PREZENTACE MOŽNOSTÍ STUDIA NA ODDĚLENÍ FYZIOLOGIE A IMUNOLOGIE ŽIVOČICHŮ

A. Kozubík

Laboratoř Cytokinetiky
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Co by mělo být rozhodováno nejdřív:

Proč chceme studovat, jaký je opravdový zájem? Naše možnosti

Na základě čeho se rozhodujeme?

Kdy začít a proč?

Kde začít?

Jaké máme možnosti uplatnění

po skončení studia?

Laboratoř Cytokinetiky

Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Období zásadních organizačních změn

Možnosti

Laboratoř Buněčné fyziologie a imunologie

Laboratoře KSFŽOZ – Doc. Dr. A. Kozubík, PhD.

(Katedra srovnávací fyziologie živočichů a obecné zoologie)

Buněčná fyziologie a imunologie

doc. RNDr. A. Kozubík, CSc.

- doc. RNDr. J. Hofmanová, CSc.
- doc. RNDr. S. Kozubek, CSc.
- doc. RNDr. A. Lojek, CSc.
- Mgr. J. Procházková, Ph.D.
- RNDr. J. Vondráček, Ph.D.
- Mgr. K. Souček, Ph.D.
- Mgr. L. Kubala, Ph.D.
- RNDr. M. Číž, Ph.D.
- RNDr. E. Bártová, Ph.D.
- RNDr. M. Machala, CSc.
- RNDr. J. Turánek, CSc.

Fyziologie a imunologie hmyzu

RNDr. M. Vácha, Ph.D.

- doc. RNDr. V. Ptáček, CSc.
- RNDr. P. Hyršl, Ph.D.

Lymská borelióza

doc. RNDr. A. Žákovská, Ph.D.

- RNDr. E. Janouškovcová, Ph.D.

Neurobiologie a molekulární psychiatrie

RNDr. O. Šerý, Ph.D.

- R. Pitelová
- Mgr. J. Nejedlík
- Mgr. R. Štaif
- Prof. RNDr. V. Mikeš, CSc.
- Mgr. J. Lochman

Laboratoře KSFŽOZ – Doc. Dr. A. Kozubík, PhD.

(Katedra srovnávací fyziologie živočichů a obecné zoologie)

Buněčná fyziologie a imunologie

doc. RNDr. A. Kozubík, CSc.

- mechanizmy účinku specifických exogenních a endogenních cytokinetických regulátorů (cytokiny, faktory výživy, karcinogeny) na buněčný růst, diferenciaci a smrt, specifické interakce a přenos signálů těchto regulátorů
- kinetika tvorby reaktivních kyslíkových a dusíkových radikálů za fyziologických i patologických podmínek
- a detailní studie cytokinet. parameterů za použití metod průtokové cytometrie, mikroskopie (světelné, fluorescenční, konfokální) a pokročilých technik molekulární biologie
- studium procesu karcinogeneze, prevence vzniku nádorů a optimalizace protinádorových terapií

Fyziologie a imunologie hmyzu

RNDr. M. Vácha, Ph.D.

- mechanizmy obranné imunitní reakce u hmyzu vyvolané stresovými podmínkami (teplota, poranění, bakterie, chemikálie, invaze entomopatogeních hlístů)
- srovnání humorální (lysozym) a buněčné (fagocytóza) imunitní odpovědi mezi bezobratlými (hmyz) a obratlovci (ryby), úloha reaktivních kyslíkových radikálů
- fyziologie hmyzu, hemolymfa, dýchání, hormonální řízení vývoje hmyzu
- foto- a magnetorecepce hmyzu, citlivost na světlo, kompasové orientační chování, zapojení mozkových struktur

Lymská borelióza

doc. RNDr. A. Žákovská, Ph.D.

- Lymská borelióza
- přírodní zroje infekce limskou boreliózou v České republice
- izolace druhů Borelia z hlodavců
- identifikace izolovaných druhů Borrelia a jejich serologické potvrzení

Neurobiologie a molekulární psychiatrie

RNDr. O. Šerý, Ph.D.

- relationship between DNA polymorphism of selected genes and psychiatric diseases (alcoholism, hyperactivity)
- genetics of pain sensitivity
- DNA detection of eye pathogens (viruses, bacteria, fungi)

Laboratoře KSFŽOZ - Doc. Dr. A. Kozubík, PhD.

(Katedra srovnávací fyziologie živočichů a obecné zoologie)

Buněčná fyziologie a imunologie

- University of Turku – Finland
- Hebrew University of Jerusalem – Israel
- National Institute of Traumatology – Hungary
- Catholic University – Italy
- Ústav exerimentální farmakologie – SR
- Universita P. J. Safarika, Košice – SR
- Johannes Gutenberg University, Mainz – Germany
- University of Kentucky – USA

Česká republika:

- Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie, FN Brno
- Fakultní nemocnice – Masarykův ústav, Brno
- Konference a semináře České společnosti pro analytickou Cytometrii

Fyziologie a imunologie hmyzu

- University of Kiel – Germany
- University of Turku – Finland
-Institute for Plant Production, Piešťany – Slovakia
- Virginia Tech University – USA

Česká republika:

- Ústav fyziologie, Ústav entomologie, AV ČR, České Budějovice
- Česká sbírka mikroorganismů, Brno
- Ústav organické chemie a biochemie, Praha
- Výzkumný ústav krmiv, Troubsko

Lymská borelióza

Česká republika:

Neurobiologie a molekulární psychiatrie

Česká republika:

- Ústav psychiatrie, UK, Praha
- Oddělení psychiatrie, FN, Brno
- Ústav lékařské biochemie, UK, Praha
- Oční klinika, FN, Brno

Oddělení živočišné fyziologie a imunologie

Laboratories of DCAPGZ

(Department of Comparative Animal Physiology and General Zoology)

PERSPECTIVES

Cellular Physiology and Immunology

doc. RNDr. A. Kozubík, CSc.

This novel research area is based on the long-term participation of team members in teaching within department. The program has high level of grant support enabling to enlist further students and staff in this prospective research area. Intensive international collaboration, as well as high publication activity ensures further successful development. Although these activities rely on external lecturers, a long term collaboration between Institute of Biophysics and the Department should guarantee further development of the Department.

Insect physiology and Immunology

RNDr. M. Vácha, Ph.D.

Traditional area –
- available grant support;
- good quality publications;

Lyme disease

doc. RNDr. A. Žákovská, Ph.D.

Neurobiology and Molecular Psychiatry

RNDr. O. Šerý, Ph.D.

Department of Animal Physiology and Immunology

ZAMĚŘENÍ

Skupina laboratoří Biofyzikálního ústavu

Skupina fyziologie a imunologie hmyzu

Neuroetologie
Apidologie

Oddělení patofyziologie volných radikálů

Imunologie

Oddělení cytokinetiky

fyziologie kmenových buněk

Zaměření – přenos signálů regulujících b. Dělení, diferenciaci a smrt buněk int. proliferujících populací (K.B., Nádorové b.)

(V. Bryja, P. Krejčí, J. Pacherník, J. Procházková)

(J. Hofmanová, J. Vondráček, K. Souček, A. Vaculová

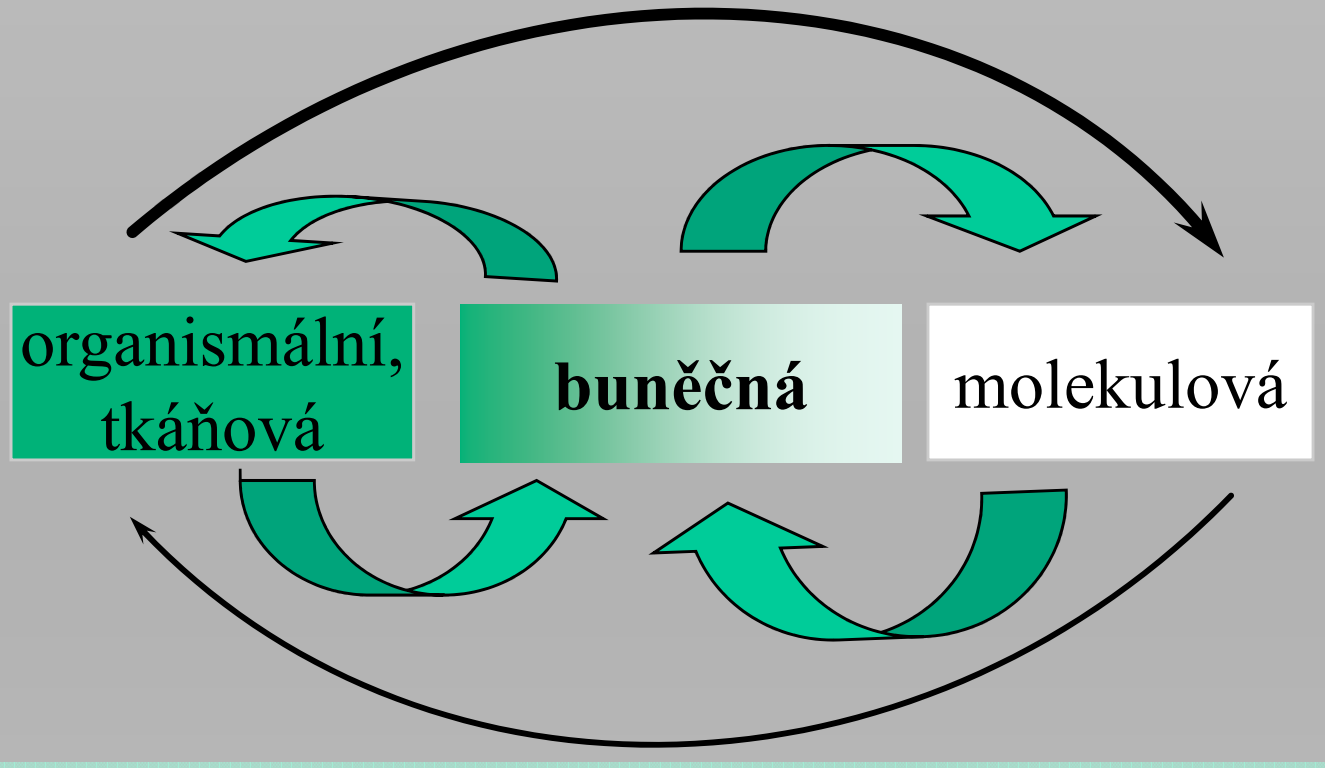
Představení

Laboratoř Cytokinetiky

Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Východiska

ORGANISMUS JAKO KOMPLEXNÍ HIERARCHICKÝ SYSTÉM

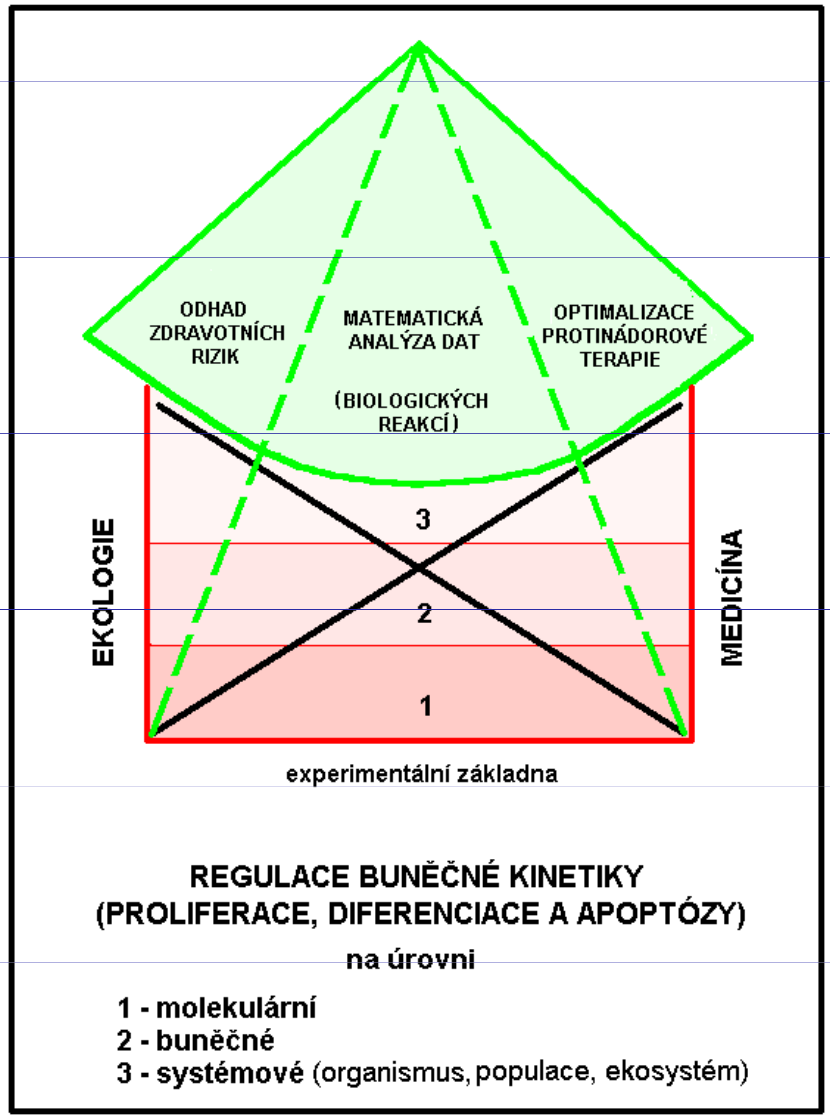


Nelze oddělovat (naopak nutno usilovat)
studium na jednotlivých **úrovních organizace** systému
Obtížně realizovatelné v rámci jedné laboratoře

