

Základní metody molekulární biologie

How to Classify Science



If it moves, it's biology.



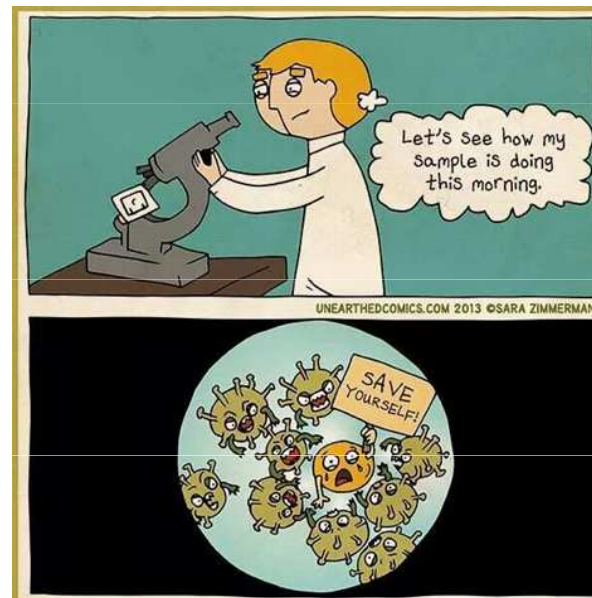
If it stinks, it's chemistry.



If it doesn't work, it's physics.

Biologický materiál

- Biologický materiál je vše, co bylo či je součástí nebo produktem živého organismu
 - sušená bylinná čajová směs
 - ohryzek od jablka
 - dubové prkno
 - kočičí trus/srst
 - zkumavka s virem SARS-CoV-2
 - tělní tekutiny – moč, krev, plazma, sérum, sliny, ejakulát, hlen, MMM
 - tkáně, buňky
 - experimentální organismy



Slina jako diagnostické médium – biomarkery onemocnění

– autoimunitní onemocnění

Sjögrenův syndrom – α -amyláza, karbonická anhydráza VI, laktoferin, β 2-mikroglobulin

– neurodegenerativní onemocnění

Alzheimerova choroba – celkový tau protein, fosforylovaný tau protein, amyloid- β a alfa-synuklein

– genetické onemocnění

cystická fibróza – Ca, PO_4^{2-} , Na, K, Cl, \downarrow objem slin, močovina, kyselina močová, prostaglandin E_2

– rakovina

spinocelulární karcinom – IL-8, IL-6, IL-1 β , IL-4, IL-1, VEGF, HER2, tissue polypeptide antigen (TPA) and EGFR, LDH, N- α -acetyltransferase 10 protein (Naa10p), carcinoembryonic antigen (CEA) protein, serum basic fibroblast growth factor (bFGF), transferin, cyklin D, Maspin, specifické mRNA

r. prsu - HER2/neu (C-erbB-2), VEGF, EGF, specifické mRNA, autoprotilátky proti HER2 a MUC-1

r. slinivky – transkriptomické markery mRNA (*KRAS*, *MBD3L2*, *ACRV1* a *DPM1*), specifické miRNA, laktoperoxidáza, Cyklofilin B, Cytokeratiny (14, 16 a 17)

– alergie

potravinová alergie - IgE a IgG₁

– kardiovaskulární onemocnění

CK-MB, myoglobin, troponin I, myeloperoxidáza, markery zánětu (CRP, TNF- α , MMP-9), markery adheze (rozpustný CD40 a ICAM-1)

– metabolismus

diabetes melitus 2. typu – 1,5-anhydroglucitol, CRP, leptin, IL-6, TNF- α

– infekční onemocnění

HIV – protilátky proti HIV

viry – přítomnost protilátek IgM/IgA, virová RNA

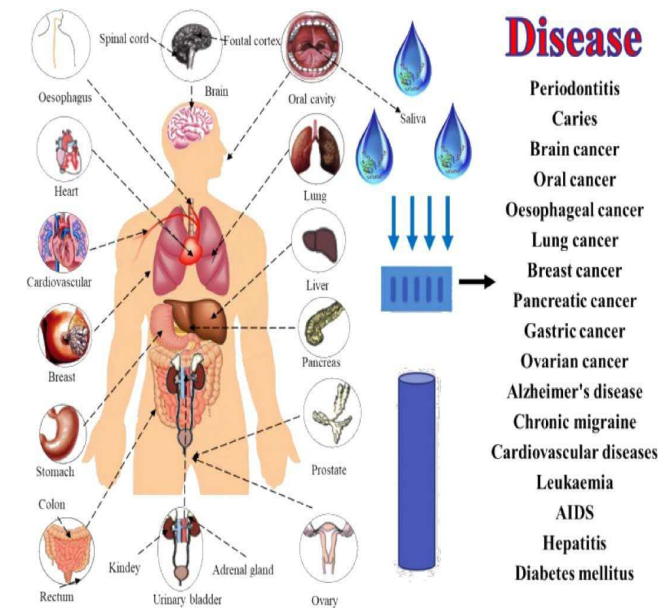
Kandidóza, amébiáza – přítomnost *Candida* sp.,

Entamoeba histolytica (protilátky) Hepatitida – přítomnost DNA viru HBV

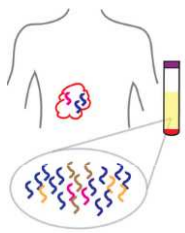
Peptidické vředy, gastritida, – přítomnost *Helicobacter pylori* (IgG protilátky, DNA *H. pylori*)

– hormonální nemoci

Cushingův syndrom a Addisonova choroba – kortizol; pohlavní hormony – syndrom polycystických ovaríí, menopauza/andropauza, anovulace, hypogonadismus, hyperestrogenismus



Metody molekulární biologie



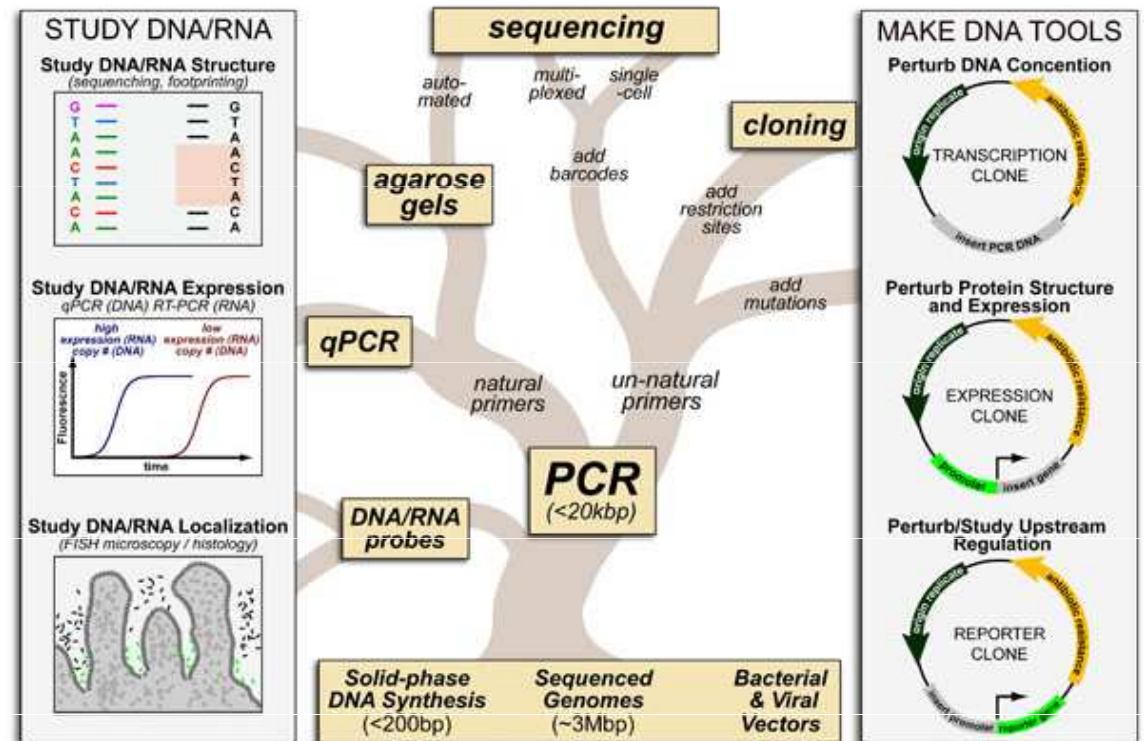
Práce s biologickým materiálem



Izolace DNA, RNA, PROTEINY



Detekce a Kvantifikace



DNA

genotypizace/detekce polymorfismu a mutace

1. PCR (amplifikace konkrétního fragmentu)- RFLP (naštěpení spec. restrikčními enzymy) – detekce na ELFO
2. Real-Time PCR (qPCR)
3. Sekvence
4. micro-arrays

analýza sekvence DNA

klonování, zásah do genové exprese, CRISPR

Epigenom

metylace DNA

histonové modifikace

RNA - mRNA

Analýza genové exprese

Nothern Blott

Real-Time PCR (qPCR)

Analýza transkriptomu

nekódující RNA (miRNA, siRNA)

Analýza genové exprese

Interference

PROTEIN

Analýza proteinů

Imunohistochemické metody

1. Western Blott

2. ELISA

Analýza proteomu

MS

Analýza buněk

Průtoková flow-cytometrie

Single dose of zilebesiran safely and effectively lowered blood pressure for six months

American Heart Association Scientific Sessions 2023, Late-Breaking Science Abstract in LBS.04

New drug zilebesiran effectively lowers blood pressure for six months, study finds

U100/100

Download PDF Copy

 Reviewed

American Heart Association

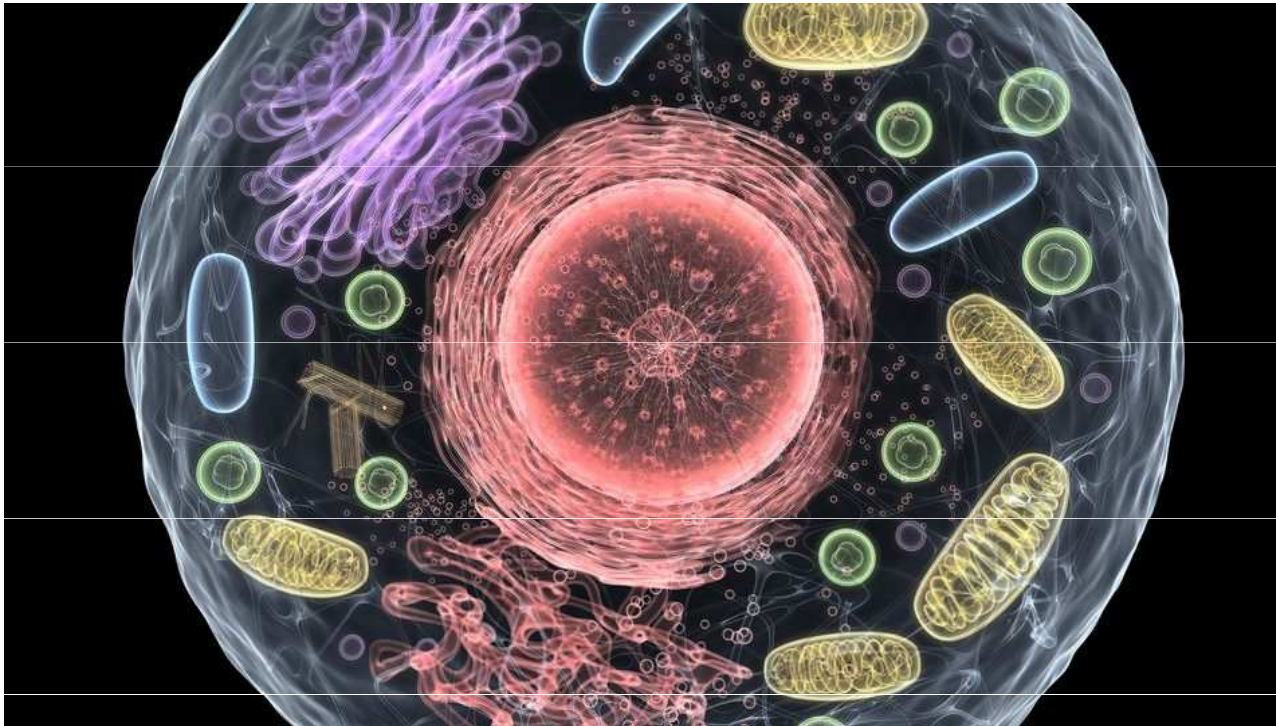
Nov 13 2023

A single injection of the experimental medication zilebesiran was safe and effective in reducing systolic blood pressure in people with mild-to-moderate high blood pressure for up to six months, as detailed in the Phase 2 of the KARDIA study, reported as late-breaking science today at the American Heart Association's Scientific Sessions 2023. The meeting, Nov. 11-13, in Philadelphia, is a premier global exchange of the latest scientific advancements, research and evidence-based clinical practice updates in cardiovascular science.

Zilebesiran is an investigational RNA interference agent targeting angiotensinogen (AGT), a hormone produced predominantly in the liver that contributes to blood pressure regulation.

