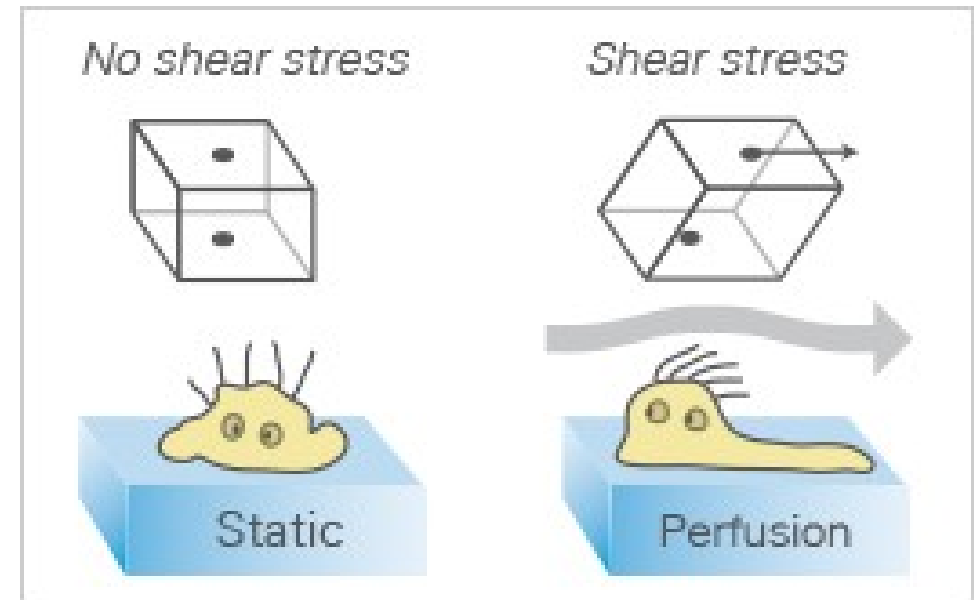


## Vliv fyzikálních jevů na vývoj

Tomáš Bárta  
tbarta@med.muni.cz



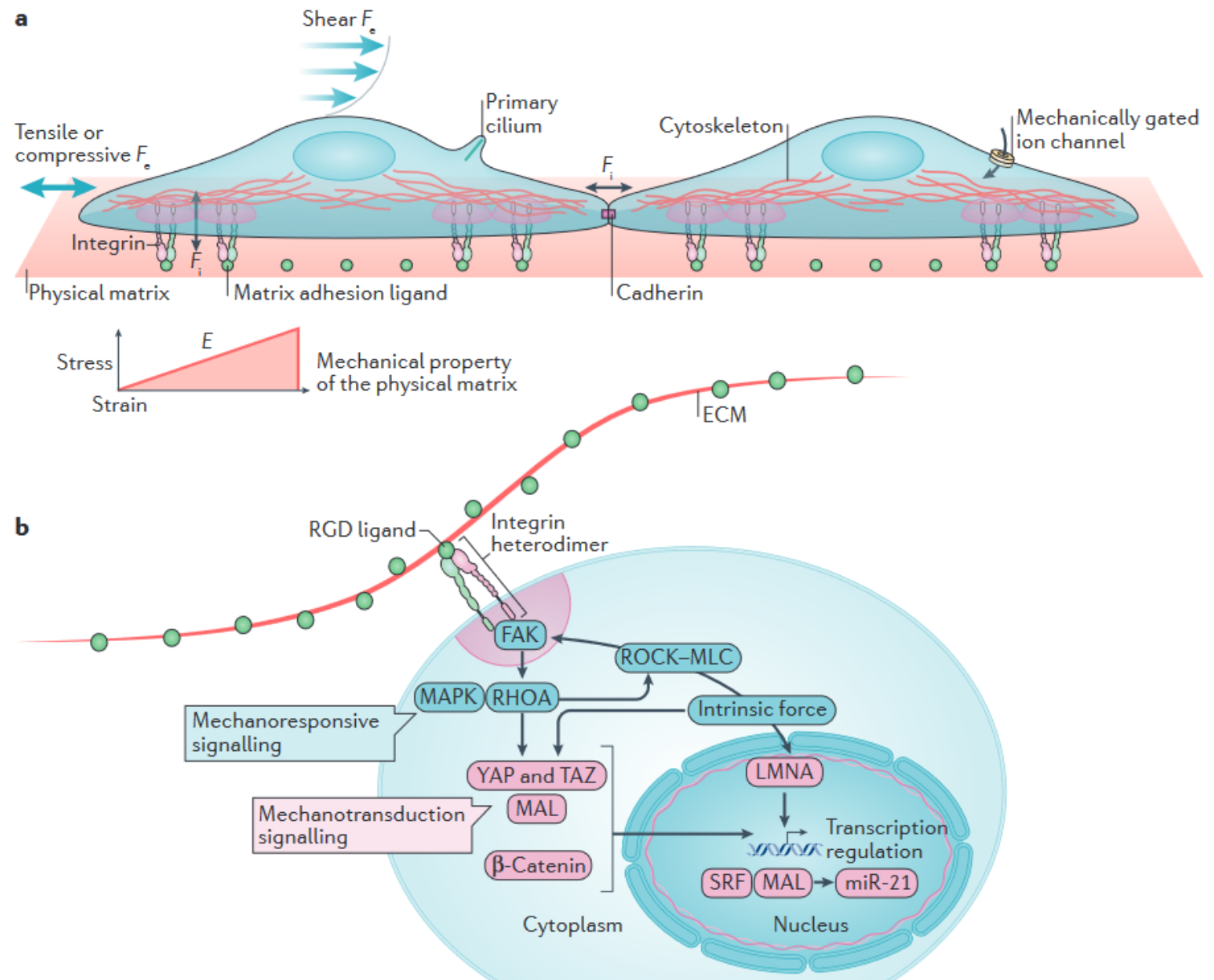
## Obsah přednášky

- Úvod
- Mechanosenzing: Cadheriny, Integriny, Hippo
- Smykové síly a vývoj srdce
- Mechanické síly a morfogeneze
- Bonus: Optogenetika
- Bonus: Organoidy
- Závěr

## Mechanosensing v embryogenezi

- Mechanická síla je neviditelnou, ale všudypřítomnou součástí biologických systémů.
- Síly, jako je gravitace a osmotický tlak, stanovují fyzikální limity pro tělní plán. A zároveň, buňky embrya využívají tyto síly aby vytvořily složité tvary, které nacházíme v živočišné říši.
- Mechanické síly generované živými buňkami na molekulární úrovni mají velký dopad na embryogenezi.
- Přímým výsledkem působení síly je pohyb, k němuž dochází při separaci chromozomů, migraci buněk nebo skládání tkání.
- Méně přímým, ale stejně důležitým účinkem síly je aktivace mechanosenzitivní signalizace, která umožňuje buňkám zkoumat jejich mechanické okolí a komunikovat mezi sebou na krátké i dlouhé vzdálenosti => mechanické síly jsou způsobem komunikace

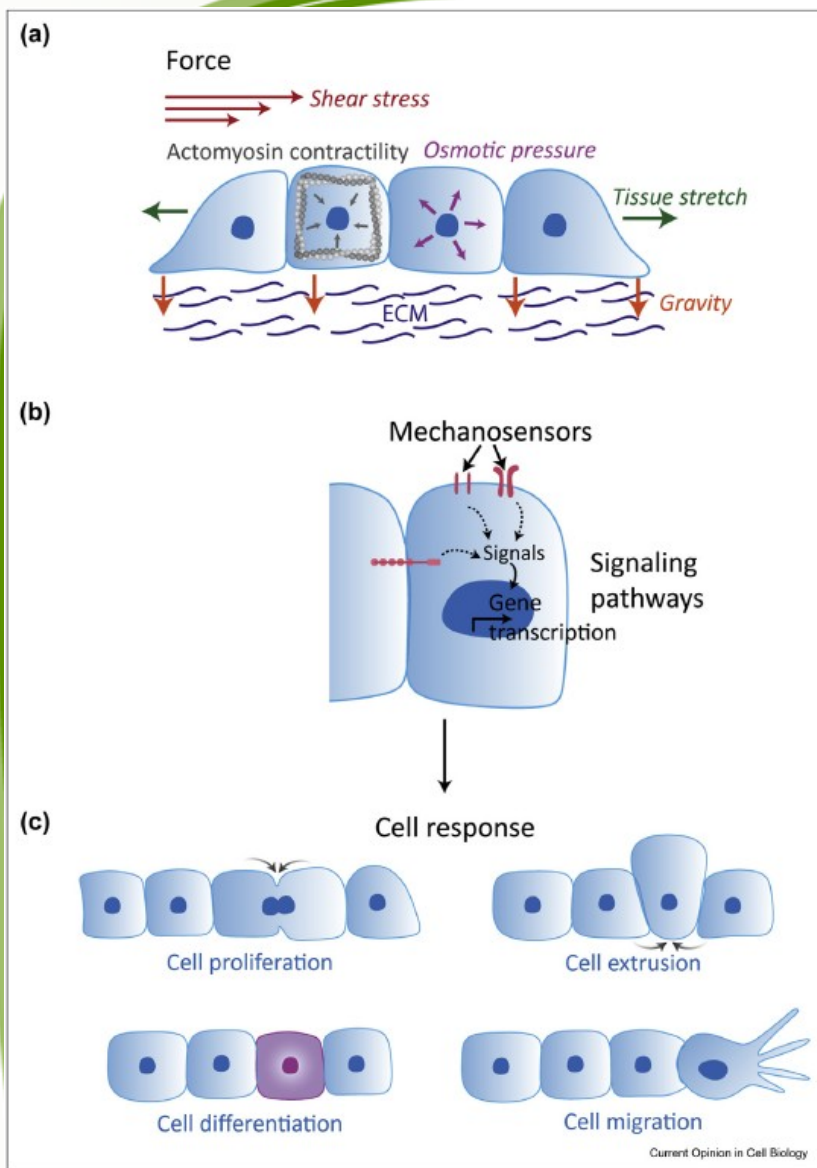
# Mechanosensing in embryogenesis



## Mechanosensing v embryogenezi

- Schopnost buněk „vnímat“ mechanické signály a přetvářet je v biochemické signály.
- A jak/čím „vnímá“?
  - **Iontové kanály**
  - **Primární cilium**
  - **Integriny**
  - **Cadheriny**
  - **Cytoskelet Aktin/Myosin**
  - **Notch**
  - **Receptory růstových faktorů**

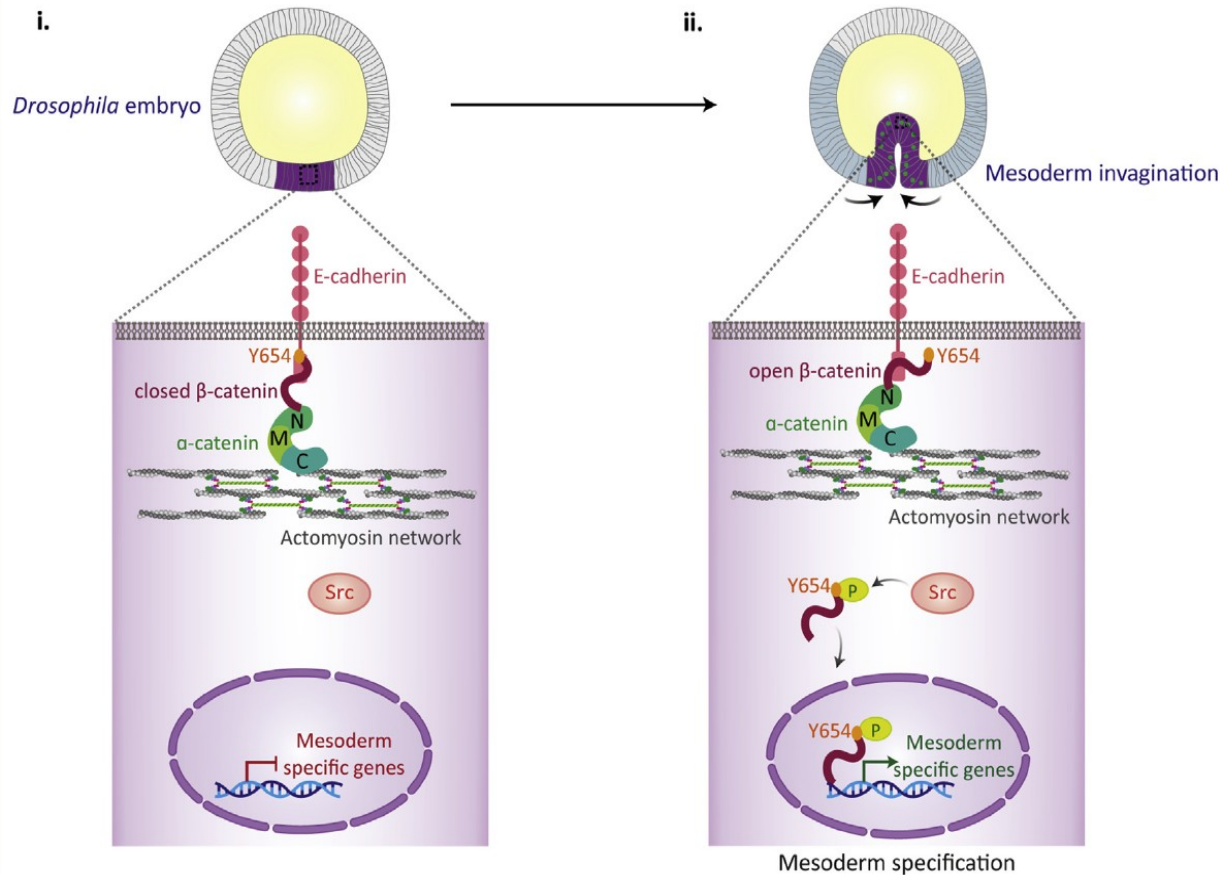
# Mechano recepce v embryogenezi



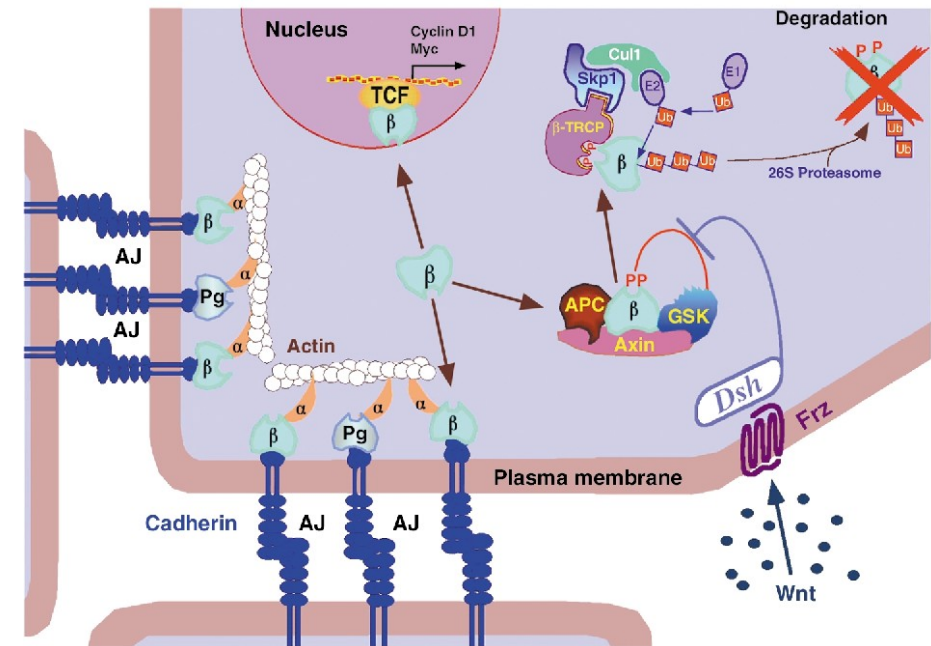
- Na buňku působí mnoho mechanických sil:
  - Vnitřní: osmotický tlak, kontraktility aktinu a myosinu
  - Vnější: smykové napětí, gravitace, natahování
- Síly jsou vnímány a interpretovány mechanosenzory (adhezivní molekuly, iontové kanály), které poté vedou ke změně genové exprese.
- To vede k reakci buňky -> změna morfologie buňky/tkáně



# Mechanosensing v embryogenezi – Cadherin/ $\beta$ -catenin - gastrulace a indukce mezodermu



Link na předchozí přednášku

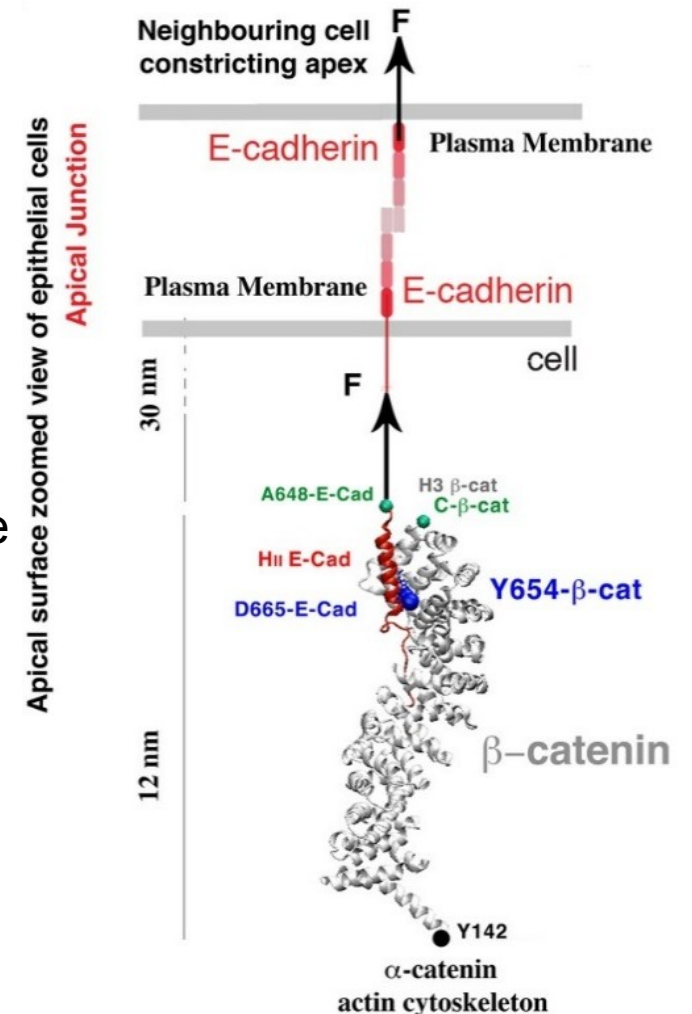


- V průběhu gastrulace dochází k pohybu buněk => působení mechanických sil.
- Tyto síly aktivují  $\beta$ -catenin dráhu, která přispívá ke specifikaci mezodermu tím, že aktivuje expresi genů, které specifikují mezoderm.