TOXIKOLOGIE

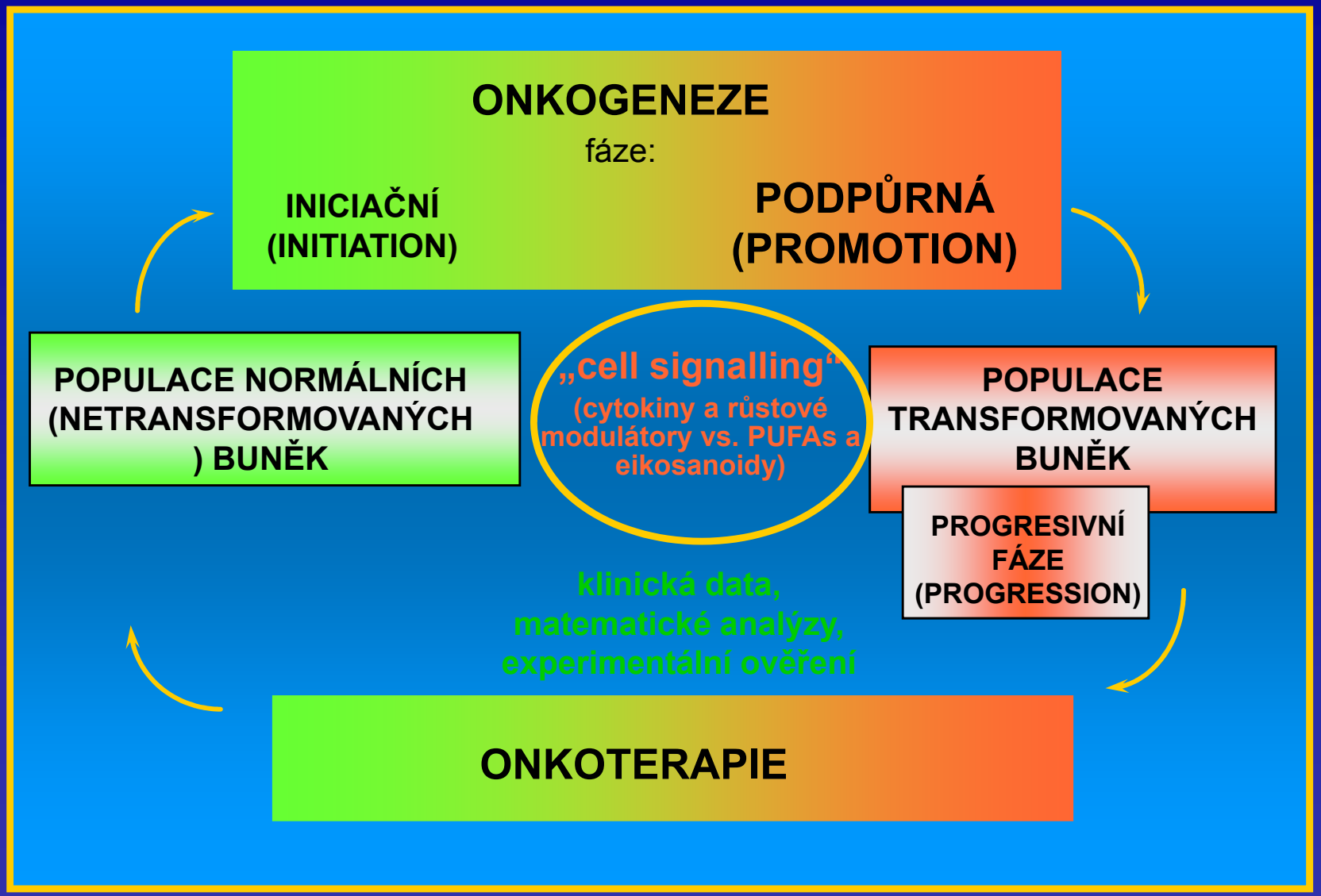
↑

EKOTOXIKOLOGIE ←



Laboratoř Cytokinetiky
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

VÝZKUMNÉ CÍLE A OBLASTI PRAKTICKÉHO VYUŽITÍ



Laboratoř Cytokinetiky

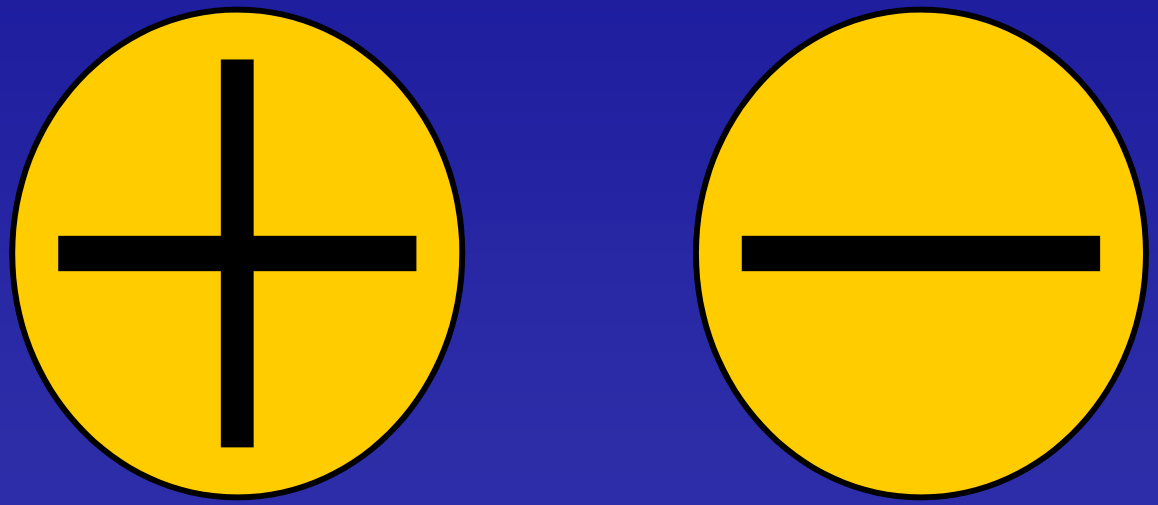
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Laboratoř Cytokinetiky

Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

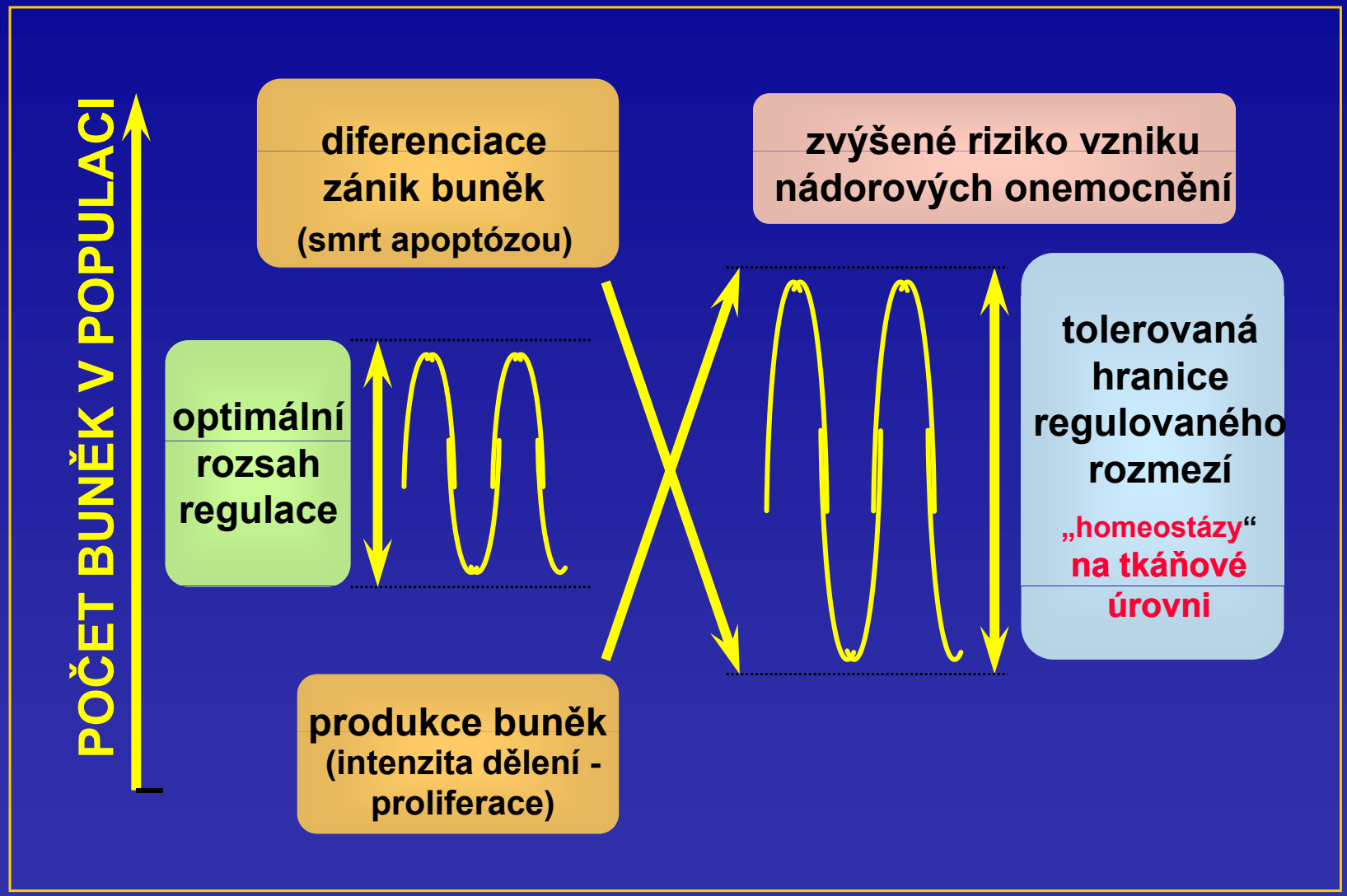
Rovnováha (homeostáza) obecně

výsledek působení mnohočetných zpětných vazeb



Laboratoř Cytokinetiky

Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

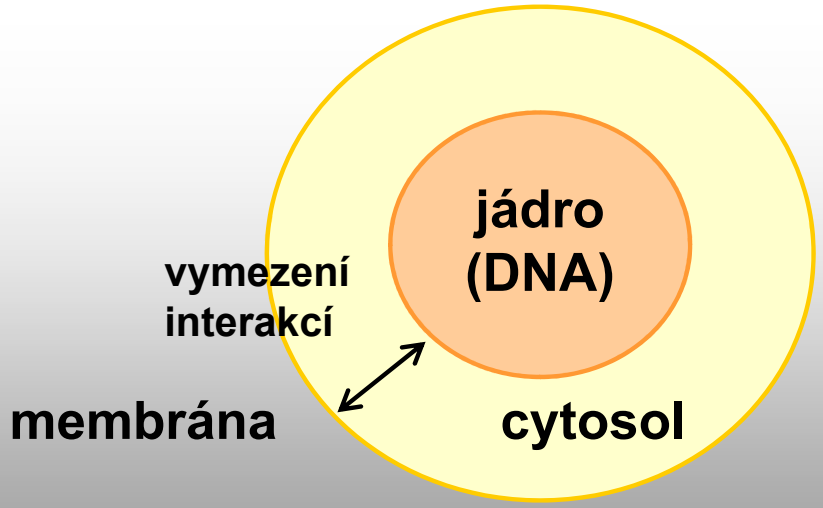


Laboratoř Cytokinetiky

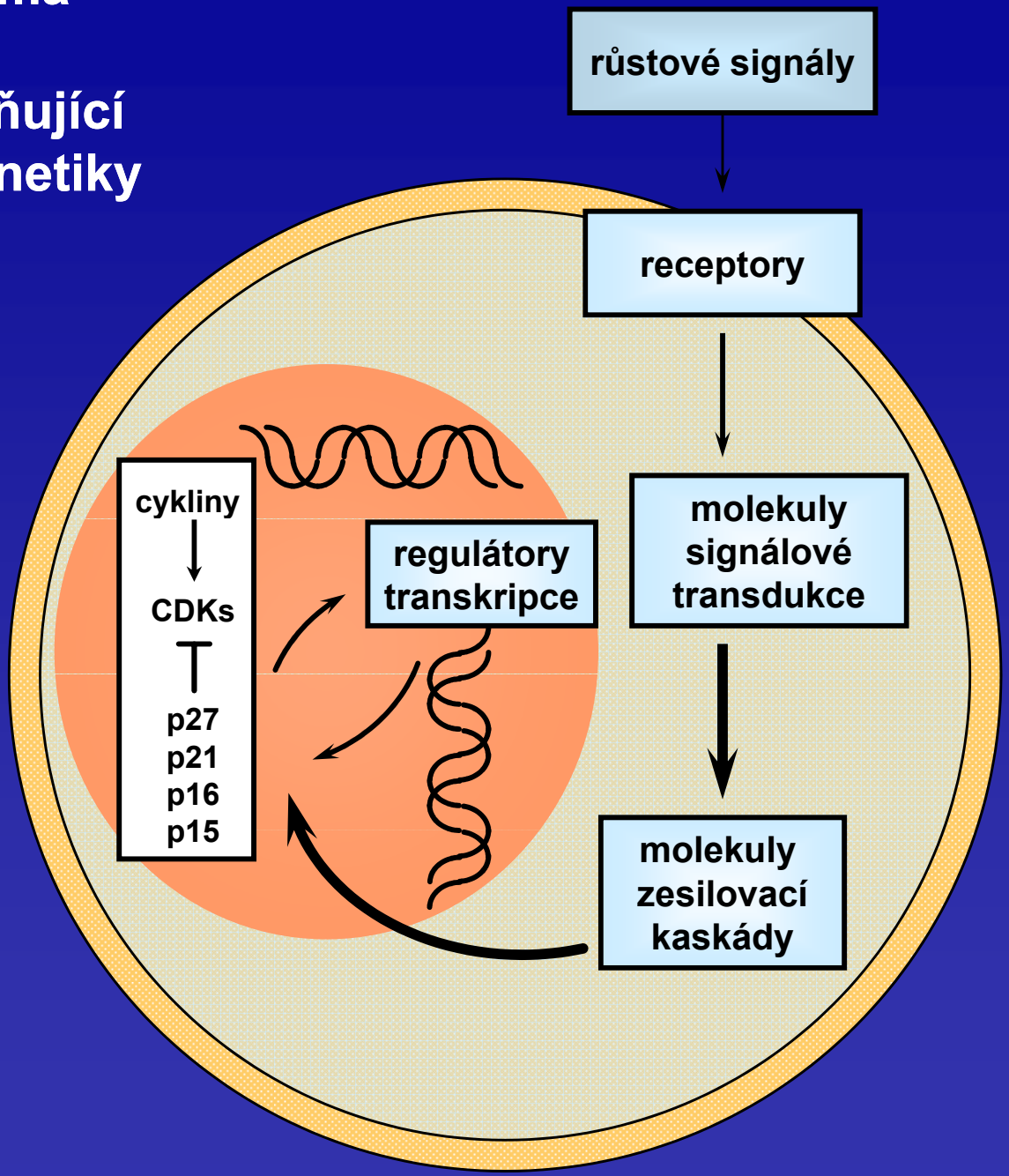
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

