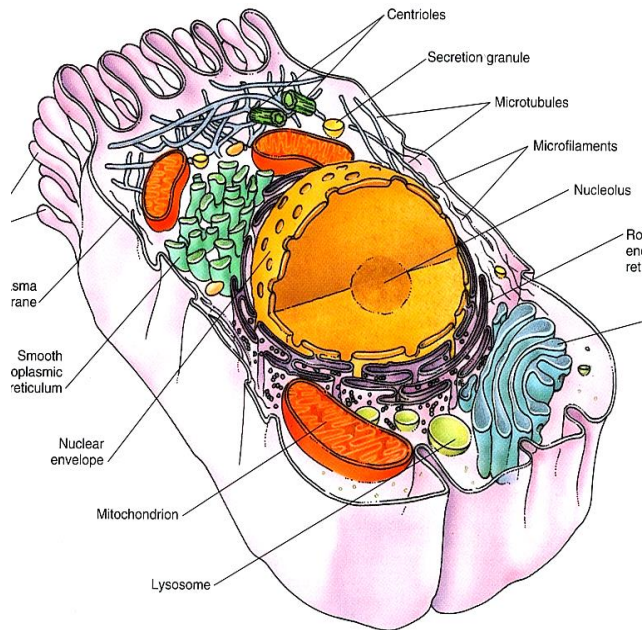
2019



- Mitochondrie
- Lyzosomy + Peroxisomy
- Buněčné inkluze
- Cytoskelet
- Úprava buněčného povrchu
- Buněčný cyklus, dělení buňky a diferenciacce buněk



# Mitochondrie 1



- ve všech buňkách vyjma erytrocytů
- dvojmembrána
- průměr cca 0,5  $\mu\text{m}$
- délka až 20  $\mu\text{m}$
- oxidativní metabolismus (glukóza – ATP + CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O)
- cytochrom c – aktivace apoptické dráhy
- původ ve vajíčku
- mtDNA (cirkulární)
- hnědá tuková tkáň – produkce tepla

- obě membrány s nízkou fluiditou
- obě membrány osazeny mnoha proteiny
- růst a dělení mitochondrií

## Mitochondrie 2

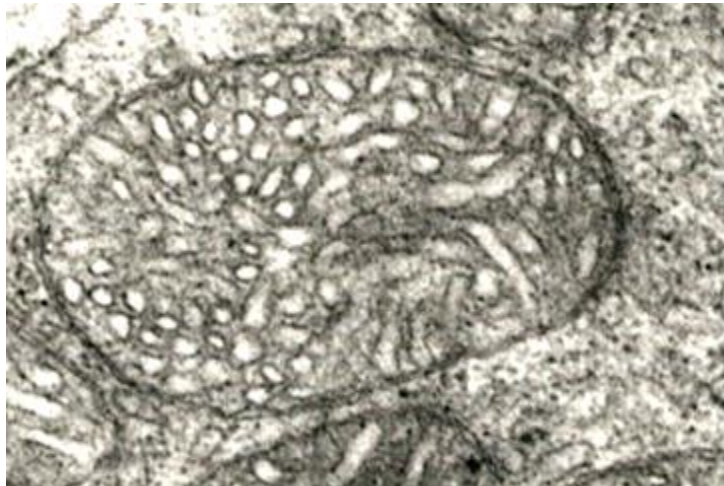


# Mitochondrie 3

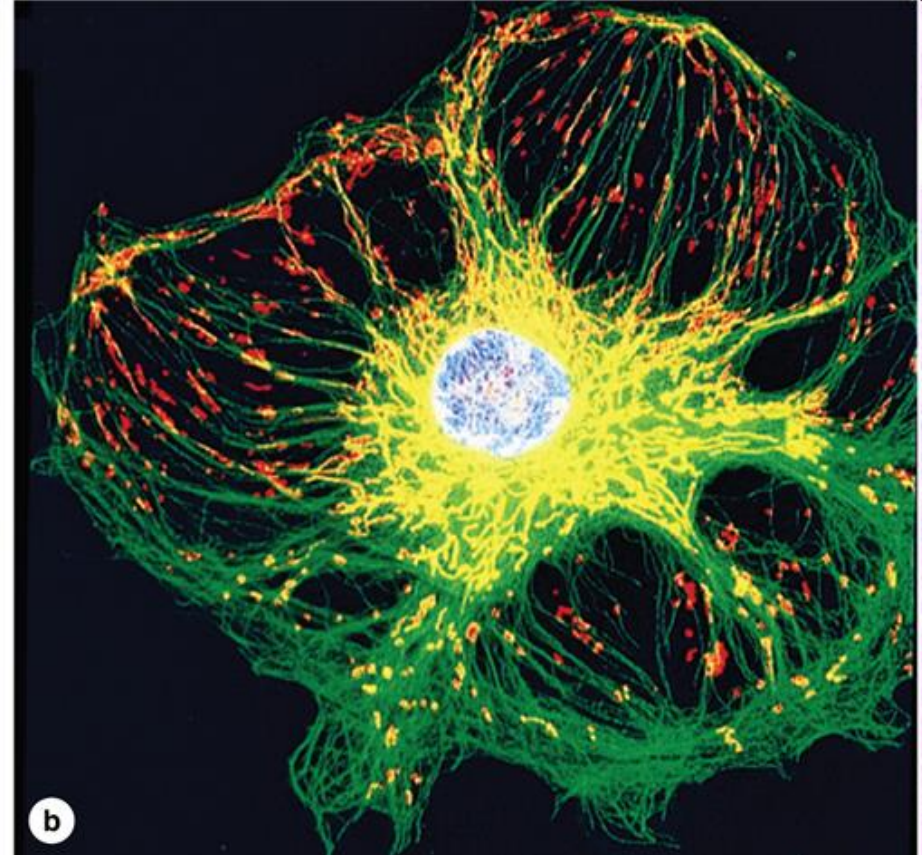
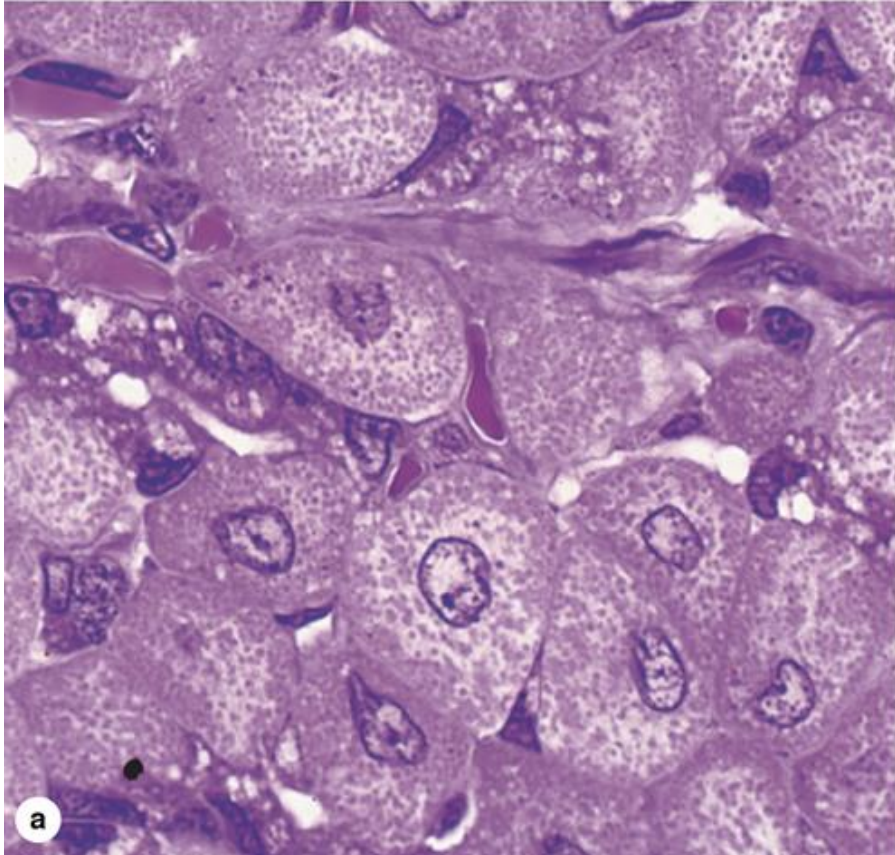
s kristami



s tubuly (v endokrinních steroidy produkujících buňkách)



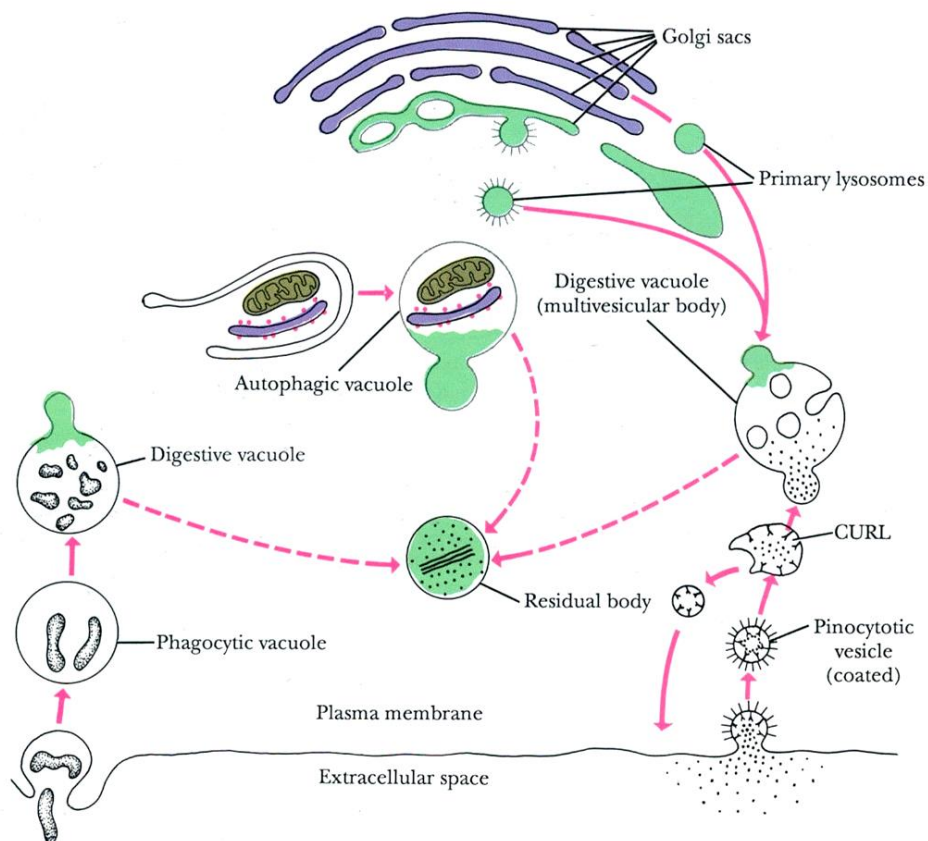
# Mitochondrie 4



mitochondrie  
mikrotubuly

# Lyzosomy 1

## endozomo-lyzosomový systém



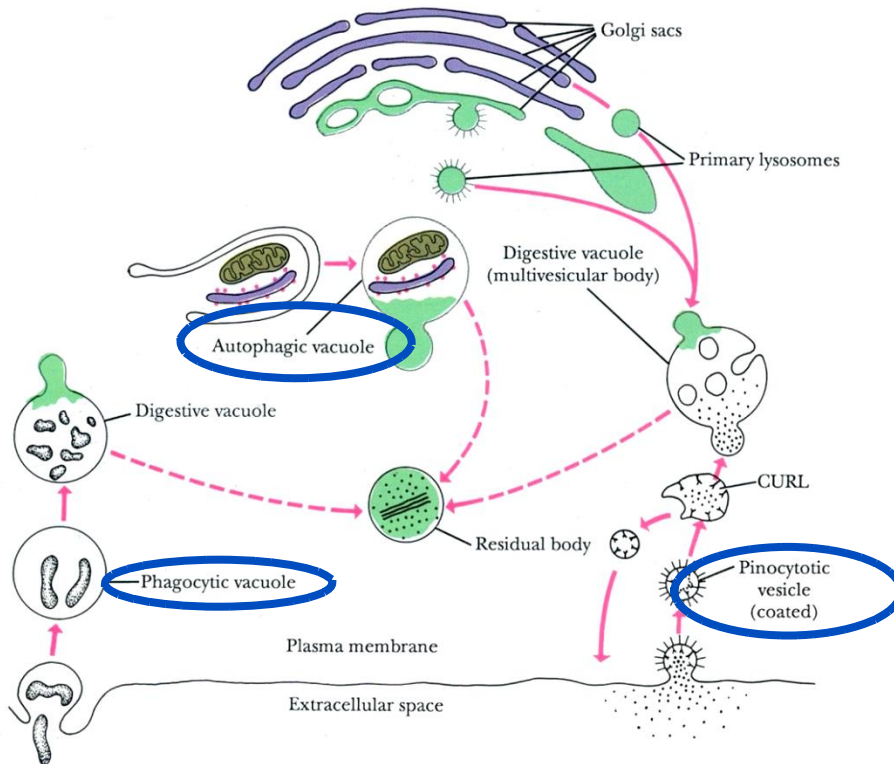
- ve všech buňkách vyjma erytrocytů
- váčky cca 0,05 – 0,5  $\mu\text{m}$
- obdány membránou
- uvnitř kyselé prostředí (cca pH 5)
- uvnitř enzymy (min. 50 typů)
- označení manózo-6-fosfátem

**Figure 2.17.** Origins of primary lysosomes from the Golgi and trans-Golgi network. Primary lysosomes fuse with and discharge hydrolytic enzymes into autophagic, pinocytotic (or endosome), and phagocytic vacuoles to form secondary lysosomes (digestive vacuoles). Residual bodies contain undigested residue. Endosomes fuse to form a compartment where uncoupling of the ligands and surface receptors occurs (CURL, see text for explanation). The compartment containing the free ligands subsequently fuses with the lysosome; the receptors remain bound to the membrane of vesicles which is partitioned off from the CURL and recycle to the plasma membrane. (Modified from Novikoff AB, Holtzman E: *Cells and Organelles*, 2nd ed. New York, Holt, Rinehart and Winston, 1976.)



# Lyzosomy 2

## primární x sekundární

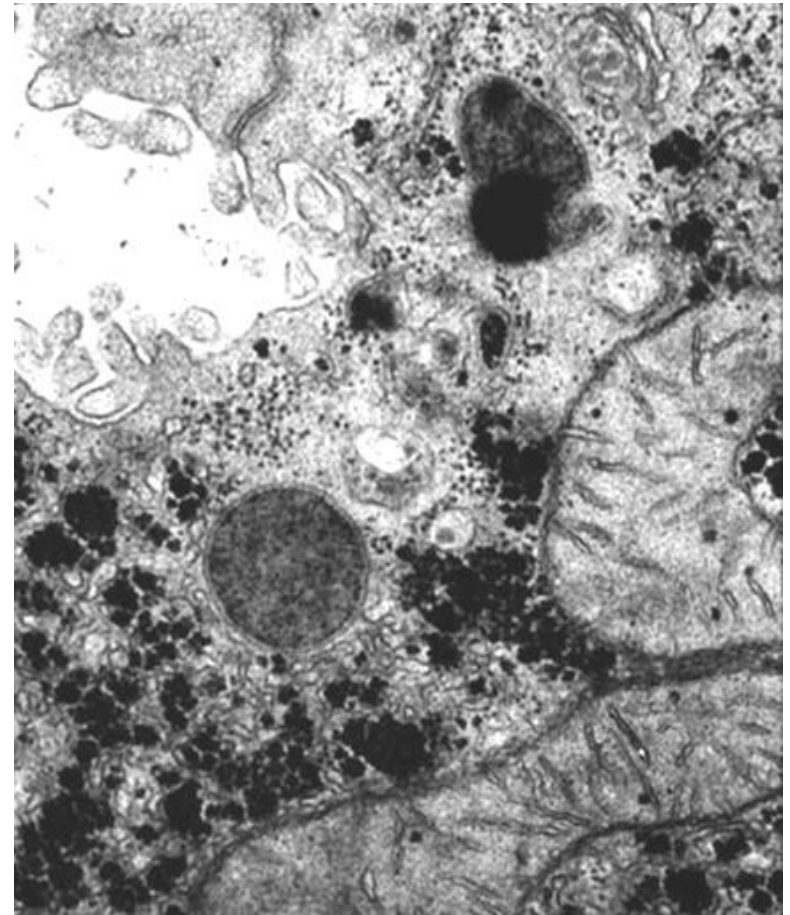
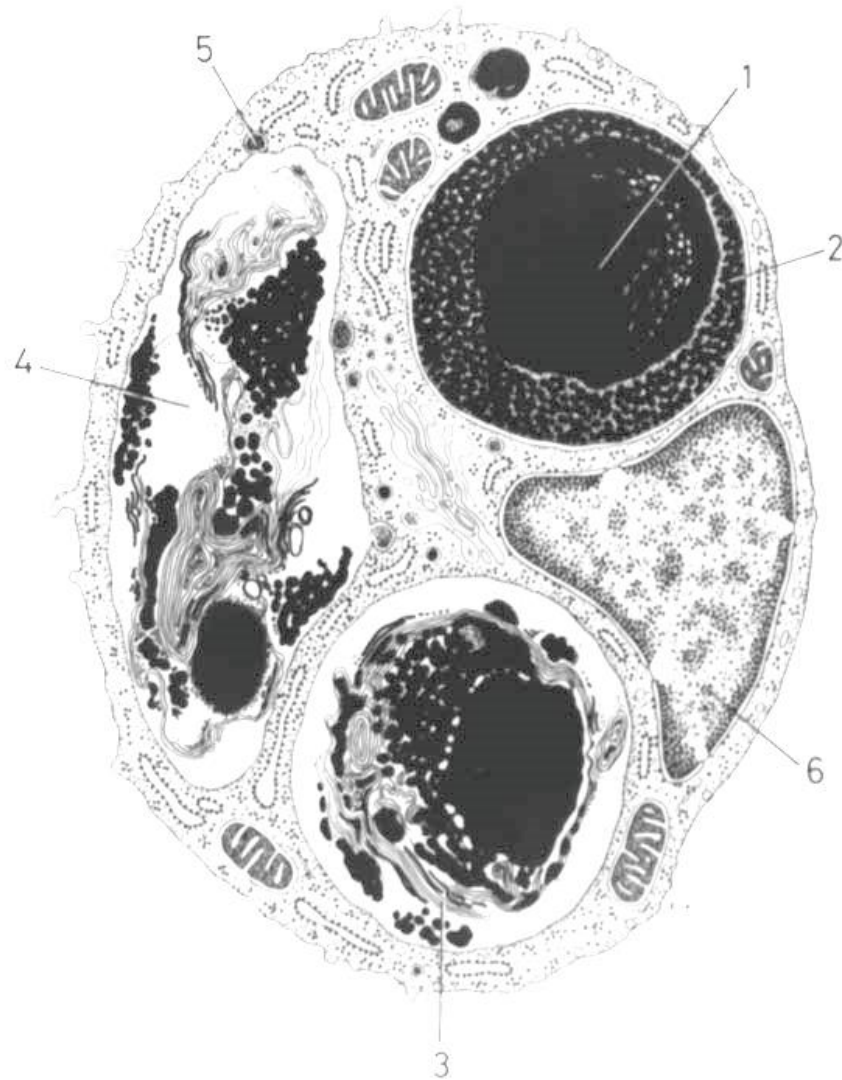


- primární
- sekundární (fagolizosomy a autofagické vakuoly)
- reziduální tělíska (lipofuscin)

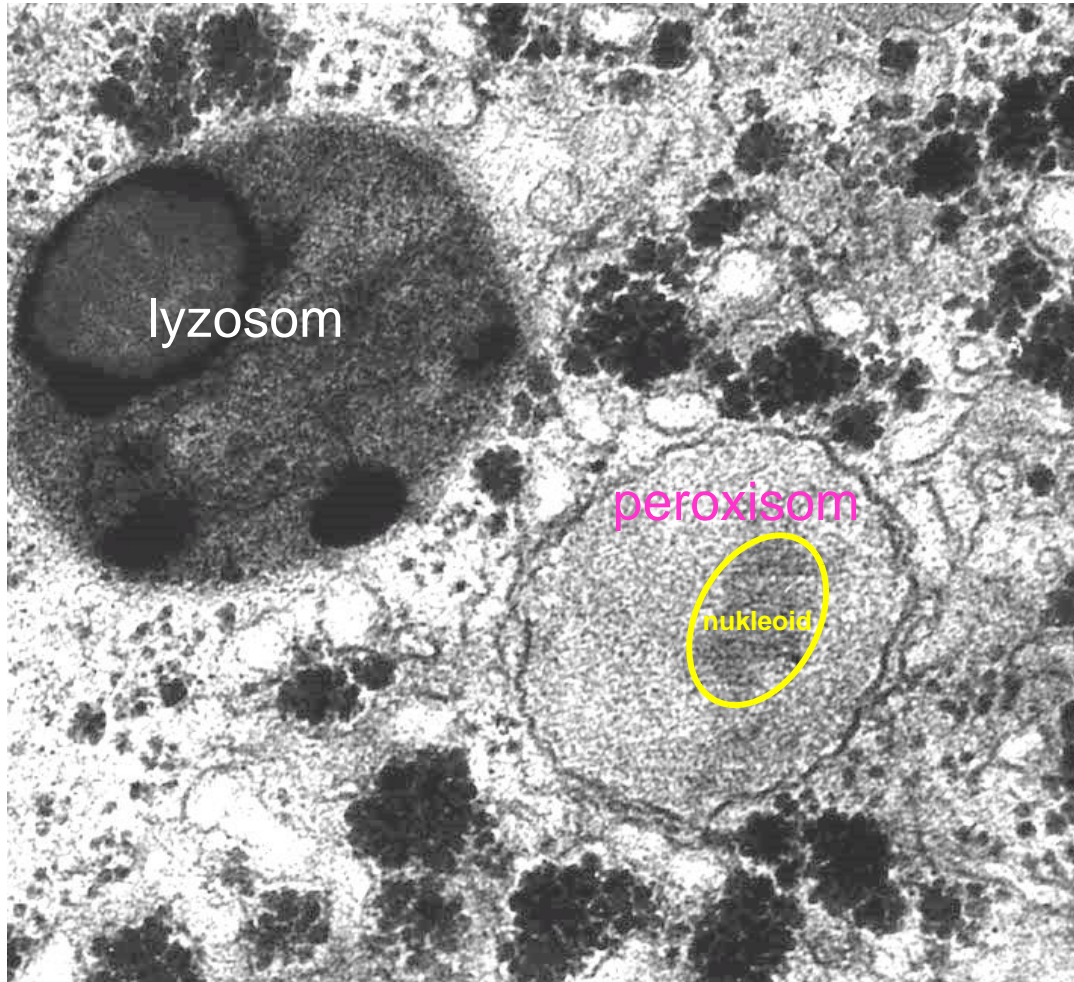
**Figure 2.17.** Origins of primary lysosomes from the Golgi and trans-Golgi network. Primary lysosomes fuse with and discharge hydrolytic enzymes into autophagic, pinocytotic (or endosome), and phagocytic vacuoles to form secondary lysosomes (digestive vacuoles). Residual bodies contain undigested residue. Endosomes fuse to form a compartment where uncoupling of the ligands and surface receptors occurs (CURL, see text for explanation). The compartment containing the free ligands subsequently fuses with the lysosome; the receptors remain bound to the membrane of vesicles which is partitioned off from the CURL and recycle to the plasma membrane. (Modified from Novikoff AB, Holtzman E: *Cells and Organelles*, 2nd ed. New York, Holt, Rinehart and Winston, 1976.)