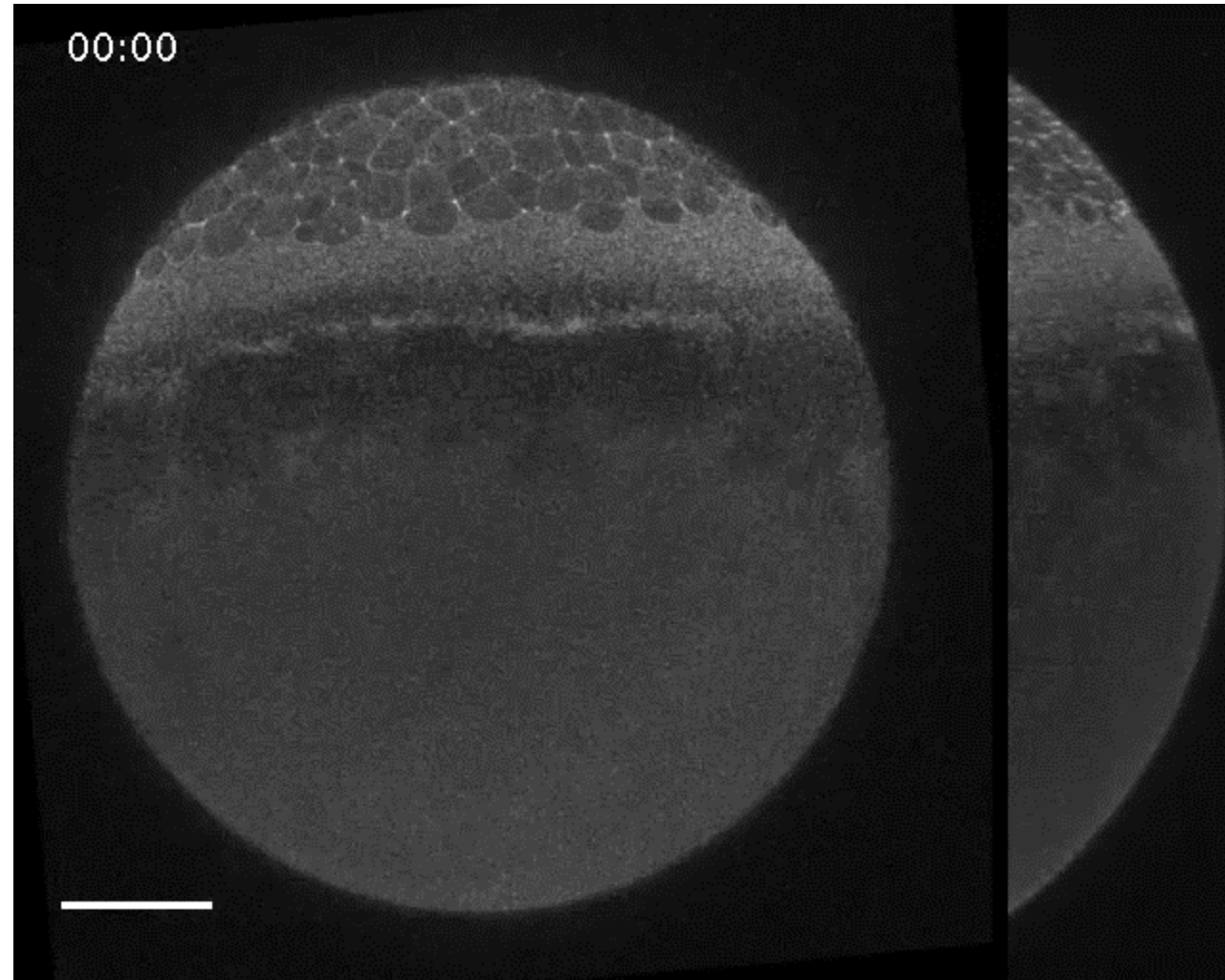


# Mechanosensing v embryogenezi – Cadherin/ $\beta$ -catenin - gastrulace a indukce mezodermu

- $\beta$ -Catenin jako primární molekula v mechanoreceptci
  - může být v jádře jako transkripční faktor (změna genové exprese)
  - také strukturální role v adherens junctions (link mezi E-cadherinem a cytoskeletem)
  - Cadherin-catenin-actin „osa“ je pod neustálým mechanickým tlakem nejen v důsledku vnitřní kontraktility aktinu. Externí mechanický stimul působí na mezibuněčné kontakty a zvyšuje tento tlak, což vede ke snímání mechanického tlaku (1 nm).

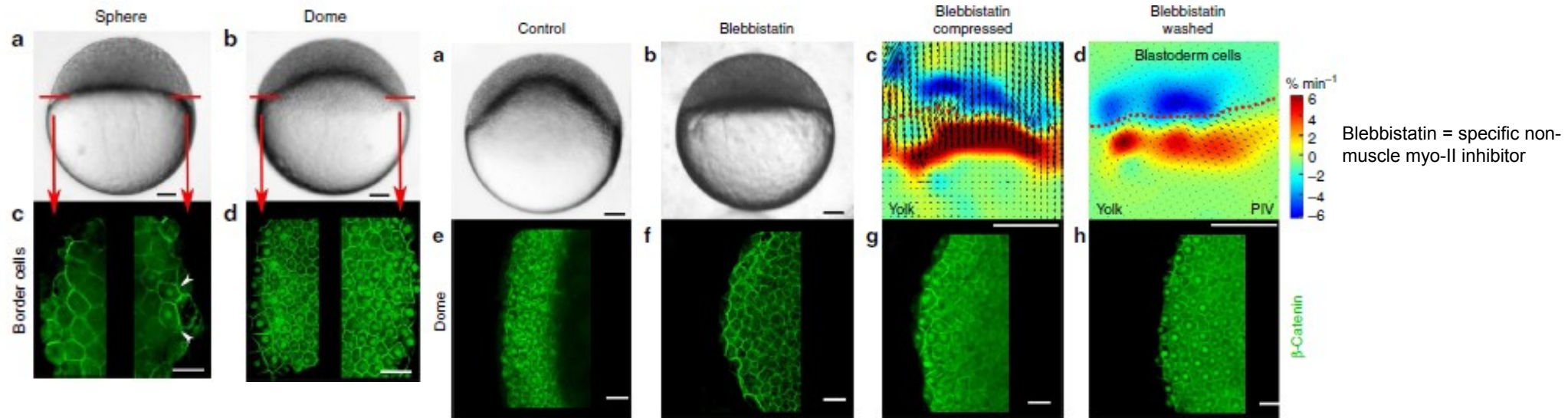


# Mechanosensing v embryogenezi – Cadherin/ $\beta$ -catenin - gastrulace a indukce mezodermu



# Mechanosensing v embryogenezi – Cadherin/ $\beta$ -catenin - gastrulace a indukce mezodermu

- Zablokování gastrulačních pohybů (genet., farmakol.) vede k inhibici mezodermálních genů – opětovným působením mechanických sil dochází k záchraně fenotypu a expresi mezoderm. genů
- Feedback pro signální dráhy.



## ARTICLE

Received 21 Jun 2013 | Accepted 24 Oct 2013 | Published 27 Nov 2013

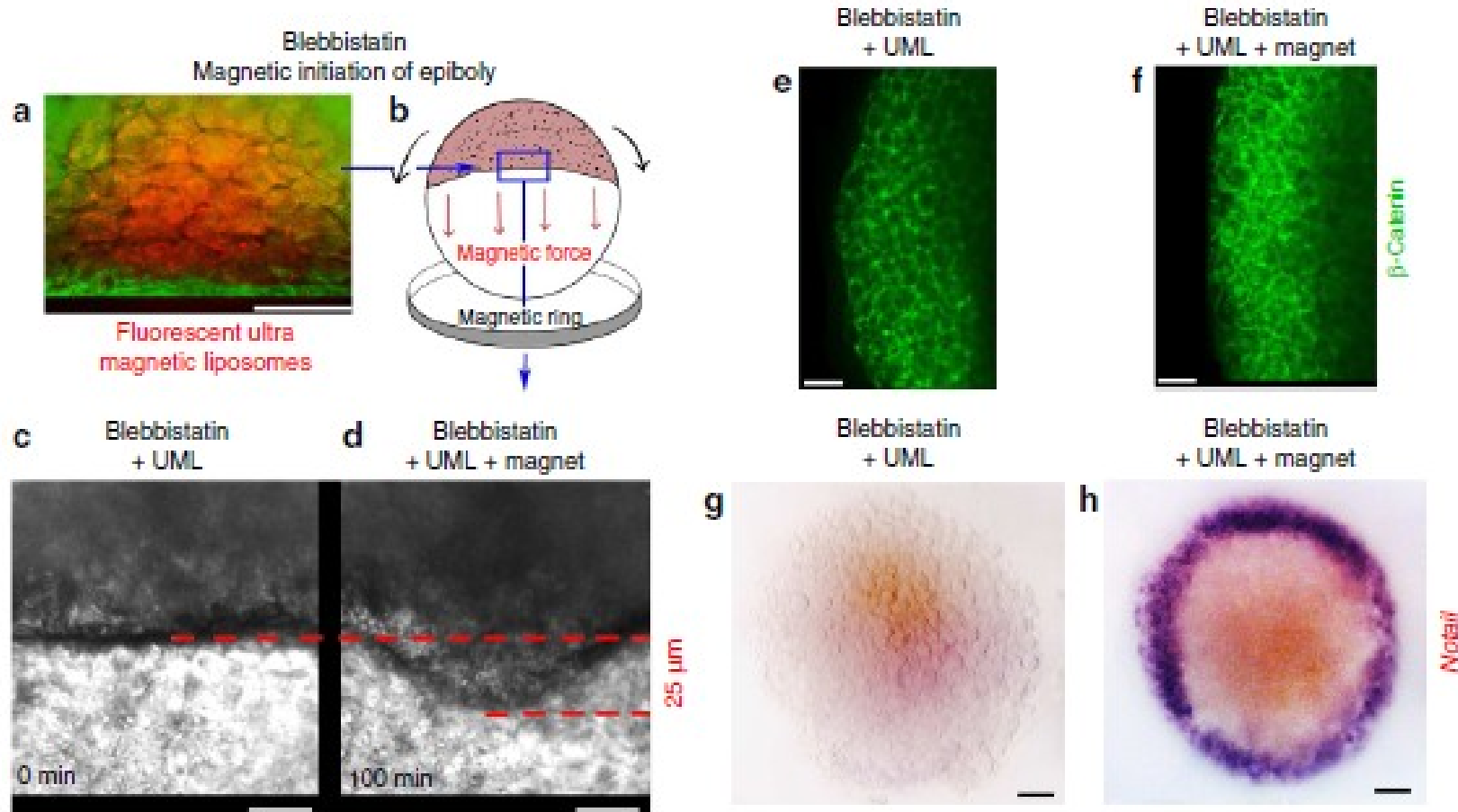
DOI: 10.1038/ncomms3821

OPEN

## Evolutionary conservation of early mesoderm specification by mechanotransduction in Bilateria

Thibaut Brunet<sup>1,†,\*</sup>, Adrien Bouclet<sup>1,\*</sup>, Padra Ahmadi<sup>1</sup>, Démosthène Mitrossilis<sup>1</sup>, Benjamin Driquez<sup>1</sup>

# Mechanosensing v embryogenezi – Cadherin/ $\beta$ -catenin - gastrulace a indukce mezodermu



ARTICLE

Received 21 Jun 2013 | Accepted 24 Oct 2013 | Published 27 Nov 2013

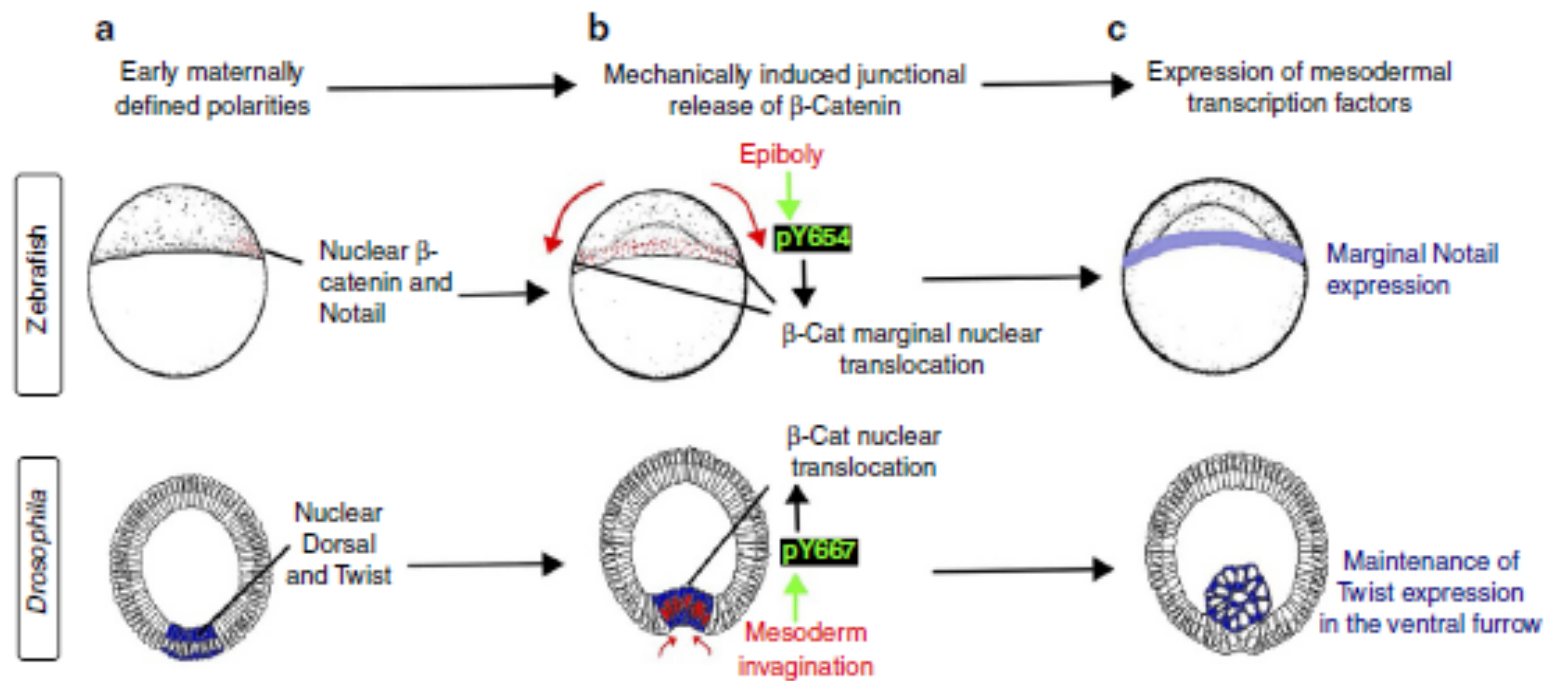
DOI: 10.1038/ncomms3821

OPEN

## Evolutionary conservation of early mesoderm specification by mechanotransduction in Bilateria

Thibaut Brunet<sup>1,†\*</sup>, Adrien Bouclet<sup>1,\*</sup>, Padra Ahmadi<sup>1</sup>, Démosthène Mitrossilis<sup>1</sup>, Benjamin Driquez<sup>1</sup>

# Mechanosensing v embryogenezi – Cadherin/ $\beta$ -catenin - gastrulace a indukce mezodermu



ARTICLE

Received 21 Jun 2013 | Accepted 24 Oct 2013 | Published 27 Nov 2013

DOI: 10.1038/ncomms3821

OPEN

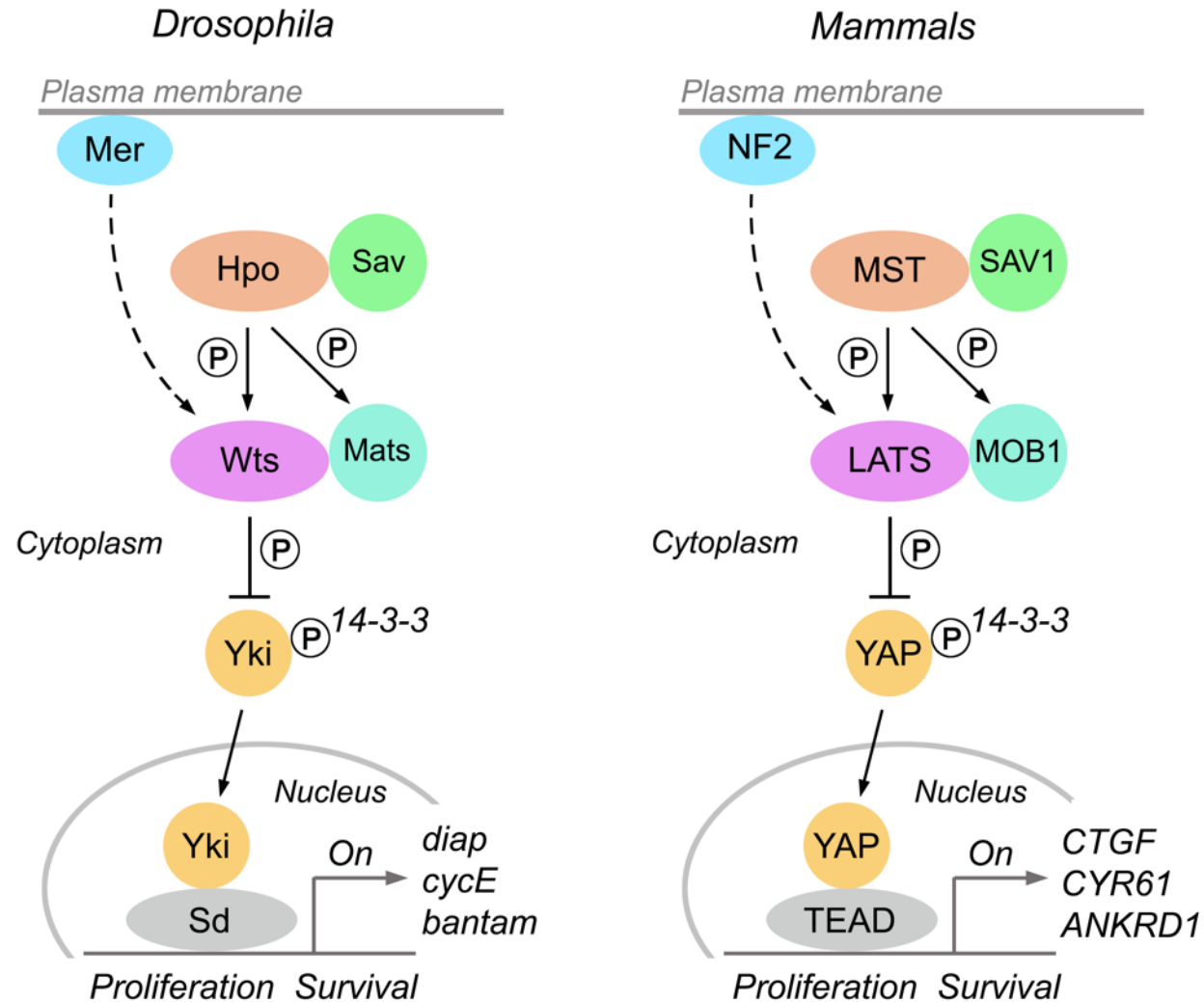
Evolutionary conservation of early mesoderm specification by mechanotransduction in Bilateria

Thibaut Brunet<sup>1,†\*</sup>, Adrien Bouclet<sup>1,\*</sup>, Padra Ahmadi<sup>1</sup>, Démosthène Mitrossilis<sup>1</sup>, Benjamin Driquez<sup>1</sup>,



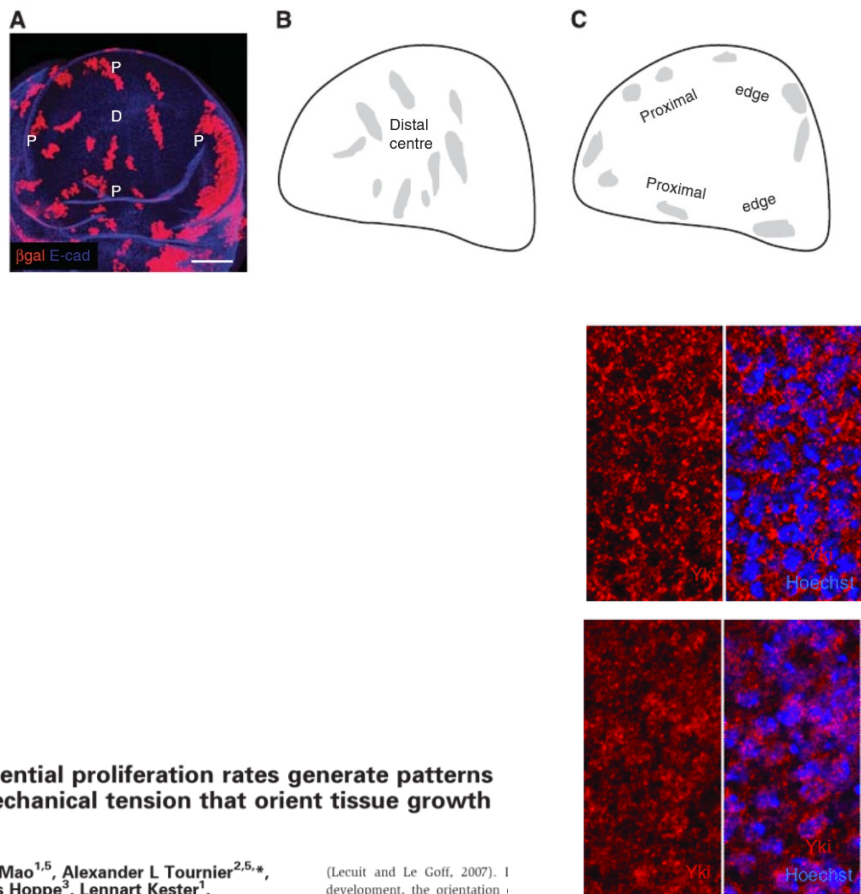
# Mezibuněčný mechanosenzing a růst tkání - Hippo