FAKTORY SPECIFICKÉ

FAKTORY NESPECIFICKÉ



Základní schéma signalizační kaskády ovlivňující průběh cytokinetiky



Laboratoř Cytokinetiky

Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

The four important families of small organic molecules in cells

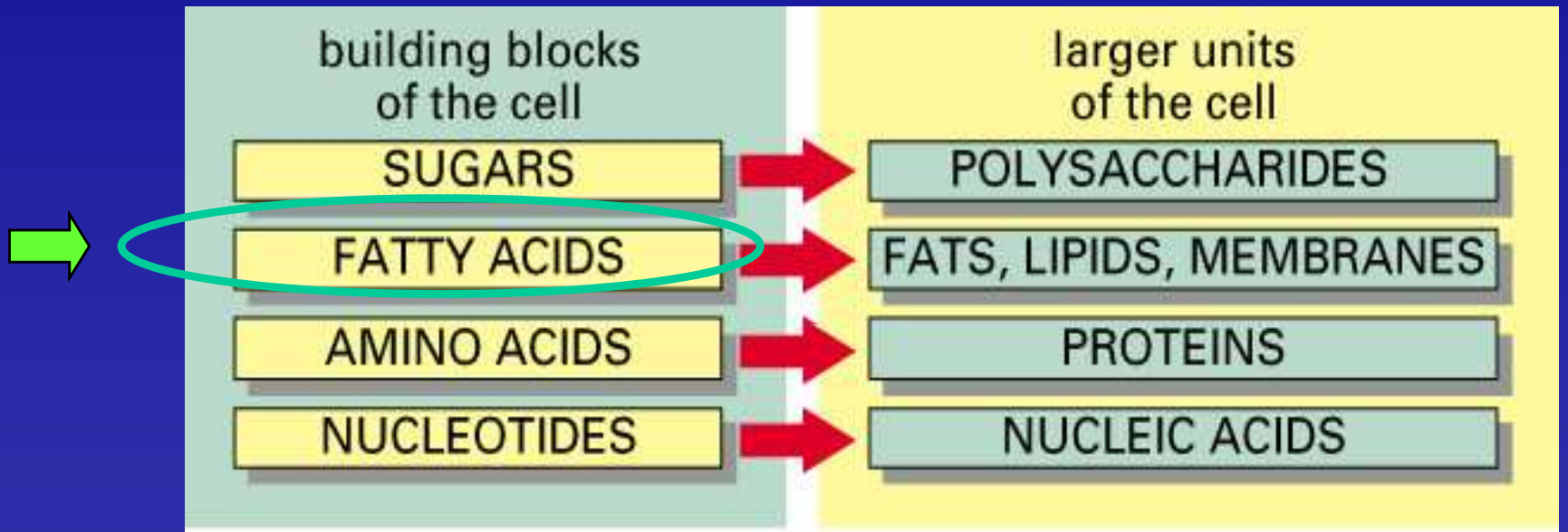


Figure 2–17. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

STRUKTURNÍ ÚLOHA

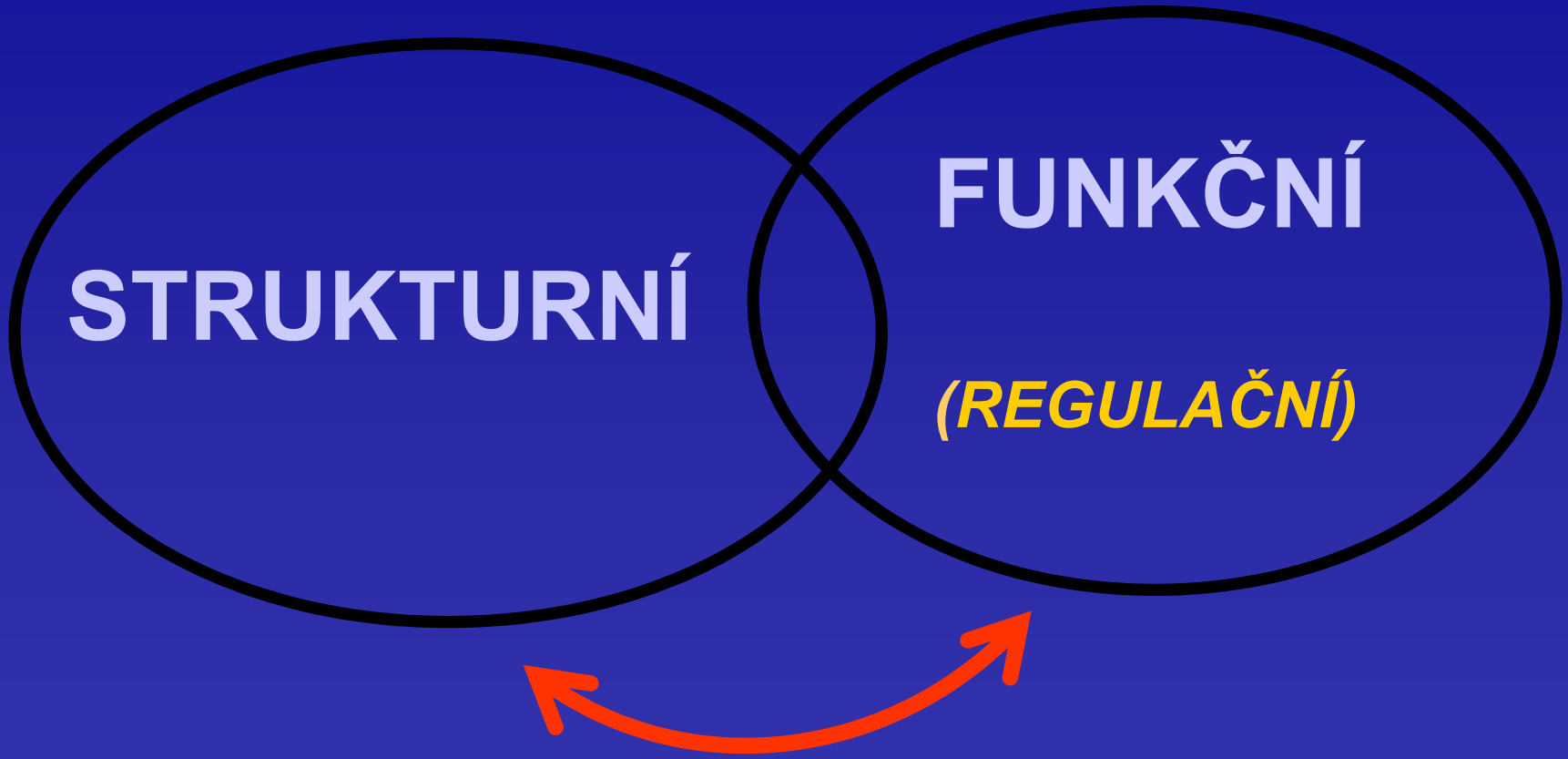
FOSFOLIPIDŮ V BUŇKÁCH

MEMBRÁNOVÉ SYSTÉMY
a buněčné kompartmenty

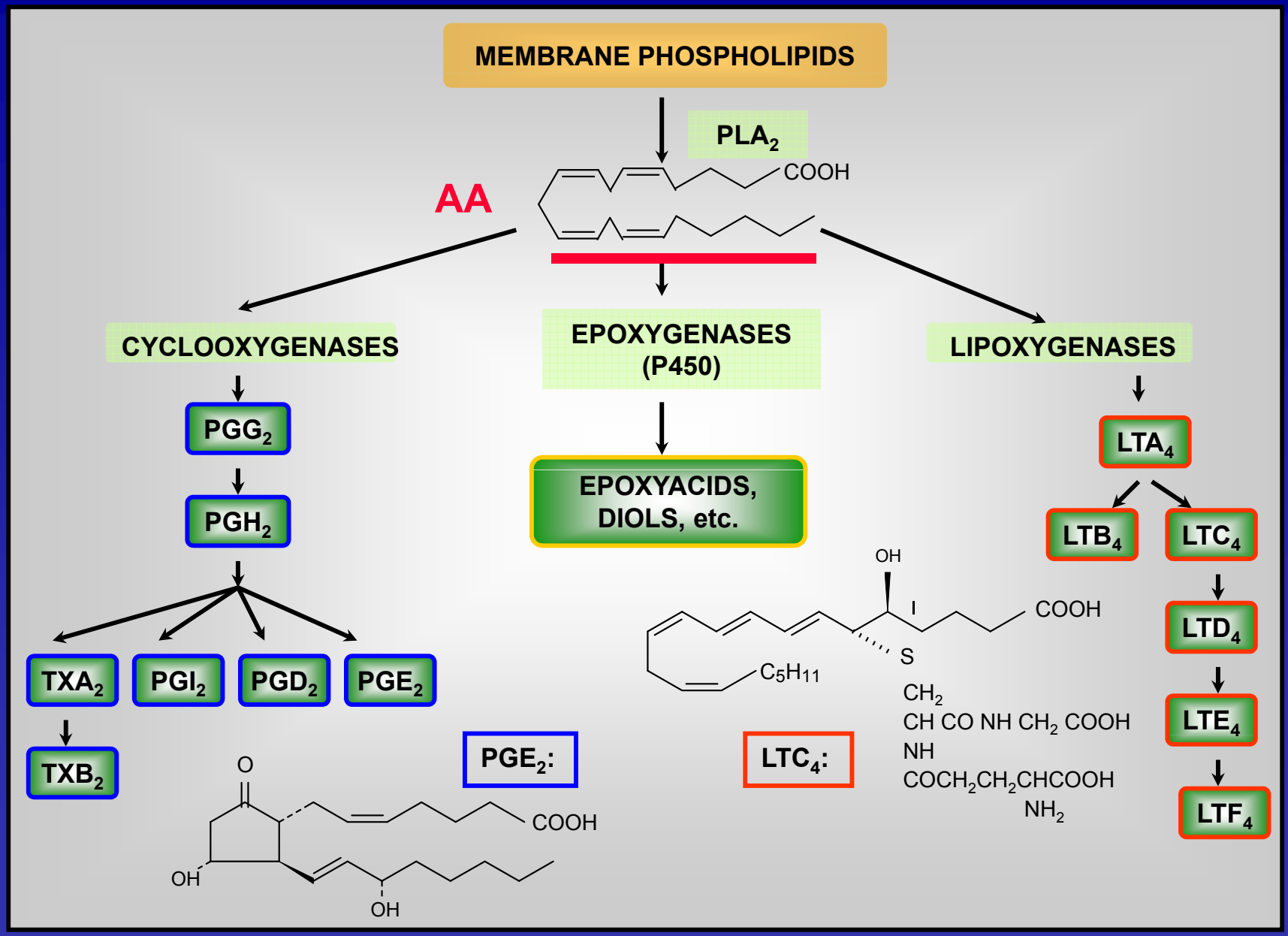
protientropické důsledky

NEODDĚLITELNÁ OD BUNĚČNÝCH FUNKCÍ

Přirozené funkce membránových lipidů



Laboratoř Cytokinetiky
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

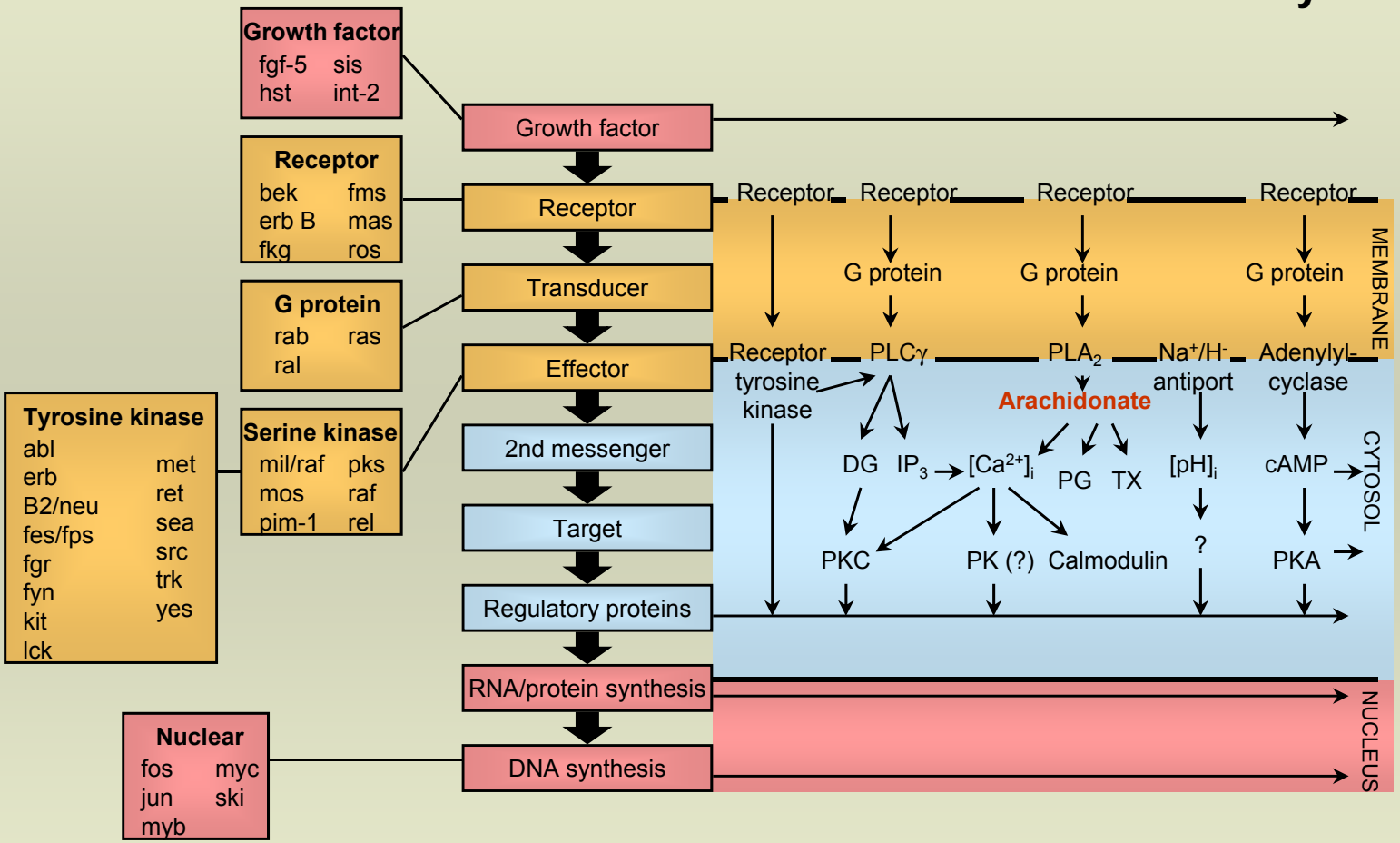


Eikosanoidy

Laboratoř Cytokinetiky
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Oncogenes

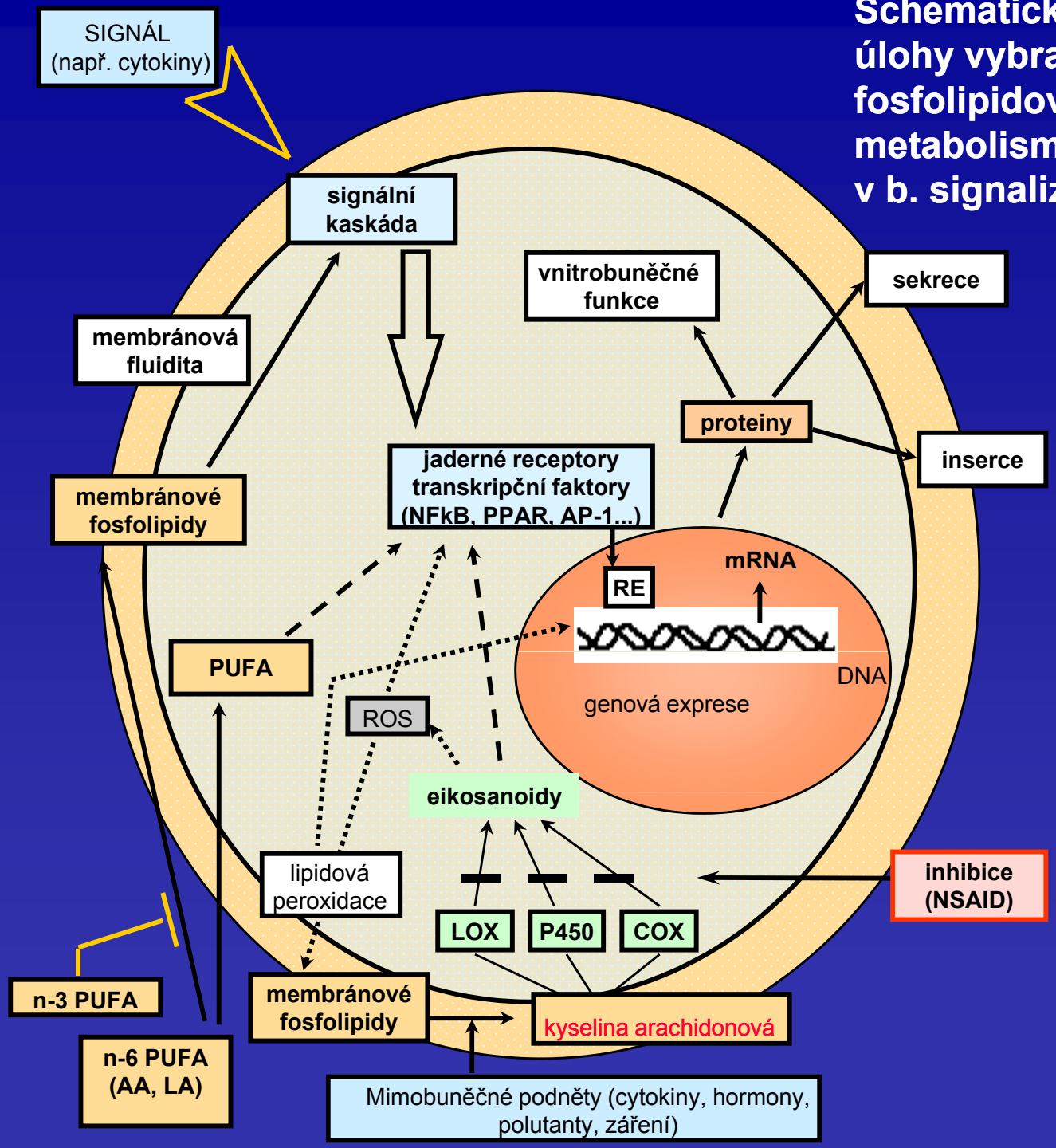
Úrovně interakcí schematicky

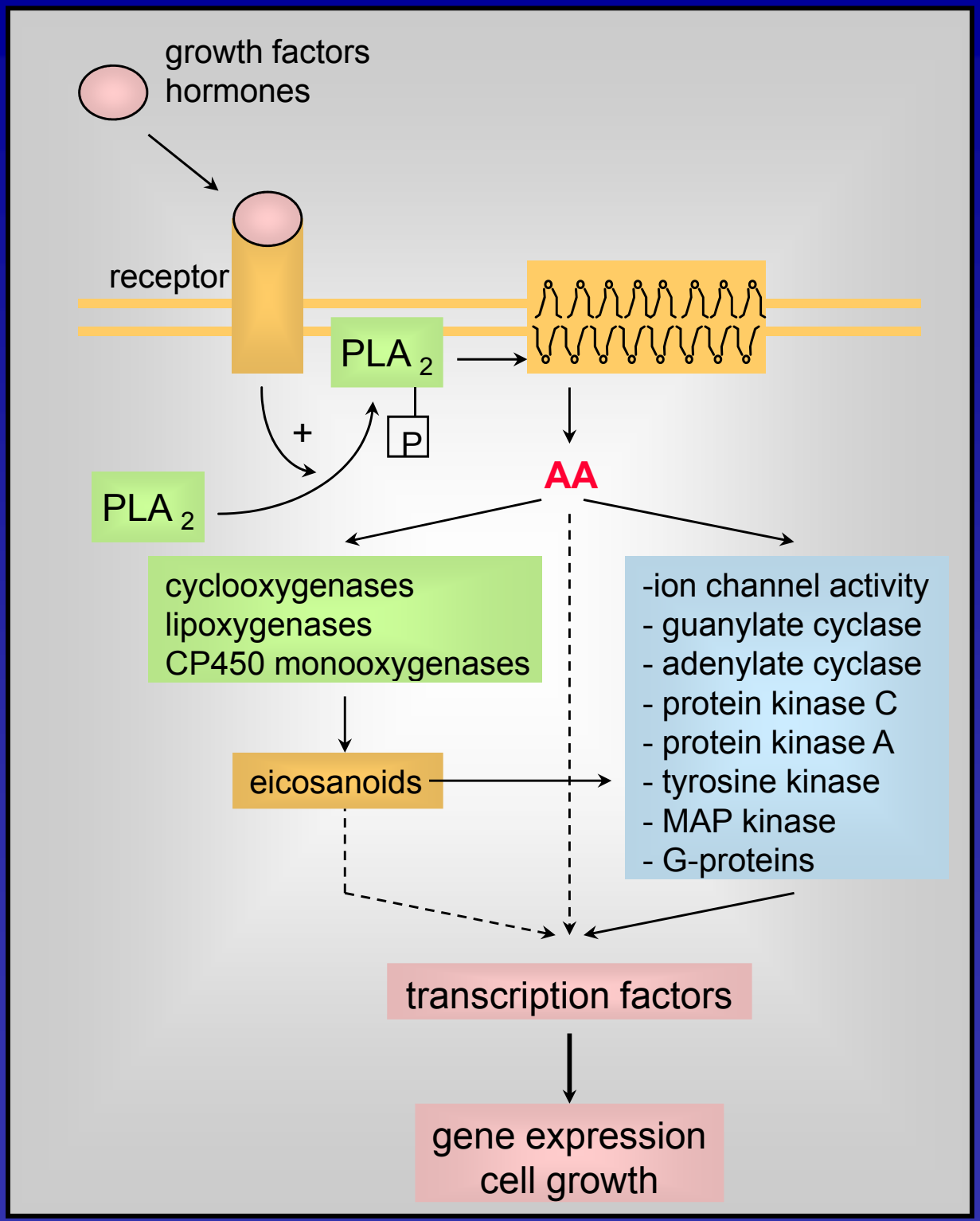


According to: G.Powis: TiPS; 12: 188 -194, 1991

Laboratoř cytokinetiky
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Schematické znázornění úlohy vybraných složek fosfolipidového metabolismu v b. signalizacích