# Lyzosomy 3

sekundární lyzozomy



# Peroxisomy



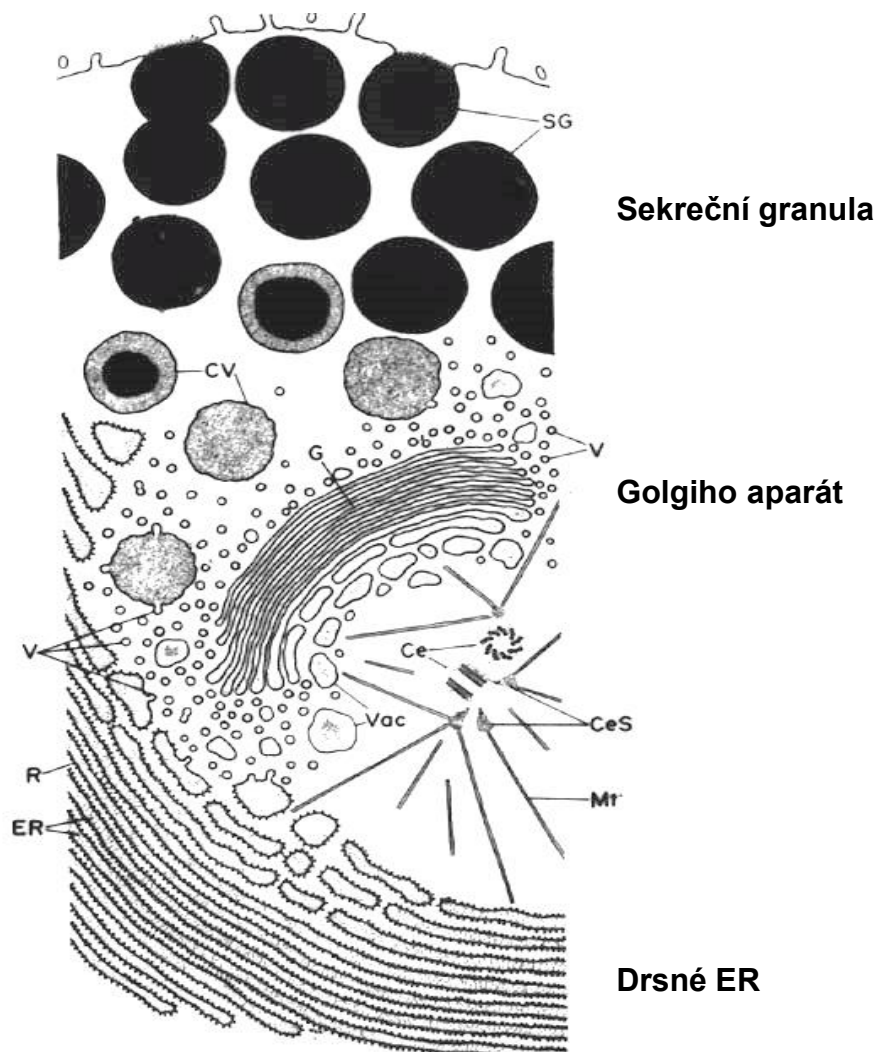
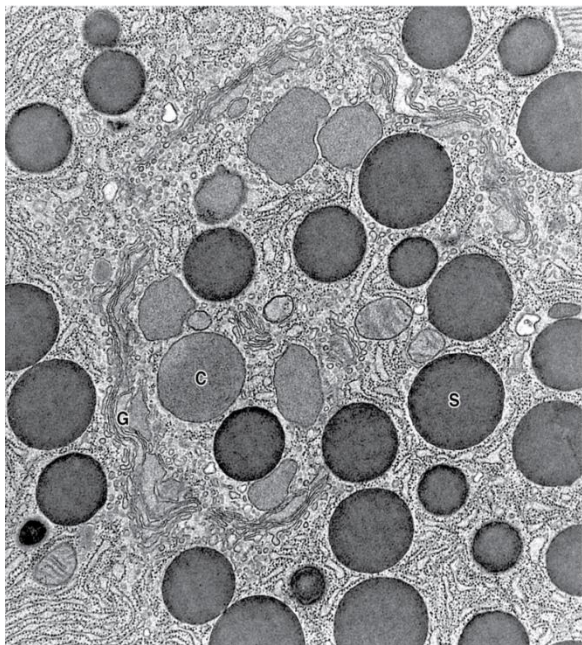
- strukturně podobné lyzozomům
- průměr cca 1  $\mu\text{m}$
- funkčně příbuzné mitochondriím
- „jádro“ = nukleoid
- odbourávání mastných kyselin ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{O}_2$ )
- detoxifikace (doplňují funkce SER)
- vznik: pučení z ER nebo dělení

# Buněčné (cytoplazmatické) inkluze 1

- **sekreční granula**
- **zásobní látky:** cukry (glykogen), tuky
- **krystaly** (bílkoviny)
- **pigmenty:** endogenní (autogenní a hematogenní) + exogenní

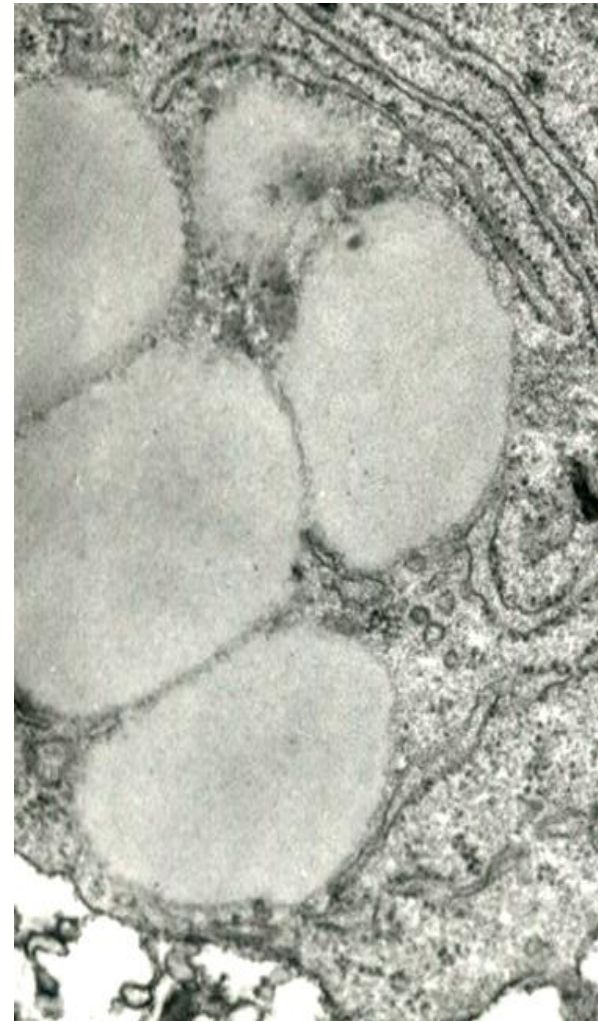
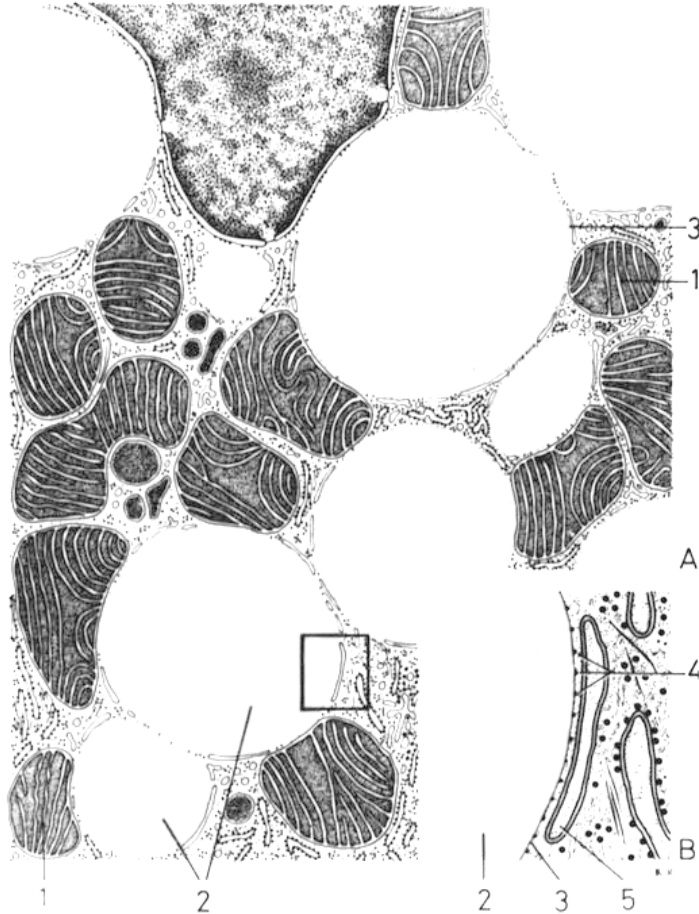
# Buněčné (cytoplazmatické) inkluze 2

## Sekreční granula



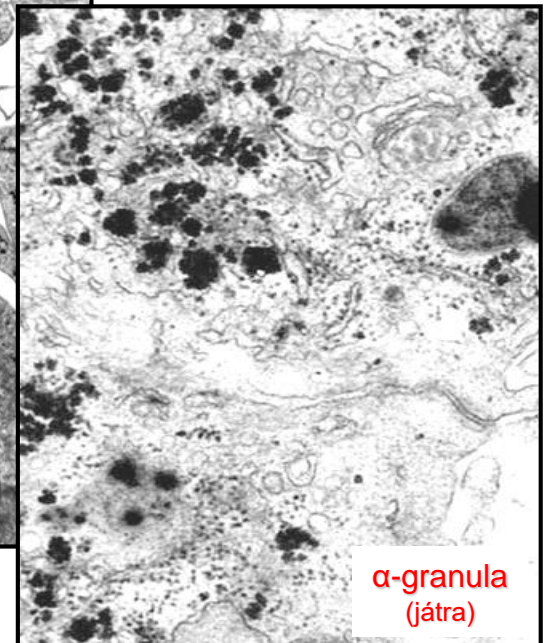
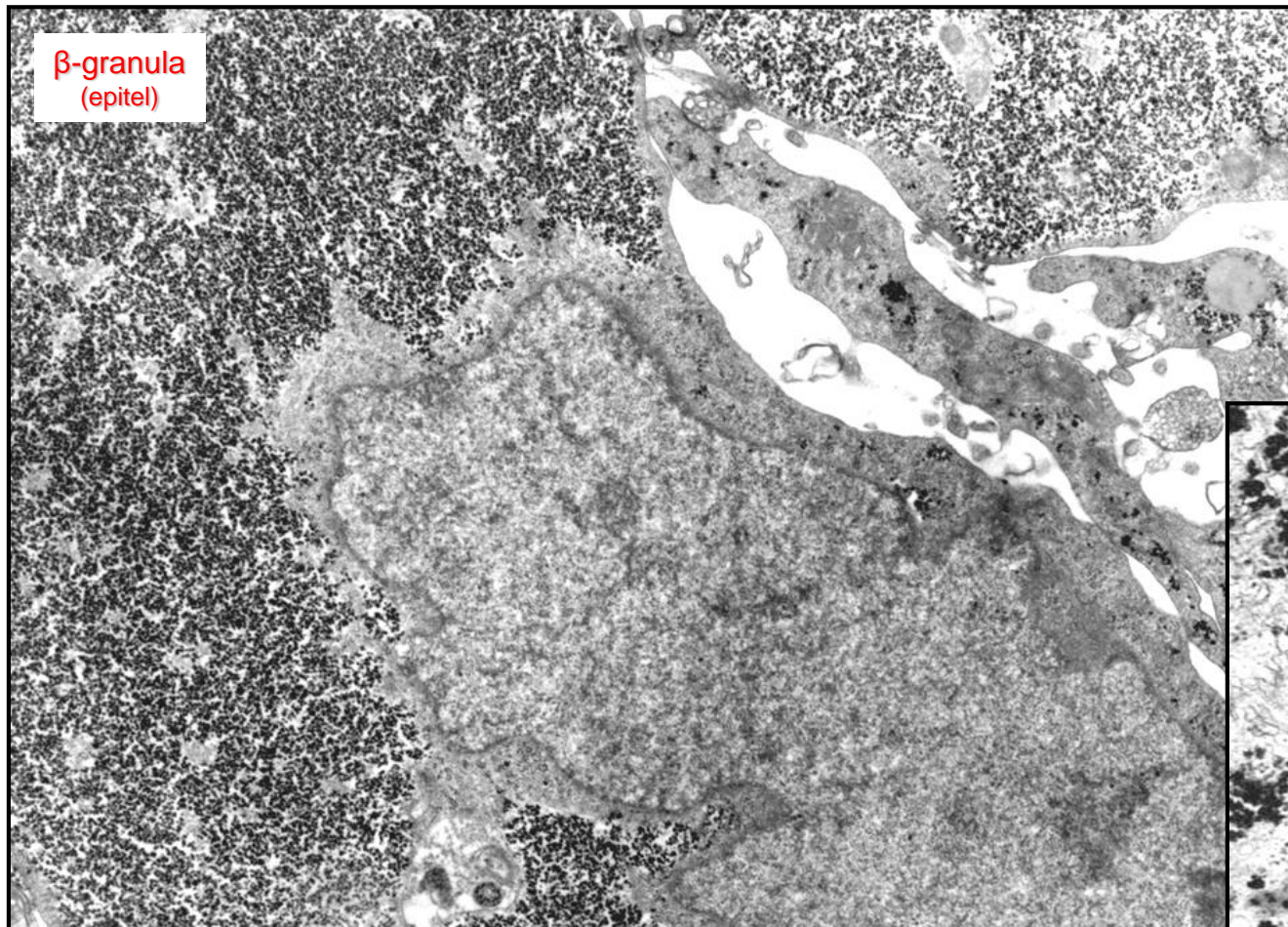
# Buněčné (cytoplazmatické) inkluze 3

## Lipidové inkluze



# Buněčné (cytoplazmatické) inkluze 4

## Glykogen



# Buněčné (cytoplazmatické) inkluze 5

## Glykogen

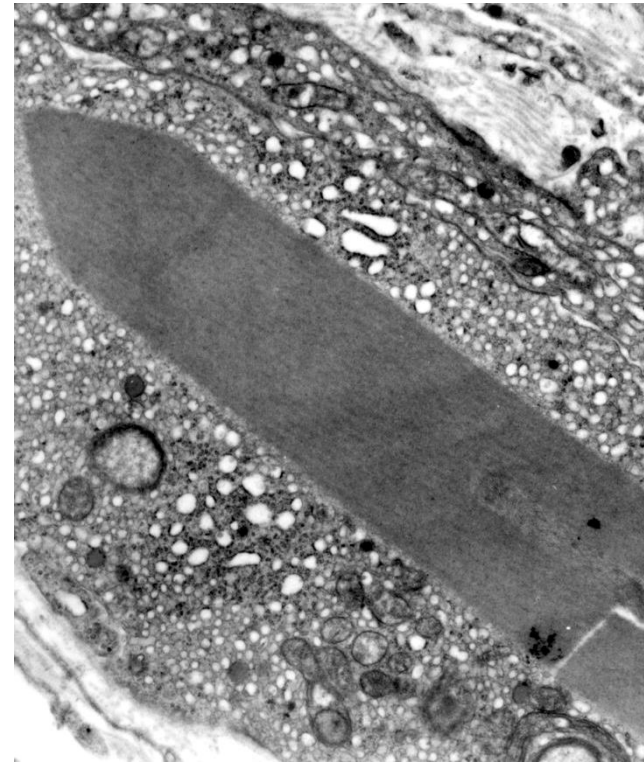
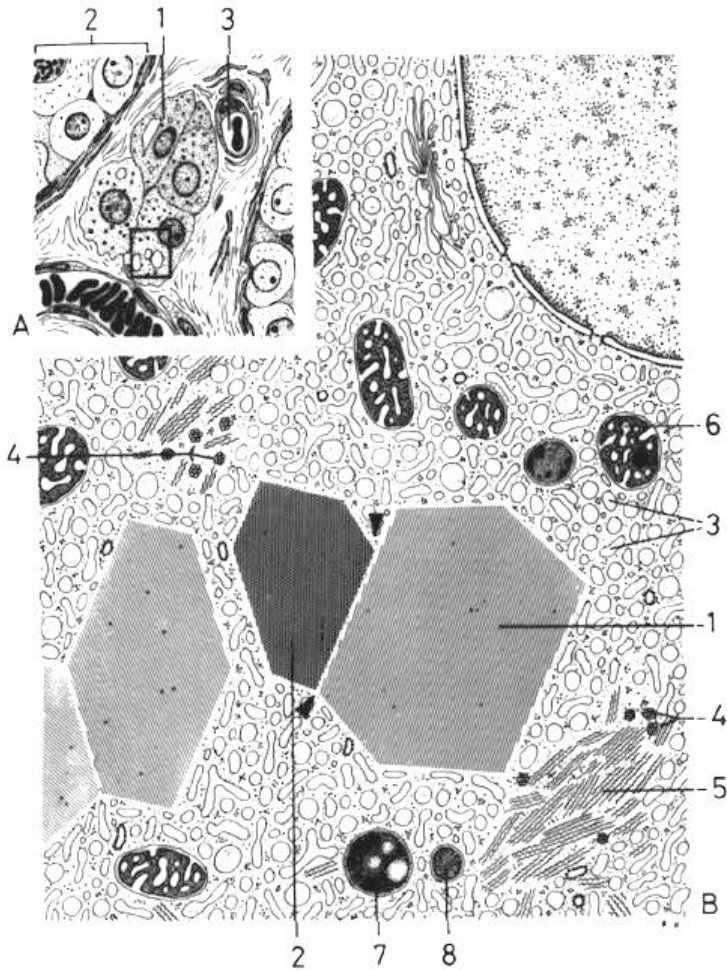


Glykogen v buňkách jater (světelný mikroskop; periodic acid-Schiff reakce)



# Buněčné (cytoplazmatické) inkluze 6

## Krystaly



Bílkovinné inkluze v Leydigových buňkách

# Buněčné (cytoplazmatické) inkluze 7

## Pigmenty (barevné inkluze): Exogenní x Endogenní

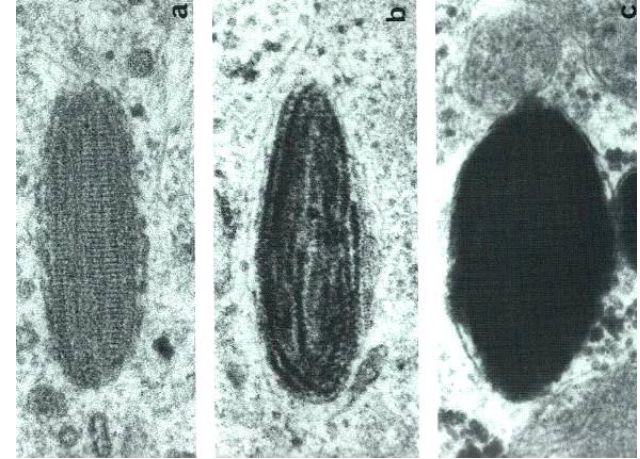
- **Autogenní**

Specifické funkce – **melanin**



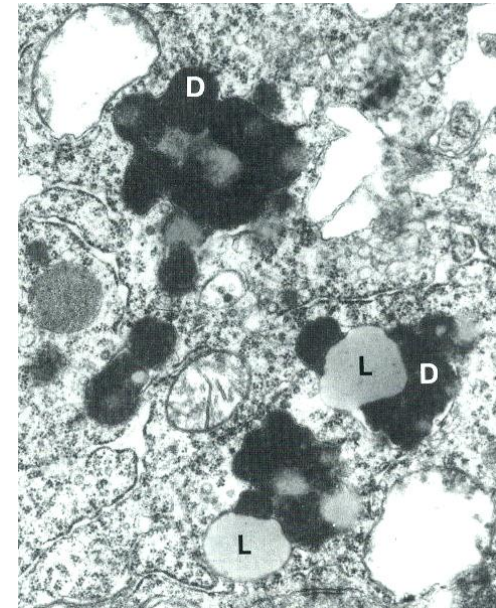
- **Hematogenní**

Rozklad hemoglobinu – **hemosiderin, biliverdin, bilirubin**

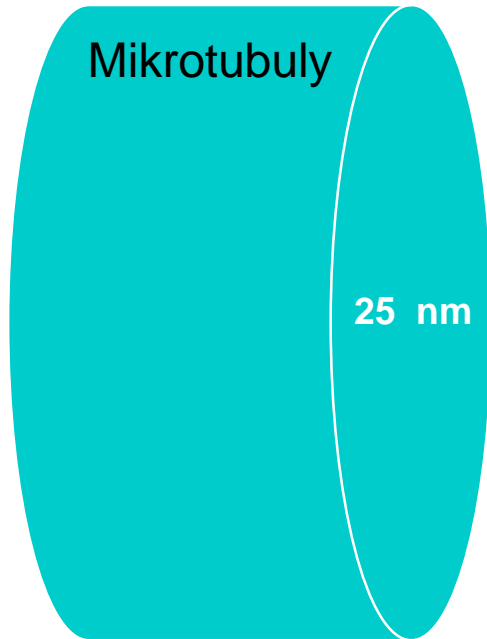


**Pigment z opotřebování**

**lipofuscin** - akumulace residuálních tělísek v dlouhožijících buňkách (neurony, kardiomyocyty)



# Cytoskelet 1

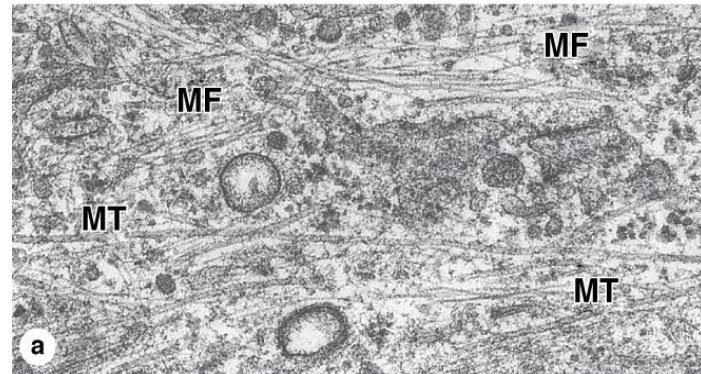


Intermediární  
filamenta

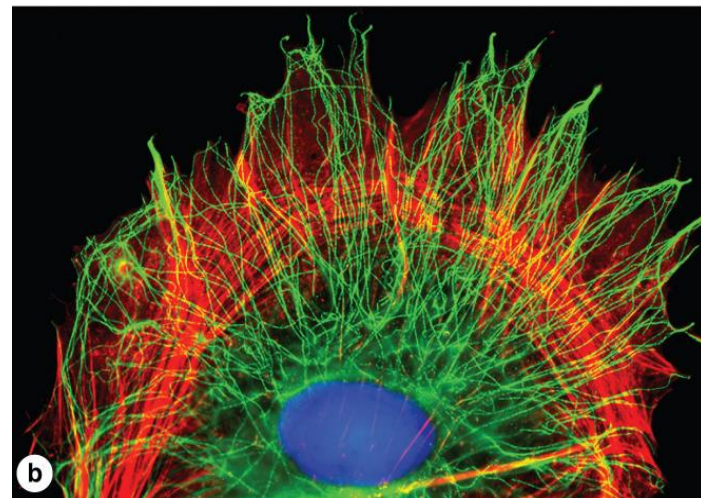
10 nm

Mikrofilamenta  
(aktinová)