Hippo nejen v regulaci velikosti



# Intercelulární tenze a růst tkání - Hippo

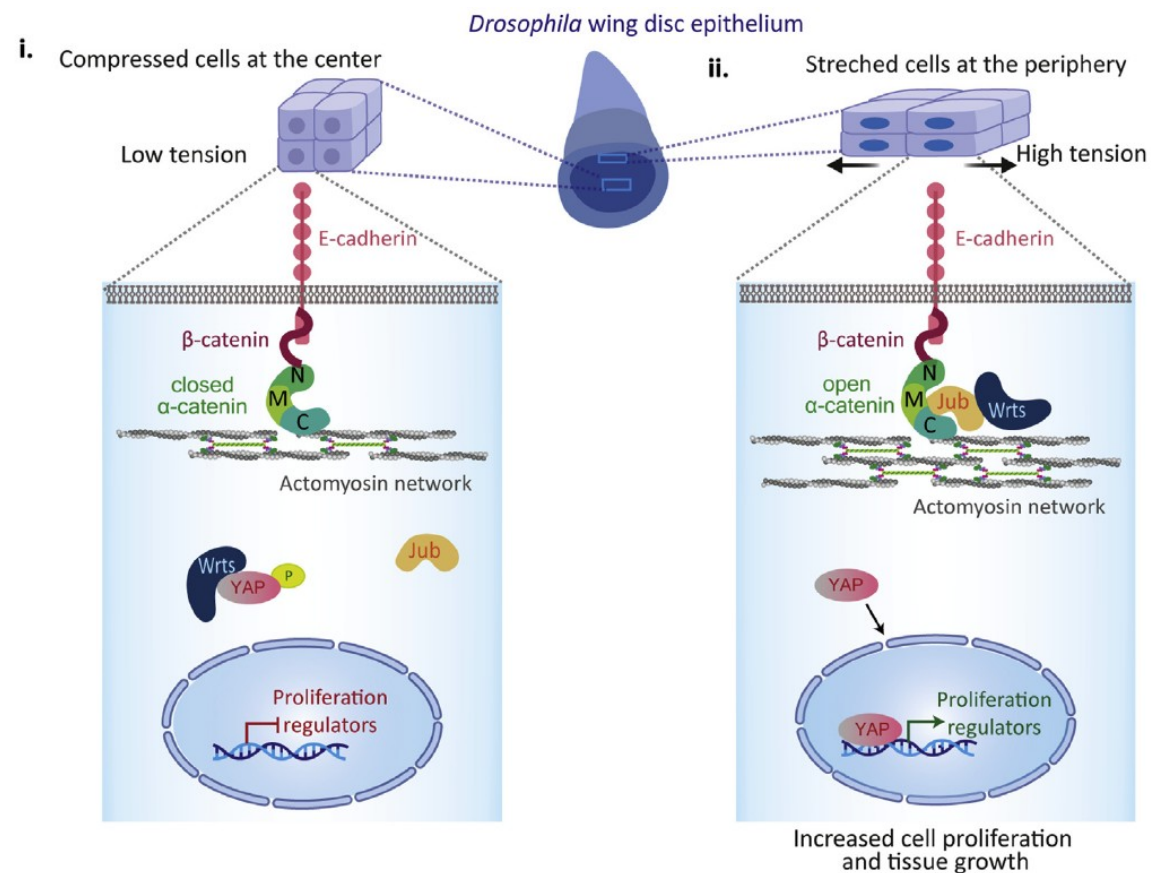
- Tuhost ECM, hustota buněk, tlak cytoskeletu ovlivňují lokalizaci YAP/Yki
- Mol. Mechanismus je nejasný



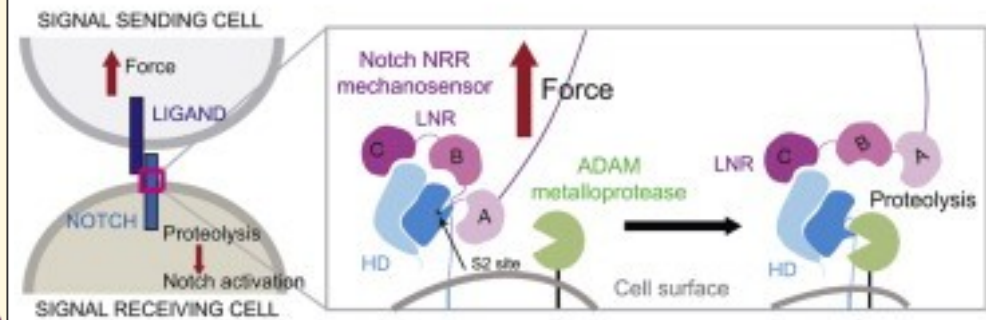
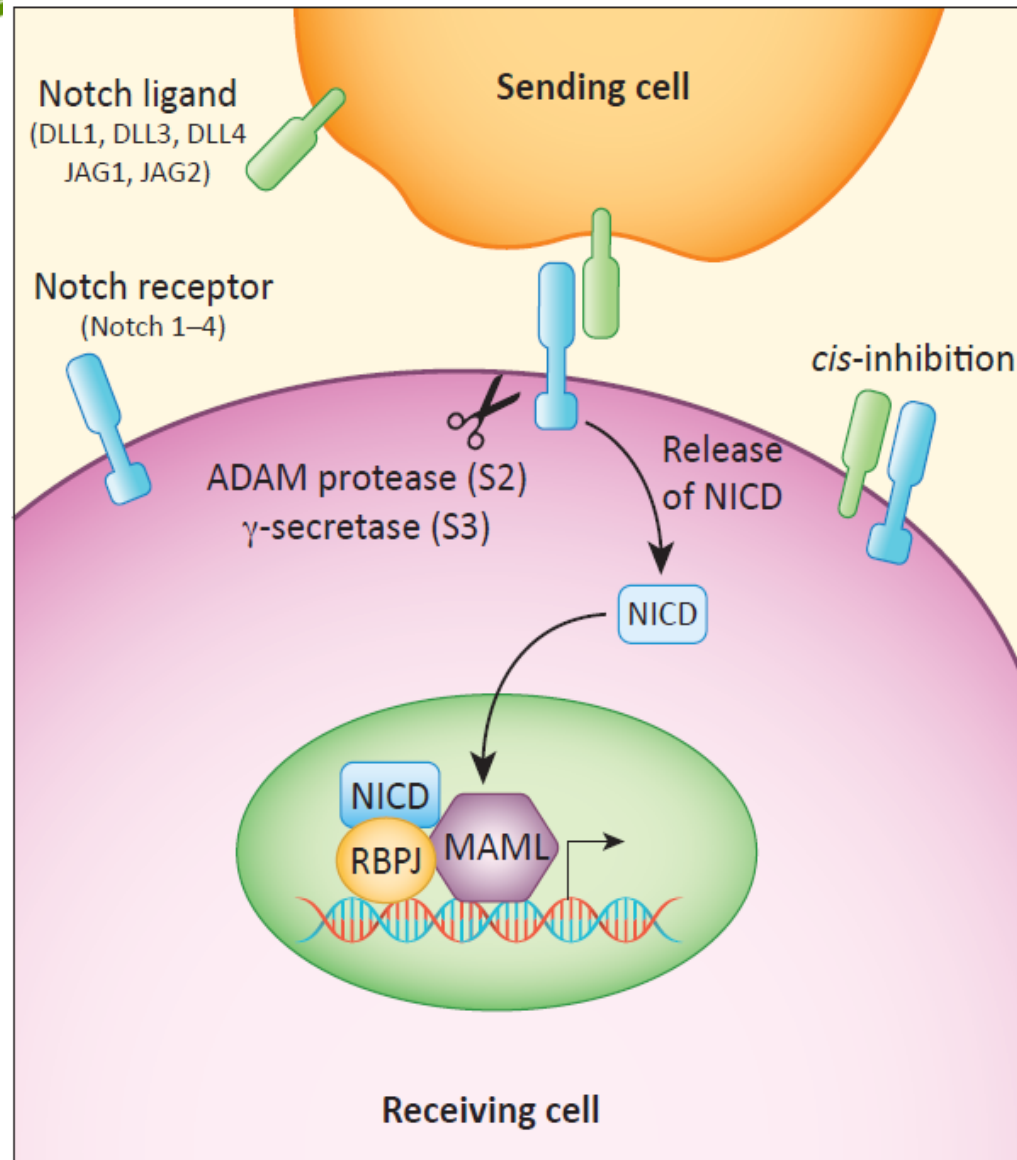
Differential proliferation rates generate patterns of mechanical tension that orient tissue growth

Yanlan Mao<sup>1,5</sup>, Alexander L Tournier<sup>2,5,\*</sup>, Andreas Hoppe<sup>3</sup>, Lennart Kester<sup>1</sup>, Barry J Thompson<sup>4</sup> and Nicolas Tapon<sup>1,\*</sup>

(Lecuit and Le Goff, 2007). I development, the orientation a major influence on the shape a



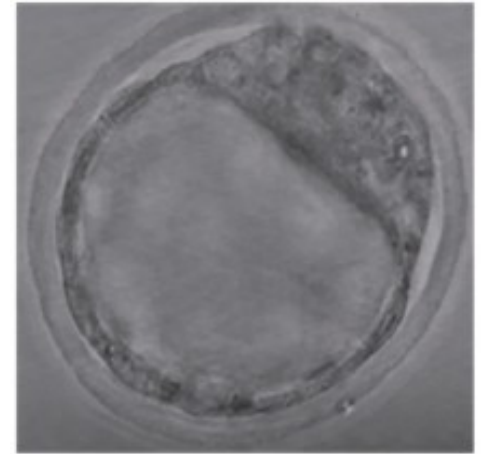
# NOTCH



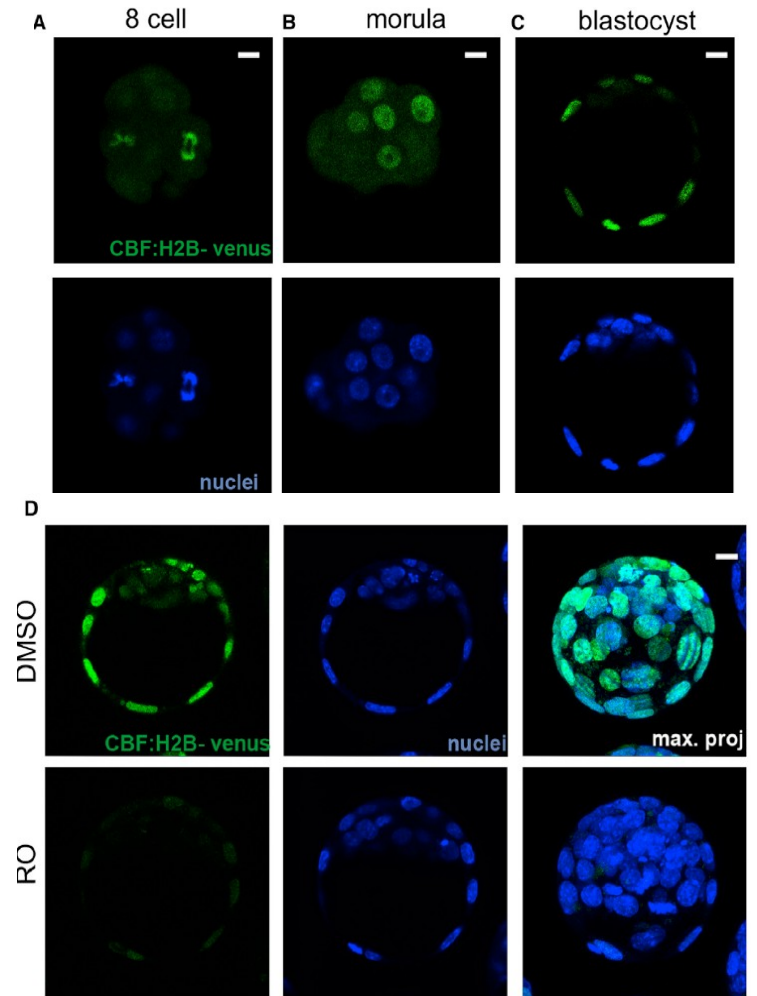
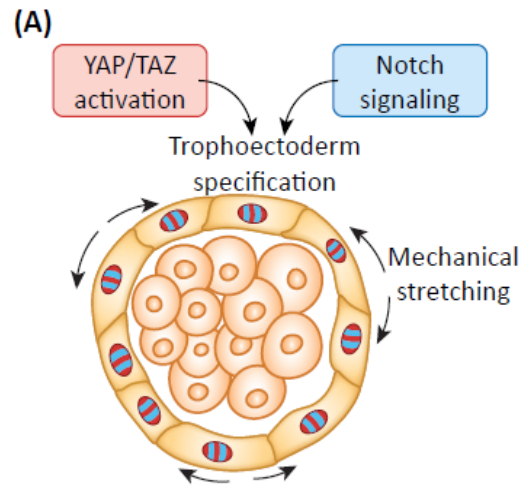


# NOTCH

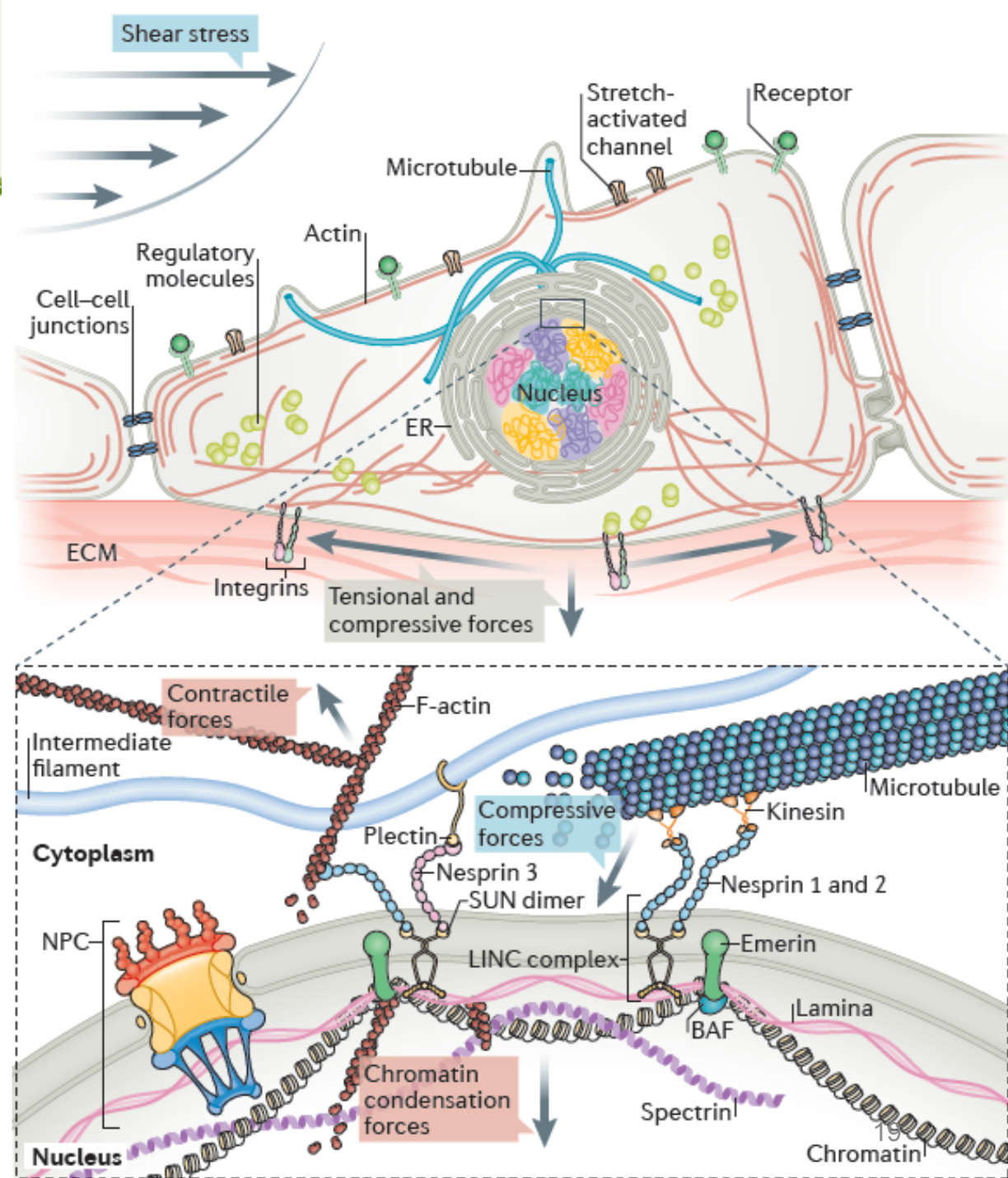
- Po oplození, savčí zygota během cca 4dní produkuje cca 100 buněk.
  - Embryoblast (ICM): Oct4, Nanog, Sox2
  - Trophectoderm (TE): CDX2
  - Tyto faktory determinují jednotlivé buněčné linie, jak ale jednotlivé linie vznikly?
- Pozice blastomer v embryu. Rozdílná polarita a adheze buněk.