Zjednodušené obecné schéma efektů AA a jejích metabolitů

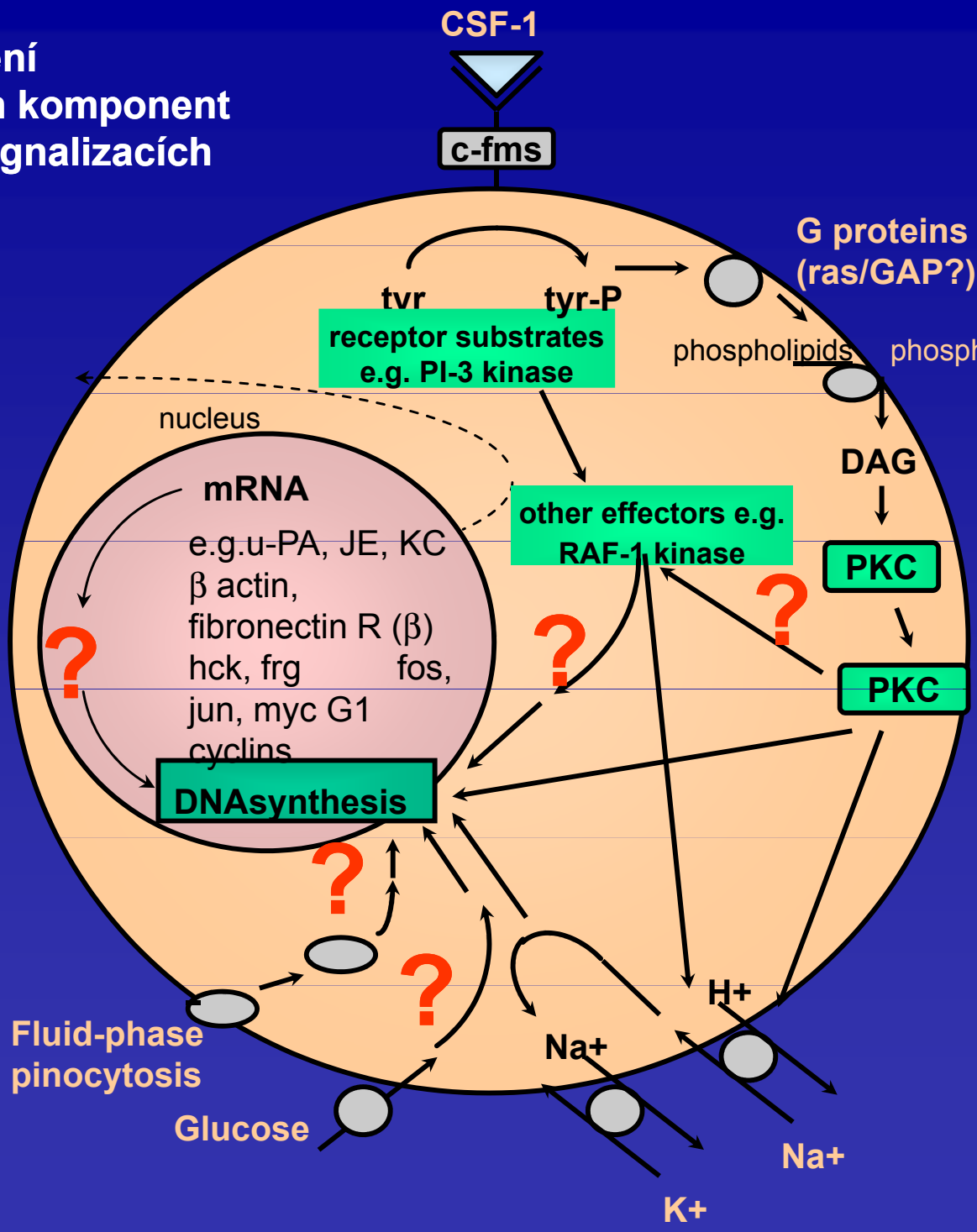
According to: A. Sellmayer et al.:

Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids ;

57: 353 - 357, 1997.

Laboratoř Cytokinetiky
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Příklady zapojení fosfolipidových komponent v buněčných signalizacích

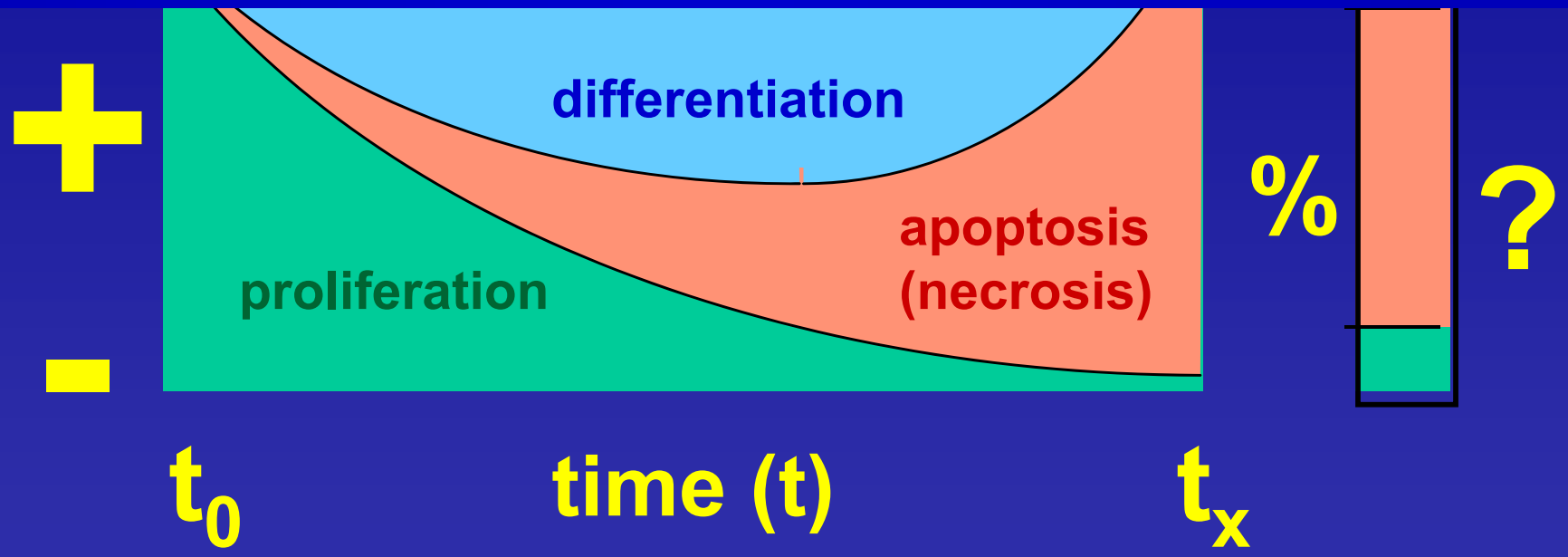


Laboratoř Cytokinetiky
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Základní přístup k postižení cytokinetiky:

detekce hlavních parametrů (dynamiky)

a jejich *ronováhy/nerovnováhy* v čase



Laboratoř Cytokinetiky

Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Modulation of signaling pathways

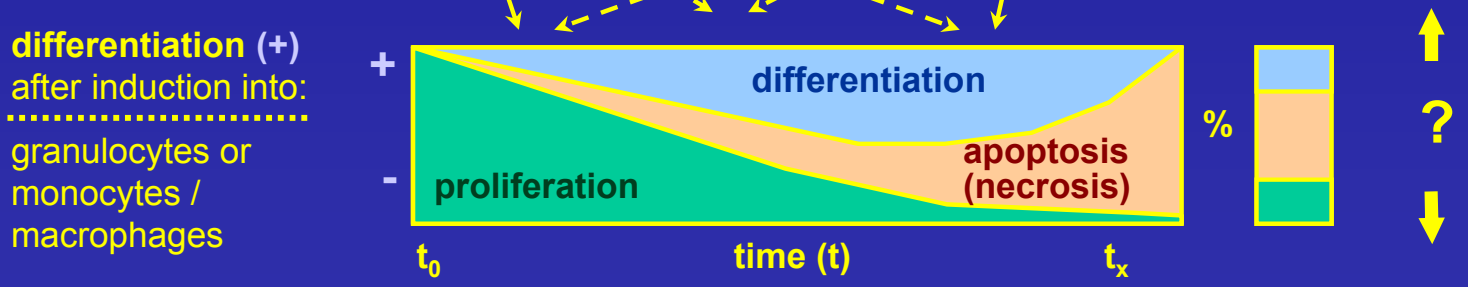
I. Addition of exogenous arachidonic acid (AA)

II. Modulation of eicosanoid production by inhibitors of: LPO or CO or P450

TGF- β_1

TNFα

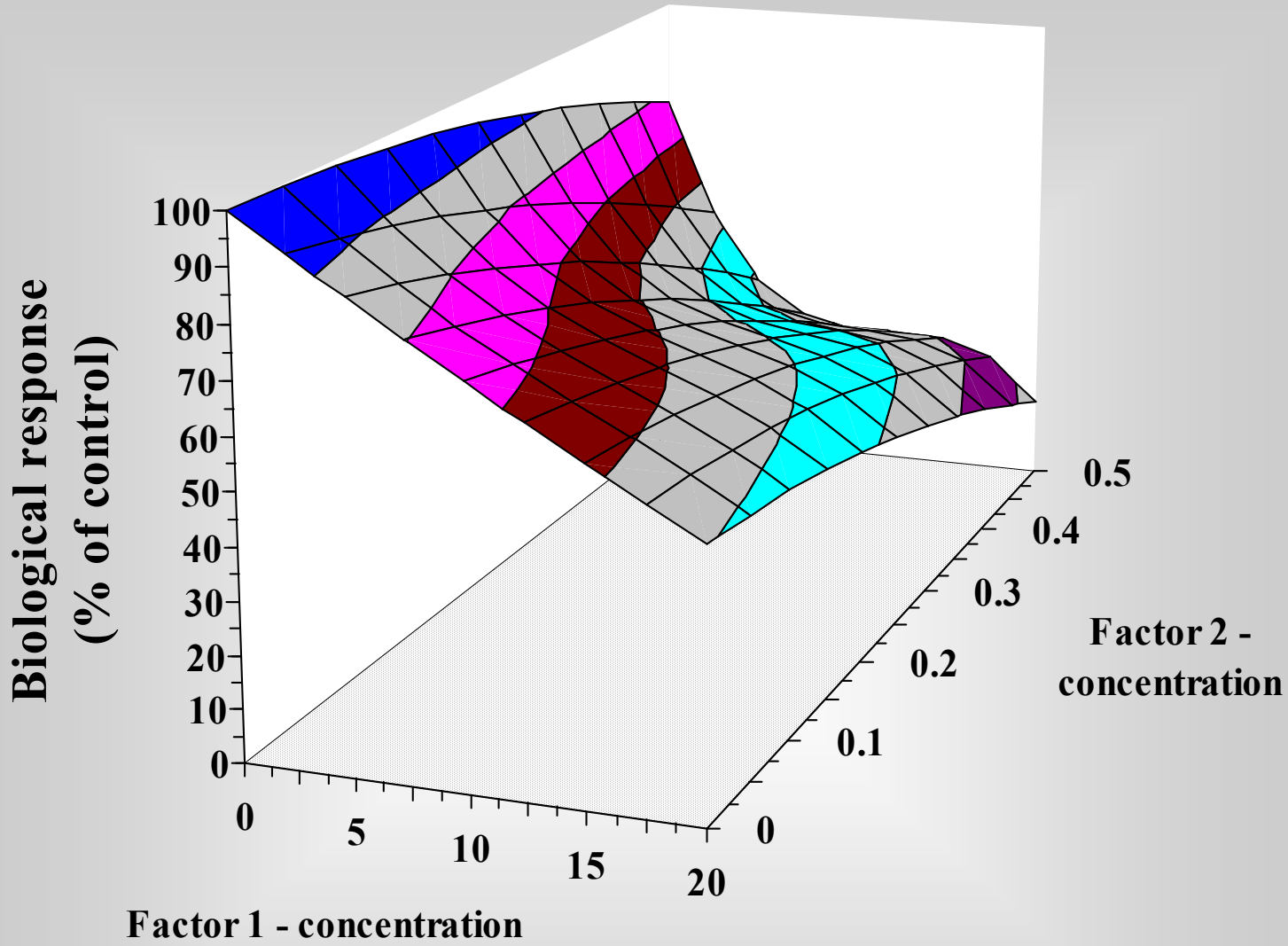
TGF-β_1/ TNFα



Collection of cytokinetic data
(detection of proliferation, differentiation and apoptosis) in selected time intervals

Data analysis - specification of significant interactions
detailed study of **mechanisms**

Laboratory of cytokinetics
Institute of Biophysics, Brno
Academy of Sciences
Czech Republic



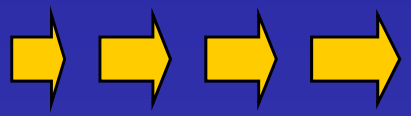
An example of interactions of two factors (data from Eur. J. Pharmacol. 316, 349-357, 1996, see Publications.)

MODELY:

Buňky tzv. intenzívně proliferujících populací (buňky nádorové)

zejména b. krvetvorné, b. střevních epitelů a b. jaterní.