7 nm

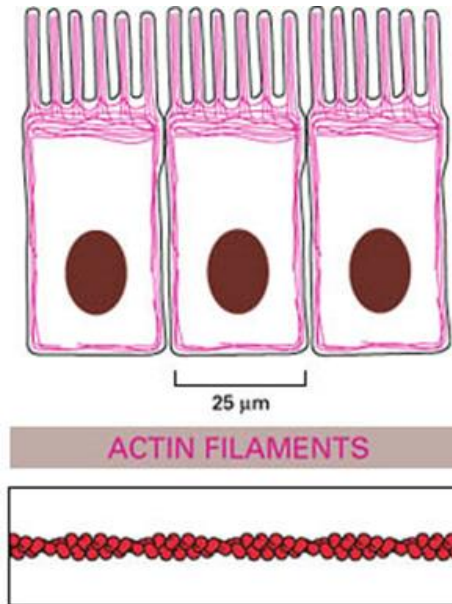
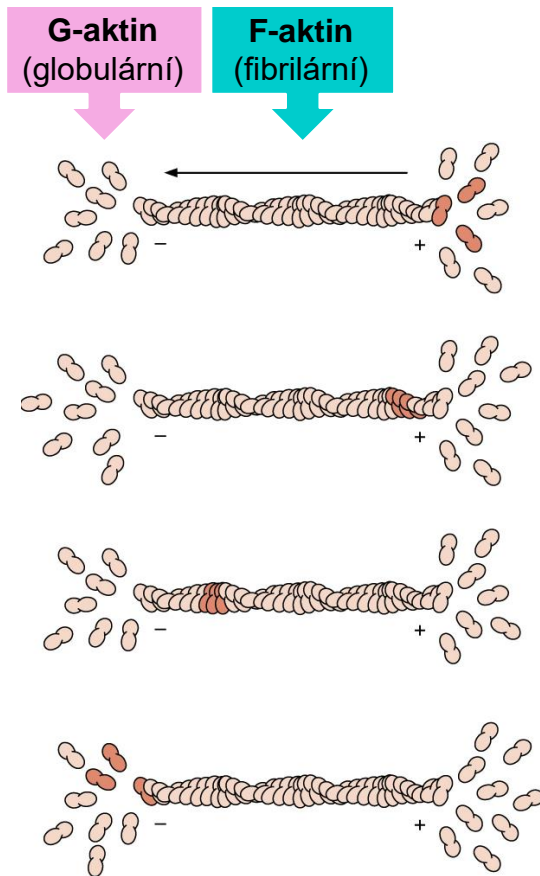


mikrotubuly  
mikrofilamenta - aktin



# Cytoskelet 2

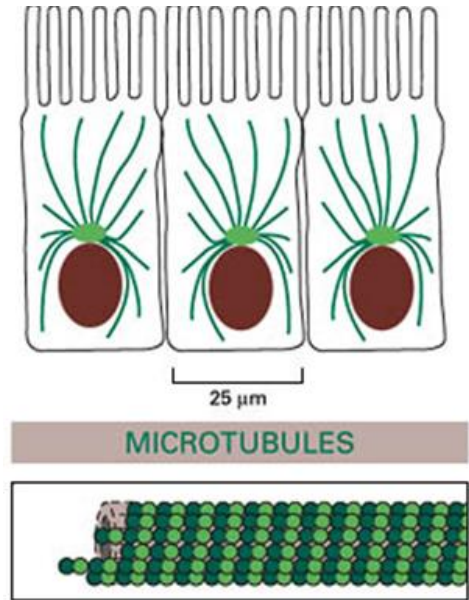
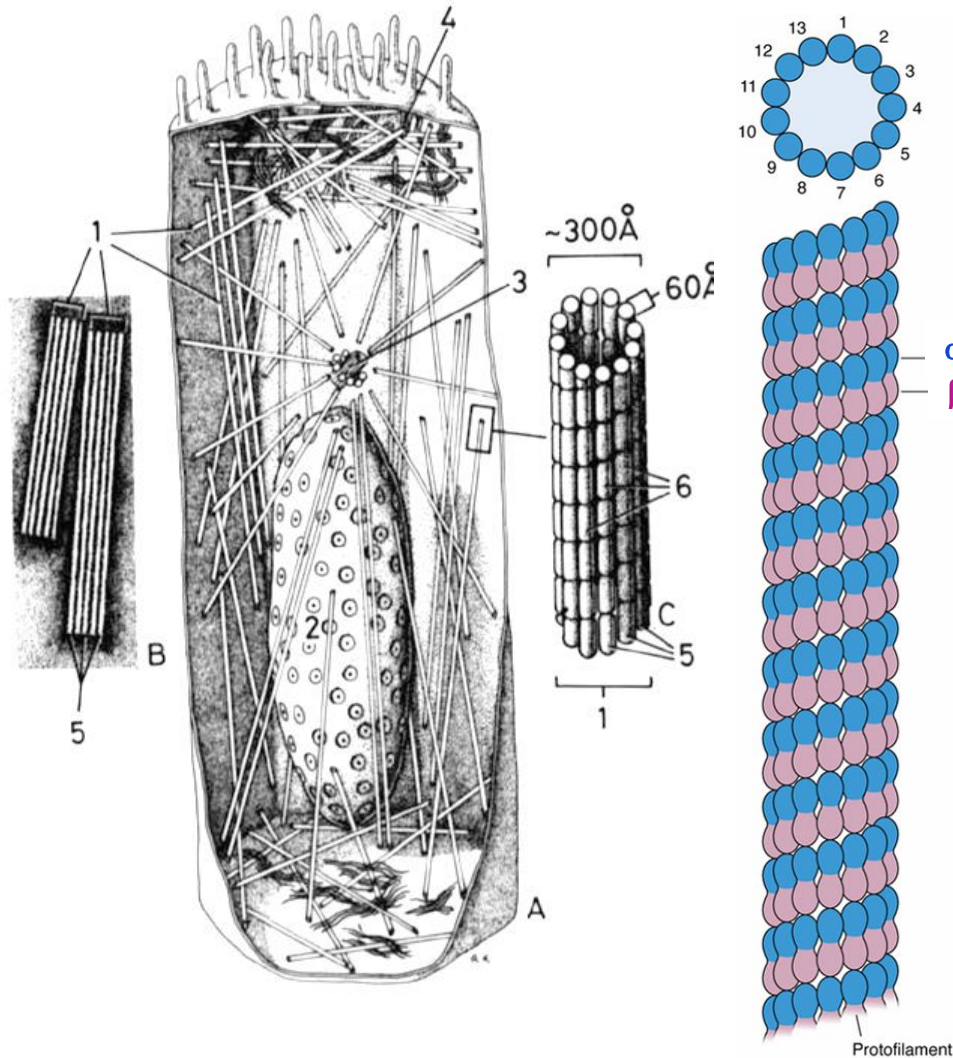
## Mikrofilamenta (aktinová)



- různé izoformy aktinu ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ )
- rychlá polymerizace a depolymerizace
- polarizace (+ a – konce)
- stabilizace asociovanými proteiny (tropomyosin – myofibrily)
- síťování asociovanými proteiny (fimbrin, filamin, ...)
- ukotvení do membrány (vinculin, tallin, ...)
- kortikální aktin – membránový skelet

# Cytoskelet 3

## Mikrotubuly

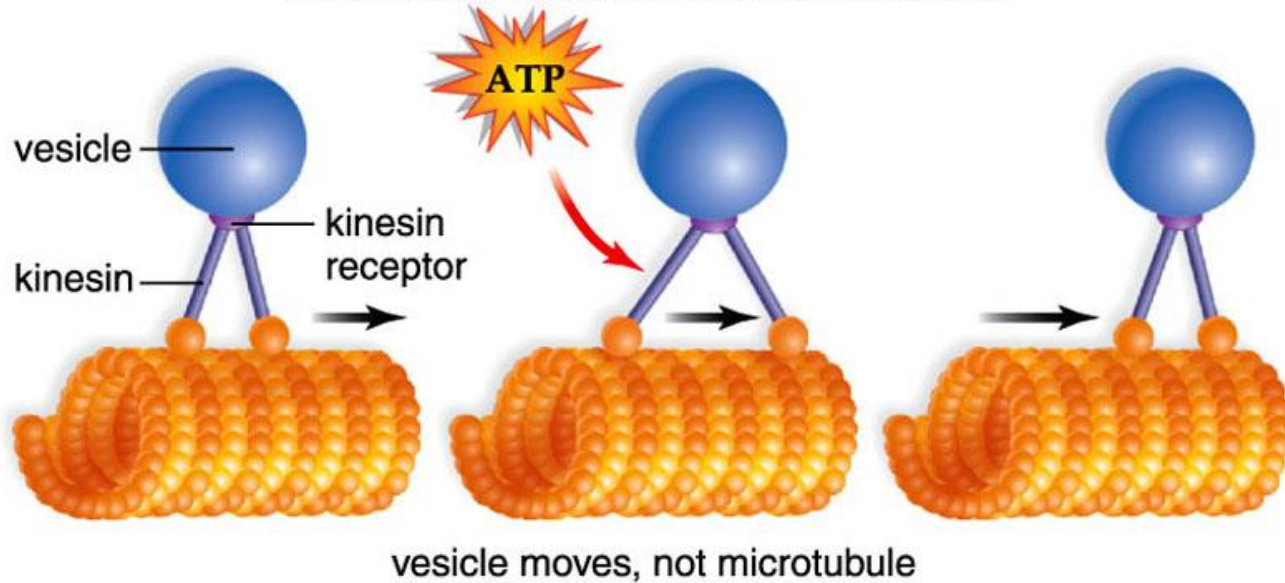


- duté válce
- $\alpha$ -tubulin +  $\beta$ -tubulin – dimery
- rychlá polymerizace a depolymerizace
- polarizace (+ a – konce)
- MAP (proteiny asociované s mikrotubuly)
- MTOC – mikrotubuly organizující centrum (centrozom;  $\gamma$ -tubulin)
- mechanická podpora
- transport uvnitř buňky
- dělicí vřeténko
- řasinky a bičíky
- mitotické jedy (kolchicin, taxol, ...)

# Cytoskelet 4

## Mikrotubuly - motory

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



### Kinesiny

- pohyb k „plus“ konci mikrotubulů
- transport směrem **od** centrozomu

### Dyneiny

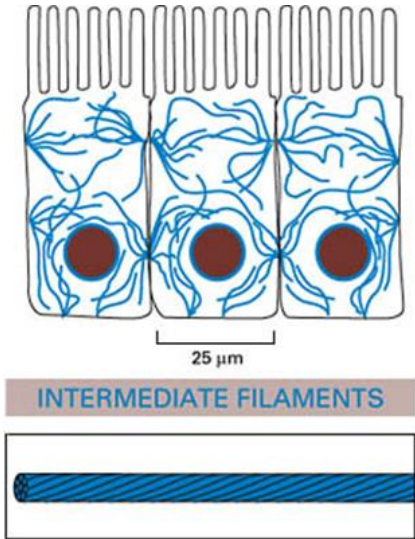
- pohyb k „mínus“ konci mikrotubulů
- transport směrem **k** centrozomu
- transport axonem na dlouhé vzdálenosti

# Cytoskelet 5

## Intermediární filamenta



**Cytokeratinová** intermediární filamenta ve stratum basale epidermis



- „chemicky“ velmi heterogenní skupina
- stejná stavba (tetramery) tvořící “lanko“
- stabilnější než aktinová a tubulinová vlákna
- specifické pro buněčné typy:

**Cytokeratin** (epitely)

**Vimentin** (buňky mezenchymového původu)

**Desmin** (svalové buňky)

**Neurofilamenta** (neurony)

**Gliový fibrilární kyselý protein** (neuroglie)

**Laminy** (jaderný obal)

# Buněčné povrchy 1

## Volný

- **mikroklky** (*nepravidelné, pravidelné – žíhaná kutikula, kartáčový lem*)
- **cilie** (řasinky)

## Laterální

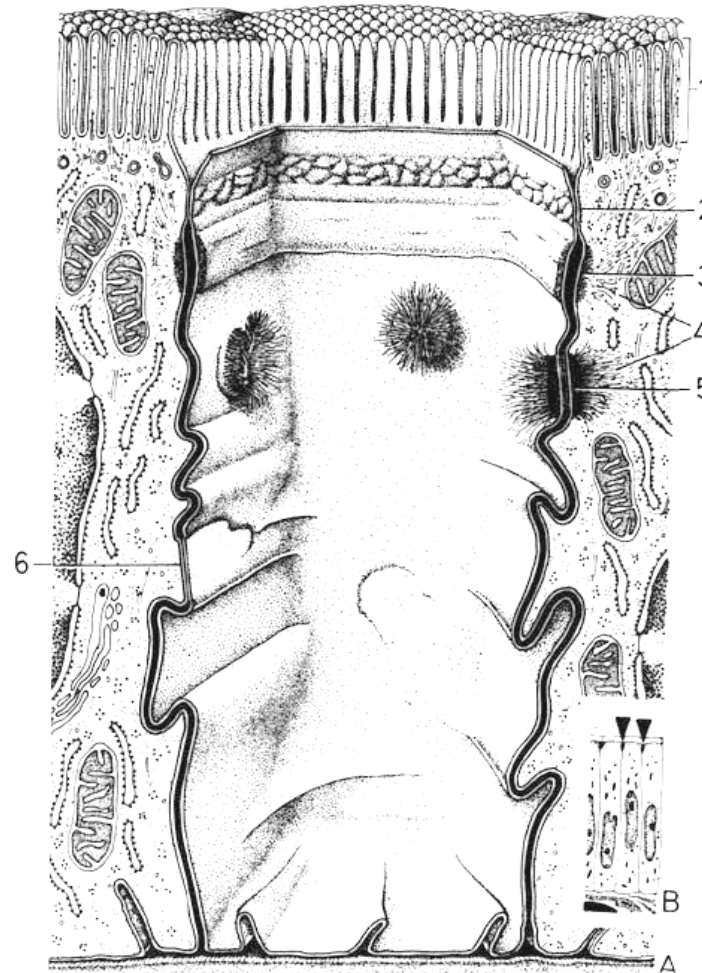
mezibuněčná spojení:

- *těsná=okluzní*: zonula occludens
- *adhezní*: zonula adherens, desmosom
- *komunikační*: nexus

## Bazální

- fokální adheze
- hemidesmosomy
- bazální labyrint

volný povrch



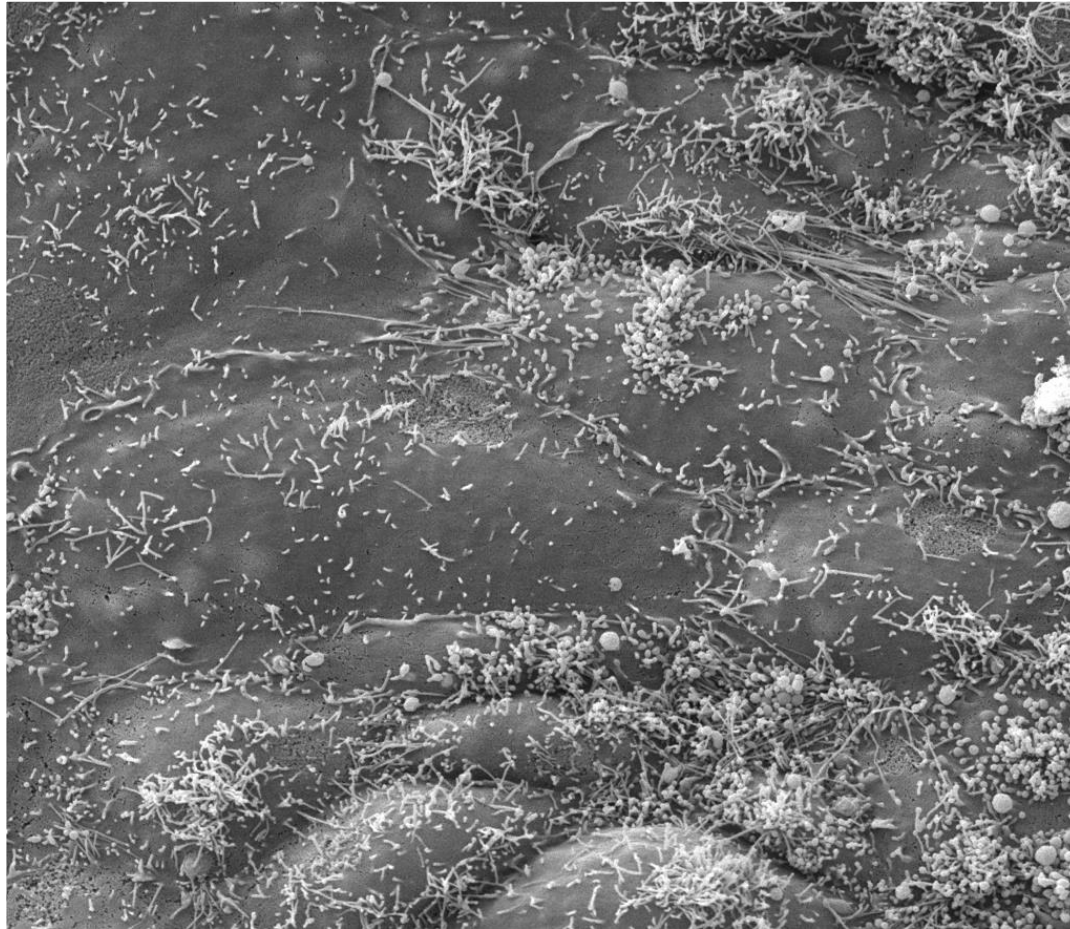
laterální povrch

bazální povrch



# Buněčné povrchy 2

## Mikroklky



Volný povrch lidských embryonálních kmenových buněk rostoucích v in vitro kultuře

# Buněčné povrchy 3

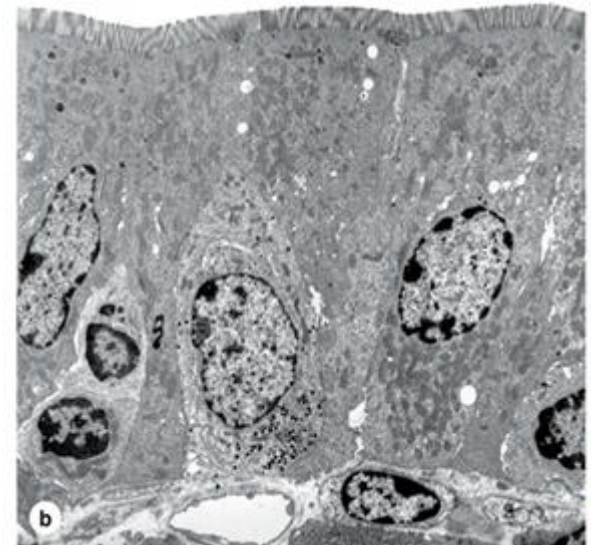
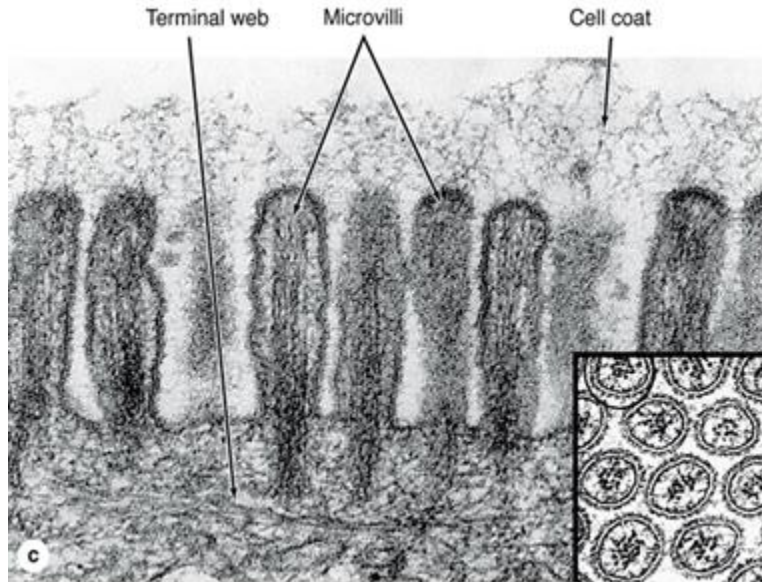
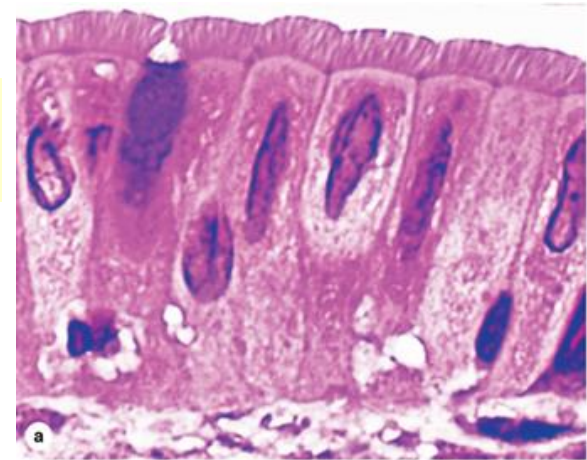
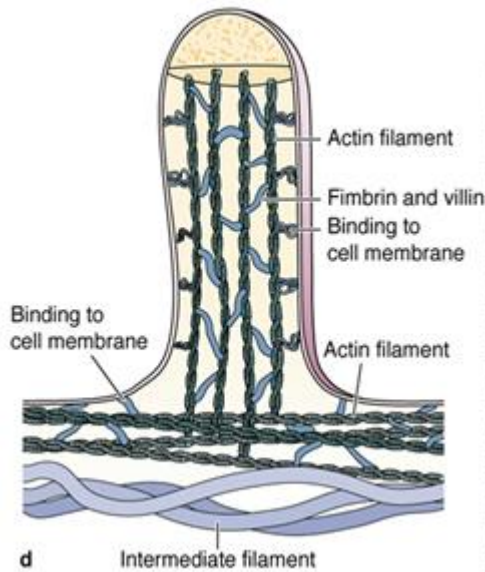
## Mikroklky (microvilli)

Tloušťka cca 0,1  $\mu\text{m}$   
Délka 1-6  $\mu\text{m}$

Pravidelně uspořádané mikroklky  
= žíhaná kutikula = kartáčový lem

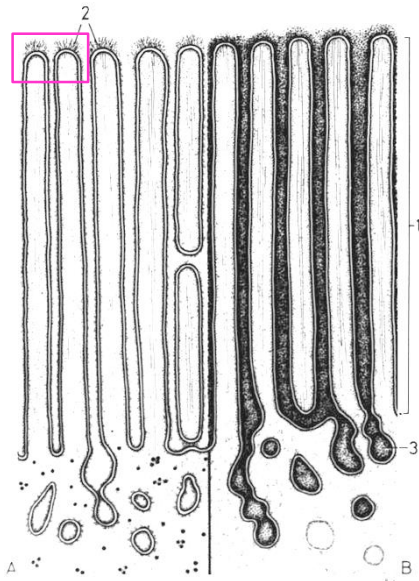
### Aktinová filamenta v mikroklcích

- 20 v mikroklcích epitelových buněk
- několik set ve stereociliích vláskových buněk

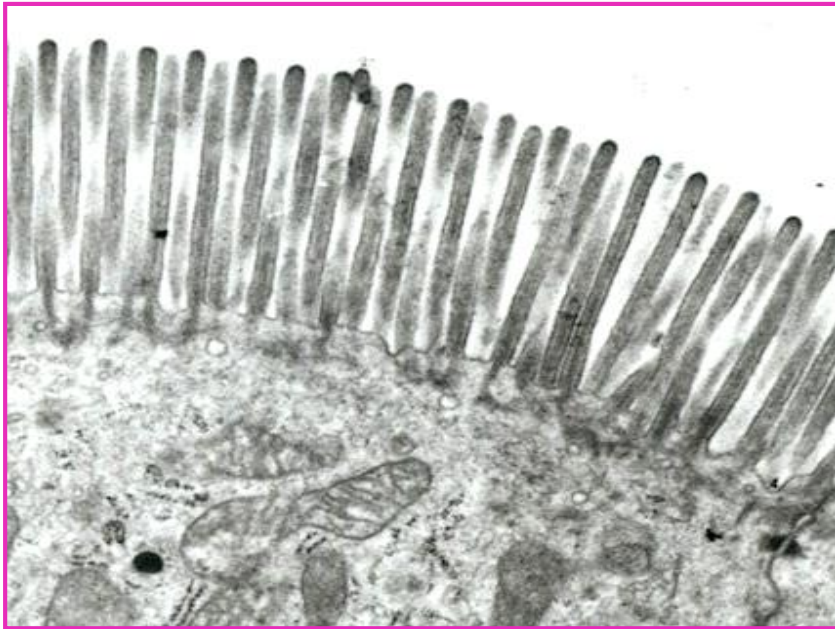


# Buněčné povrchy 4

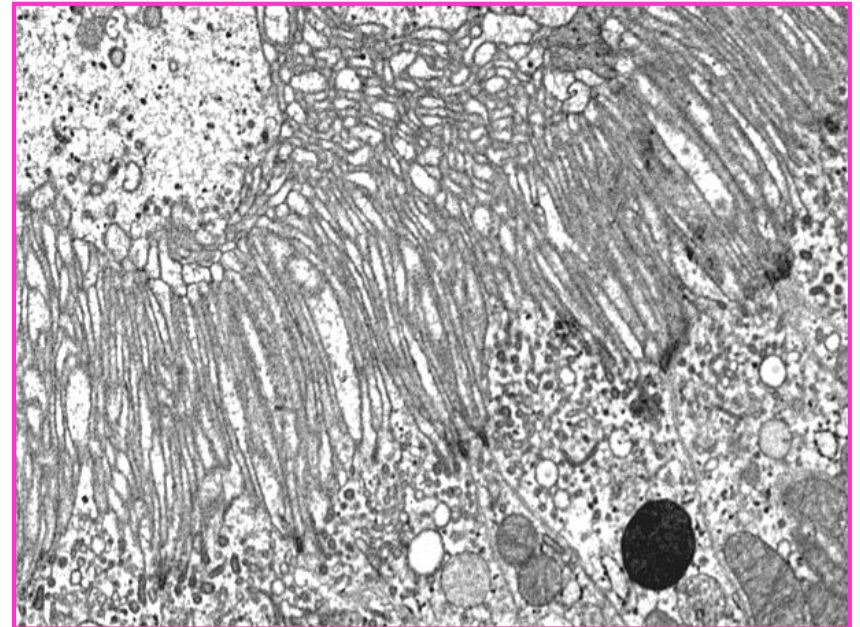
## Mikroklky (microvilli)