# NOTCH

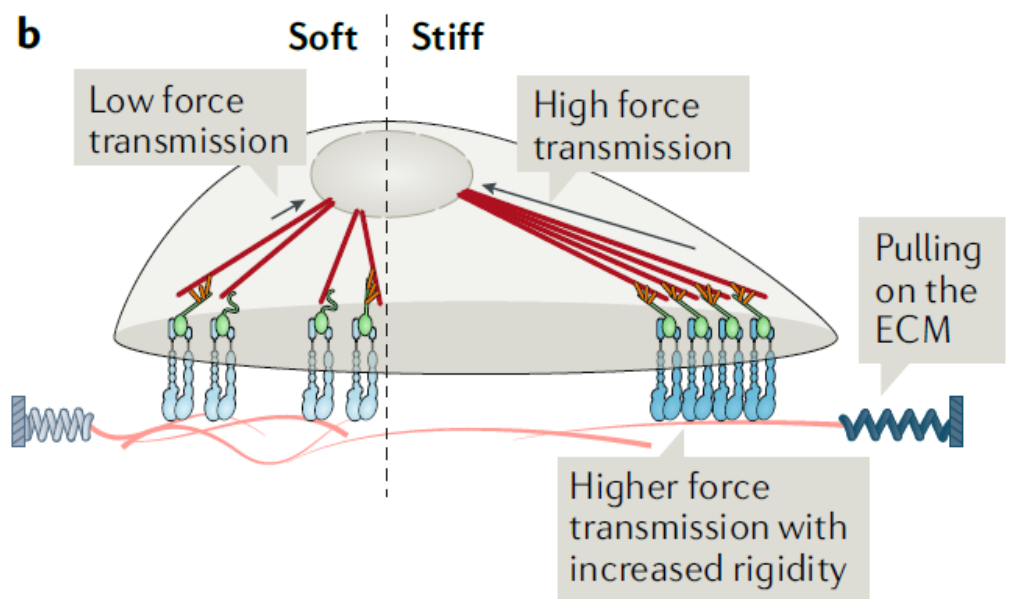
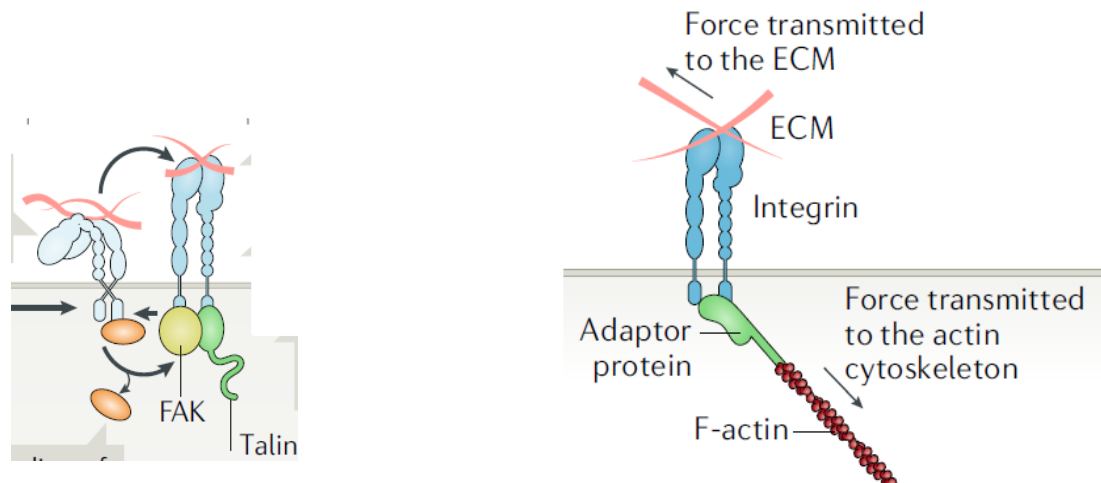


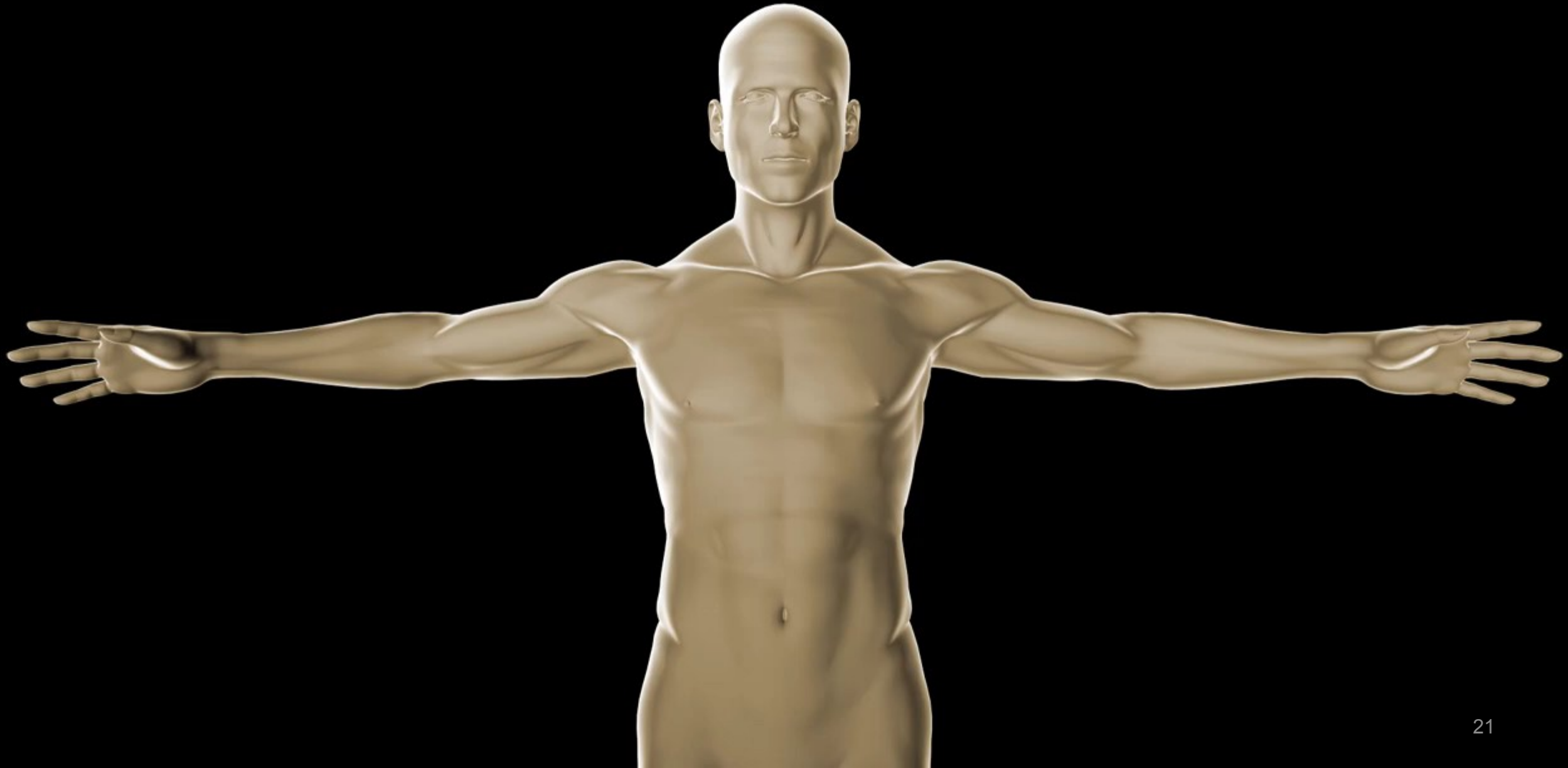
# Integriny



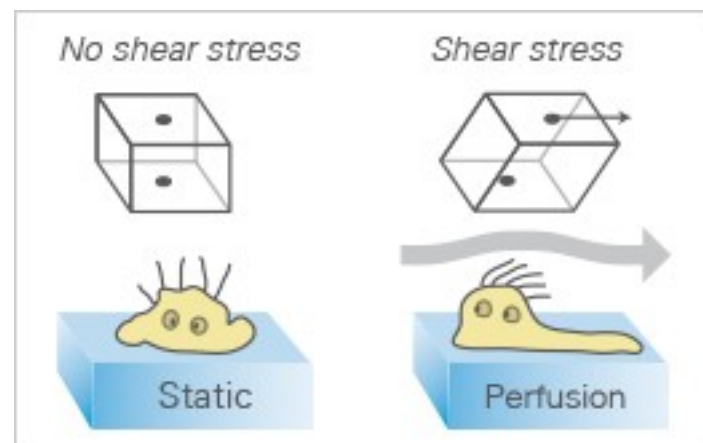
Regulation of genome organization and gene expression by nuclear mechanotransduction

# Integriny





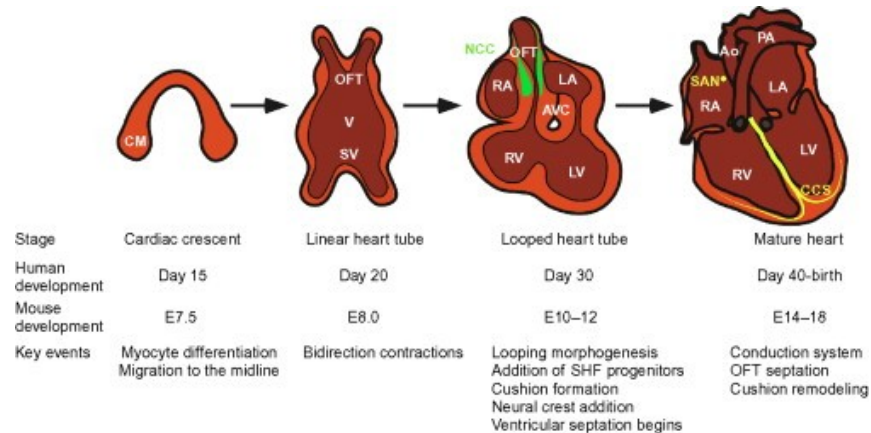
# Smykové síly



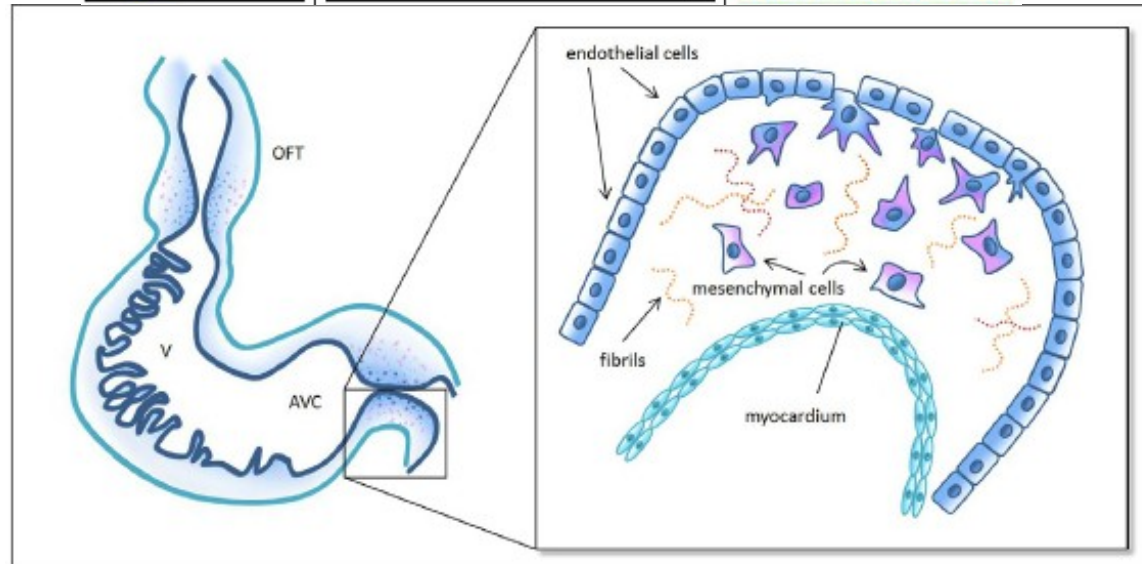
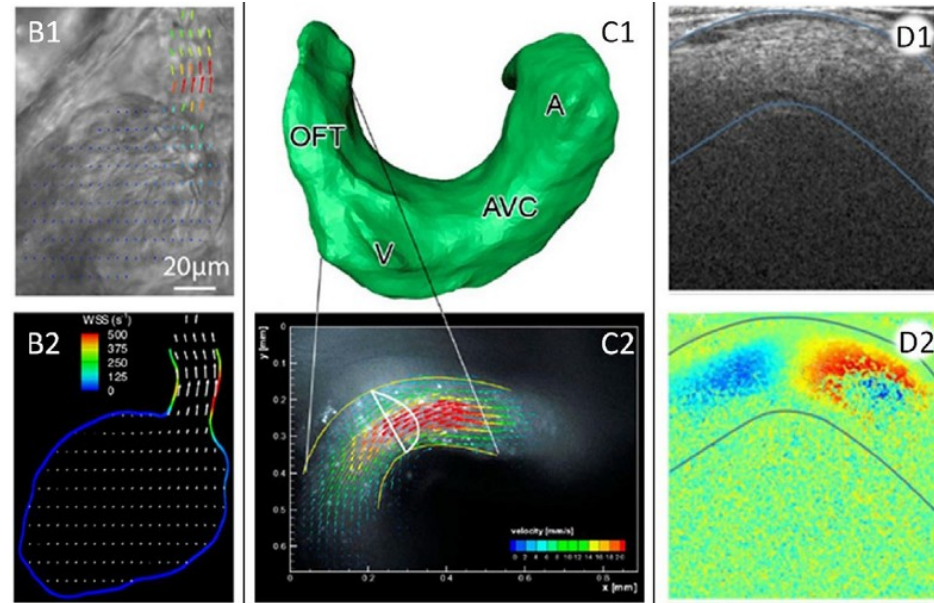


# Smykové síly a vývoj srdce

- Srdce začíná svůj vývoj jako trubice a postupně se vyvíjí do podoby vícekomorového aparátu.
- V průběhu vývoje ale neustále čerpá krev.
- Tlak krve vyvíjí smykové síly na endoteliální buňky.
- Smykové síly jsou vnímány endoteliálními buňkami => má vliv na jejich uspořádání a fyziologii.



# Smykové síly a vývoj srdce



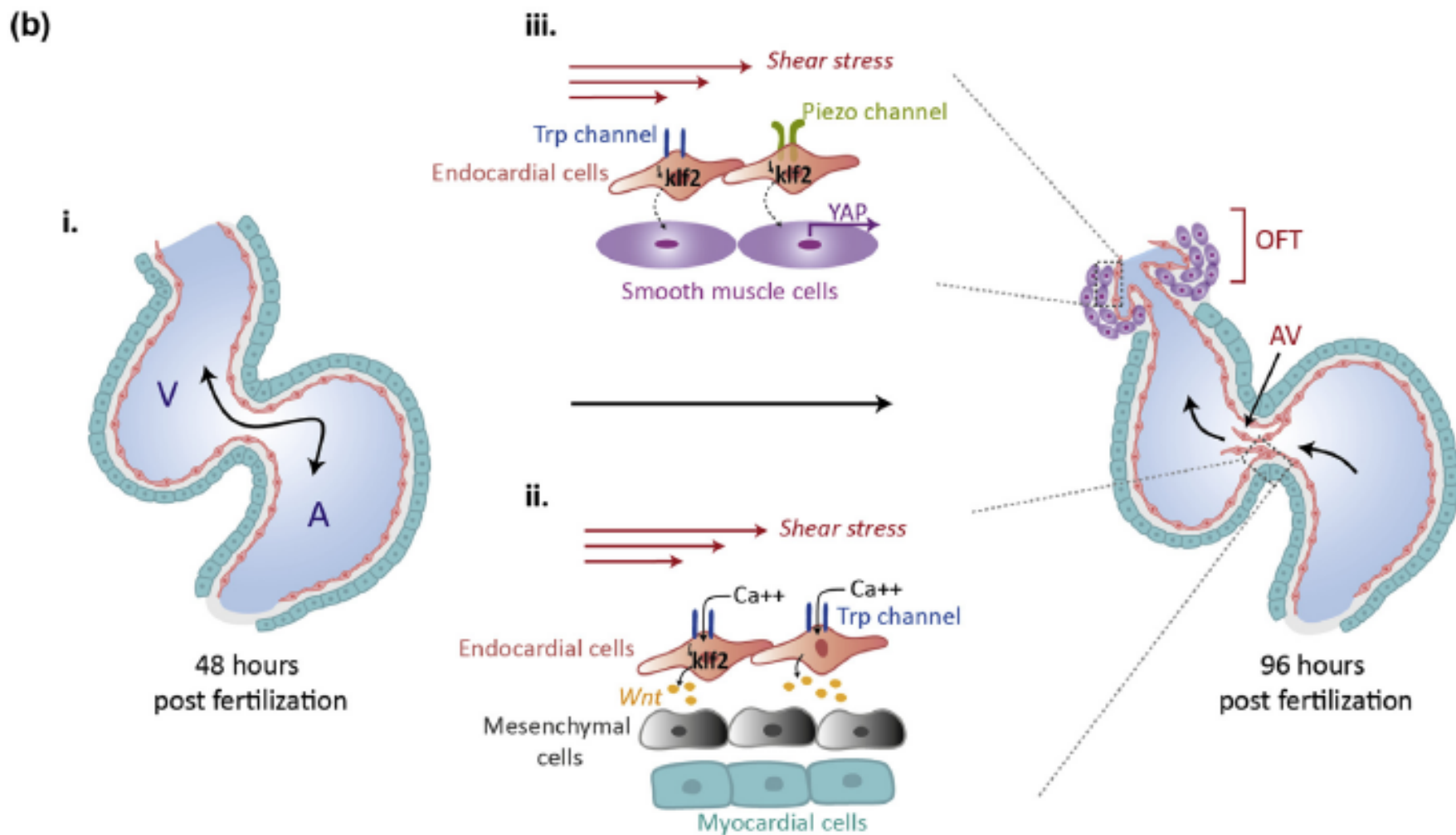
Influence of blood flow on cardiac development

Katherine Courchaine<sup>1</sup>, Graham Rykiel<sup>1</sup>, Sandra Rugonyi<sup>1\*</sup>

Biomedical Engineering, School of Medicine, Oregon Health & Science University, Portland OR, USA

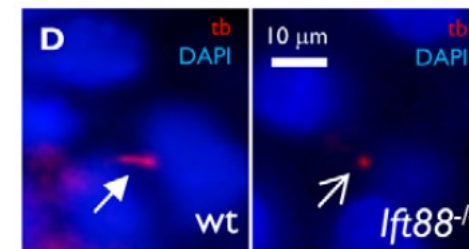
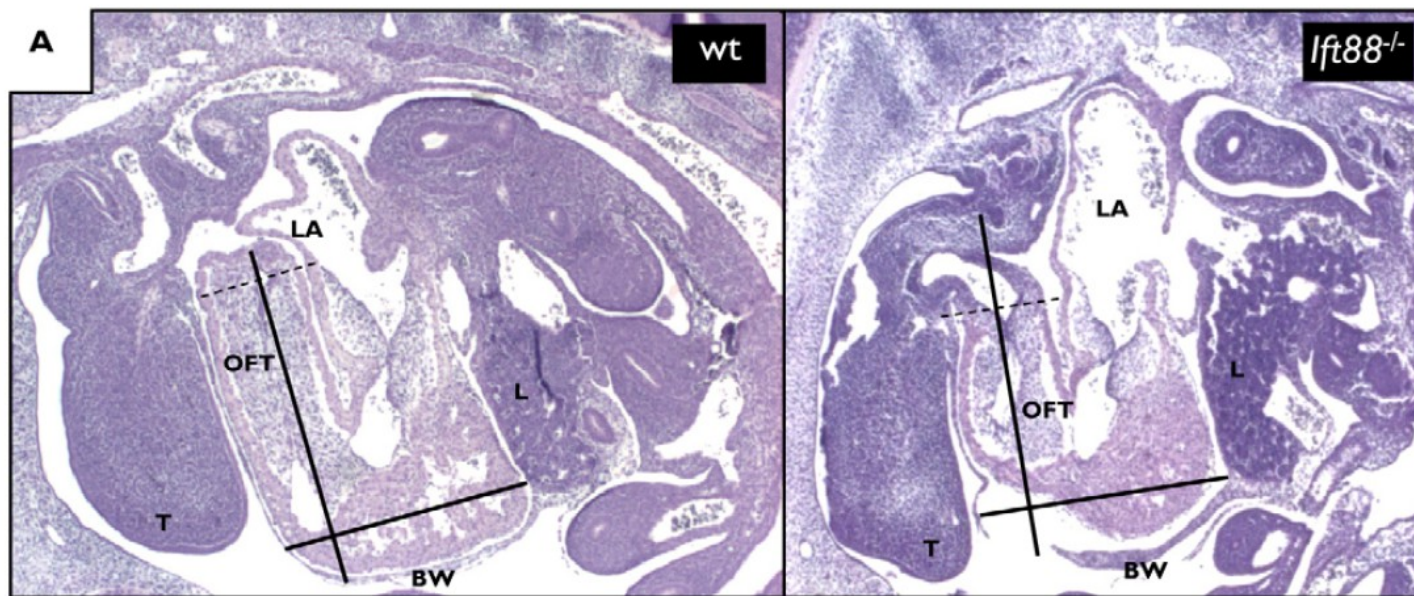