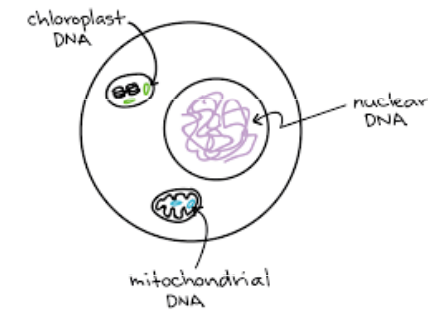
“Uncontrolled high blood pressure is a leading cause of death and disease, so there is a need for new treatments that provide sustained blood pressure control over longer periods of time. This will improve outcomes for people with hypertension. Uncontrolled hypertension also increases the risk of heart disease.”

Nukleové kyseliny



INTRACELULÁRNÍ

- DNA - jádro, mitochondrie, „exclusome“
- mRNA a ncRNA (miRNA, siRNA)

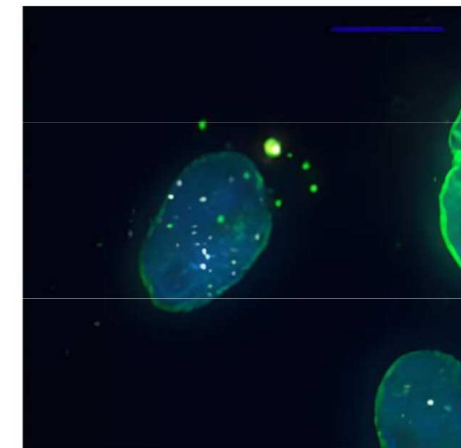
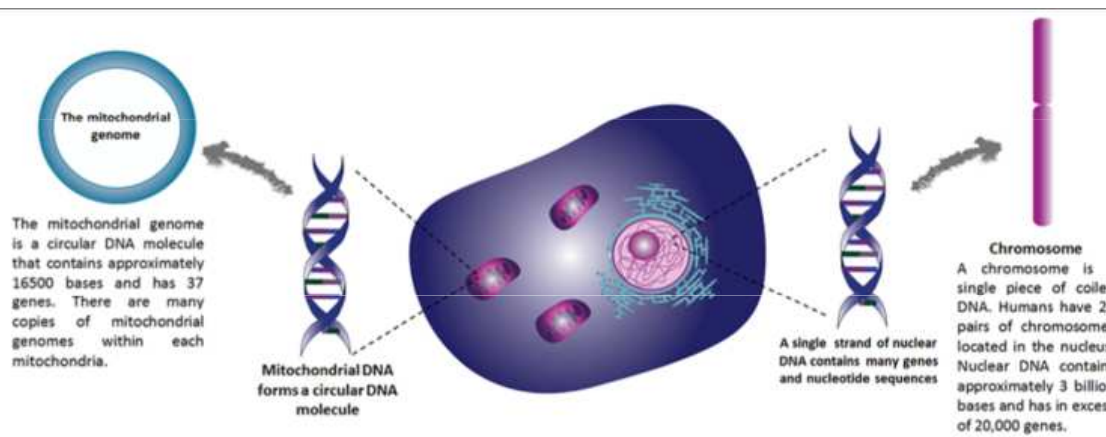


OCTOBER 2, 2023

Editors' notes

Cell biologists identify new organelle present in mammalian cells made of rings of DNA

by Peter Rüegg, ETH Zurich

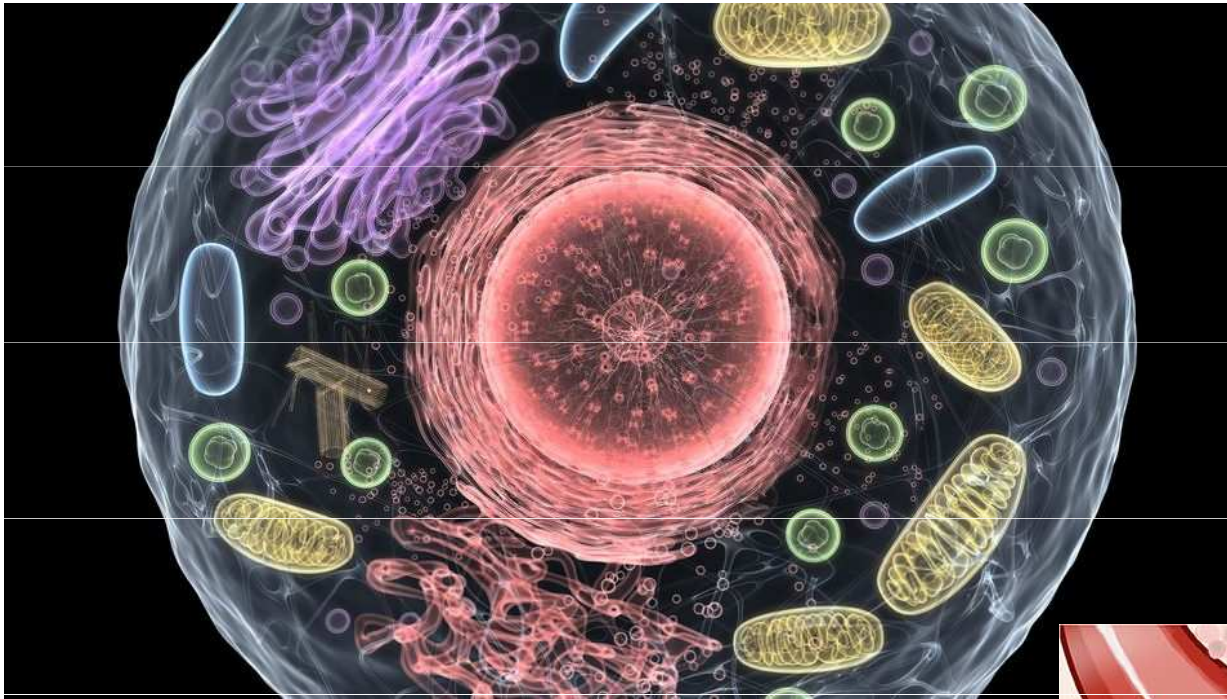


Almost like a moon in a planet, the exclusome (yellow-green dot) lies in the cytoplasm near the nucleus (blu...

Researchers at ETH Zurich recently identified a previously unknown compartment in mammalian cells. They have named it the exclusome. It is made up of DNA rings known as plasmids. The researchers have [published details of their discovery in the journal *Molecular Biology of the Cell*](#).

Hostitelské NK/Infekční částice

Nukleové kyseliny

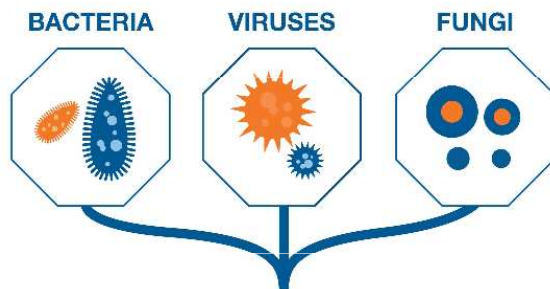


EXTRACELULÁRNÍ

- cirkulující cell-free DNA
- ncRNA
- extracelulární vezikuly
 - exozomy, mikrovezikuly, apoptická tělíska
 - nesou gDNA, mtDNA, RNA, proteiny, lipidy

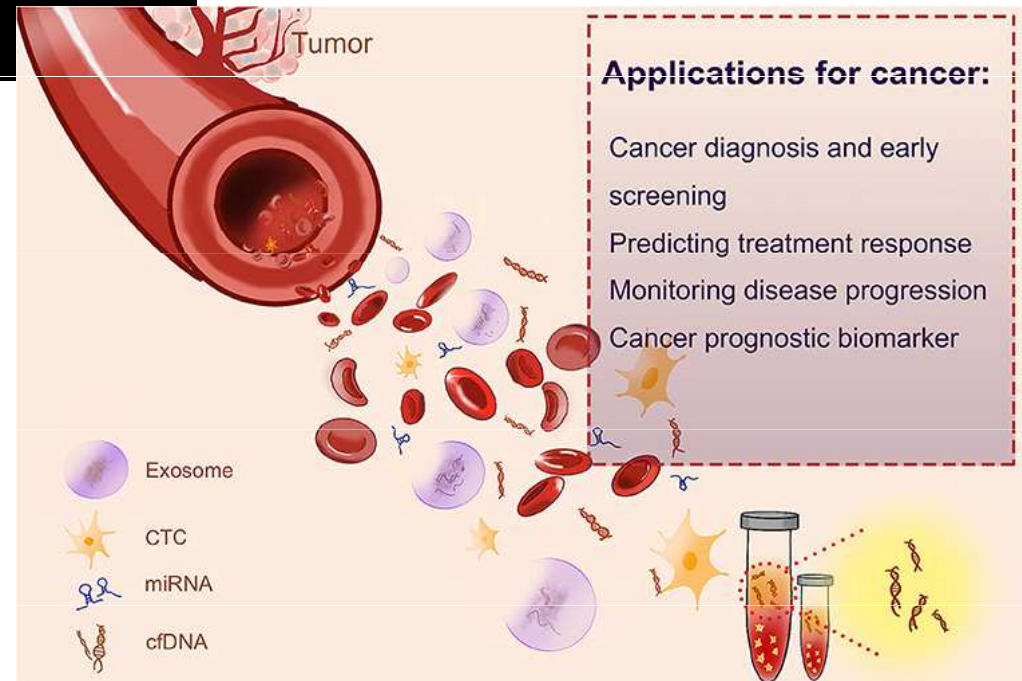
Hostitelské NK/Infekční částice/Mikrobiom

The human body is host to trillions of:



This vast community is known as the

MICROBIOTA



Liquid biopsy

Understanding torquetenovirus (TTV) as an immune marker

Edmund J Gore ¹, Lilli Gard ¹, Hubert G M Niesters ¹, Coretta C Van Leer Buter ¹

Affiliations + expand

PMID: 37384041 PMCID: PMC10296770 DOI: 10.3389/fmed.2023.1168400

Abstract

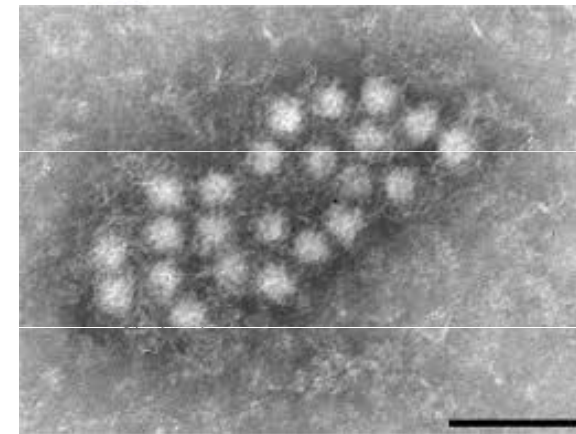
Torquetenovirus (TTV), a small, single stranded anellovirus, is currently being explored as a marker of immunocompetence in patients with immunological impairment and inflammatory disorders. TTV has an extremely high prevalence and is regarded as a part of the human virome, the replication of which is controlled by a functioning immune system. The viral load of TTV in plasma of individuals is thought to reflect the degree of immunosuppression. Measuring and quantifying this viral load is especially promising in organ transplantation, as many studies have shown a strong correlation between high TTV loads and increased risk of infection on one side, and low TTV loads and an increased risk of rejection on the other side. As clinical studies are underway, investigating if TTV viral load measurement is superior for gauging antirejection therapy compared to medication-levels, some aspects nevertheless have to be considered. In contrast with medication levels, TTV loads have to be interpreted bearing in mind that viruses have properties including transmission, tropism, genotypes and mutations. This narrative review describes the potential pitfalls of TTV measurement in the follow-up of solid organ transplant recipients and addresses the questions which remain to be answered.

Keywords: TTV; functional immunity; immune marker; pitfalls; torquetenovirus; transplantation.