Gluten - Celiakie



**žíhaná kutikula**  
(apex enterocytů)

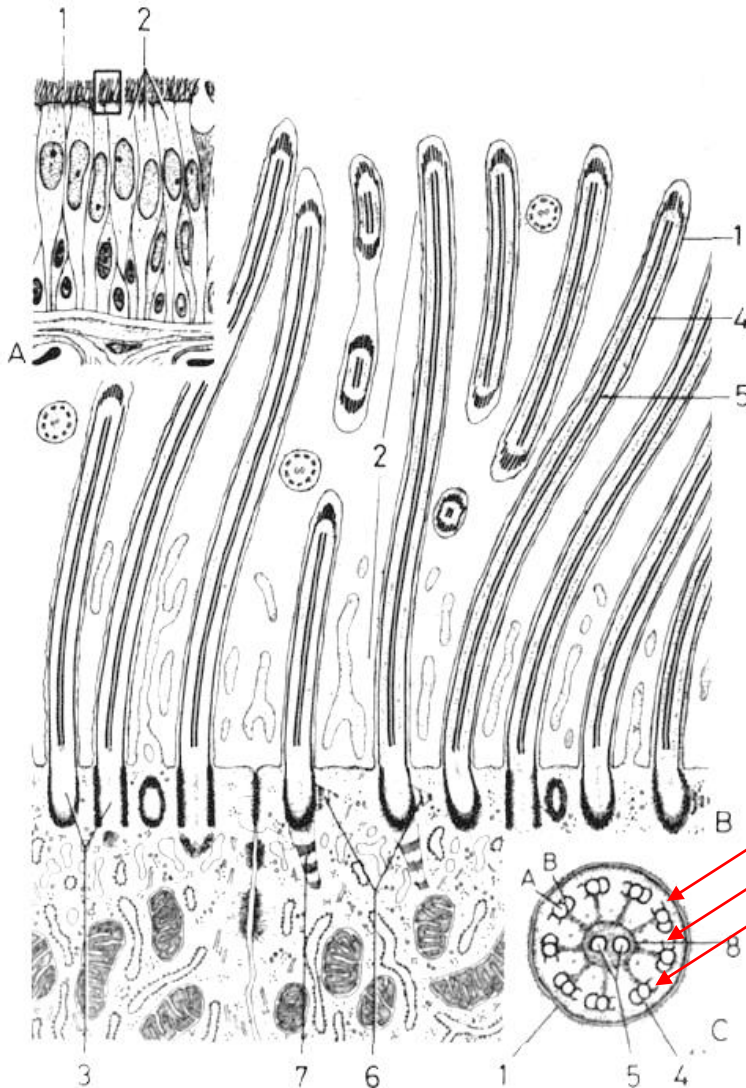


**kartáčový lem**  
(proximální kanálky ledviny)

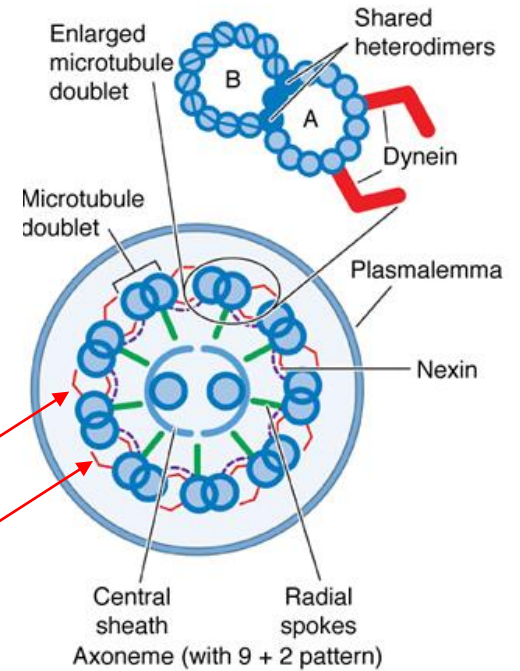
# Buněčné povrchy 5

Cilie = Řasinky + Flagella = Bičíky

Tloušťka cca 0,25  $\mu\text{m}$   
Délka 7-10  $\mu\text{m}$



Osové vlákno – Axonema  
20 mikrotubulů (9x2 + 2)



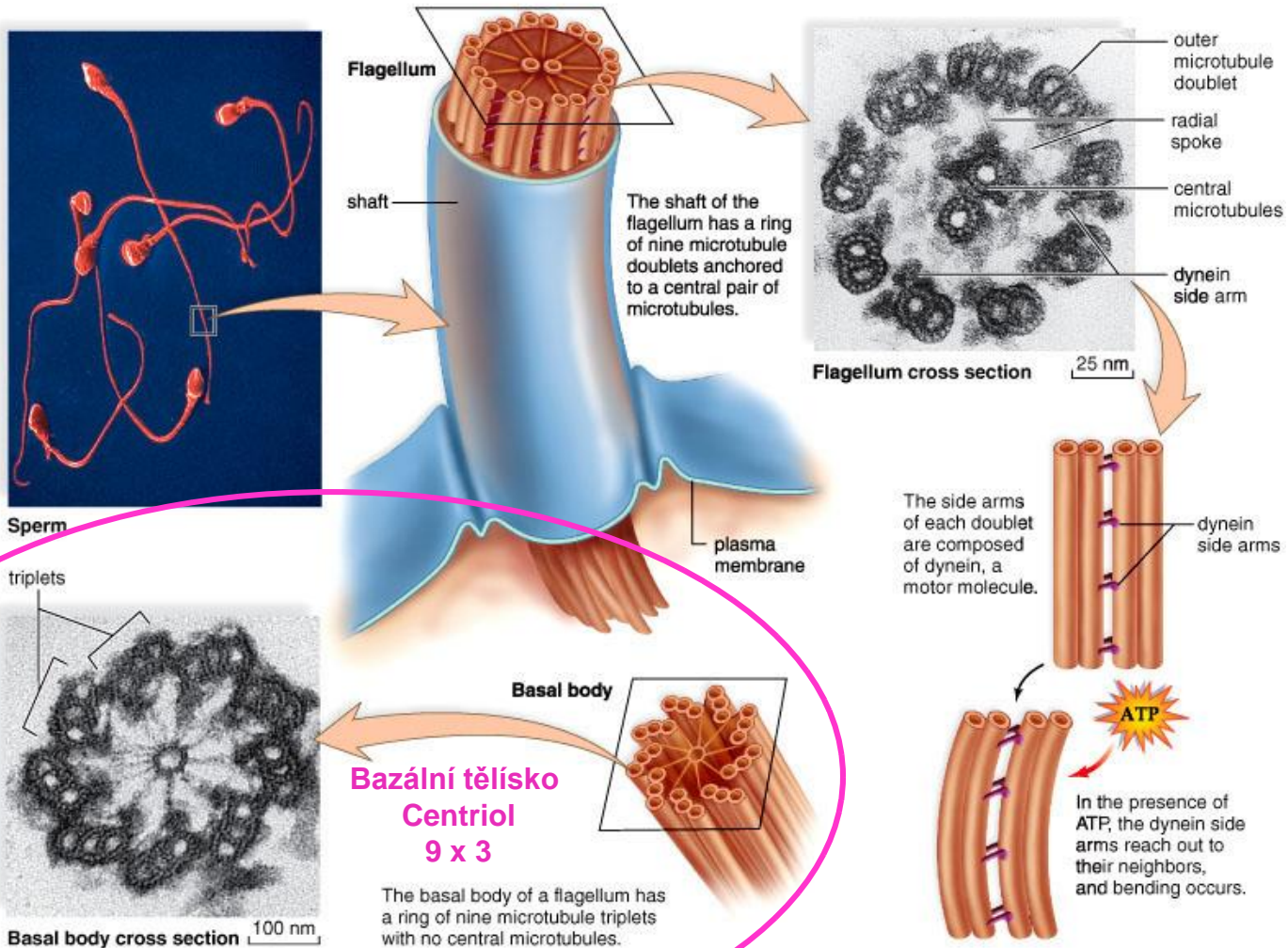
Dyneinová raménka  
(pohyb)

b Cilium

# Buněčné povrchy 6

Cilie = Řasinky + Flagella = Bičíky

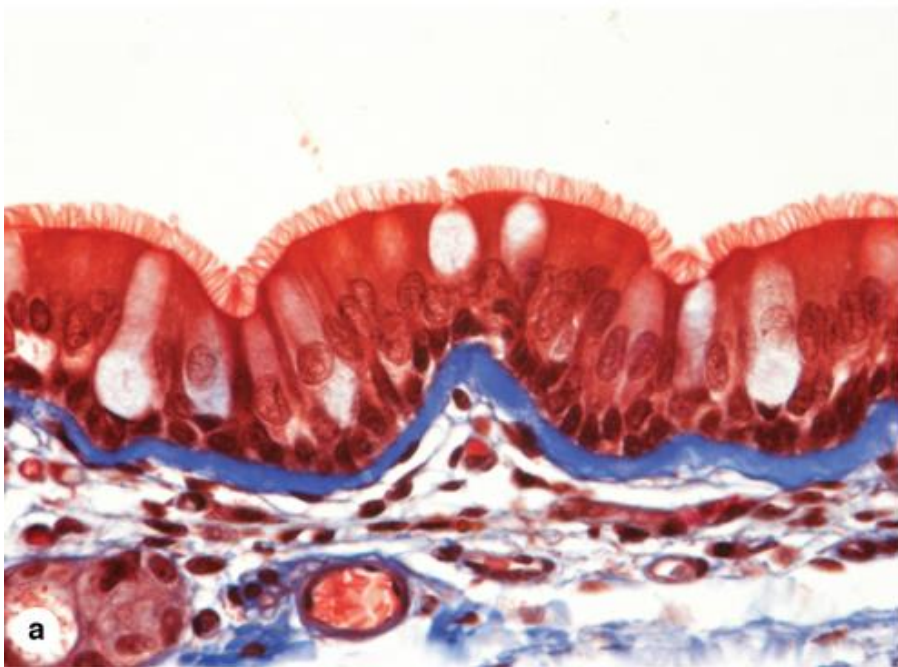
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



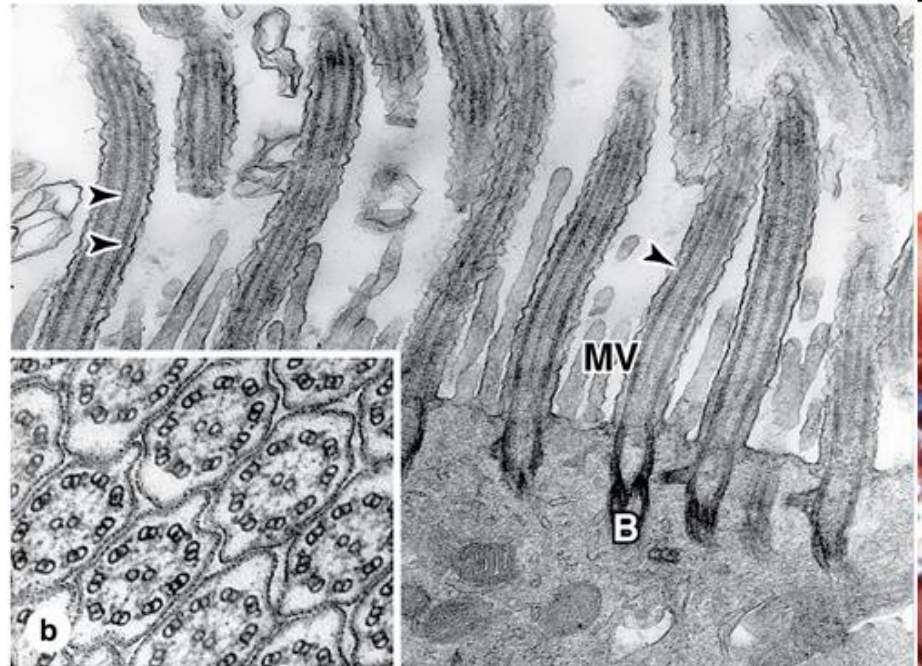
# Buněčné povrchy 7

Cilie = Řasinky + Flagella = Bičíky

ve světelném mikroskopu



v elektronovém mikroskopu

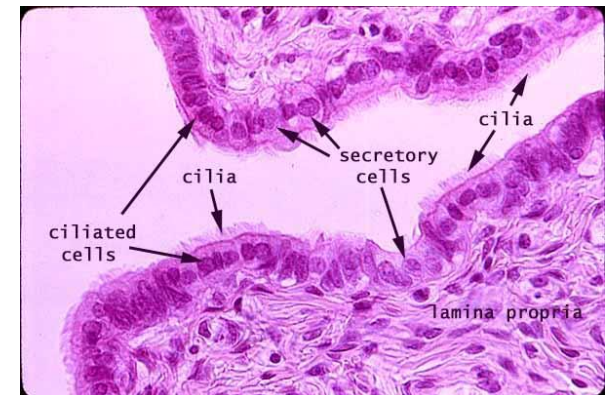


# Buněčné povrchy 8

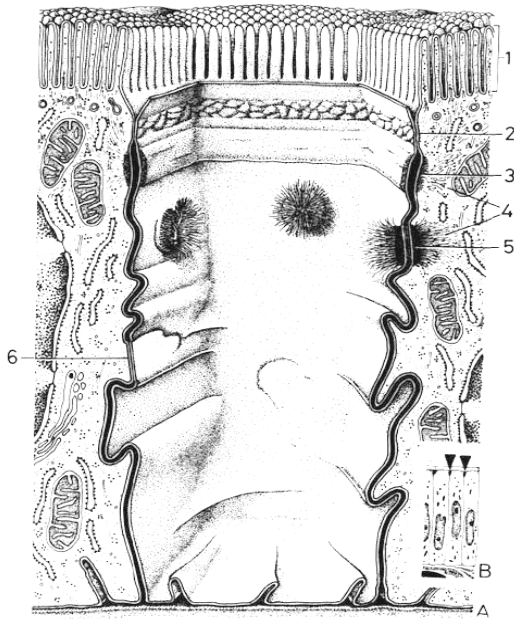
Kinocilie = Řasinky



vejcovod

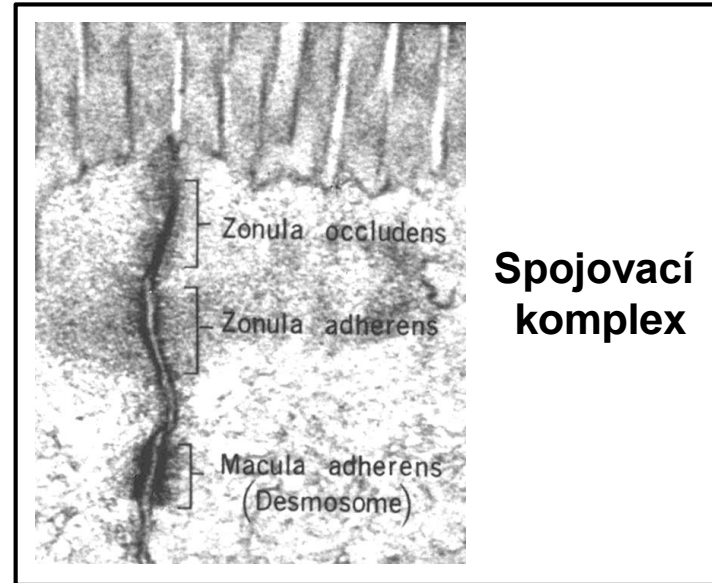


# Mezibuněčné spoje 1



laterální povrch

bazální povrch



## Adhezní

- Macula adherens (desmosom)
- Zonula adherens
- Hemidesmosom
- Fokální adheze

## Těsnící

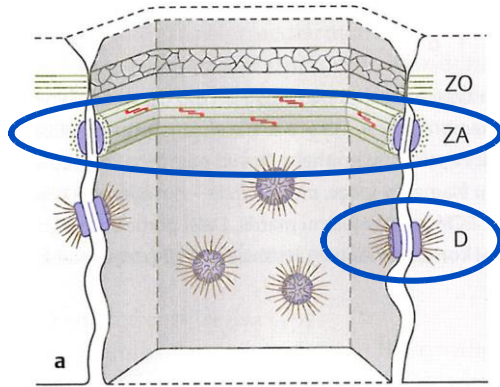
- Zonula occludens (bariérový spoj, tight junction)

## Komunikační

- Gap junction (nexus)

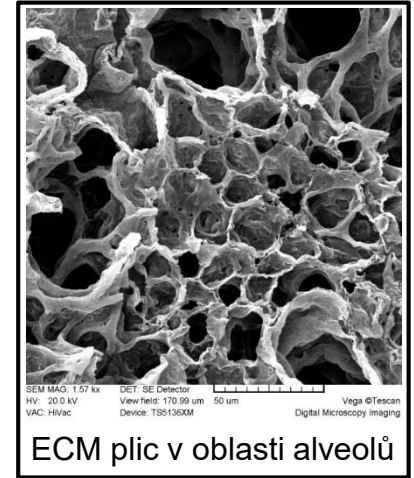


# Mezibuněčné spoje 2

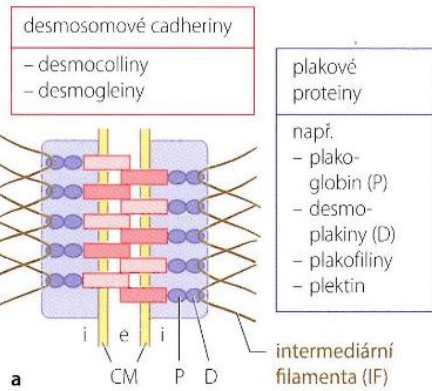


## Adhezní

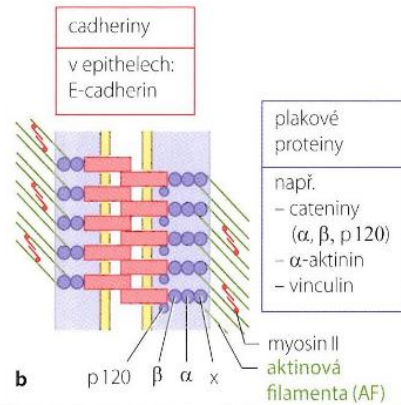
- Macula adherens (desmosom)
- Zonula adherens
- Hemidesmosom
- Fokální adheze



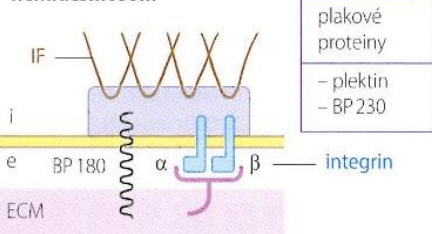
### desmosom



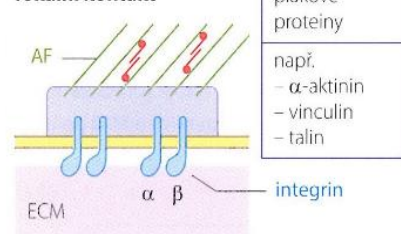
### zonula adhaerens



### hemidesmosom



### fokální kontakt

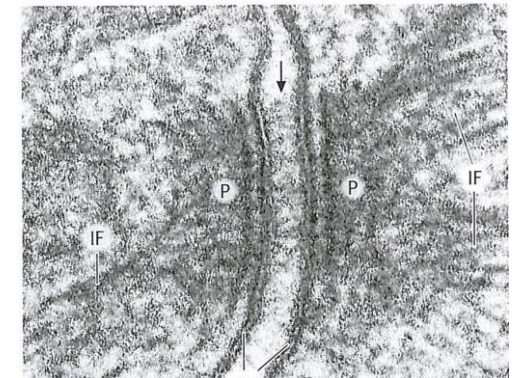


buňka-buňka

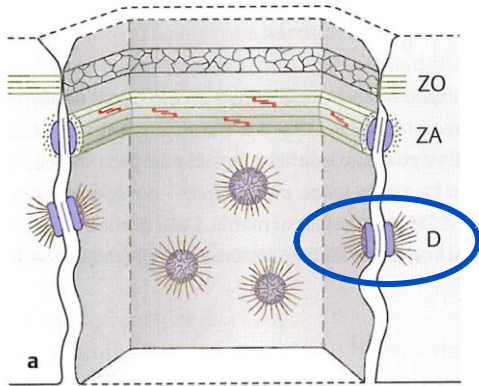
buňka-ECM

## Jednotná stavba

- Transmembránové proteiny (cadheriny+ integriny)
- Aduktorové (plakové) proteiny
- Vlákna cytoskeletu



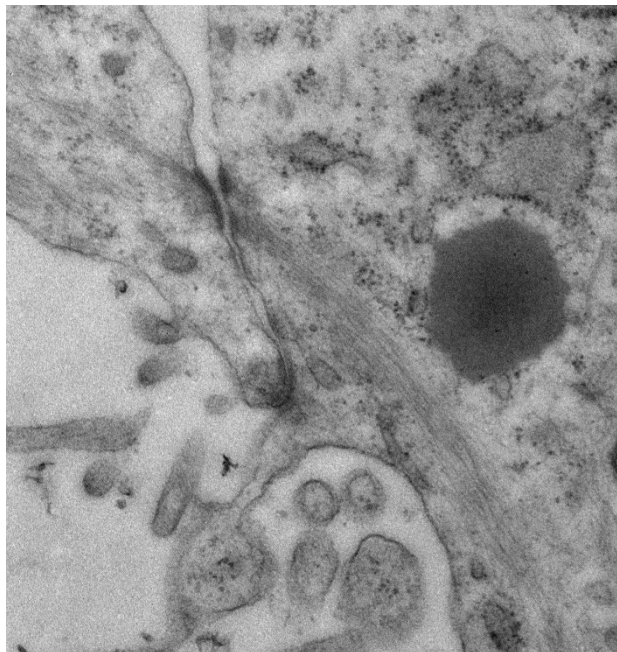
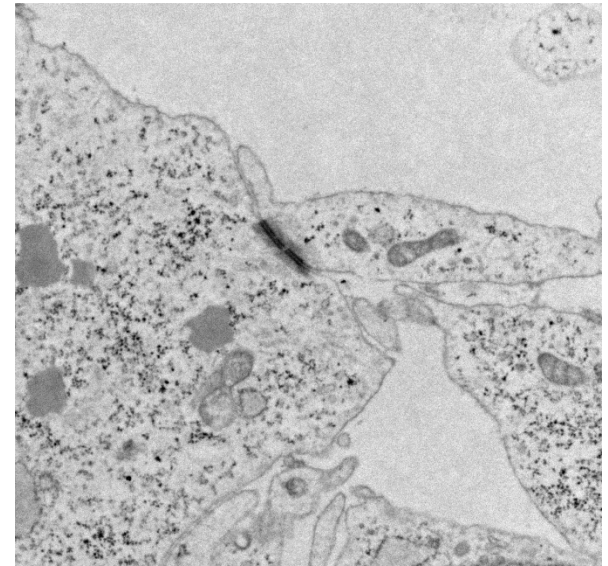
# Mezibuněčné spoje 3