# Smykové síly a vývoj srdce



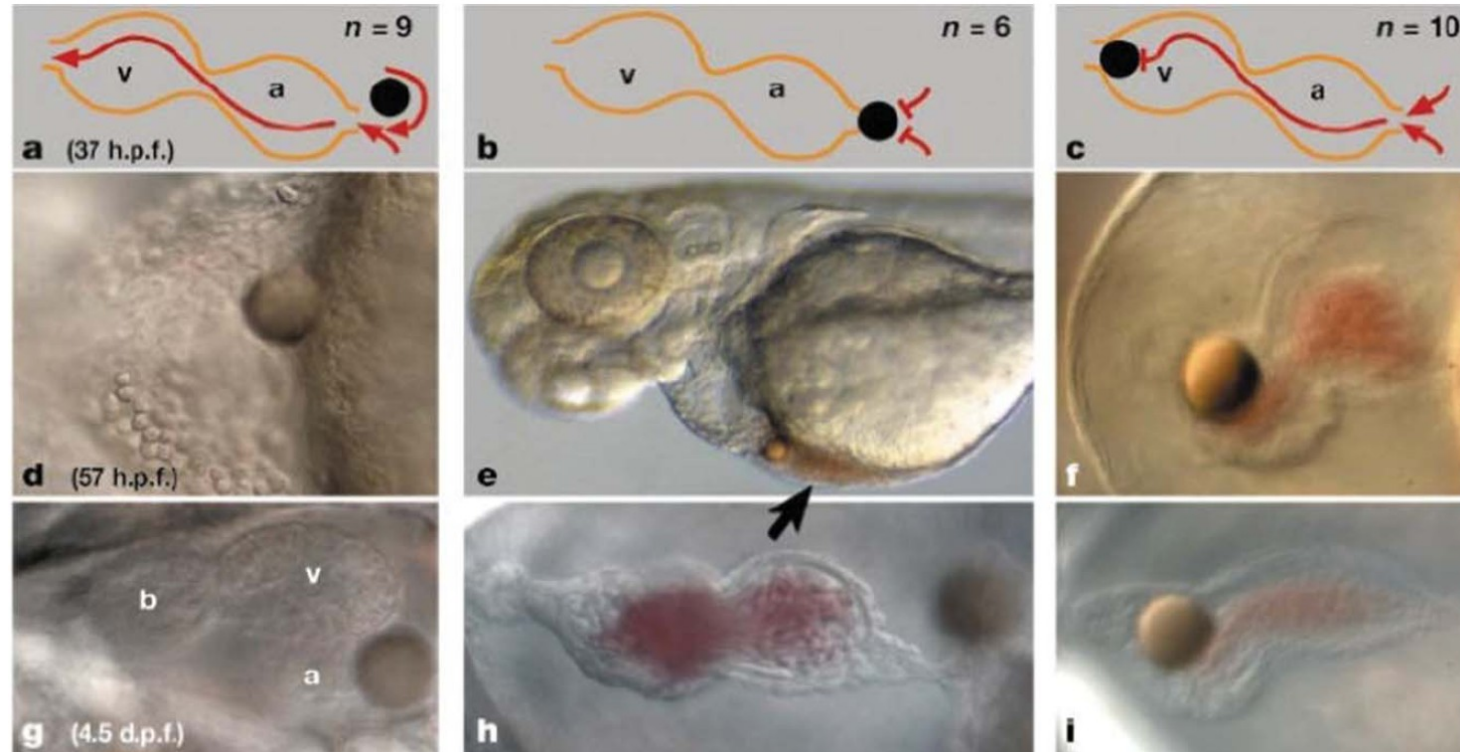
# Smykové síly a vývoj srdce

Porušení smykových sil (geneticky, chirurgicky, změna viskozity) vede k poruchám vývoje chlopní



Vývoj srdečních chlopní tedy závisí na vnímání smykových sil mechanosenzitivními kanály v endoteliálních buňkách, tím se určí správné místo pro vývoj chlopně a aktivaci příslušných genů.

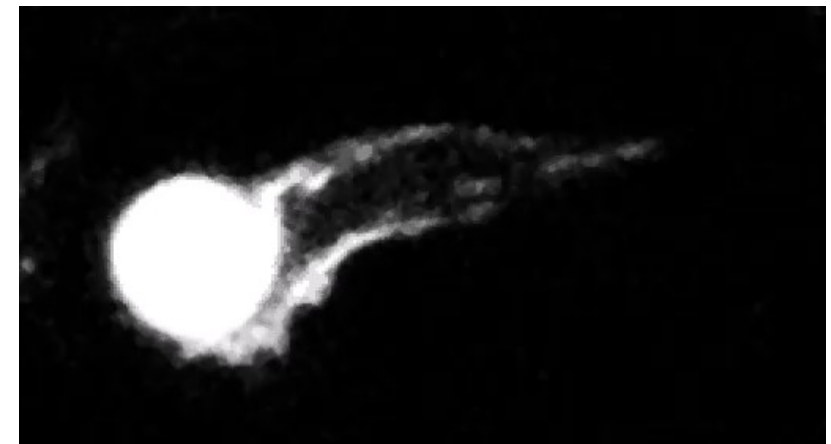
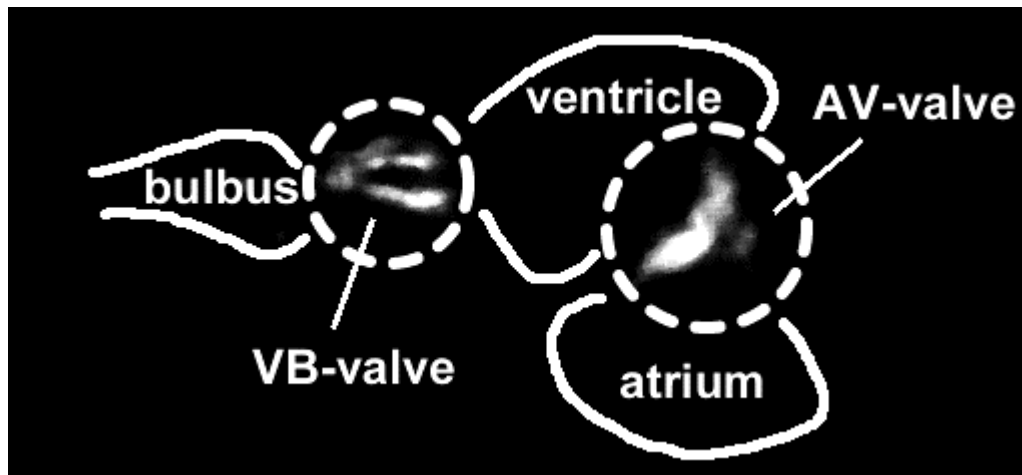
# Smykové síly a vývoj srdce



**Intracardiac fluid forces are an essential epigenetic factor for embryonic cardiogenesis**

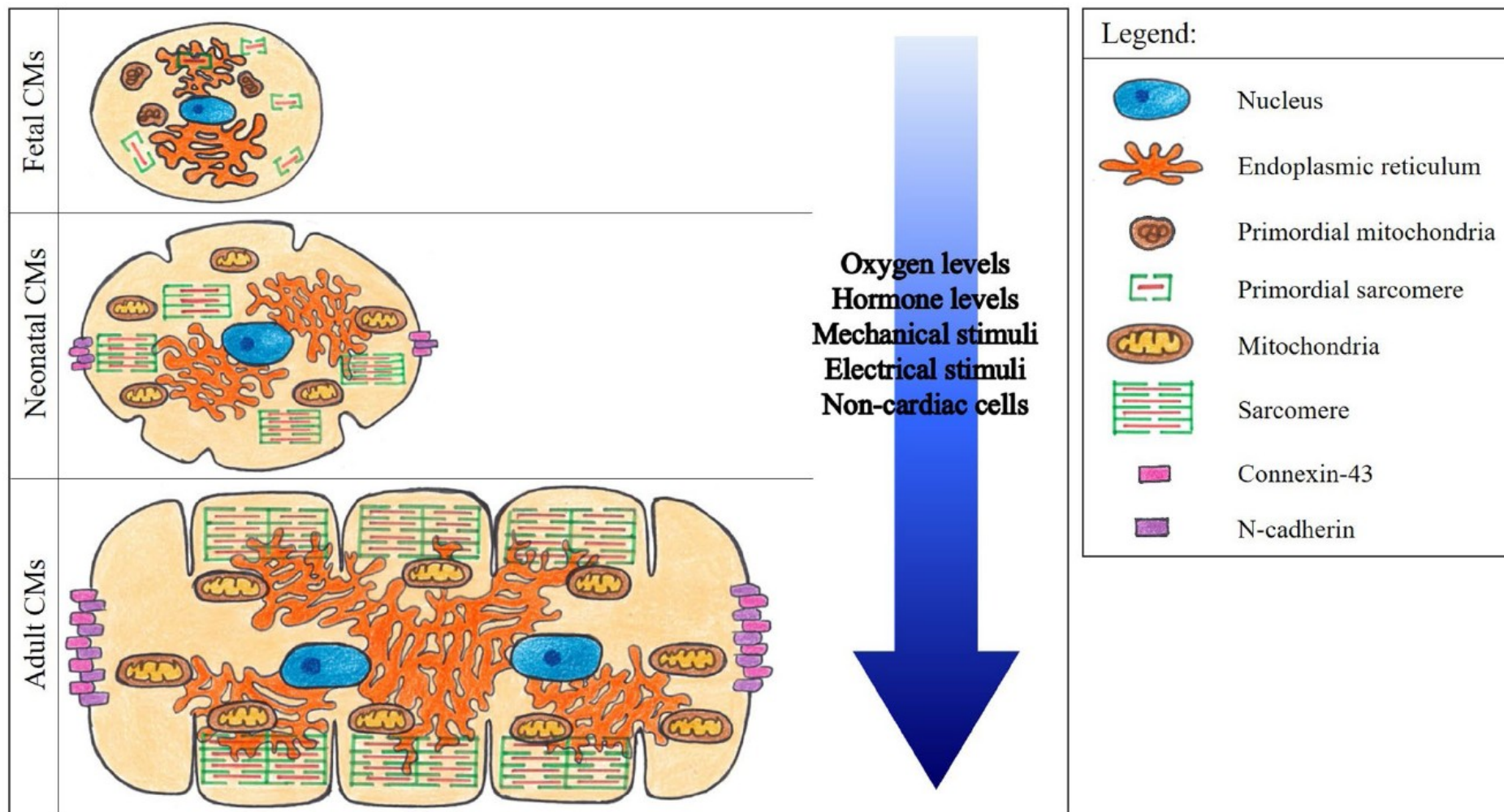
Jay R. Hove<sup>\*,†</sup>, Reinhard W. Köster<sup>‡,§</sup>, Arian S. Forouhar<sup>\*</sup>, Gabriel Acevedo-Bolton<sup>\*</sup>, Scott E. Fraser<sup>‡</sup> & Morteza Gharib<sup>\*</sup>

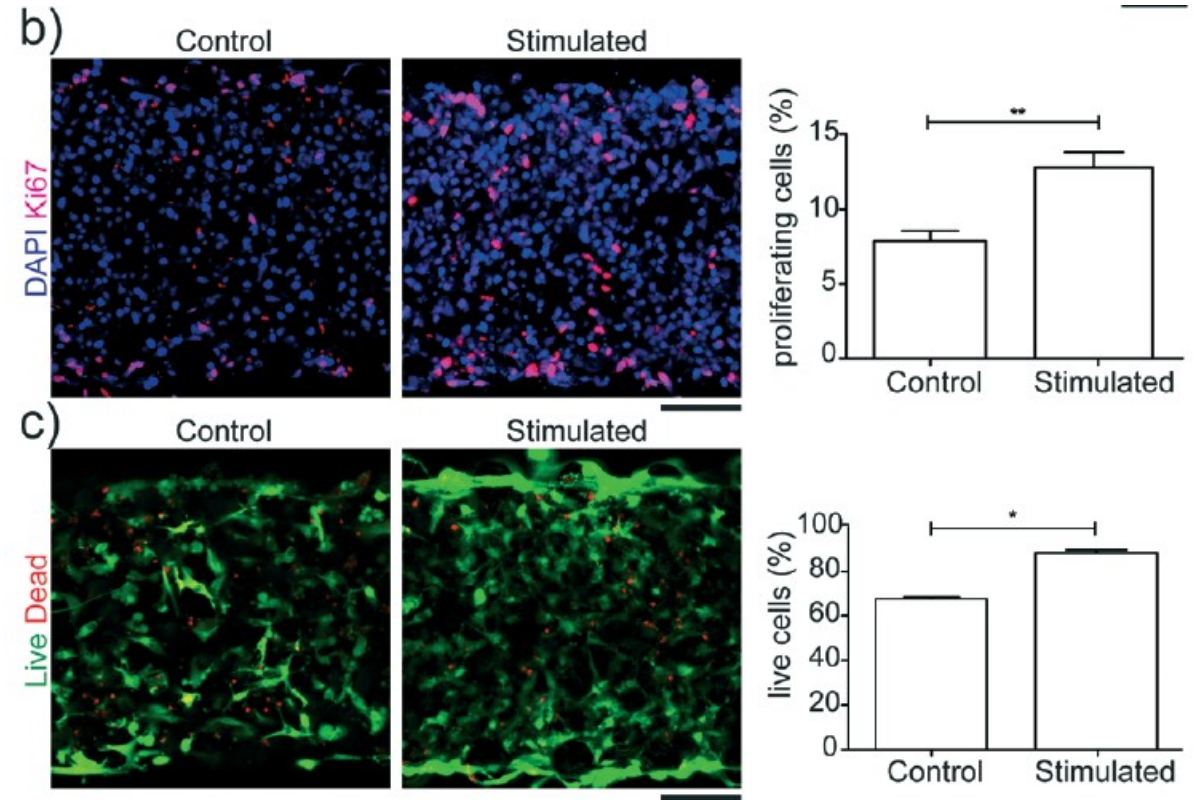
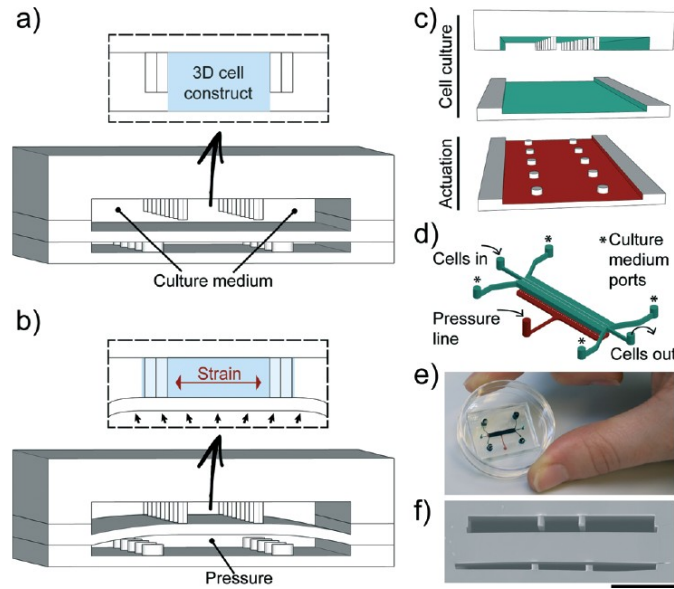
# Smykové síly a vývoj srdce





# Food for thought





## Beating heart on a chip: a novel microfluidic platform to generate functional 3D cardiac microtissues†‡

Anna Marsano,<sup>\*a</sup> Chiara Conficconi,<sup>§<sup>ab</sup></sup> Marta Lemme,<sup>§<sup>ab</sup></sup> Paola Occhetta,<sup>b</sup> Emanuele Gaudiello,<sup>a</sup> Emiliano Votta,<sup>b</sup> Giulia Cerino,<sup>a</sup> Alberto Pedaelli<sup>b</sup> and Marco Rasponi<sup>\*b</sup>

# Lab on a Chip

Video related to research article appearing in *Lab on a Chip*

Anna Marsano, Chiara Conficconi, Marta Lemme, Paola Occhetta, Emanuele Gaudiello, Emiliano Votta, Giulia Cerino, Alberto Redaelli and Marco Rasponi

“Beating heart on a chip: a novel microfluidic platform to generate functional 3D cardiac microtissues”

Read the article at

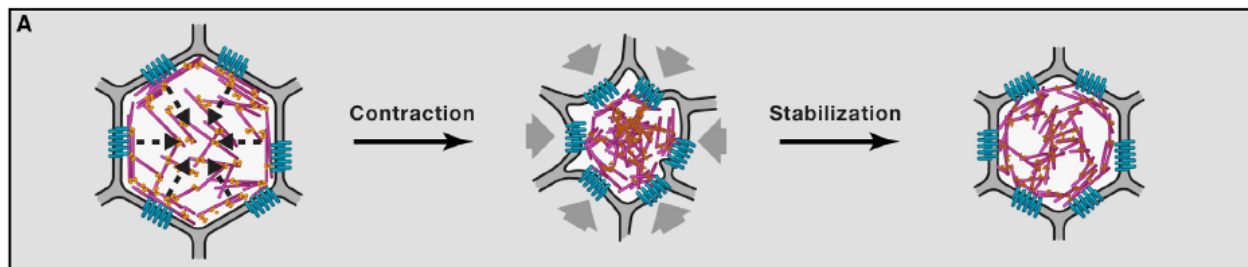
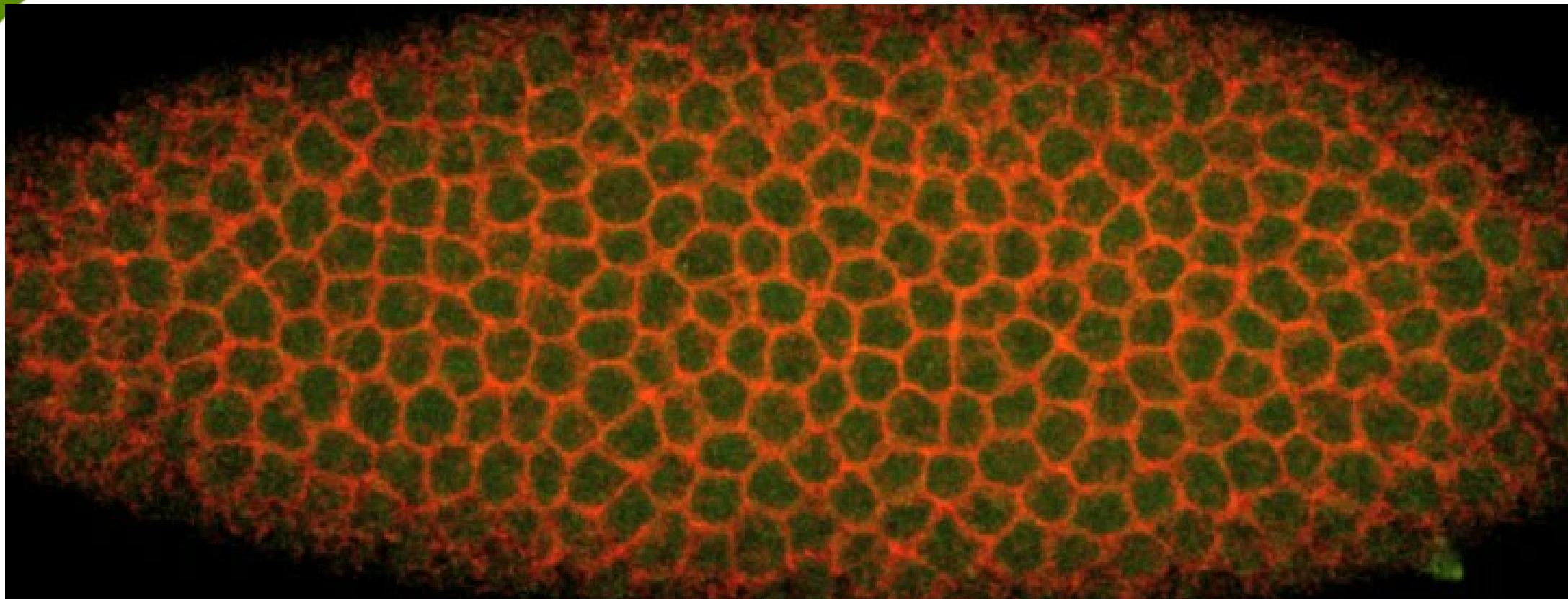
<http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2015/LC/C5LC01356A>