OBLASTI STUDIA a STUDOVANÉ LÁTKY



Laboratoř Cytokinetiky

Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Buňky epiteliálního původu

code	Lokalization	Organisms	Pahtology
A2780	ovárium	člověk	karcinom, Pt - citlivé
A2780cis	ovárium	člověk	karcinom, Pt - rezistentní
A549	plíce	člověk	karcinom
BEAS-2B	plíce	člověk	tranformované virem
CaCo2	kolon	člověk	adenokarcinom
CCL-64	plíce	norek	normální
CH-1	ovarium	člověk	karcinom, Pt- citlivé
COR-L23	plíce	člověk	karcinom
COR-L23/CP3	plíce	člověk	karcinom, Pt - rezistentní
COR-L23R	plíce	člověk	karcinom, doxorubicin - rezistentní
CT26	kolorectum	myš	karcinom
E10	plicní	myš	normální
FHC	kolon	člověk	embryonální
H4IIELuc	játra	krysa	karcinom

Buňky epiteliálního původu

code	Lokalization	Organisms	Pathology
HaCaT	epidermis	člověk	normální
HeLa	cervix	člověk	karcinom
Hepa1	játra	myš	karcinom
HepG2	játra	člověk	karcinom
HT-29	kolon	člověk	adenokarcinom
HT115	kolon	člověk	adenokarcinom
HUVEC	endotel	člověk	embryonální
LEP	plíce	člověk	embryonální (fibroblasty)
MCF-7	prs	člověk	adenokarcinom
MDA-MB-231	prs	člověk	adenokarcinom
MDCK	ledvina	pes	normální
MVLN	prs	člověk	adenokarcinom
SKOV-3	ovarium	člověk	adenokarcinom, Pt – primárně rezistentní
T47D	prs	člověk	karcinom
WB-F344	játra	krysa	normální

Buňky mezenchymálního původu

code	**Lokalization**	**Organism**	**Pathology**
G5:113		myš	fibrosarkom
HL-60	krev	člověk	leukemie
IMM	nervové		imortalizované
Jurkat	krev	člověk	leukemie (lymfoidní)
K562	krev	člověk	leukemie (erytroidní)
MOLT-4	krev	člověk	leukemie (lymfoidní)
ML-1	krev	člověk	leukemie (myeloidní)
NB4	krev	člověk	leukemie (myeloidní)
U937	krev	člověk	leukemie (monocytární)
V79	fibroblasty	křeček	normální (fibroblasty)
WEHI	krev	myš	leukemie (lymfoidní)

Metody používané v laboratoři cytokinetiky BFÚ AV ČR, Brno

Legend: FACS – flow cytometry

FM - fluorescent microscopy

SM – light microscopy

WB - western blotting

FM - fluorimetry (FluoStar)

CM - kolorimetry (FluoStar nebo Elisa reader)

LM - luminometry (VUVEL, Lojek)

PAGE - polyacrylamid electrophoresis

RT-PCR - reverse transcription polymerase chain reaction

RG - radiography

ELFO – agarose electrophoresis

Metody průkazu apoptotické formy buněčné smrti

method, molecules	**Princip, function, parameter**	**Legend**
DAPI staining	Studium morfologických změn buněčného jádra apoptotických buněk	FM
Annexin V - FITC + propidium jodid (PI)	Externalizovaný fosfatidylserin apop. buněk + zachovaná semipermeabilita (detekce rané apoptózy)	FACS, FM
TUNEL + PI	Průkaz specifické fragmentace DNA (DNA zlomů - nicků – ss DNA breaks)	FACS, FM
SubG0/G1 peak v distribuci buněčného cyklu	Barvení buněčné DNA propidium jodidem s extrakcí nízkomolekulární DNA citrátovým pufrem	FACS
PI - Hoechst double - stain	Rozdělení buněk na mrtvé/živé, podle morfologie jádra identifikace apoptotických buněk	FM
DNA žebřík	Průkaz fragmentace DNA na 180 bp fragmenty (tzv. ladder)	ELFO
Kaspáza 1, 3, 7, 8, 9	Detekce exprese specifických proteáz	WB
Caspase assay (c-3, -6, -8, -9 subs.)	Důkaz aktivity specifických proteáz štěpením specifické sekvence na fluorescenční substrát	FM
cytokeratin 18 - protilátka M30	Neoepitop vytvořený štěpením cytokeratinu kaspázou	FACS,
Lamin B	Degradace Laminu B kaspázami	WB
PARP	Detekce štěpení proteinu PARP	WB
JC-1, TMRE, DiOC6, MitoTracker Red, Rh 123	Detekce změn mitochondriálního potenciálu $\Delta\Psi m$	FACS
Hoechst + propidium jodid (PI)	Detekce apoptických, nekrotických a sekundárně nekrotických buněk (detekce i pozdní apoptózy)	FM
F-aktin	Detekce intenzity polymerizace a depolymerizace aktinu (pomocí konjugátu faloidin-FITC)	FCM, FM
Intracelulární pH	Průkaz poklesu intracelulárního pH vůči fyziol. hodnotě nutného k aktivaci enzymu DNA-ázy	
Izolace cytochromu c z cytos. frakce	Vylití Cyt. C z mitochondrií do cytosolu a formování komplexu s Apaf-1 a procasp-9 vytváří apoptosom	WB
OxPhos Complex IV subunit II	Studium funkce mitochondrií	WB

Proteiny a molekuly spojené s procesem apoptózy

method, molecules	Princip, function, parameter	Legend
Bad, Bag-1, Bak, Bax, Bcl-2, Bcl-X, Bcl-XL, Bid, Mcl-1	Bcl-2 rodina - regulátory průběhu apoptózy	WB
c-FLIP	Inhibitor kaspázy 8	WB
c-IAP1, XIAP	Rodina inhibitorů kaspáz	WB
Hydroethidin, 2´,7´ dichlorofluoresceindiacetát	Stanovení respiračního vzplanutí a produkce ROS provázející apoptózu	FACS
Dihydrorhodamin 123	Stanovení respiračního vzplanutí a produkce ROS provázející apoptózu	FACS
Lucigenin	Stanovení respiračního vzplanutí a produkce ROS provázející apoptózu	LM

Metody stanovení úrovně proliferace, cytotoxicity, viability

method, molecules	Princip, function, parameter	Legend
Počítání buněk	Počítač částic založený na principu konduktivity	Coulter counter
Dye exclusion assay - eosin, trypanová modř	Barvení mrtvých buněk s permeabilizovanou membránou	SM
Dye exclusion assay - propidium jodid	Barvení mrtvých buněk s permeabilizovanou membránou	FACS
MTT, WST-1	Stanovení relativního množství buněk metabolizujících tetrazolove soli MTT, WST-1 na formazanove produkty	CM
CyQuant	Kit (Molecular Probes) pro značení DNA speciální fluorescenční barvou - proliferační assay	FM
PCNA	Marker proliferace - podjednotka DNA-polymerázy δ a ε	WB, SM
Inkorporace BrdU	Analog deoxyuridinu se inkorporuje během replikace DNA v proliferujích buňkách	FACS, FM
Inkorporace 3H-thymidinu (izotopová metoda)	Triciem značený thymidin se inkorporuje do buněk během replikace DNA - scintilační hodnocení	RG
Clonogenic assay	Otreatované buňky rostou v médiu nebo na agaru, sleduje se schopnost vytvářet kolonie buněk	

Metody analýzy buněčného cyklu

Methods, molecules	**Princip, function, parameter**	**Legend**
Barvení pomocí PI (např. Vindelův roztok)	Distribuce buněčné populace podle množství celkové buněčné DNA do jednotlivých fáz bun. Cyklu	FACS
Mouse anti-BrdU-FITC + PI	Sledování syntézy DNA na základě inkorporace BrdU do DNA proliferujících buněk	FACS
Pulse-chase BrdU labeling	Sledování průchodu buněk cyklem	FACS

Proteiny spojené s regulací buněčného cyklu

Název metody, stanovované molekuly	**Princip, funkce, parametr**	**Legenda**
cyklin A	Řízení S - G2 fáze b. cyklu - asociuje s cdk 2	WB
cyklin D1	Řízení přechodu z fáze G1 do S - asociuje s cdk 4	WB
cdk 2 activity assay	Řízení S - G2 fáze b. cyklu - asociuje s cyklinem A	RG
cdk 4	Řízení přechodu z fáze G1 do S - asociuje s cyklinem D	WB
p15, 16	Rodina p16 - inhibující kinázy cdk 4 a 6	WB
p21/waf1/cip1/sdi1/pic1	Inhibitor cdk a DNA replikace, transaktivovaný pomocí p53	WB
p27/kip1	Inhibitor komplexů cyklin D-cdk 4, cyklin A-cdk 2	WB
Topoizomeráza IIα	Replikační faktor - marker pozdní S/G2/M fáze b. cyklu	WB
pRb	Onkosupresor zastavující ve fosforylované formě b. cyklus v souvislosti s p21	WB
p53	Tumor supresorový gen - "Guardian of the genome" - downstream reguluje p21/waf	WB

Metody detekce diferencujících se buněk

method, molecules	**Princip, function, parameter**	**Legend**
CD11b, CD14	Znaky monocytární diferenciace lidských leukemických buněk	FACS
Nespecifické esterázy	Stanovení aktivity α-naftyl acetát esterázy (difer. leukemických buněk)	CM
Fagocytická aktivita	Znak monocytární diferenciace leukem. buněk - pohlcení částic konjug. s FITC	FACS
NBT redukční test	Se zvyšující se úrovní diferenciace roste počet reduk. formazánových zrn	CM
Aktivita alkalické fosfatázy	Znak diferenciace kolonových buněk - disodná sůl 4-nitrofenyl fosfátu	CM
Nespecifické esterázy	Stanovení aktivity nespecifických esteráz pomocí štěpení fluoresenčné sondy CFDA (karboxyfluorescein diacetát)	FACS
Intracelulární pH	Stanovení intracelulárního pH jako markru diferenciace buněk pomocí flourescenční sondy SNARF-1	FACS
Polymerizace aktinu	FITC značený faloidin	FM

Proteiny spojené s diferenciací buněk

method, molecules	**Princip, function, parameter**	**Legend**
RARα	Receptor all-trabs retinoic acid, indukující diferenciaci leukemických buněk	WB
RXRα	Receptor aktivovaný 9-cis-retinovou kyselinou	WB
VDR	Receptor vitaminu D, množství VDR moduluje růst a diferenciaci nádorových buněk	WB

Mezibuněčná komunikace, anoikis, motilita buněk

method, molecules	**Princip, function, parameter**	**Legend**
FAK	Nereceptorová tyrosin kináza zapojená v přenosu signálů z ECM	WB
Cadheriny	Složka desmosomu, nachází se v komplexu s cateniny	WB, FM
γ-catenin	Složka desmosomu, nachází se v komplexu s cadheriny	WB
connexin 43	Složka gap junctions (GJIC)	WB
GJIC inhibition assay	Testování funkčnosti GJIC pomocí luciferové žluti	FM
Wound healing assay	Testování motility buněk	FM

Metabolismus kyseliny arachidonové

method, molecules	**Princip, function, parameter**	**Legend**
cytopl. fosfolipáza A2	Odštěpuje AA z membrán	WB
5-lipooxygenáza	Metabolizuje AA na leukotrieny	WB
Cyklooxygenáza 2	Metabolizuje AA na prostaglandiny, prostacykliny a tromboxany	WB
Uvolňování AA	Uvolnění AA z buněk do media	HPLC (VUVEL)

Signální dráhy receptorů smrti

Název metody, stanovované molekuly	**Princip, funkce, parametr**	**Legenda**
Fas-L	Ligand Fas-R - signál smrti	WB
Fas-R (CD95)	Receptor smrti - aktivovaný navázáním Fas-L	WB,FACS
FADD	Adaptérová molekula - součást DISC komplexu	WB
Toso	Inhibitor Fas indukované apoptózy nacházející se na povrchu T lymfocytů	WB
TRAIL	Ligand TRAIL-R - signál smrti	WB
TRAIL-R1,2 (DRs)	Receptory smrti - aktivovány navázáním TRAIL-L	WB,FACS
TRAIL-R3,4 (DcRs)	Decoy receptory - vážou TRAIL, ale neaktivují proces apoptózy	WB,FACS

Kinázy a proteiny s nimi asociované

Název metody, stanovované molekuly	**Princip, funkce, parametr**	**Legenda**
Ras, N-Ras	Mebránový G-protein	WB
ERK 1/2	Imunochemické stanovení neaktivní a aktivní (fosforylované formy)	WB
p38	Imunochemické stanovení totální (na fosforylačním stavu nezávislé) hladiny p38	WB
JNK/SAPK activity assay	stanovení aktivity analýzou fosforylace substrátu (radioizotopová metoda)	RG
Akt/PKB	Serin/Threoninová protein kináza, může stimulovat Ras	WB
pTyr	Protilátka detekující fosforylovaný Tyrosin	WB
pSer	Protilátka detekující fosforylovaný Serin	WB

Signální dráha TGFβ

Název metody, stanovované molekuly	**Princip, funkce, parametr**	**Legenda**
TGF β1	Růstový faktor	WB
TGF β R I, II	Receptor pro TGF β	WB
Smad 2, 4	Aktivace TGF R vede k translokaci těchto transkripčních faktorů do jádra	WB

Proteiny asociované s AhR

Název metody, stanovované molekuly	**Princip, funkce, parametr**	**Legenda**
AhR	Ligand-dependentní transkripční faktor,	WB, RT-PCR EMSA, FM
Reporter gene assay for AhR	Metoda stanovení aktivity Ah R	LM
Stabilní transfekce mutantních variant AhR a ARNT pomocí plazmidových vektorů		
ARNT	Jaderný partner receptoru AhR umožňující jeho vazbu na XRE element	WB, RT-PCR
CYP1A1	Oxidáza se smíšenou funkcí patřící do rodiny cytochromů P450	WB, RT-PCR

Proteiny spojené s hormonální regulací

Název metody, stanovované molekuly	**Princip, funkce, parametr**	**Legenda**
ER α, β	Receptory estrogenů	WB
Reporter gene assay for ER	Metoda stanovení aktivity estrogenních receptorů	LM
Cathepsin D	Endopeptidáza indukovaná estrogeny	WB
LRP/MVP	Ribonukleoproteinové částice ovlivněné hladinou estrogenů	WB
PPARγ	Jaderný receptor pro hormony ovlivňovaný MAPK	WB

Transkripční faktory a asociované proteiny

Název metody, stanovované molekuly	**Princip, funkce, parametr**	**Legenda**
NF-κB	Aktivátor řady genů spojených s hematopoezou, apoptózou atd.	WB, EMSA
IκB	Inhibitor NF-κB, který jej zadržuje v cytoplazmě	WB
c-Myc	Po navázání heterodimerizačního partnera Max působí jako TF	WB
p53	Onkosupresor podílící se na řízení oprav DNA lézí	WB
AP - 1 (Jun + Fos)	Homo- či heterodimerní transkripční faktor	WB, EMSA

Zvláštní pozornost věnována

Vnt signalling
FGF signalling
TGF beta signalling
Apoptotickým proteinm
Regulátorům dif. a b.cyklu

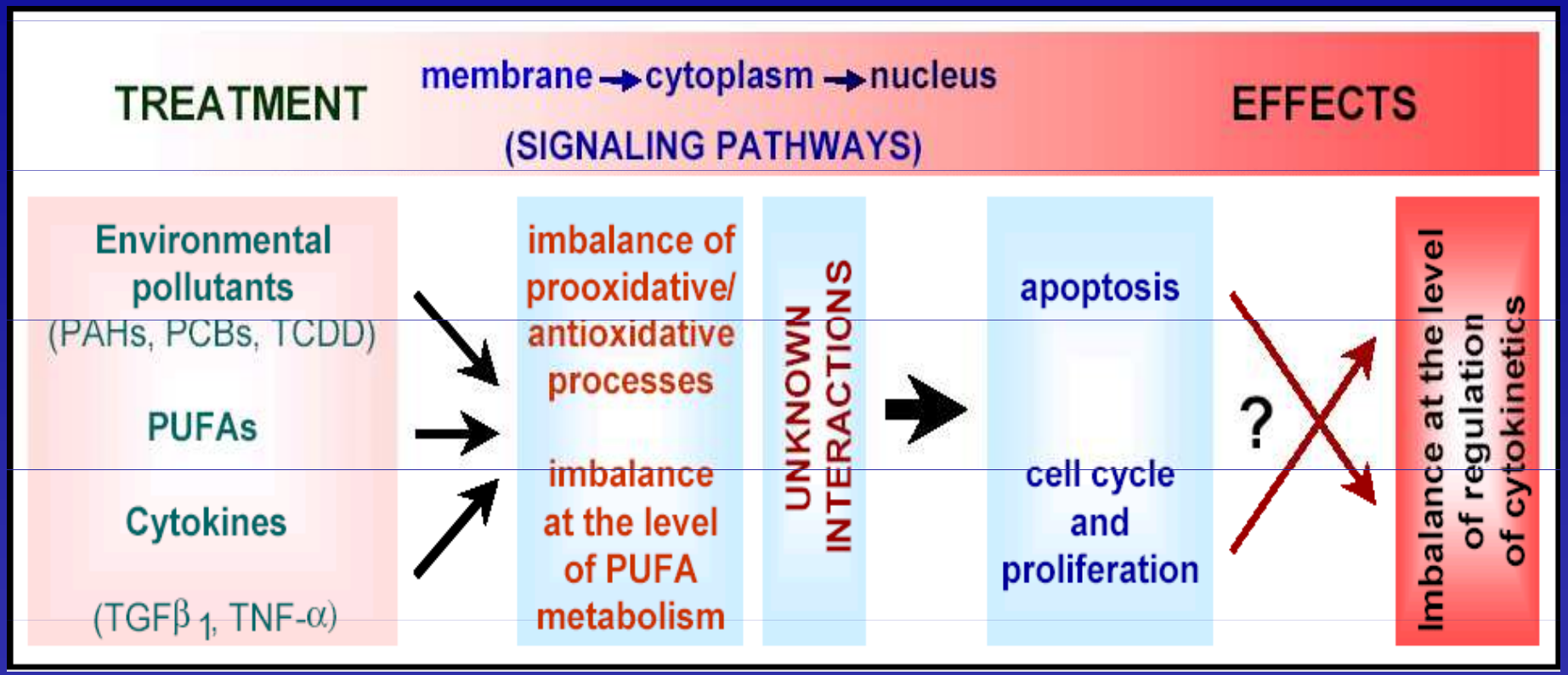
PUFAs

Jejich vzájemným vazbám

Snaha o naplnění cyklu
a důsledky pro finanční zajištění

Laboratoř Cytokinetiky
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Podstata návrhu projektu



Laboratoř Cytokinetiky

Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

ČSAC
Česká společnost pro analytickou cytologii
Konference
ANALYTICKÁ CYTOMETRIE III
Červenohorské sedlo

ČSAC

Česká společnost pro analytickou cytologii

Registered participants:	**65**	**137**	**180**	
Invited speakers:	**0**	**3**	**7**	**(Angl.)**

Co by mělo být rozhodováno nejdřív:

Proč chceme studovat, jaký je opravdový zájem?