## Adhezní

- **Macula adherens**  
(desmosom)

Průměr cca 0,3  $\mu\text{m}$   
Mezera mezi membránami cca 20-40 nm



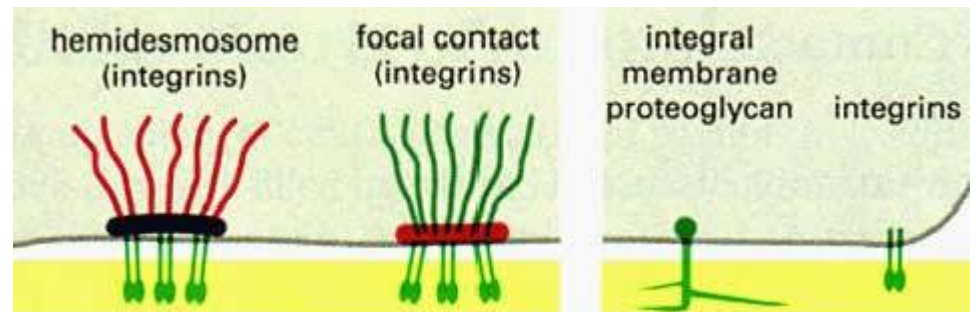
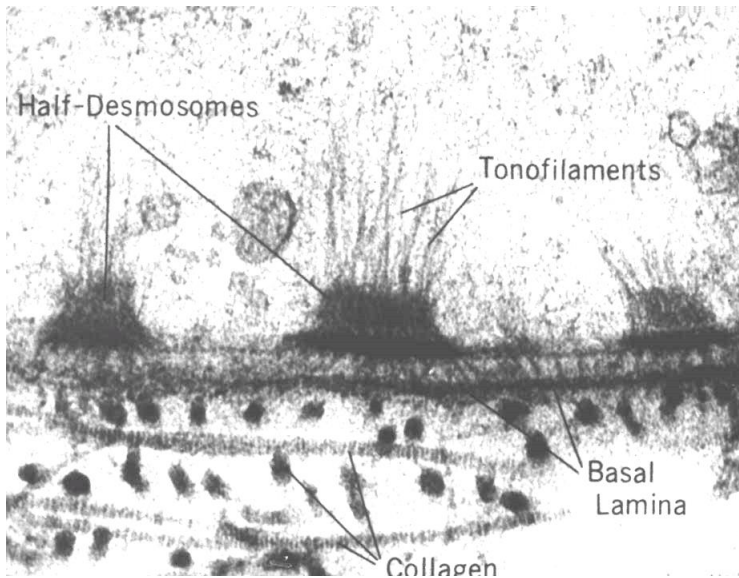
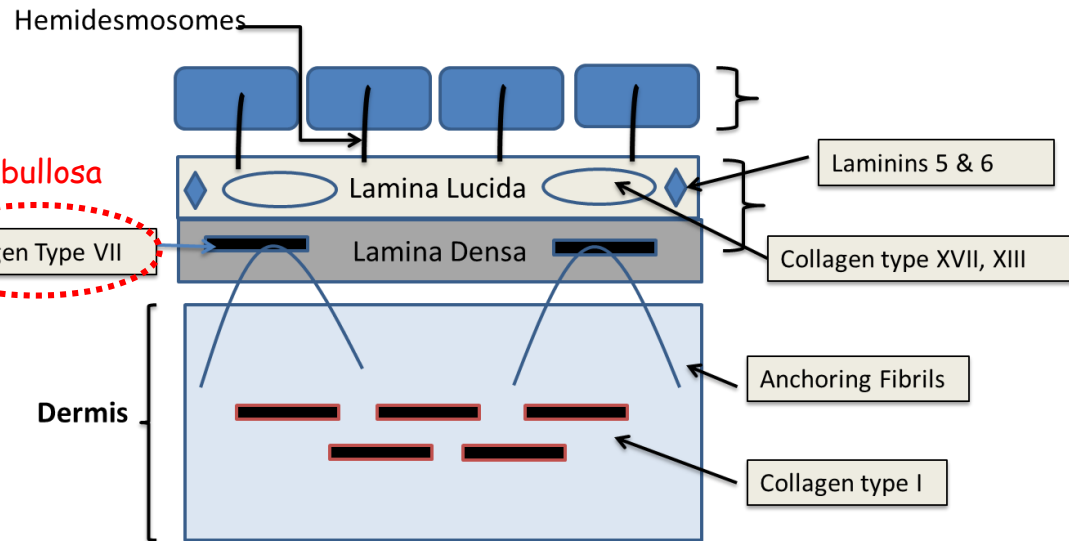
# Mezibuněčné spoje 4

## Adhezní

- Hemidesmosom
- Fokální adheze

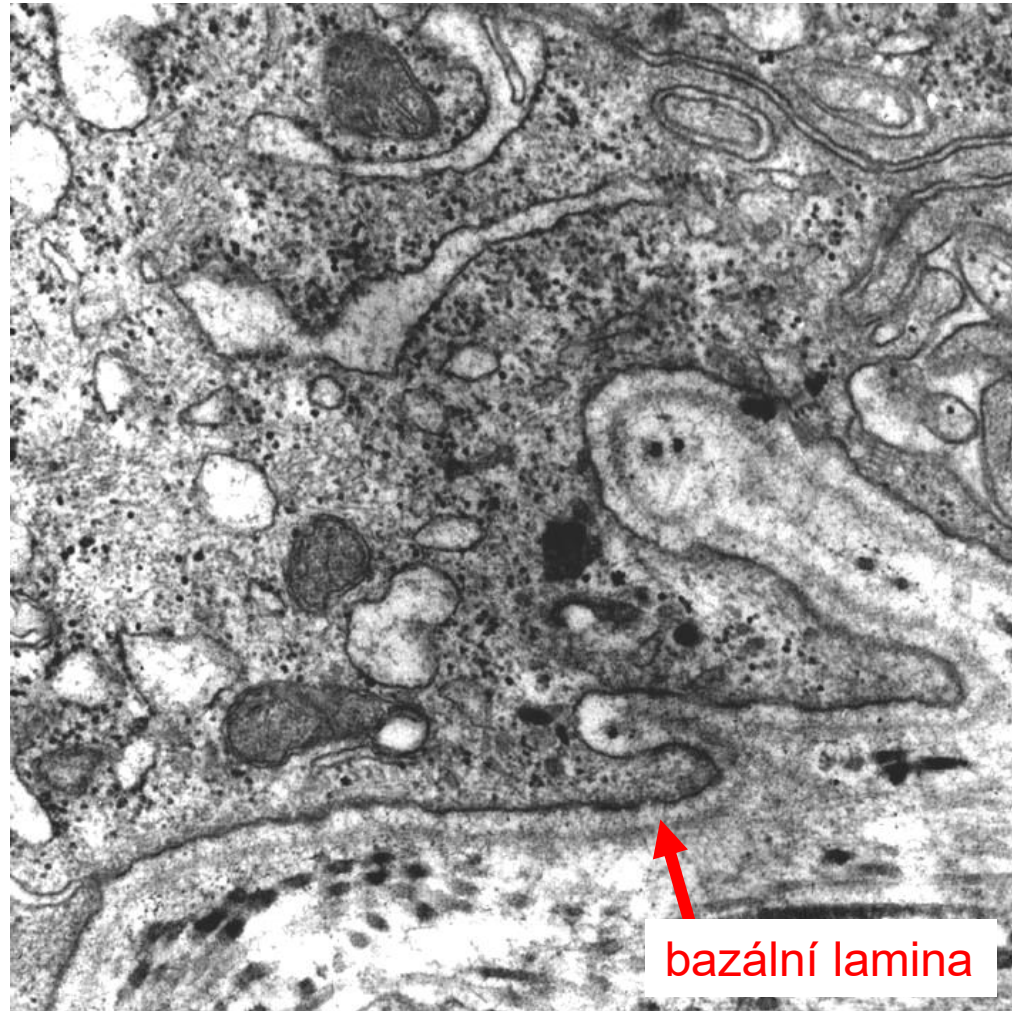
Epidermolysis bullosa

Collagen Type VII



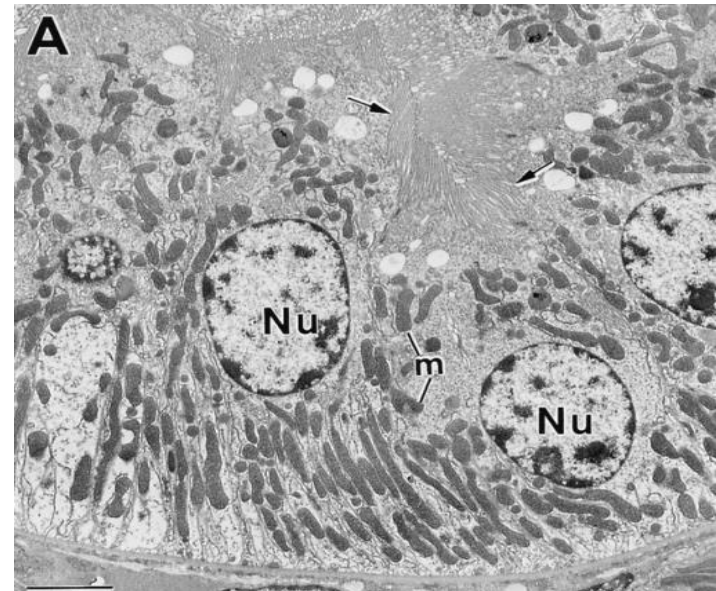
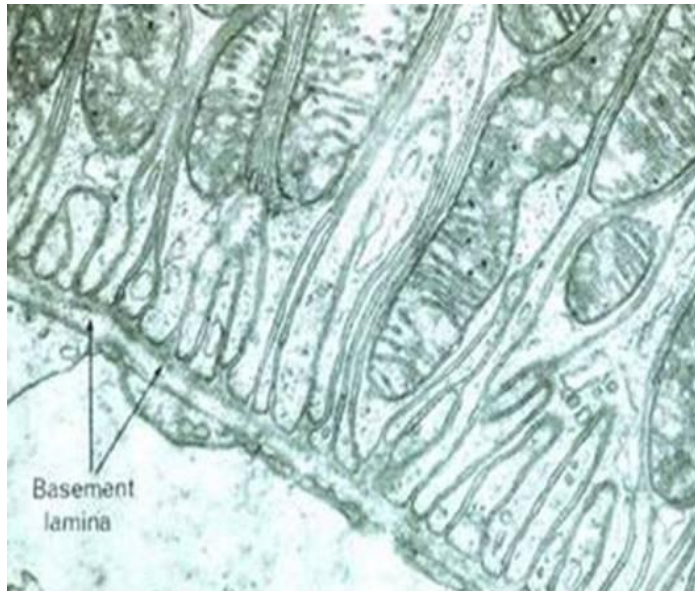
# Mezibuněčné spoje 5

- Fokální adheze

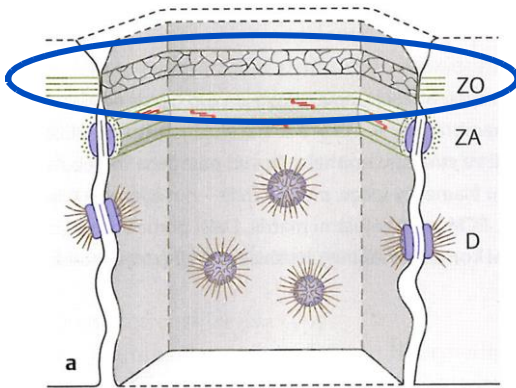


# Mezibuněčné spoje 6

## Bazální labyrint



# Mezibuněčné spoje 7

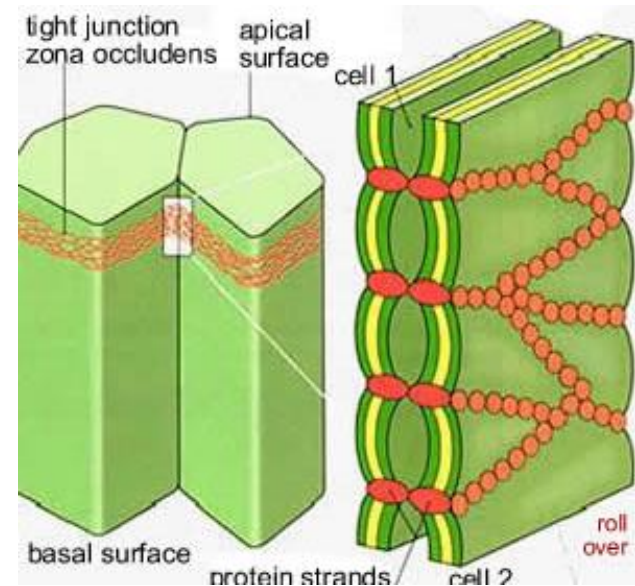
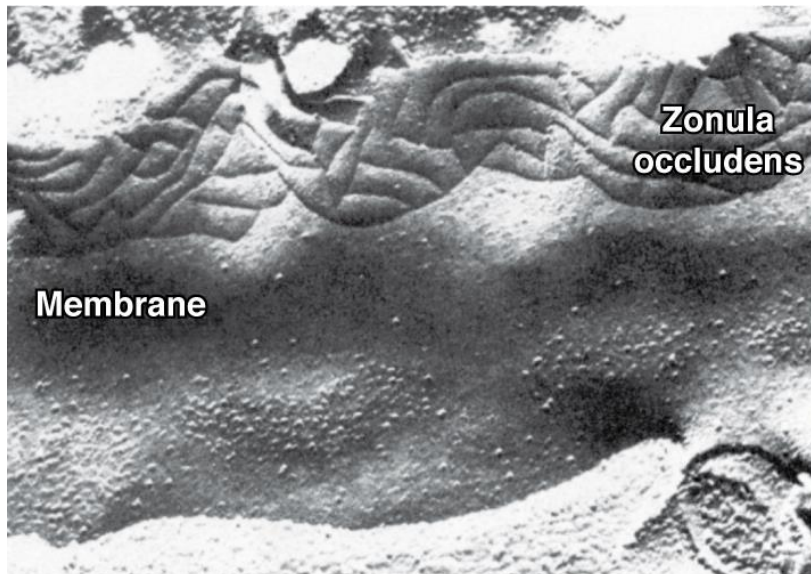
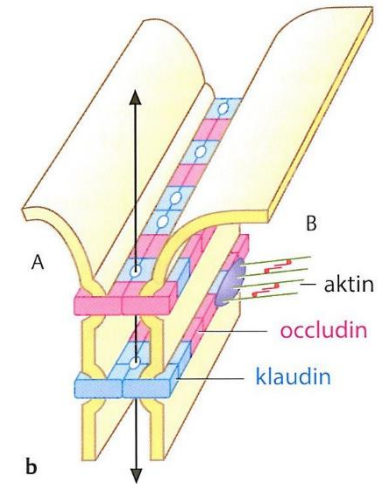


## Těsnící

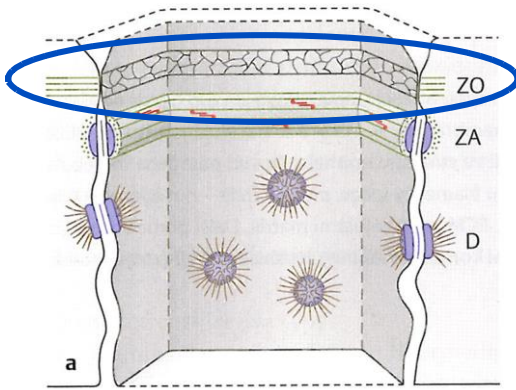
- **Zonula occludens** (bariérový spoj, tight junction)

### Poškození:

Clostridium perfringens  
Helicobacter pylori (ZO-1)

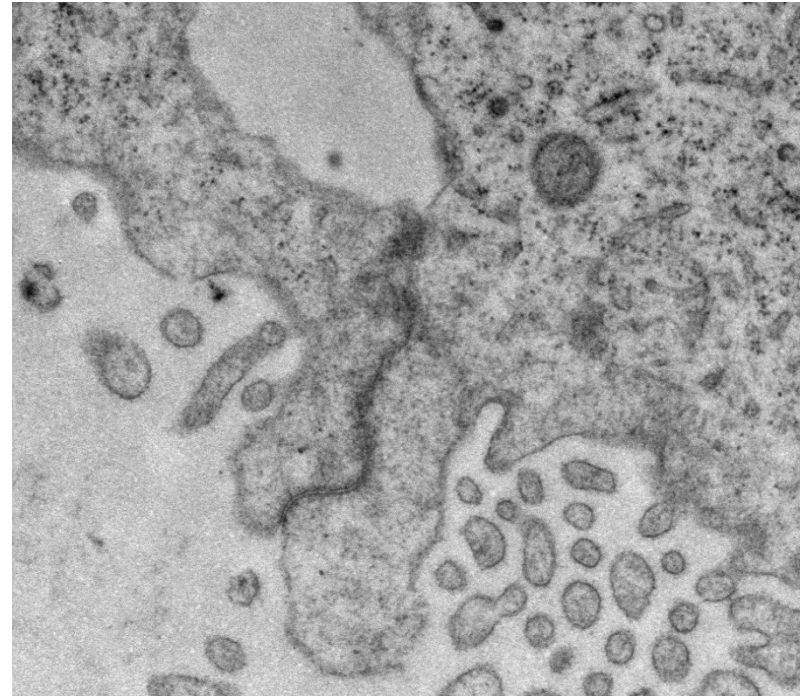
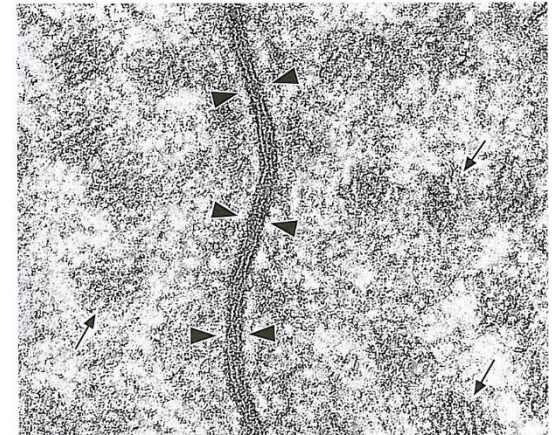


# Mezibuněčné spoje 8

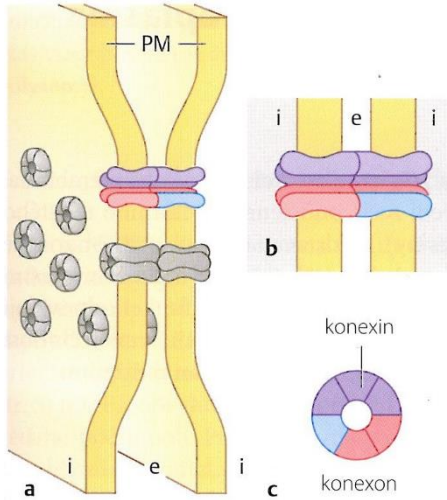


## Těsnící

- **Zonula occludens**  
(bariérový spoj,  
tight junction)



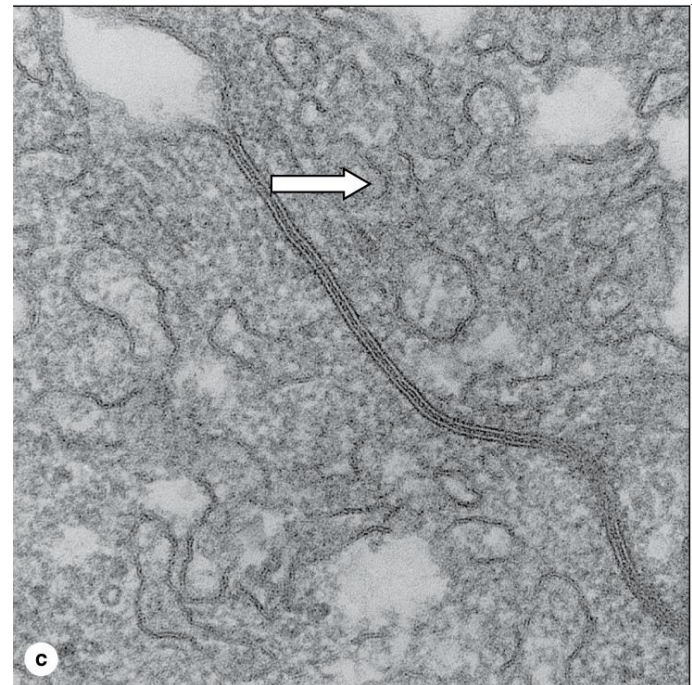
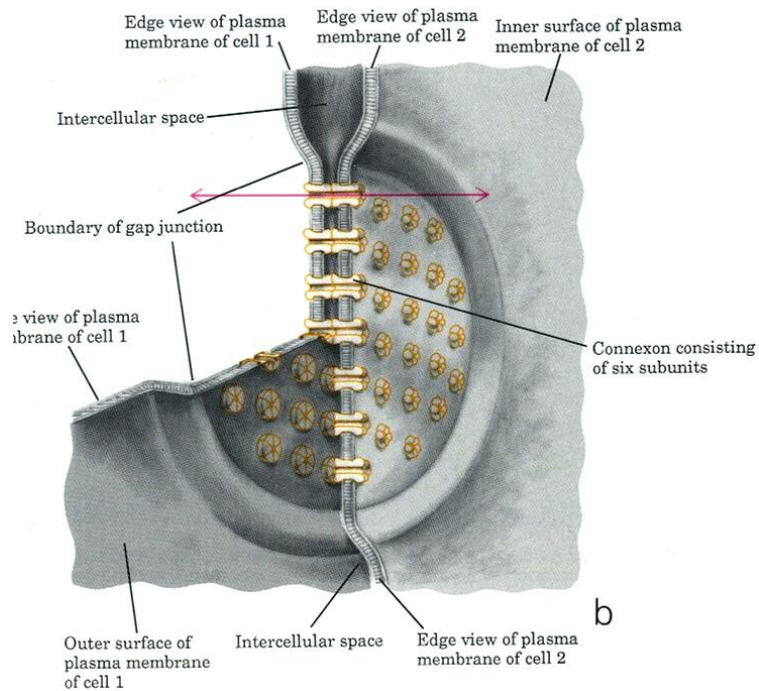
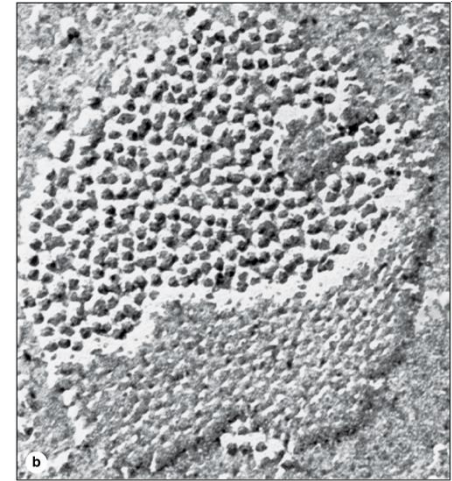
# Mezibuněčné spoje 9



## Komunikační

- Gap junction (nexus)

Průměr cca 0,3  $\mu\text{m}$   
Mezera mezi membránami cca 3 nm  
Otvor spojovacího kanálku cca 2 nm