- 1997- “commensal viruses”; extremely high prevalence
- involve in immune dysfunction and immune activation, including congenital and iatrogenic immunodeficiency, chronic viral infections and aging
- The replication of TTV, similar to all the viruses constituting the virome, is controlled by a functioning immune system. And quantifying the virus load in blood is thought to be a potential read-out of this functionality.
- correlation between unfavorable outcome or disease progression, and increasing or higher TTV loads
- high TTV loads are associated with an increased risk of infection, and low TTV loads are associated with an increased risk of rejection
- pantropic (many tissues and fluids)- blood, fairly high viral loads in breastmilk, respiratory secretions, and saliva

Torquetenovirus (TTV) is the most abundant component of human virome

- endemic worldwide
- insensitive to current antiviral drugs
- marker of immunosuppression



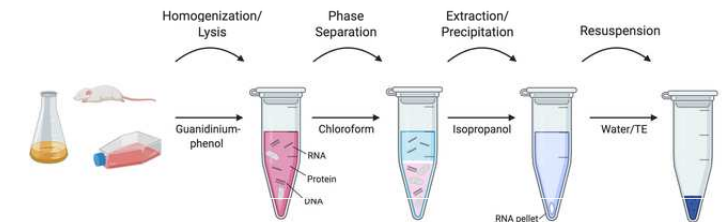
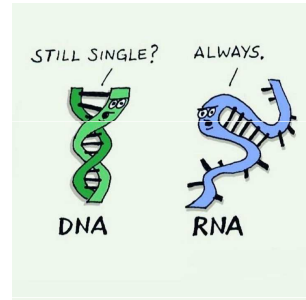
statement

Figures

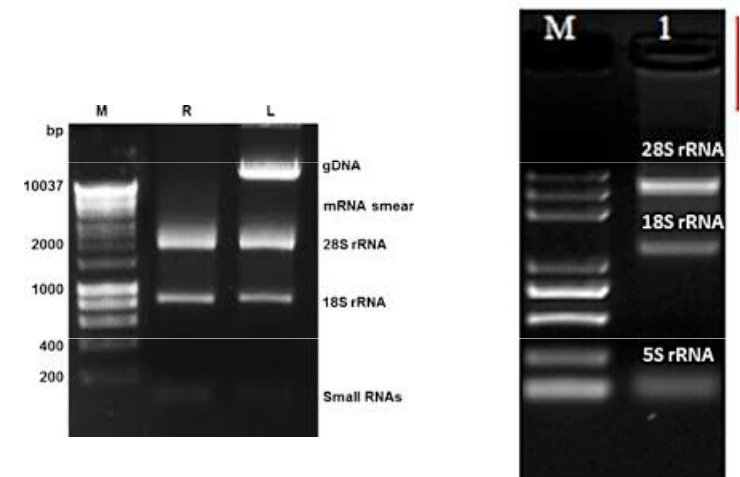
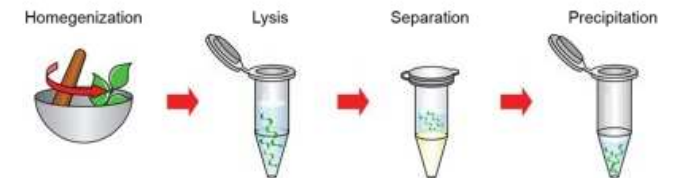
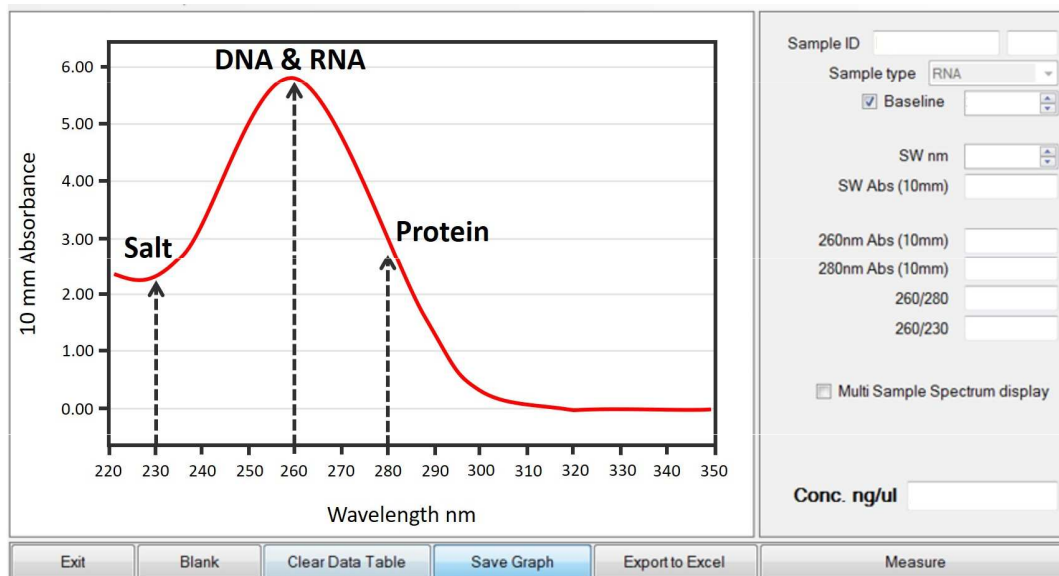
Izolace nukleových kyselin

- V nativním stavu z přirozeného materiálu – v **dostatečném množství a požadované čistotě**.
- NK je potřeba zbavit všech všech látek, které se po lyzi buněk stávají součástí hrubého lyzátu a jejichž přítomnost by bránila účinnému specifickému působení enzymů používaných k dalším analýzám

- Izolace genomové DNA
- Izolace RNA – DEGRADACE!



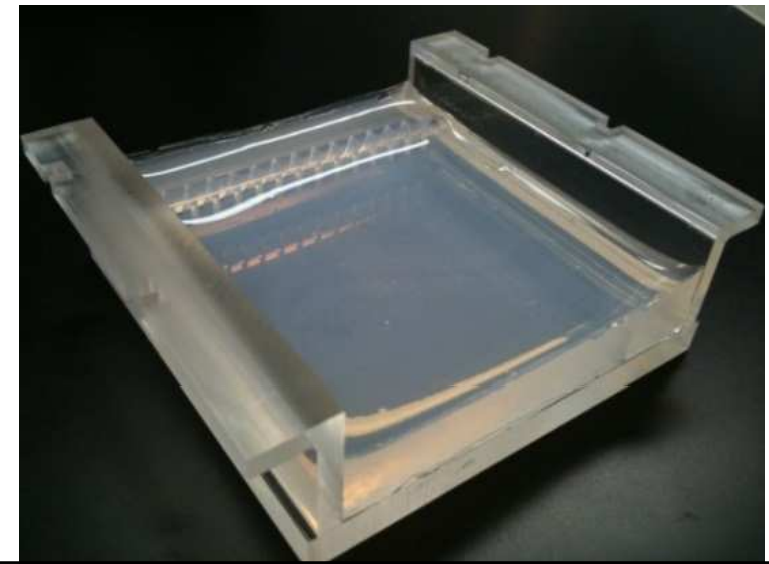
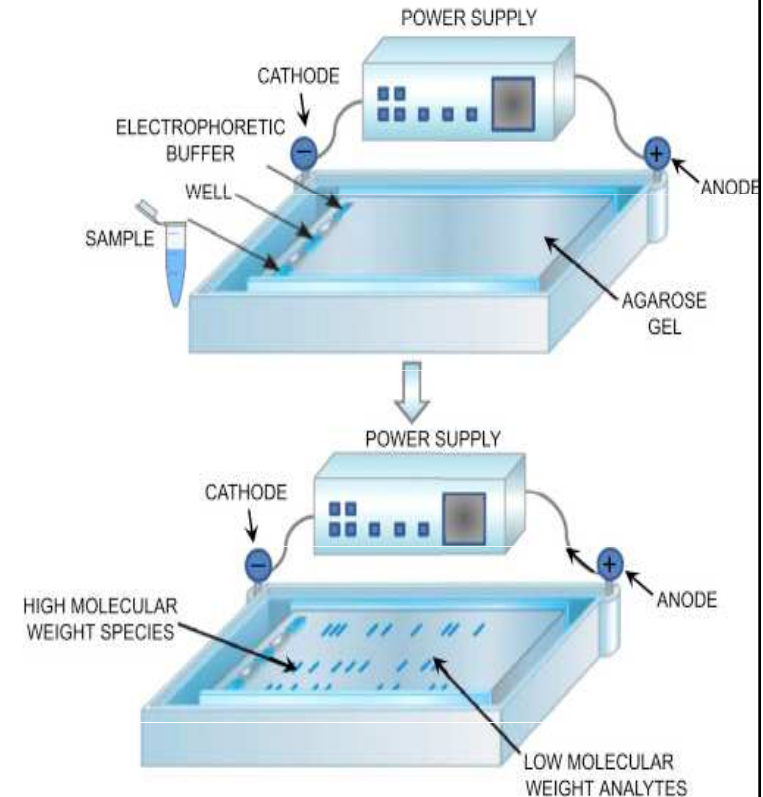
- **Stanovení koncentrace a čistoty DNA/RNA**
- **Spektrofotometrie**
- **Kontrola kvality a integrity - ELFO**

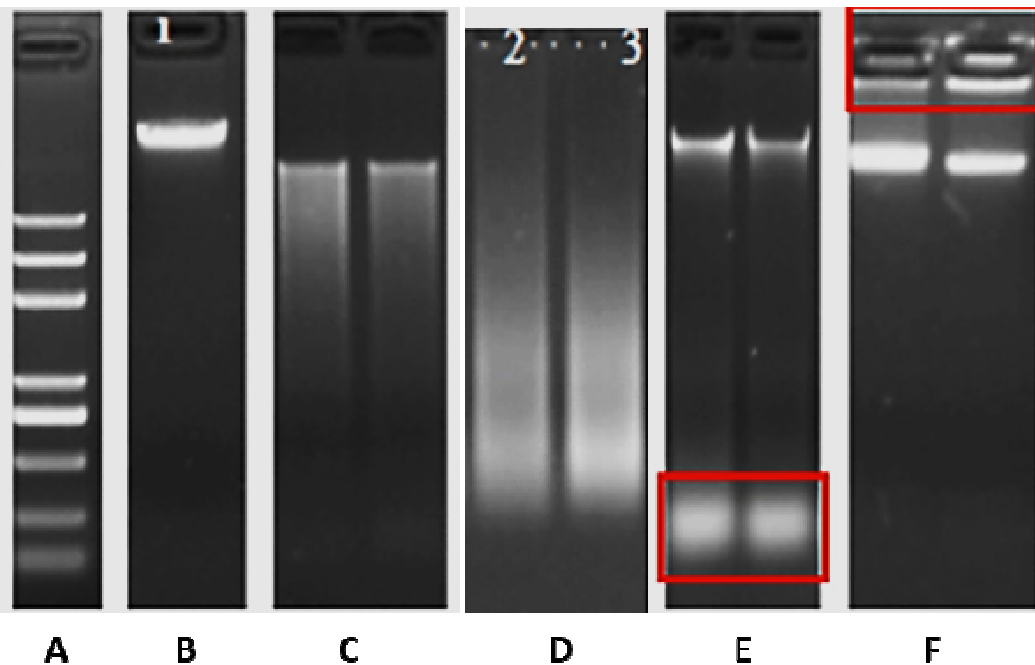
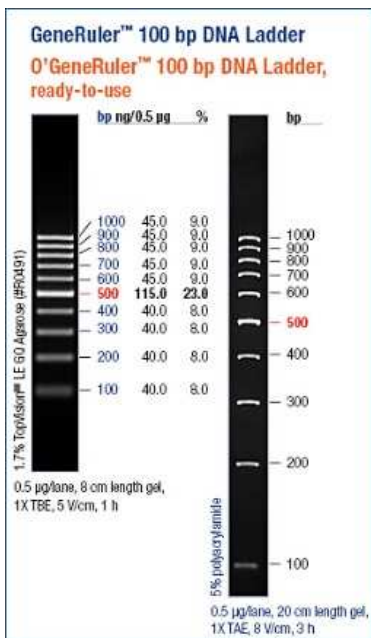


Gelová elektroforéza - agarózová

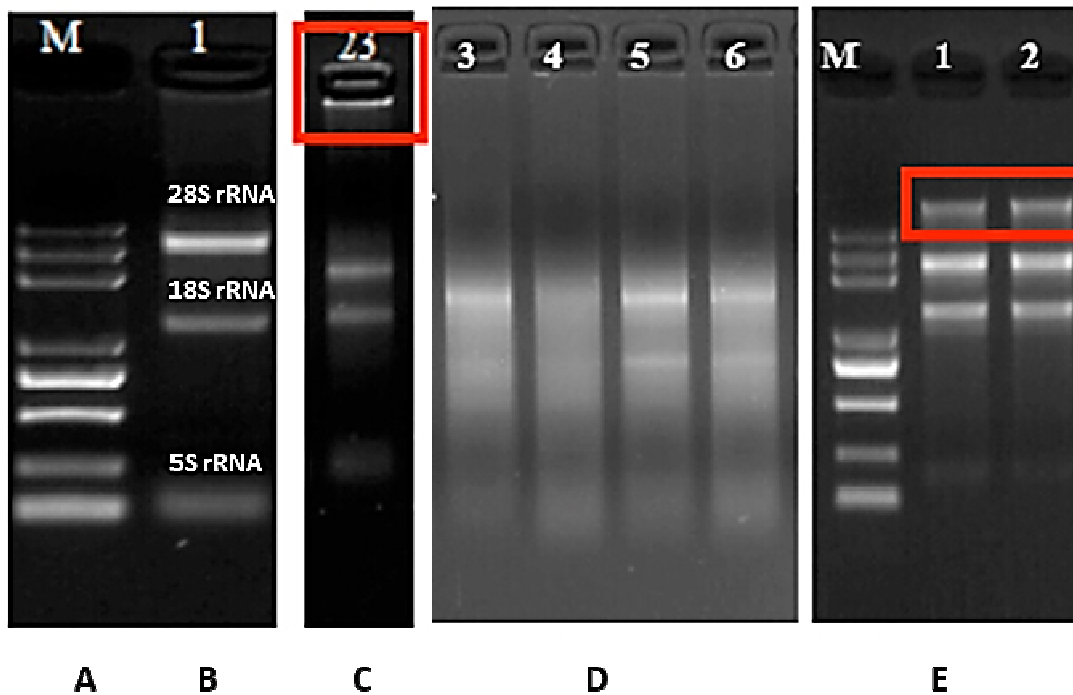
- **Separační metoda využíváná při izolaci a analýze NK (a proteinů = polyakrylamidová elfo)**
- **Izolující molekuly o rozdílné hmotnosti, popř. odlišném elektrickém náboji, využívající jejich odlišnou pohyblivost v elektrickém poli**
- **agarózová** (produkt mořských řas – agar)/polyakrylamidová
Gely tvoří hustou síť, kterou větší molekuly procházejí pomaleji než menší molekuly –technika **molekulového síta**
- **Rychlost pohybu je závislá na velikosti celkového povrchového náboje, velikosti a tvaru molekuly a její koncentraci v roztoku**
- **DNA má uniformní negativní náboj** v elektrickém poli se pohybuje **od katody k anodě**
- EtBr – vmezeří se mezi báze, zviditelní DNA pod UV (po vazbě na DNA pod UV emituje oranžové světlo)
- Velikost fragmentu DNA lze stanovit dle hmotnostních standardů (= restrikční fragmenty plazmidových molekul nebo genomu bakteriofágů, jejichž velikost byla stanovena sekvenováním)