## Mechanické síly a morfogeneze

- Během vývoje mechanické síly způsobují změny ve tvaru, velikosti, počtu i pozici buněk, což je doprovázeno změnou genové exprese => dopad na morfogenezi.
- všechny tyto buněčné procesy, které vedou ke změně tvaru tkáně, jsou určitou formou síly mezi jednotlivými buňkami, běžně zprostředkovanou adhezí mezi buňkami.
- Tato síla je generována prostřednictvím:
  - Aktinu
  - Polymerizaci mikrotubulů
  - Osmotickým tlakem
  - Molekulárními motory - Myosin



# Mechanosensing v embryogenezi – gastrulace a indukce mezodermu



## Forces in Tissue Morphogenesis and Patterning

Carl-Philipp Heisenberg<sup>1,\*</sup> and Yohanns Bellaïche<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Science and Technology Austria, 3400 Klosterneuburg, Austria

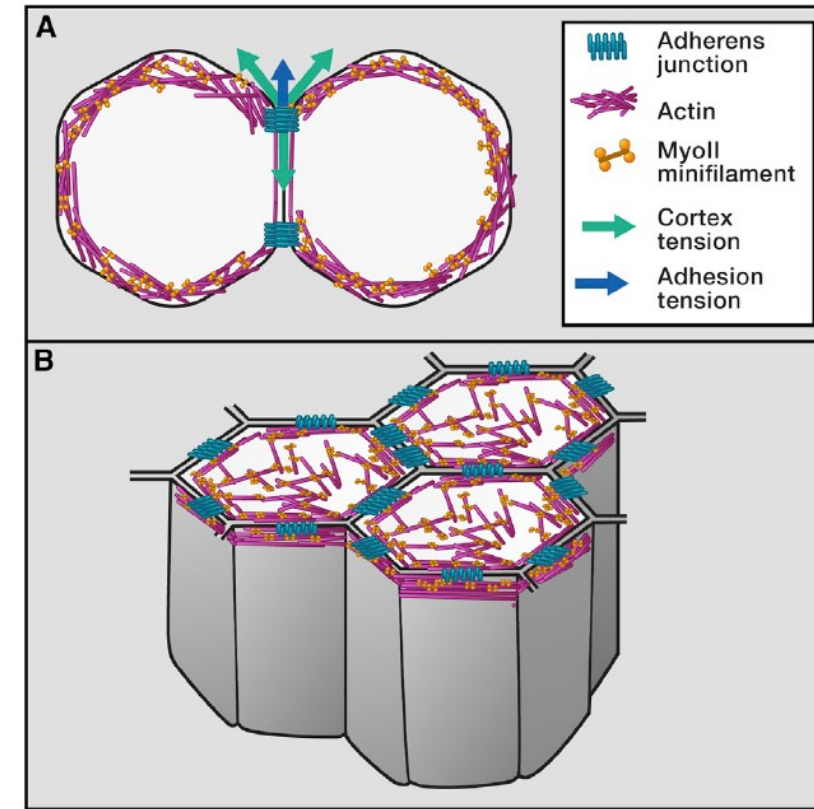
<sup>2</sup>Institut Curie, CNRS UMR3215, INSERM U934, 75248 Paris Cedex 05, France

\*Correspondence: heisenberg@ist.ac.at (C.-P.H.), yohanns.bellaiche@curie.fr (Y.B.)

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.008>

## Mechanické síly a morfogeneze

- Změny cytoskeletu jsou přenášeny na sousedící buňky a ECM prostřednictvím propojení cytoskeletu na adhezivní molekuly, které zajišťují interakci buňka-buňka, buňka-ECM (cadheriny, integriny).
- Aktin-myosin kontrakce a interakce zprostředkovaná cadheriny, jsou základní a evolučně konzervované mechanismy, které generují a přenášejí síly pro utváření morfogeneze (viz differential adhesion hypothesis/equilibrium state v předášce ECM a buněčná adheze – všechny síly v rovnováze, stav nejnižší energie).

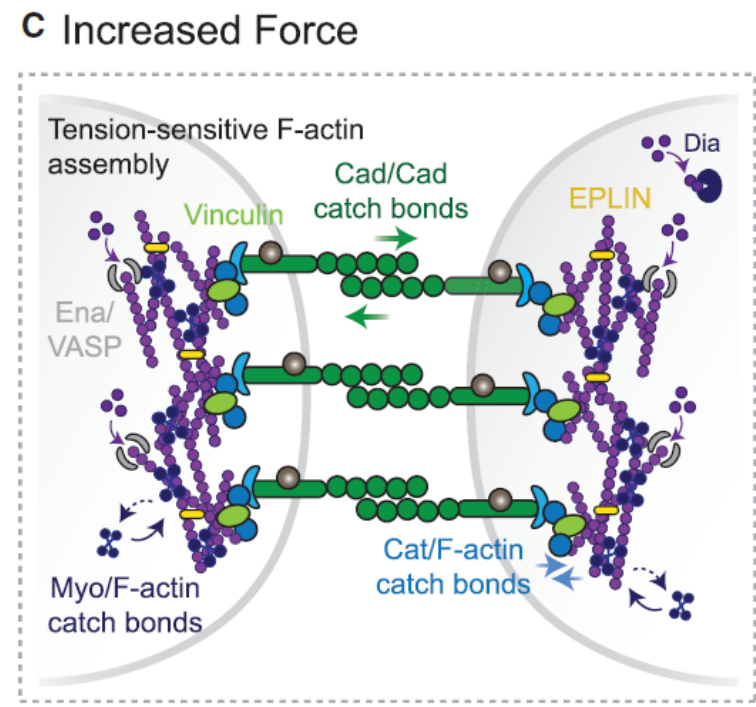
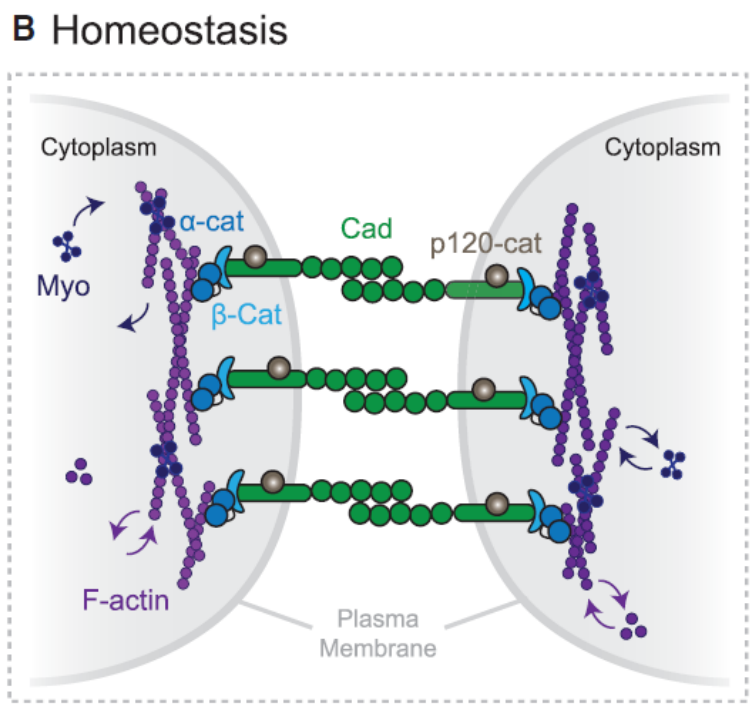
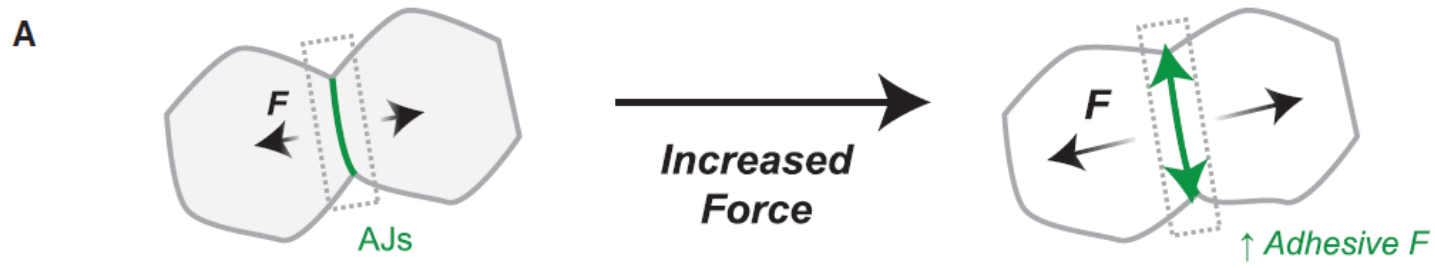


**Figure 1. Self-Organization of Cells at Steady State Determined by Actin-Myosin Contractility and Cell Adhesion**

(A) Upon cell-cell contact, the contacting cells change their shape in response to mechanical forces associated with actin-myosin contractility (green arrow) and adhesion (blue arrow).

(B) In epithelial tissues, adhesive contacts and the actin-myosin network are organized in belt-like structures at the apical domain of the cell. At steady state, the arrangement of epithelial cells at their apex is determined by actin-myosin contractility and cell-cell adhesion.

# Mechanické síly a morfogeneze

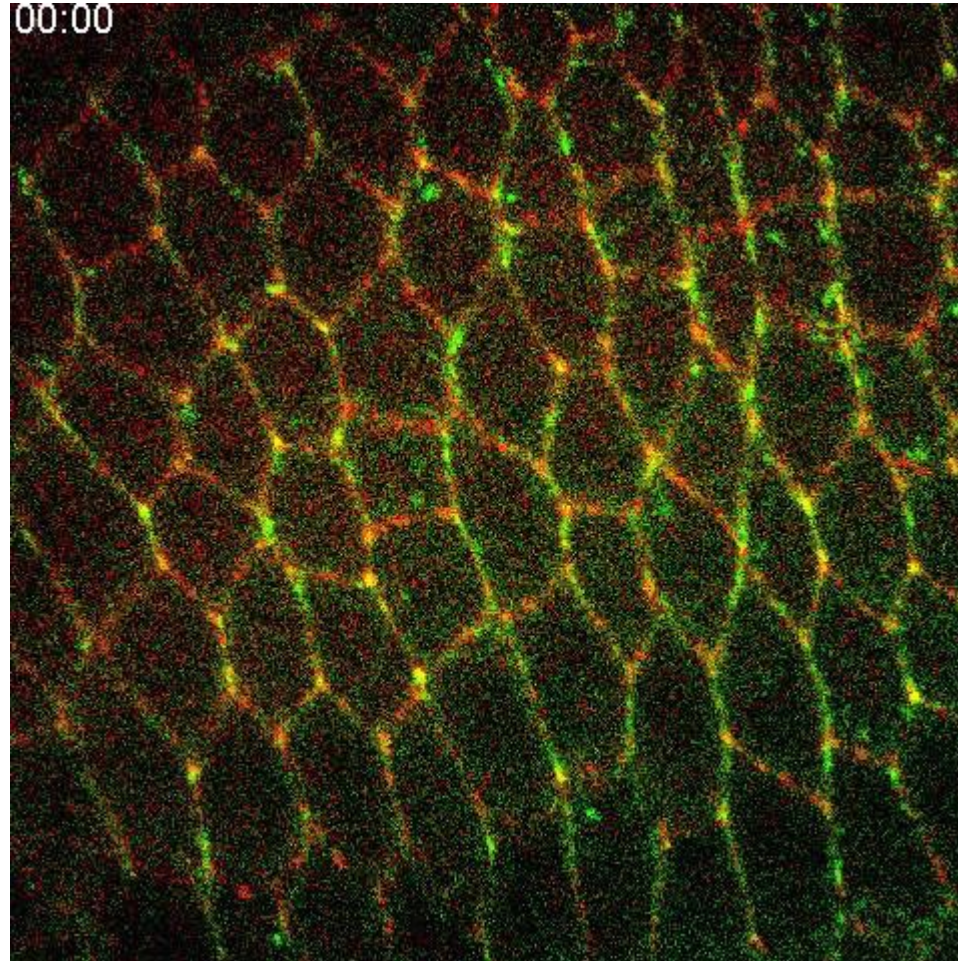


## Mechanical Force-Driven Adherens Junction Remodeling and Epithelial Dynamics

Diana Pinheiro<sup>1,2,3</sup> and Yohanns Bellaïche<sup>1,2,\*</sup>  
<sup>1</sup>Institut Curie, PSL Research University, CNRS UMR 3215, INSERM U934, 75231 Paris Cedex 05, France  
<sup>2</sup>Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, CNRS UMR 3215, INSERM U934, 75005 Paris, France  
<sup>3</sup>Present address: Institute of Science and Technology Austria, Am Campus 1, 3400 Klosterneuburg, Austria  
 \*Correspondence: yohanns.bellaiche@curie.fr  
<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.09.014>



# Mechanické síly a morfogeneze



## Mechanické síly – diferenciace a proliferace buněk

- ▶ Schopnost buněk vnímat vnější mechanické síly ovlivňuje velikost a architekturu tkáně nejen změnou jejich adhezivní a cytoskeletální organizace, ale také ovlivněním jejich diferenciace.

## BONUS: Vibrational cues alter developmental timing


### *Agalychnis callidryas*

- Klade vajíčka na listy, které se nacházejí nad vodou
- Normální vývoj trvá 7 dní.
- V případě útoku predátora dochází (v rámci sekund!) k líhnutí larev, pokud vajíčka mají za sebou cca 5 dní vývoje.
- Signalizace napadení vajíček predátorem je prostřednictvím vibrací
- To vede k produkci enzymů, které narušují obal



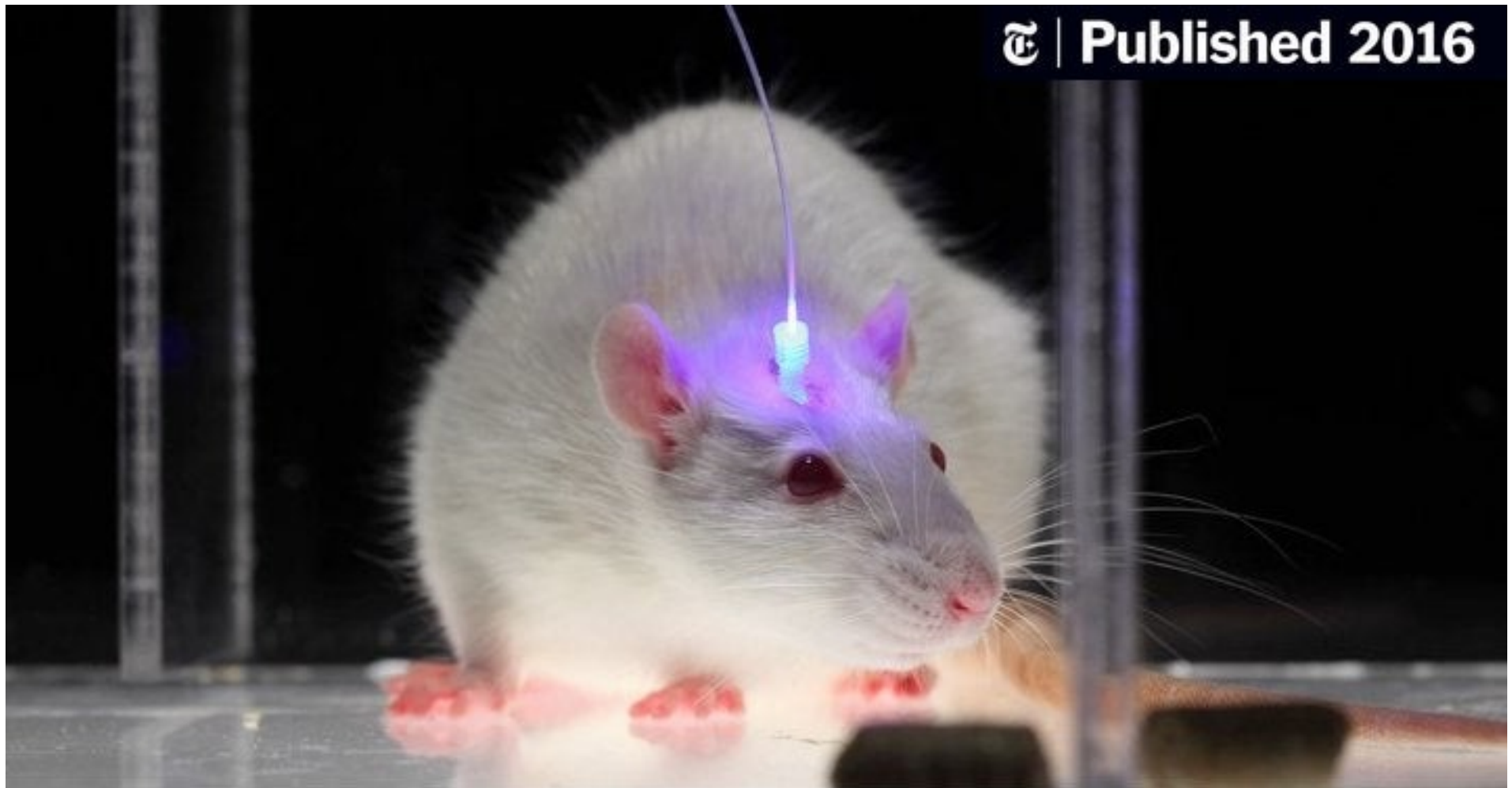


# **How** do embryos escape from danger?

The image shows two frog embryos in their protective eggshells. The embryos are light brown with dark spots and have large, dark eyes. They are positioned in the center of the frame, with other embryos visible in the background. The background is a soft, out-of-focus green and yellow.