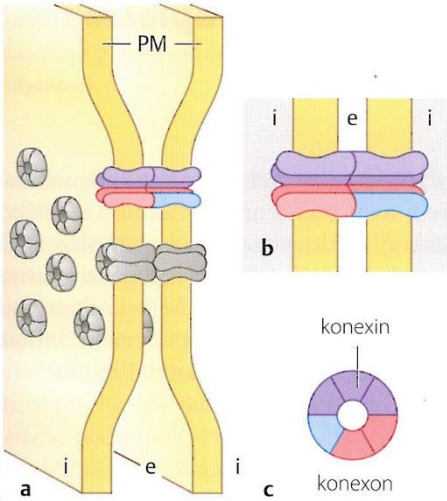




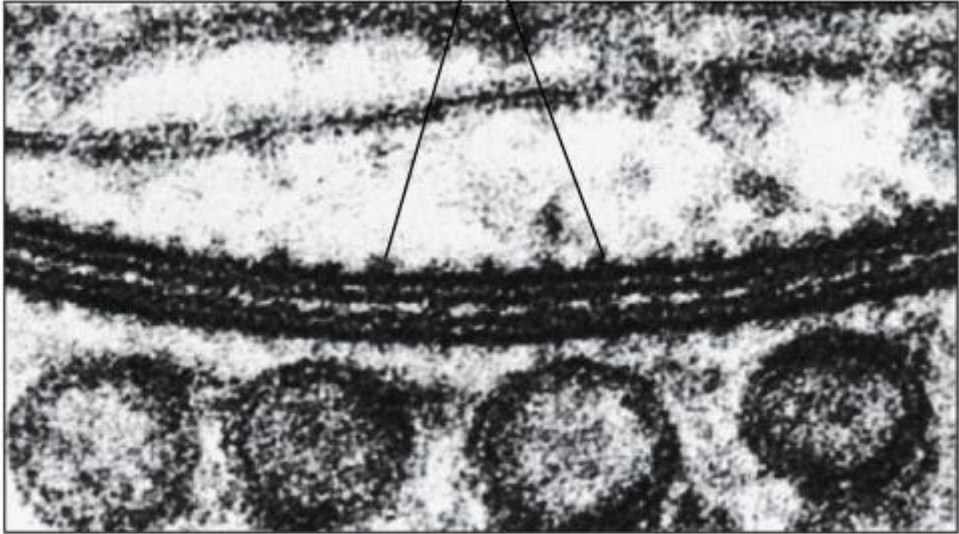
# Mezibuněčné spoje 10

## Komunikační

- Gap junction (nexus)

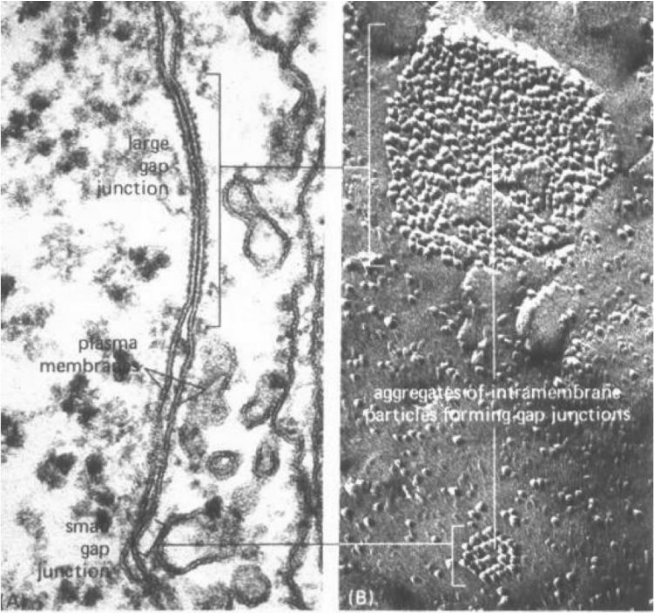


Connexons



(b) Electron micrograph of a gap junction

0.1 μm

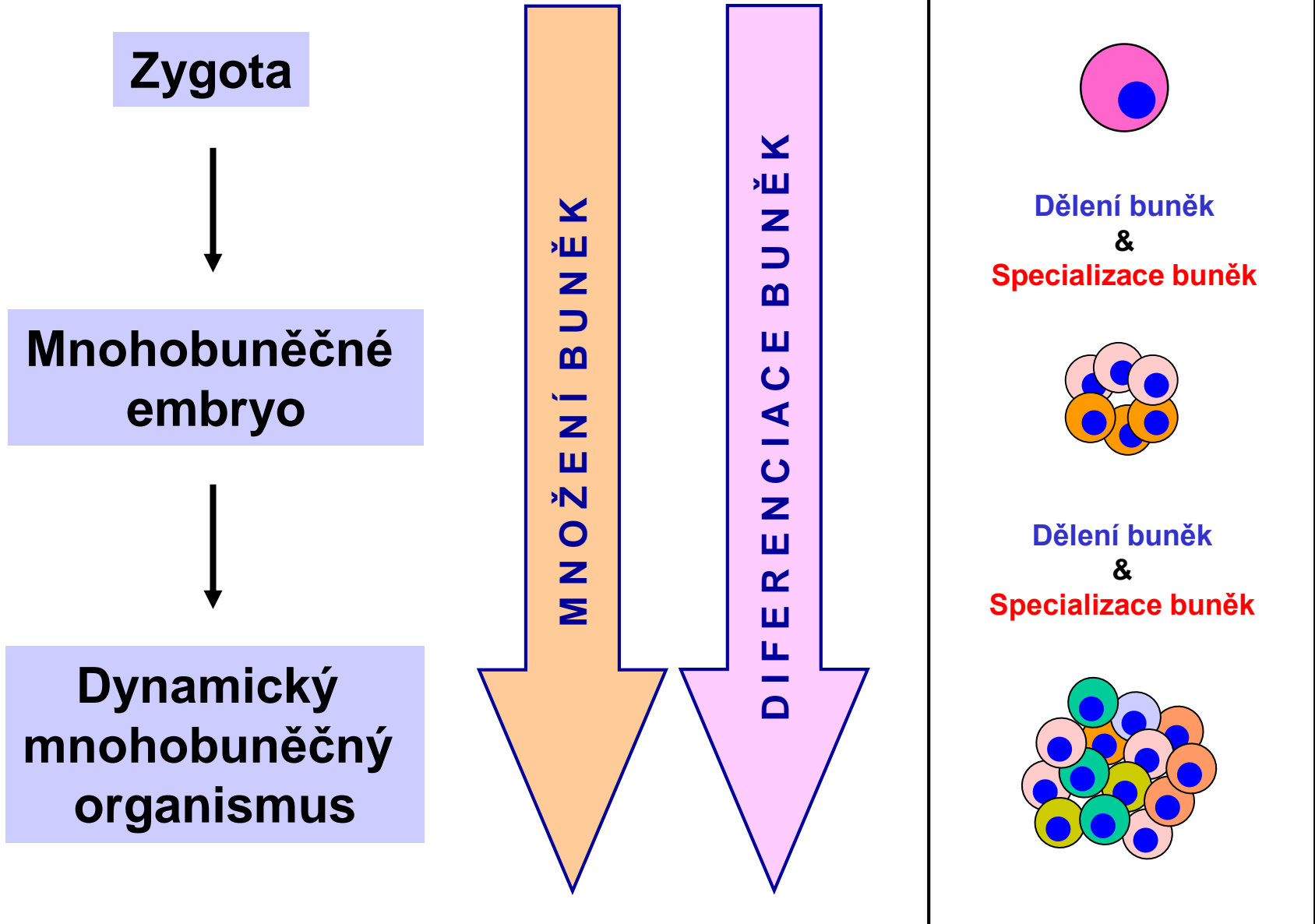


200 nm

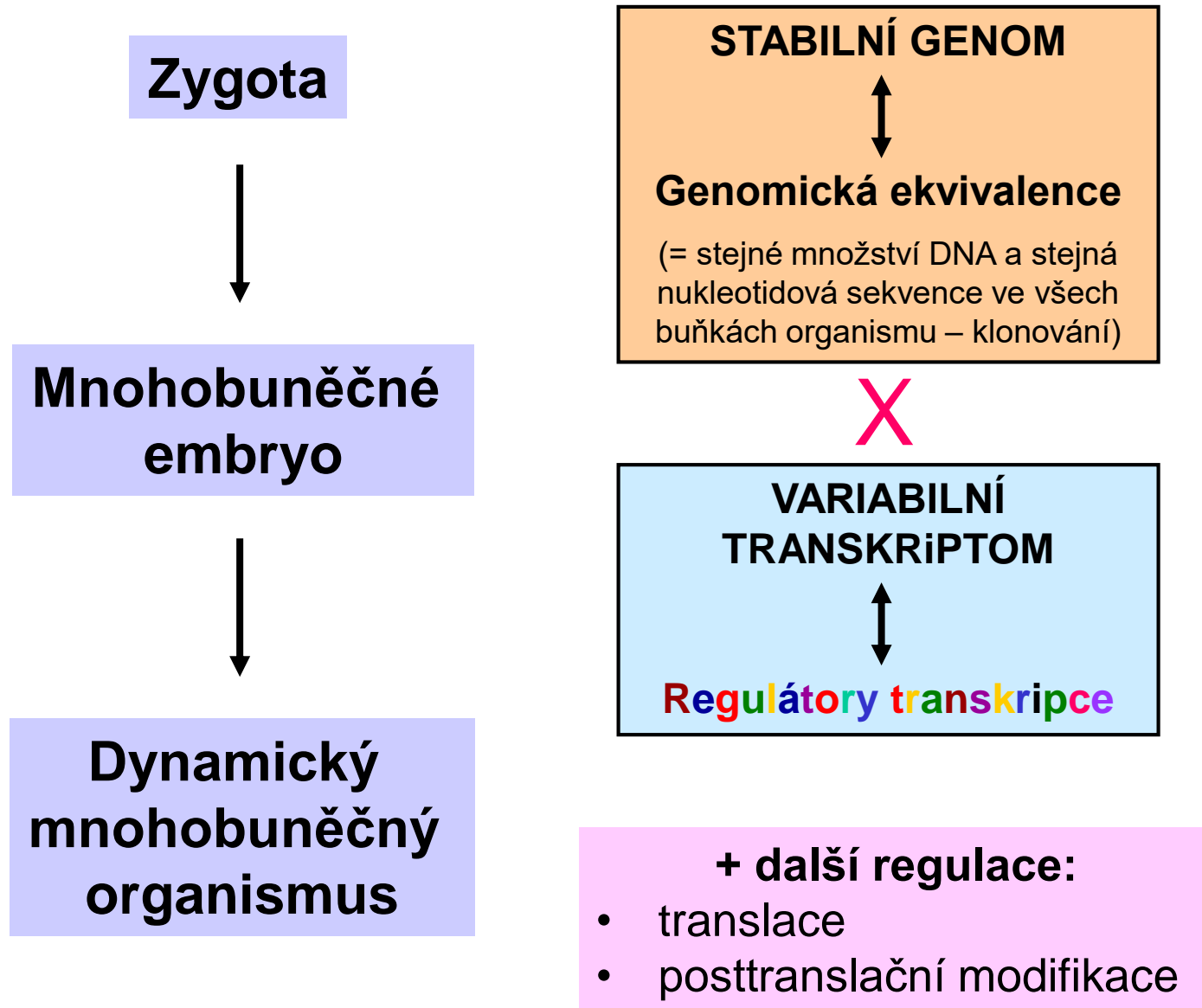
# Životní projevy buněk

- **Pohyb** – intracelulární, amoeboidní, řasinky, bičíky
- **Metabolismus** – příjem, zpracování, výdej
- **Dráždivost**
- **Růst**
- **Diferenciace**
- **Rozmnožování (dělení)**

# Množení x Diferenciace buněk 1



# Množení x Diferenciace buněk 2



# Množení x Diferenciace buněk 3

## Obnova a regenerace tkání

### Kmenové buňky

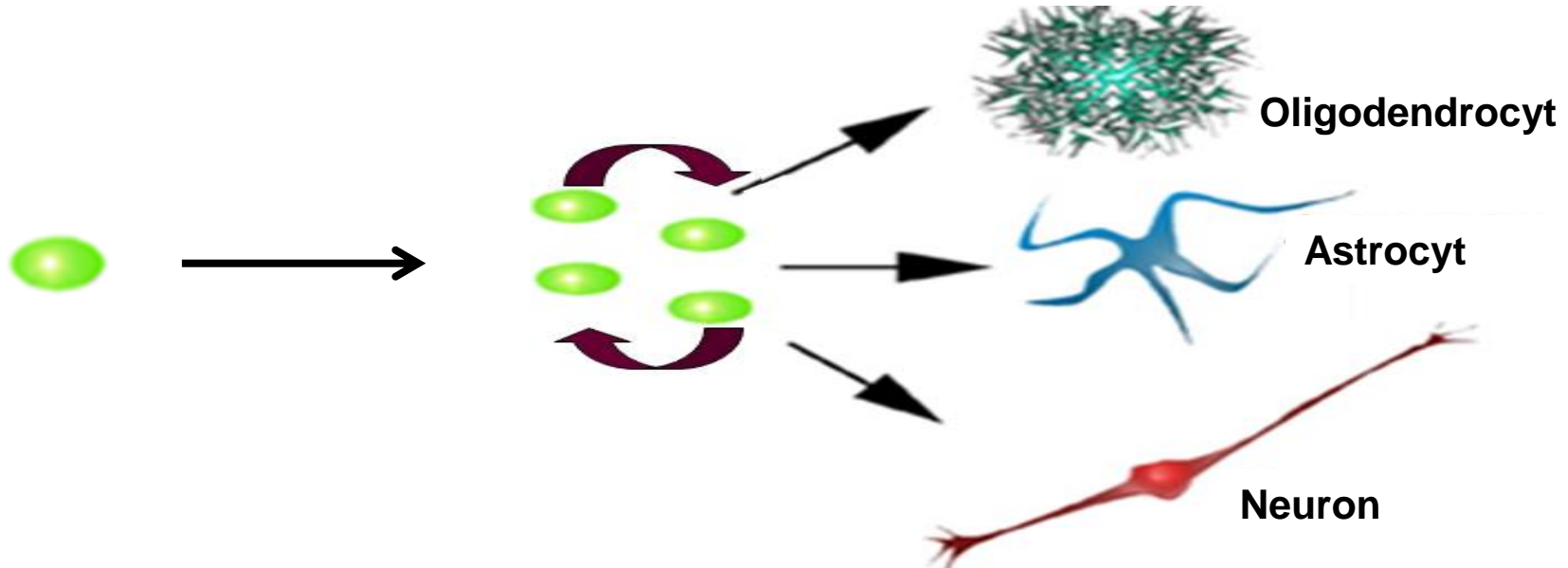
- pomalé dělení (obvykle)
- multipotentní

### Progenitorové buňky

- „transit amplifying cells“
- rychle se dělí
- multipotentní

### Terminálně diferencované buňky

- nedělí se



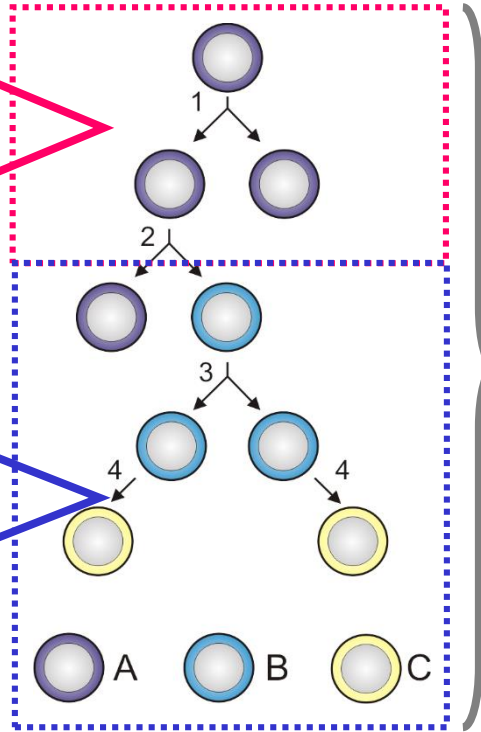
# „Široká nabídka“ kmenových buněk

Kmenové buňky generují a regenerují naše tělo

Schopnost vytvářet identické kopie  
**Sebeobnova**

Schopnost vytvářet diferenciované/funkčně specializované buňky  
**Pluri-/Multi-potence**

## 1. Nediferencovaný růst



## 2. Diferenciace

Embryonální kmenové buňky

„Dospělé“ kmenové buňky

Fetální  
Orgánové  
Tkáňové

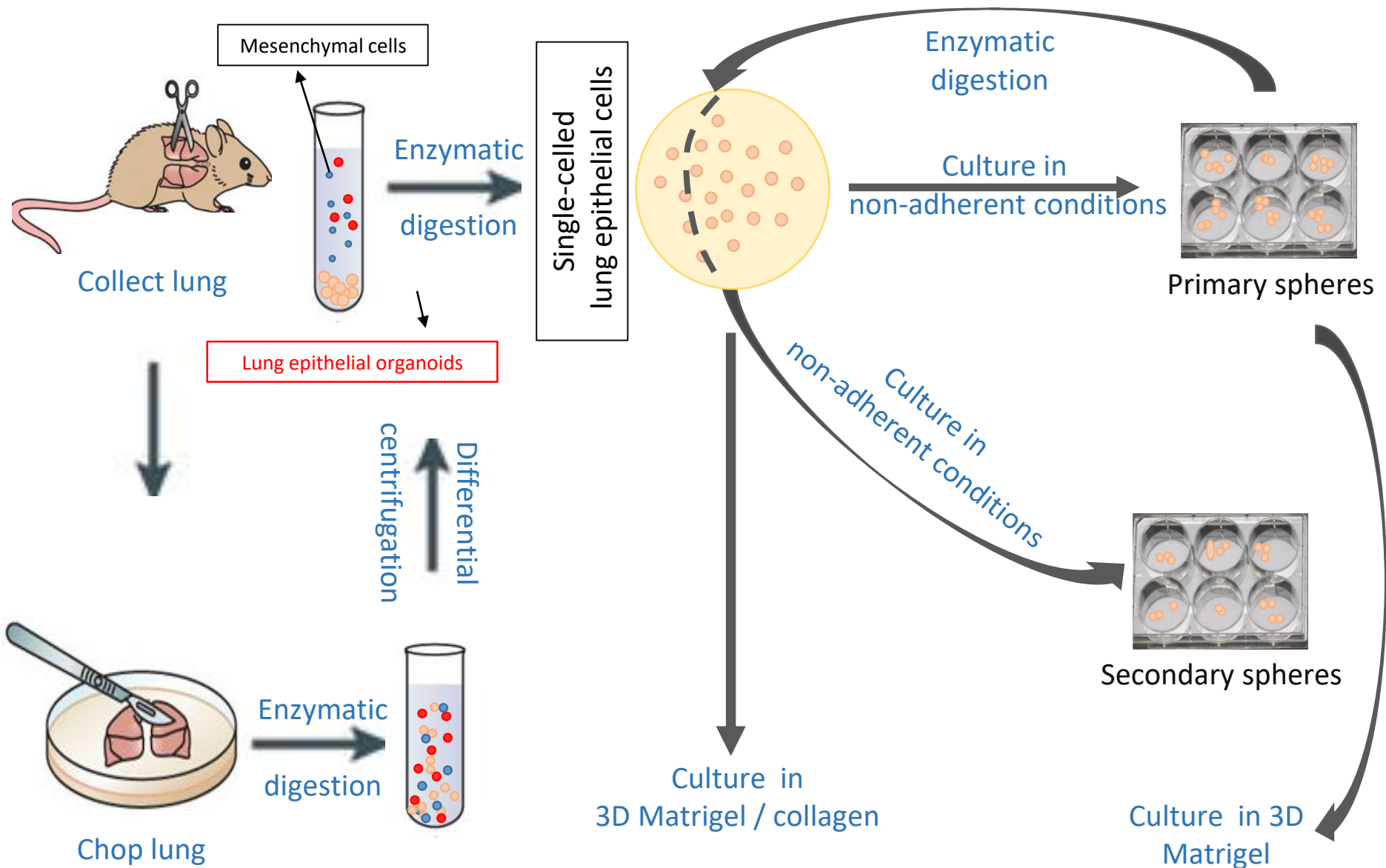
Indukované pluripotentní kmenové buňky



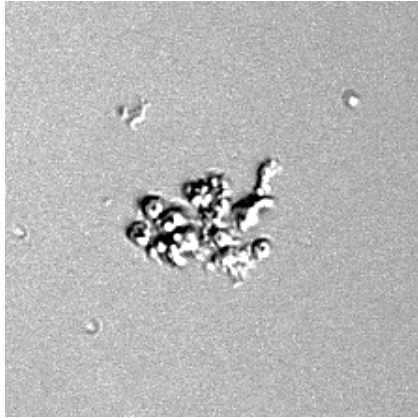
Nádorové kmenové buňky

**Odlišné vlastnosti**

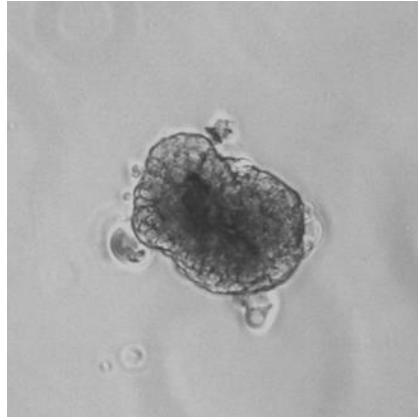
# Kmenové buňky lze nalézt, vyjmout z tkáně a zkoumat 1



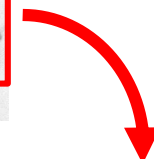
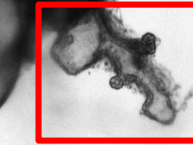
# Kmenové buňky lze nalézt, vyjmout z tkáně a zkoumat 2