Části **aparatury**: elektroforetická vana, separační gel, pufr, zdroj stejnosměrného elektrického proudu





- (B) **Ideální vzorek DNA**
 (C) Částečně degradovaná DNA
 (D) Degradovaná DNA
 (E) DNA kontaminovaná RNA (degradovaná)
 (F) DNA kontaminovaná proteinem

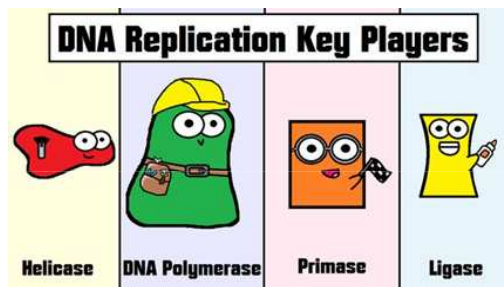


- (A) Trans2K™ Plus DNA Marker (0,1 kb- 5 kb)
 (B) **Ideální vzorek RNA**
 (C) RNA kontaminovaná DNA a proteinem
 (D) Degradovaná RNA
 (E) RNA kontaminovaná gDNA

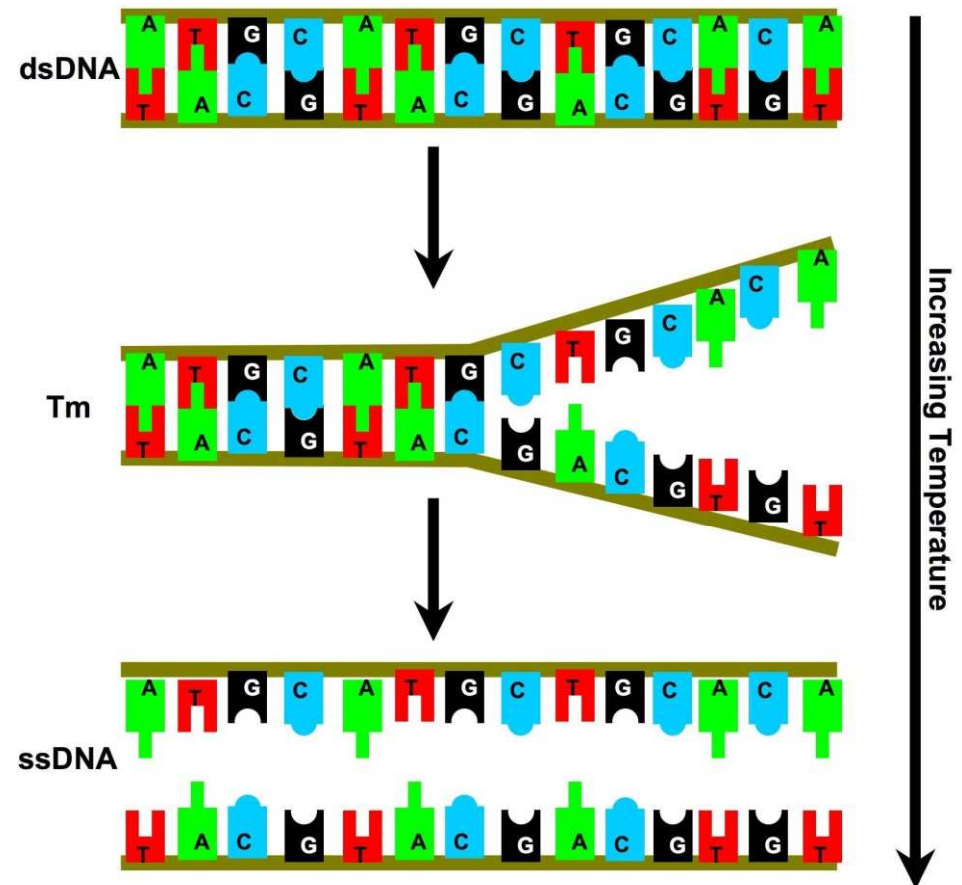
*Ribosomální RNA migruje v agarózovém gelu rychleji než stejně velký fragment DNA, a proto při použití DNA žebříčku nelze určit skutečnou velikost 28/18/5S rRNA

PCR – Polymerase chain reaction

- Amplifikace vybraného úseku **DNA**
(exponenciální amplifikace DNA fragmentu)
- Mnohonásobná in vitro replikace ve zkumavce
- řetězová reakce vychází z DNA replikace
- Kary Mullis, 1983
- **DNA řetězce duplexu může být denaturována a znovu spojena**
- DNA replikace **in vivo** vyžaduje několik enzymů



- DNA replikace **in vitro** vyžaduje pouze **jeden enzym** (1957 Arthur Kornberg dokázal existenci DNA Polymerázy)



FUNKCE OSTATNÍCH PROTEINŮ JE in vitro NAHRAZENA ZMĚNOU TEPLŮT !

• **komponenty PCR:**

templátová DNA

dNTP

pufr (pH=8)

Mg²⁺ ionty (aktivita a přesnost polymerázy)

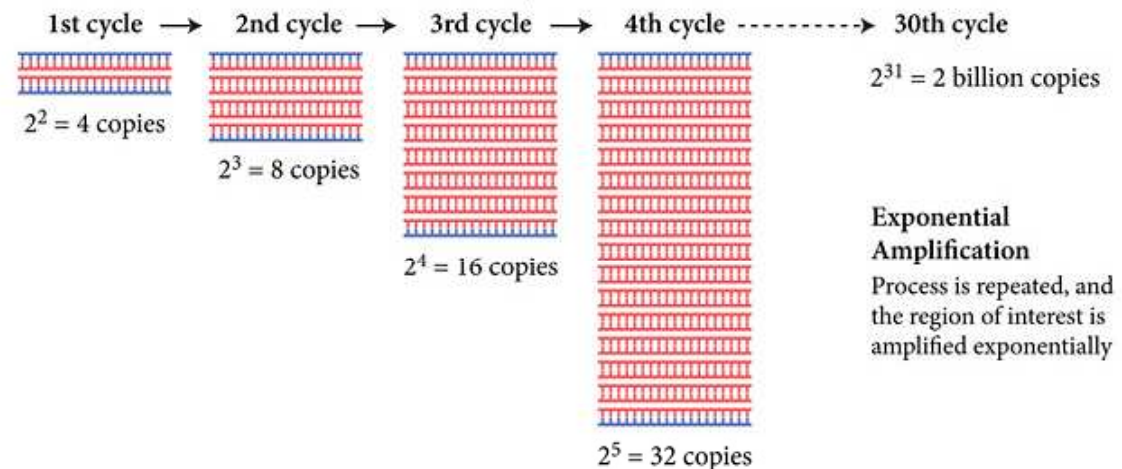
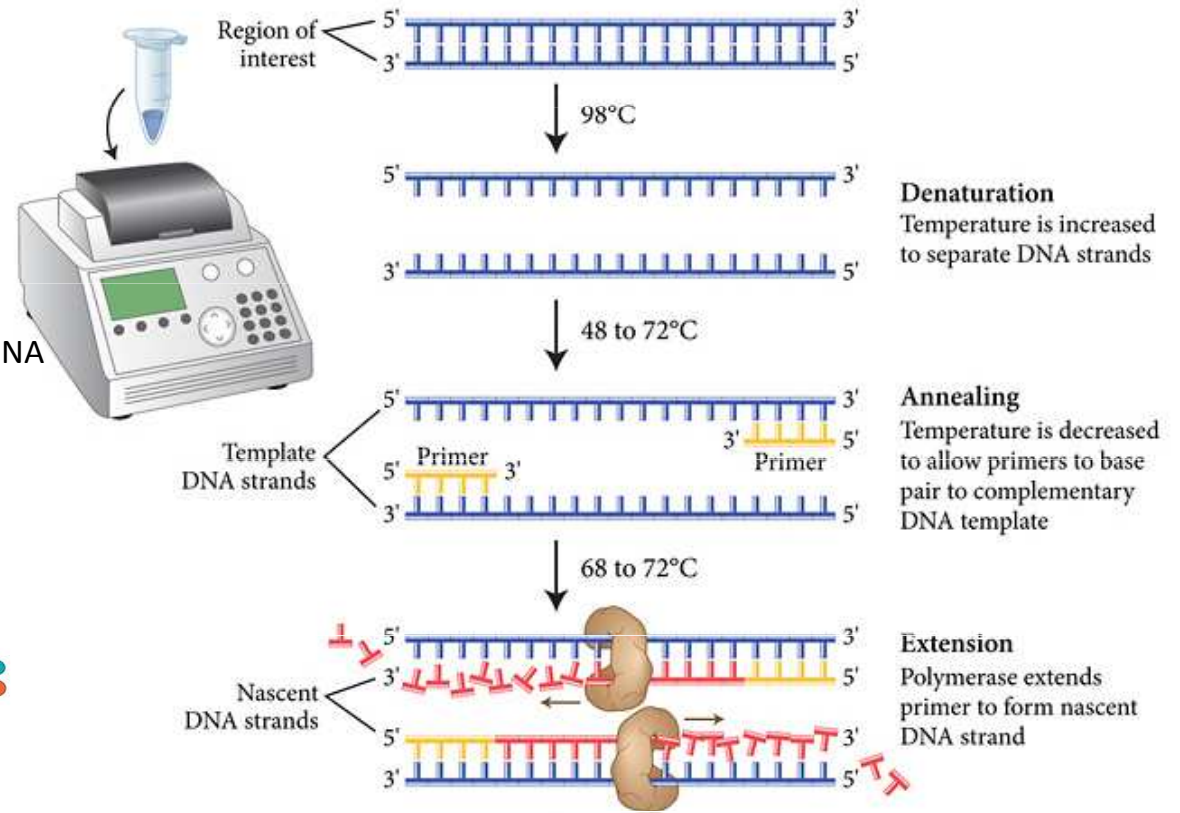
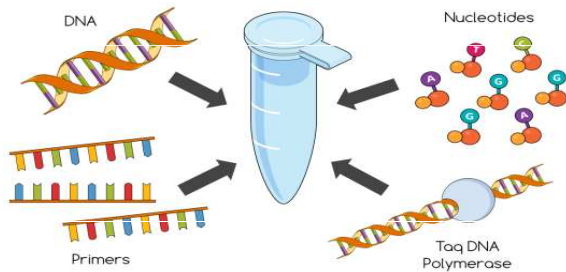
Primer - krátké specifické úseky DNA, oligonukleotid 20–25 pb, ohraničení oblasti amplifikace DNA

DNA polymeráza

termostabilní (odolává teplotám až 98 °C)

Taq (*Thermus aquaticus*), Tth (*Thermus thermophilus*)

teplota

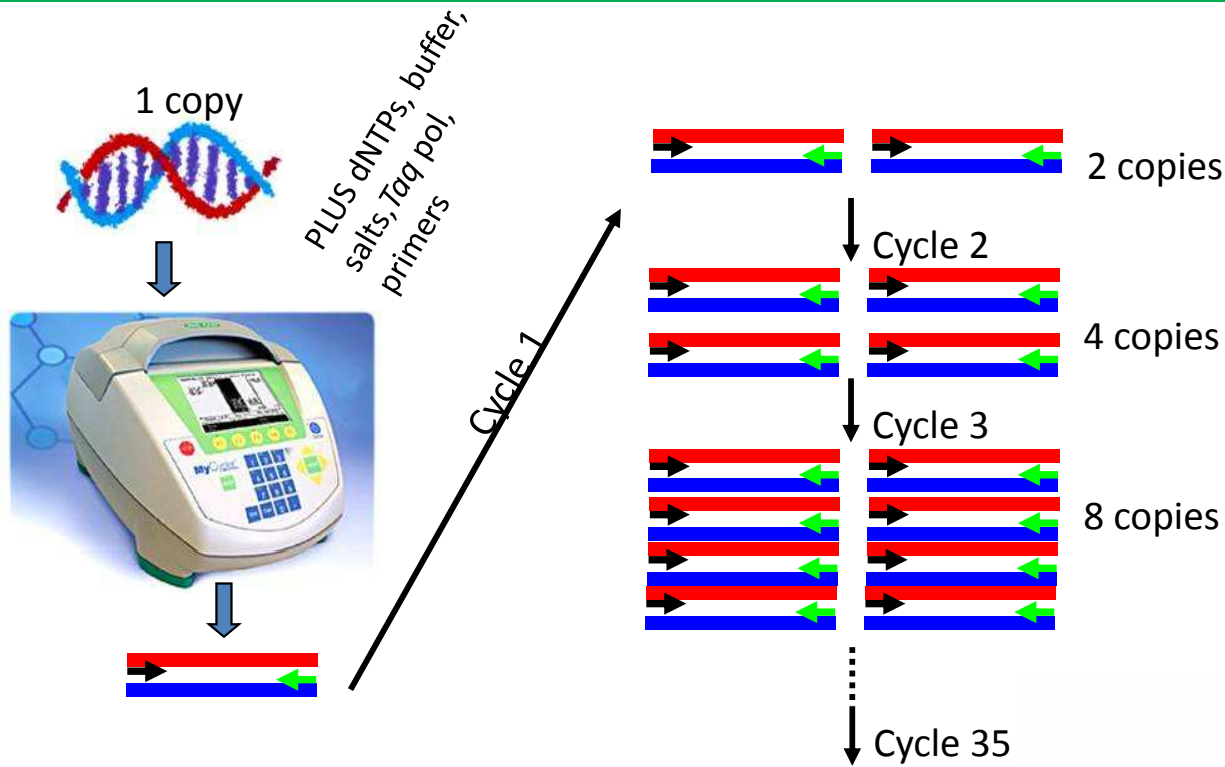


• **opakování cyklů:**

- denaturace (separace dsDNA)
- navázání primerů
- elongace primerů
- syntéza nového vlákna DNA

pomocí změn teploty!