Na základě čeho se rozhodujeme?

Kdy začít a proč?

Kde začít?

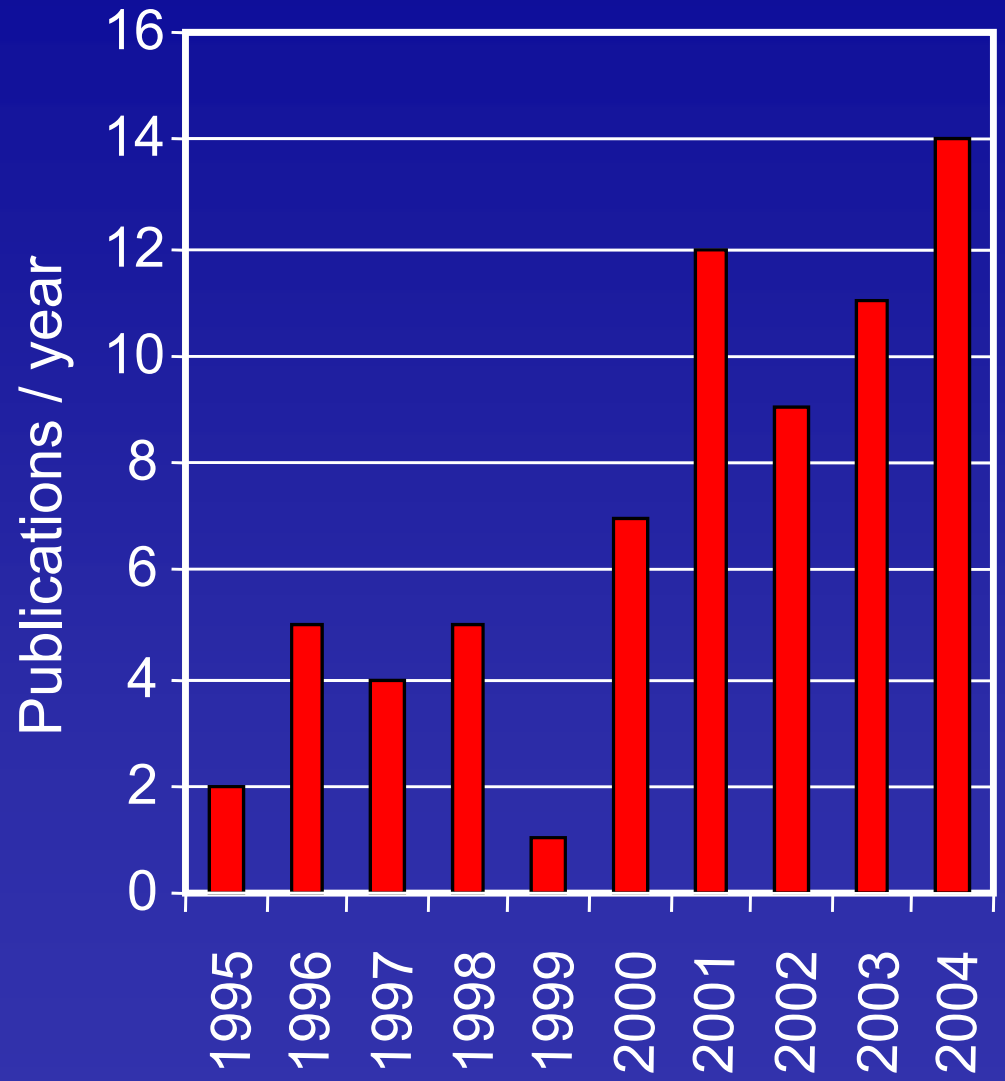
Jaké máme možnosti uplatnění

po skončení studia?

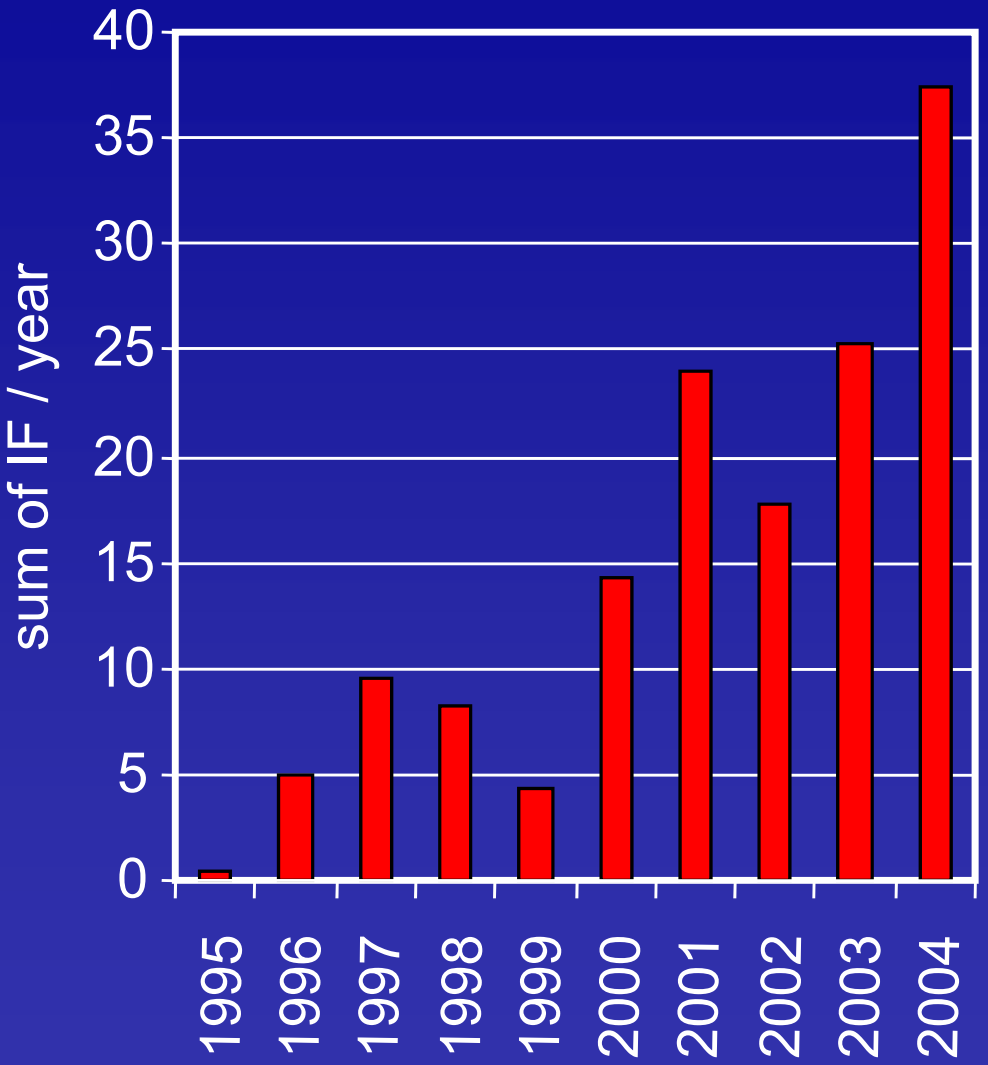
Laboratoř Cytokinetiky

Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

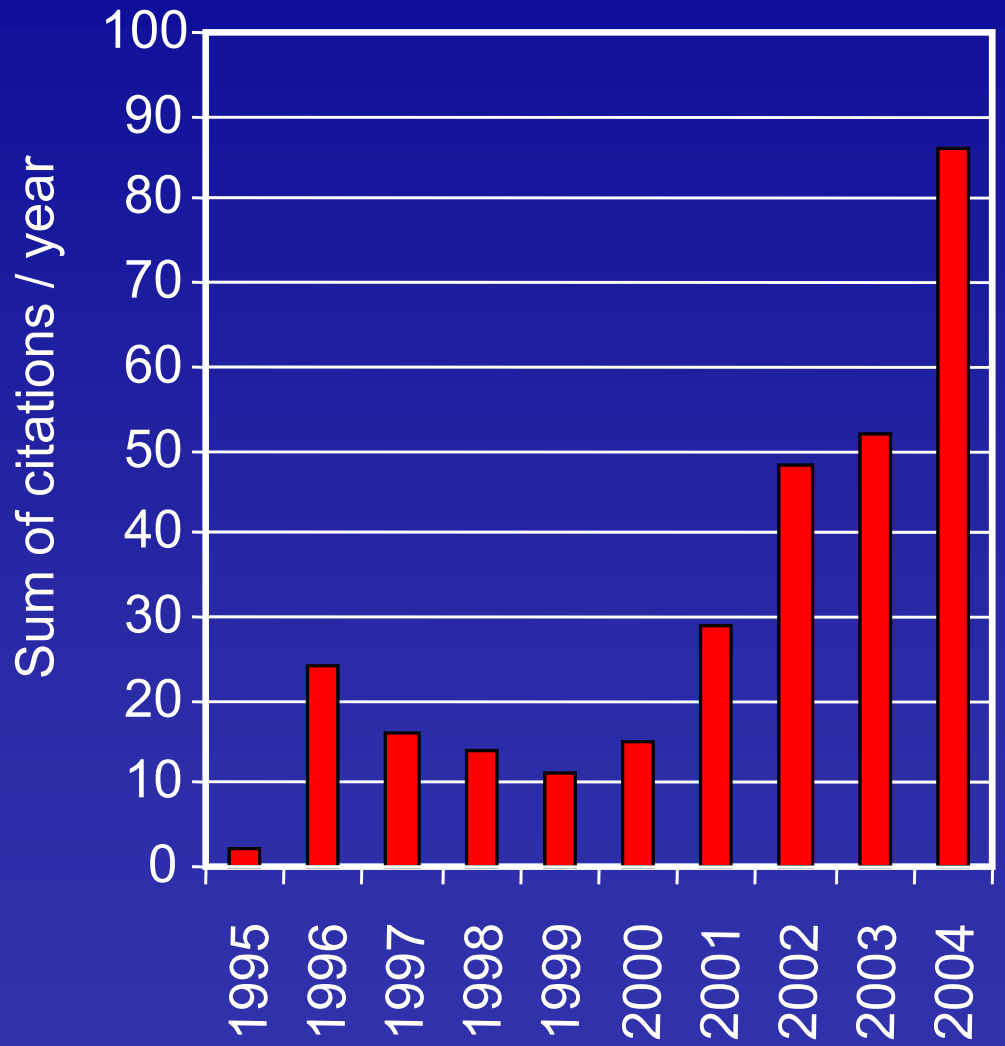
PUBLICATIONS



IF/year


sum of IF / year
40
35
30
25
20
15
10
5
0
1995
1996
1997
1998
1999
2000
2001
2002
2003
2004

CITATIONS


Sum of citations / year
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1995
1996
1997
1998
1999
2000
2001
2002
2003
2004

Co by mělo být rozhodováno nejdřív:

Proč chceme studovat, jaký je opravdový zájem?

Na základě čeho se rozhodujeme?

Kdy začít a proč?

Kde začít?

Jaké máme možnosti uplatnění

po skončení studia?

Laboratoř Cytokinetiky

Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Co by mělo být rozhodováno nejdřív:

Proč chceme studovat, jaký je opravdový zájem?

Na základě čeho se rozhodujeme?

Kdy začít a proč?

Kde začít?

Jaké máme možnosti uplatnění

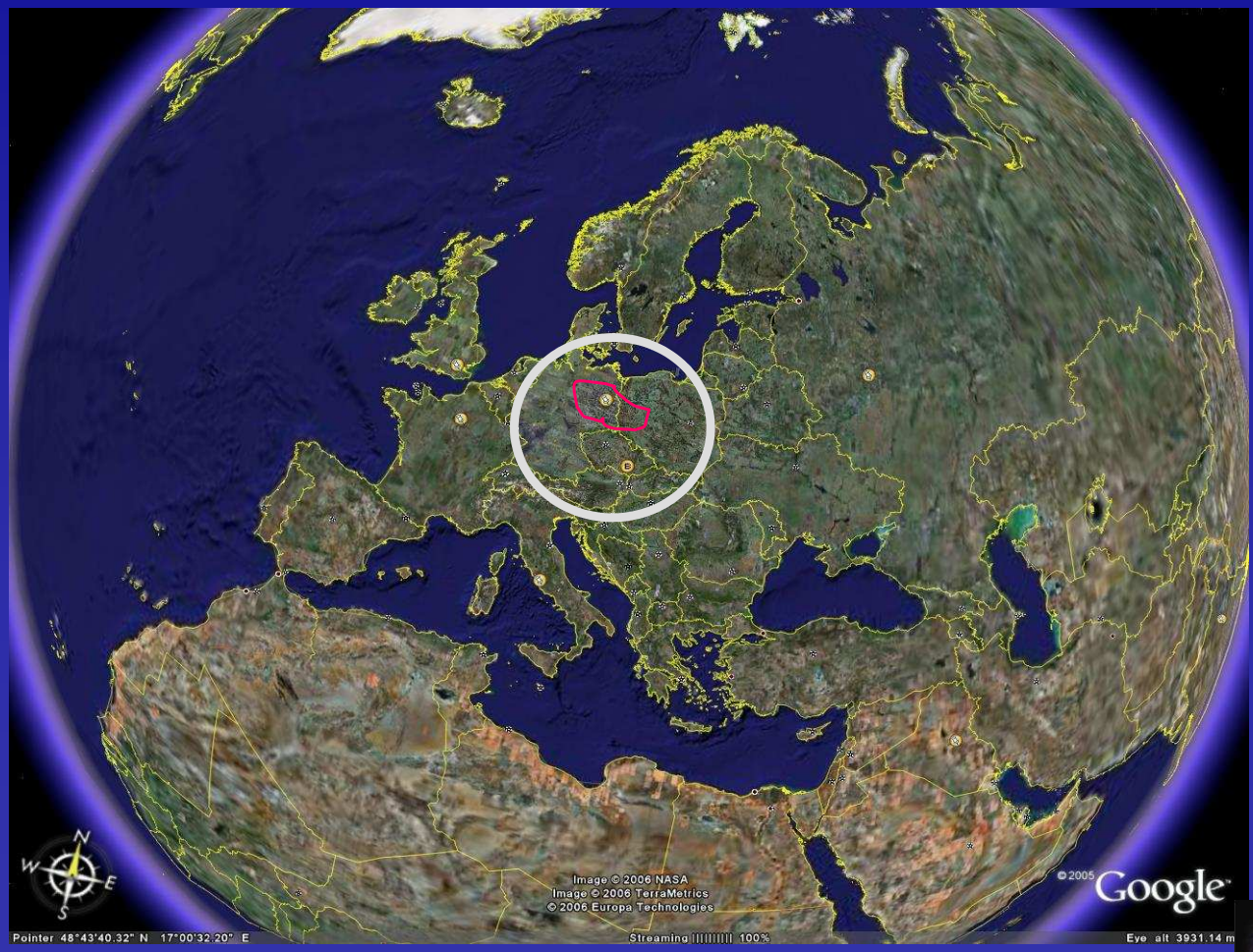
po skončení studia?