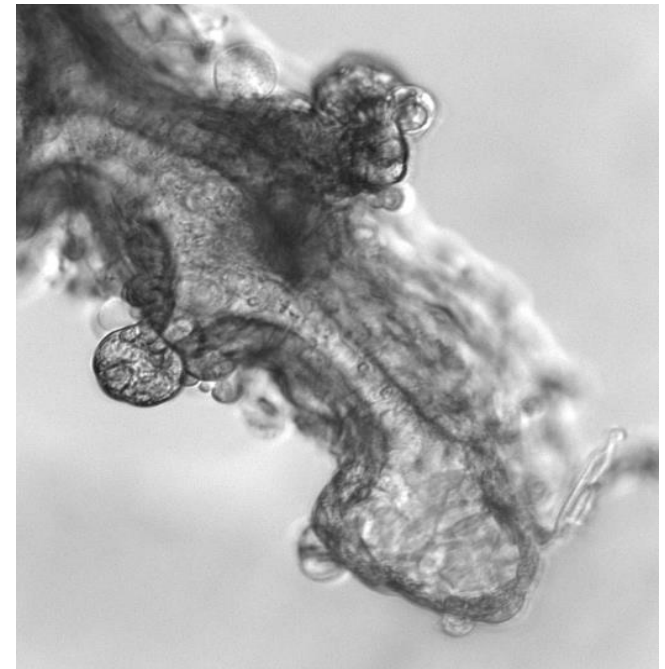
KB plic po izolaci



Rostoucí sféroid z KB plic  
„lungosféra“



**Organoid**  
morfogeneze ve 3D prostředí

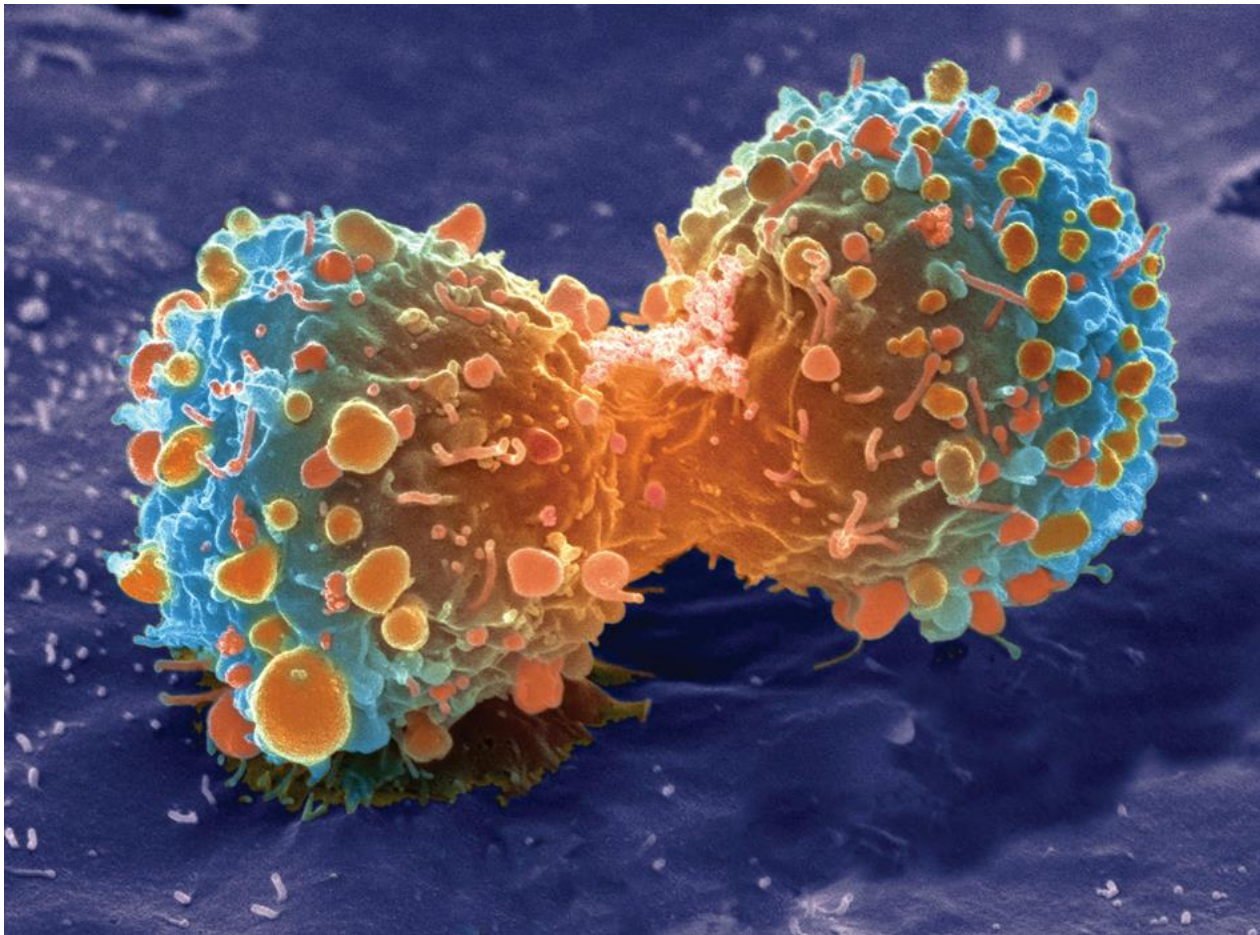




# Dělení buněk 1

## Základní koncept 1

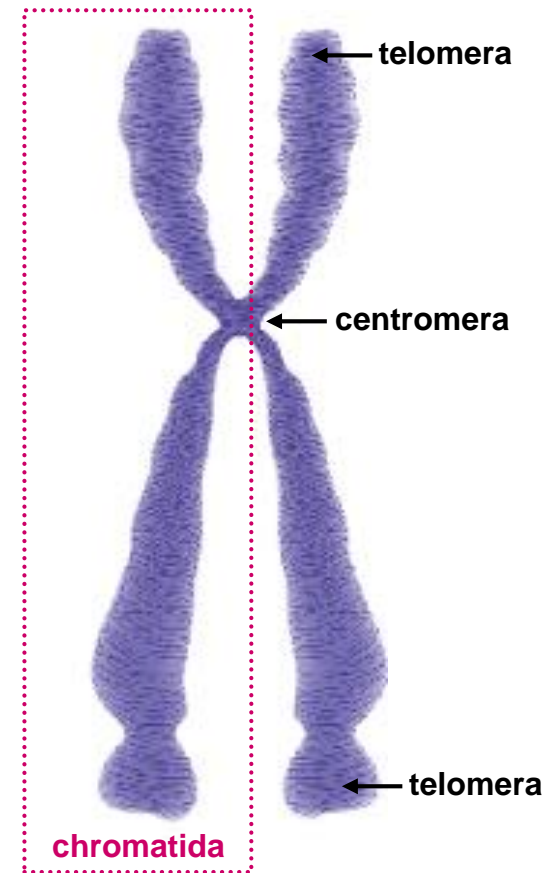
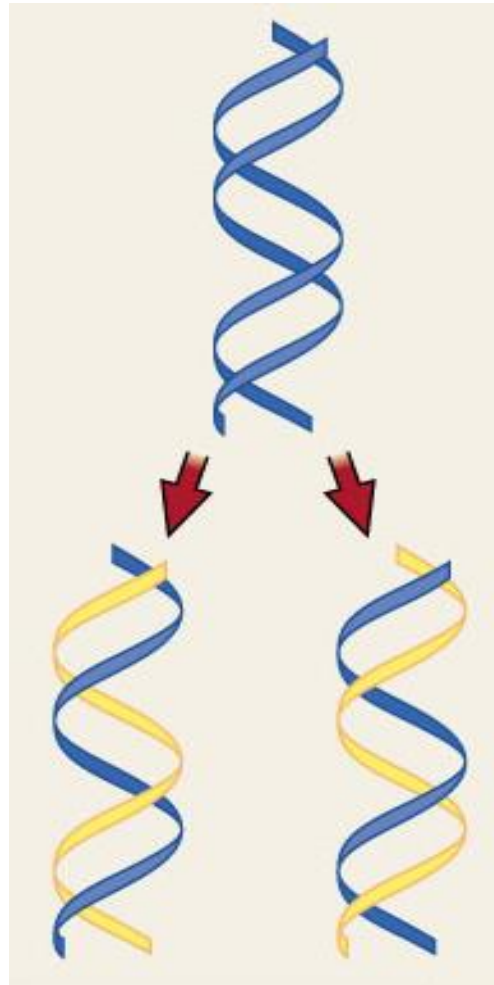
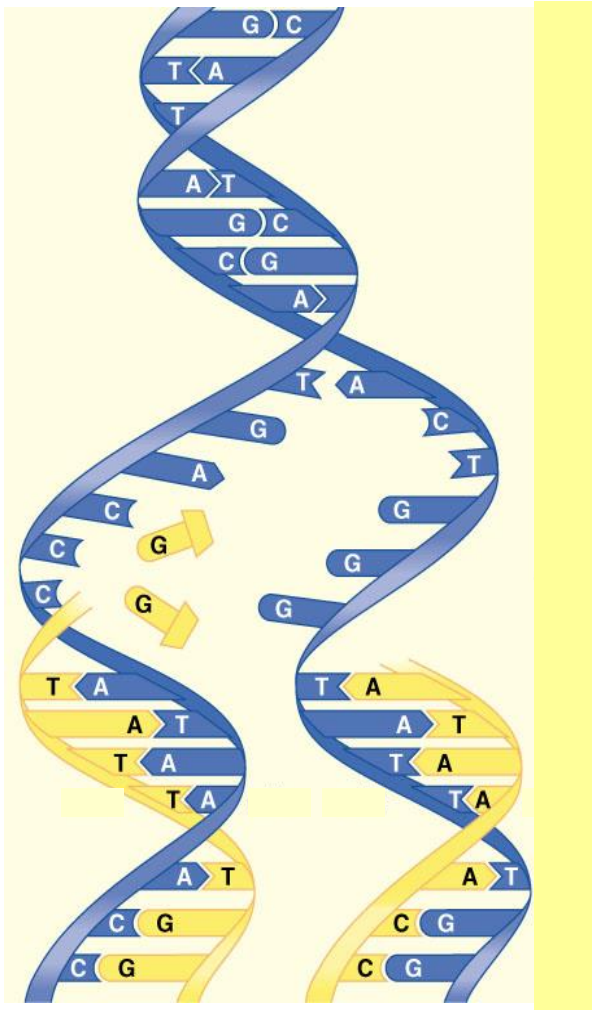
**MITÓZA a CYTOKINEZE produkují dvě geneticky identické buňky**



# Dělení buněk 2

## STABILNÍ (NEMĚNNÝ) GENOM

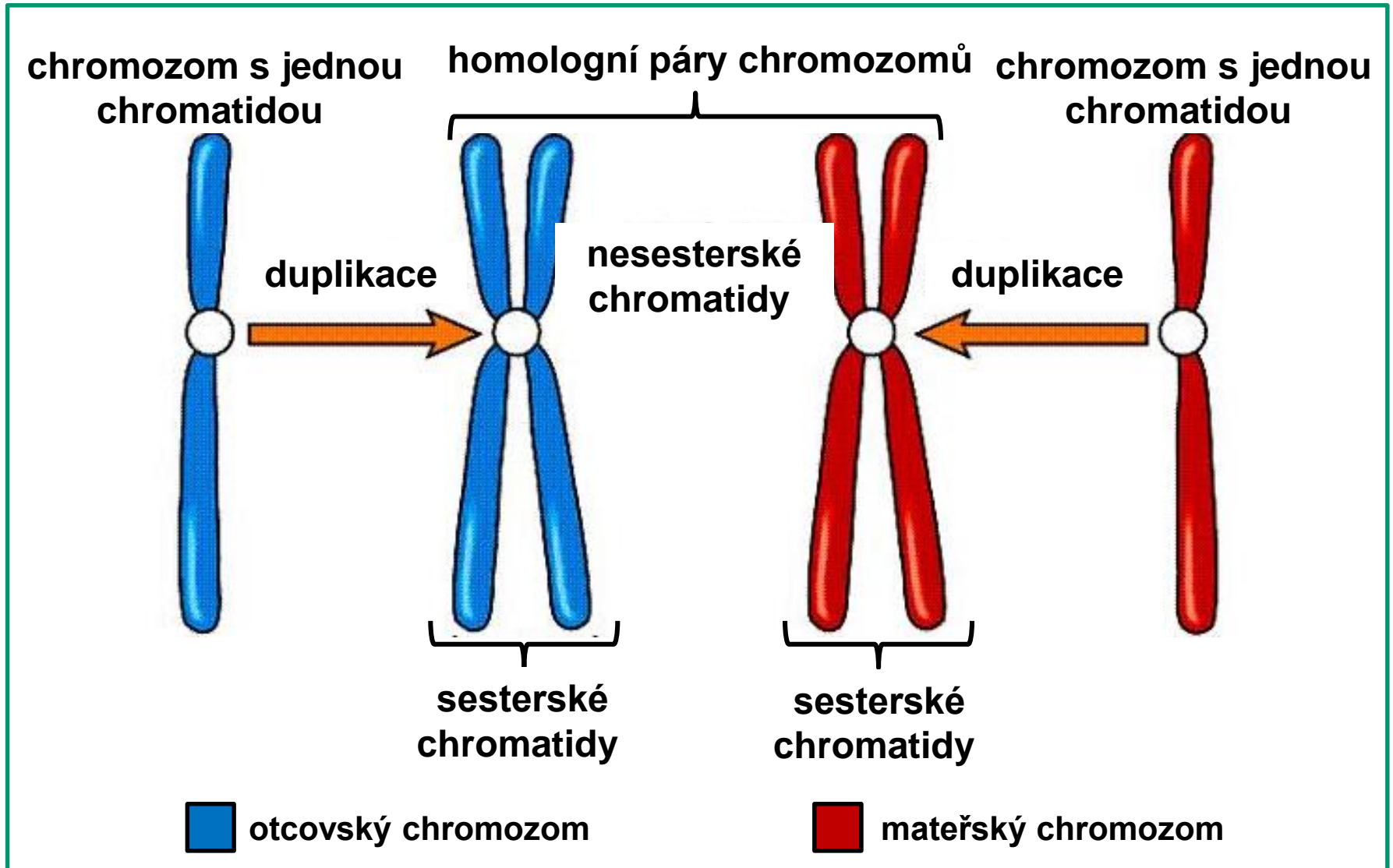
Udržuje se prostřednictvím semikonzervativní duplikace DNA



Kondenzovaný duplikovaný chromozom

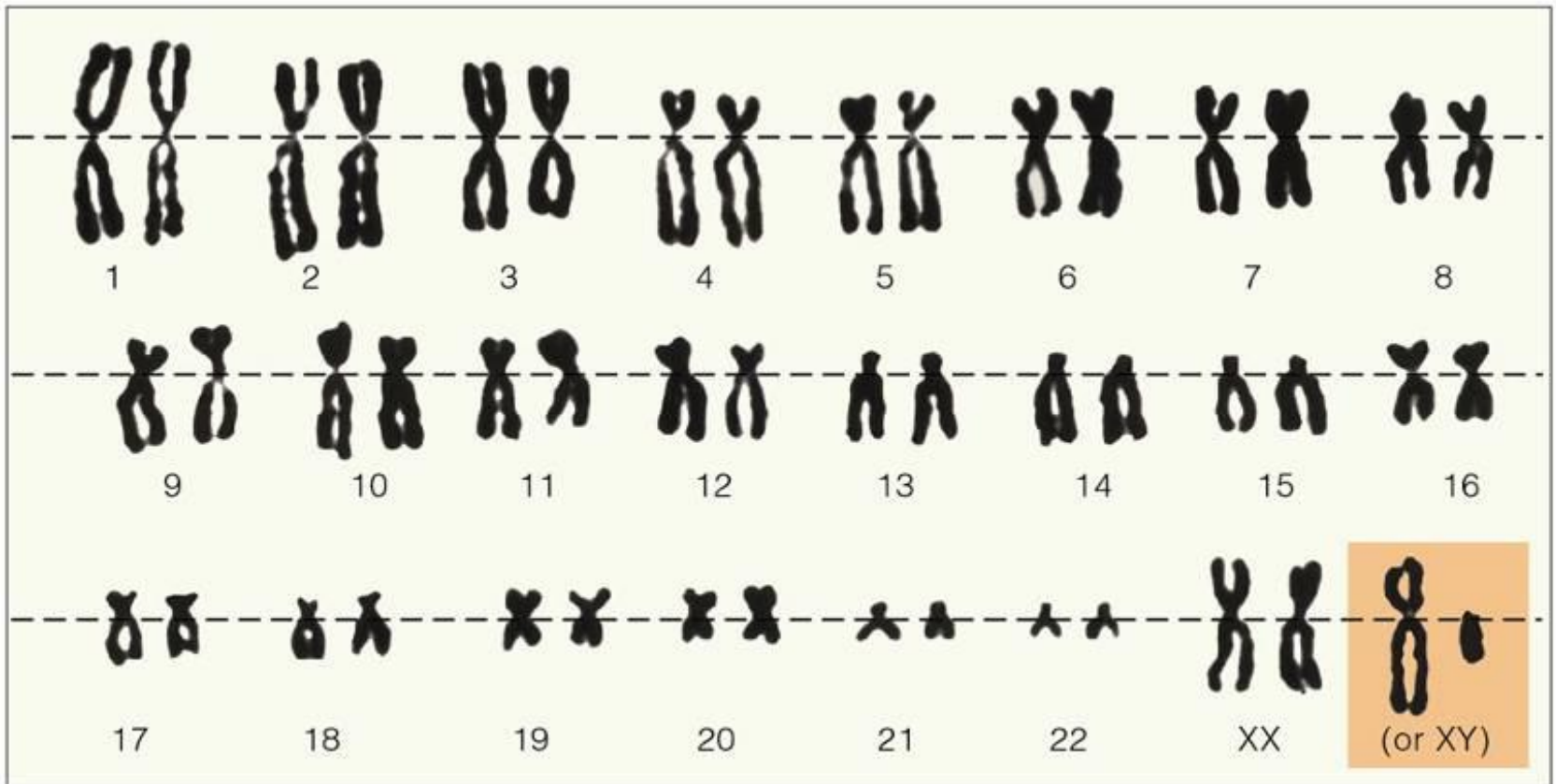
# Dělení buněk 3

## Metabolismus chromozomů – Homologní chromozomy



# Dělení buněk 4

Páry homologních chromozomů (2N) organizované do podoby „KARYOTYPU“



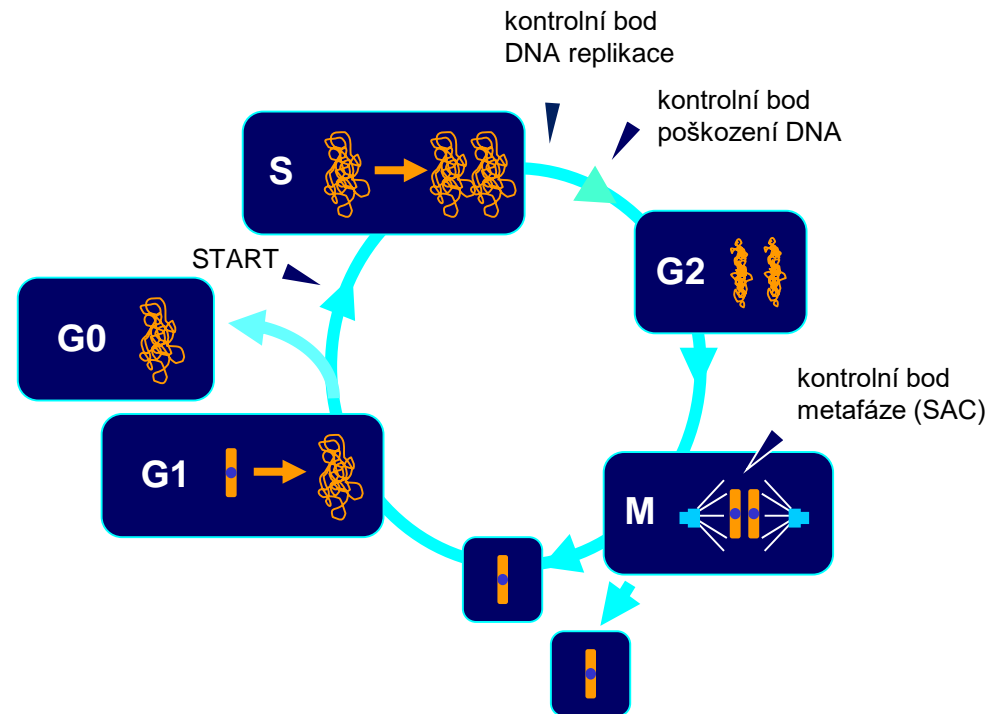
# Dělení buněk 5

## Základní koncept 2

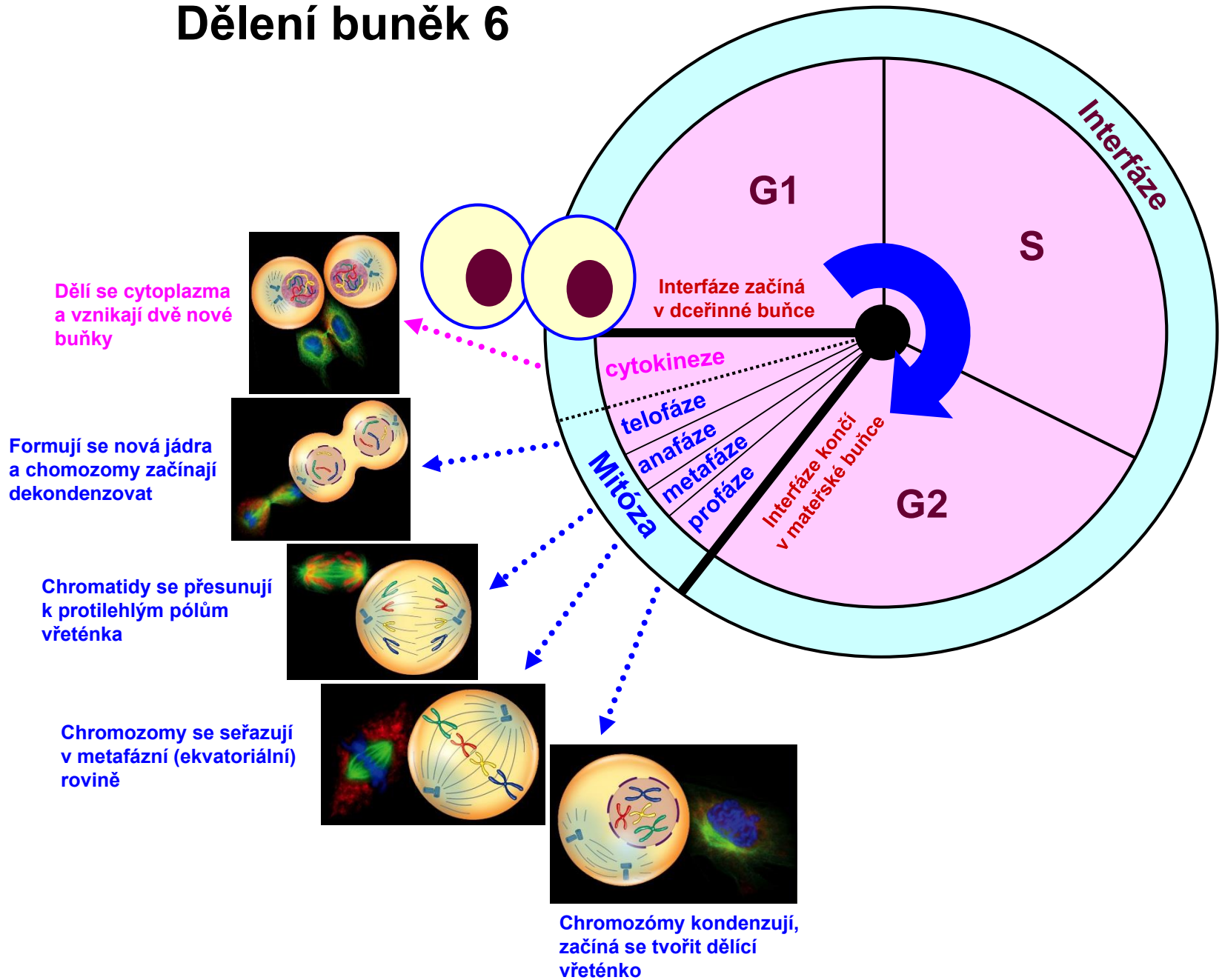
**MITÓZA a CYTOKINEZE jsou částí buněčného cyklu**

### Buněčný cyklus

- má semi-modulární charakter
- je vybaven kontrolními body
- mezi buňkami je koordinován růstovými faktory

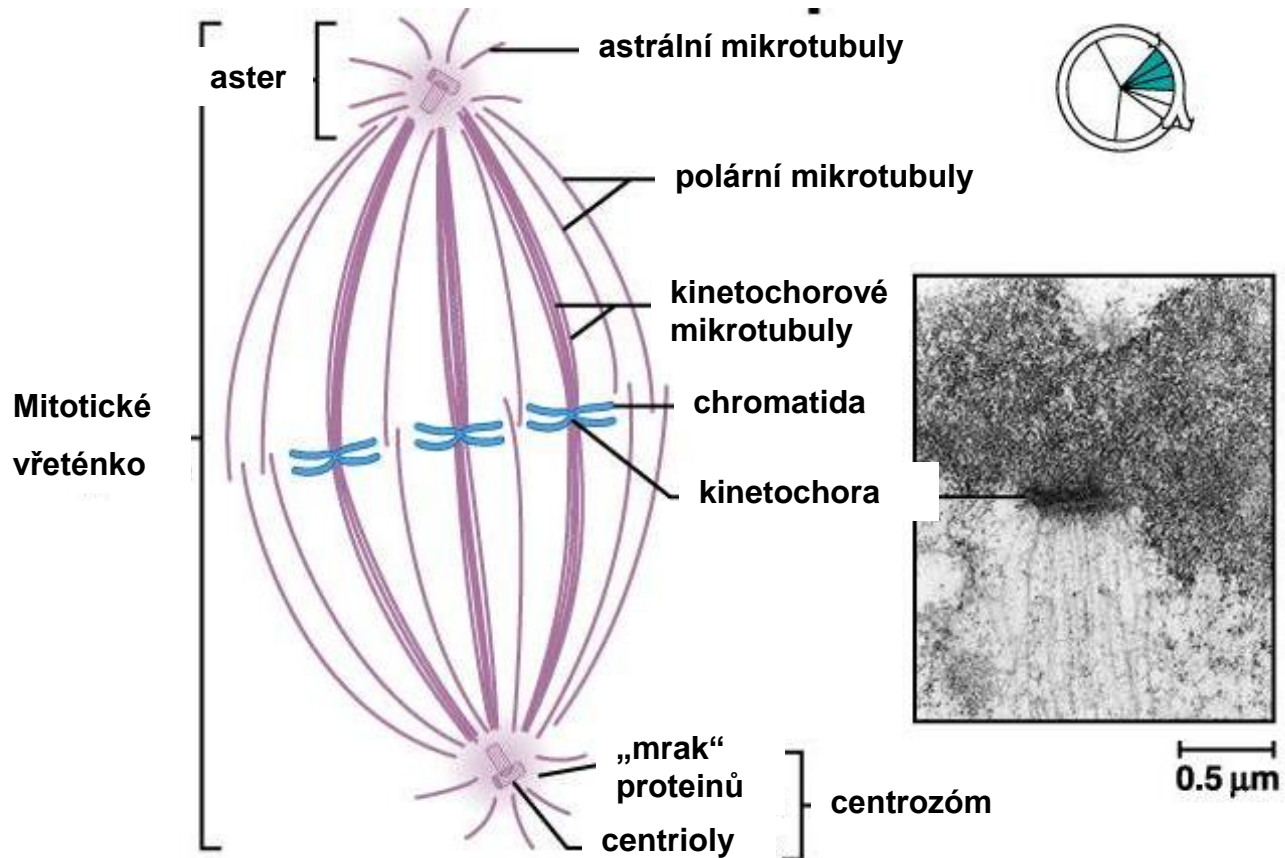


# Dělení buněk 6



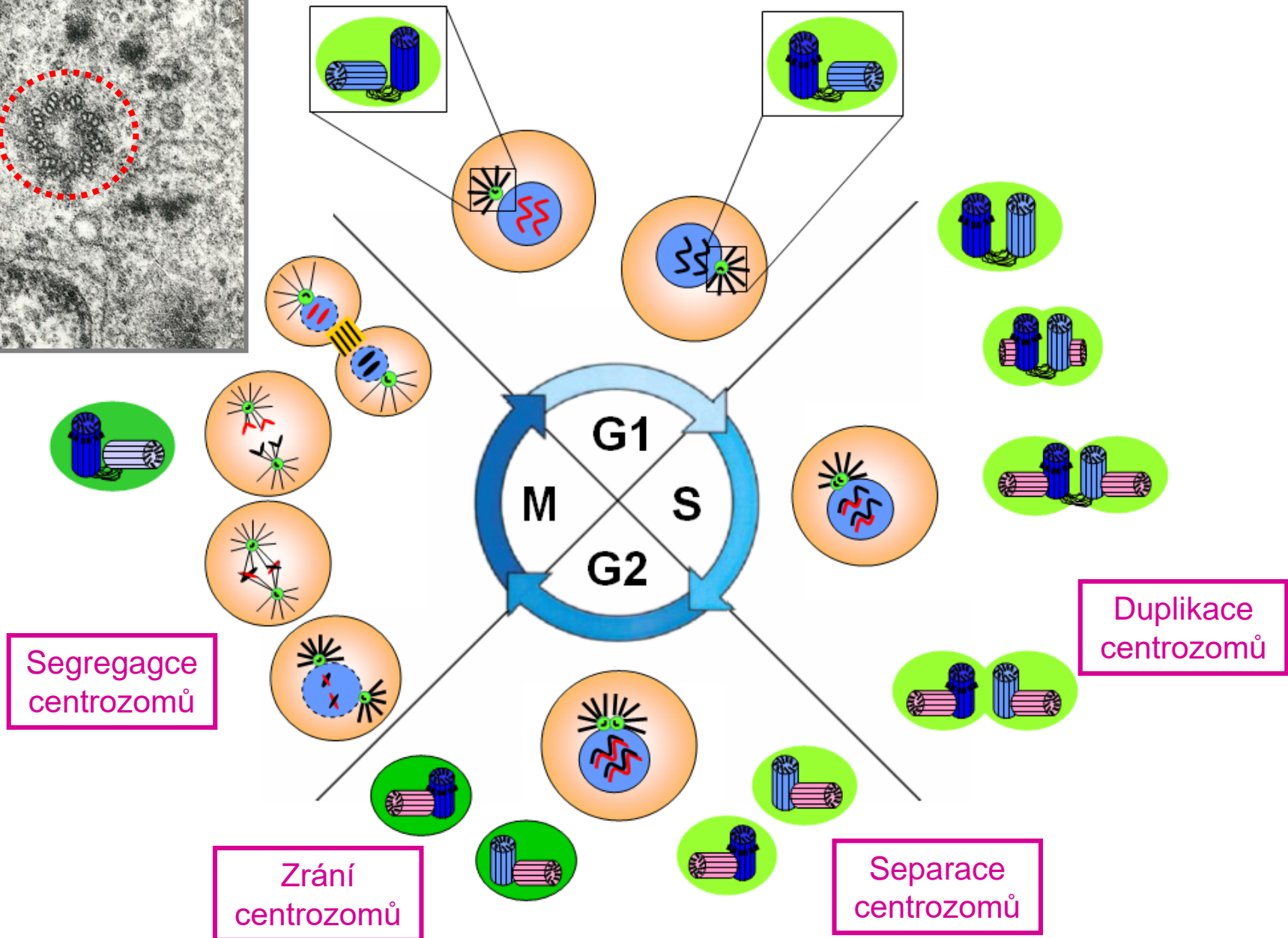
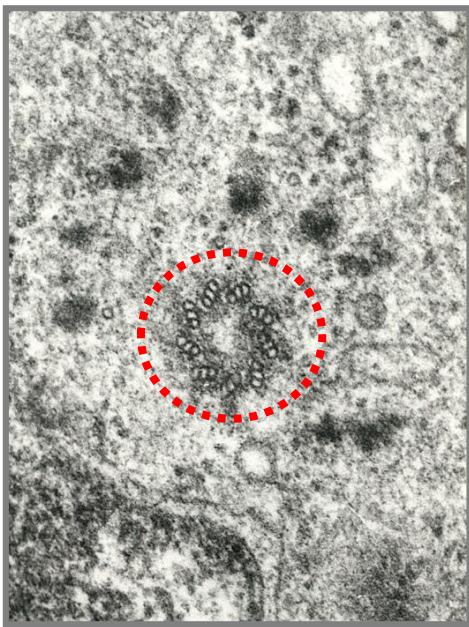
# Dělení buněk 7

## Mitotické vřeténko



# Dělení buněk 8

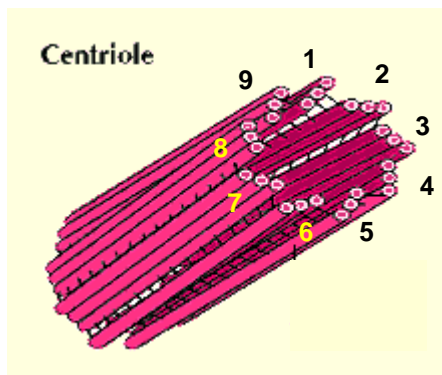
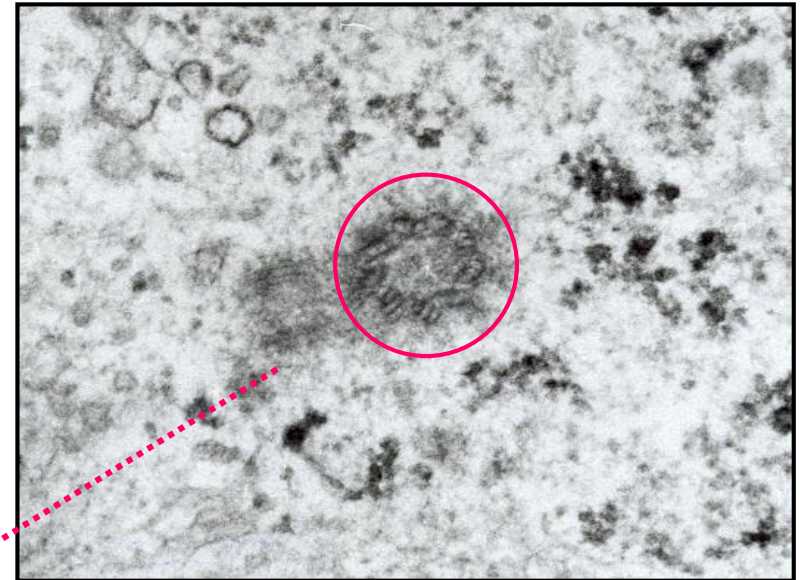
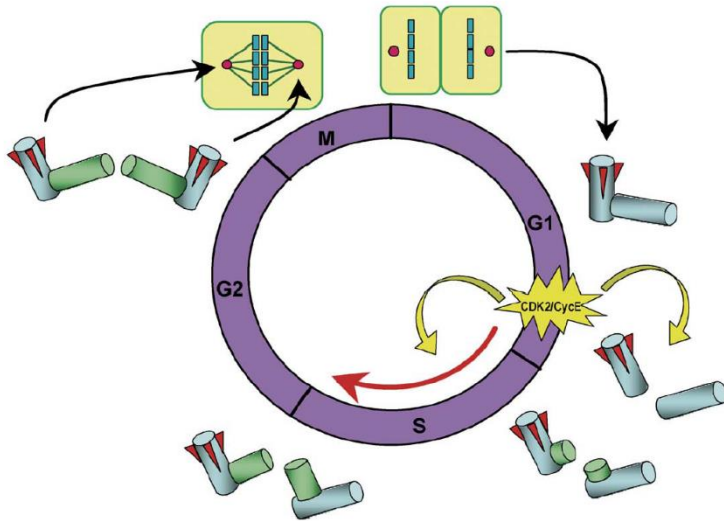
## Metabolismus centrozomů Semikonzervativní duplikace



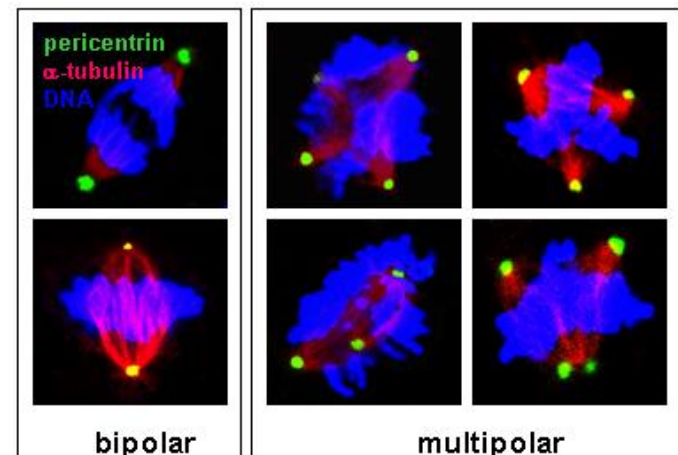


# Dělení buněk 9

## Struktura centrozomů



Průměr - 0.2  $\mu\text{m}$   
Délka - 0.5  $\mu\text{m}$



# Dělení buněk 10

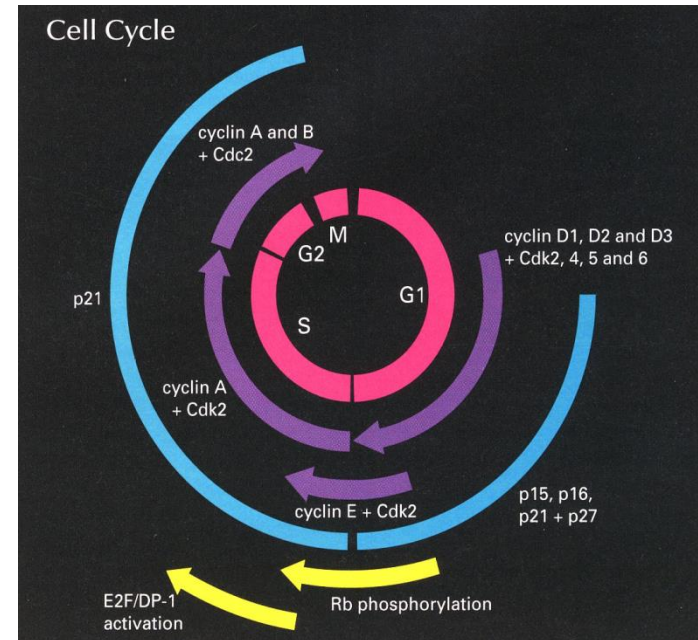
## Regulace – Cyklin-Dependentní Kinázy (CDK) + Cykliny

### Cdks and Related Proteins

kinase	PSTAIRE motif	regulatory subunits	putative substrates
Cdc2 p34	PSTAIRE	cyclin A & B	Rb, NF, histone H1
Cdk2	PSTAIRE	cyclin A, E & D	Rb, p27
Cdk3	PSTAIRE	cyclin E	E2F-1/DP-1
Cdk4	PV/ISTVRE	cyclin D1, D2, & D3	Rb
Cdk5	PISSLRE	p35	NF, Tau
Cdk6	PLSTIRE	cyclin D1, D2, & D3	Rb
Cdk7	NRTALRE	cyclin H	Cdc2, Cdk4/6
Cdk8	SACRE	cyclin C	RNA Pol II
Cdk9	PITALRE	cyclin T	Rb, MBP

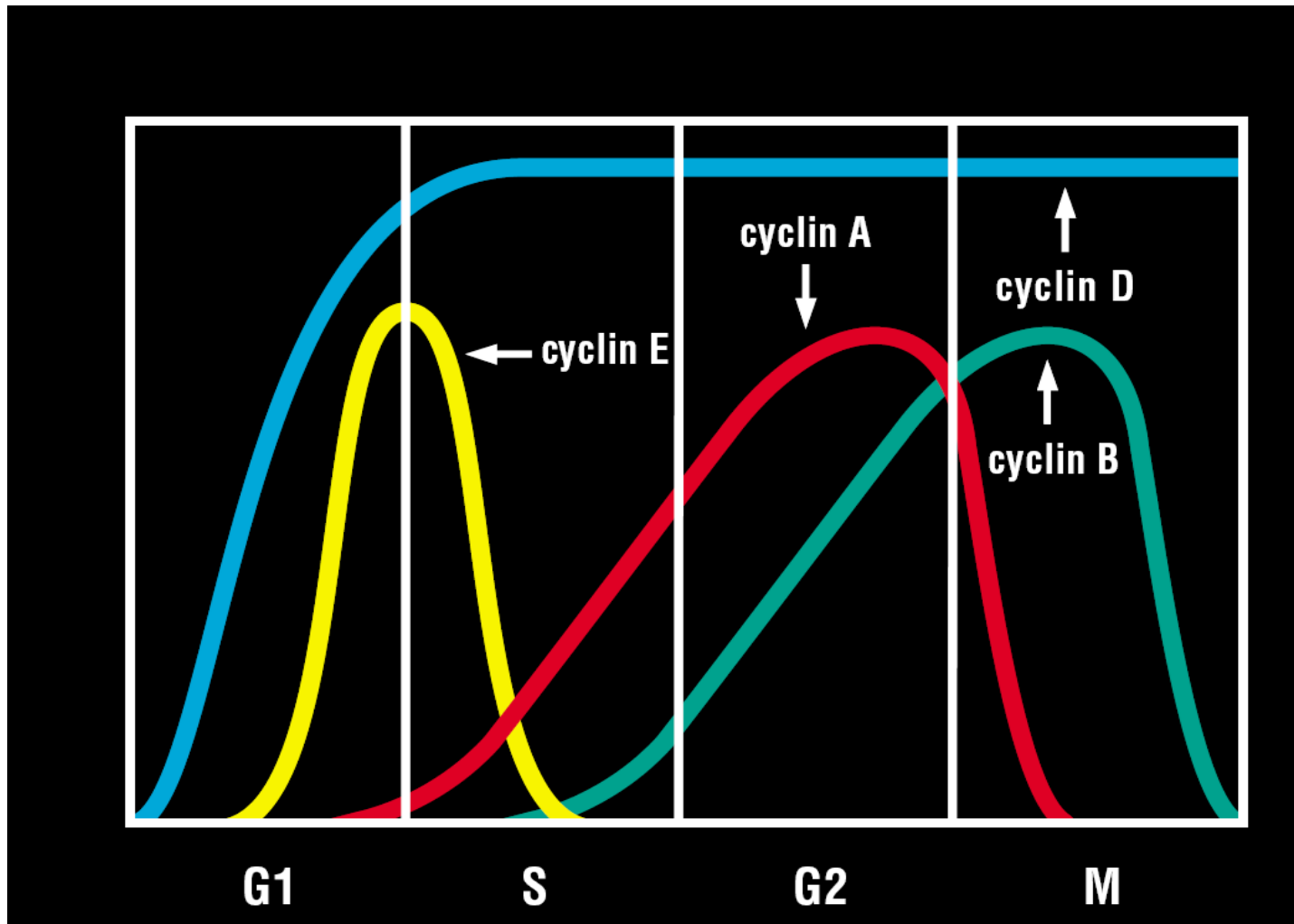
### Major Cyclin-Cdk Cell Cycle Complexes

cell cycle stage	cyclin-Cdk complexes	inhibitors						
		p15	p16	p18	p19	p21	p27	p57
G1	cyclin D-Cdk4/6	+	+	+	+	+	+/-	+/-
G1/S	cyclin E-Cdk2	-	-	-	-	+	+	+
S	cyclin A-Cdk2	-	-	-	-	+	-	+
G2/M	cyclin B-Cdc2	-	-	-	-	+	-	-

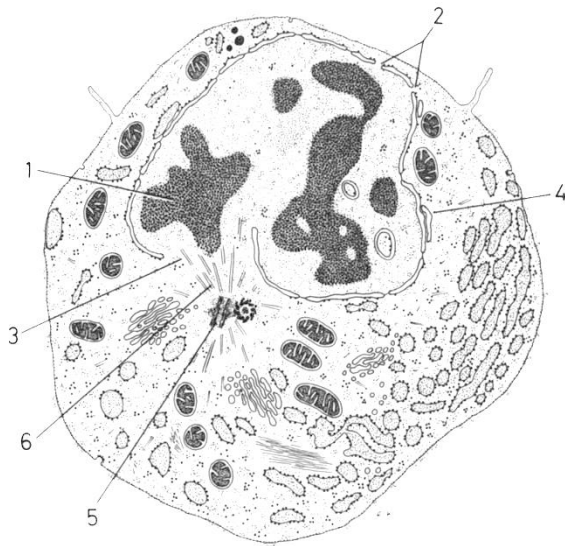


# Dělení buněk 11

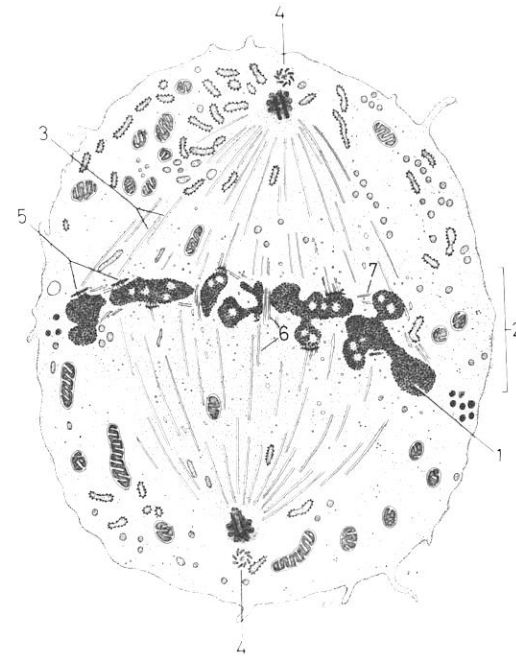
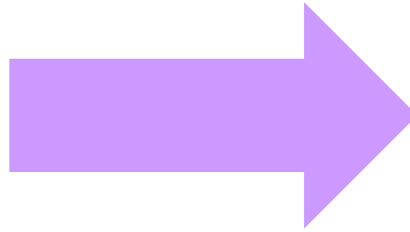
## Periodicita exprese cyklinů



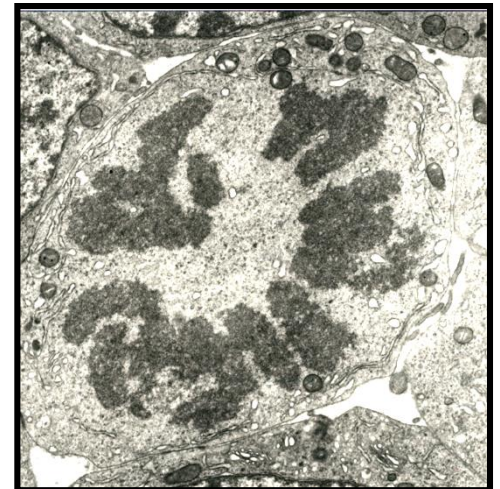
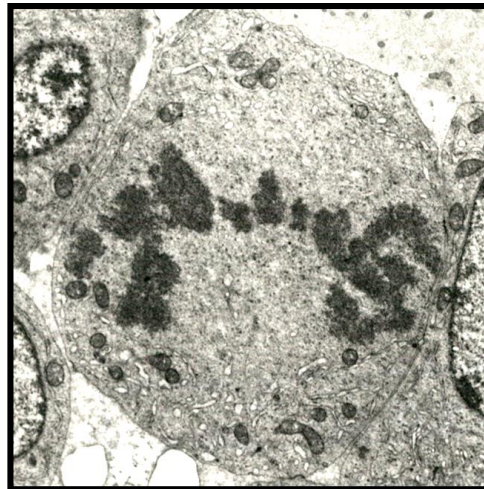
# Dělení buněk 12



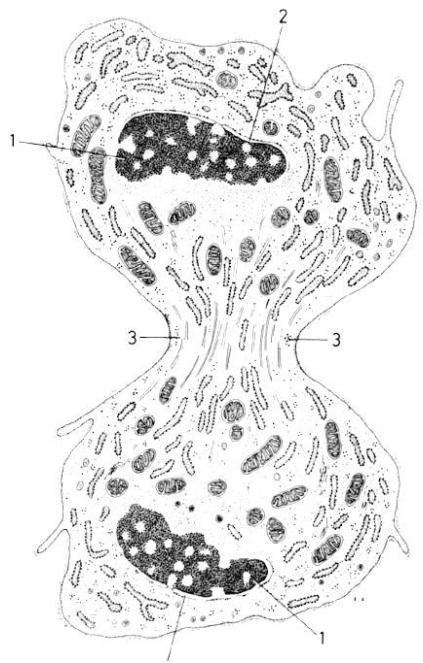
**profáze**



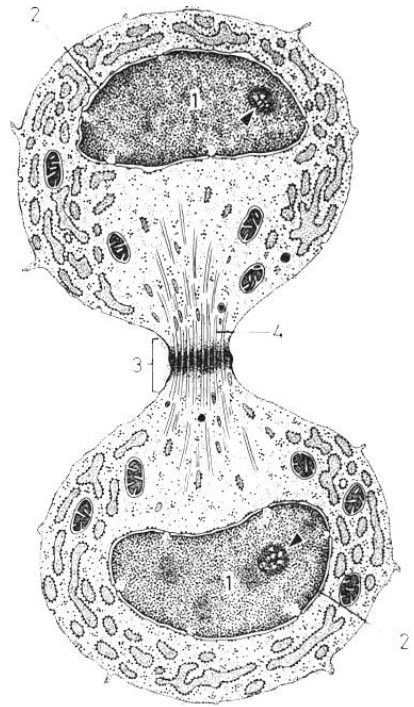
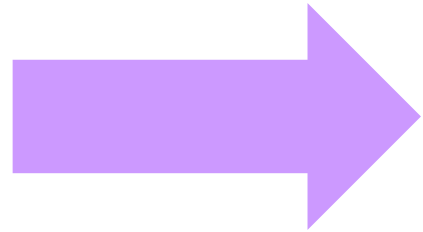
**metafáze**



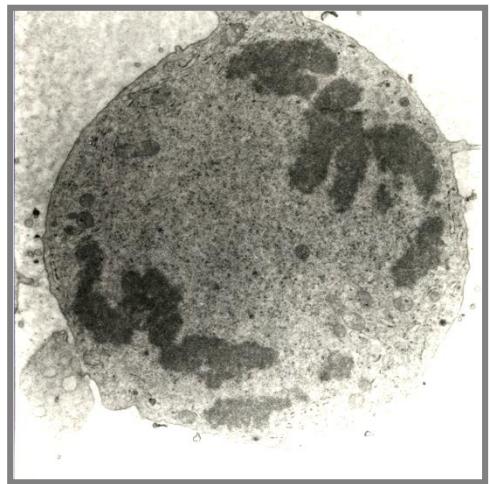
# Dělení buněk 13



**anafáze -telofáze**



**telofáze**



**Děkuji za pozornost !**