**Kristina L. Cohen, Marc A. Seid  
& Karen M. Warkentin**

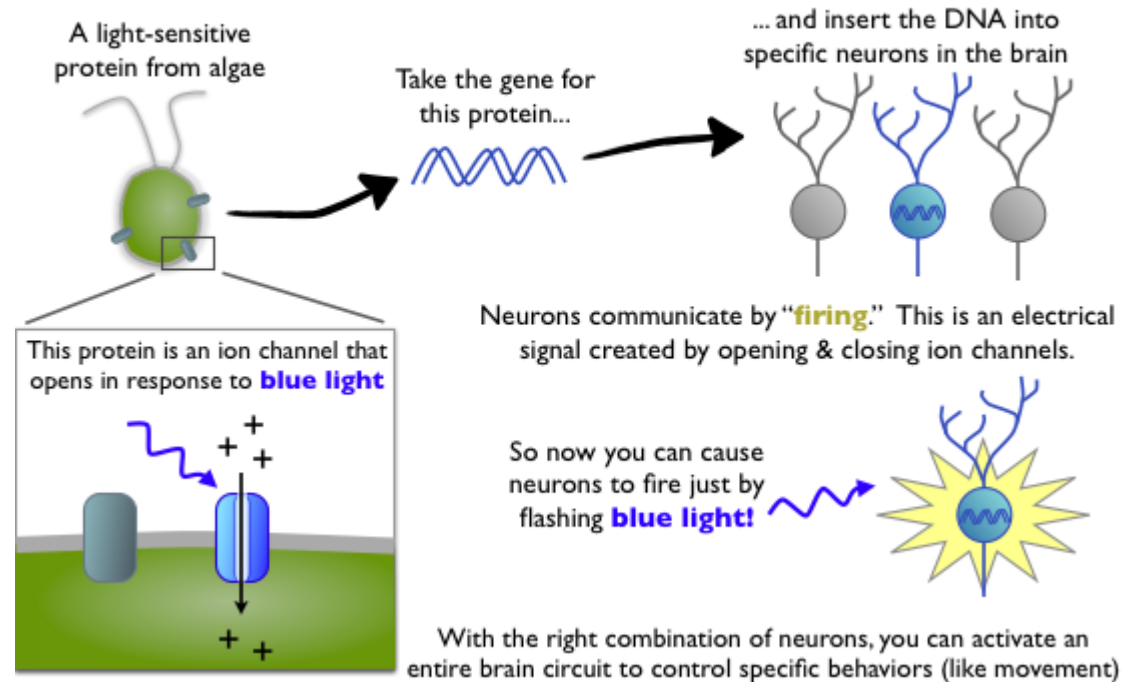
## BONUS: optogenetika





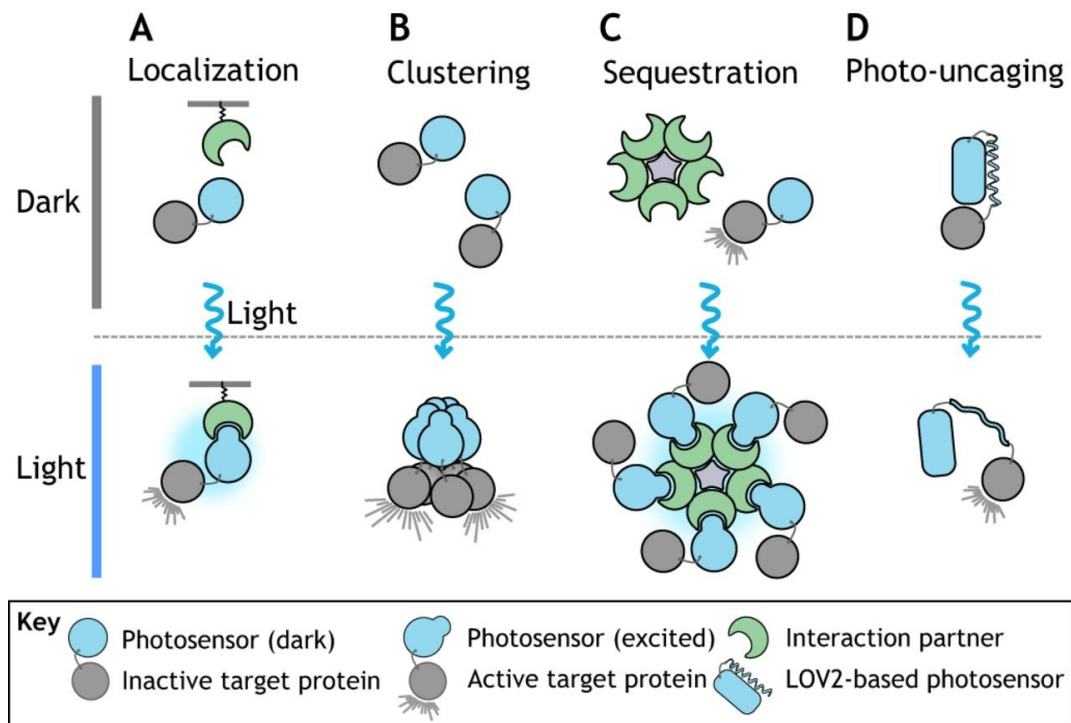
# BONUS: optogenetika

## How optogenetics works

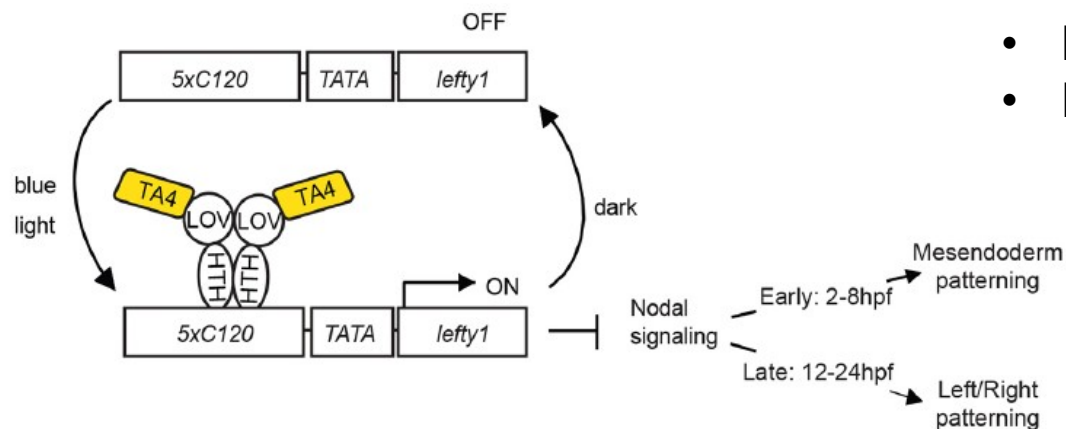




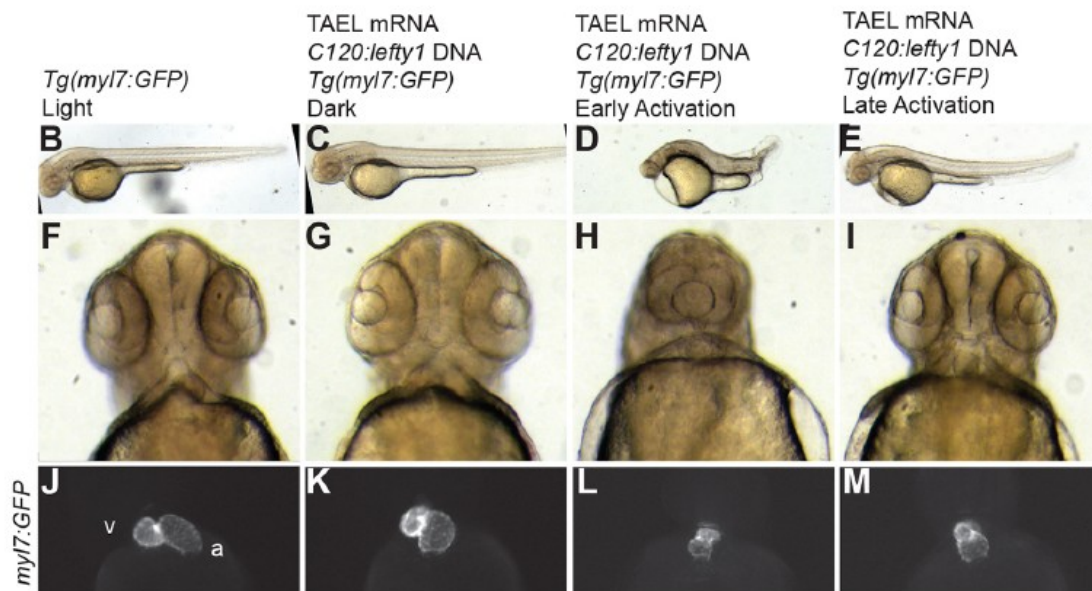
# BONUS: optogenetika



# BONUS: optogenetika – vývojová biologie



- Brzká aktivace -> zkrácení těla a kyklop
- Pozdní aktivace -> symetrie srdce



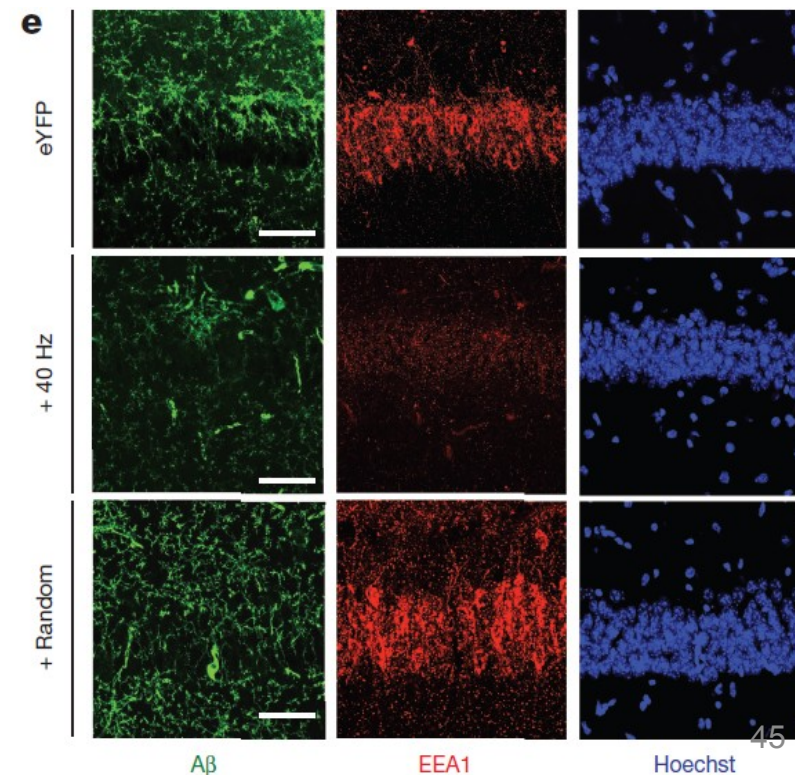
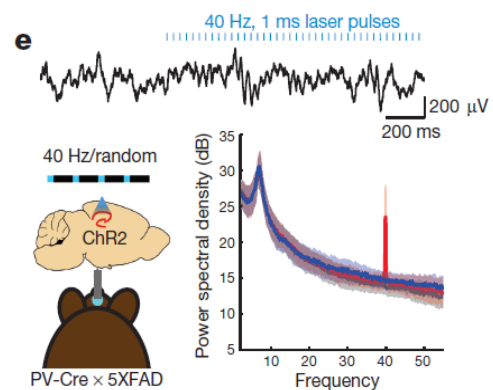
# BONUS: optogenetika

## ARTICLE

doi:10.1038/nature20587

### Gamma frequency entrainment attenuates amyloid load and modifies microglia

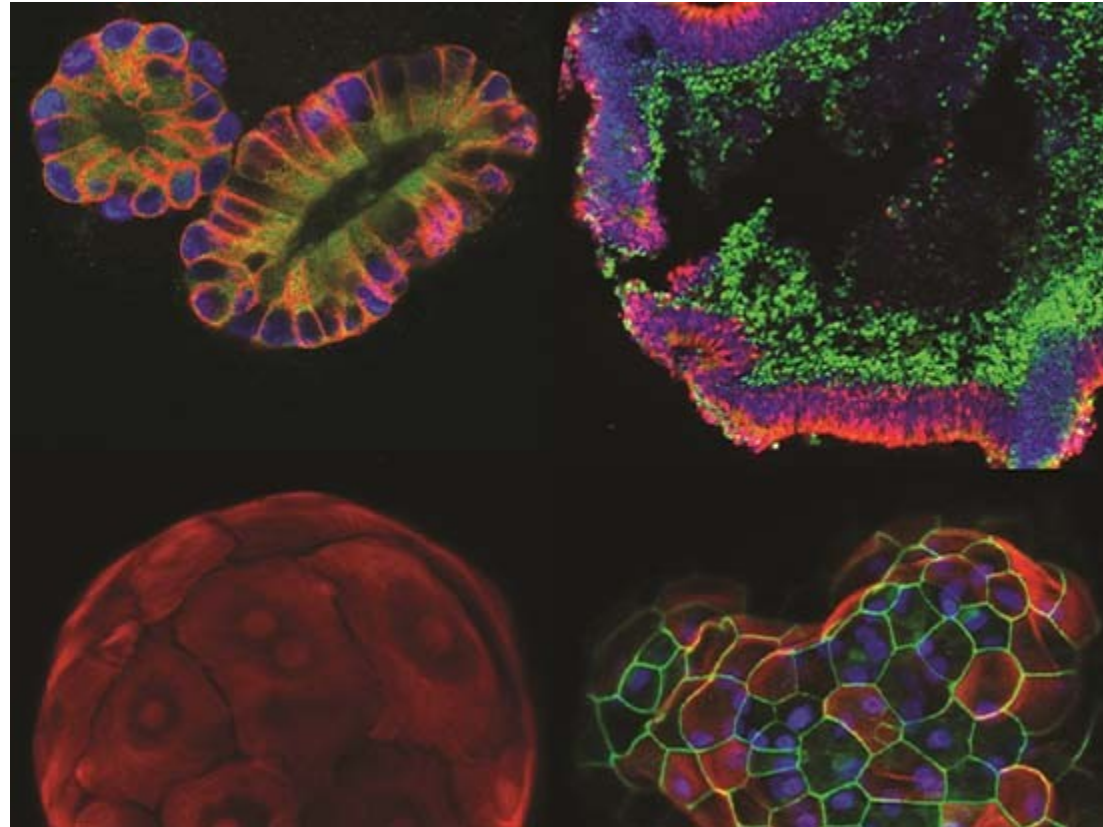
Hannah F. Iaccarino<sup>1,3\*</sup>, Annabelle C. Singer<sup>2,3,4\*</sup>, Anthony J. Martorell<sup>1,3</sup>, Andrii Rudenko<sup>1,3</sup>, Fan Gao<sup>1,3</sup>, Tyler Z. Gillingham<sup>1,3</sup>, Hansruedi Mathys<sup>1,3</sup>, Jinsoo Seo<sup>1,3</sup>, Oleg Kritskiy<sup>1,3</sup>, Fatema Abdurrob<sup>1,3</sup>, Chinnakkaruppan Adaiikkan<sup>1,3</sup>, Rebecca G. Canter<sup>1,3</sup>, Richard Rueda<sup>1,3</sup>, Emery N. Brown<sup>1,3,5,6</sup>, Edward S. Boyden<sup>2,3,4</sup> & Li-Huei Tsai<sup>1,3,7</sup>



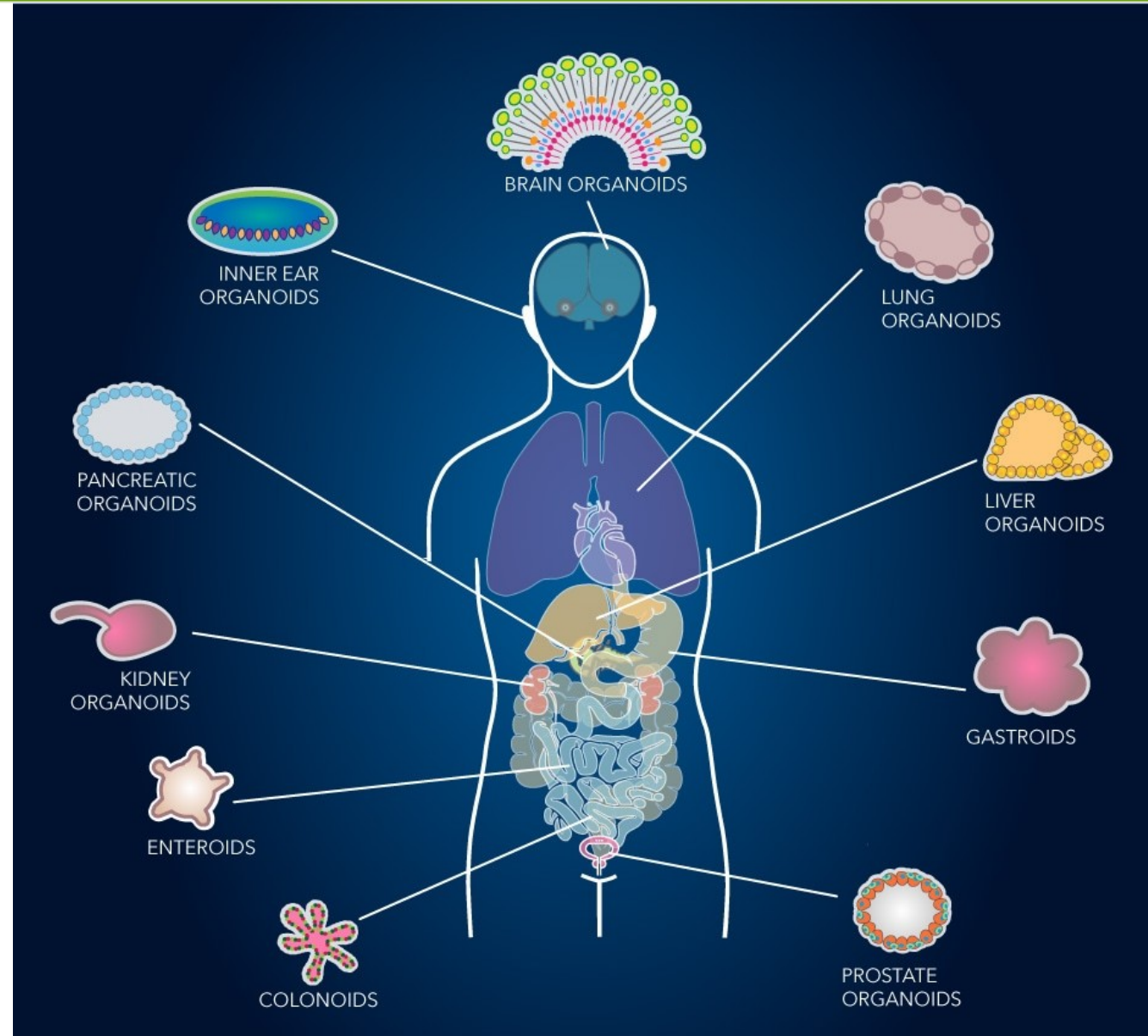


## BONUS: organoidy pro studium vlivu fyzikálních jevů na vývoj a fyziologii

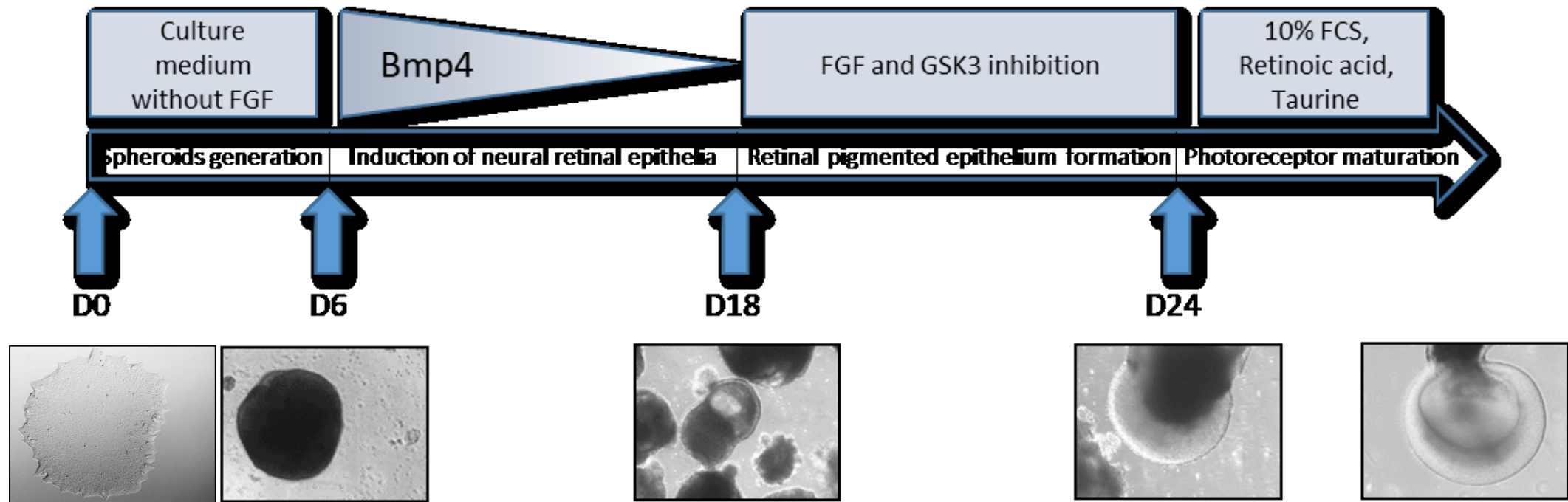
- Organoidy jsou trojrozměrné zmenšeniny orgánů, které mají podobnou strukturu a funkci jako daný orgán