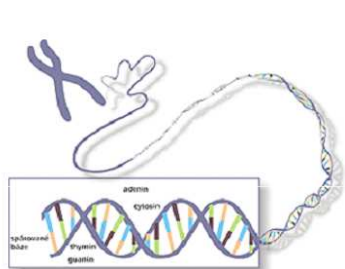
Xeroxing DNA



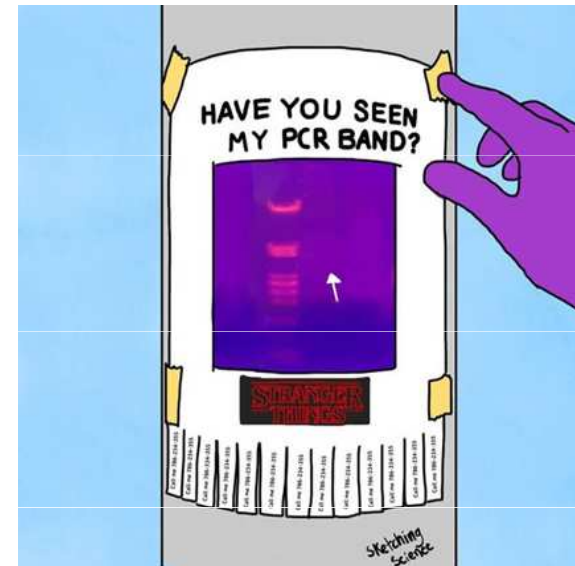
$n^{36} = 68,719,476,736$ copies in ~ 2 hrs

Forward 249bp Reverse

CCCTCTGATT TTATACCTAA ACAACATGTG CTCCACATTT CAGAACCTAT CTTCTT CGAC ACATGGGATA ACGAGGCTTA TGTGCACGAT



Amplification of distinct area of wholegenome DNA



PCR Protocol

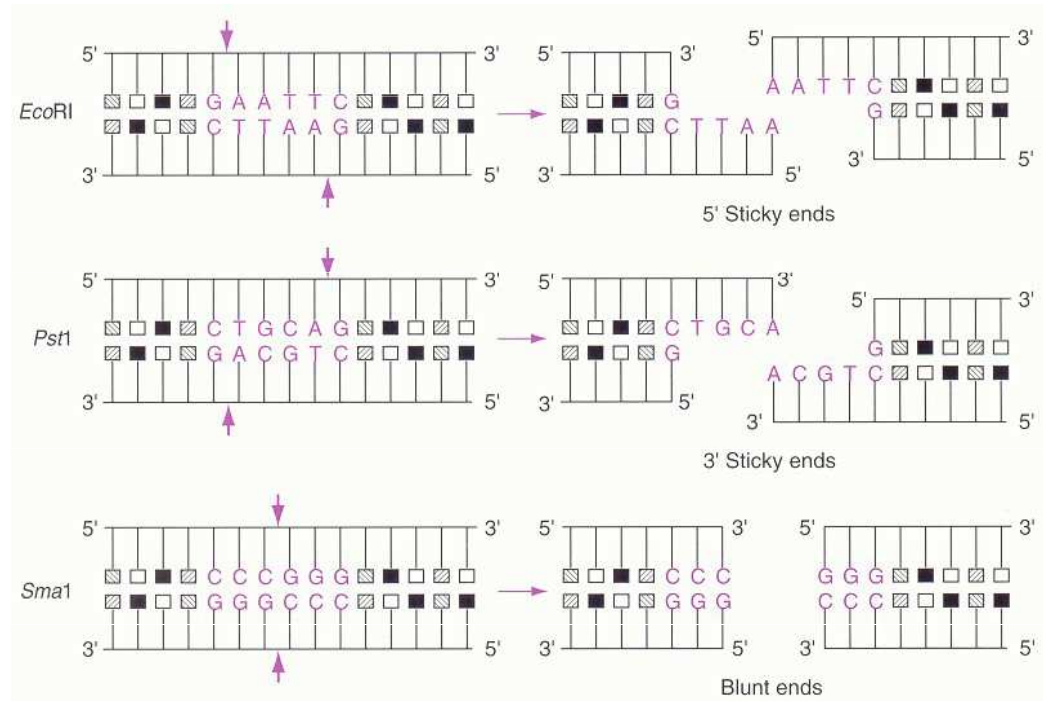
<p>Get the reagents</p>	<p>Prepare the mix</p>	<p>Set up conditions</p>
<p>Analyze the gel</p>	<p>Negative result</p>	<p>Cry</p>

Restrikční enzymy

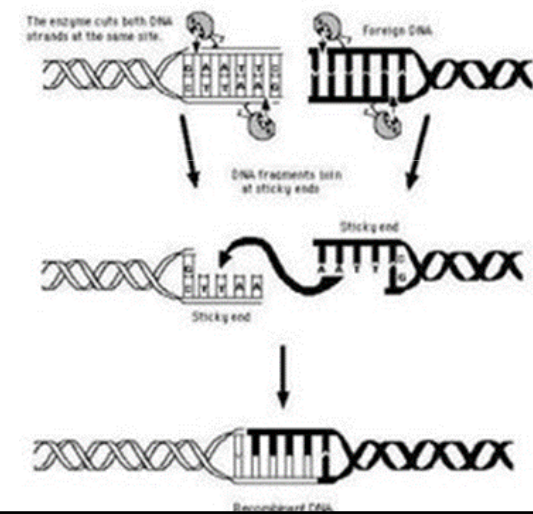
- Restrikční endonukleáza**

(Meselson and Yuan 1968, Smith and Wilcox 1970)

- sekvenčně specifické endonukleázy (původ z bakterií)
- EcoRI (*Escherichia coli*), HindIII (*Haemophilus influenzae*)
- tupé/lepivé konce
- funkce:
 - rozpoznání specifické sekvence dsDNA a následná restrikce (hydrolýza fosfodiesterových vazeb)
- rozpoznávací místo
 - 4–8 bp dlouhé
 - charakter palindromu = stejné pořadí bází v obou směrech



Restriction Enzyme Action of EcoRI



TYPES AND ACTIVITIES OF RESTRICTION ENZYMES

Type I

Cleaves DNA at random sites far from its recognition sequence

Type II

Cleaves DNA at defined positions close to or within its recognition sequence

Type IIG

Cleaves outside its recognition sequence with both REase and MTase enzymatic activities in the same protein

Type IIP

Cleaves symmetric targets and cleavage sites

Type IIS

Recognizes asymmetric sequences

Type III

Cleaves outside its recognition sequence and require two sequences in opposite orientations within the same DNA

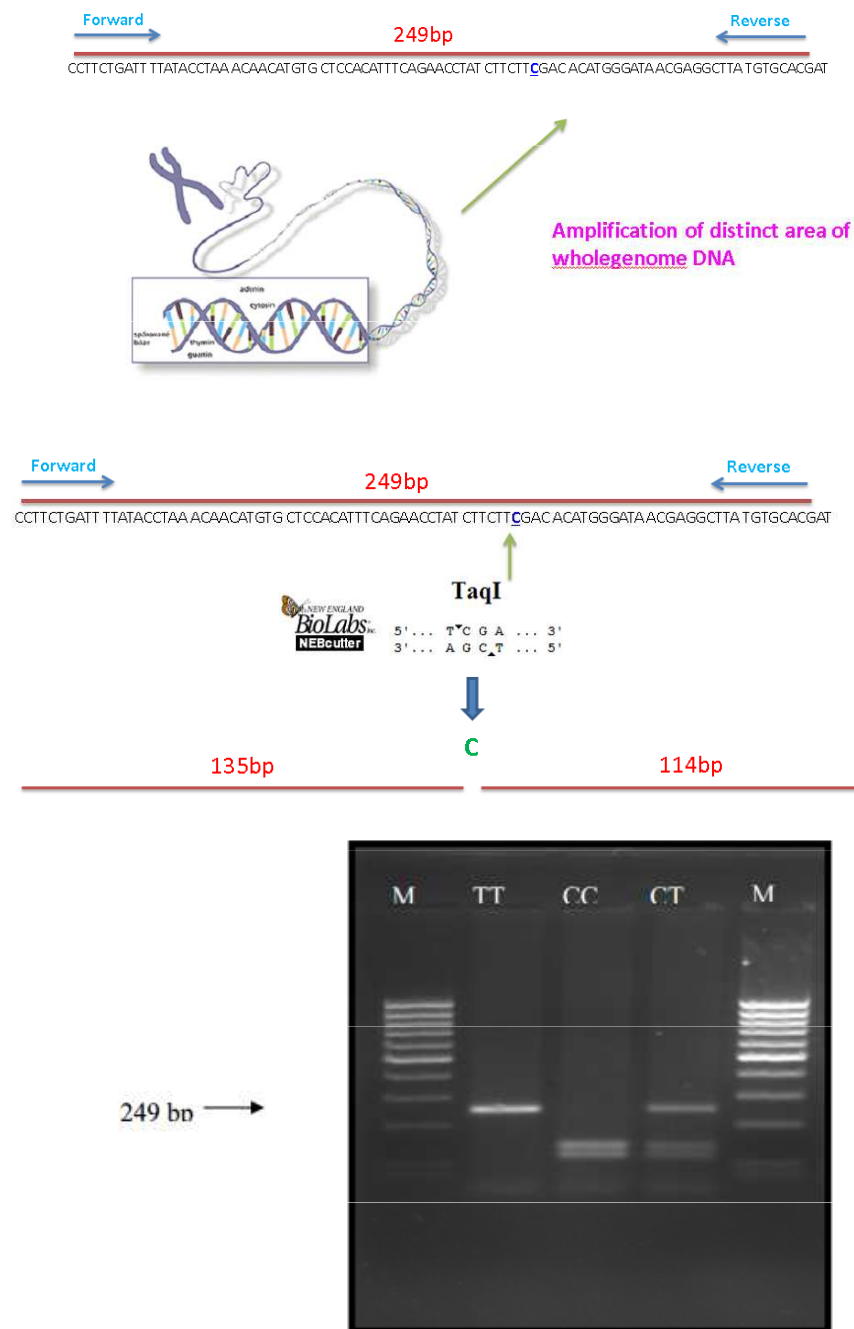
Type IV

Cleaves modified (e.g., methylated) DNA

RFLP – Restriction Fragment Length Polymorphism

- Enzymatické štěpení DNA ve specifickém restričním místě
- **Restriční endonukleázy**
- Produktem jsou fragmenty o různé délce
- Vzniklé fragmenty jsou separovány pomocí gelové elektroforézy
- **Využití:**
 - mapování DNA, analýza modifikací DNA, příprava mutantů
 - na základě velikosti a počtu fragmentů lze sledovat rozdíly ve studovaných sekvencích, **tzv. polymorfizmy** (polymorfizmy vznikají přestavbou v řetězci, např. inzercí, delecí, substitucí bází)
 - příbuznost jedinců, určení paternity, identifikace osob

- Neštěpená TT
- Štěpená CC
- Heterozygot CT



Restrikční endonukleázy

tvorba rekombinantních DNA

přečnávající kompatibilní konce usnadňují spojení různých fragmentů DNA

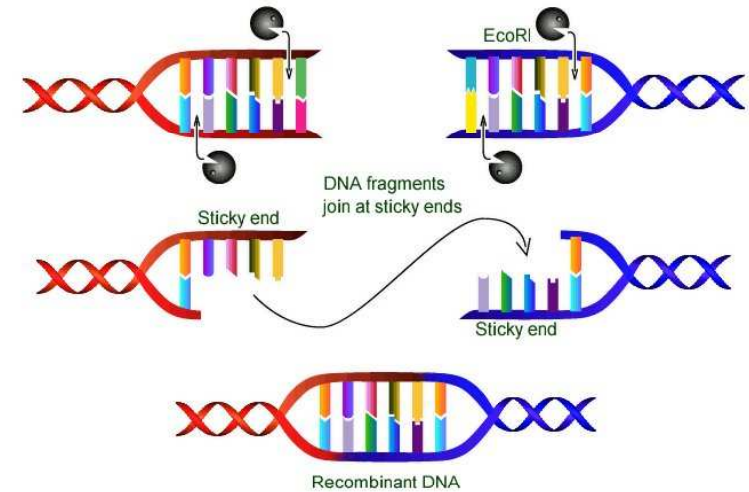
- hormon Protopin® (Genentech, 1985)
- interferon α Roferon A® (Hoffmann-La Roche, 1986)
- první rekombinantní vakcína proti hepatitidě B Recombivax® exprimovaná v kvasince *Saccharomyces cerevisiae* (Merck, 1986)
- první přípavek založený na monoklonální protilátce Orthoclone OKT 3 (Janssen-Ortho, 1986)(Cvak a Fusek, 2004).
- 2006 - registrováno 1452 biotechnologických firem v USA
- tetravalentní vakcína proti lidskému papilomaviru (HPV) s názvem Gargasil, Silgard , 2006

tvorba GMO

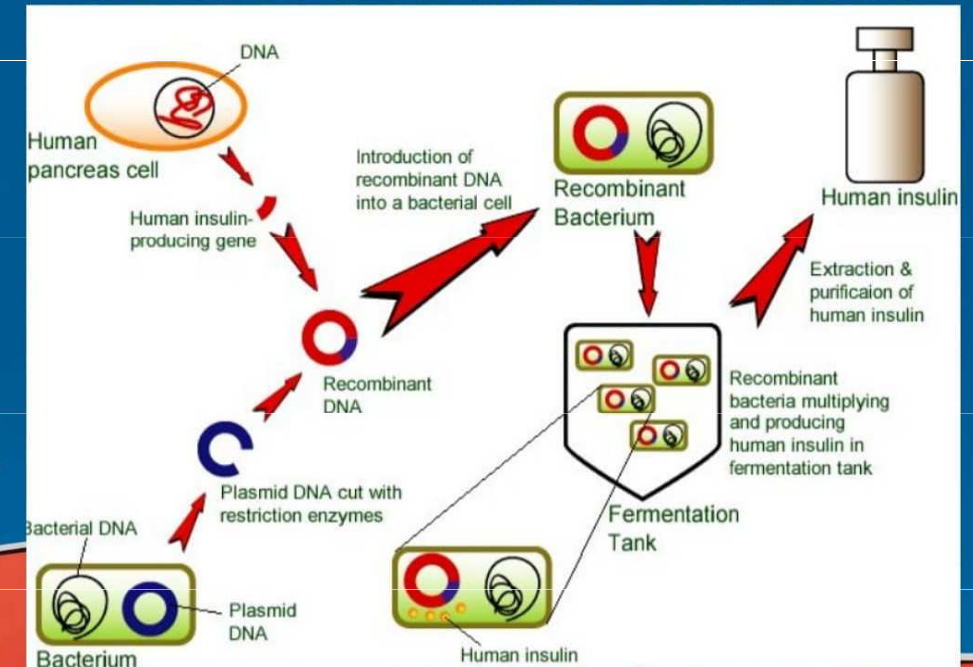
- bakterie mění DNA (Agrobakterie) rostliny, aby ta dělala, co ony potřebují
- 1986, schválena první první transgenní rostliny – tabáku nesoucího vložený gen pro rezistenci k herbicidu. Environmental Protection Agency, c USA
- 70 % dnes pěstované bavlny je geneticky modifikovaných



Restriction Enzyme



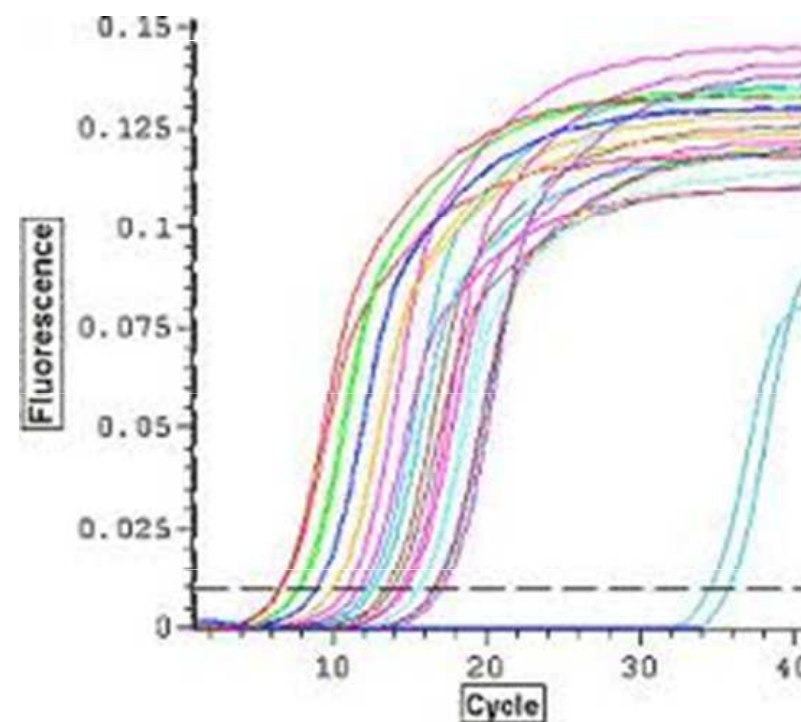
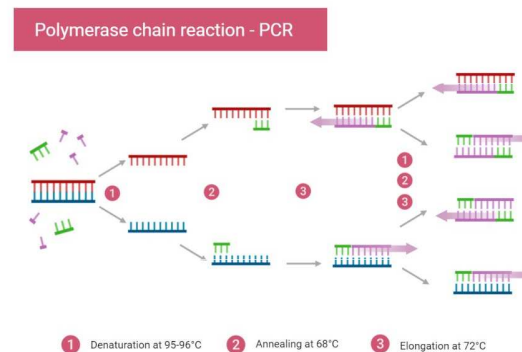
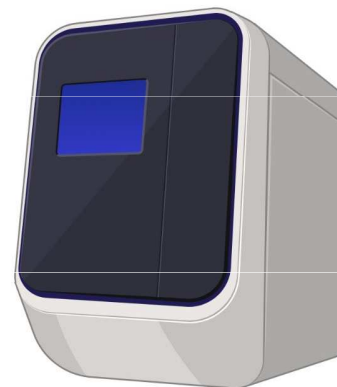
HUMULIN PRODUCTION



qPCR – Kvantitativní Real-time PCR

Real Time PCR / quantitative PCR (qPCR)

- PCR sledovaná v reálném čase
- **Kvantifikace DNA** – množství DNA je zaznamenáváno v průběhu každého cyklu (fluorescence)
- Detekce množství DNA je umožněna přítomností **fluorescenčního substrátu**
- Provádí se ve speciálním cycleru, který umožňuje:
 - Cyklické střídání teplot
 - Detekci fluorescence
 - Monitorování postupu PCR v reálném čase bez nutnosti detekovat PCR produkty elektroforeticky
- qPCR se obvykle provádí v 96 jamkových destičkách, úroveň fluorescence je zaznamenávána v jednotlivých jamkách
- Vysoce citlivá a vysoce specifická metoda
- DNA (genotypizace), RNA (expresní analýza)



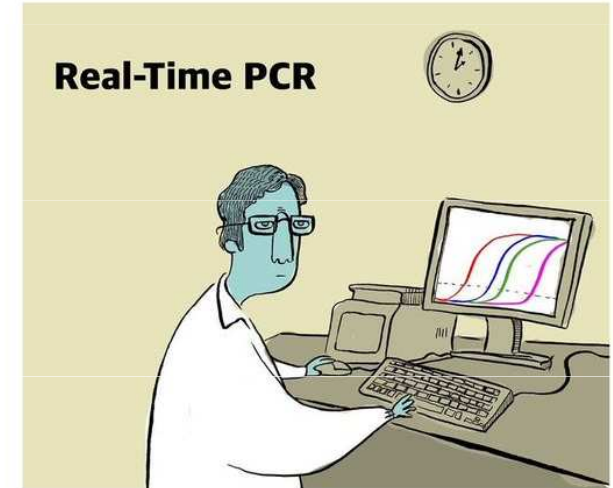
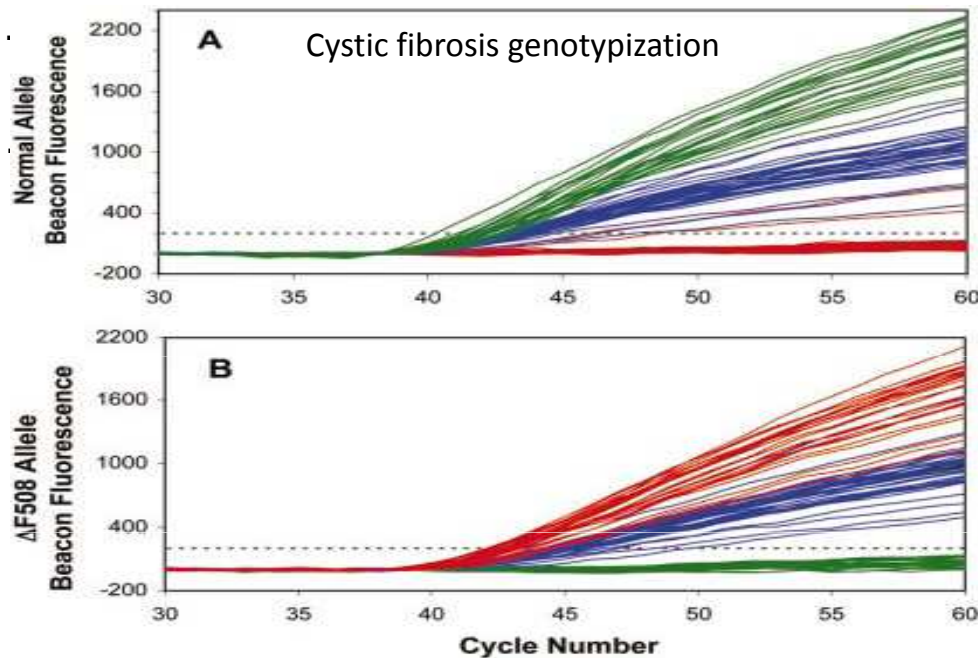
Real Time PCR (qPCR) - Diagnostika

1. Detection and Quantitation

- Gene expression analysis – mRNA, microRNA
- Human Immunodeficiency Virus (HIV)
- Circulating DNA, RNA of viruses, bacteria, protozoa
- Effect of antimicrobial peptides on host cells (host mRNA)
- Noninvasive Prenatal Diagnosis by Analysis of Fetal DNA in Maternal Plasma

2. Detection of mutation and SNP genotypization

- Detection of Thalassemia, hemophilia, Sickle cell anemia & favism
- Cystic fibrosis, Phenyl ketonuria.....
- Use in forensic medicine (DNA match based on SNP, paternity test...)

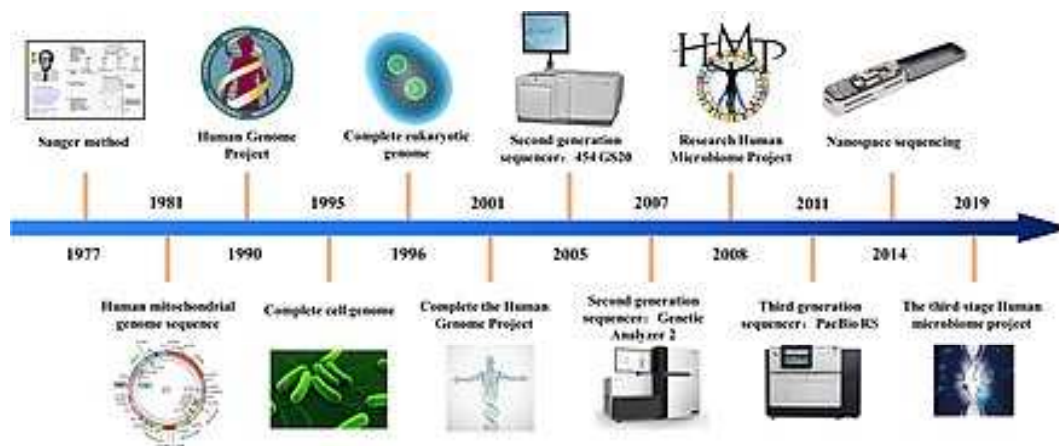


facebook.com/pedromics

Figure 1. Examples of specific molecular beacon fluorescence increase during real-time PCR in samples containing single lymphoblasts homozygous normal for CF (green), heterozygous DF508 (blue), or homozygous DF508 (red). (A) Fluorescent signal from the molecular beacon detecting the normal allele. (B) Fluorescent signal from the molecular beacon detecting the DF508 allele. Dashed lines indicate the threshold of 200 units (~10 SD above baseline readings) used for determining CT values.

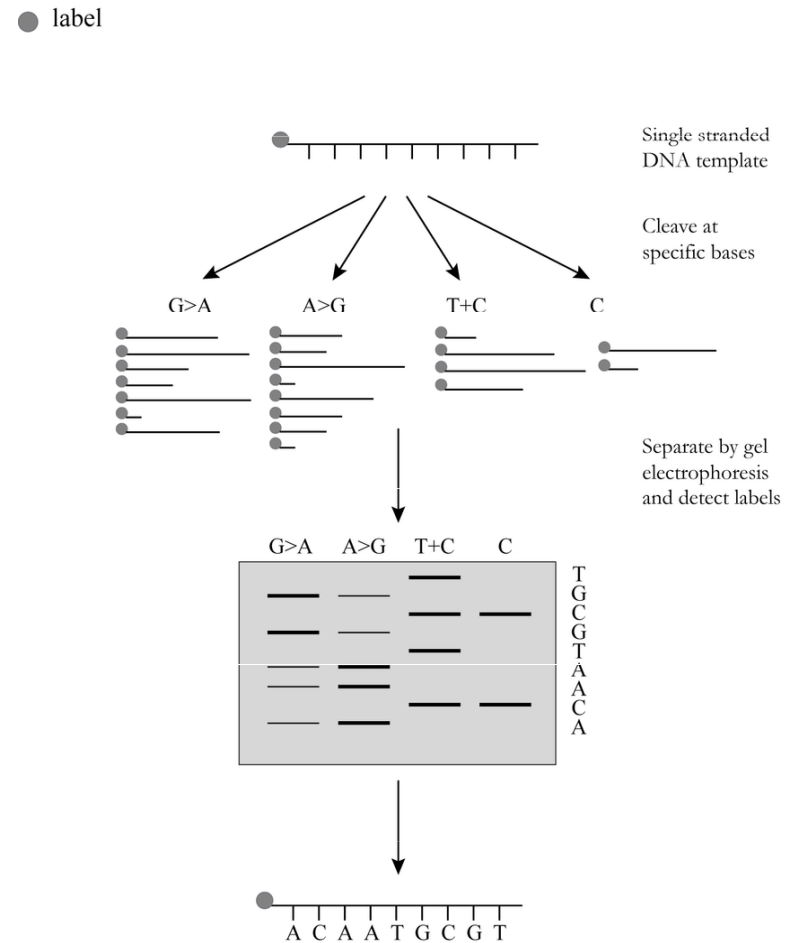
Sekvenace DNA

- Stanovení **primární struktury DNA** (pořadí nukleotidů)
 - a) **chemická metoda** – dříve; degradace řetězců nukleových kyselin pomocí chemických činidel (dimethylsulfát, NaOH, hydrazin,..) – Maxam-Gilbertova metoda
 - b) **enzymatická metoda** – specifická inhibice enzymové syntézy DNA (ddNTP) – Sangerova metoda
 - c) moderní velkoformátové aplikace založené např. na pyrosekvenování (**sekvenování nové generace**)
- **Produkt** – řetězce ssDNA, jejichž vzájemná velikost se **liší o jednu bázi (elfo rozdělení)**
- **Vstupní materiál** – fragment DNA s přesně definovanými konci



Maxam-Gilbertovo sekvenování

- Sekvence je odvozena z molekuly DNA, která se **chemicky degraduje na fragmenty v místech**, kde se vyskytuje báze určitého typu. Ty se následně separují pomocí elfo.
- **Chemická činidla** – příklad:
 - piperidin narušuje glykosidovou vazbu A a G (A + G)
 - hydrazin za přítomnosti NaCl reaguje pouze s C
 - NaOH při 90 °C způsobuje silné štěpení u A a slabé štěpení u C (A > C)
- Vyžaduje radioaktivní značení na jednom konci ssDNA.
- Reakce je prováděna ve 4 zkumavkách – v každé zkumavce jsou štěpeny pouze určité typy bazí.
- Vzniká směs různě dlouhých fragmentů končících v místě určité báze → vyhodnocení pomocí elfo, stanovena sekvence daného úseku.

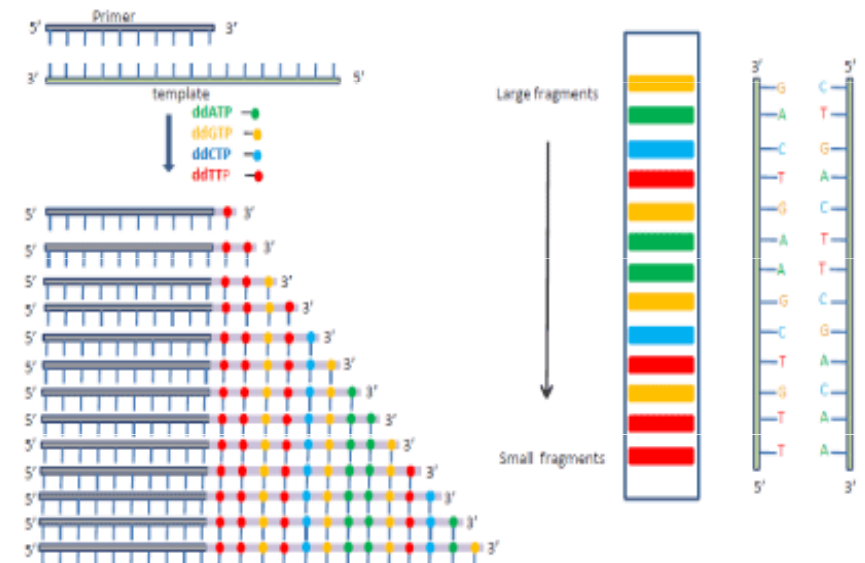


Video pro názornost:

<https://www.youtube.com/watch?v=B5Dj8PL4E0>

Sangerovo sekvenování

- Enzymová metoda – Dye-terminator-sequencing
- Plně automatizováno – v jedné reakci
- Metoda koncových terminátorů - **ddNTP** = analog dNTP, ale postrádá hydroxylovou skupinu na 3' pozici uhlíku
- Založeno na **principu replikace** – ukončení syntézy DNA v okamžiku, kdy se ddNTP zařadí na místo dNTP
- **Reakční směs (4x)**
 - DNA templát
 - primer
 - ddNTP – v nízké koncentraci
 - dNTP – v nadbytku (aby bylo možné získat fragmenty všech možných délek)
 - Taq DNA polymeráza - syntéze DNA od 5' ke 3' konci
 - pufr
- **Vyhodnocení** – elektroforéza



Video pro názornost:

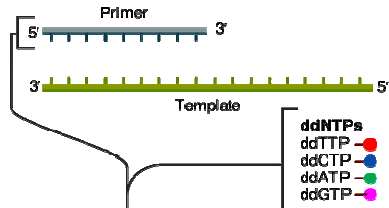
<https://www.youtube.com/watch?v=wdS3j0TgbjM>

Sangerovo sekvenování

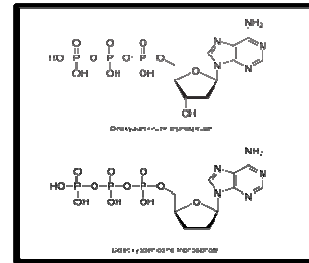
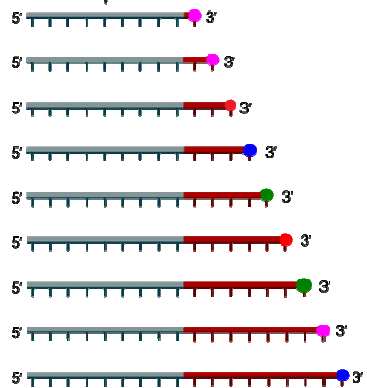
- Kapilární sekvence DNA s fluorescenčně značenými ddNTP

① Reaction mixture

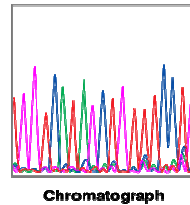
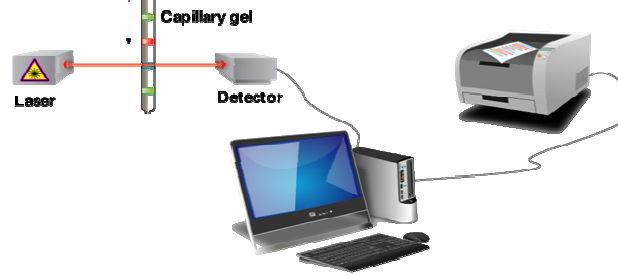
- ▶ Primer and DNA template
- ▶ DNA polymerase
- ▶ ddNTPs with flouochromes
- ▶ dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, and dTTP)



② Primer elongation and chain termination

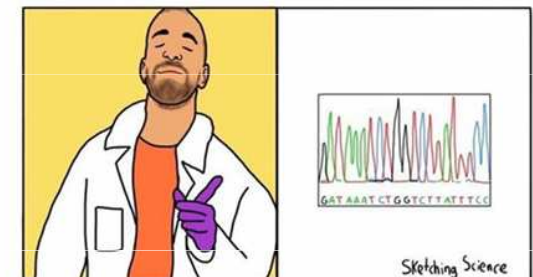
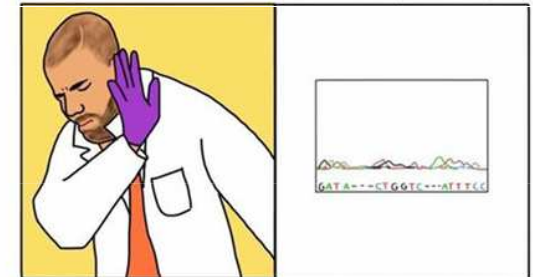


③ Capillary gel electrophoresis separation of DNA fragments



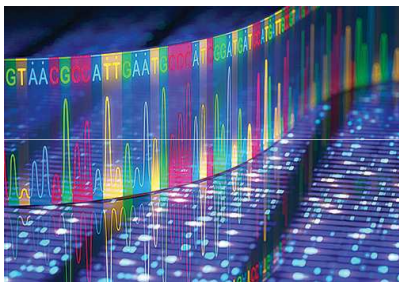
④ Laser detection of flouochromes and computational sequence analysis

DNA sequencing

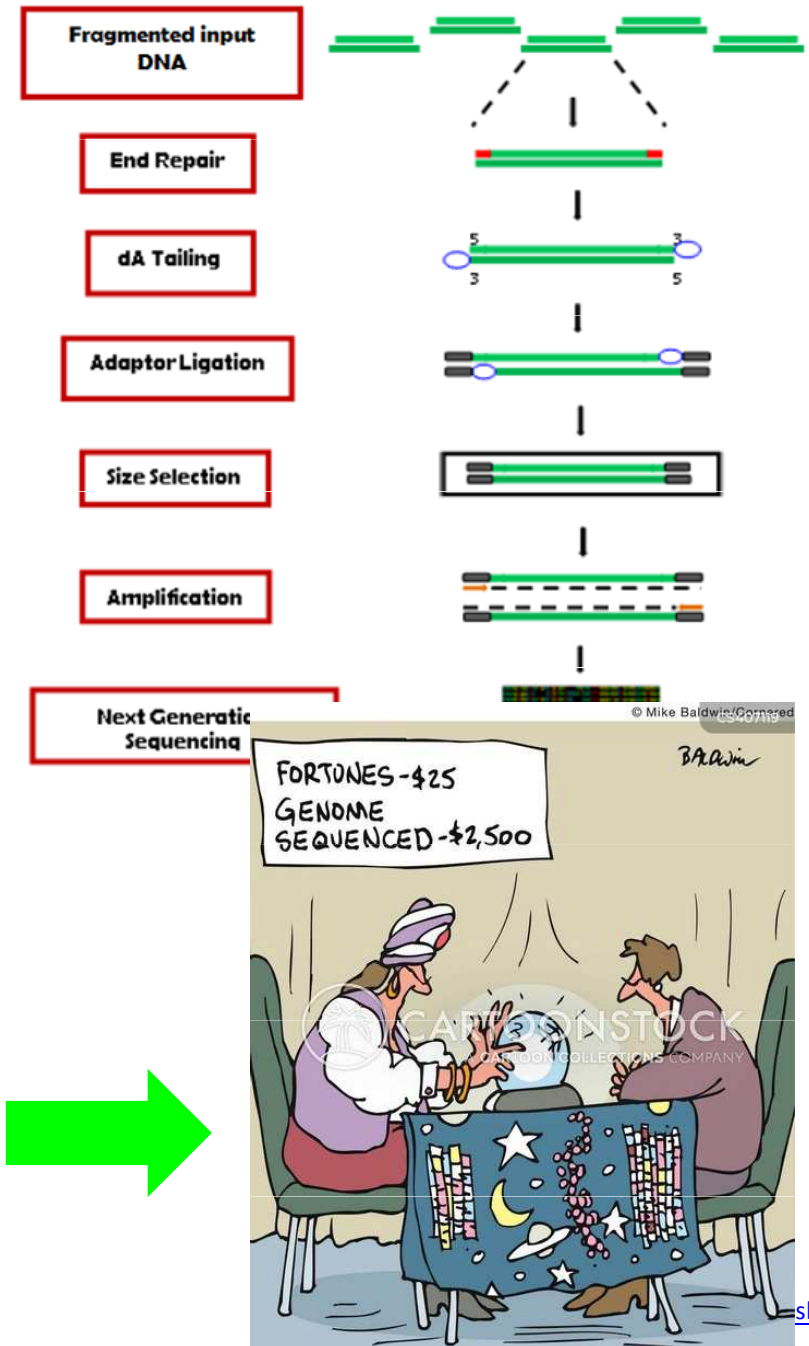
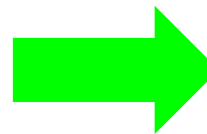


NGS – Next Generation Sequencing

- High-throughput sequencing (HTS) methods
"massively parallel" sequencing
- Sekvenování tisíců až milionů sekvencí současně
- Templátová DNA je fragmentována na úseky několik set bp dlouhé
- Konce fragmentů jsou enzymaticky zatupeny a napojeny k oligont určité sekvence (= adaptéry)
- Jednotlivé fragmenty jsou odděleně amplifikovány PCR a v dalším kroku paralelně sekvenovány
- Využití:
 - celogenomové sekvenování (evoluční biol.)
 - sekvenování chromozomů, plazmidů, mt
 - studium genetické variability, mutační analýza
 - transkriptomová analýza
 - antropologie: srovnávání DNA k zjišťování migrací lidských ras (zejména podle mitochondriální DNA a Y-chromozomální DNA)



"Personalized Medicine"



Výzkum - Ústav patologické fyziologie

Výzkumná skupina Martina Piskáčka: Transkripce v maligních buňkách a v imunitě

- molekulární mechanismy genové aktivace, maligní transformace a nespec. imunity – gamma-delta T buněk

Babáková myelomová skupina (Vedoucí skupiny, doc. RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.)

- problematika monoklonálních gamapatií, zejména mnohočetného myelomu, extramedulárního onemocnění mnohočetného myelomu a plazmocelulární leukémií
- Standardní je odběr kostní dřeně.
- BMS se dlouhodobě věnuje problematice tzv. **tekutých biopsií (biopsie z tělních tekutin)**, které jsou šetrnější pro pacienty a v budoucnu by mohly zastoupit dosavadní invazivní metody vzhledem k tomu, že mohou zahrnout celou heterogenitu nádoru. BMS se zaměřuje především na analýzu **nekódujících molekul RNA**.

Výzkumná skupina Kateřiny Kaňkové: Molekulární patofyziologie diabetických komplikací

- (A) studium procesů, kterými **chronická porucha glukózového metabolismu** (ale nejen toho) vede k rozvoji jeho pozdních komplikací, a to zejména **diabetické nemoci ledvin** (angl. diabetic kidney disease, DKD). DKD představuje velmi závažnou komplikaci cukrovky zvyšující kardiovaskulární riziko a významně zhoršující kvalitu života diabetiků. Věnujeme se problematice gluko- a lipotoxicity, reaktivních metabolitů, thiaminového metabolismu a pentózového cyklu, genetické determinace aktivity těchto procesů apod.
- (B) problematika patofyziologie **gestačního diabetu (GDM)**, konkrétně možnosti **predikovat míru poruchy glukózové tolerance po porodu a otázka dopadu GDM na vývoj potomka GDM matky**
- (C) vlivu **diabetického mikroprostředí na vznik a rozvoj nádorů** (zejm. kolorektálního karcinomu).

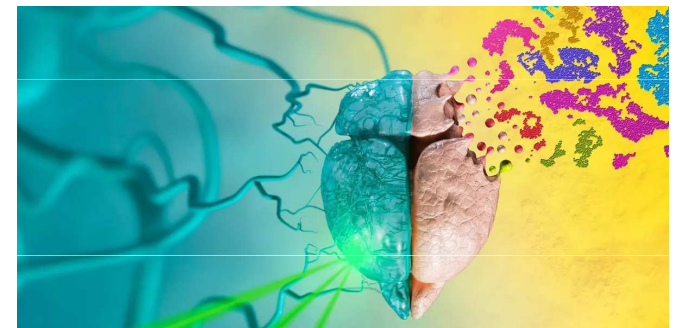
Výzkum - Ústav patologické fyziologie

Výzkumná skupina Moniky Pávkové Goldbergové: Kovy v medicíně

- zaměřena na problematiku základního a aplikovaného výzkumu v oblasti kovů využívaných v implantologii a nanostruktur (**nanočástic a nanostrukturovaných povrchů**) a jejich vlivu na organismus, a to zejména na úrovni buněčné a tkáňové.
-

Výzkumná skupina Kamila Ďuriše: Subarachnoidální krvácení

- patofyziologie subarachnoidálního krvácení (experimentální i klinický charakter ve spolupráci s Neurochirurgickou klinikou FN Brno)
- studium **rozvoje časně zánětlivé odpovědi v mozku** i v celém organismu v důsledku subarachnoidálního krvácení
- dynamika zánětlivé odpovědi po subarachnoidálním krvácení, závislost na tíži krvácení apod.,
- (regulace/deregulace zánětlivé odpovědi, evoluční koncept imunitní reakce apod.)
- studium možností potlačení neadekvátní imunitní reakce - možnostmi **imunomodulace** pomocí stimulace nervus vagus. Efekt **vágové stimulace** na potlačení zánětu je studován jak u zánětu obecně (sepsy), tak i specificky u zánětu po subarachnoidálním krvácení. Vedle přímé stimulace se skupina věnuje i studiu efektu stimulace nepřímé, která je neinvazivní, a z toho důvodu má velký klinický potenciál

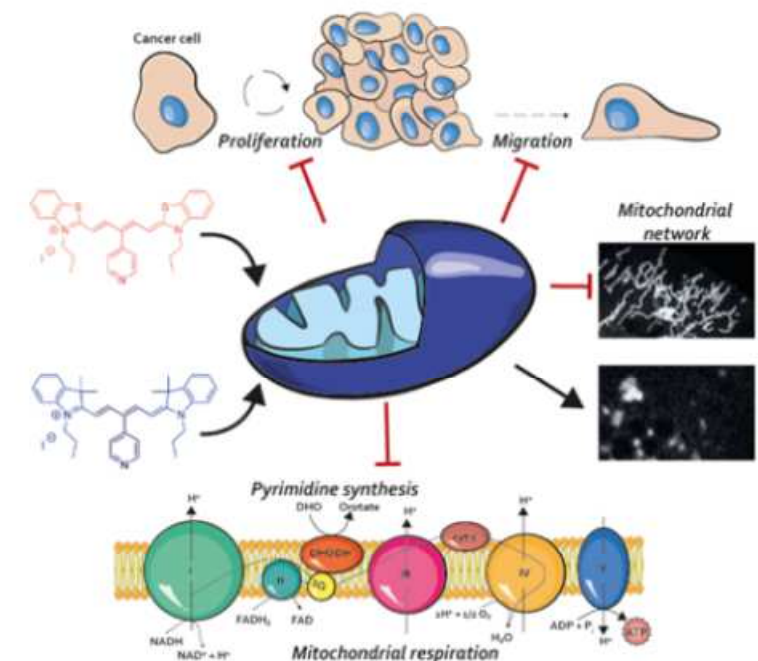


Výzkum - Ústav patologické fyziologie

Výzkumná skupina Michala Masaříka: Cancer Research Lab

- primární výzkumu v oblasti biomarkerů karcinomu prostaty, prsu či spinocelulární karcinomy v oblasti hlavy a krku
- analýza rezistence nádorových buněk vůči terapii
- analýza buněčné smrti a genové exprese
- nové biofyzikální techniky pro detekci biomakromolekul
- testování nových protinádorových léčiv a jejich nosičů - migrastatika
- Divize „live-cell“ biomarkerů nádorových stavů
- Divize buněčná mechanika
- Divize analýzy buněčných smrtí
- Divize biostatistiky, strojového učení a analýzy obrazu
- Divize analýzy a testování nových léčiv a jejich nanonosičů

Targeting Mitochondria to Inhibit Cancer Cell Migration



Stop by the lab!

We have



hand saunas



piper bois



piper boi hats



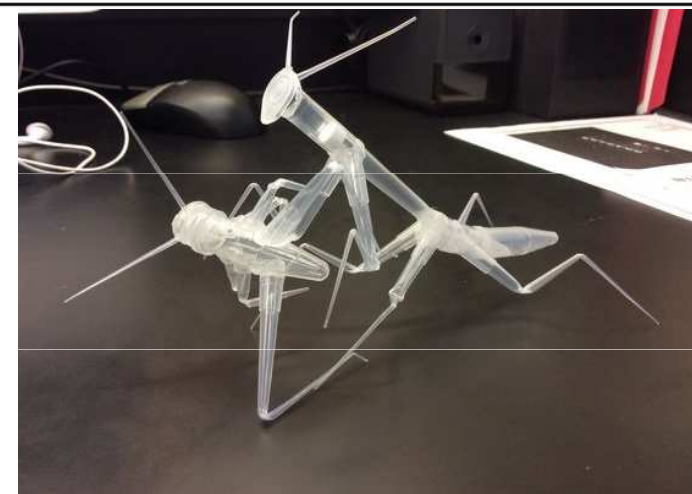
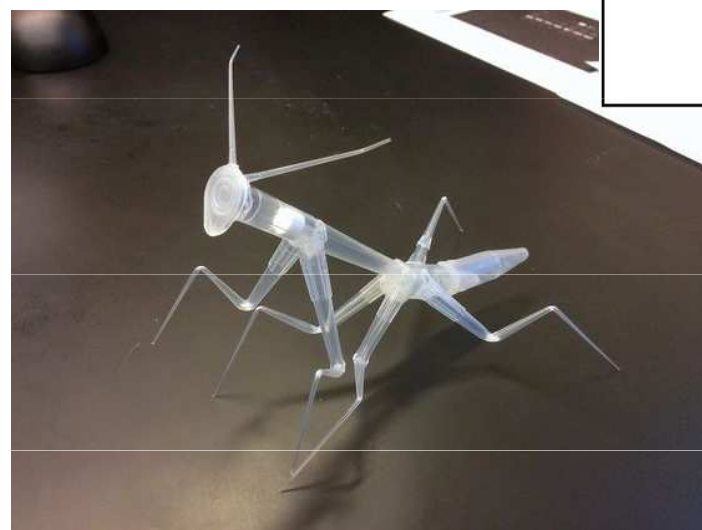
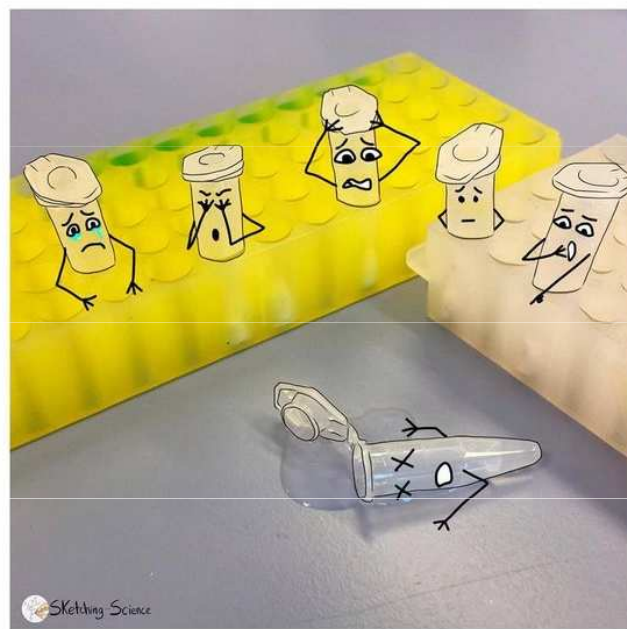
vibe check



Extreme™ merry-go-round



evil jello



Trivial Name	Structure	Suggested Chemical Name
Oldmacdenyenyenynol		6-(6-(3-(1-ethyl-1-methylpropyl)-hex-4-ynyl)-4,4-dipropyl-2-prop-2-ynylcyclohex-2-enyl)-4-methyl-cyclohept-2-en-1-ol
Cowenyenyenynol		(Z)-6-(2,3-diethylcyclopent-2-enyl)-7,7,10,10-tetraethylcyclodec-8-en-2,4-diyn-1-ol
Turkenyenyenynol		2-(3,3-diethynyl-2,4-divinyl-6,6-diisobutylcycloheptyl)cyclopropanol
Goosenyenyenynol		(2E, 4Z)-13-cyclopropylcyclo-tridec-2,4-dien-8,10-diyn-1-ol
Serpentyenyenyenynol		(Z,Z)-11-(2-isopropylcyclopentyl) undeca-6,10-dien-4,8-diyn-1-ol
Giraffenyenyenyenynol		(4Z,7E)-12-cyclopropyl-3,6,6-triethyldodeca-4,7-dien-9,11-diyn-3-ol
Duckyenyenyenyenynol		(Z)-4,4-diisobutyl-3-(4,4-dimethylcyclobut-2-enyl)-2-prop-2-ynyl-2-but-1-en-3-ynylcyclopentanol