Laboratoř Cytokinetiky

Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Scientific/Methodological Cooperation in Central Europe

- Possibilities and Perspectives-



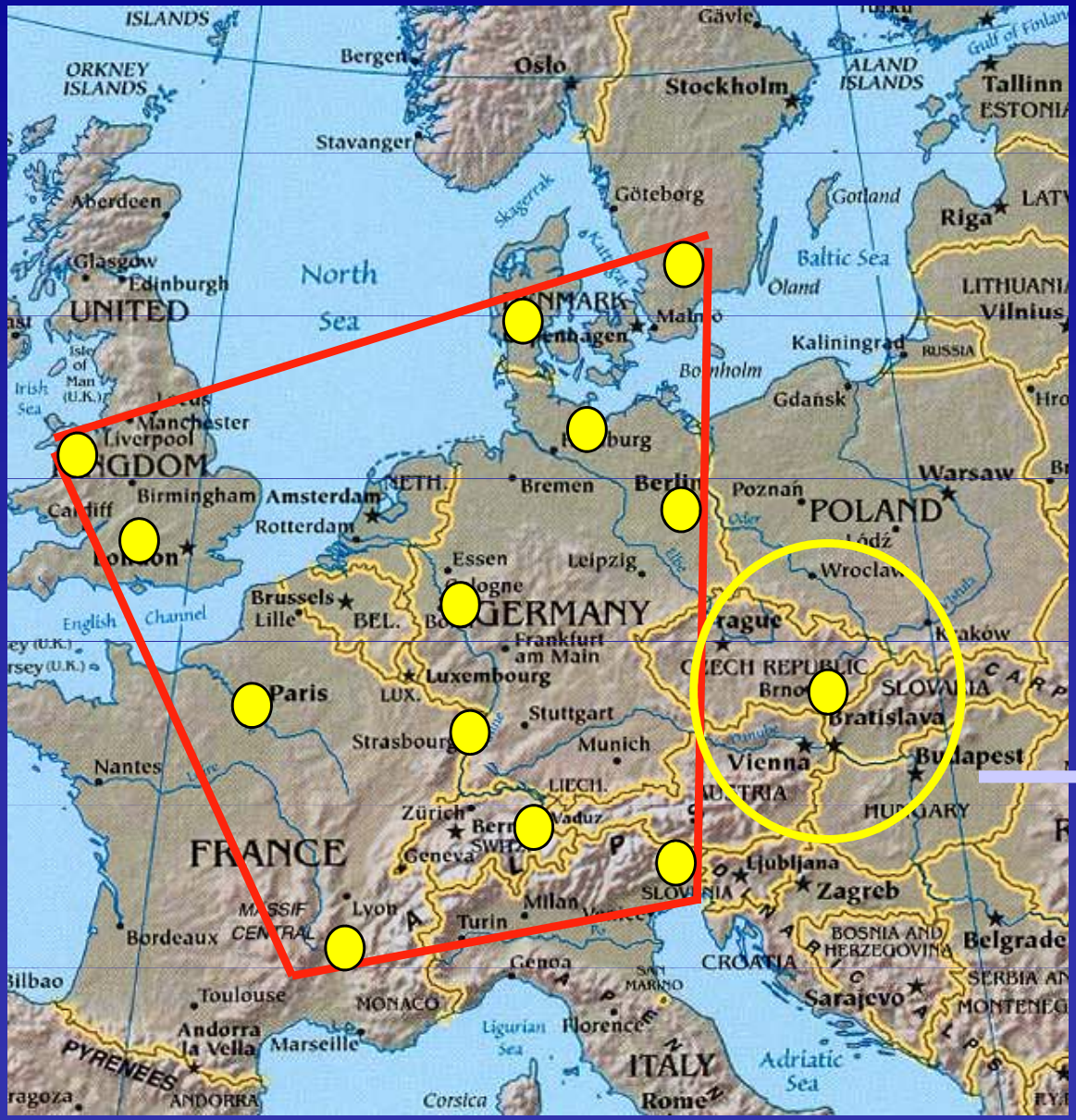
ČSAC
Česká společnost pro analytickou cytologii

ČSAC
Česká společnost pro analytickou cytologii

MASARYKOVA UNIVERZITA V BRNĚ

An example of recently built synchrotron of similar size in Australia

The places where synchrotrons in EU are located.



Our goal is to move the borderline in this direction

Projects (Centres) included into CETEC

- Mendel Research Center (MRC)
- Center for Human and Animal Health (CHAH)
- Center of Biomedical Research (CBR)
- Center of Advanced Materials and Technologies (CAT)
- Center of Electron Microscopy (CEM)
- Integrated Center for Science
- Computational and Information Technologies
- Congress Center

Amongst the CETE Projects, the most important is so called MRC Project, since ¨it integrates the most sophisticated technologies of biological research

Core facilities I

- Optical microscopy
- Flow-cytometry and sorting
- Genomics and proteomics
- NMR spectroscopy
- Electron microscopy
- Animal and Plant Cultivation
- Separation and Detection
- Computing technologies
- Testing of drugs
- Cell cultures, stem cells

Core facilities II

- M Material Sciences
- N Nano- and Microtechnologies
- K Communication technologies
- B Biomedicine technologies

V čem spočívají největší možnosti

V míře osobního nasazení

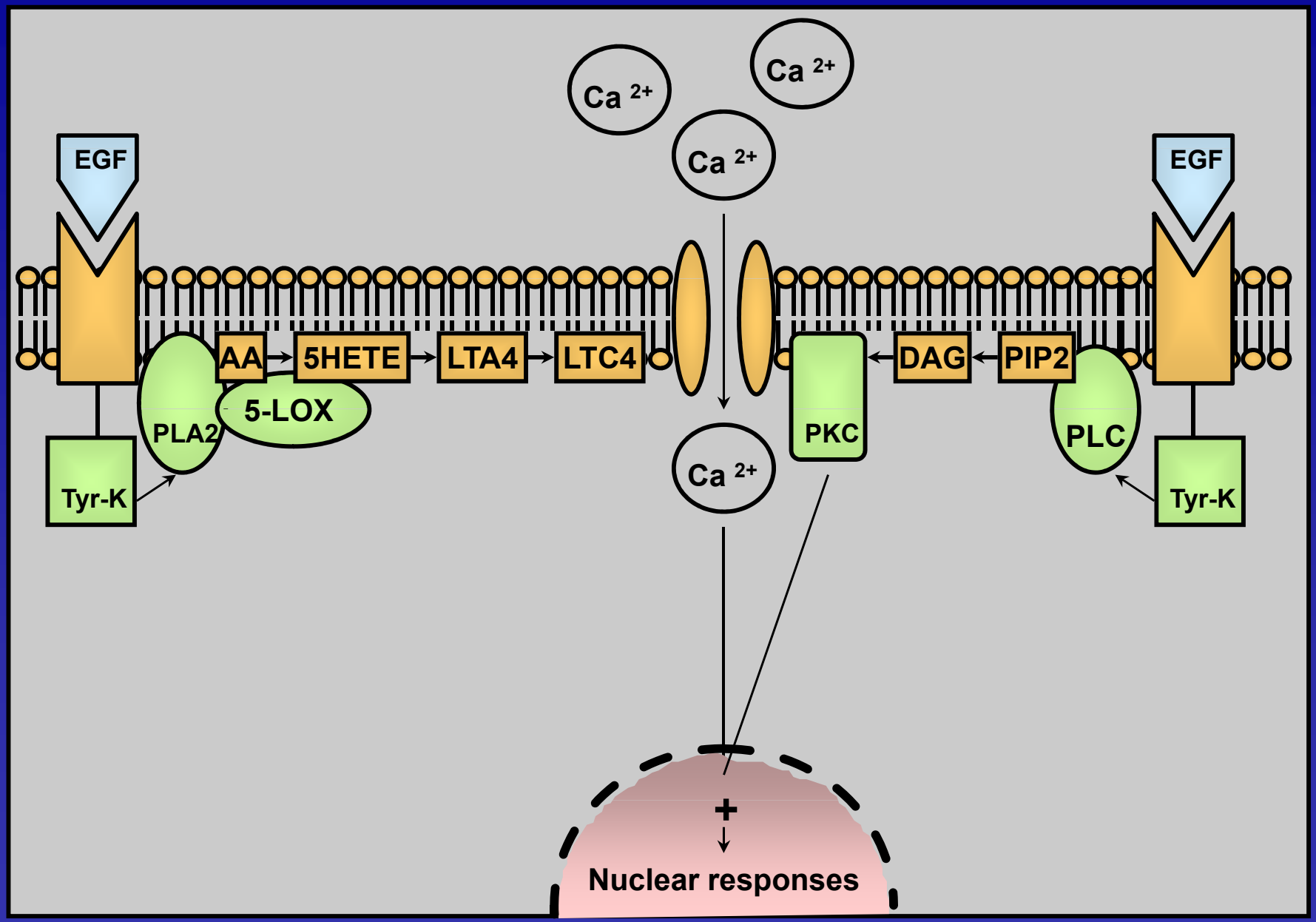
Opravdovém zájmu

Využití příležitostí

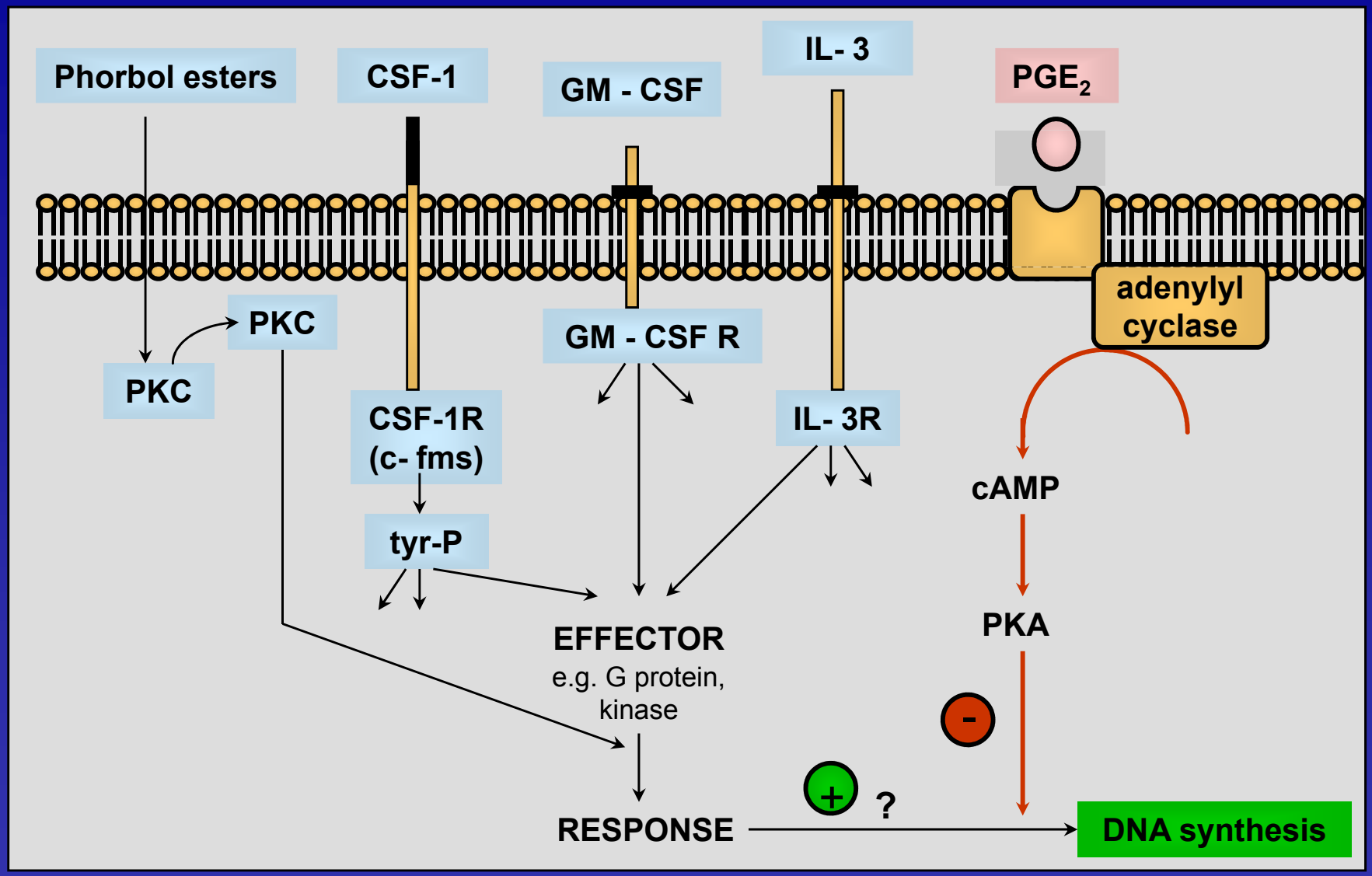
Laboratory of Cytokinetics

Institute of Biophysics, Brno
Academy of Sciences
Czech Republic

- Nabídka práce na odborných tématech na Odd. FIŽ PřF MU v Brně.


Ca 2+
Ca 2+
Ca 2+
EGF
EGF
AA
5HETE
LTA4
LTC4
5-LOX
PLA2
Tyr-K
Ca 2+
PKC
DAG
PIP2
PLC
Tyr-K
+
Nuclear responses

Interaction between signalling pathways



Modulace cytokinetiky látkami tukové povahy

- závěry-

Lipidy a zejména jejich složky ***vysoce nenasycené kyseliny*** (PUFA), včetně jejich metabolitů ***eikosanoidů***,

patří mezi významné epigeneticky působící faktory schopné ovlivnit jak dělení a zánik normálních,

ale i transformovaných buněčných populací, tak proces maligní transformace.

Laboratoř Cytokinetiky
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Hlavní mechanismy působení PUFAs

1) přímé ovlivnění aktivity transkripčních faktorů regulujících expresi genů významných z hlediska cytokinetiky

2) produkce eikosanoidů působících na přenos signálů růstových faktorů, cytokinů a imunitní systém

3) produkce reaktivních kyslíkových metabolitů vznikajících peroxidací lipidů.

Laboratoř Cytokinetiky
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Přestože cca 20 let trvajícíc výzkum v poznání významu PUFAs a jejích metabolitů v buněčných signalizacích (zejména v mech. regulujících cytokinetiku) již dosáhl obecně značného pokroku, řada otázek zůstává doposud nezodpovězena.

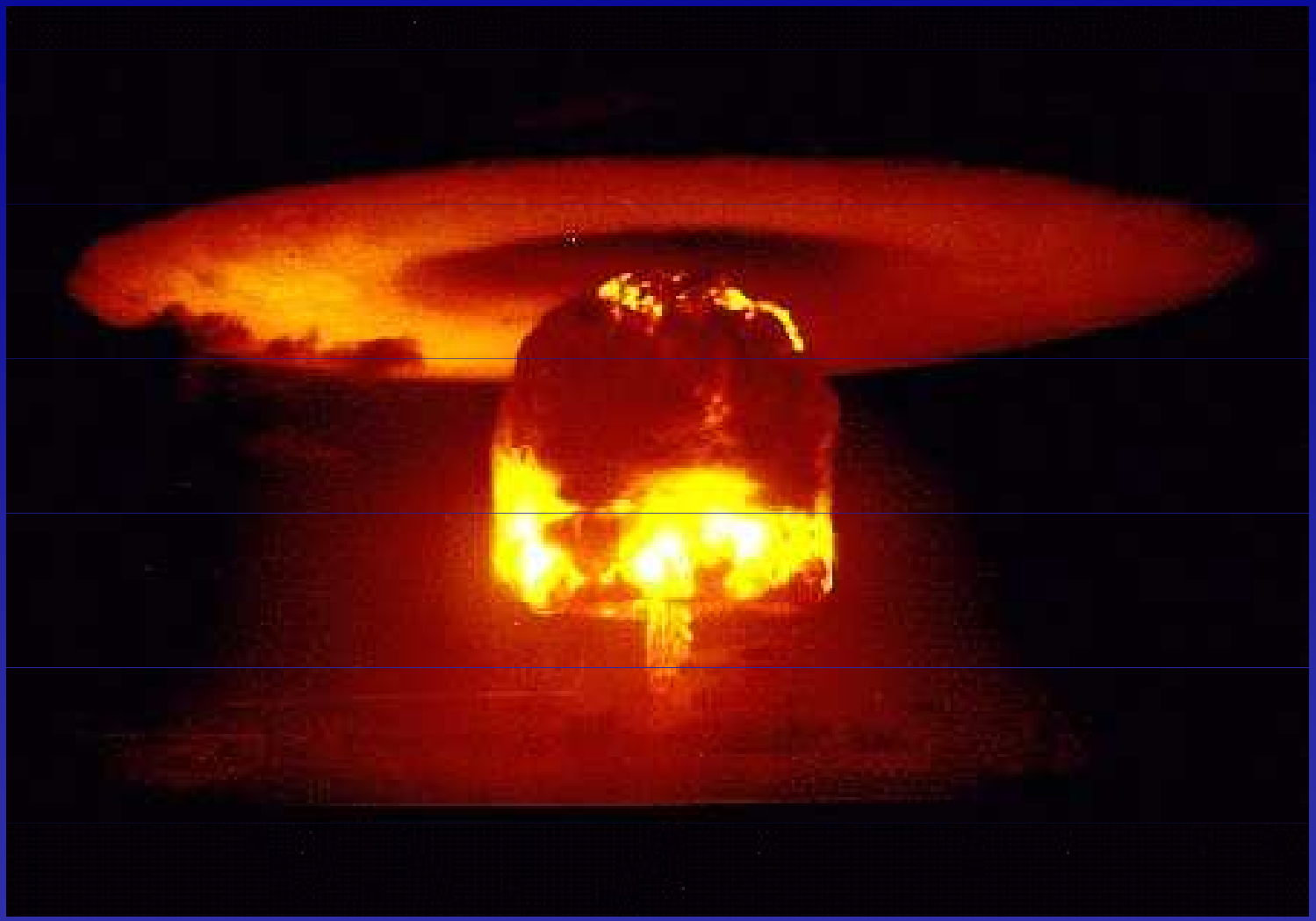
Pokud jde o poznání úlohy fosfolipidového metabolismu v mechanismech účinků xenobiotik je výkum teprve v začátcích.