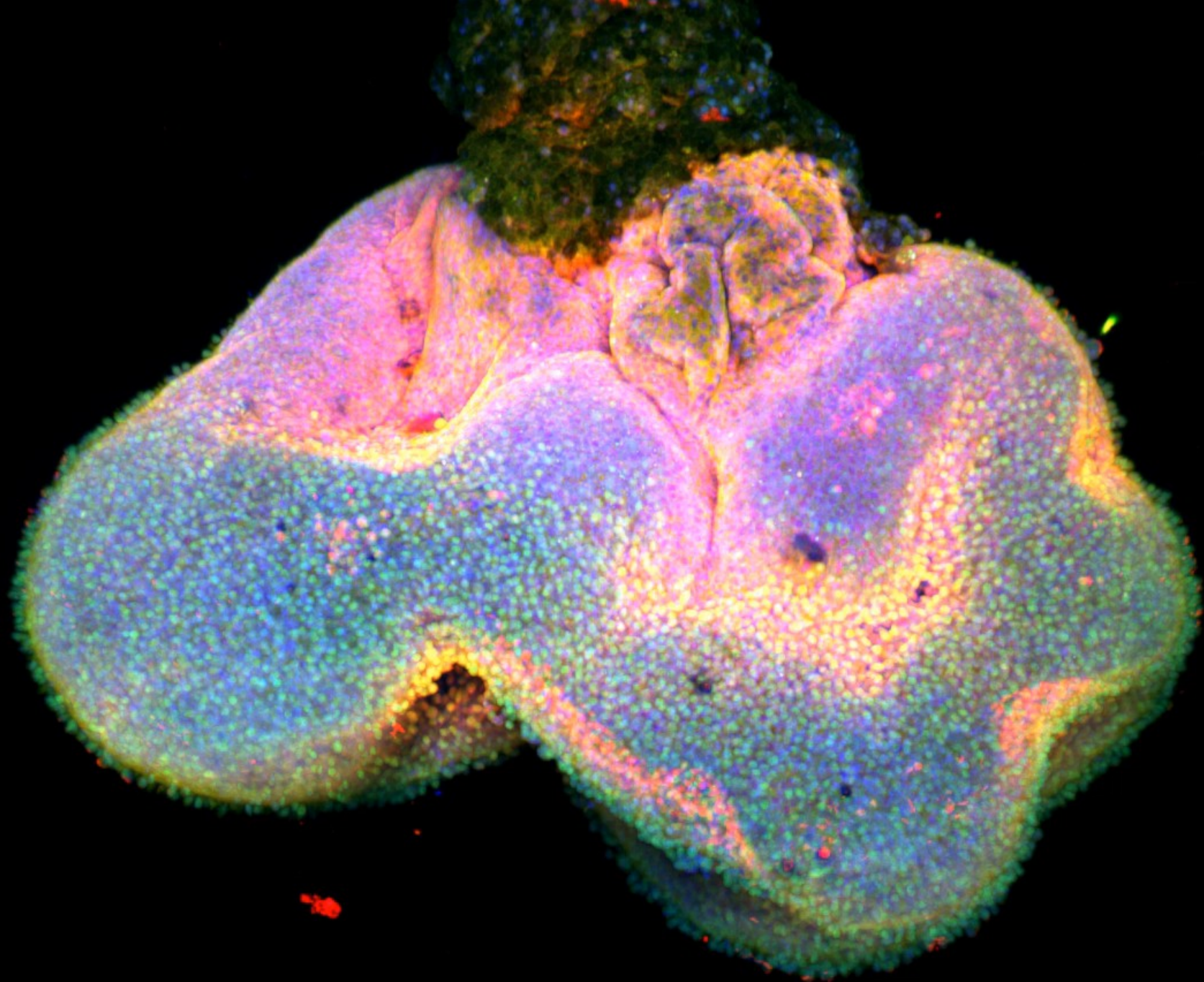
# BONUS: organoidy pro studium fyzikálních jevů na vývoj a fyziologii



# BONUS:







# communications biology




ARTICLE

 Check for updates

<https://doi.org/10.1038/s42003-021-02719-5>

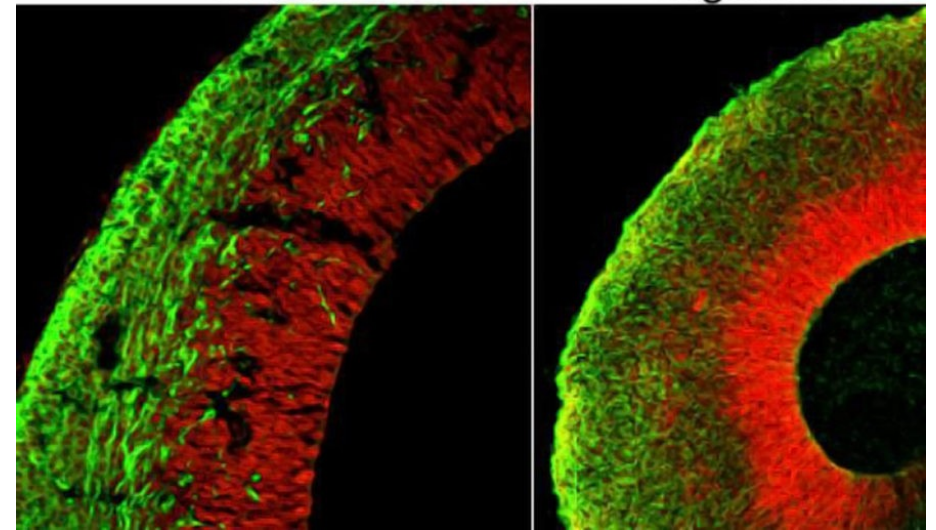
OPEN

## Induction of inverted morphology in brain organoids by vertical-mixing bioreactors

Dang Ngoc Anh Suong<sup>1,2</sup>, Keiko Imamura<sup>1,2,3</sup>, Ikuyo Inoue<sup>1,3</sup>, Ryotaro Kabai<sup>4</sup>, Satoko Sakamoto<sup>4</sup>, Tatsuya Okumura<sup>4</sup>, Yoshikazu Kato <sup>5</sup>, Takayuki Kondo<sup>1,2,3</sup>, Yuichiro Yada<sup>1,2</sup>, William L. Klein <sup>6</sup>, Akira Watanabe<sup>4</sup> & Haruhisa Inoue <sup>1,2,3,7</sup>✉

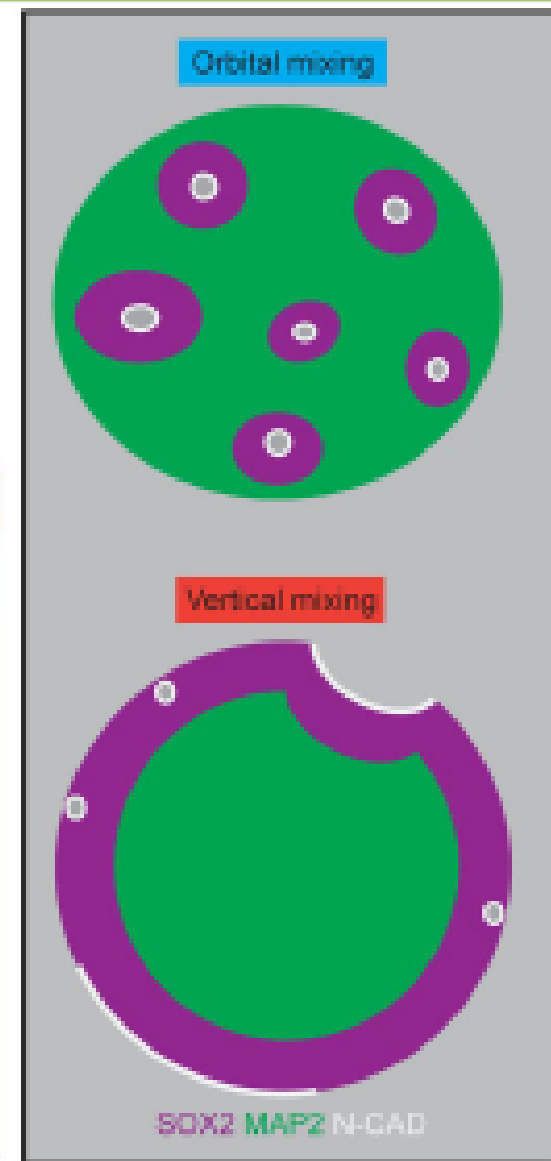
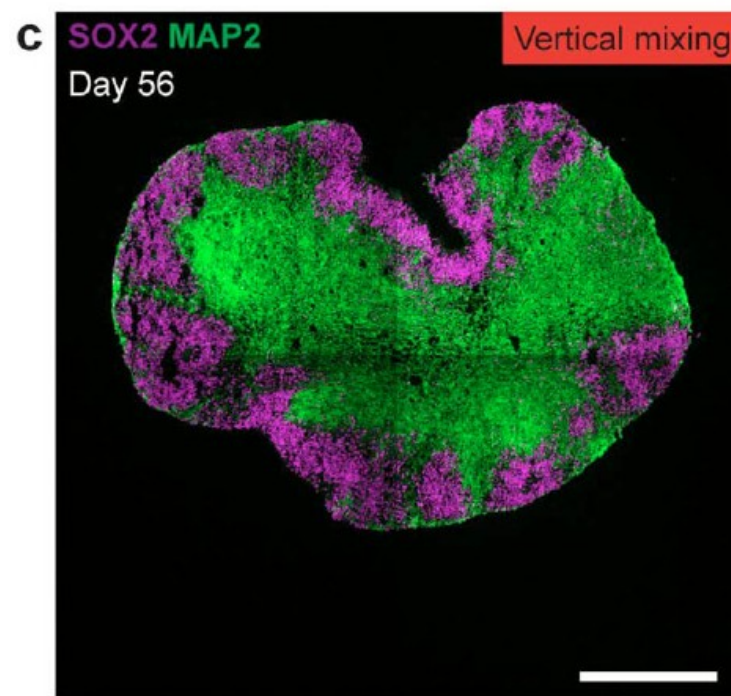
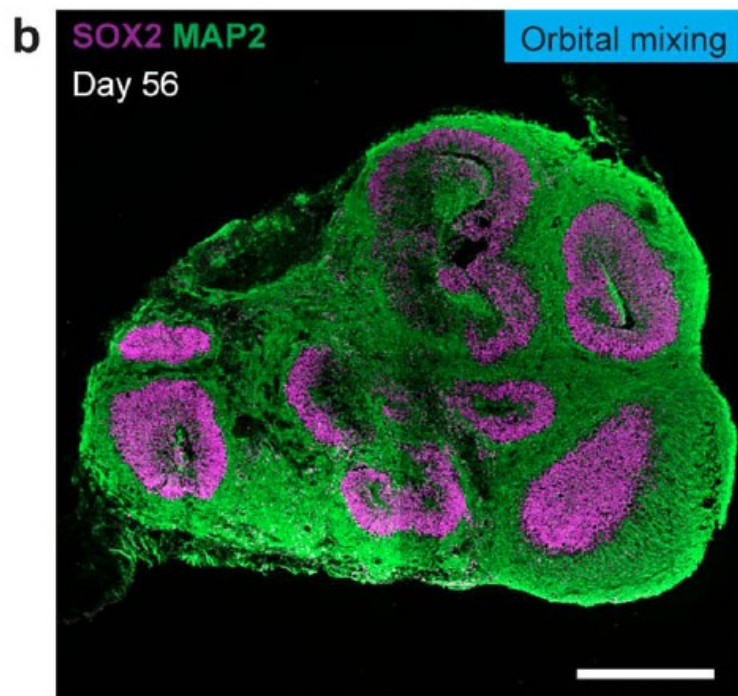
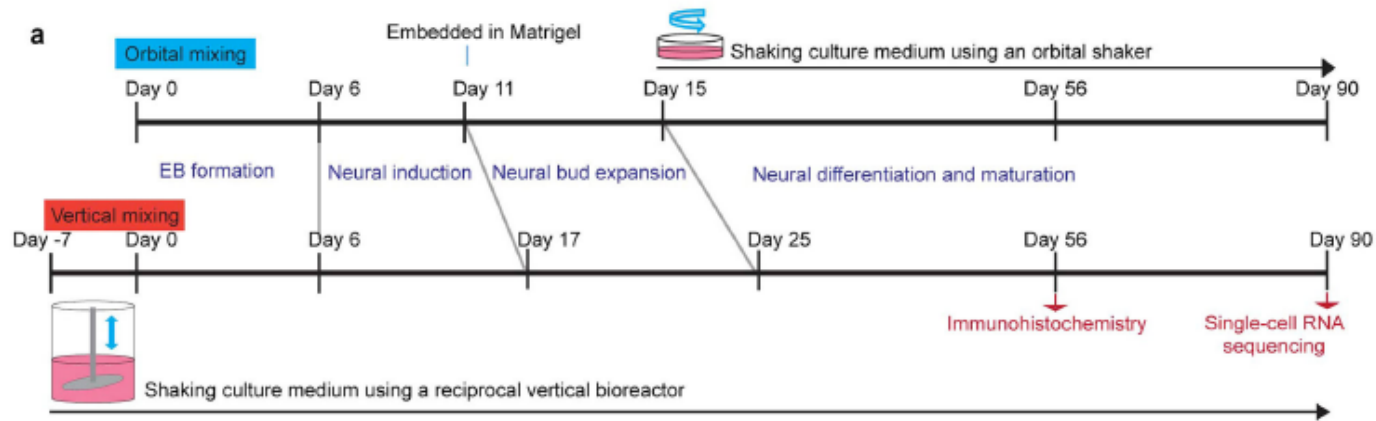
Brain

Organoid

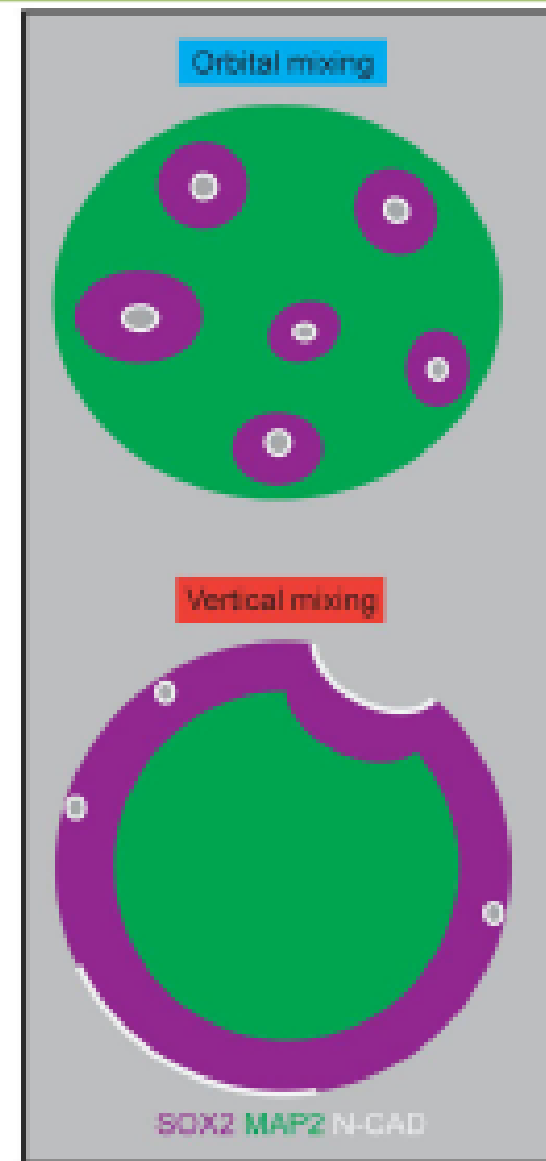
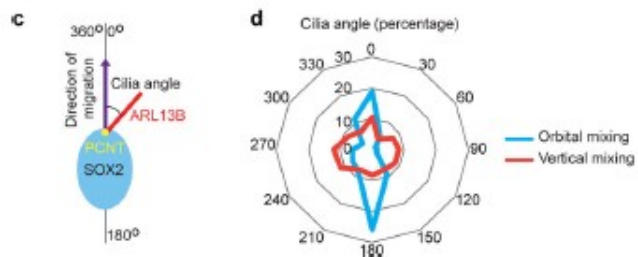
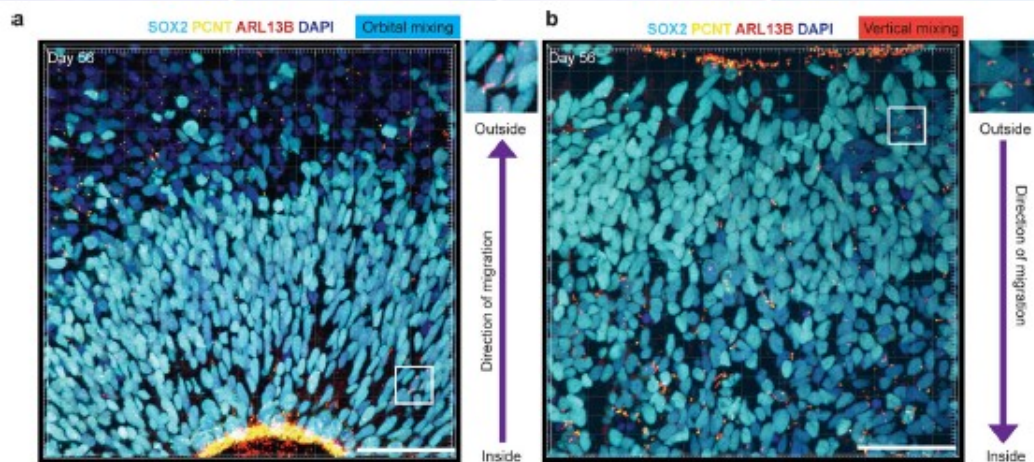
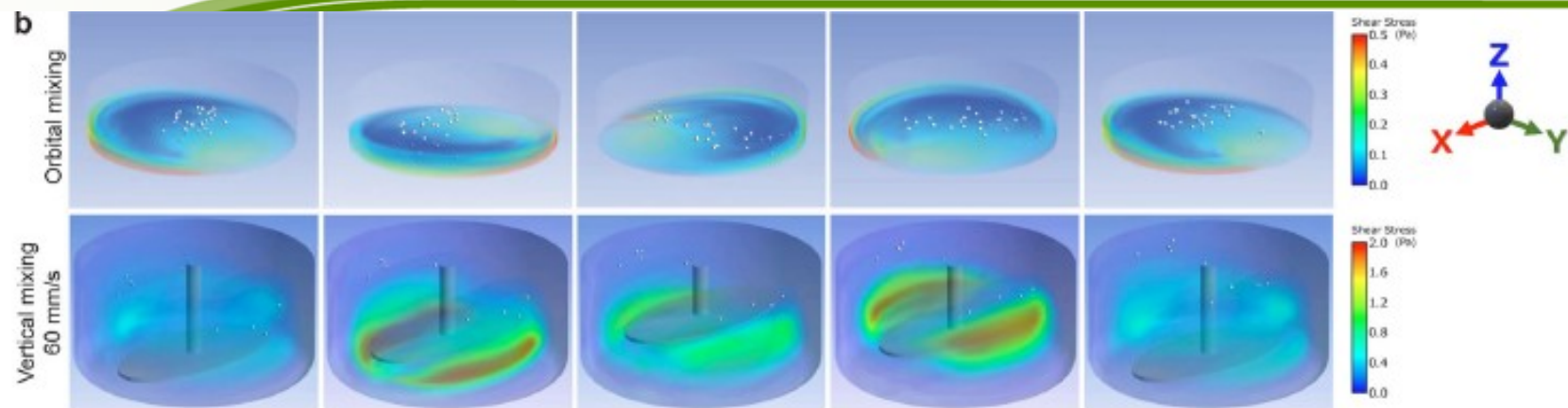




**BONUS:**



## BONUS:



## Závěr a otázky

- Jak/čím buňka vnímá mechanické síly?
- Úloha Cadherinů a Integrinů v mechano recepci? A jak funguje?
- Signální dráha Hippo a vnímání mechanické síly.
- Jak smykové síly působí na vývoj srdce?
- Jak je důležitá mechanorecepce v průběhu gastrulace

**Děkuji za pozornost**

Tomáš Bárta  
tbarta@med.muni.cz