PŘESTO LZE VYSLOVIT PŘEDPOKLAD, že

jak fosfolipidové komponenty, tak jejich prekursory, by mohly hrát důležitou úlohu v mechanismech toxického působení xenobiotik,

mj. i modulací drah řídících proliferaci, diferenciaci a smrt buněk, jejichž součástí jsou cytokiny a další fyziologické regulátory růstu.

Laboratoř Cytokinetiky
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO



Škodlivé faktory životního prostředí, škála stresorů

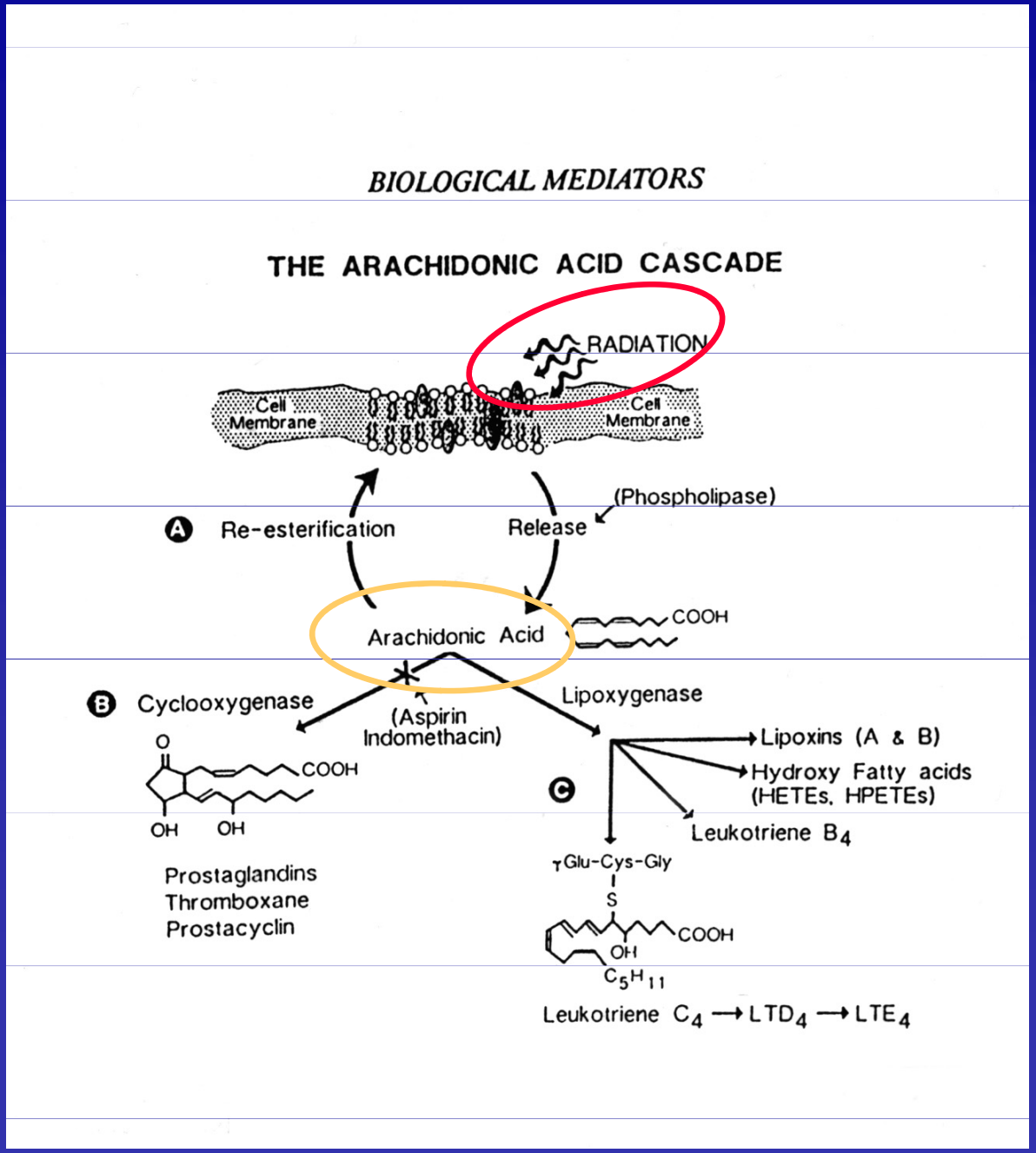
Laboratoř Cytokinetiky

Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Laboratoř Cytokinetiky

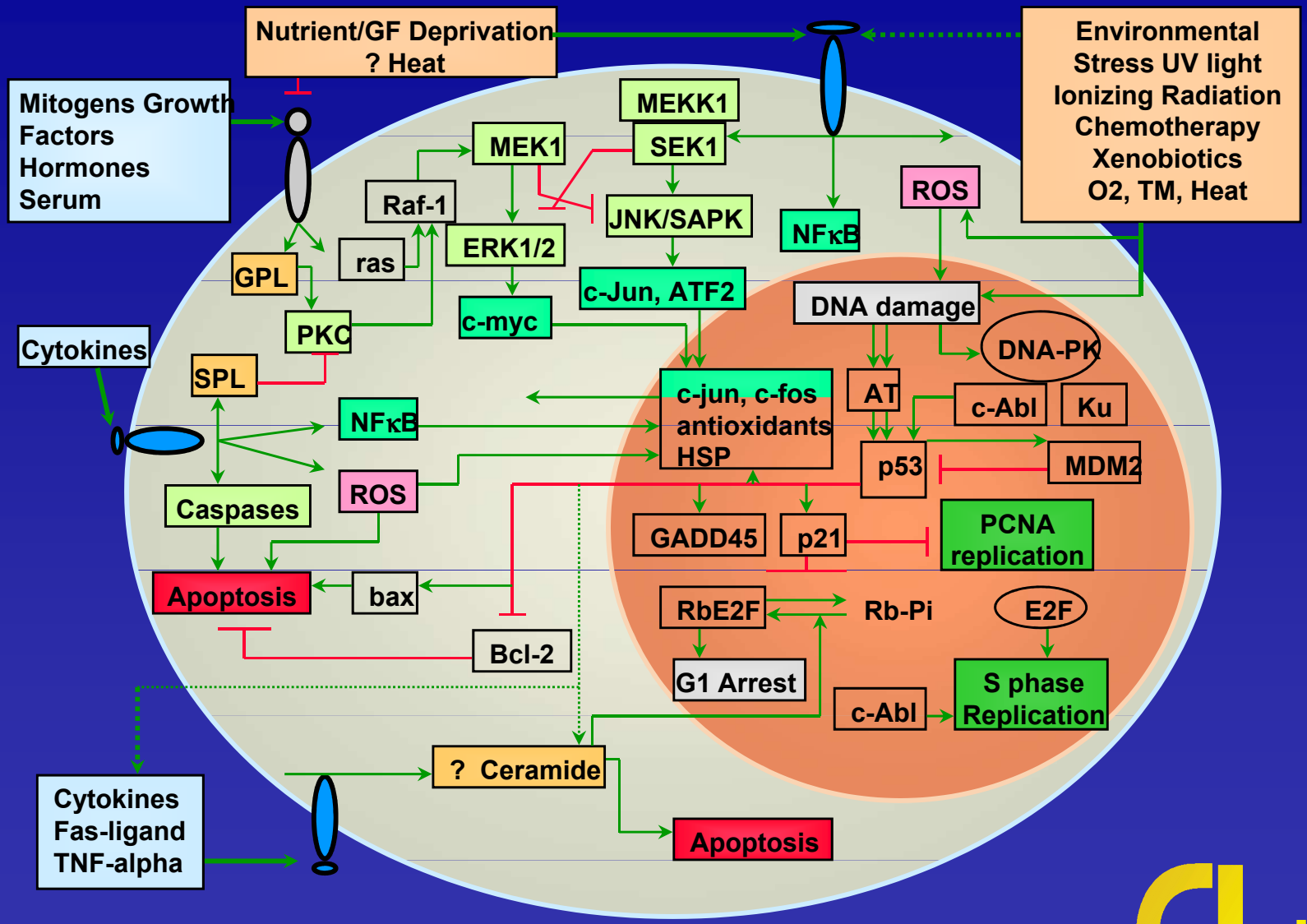
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Fosfolipidový metabolismus a působení škodlivých faktorů životního prostředí



Laboratoř Cytokinetiky

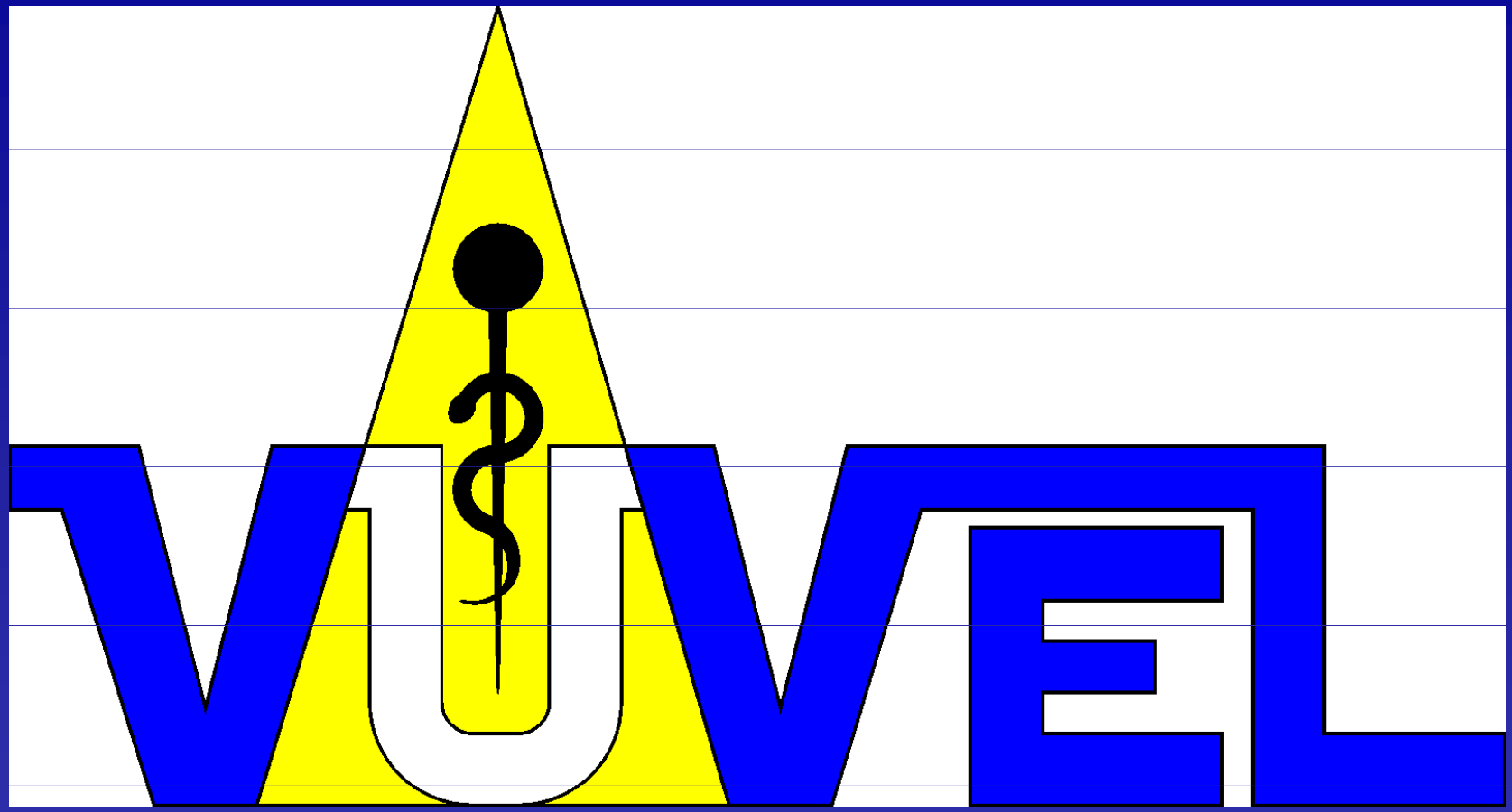
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO



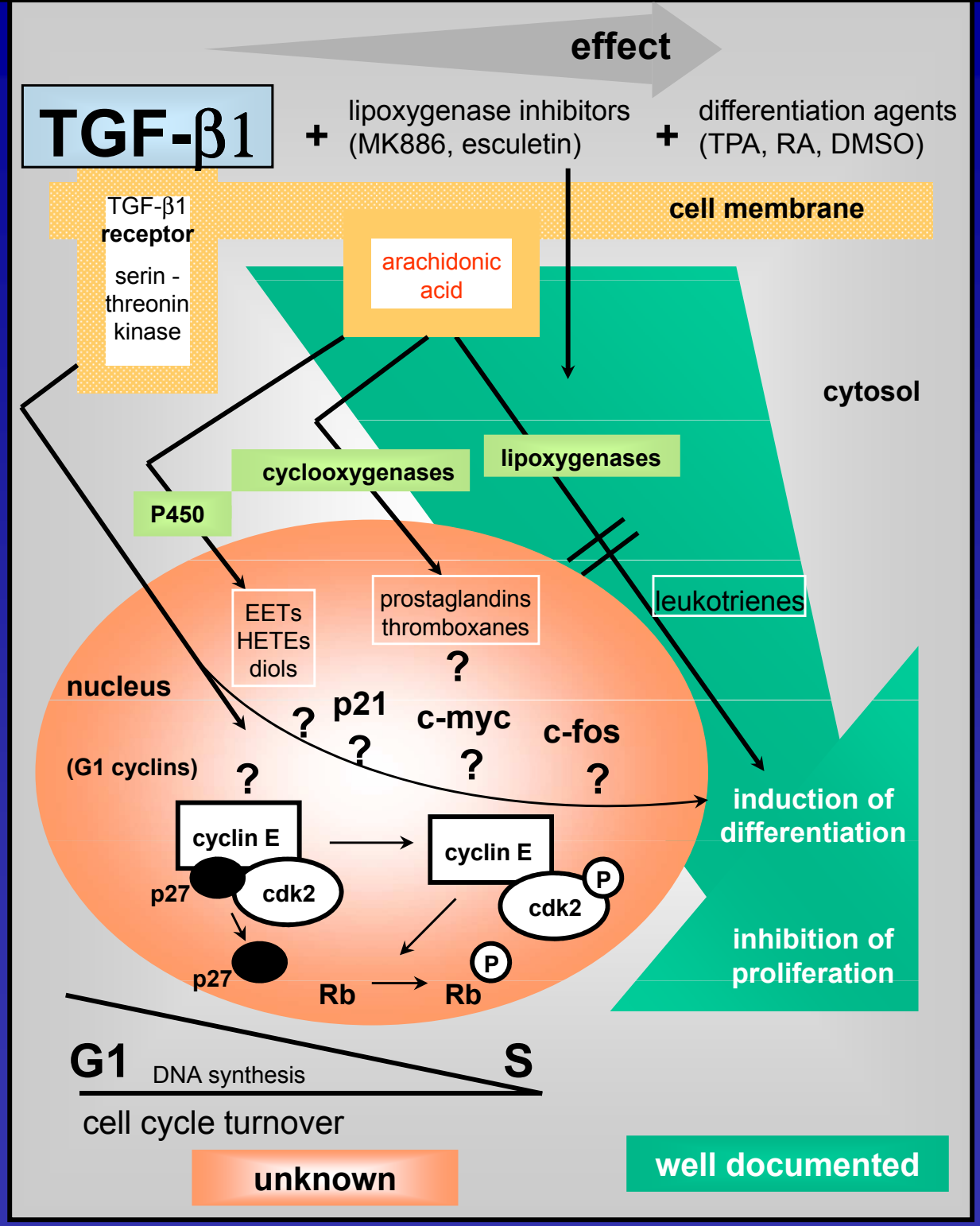
According to: Rizzieri: Drug Resistance Updates; 1: 359 - 376, 1998

Laboratoř Cytokinetiky

Biofyzikální ústav AVČR, BRNO



RNDr. Miroslav Machala, CSc.



some interactions

of TGF-β1 and AA metabolism with other regulatory molecules which should be studied (unknown effects)

Laboratoř Cytokinetiky
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Epigeneticky působící faktory, které mohou modulovat rychlost dělení, diferenciaci anebo zánik buněk

Faktory, které mohou ovlivnit cytokinetiku změnami

---

1) exprese anebo funkce molekul zapojených v přenosu signálů přímo regulujících proliferaci, diferenciaci a buněčnou smrt (apoptózou),

včetně exprese protoonkogenů a nádorově-supresorových genů

---

2) signálů, které tyto funkce ovlivňují do určité míry nepřímo,

jako jsou inhibice mezibuněčných spojení, ovlivnění funkce enzymů reparujících DNA, metylace DNA apod.

Laboratoř Cytokinetiky
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO