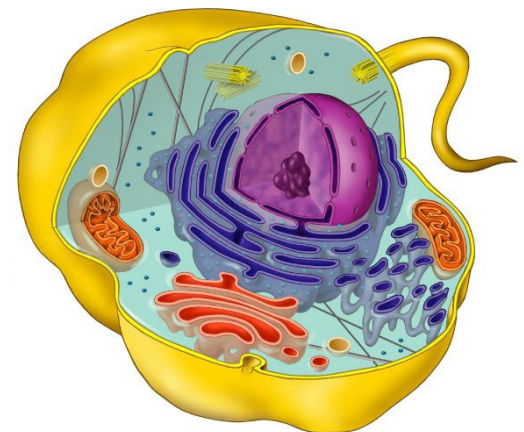


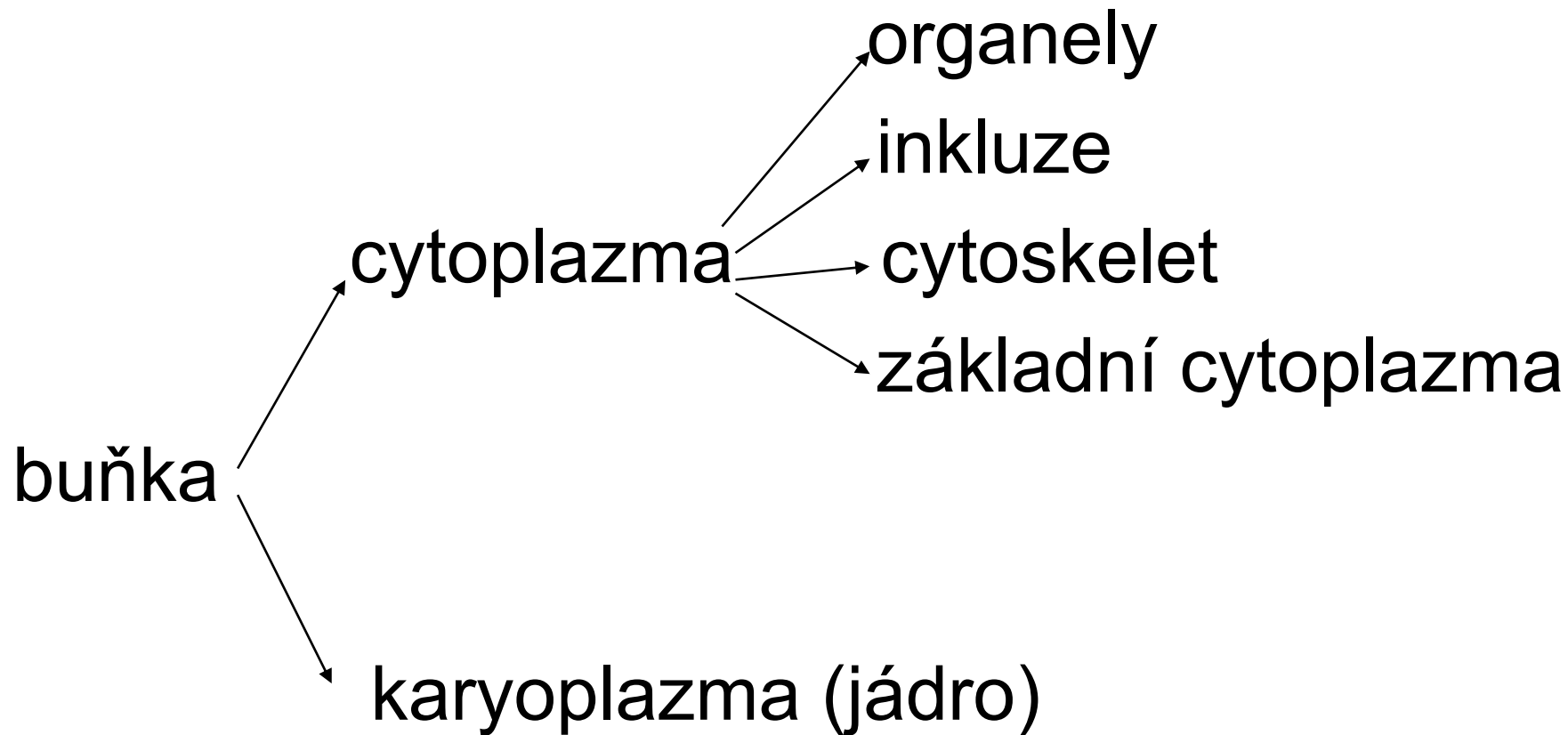
Cytologie 2

Aleš Hampel

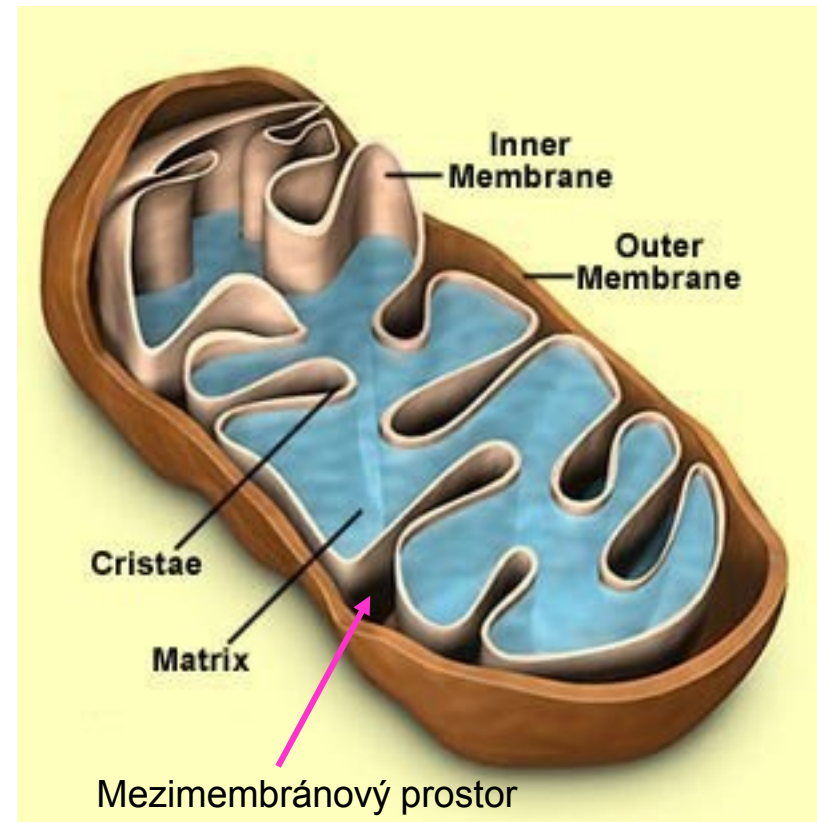
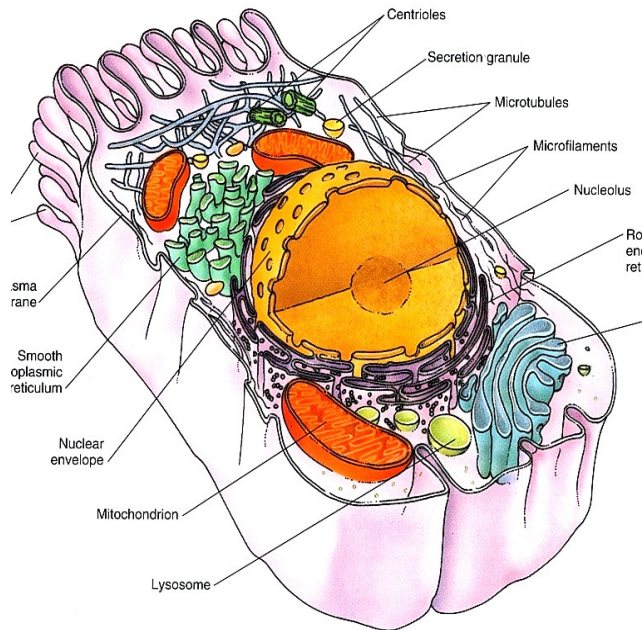
2018



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



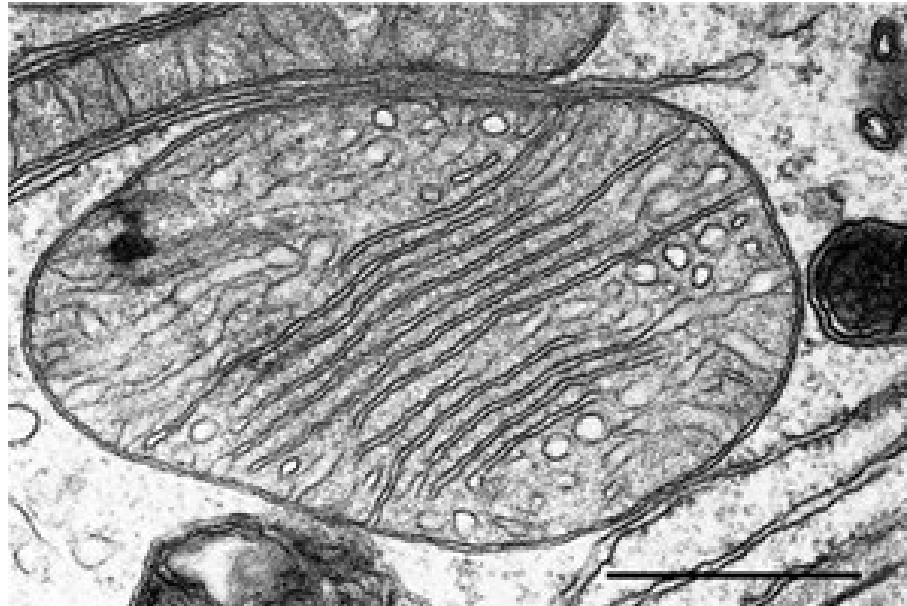
Mitochondrie 1



- ve všech buňkách vyjma erytrocytů
- dvojmembrána
- průměr cca 0,5 μm
- délka až 50 (100) μm
- oxidativní metabolismus (glukóza – ATP + CO₂ + H₂O)
- cytochrom c – aktivace apoptické dráhy
- původ ve vajíčku
- mtDNA (cirkulární)
- hnědá tuková tkáň – produkce tepla

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

Mitochondrie 2

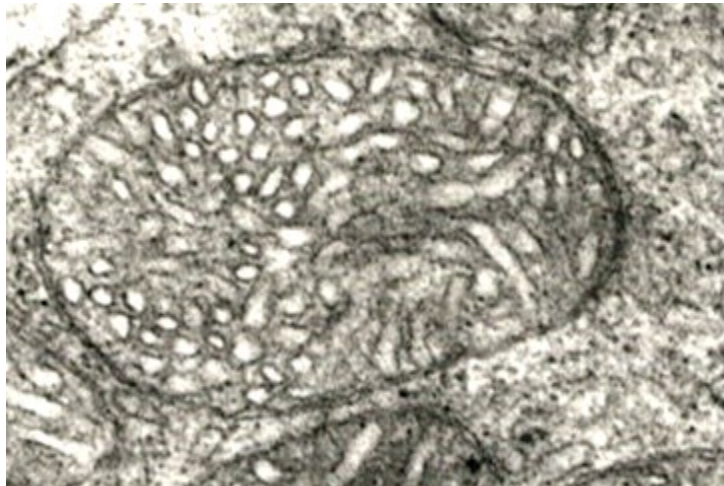


Mitochondrie 3

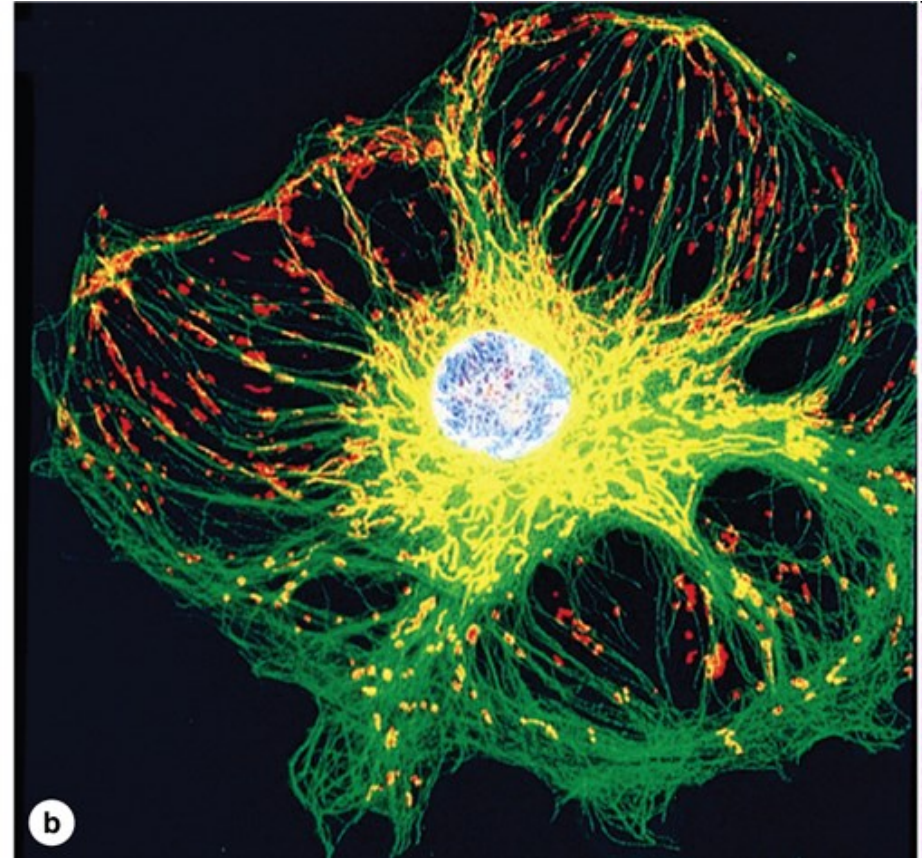
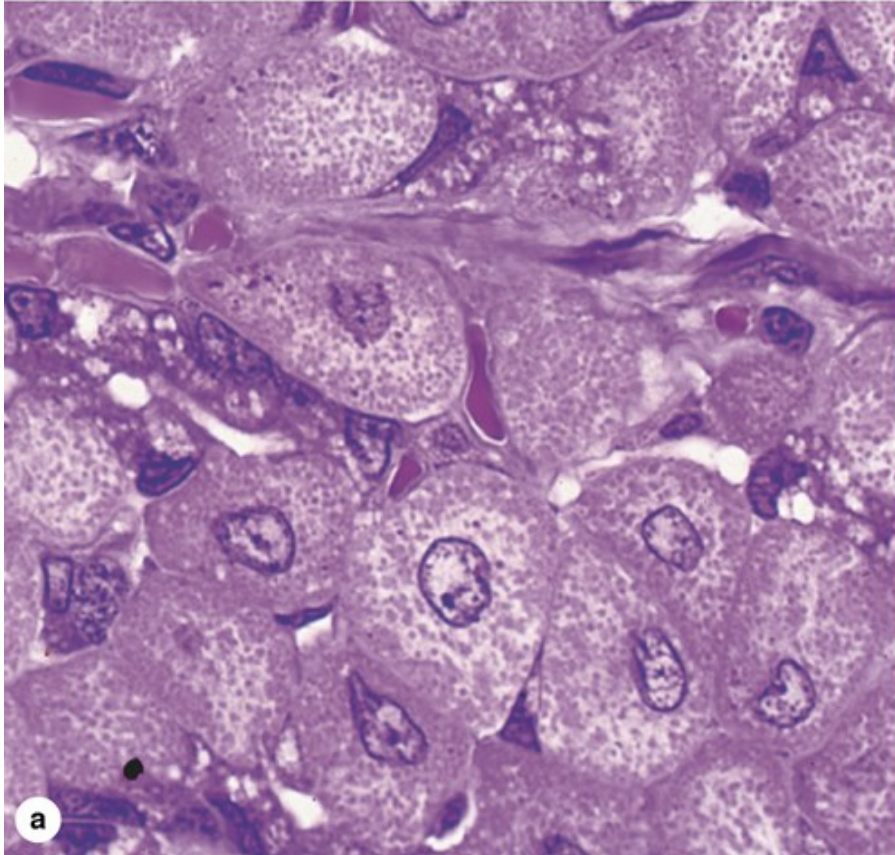
s kristami



s tubuly (v endokrinních steroidy produkujících buňkách)



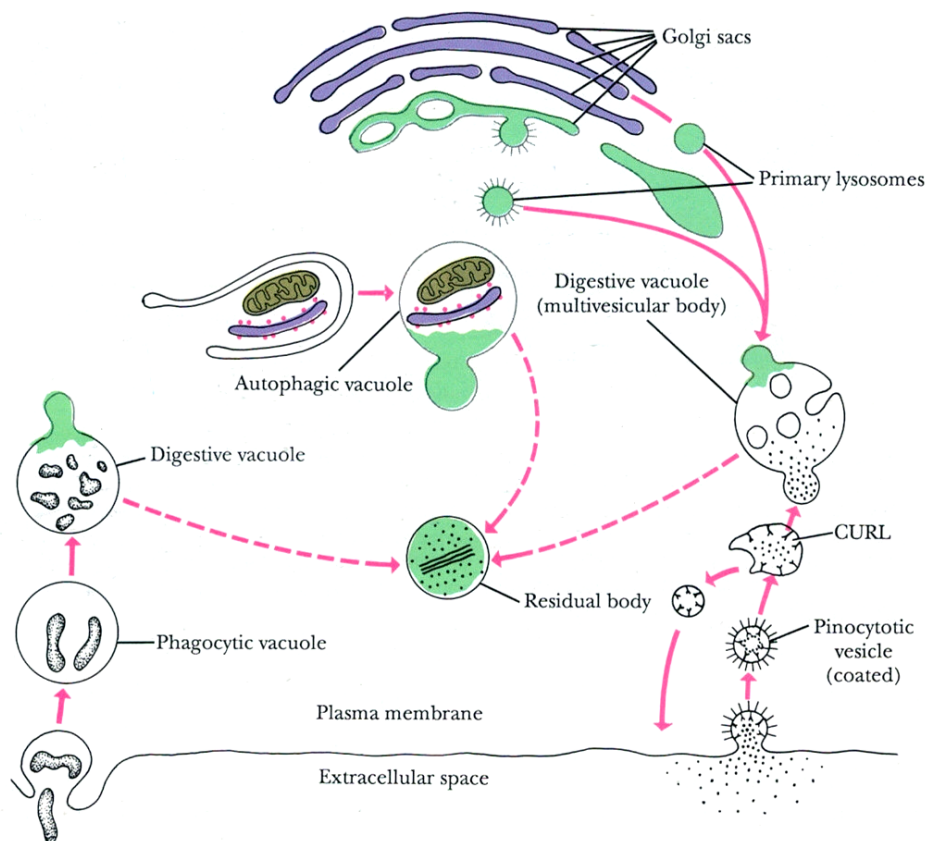
Mitochondrie 4



mitochondrie
mikrotubuly

Lyzosomy 1

endozomo-lyzosomový systém

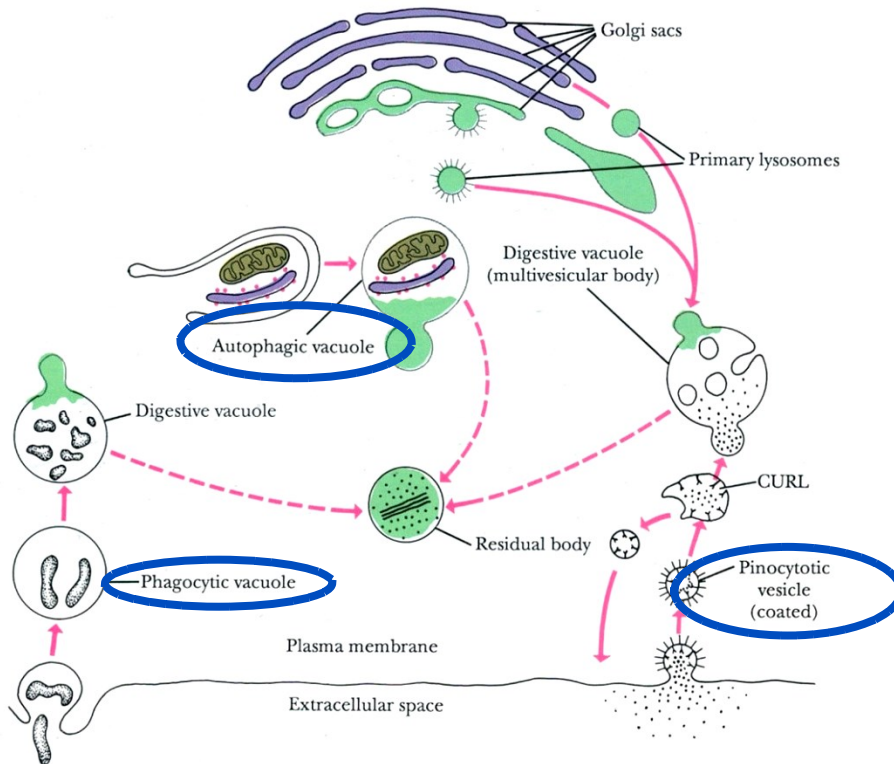


- ve všech buňkách vyjma erytrocytů
- váčky cca 0,05 – 0,5 μm
- obdány membránou
- uvnitř kyselé prostředí (cca pH 5)
- uvnitř enzymy (min. 50 typů)
- označení manózo-6-fosfátem

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

Lyzosomy 2

primární x sekundární

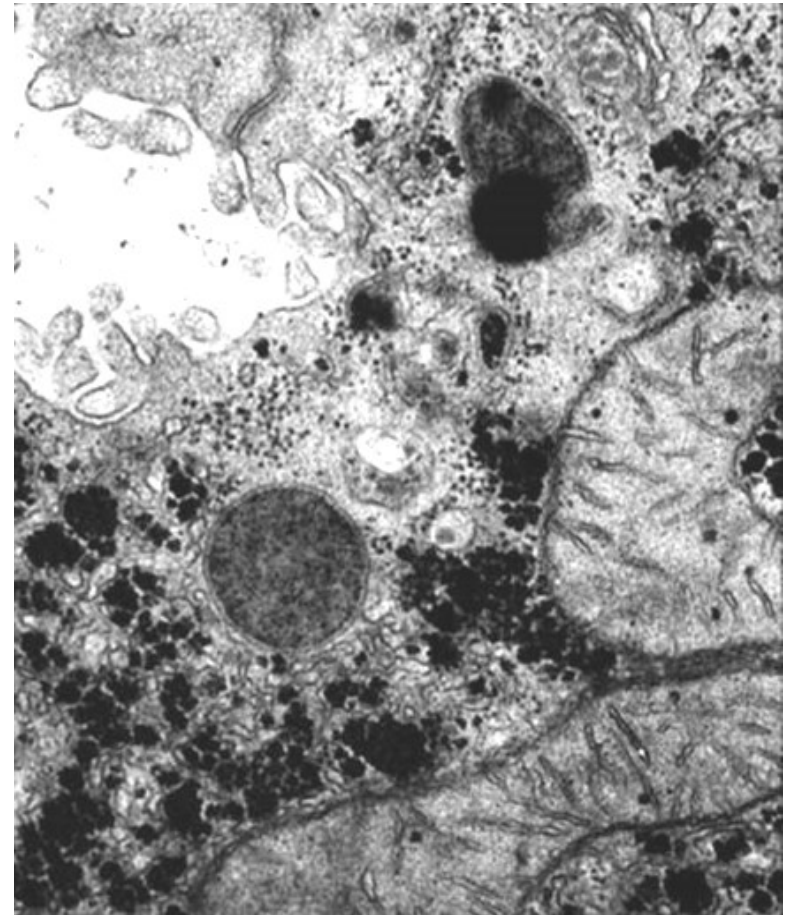
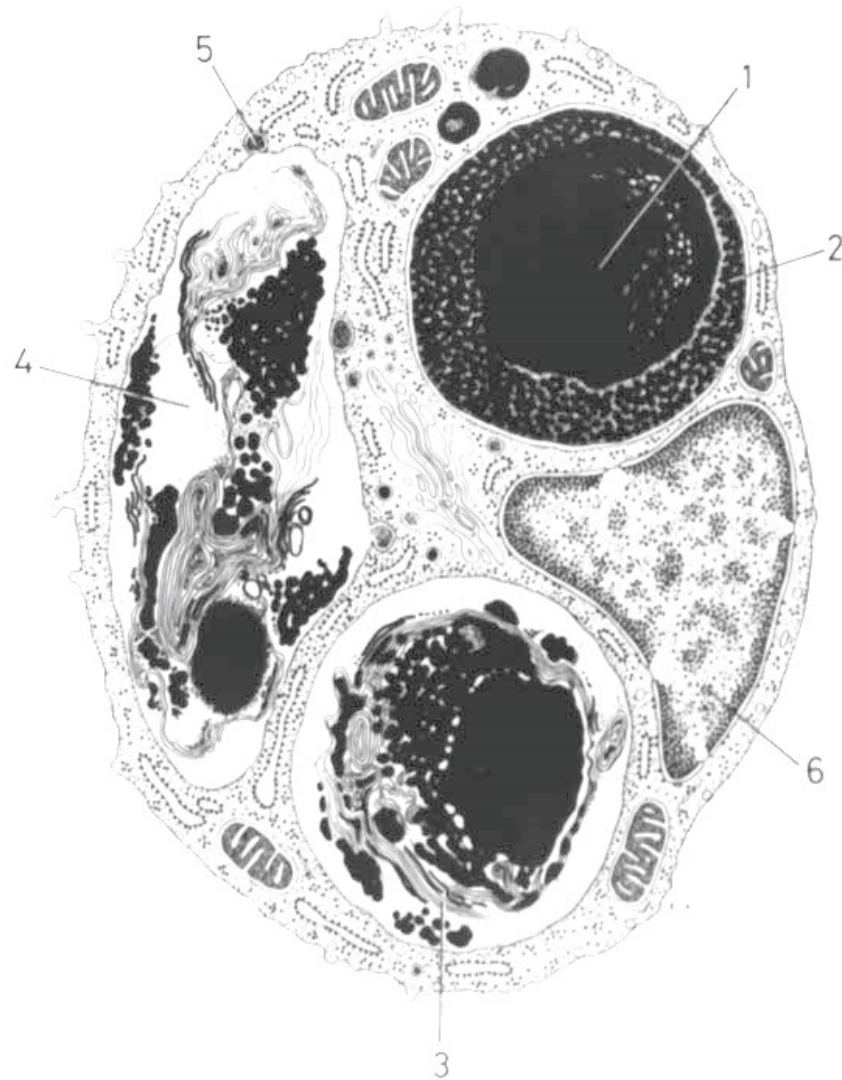


- primární
- sekundární
(fagolizosomy a autofagické vakuoly)
- reziduální tělíška (lipofuscin)

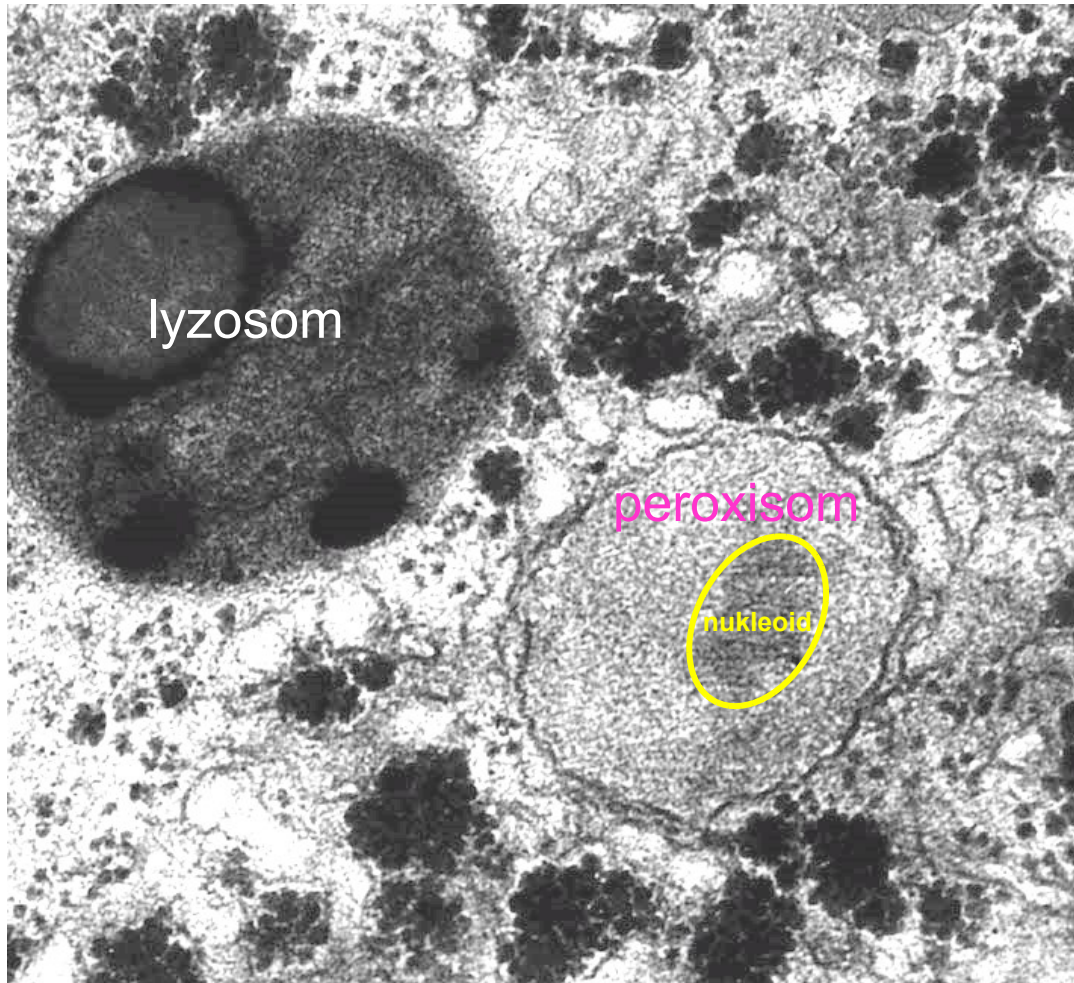
Figure 2.17. Origins of primary lysosomes from the Golgi and trans-Golgi network. Primary lysosomes fuse with and discharge hydrolytic enzymes into autophagic, pinocytotic (or endosome), and phagocytic vacuoles to form secondary lysosomes (digestive vacuoles). Residual bodies contain undigested residue.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

Lyzosomy 3

sekundární lyzosomy



Peroxisomy



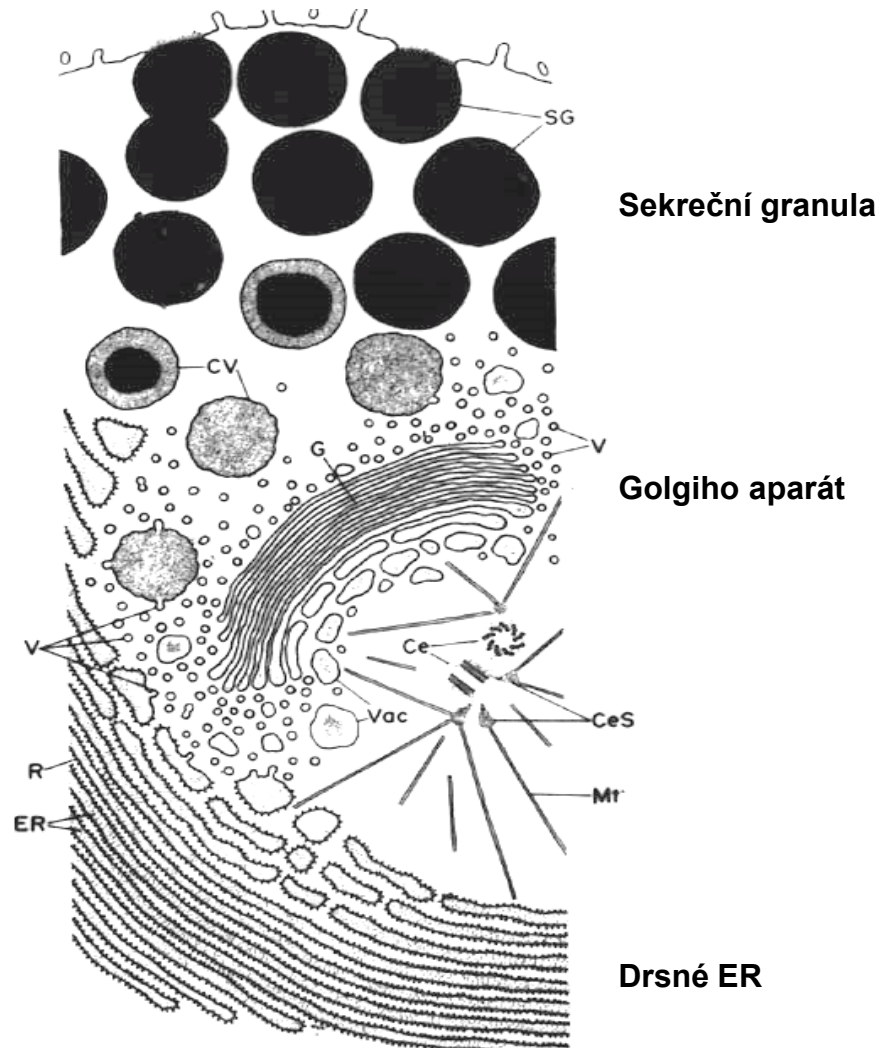
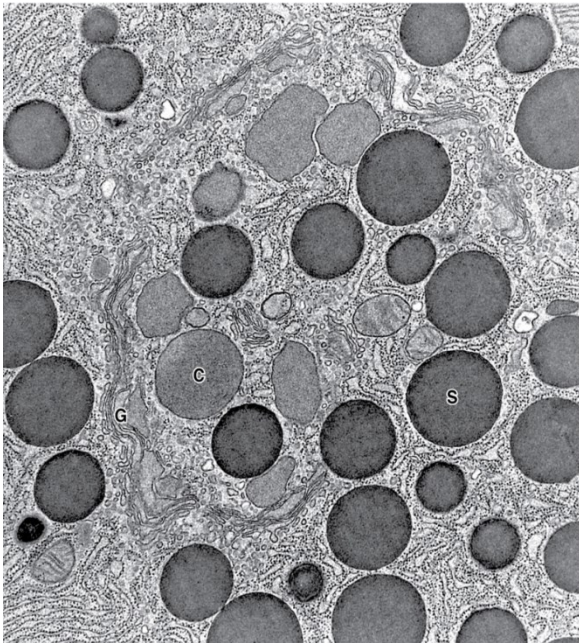
- strukturně podobné lyzozomům
- průměr cca 1 μm
- funkčně příbuzné mitochondriím
- „jádro“ = nukleoid
- odbourávání mastných kyselin (H_2O_2 , H_2O , O_2)
- detoxifikace (doplňují funkce SER)
- vznik: pučení z ER nebo dělení

Buněčné (cytoplazmatické) inkluze 1

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

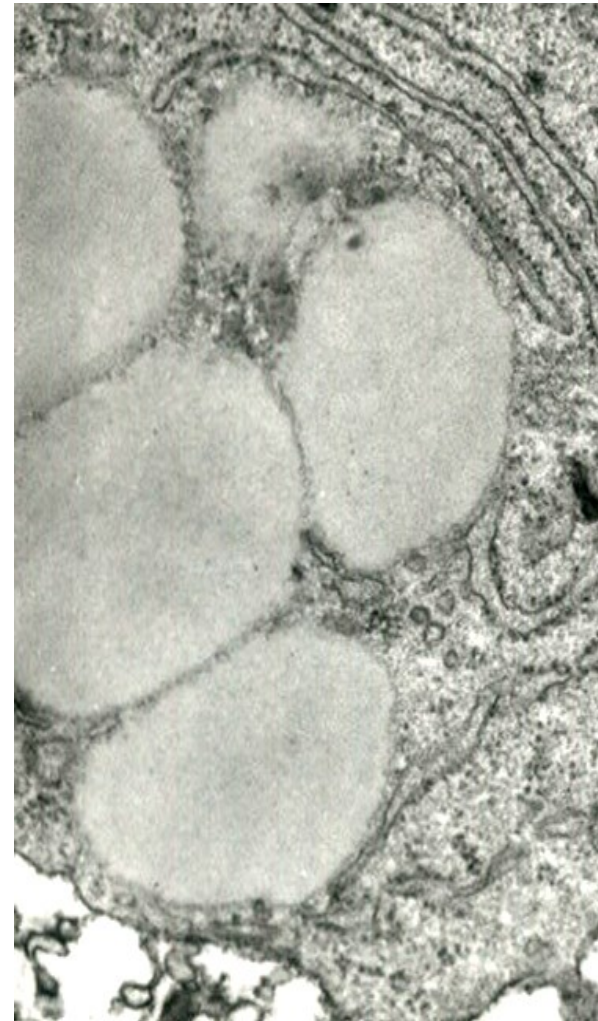
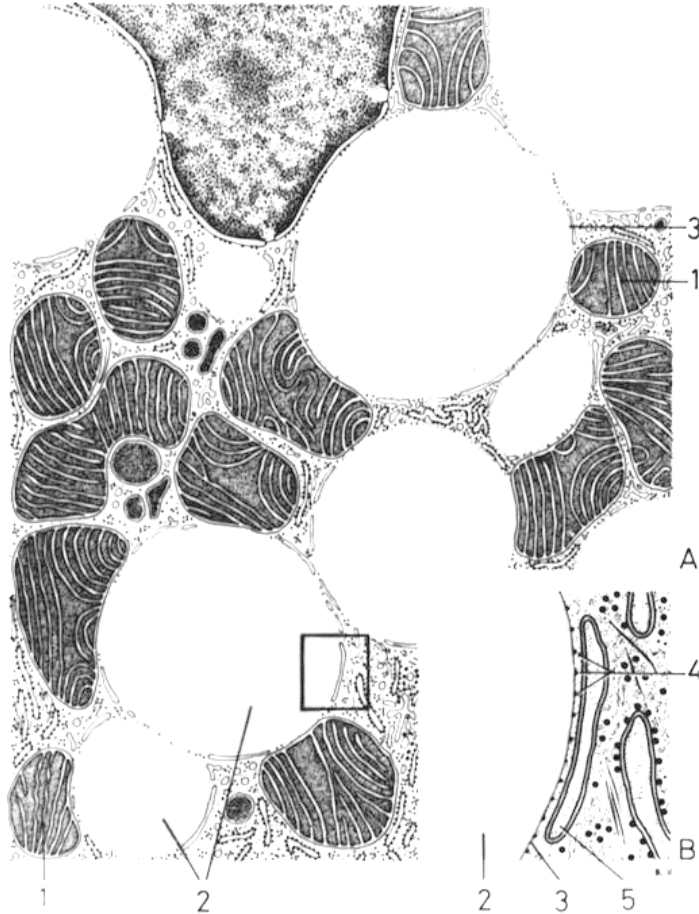
Buněčné (cytoplazmatické) inkluze 2

Sekreční granula



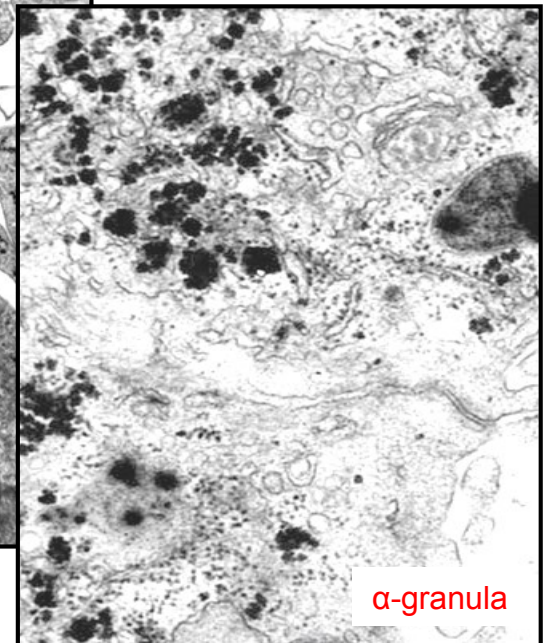
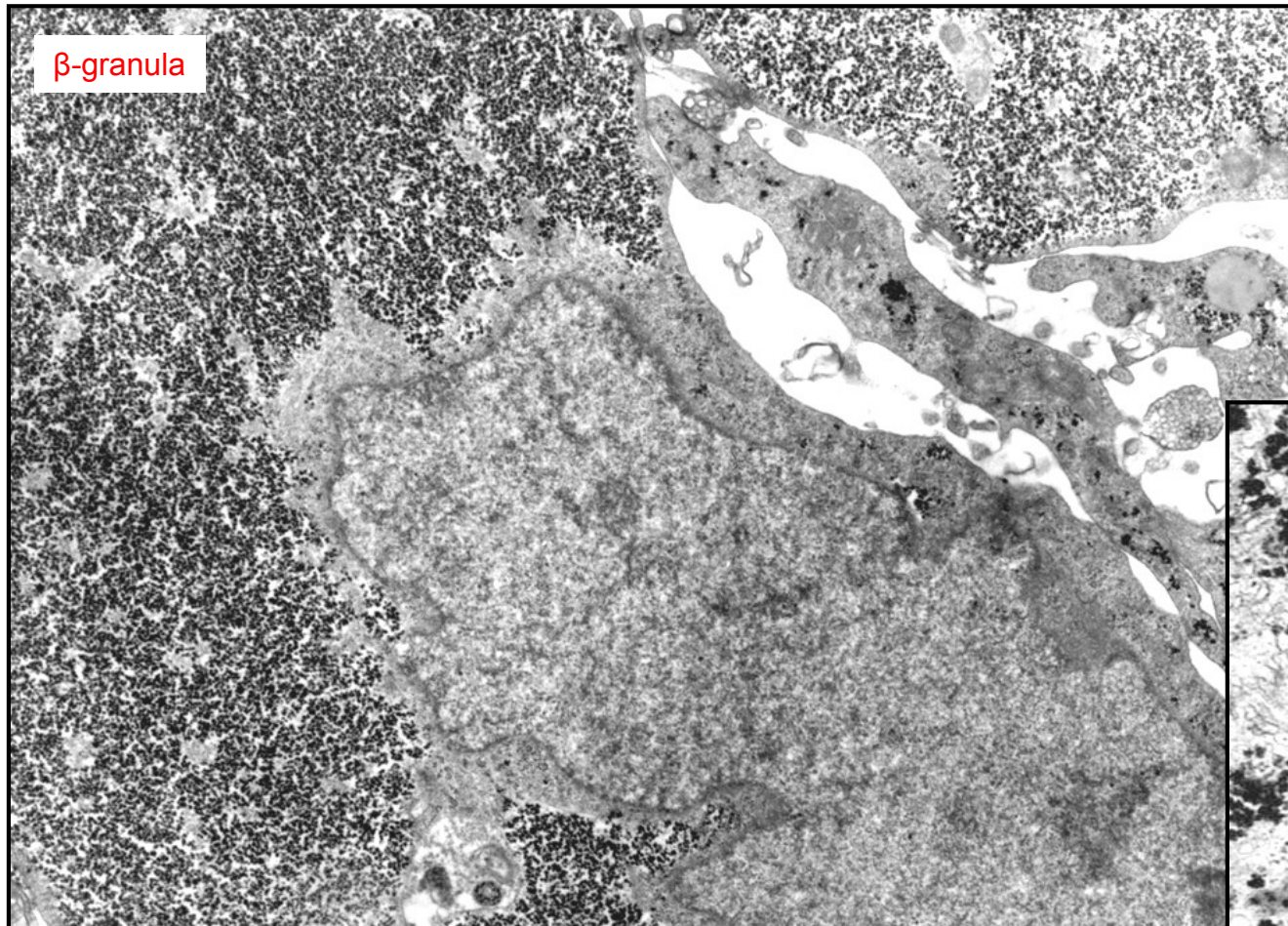
Buněčné (cytoplazmatické) inkluze 3

Lipidové inkluze



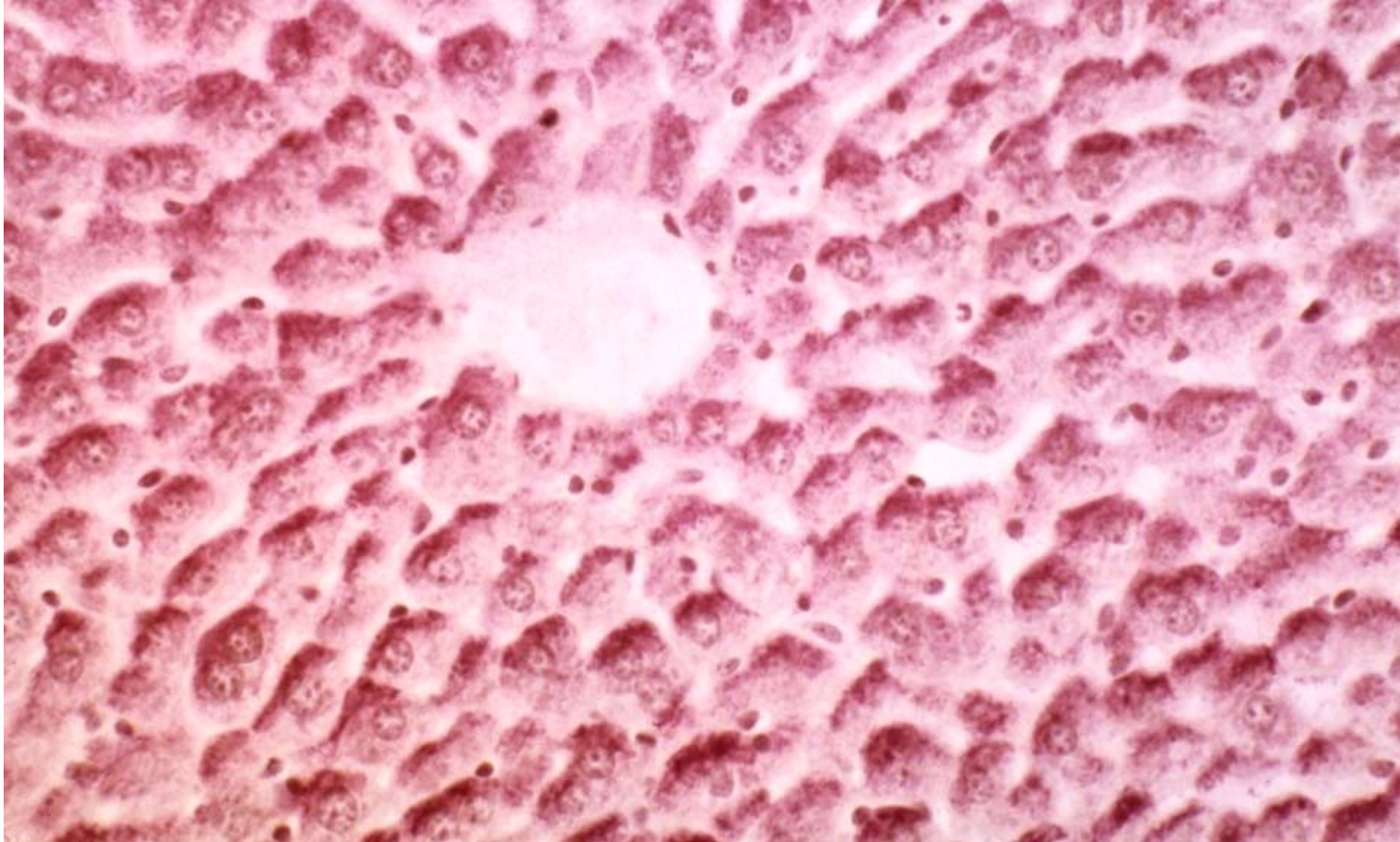
Buněčné (cytoplazmatické) inkluze 4

Glykogen



Buněčné (cytoplazmatické) inkluze 5

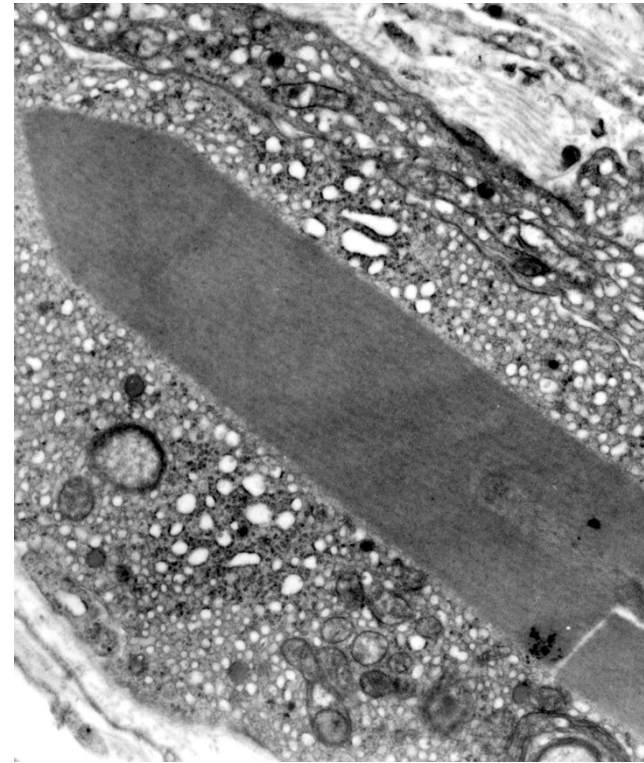
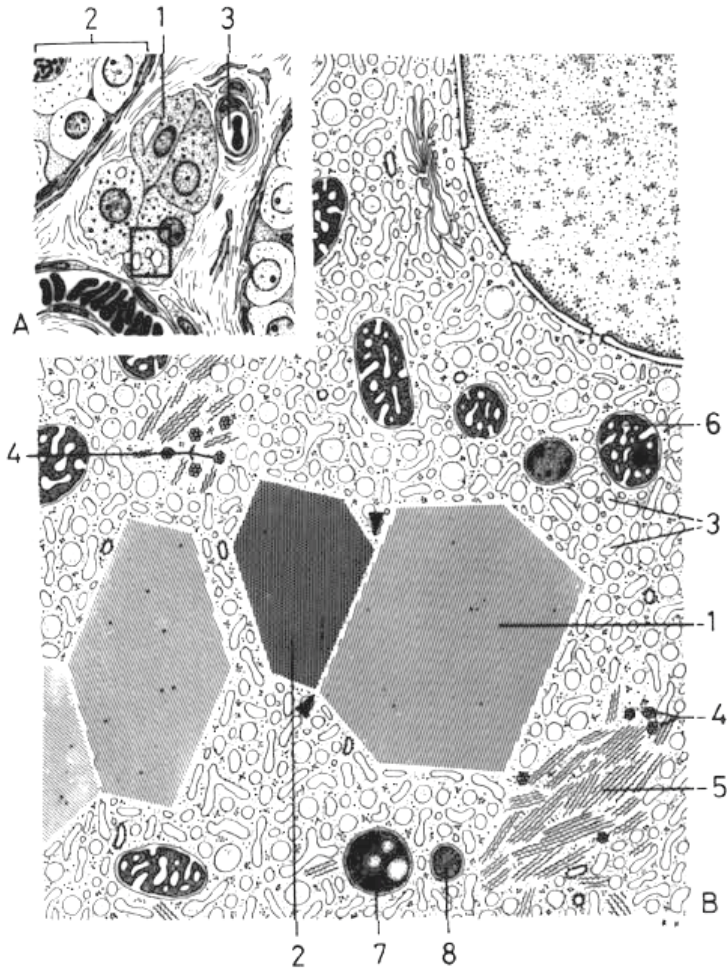
Glykogen



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

Buněčné (cytoplazmatické) inkluze 6

Krystaly



Bílkovinné inkluze v Leydigových buňkách

Buněčné (cytoplazmatické) inkluze 7

Pigmenty (barevné inkluze): Exogenní x Endogenní

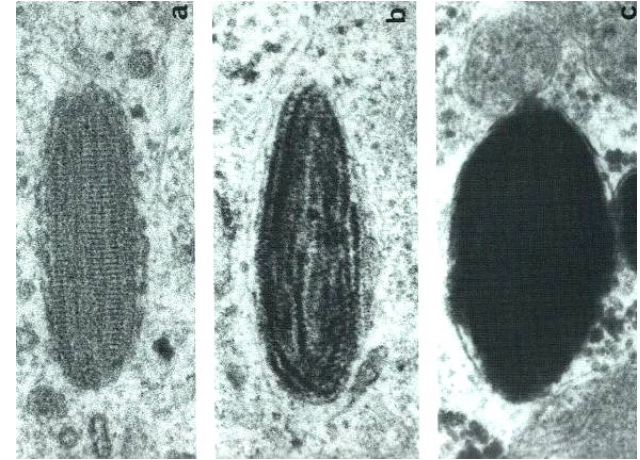
- **Autogenní**

Specifické funkce – **melanin**



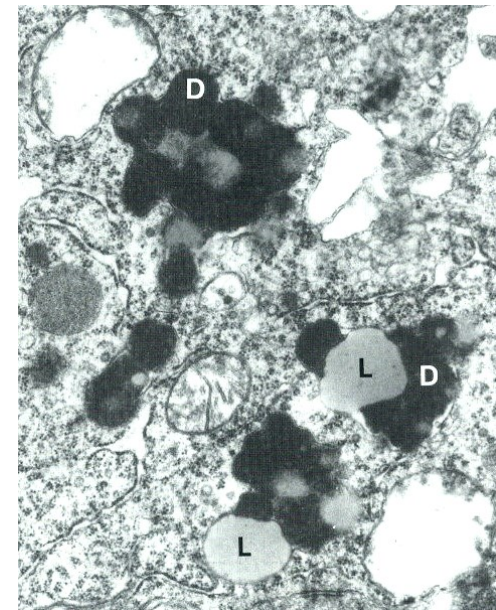
- **Hematogenní**

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

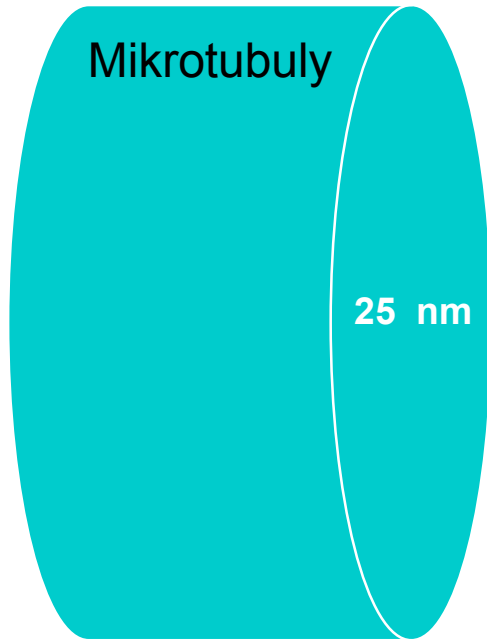


Pigment z opotřebování

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



Cytoskelet 1

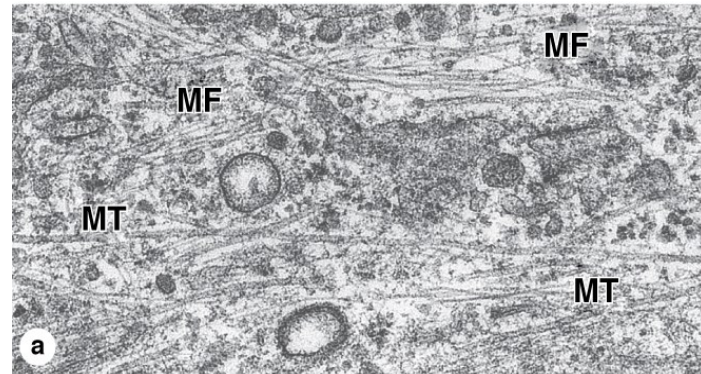


Intermediární
filamenta

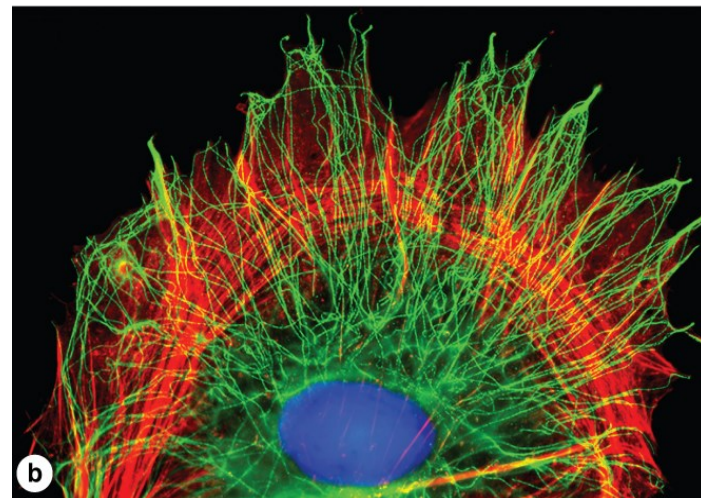
10 nm

Mikrofilamenta
(aktinová)

7 nm

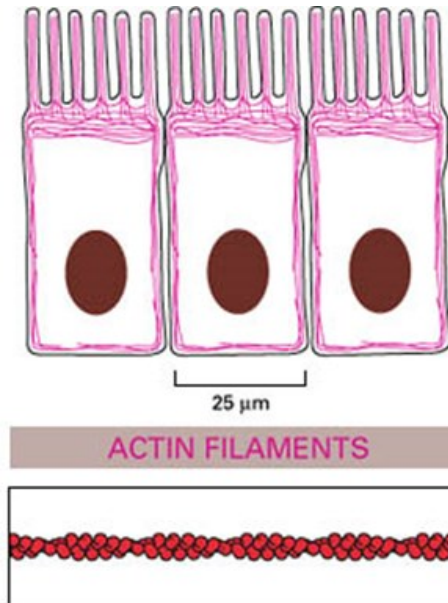
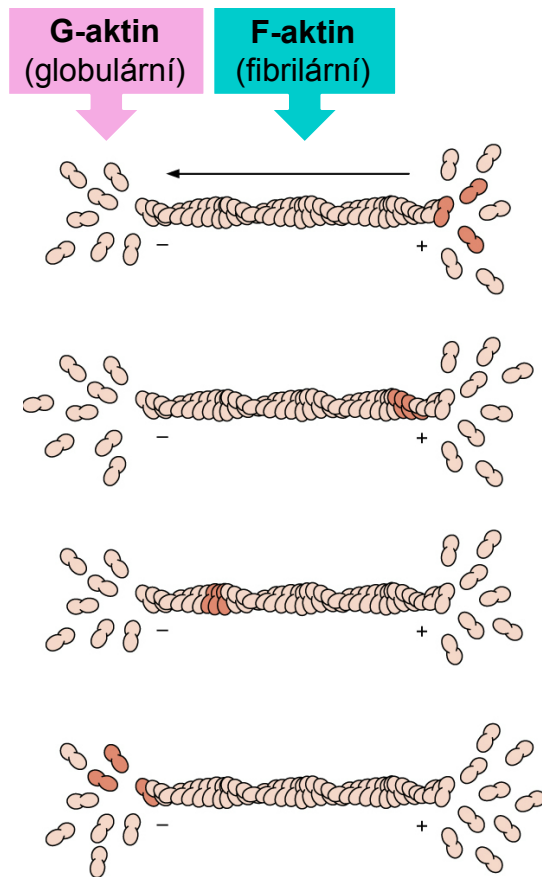


mikrotubuly
mikrofilamenta - aktin



Cytoskelet 2

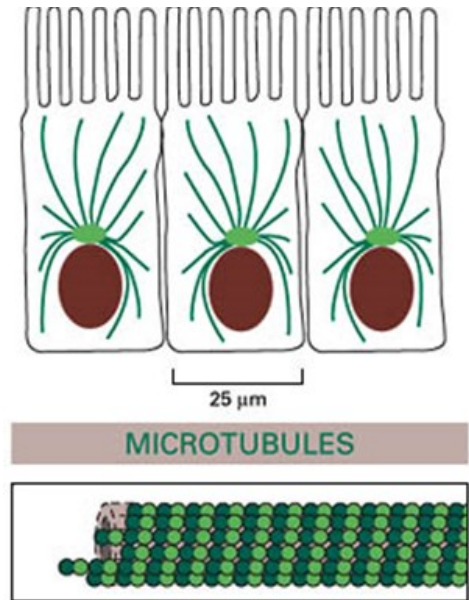
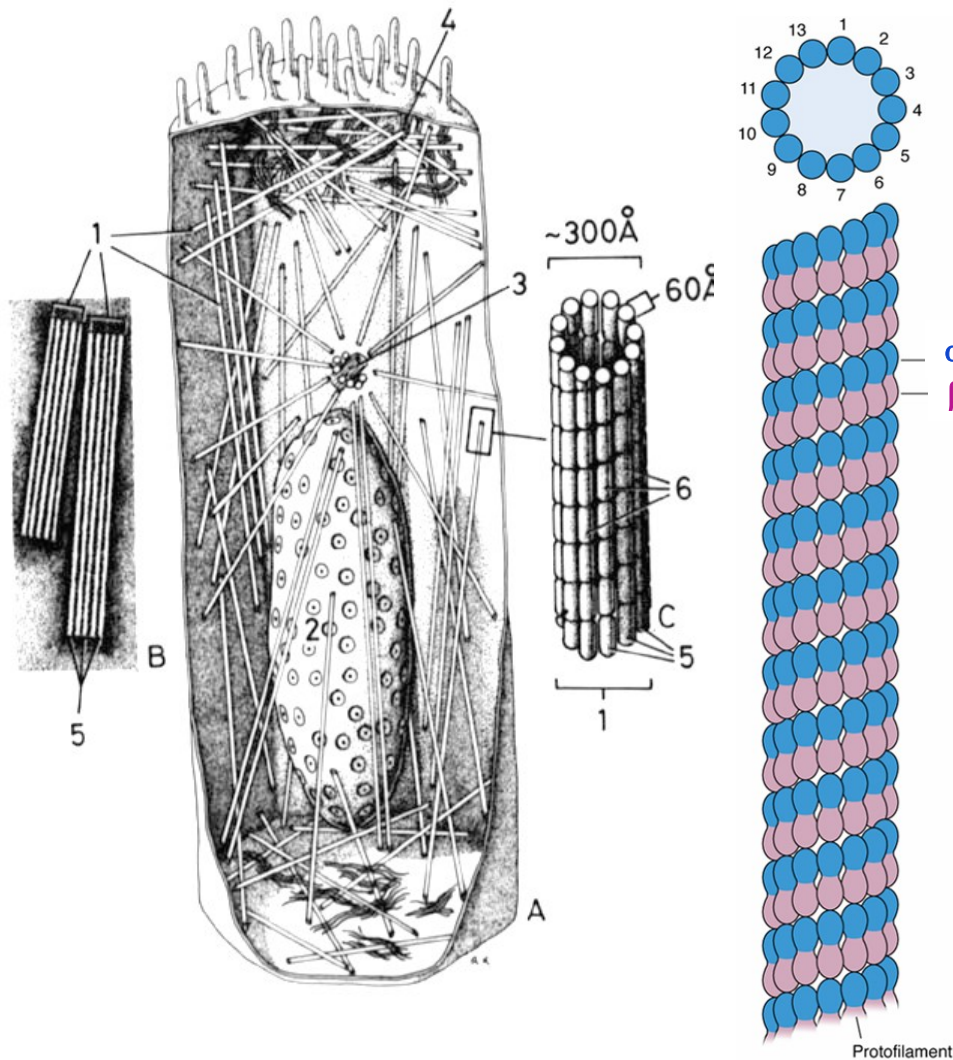
Mikrofilamenta (aktinová)



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

Cytoskelet 3

Mikrotubuly

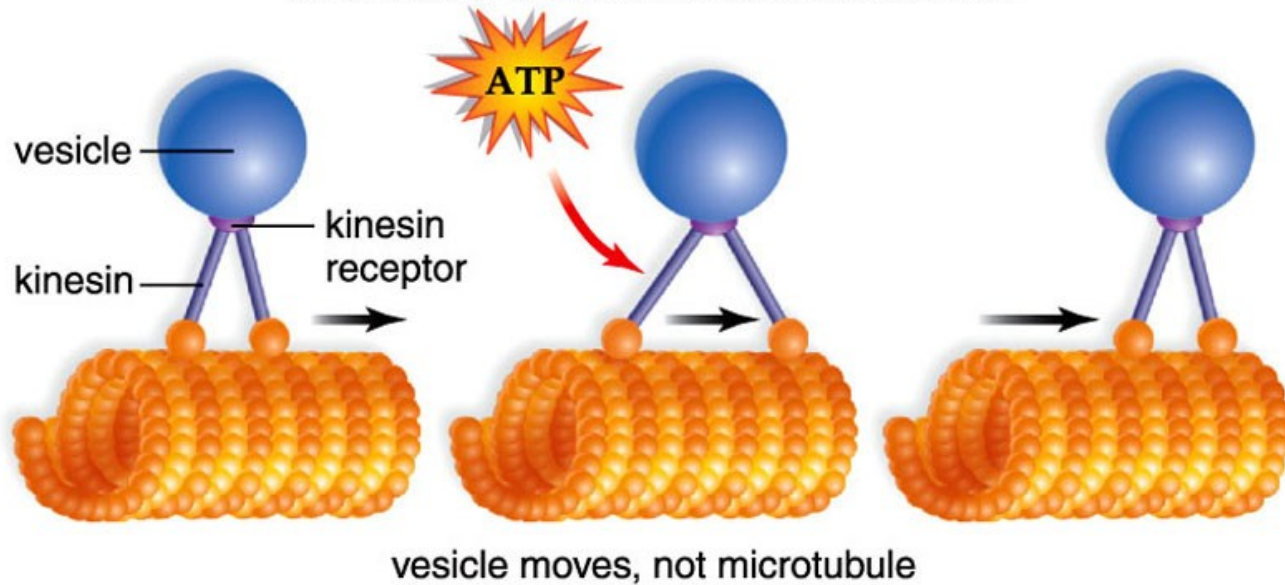


- duté válce
- α -tubulin + β -tubulin – dimery
- rychlá polymerizace a depolymerizace
- polarizace (+ a – konce)
- MAP (proteiny asociované s mikrotubuly)
- MTOC – mikrotubuly organizující centrum (centrozom; γ -tubulin)
- mechanická podpora
- transport uvnitř buňky
- dělicí vřeténko
- řasinky a bičíky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

Cytoskelet 4

Mikrotubuly - motory

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



Kinesiny

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

Dyneiny

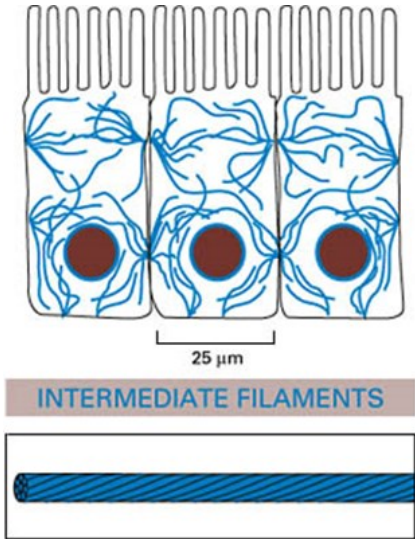
- pohyb k „mínus“ konci mikrotubulů
- transport směrem **k** centrozomu
- transport axonem na dlouhé vzdálenosti

Cytoskelet 5

Intermediární filamenta



Cytokeratinová intermediární filamenta ve stratum basale epidermis



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

Cytokeratin (epitely)

Vimentin (buňky mezenchymového původu)

Desmin (svalové buňky)

Neurofilamenta (neurony)

Gliový fibrilární kyselý protein (neuroglie)

Laminy (jaderný obal)

Buněčné povrchy 1

volný povrch

Volný

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

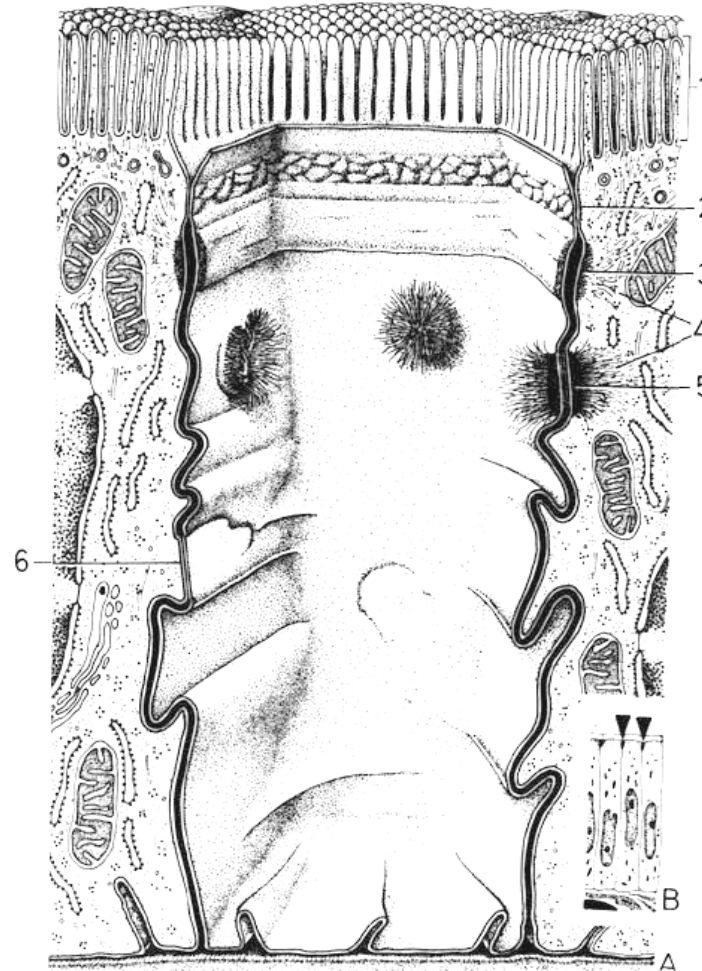
Laterální

mezibuněčná spojení:

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

Bazální

- bazální labyrint
- hemidezmosomy

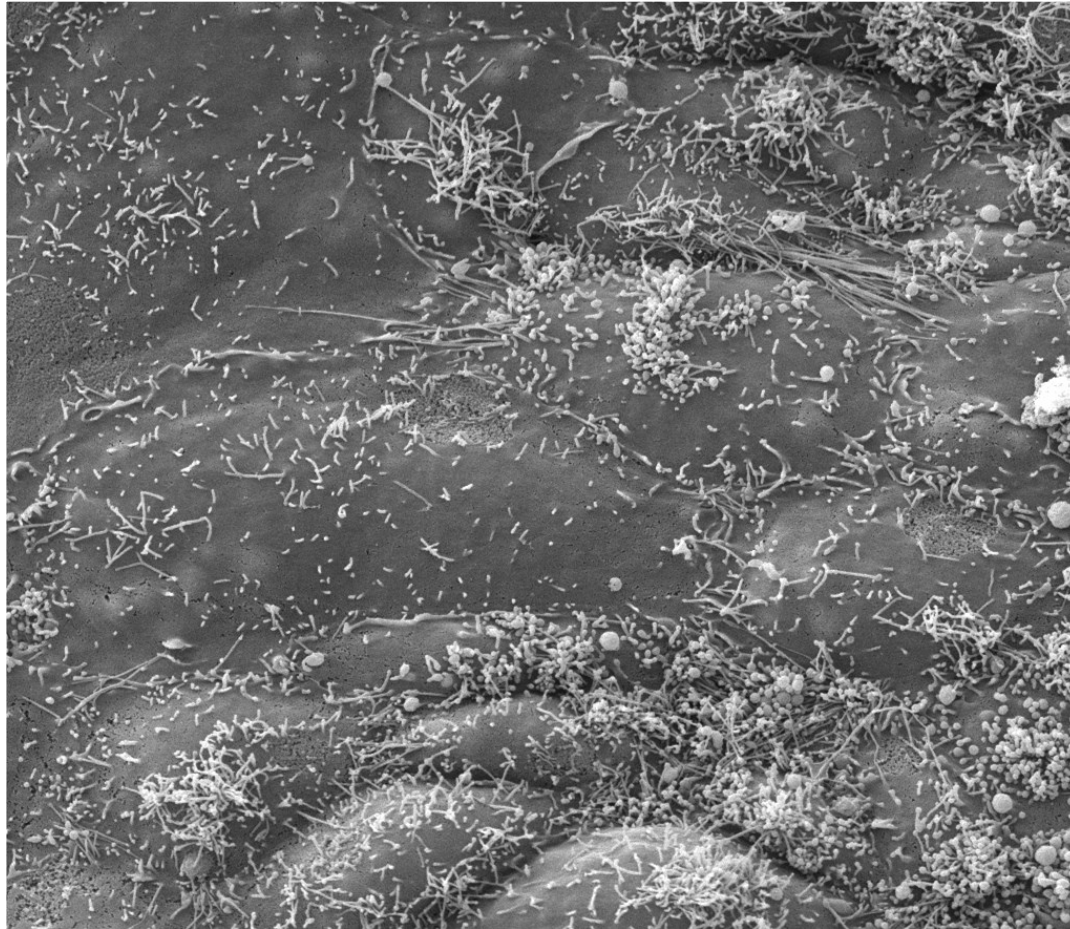


laterální povrch

bazální povrch

Buněčné povrchy 2

Mikroklky



Volný povrch lidských embryonálních kmenových buněk rostoucích v in vitro kultuře

Buněčné povrchy 3

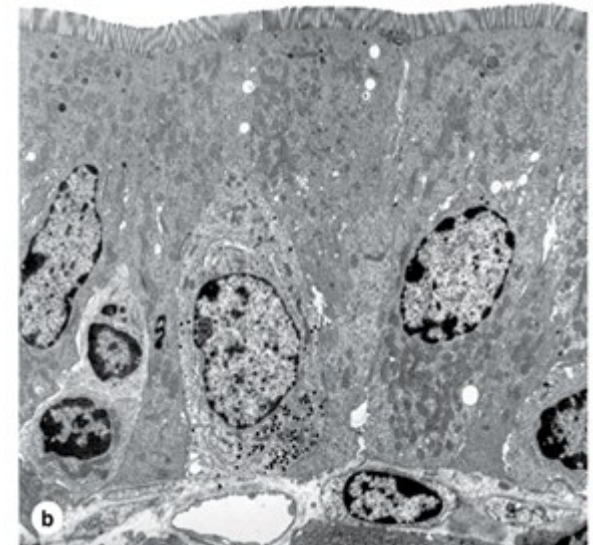
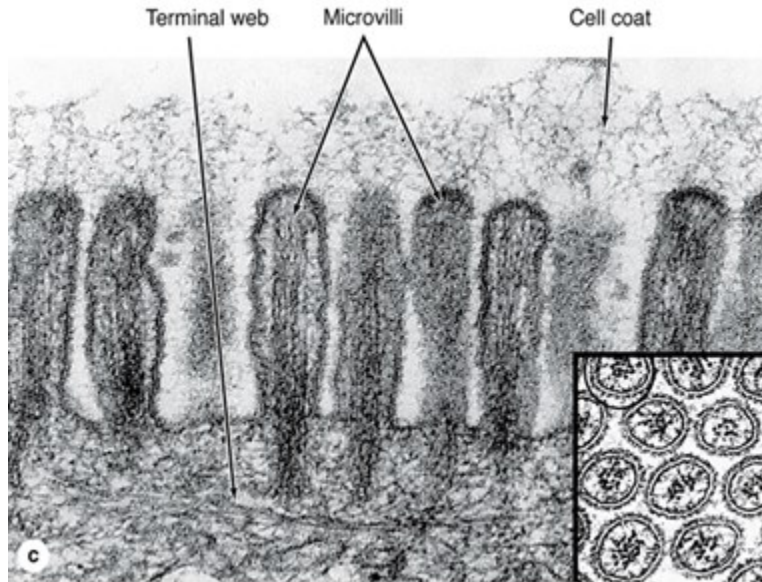
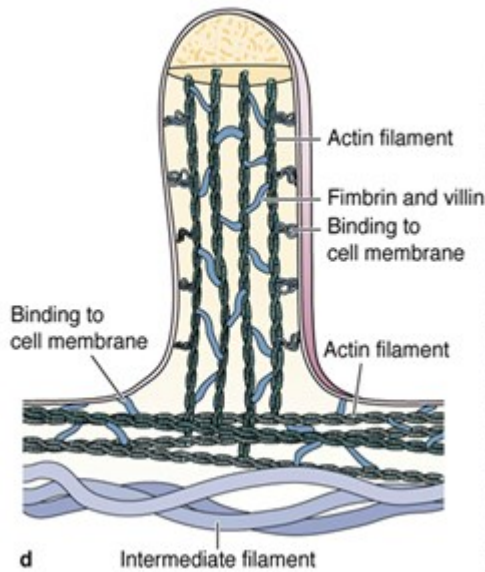
Mikroklky (microvilli)

Tloušťka cca 0,1 μm
Délka 1-6 μm

Pravidelně uspořádané mikroklky
= žíhaná kutikula = kartáčový lem

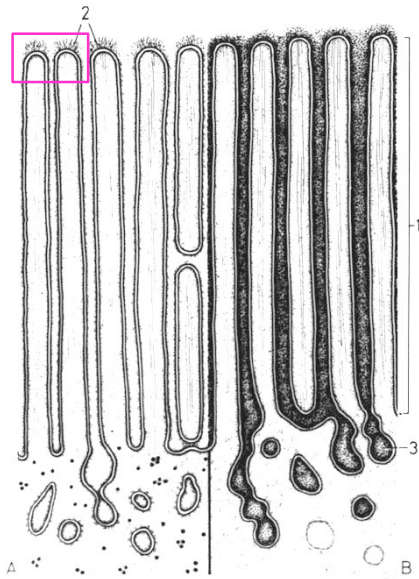
Aktinová filamenta v mikroklcích

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

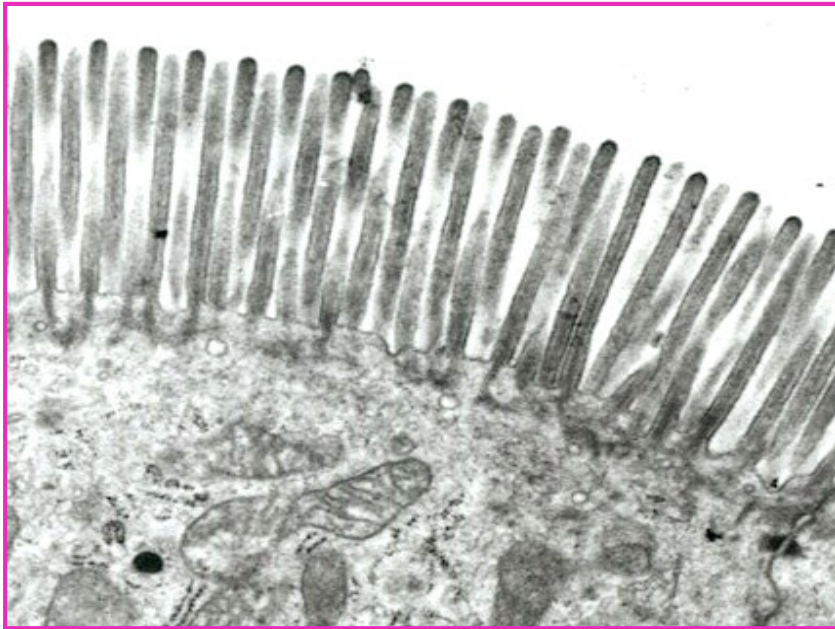


Buněčné povrchy 4

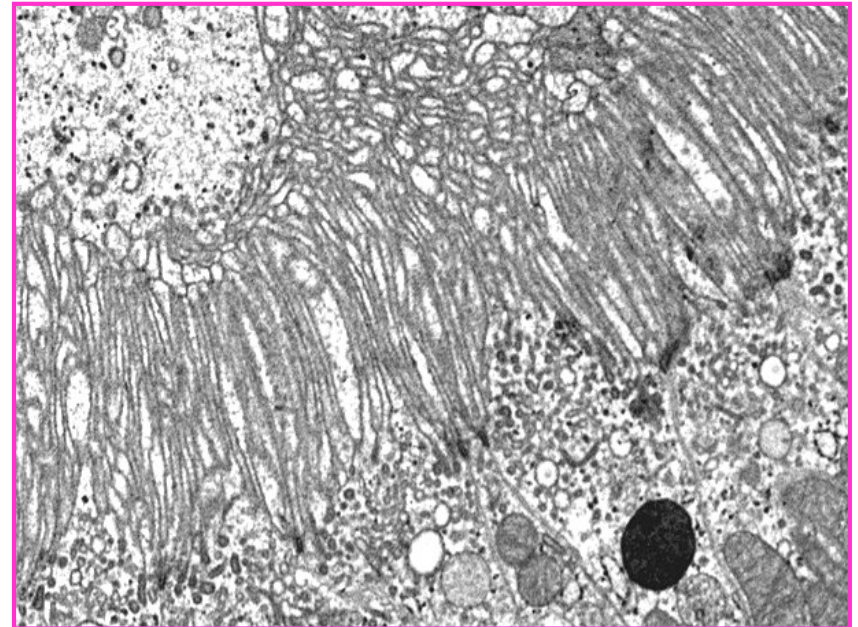
Mikroklky (microvilli)



Gluten - Celiakie



žíhaná kutikula
(apex enterocytů)

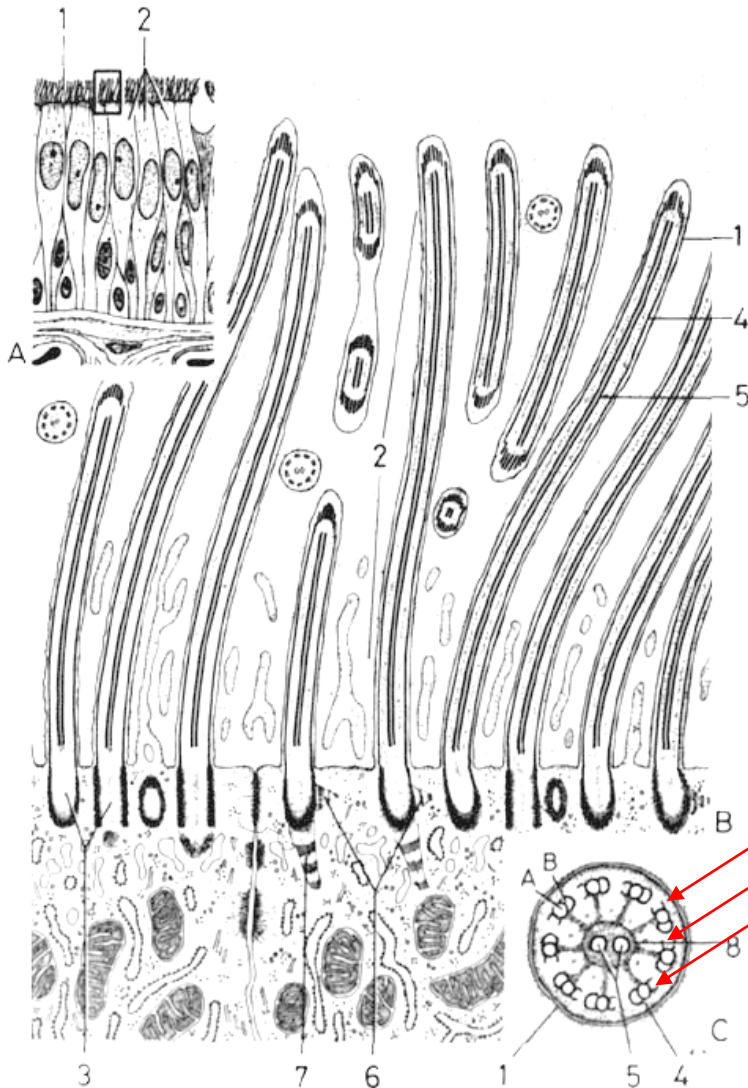


kartáčový lem
(proximální kanálky ledviny)

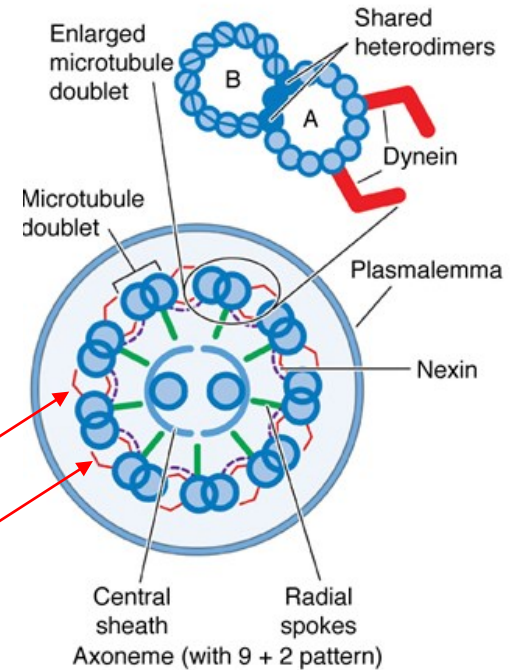
Buněčné povrchy 5

Cilie = Řasinky + Flagella = Bičíky

Tloušťka cca 0,25 μm
Délka 7-10 μm



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



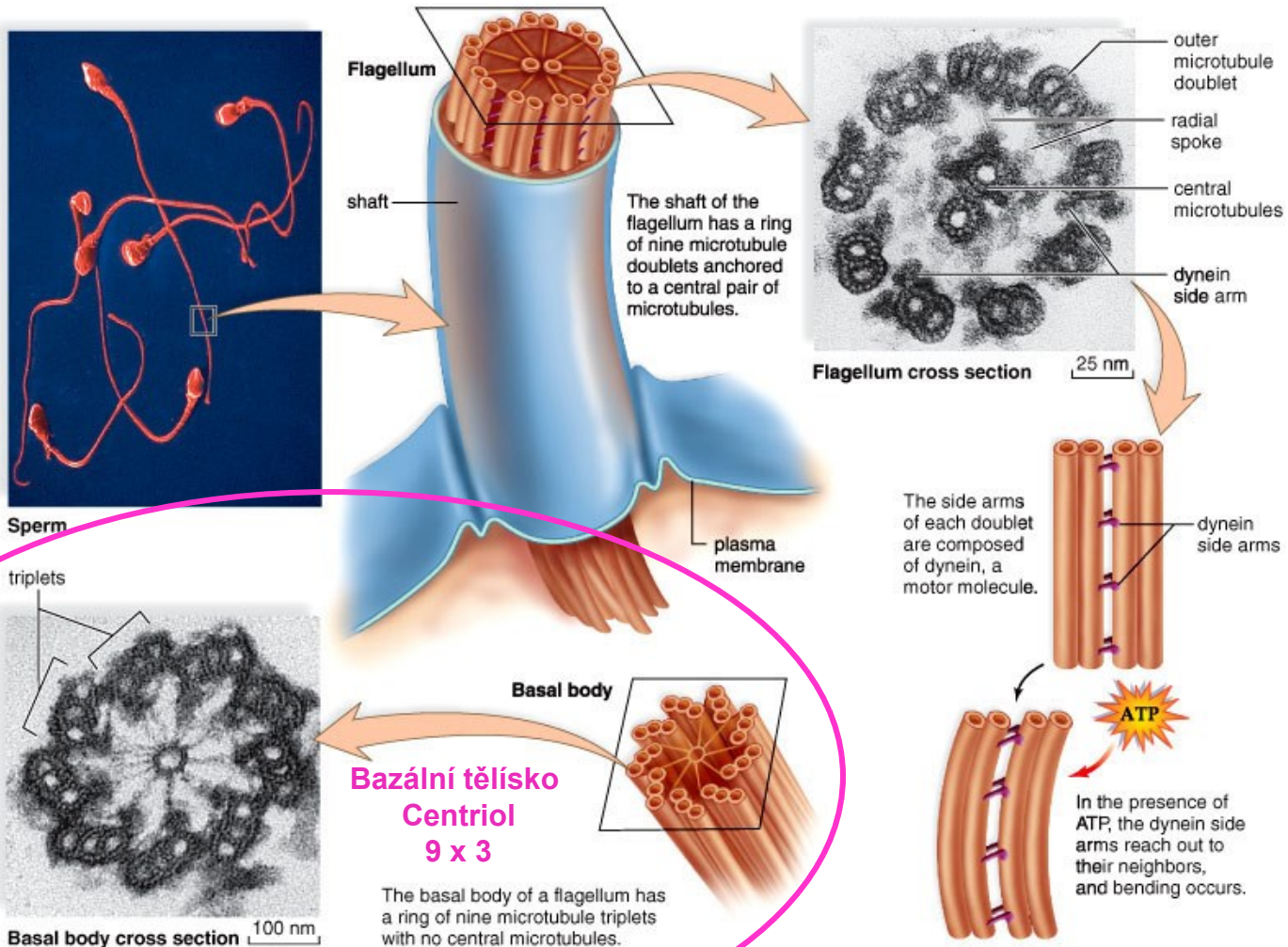
Dyneinová raménka
(pohyb)

b Cilium

Buněčné povrchy 6

Cilie = Řasinky + Flagella = Bičíky

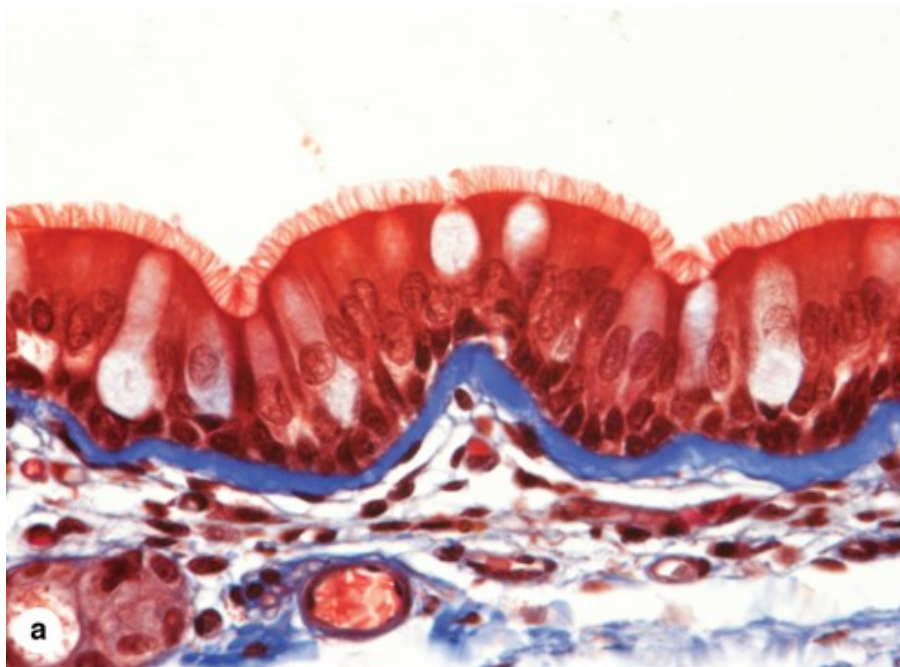
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



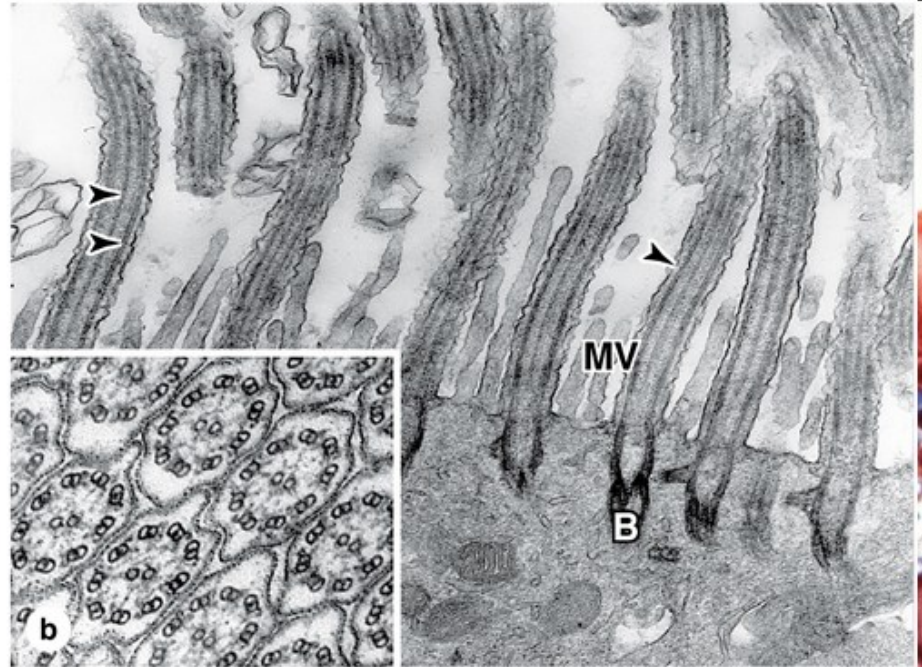
Buněčné povrchy 7

Cilie = Řasinky + Flagella = Bičíky

ve světelném mikroskopu



v elektronovém mikroskopu

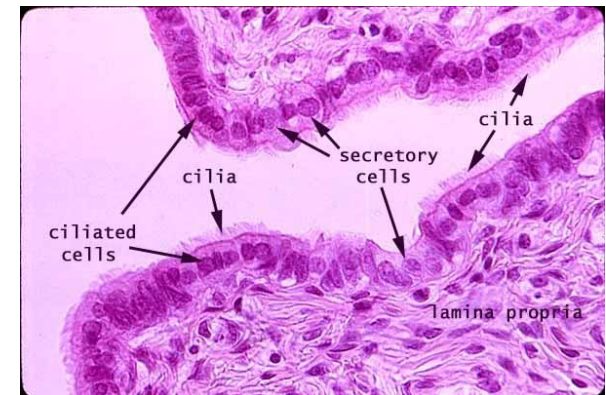


Buněčné povrchy 8

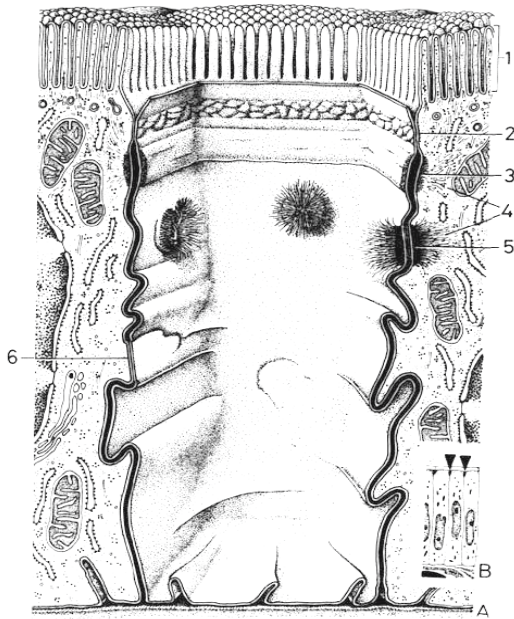
Kinocilie = Řasinky



vejcovod

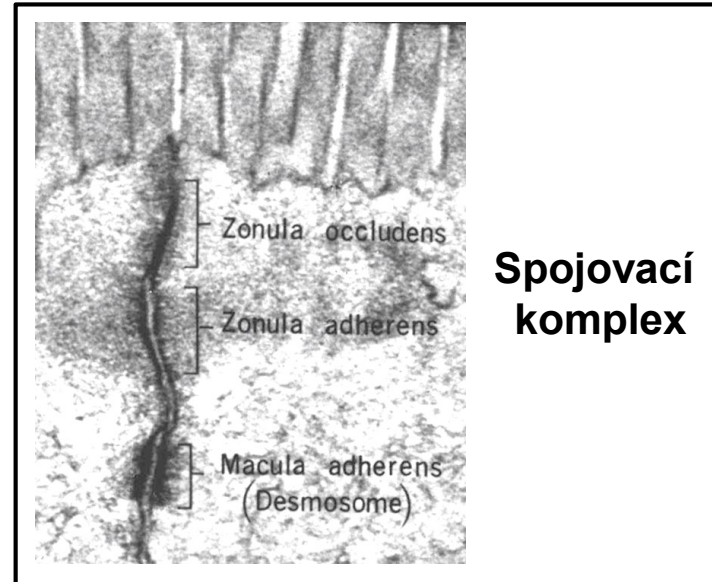


Mezibuněčné spoje 1



laterální povrch

bazální povrch



Adhezní

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

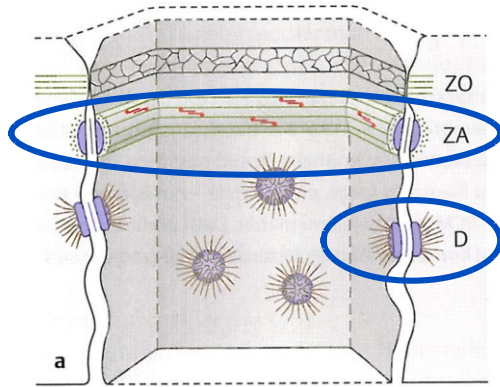
Těsnící

- Zonula occludens (bariérový spoj, tight junction)

Komunikační

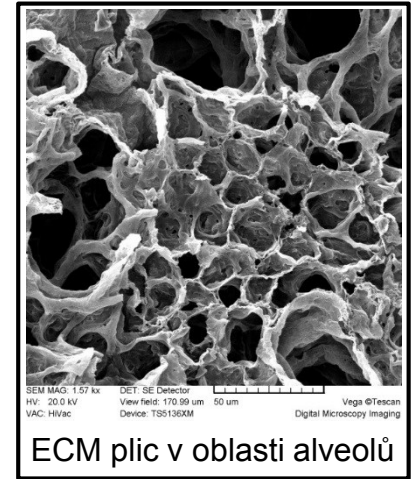
- Gap junction (nexus)

Mezibuněčné spoje 2

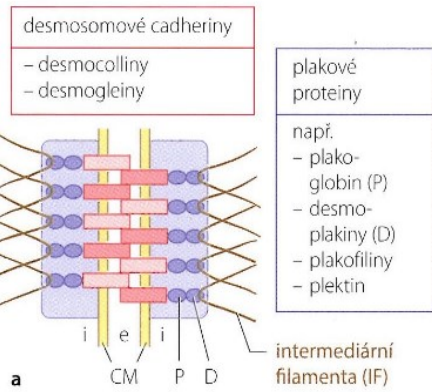


Adhezní

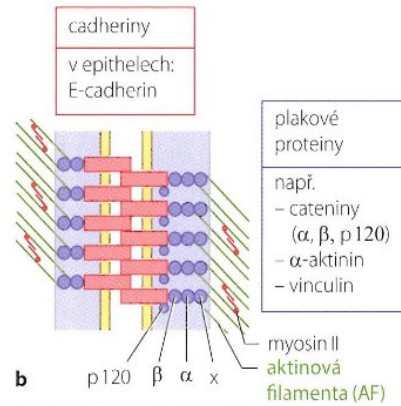
- Macula adherens (desmosom)
- Zonula adherens
- Hemidesmosom
- Fokální kontakt



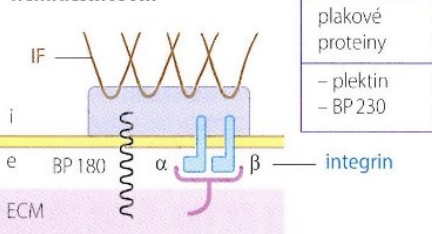
desmosom



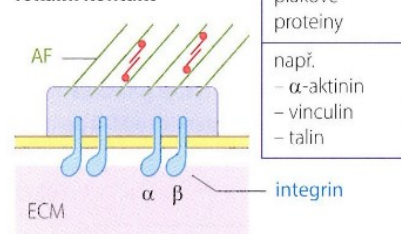
zonula adhaerens



hemidesmosom



fokální kontakt

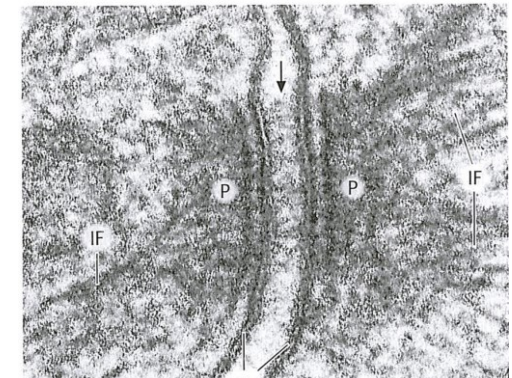


buňka-buňka

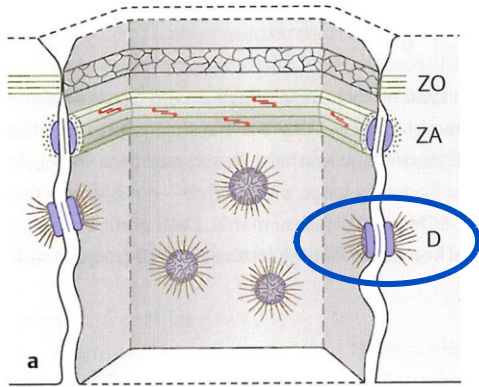
buňka-ECM

Jednotná stavba

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



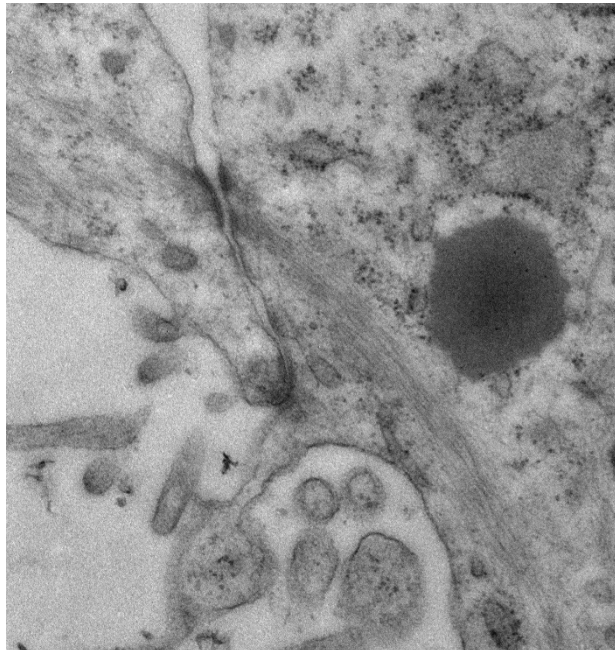
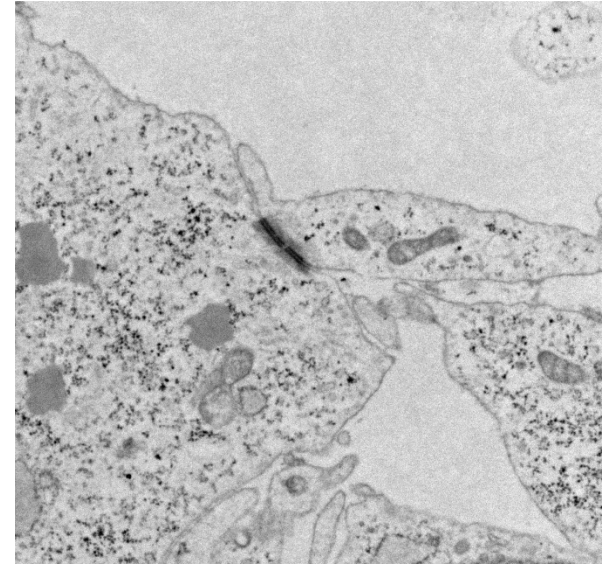
Mezibuněčné spoje 3



Adhezní

- **Macula adherens (desmosom)**

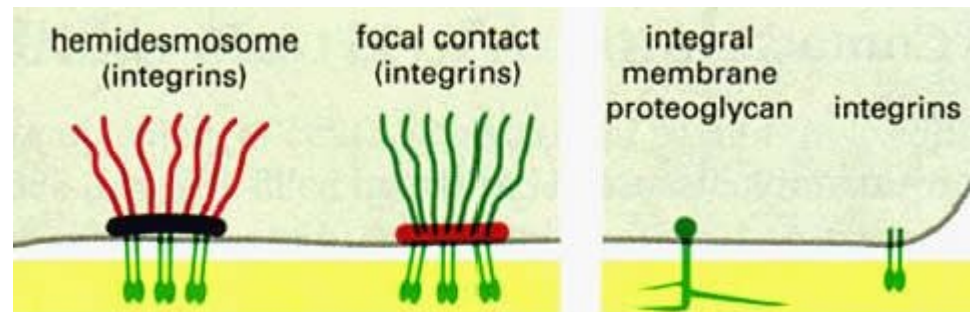
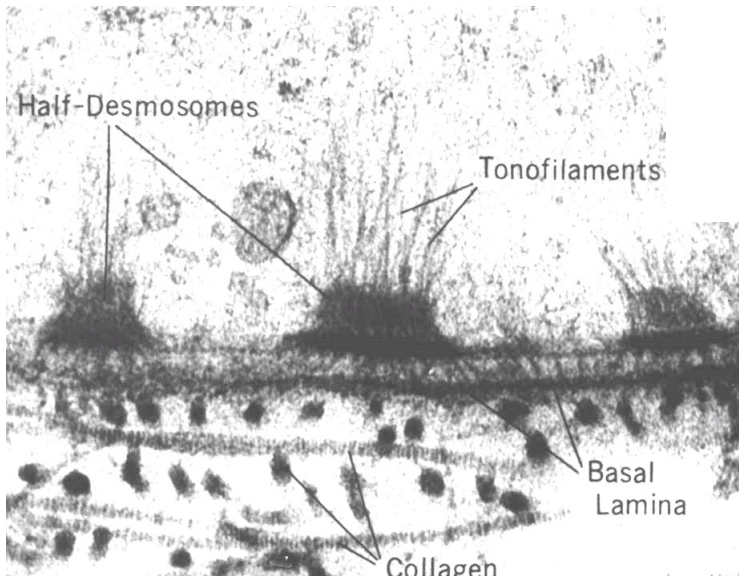
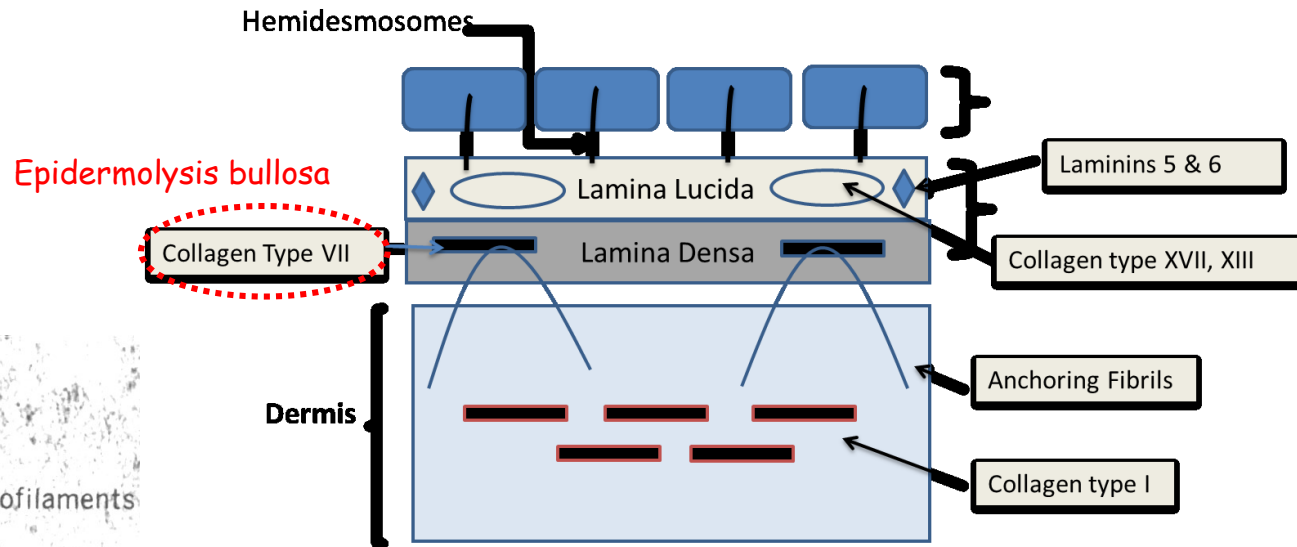
Průměr cca 0,3 μm
Mezera mezi membránami cca 20-40 nm



Mezibuněčné spoje 4

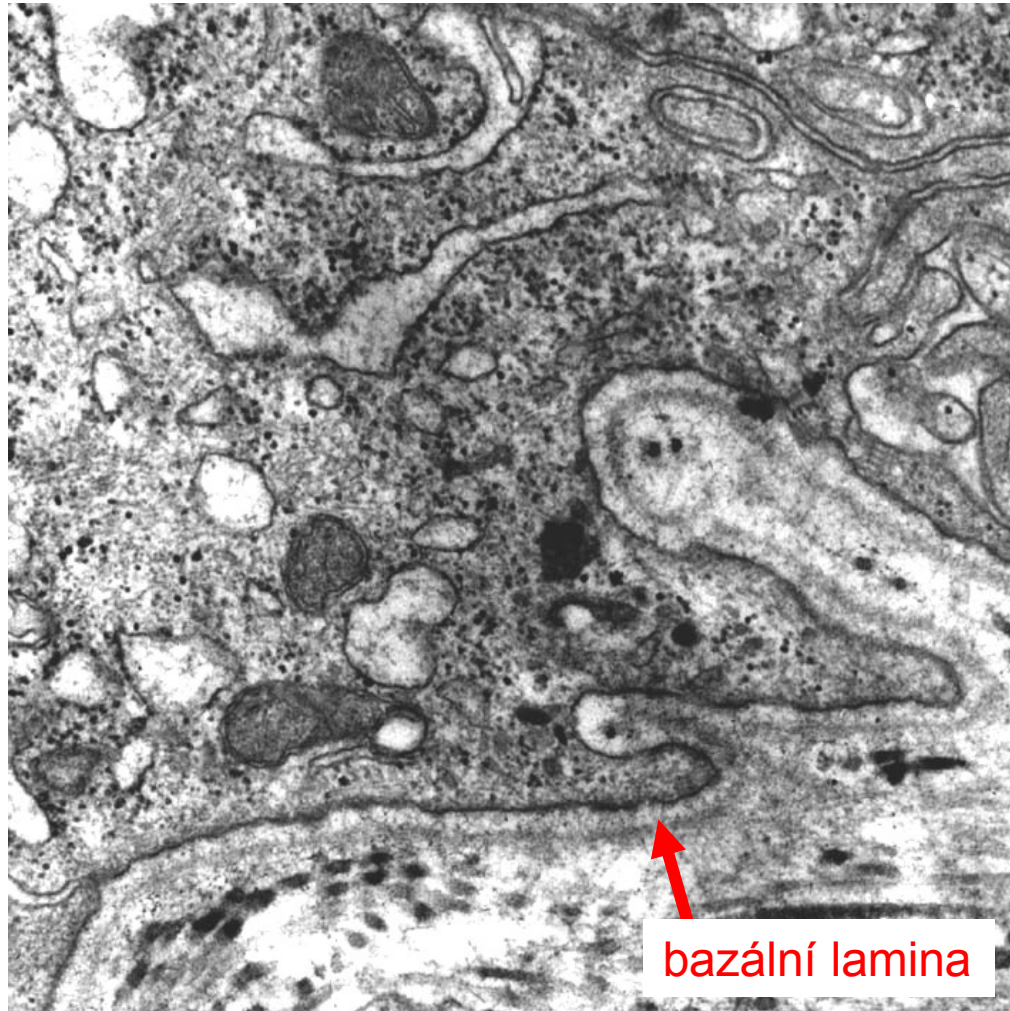
Adhezní

- Hemidesmosom
- Focal adhesion



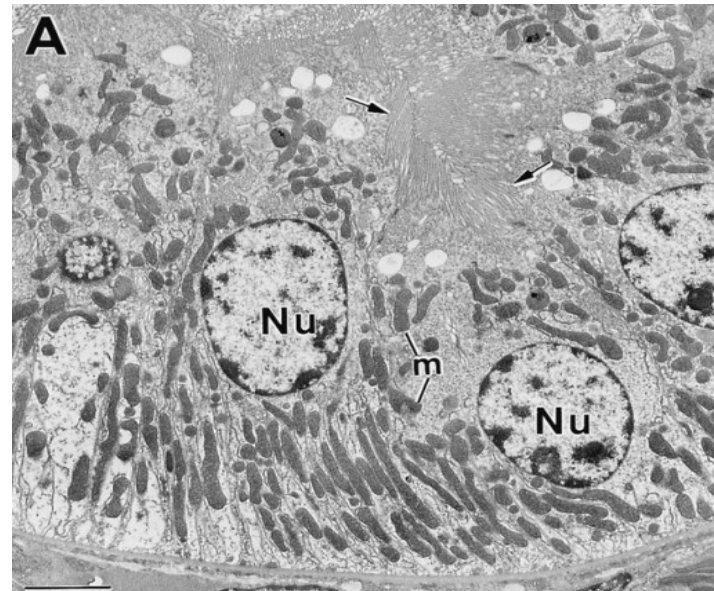
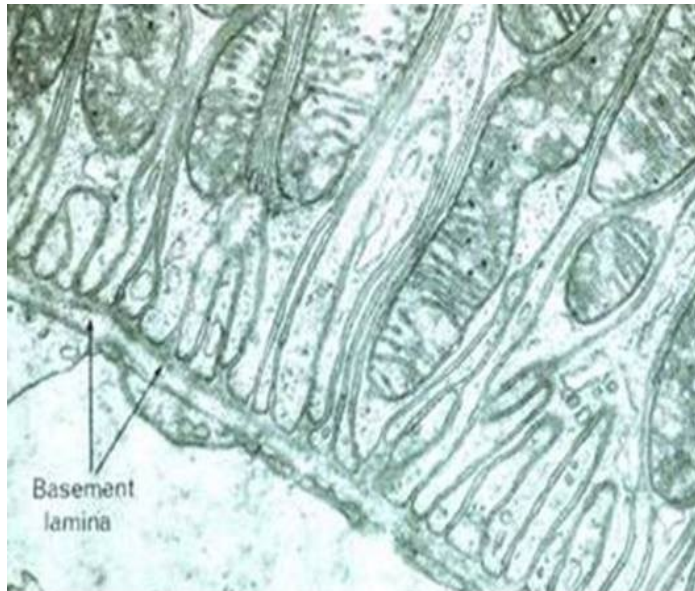
Mezibuněčné spoje 5

- Fokální adheze

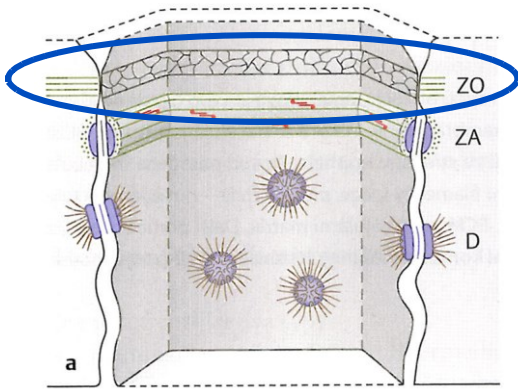


Mezibuněčné spoje 6

Bazální labyrint



Mezibuněčné spoje 7

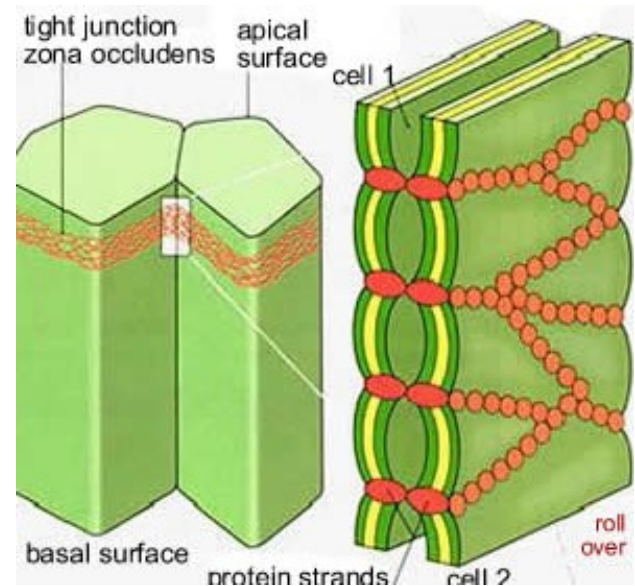
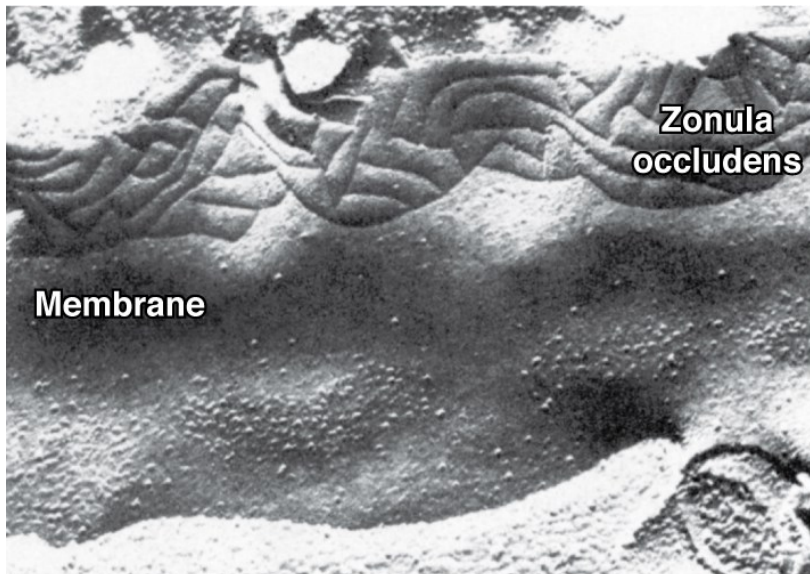
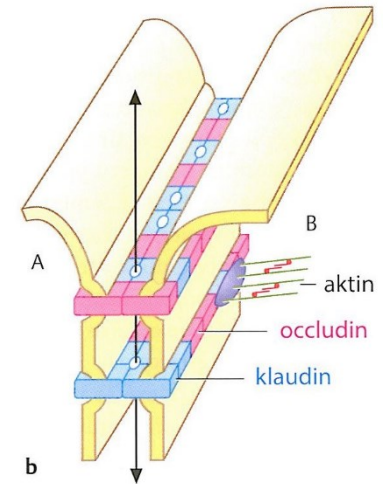


Těsnící

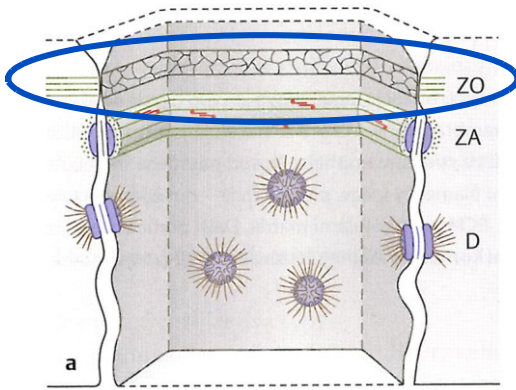
- **Zonula occludens** (bariérový spoj, tight junction)

Poškození:

Clostridium perfringens
Helicobacter pylori (ZO-1)

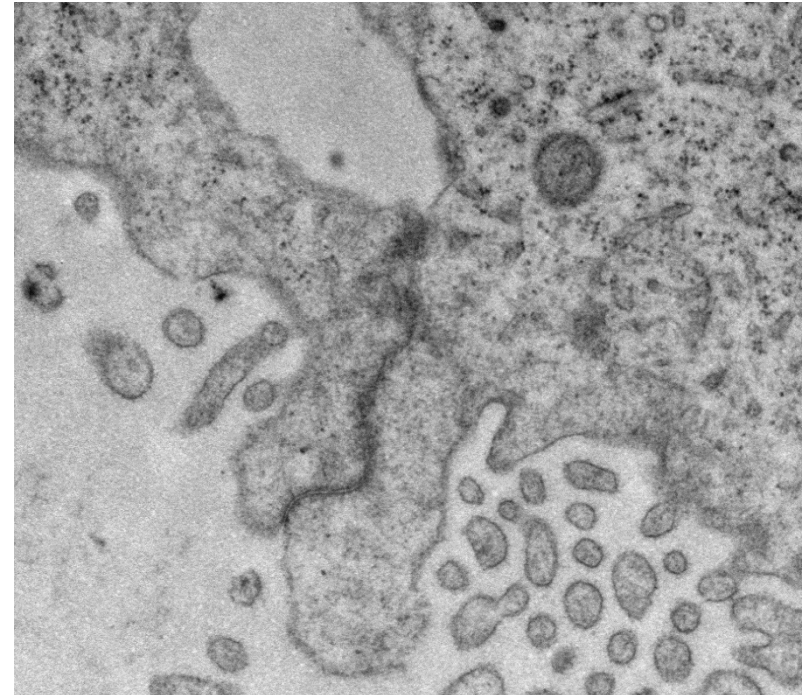
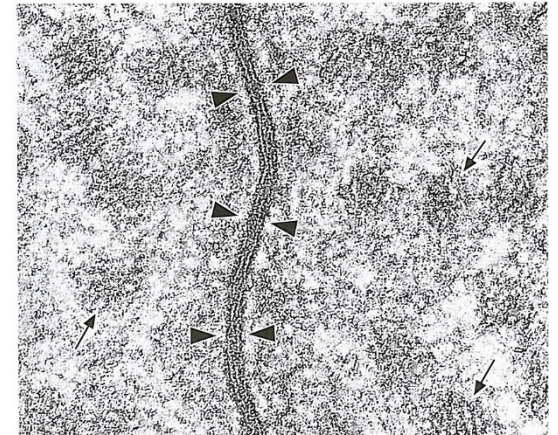


Mezibuněčné spoje 8

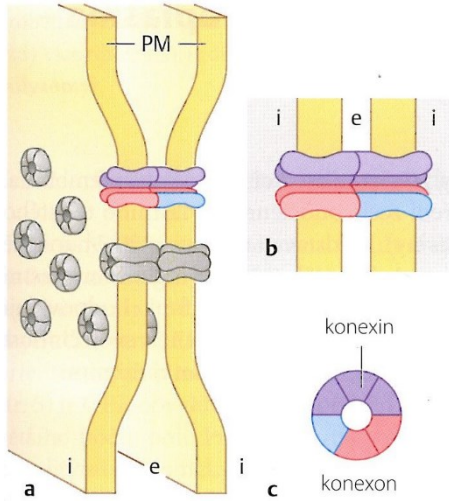


Těsnící

- Zonula occludens (bariérový spoj, tight junction)



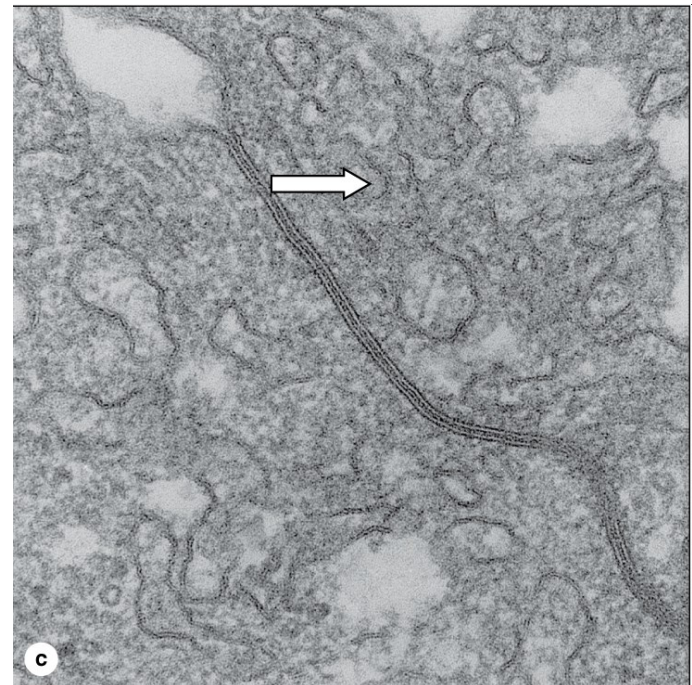
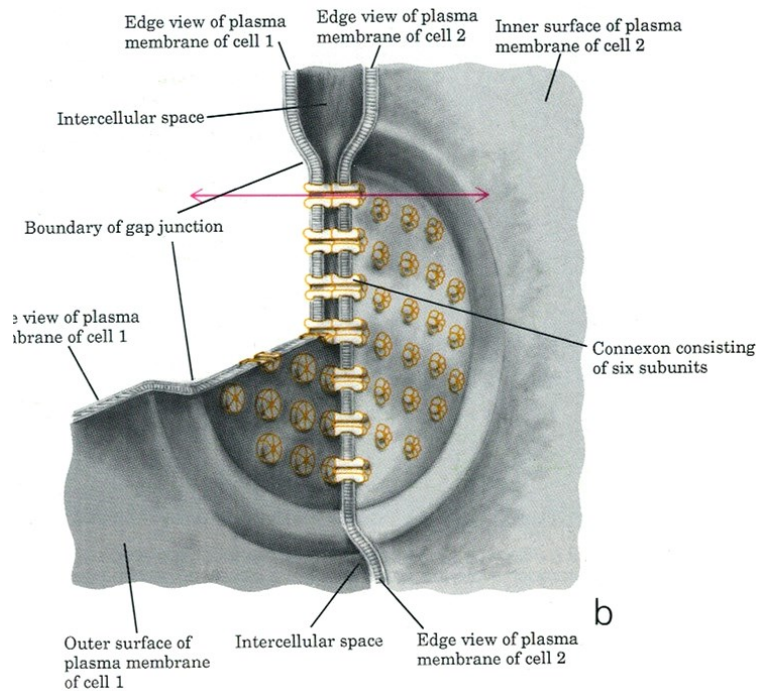
Mezibuněčné spoje 9



Komunikační

- Gap junction (nexus)

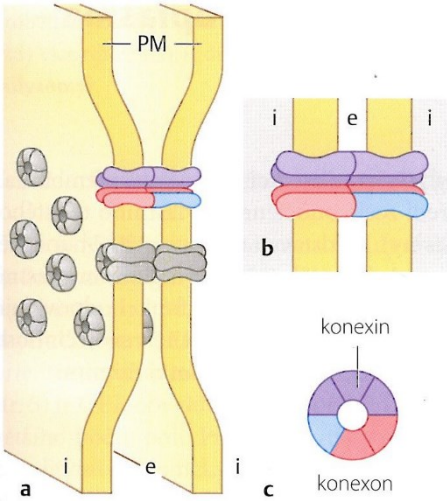
Průměr cca 0,3 μm
Mezera mezi membránami cca 3 nm
Otvor spojovacího kanálku cca 2 nm



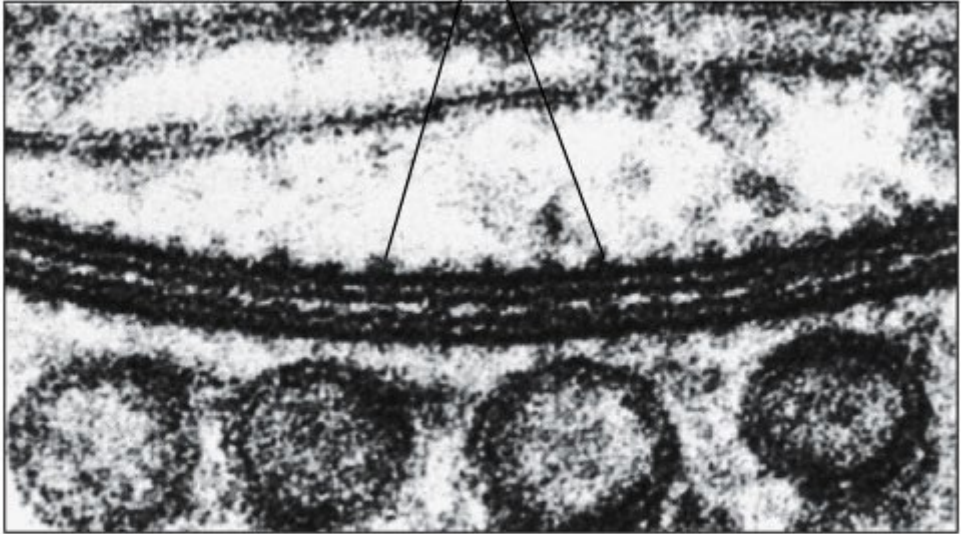
Mezibuněčné spoje 10

Komunikační

- Gap junction (nexus)

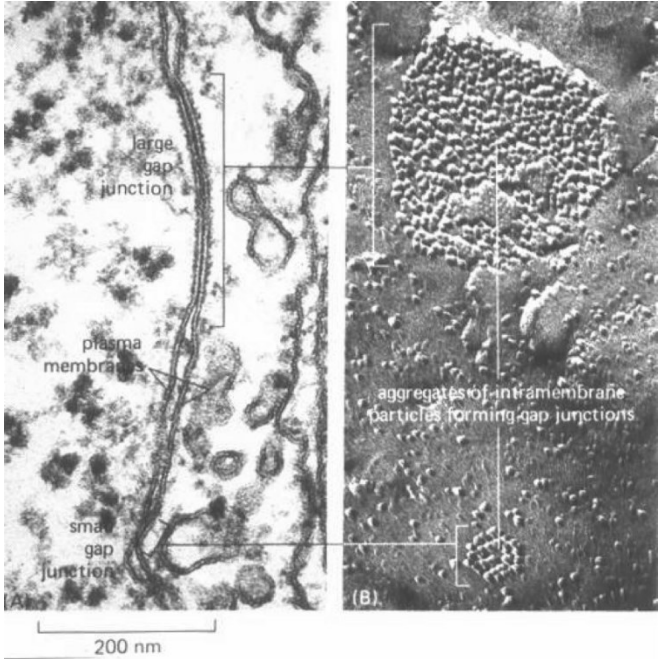


Connexons



(b) Electron micrograph of a gap junction

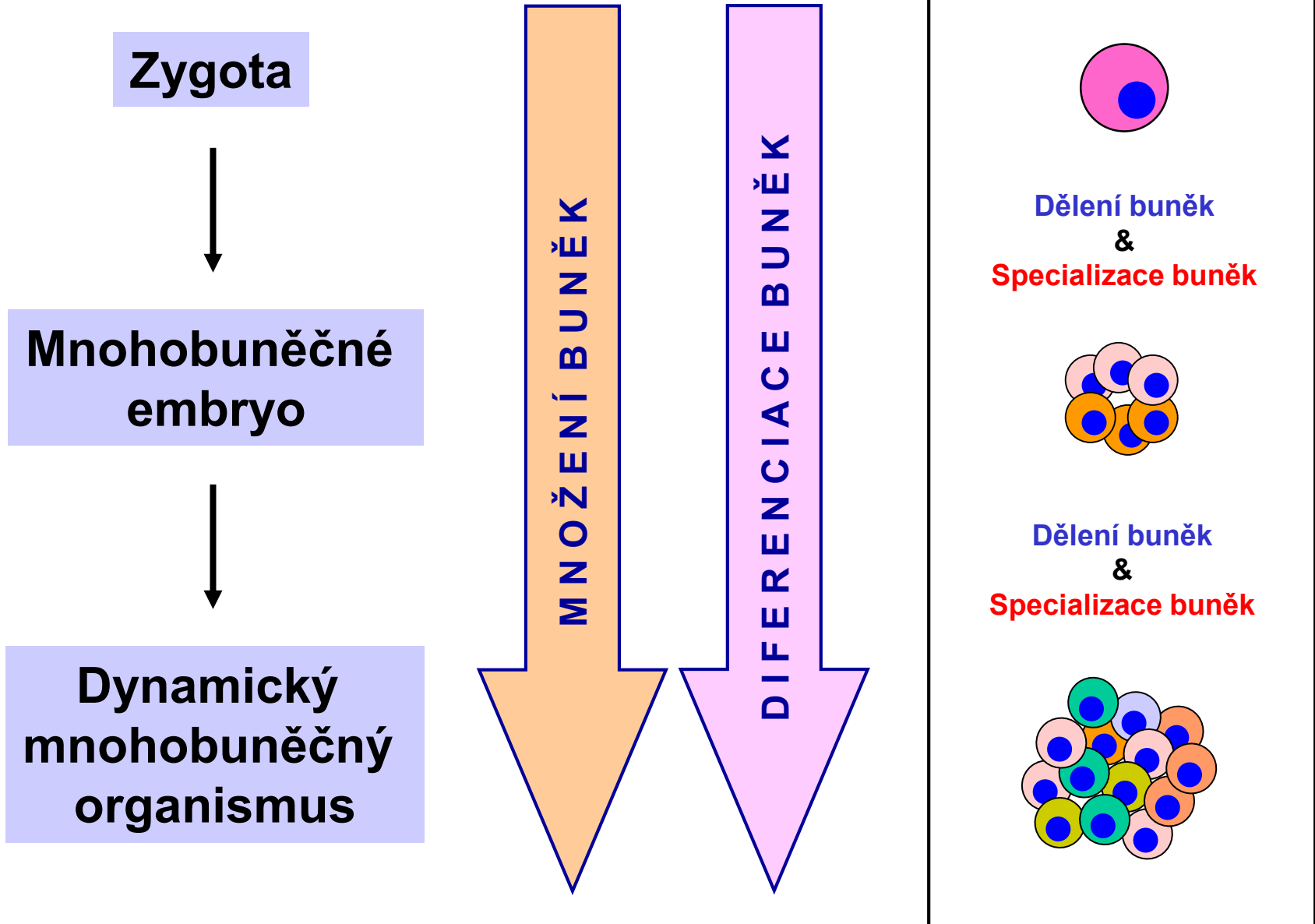
0.1 μm



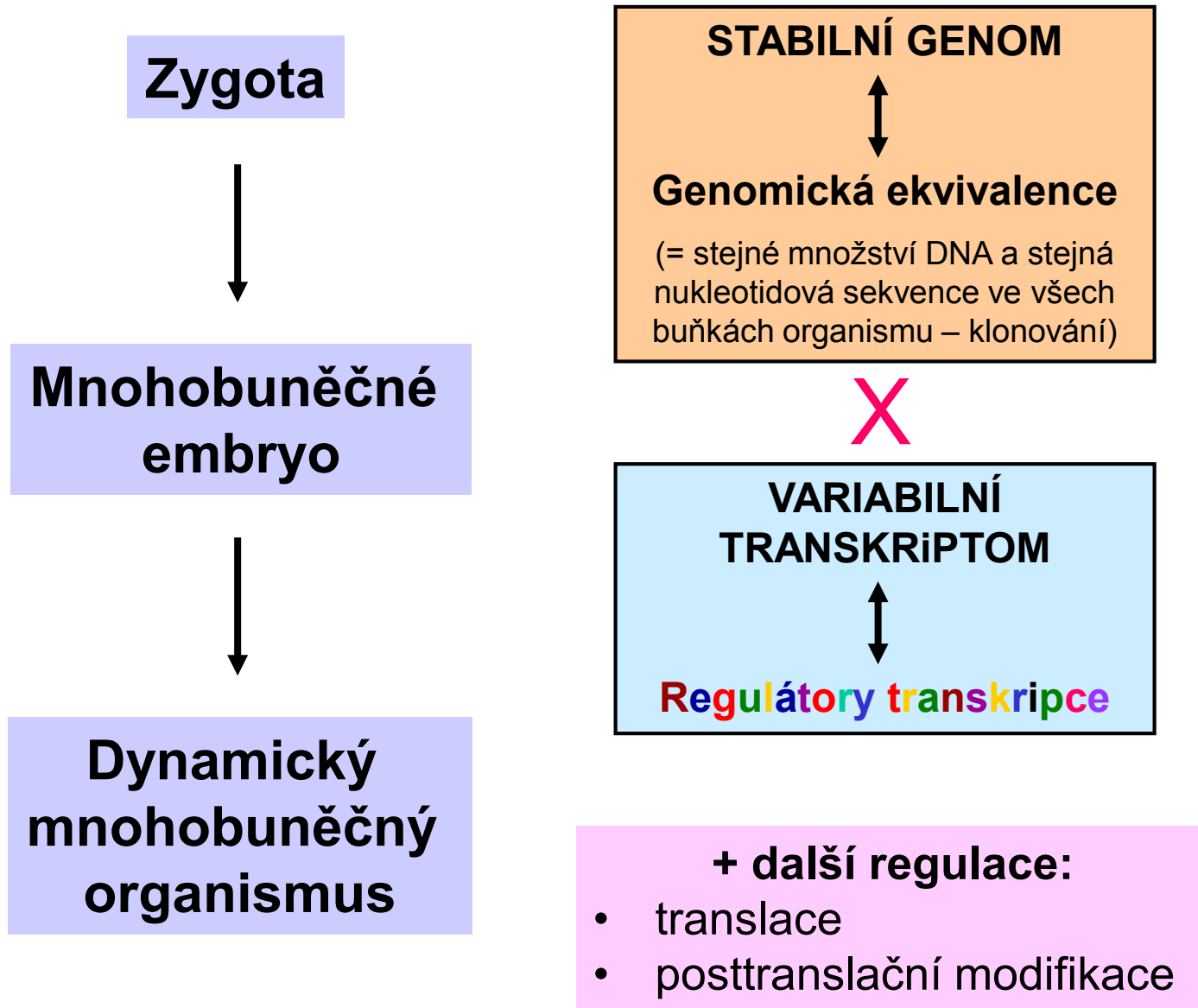
Životní projevy buněk

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

Množení x Diferenciace buněk 1



Množení x Diferenciace buněk 2



Množení x Diferenciace buněk 3

Obnova a regenerace tkání

Kmenové buňky

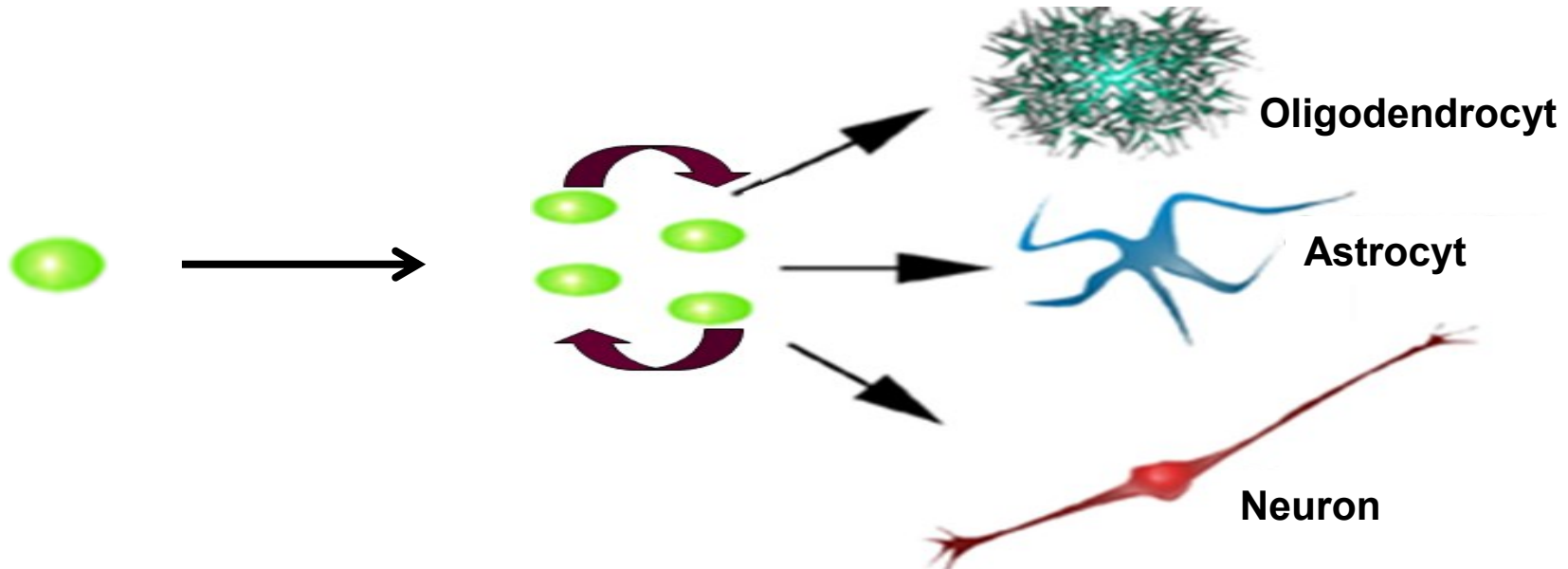
- pomalé dělení (obvykle)
- multipotentní

Progenitorové buňky

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

Terminálně diferencované buňky

- nedělí se



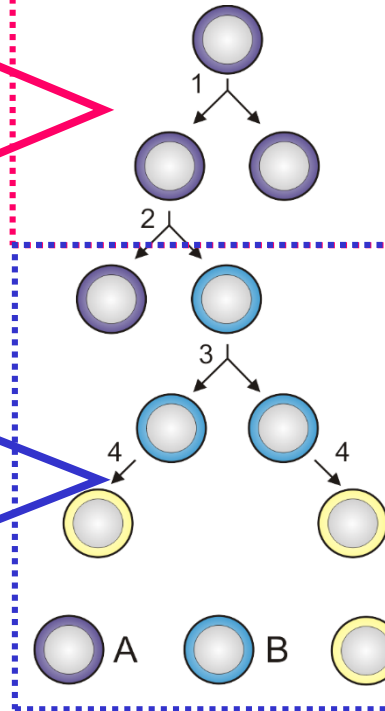
„Široká nabídka“ kmenových buněk

Kmenové buňky generují a regenerují naše tělo

Schopnost vytvářet identické kopie

Sebeobnova

1. Nediferencovaný růst



2. Diferenciace

Schopnost vytvářet diferenciované/funkčně specializované buňky

Pluri-/Multi-potence

Embryonální kmenové buňky

„Dospělé“ kmenové buňky

Fetální
Orgánové
Tkáňové

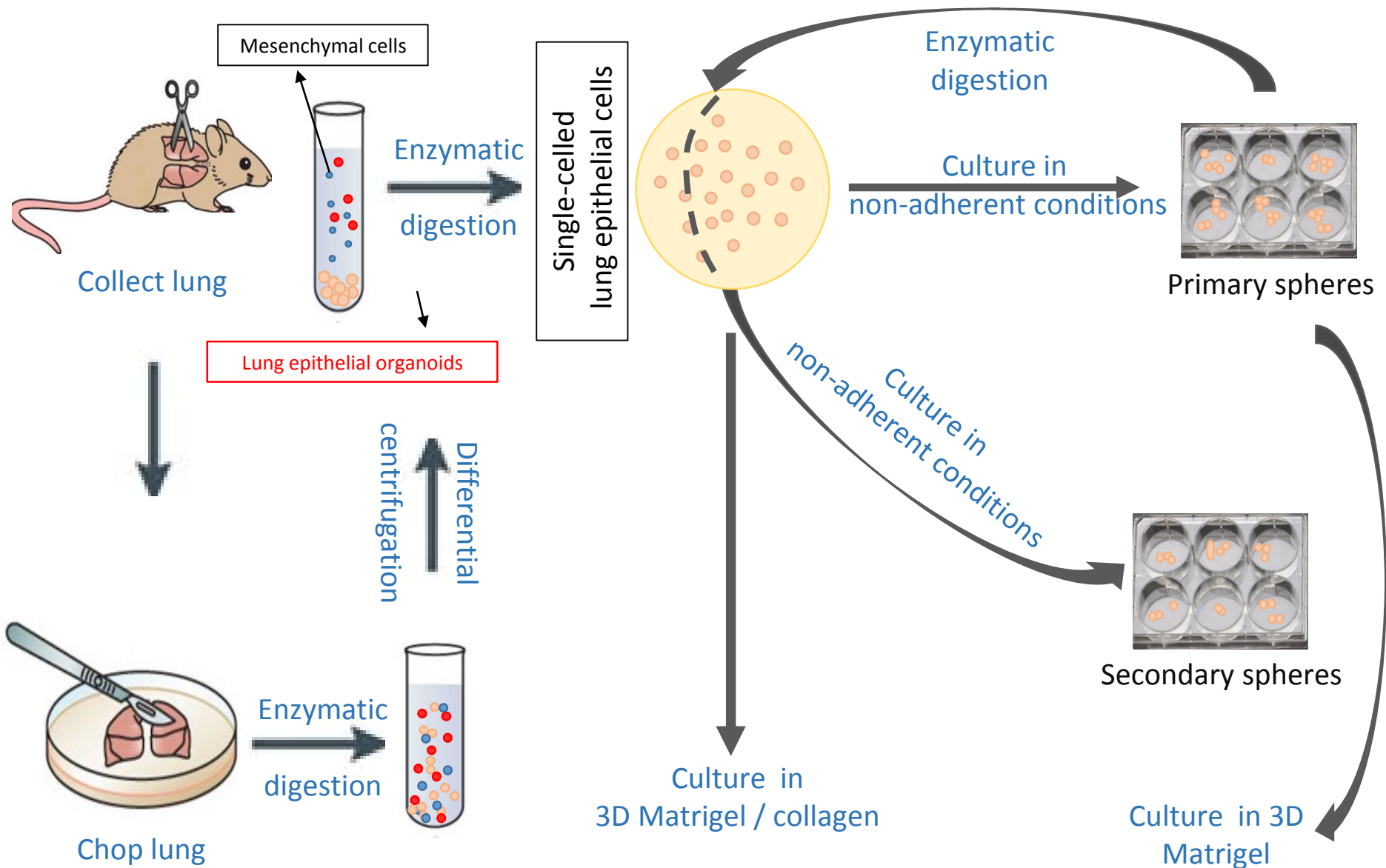
Indukované pluripotentní kmenové buňky

Nádorové kmenové buňky

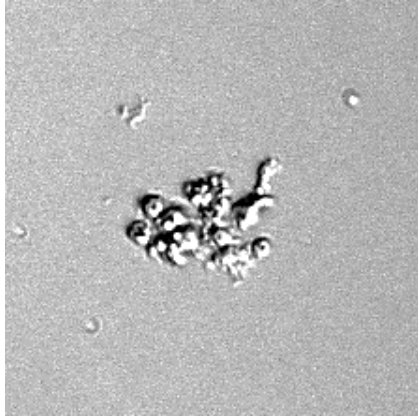


Odlišné vlastnosti

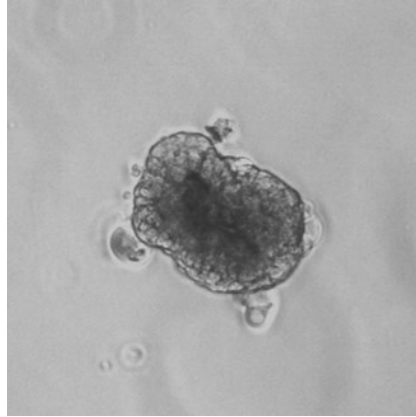
Kmenové buňky lze nalézt, vyjmout z tkáně a zkoumat 1



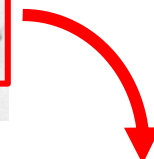
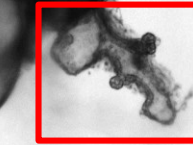
Kmenové buňky lze nalézt, vyjmout z tkáně a zkoumat 2



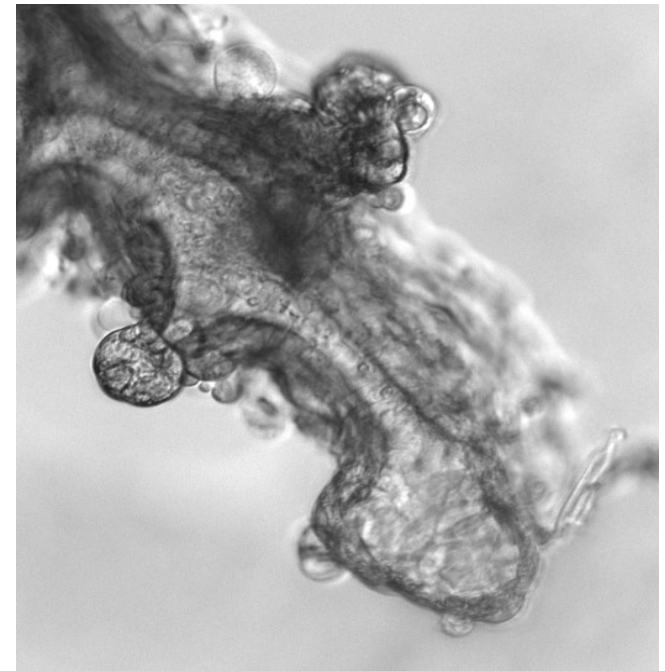
KB plic po izolaci



Rostoucí sféroid z KB plic „lungosféra“



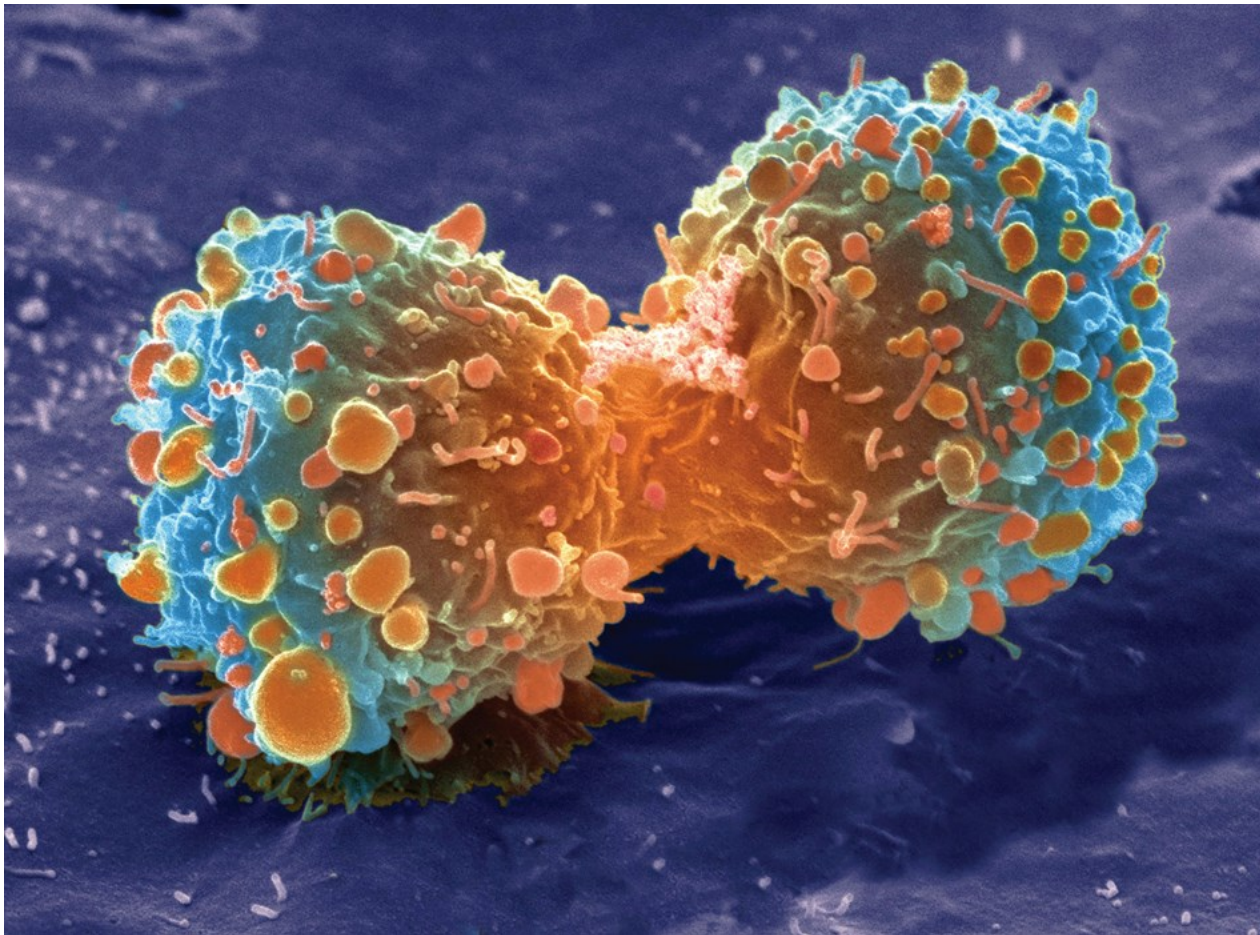
Organoid
morfogeneze ve 3D prostředí



Dělení buněk 1

Základní koncept 1

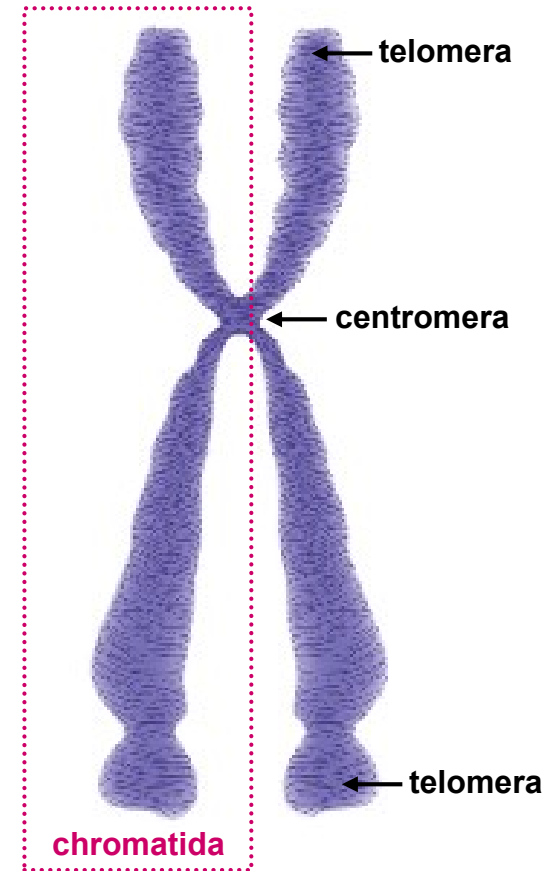
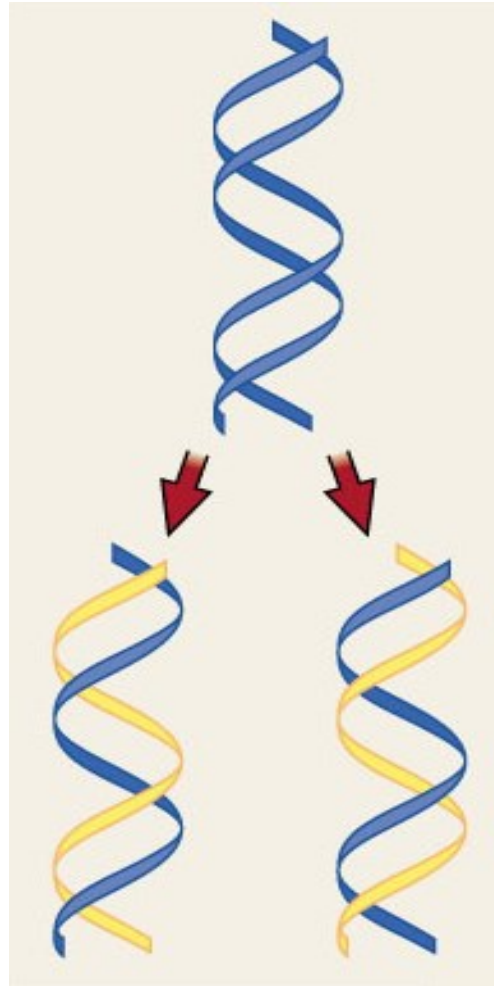
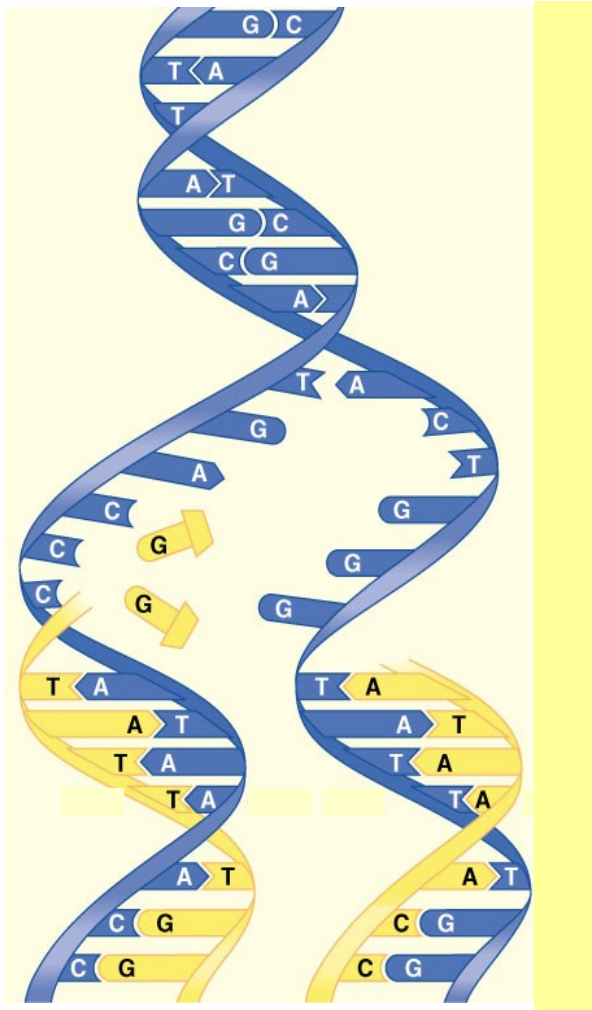
MITÓZA a CYTOKINEZE produkují dvě geneticky identické buňky



Dělení buněk 2

STABILNÍ (NEMĚNNÝ) GENOM

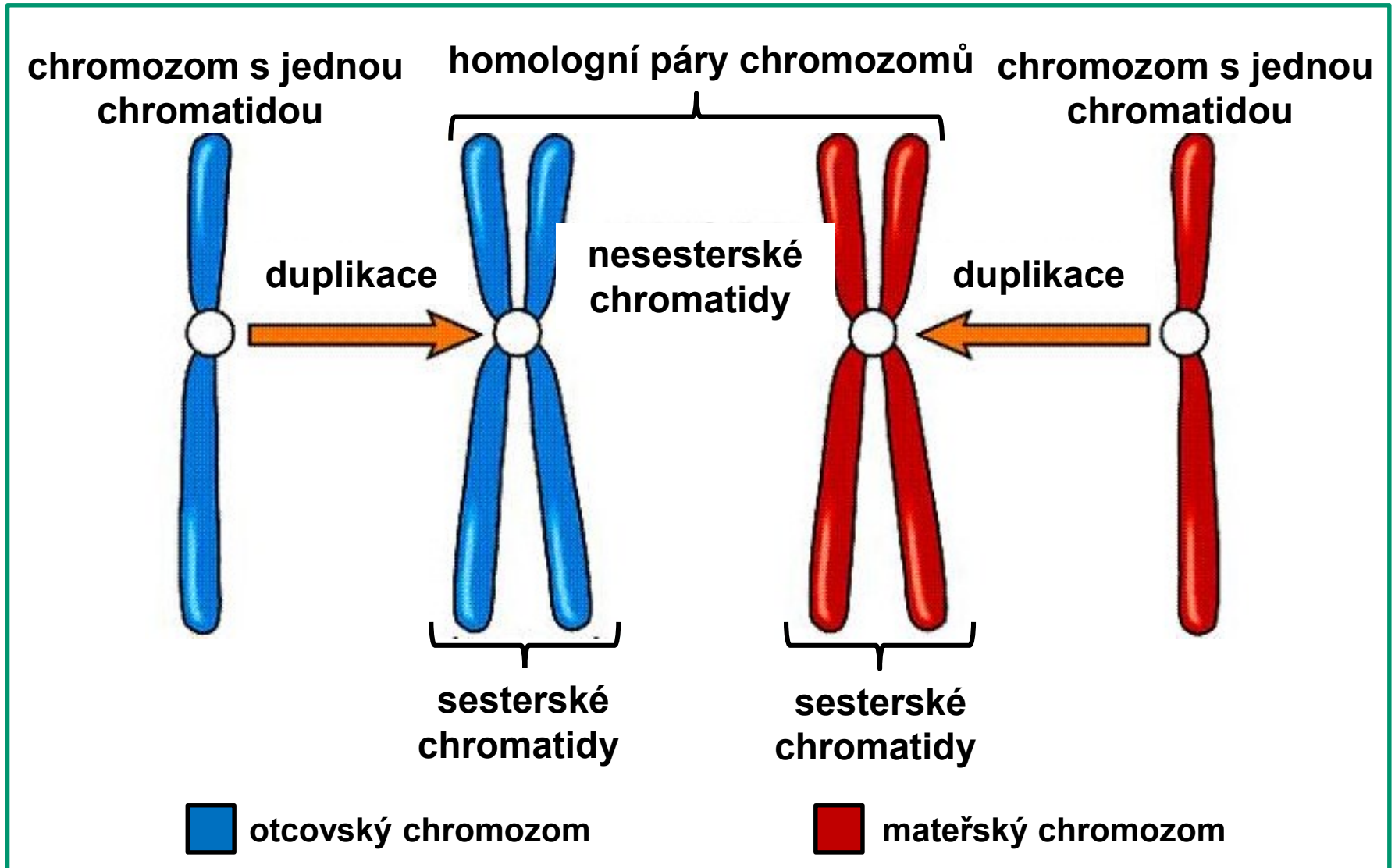
Udržuje se prostřednictvím semikonzervativní duplikace DNA



Kondenzovaný duplikovaný chromozom

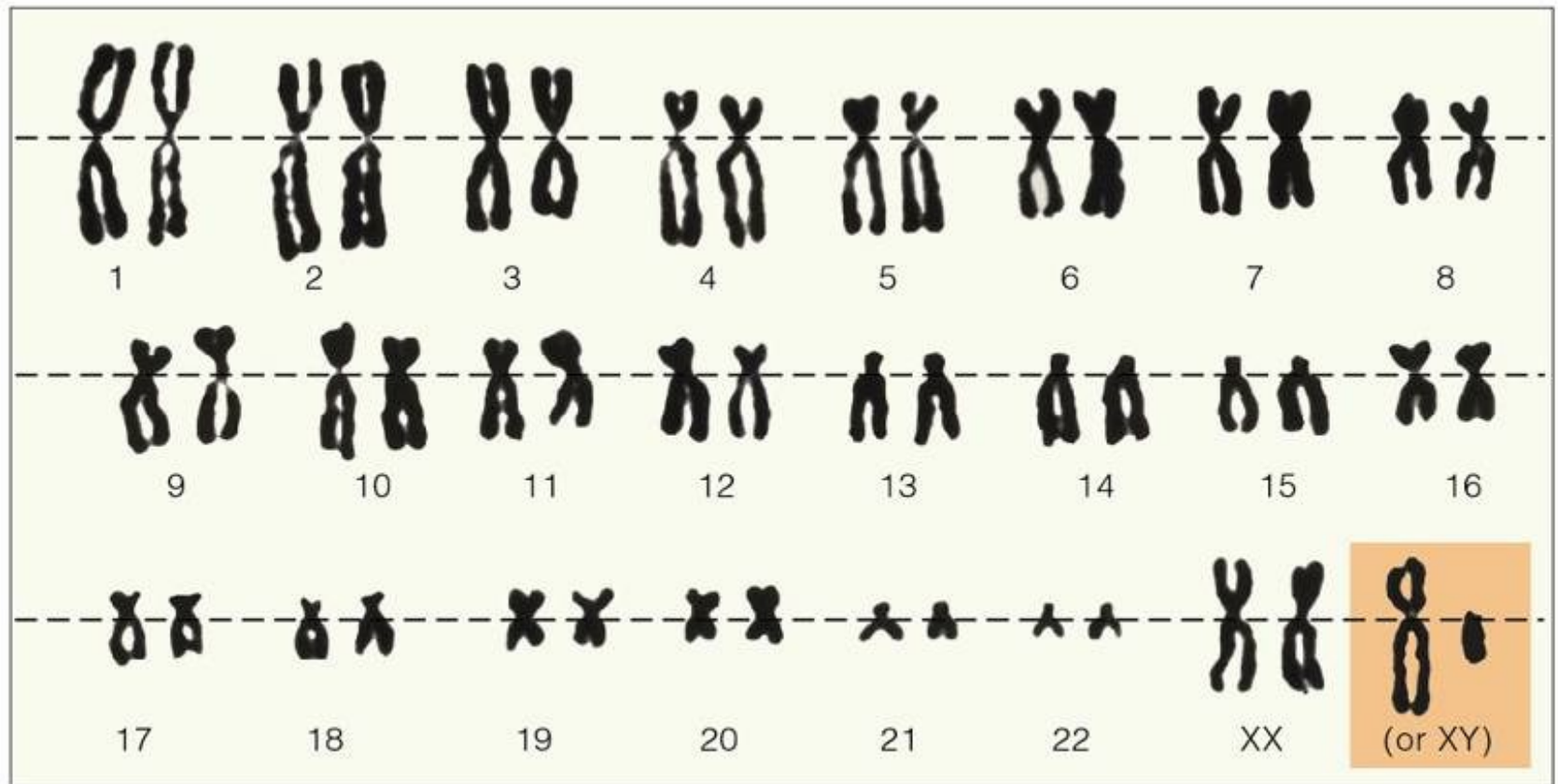
Dělení buněk 3

Metabolismus chromozomů – Homologní chromozomy



Dělení buněk 4

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



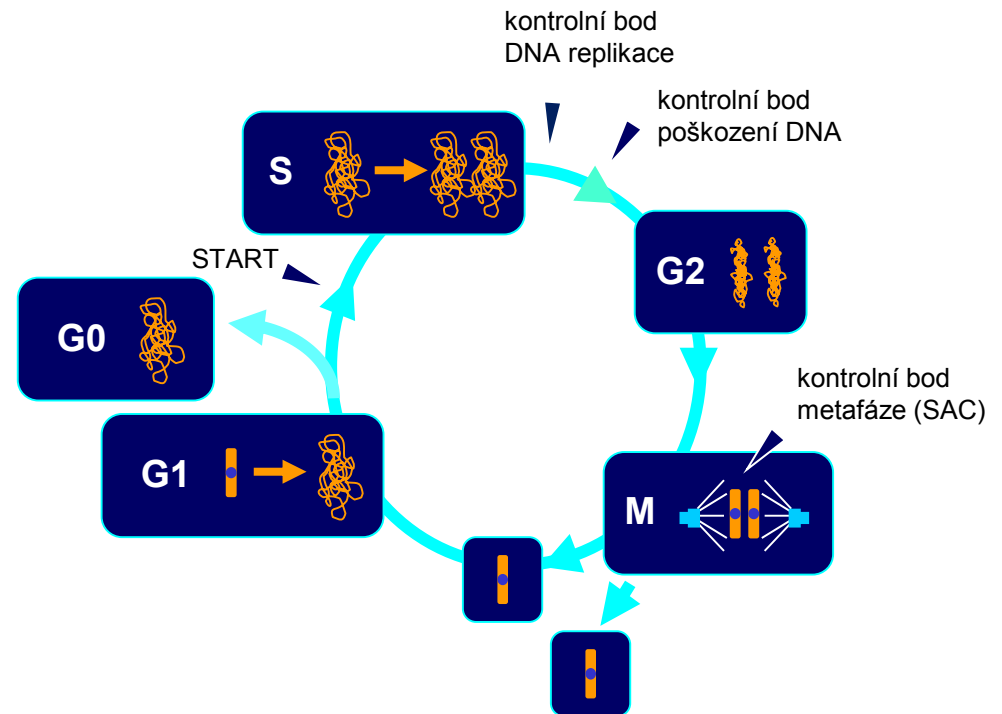
Dělení buněk 5

Základní koncept 2

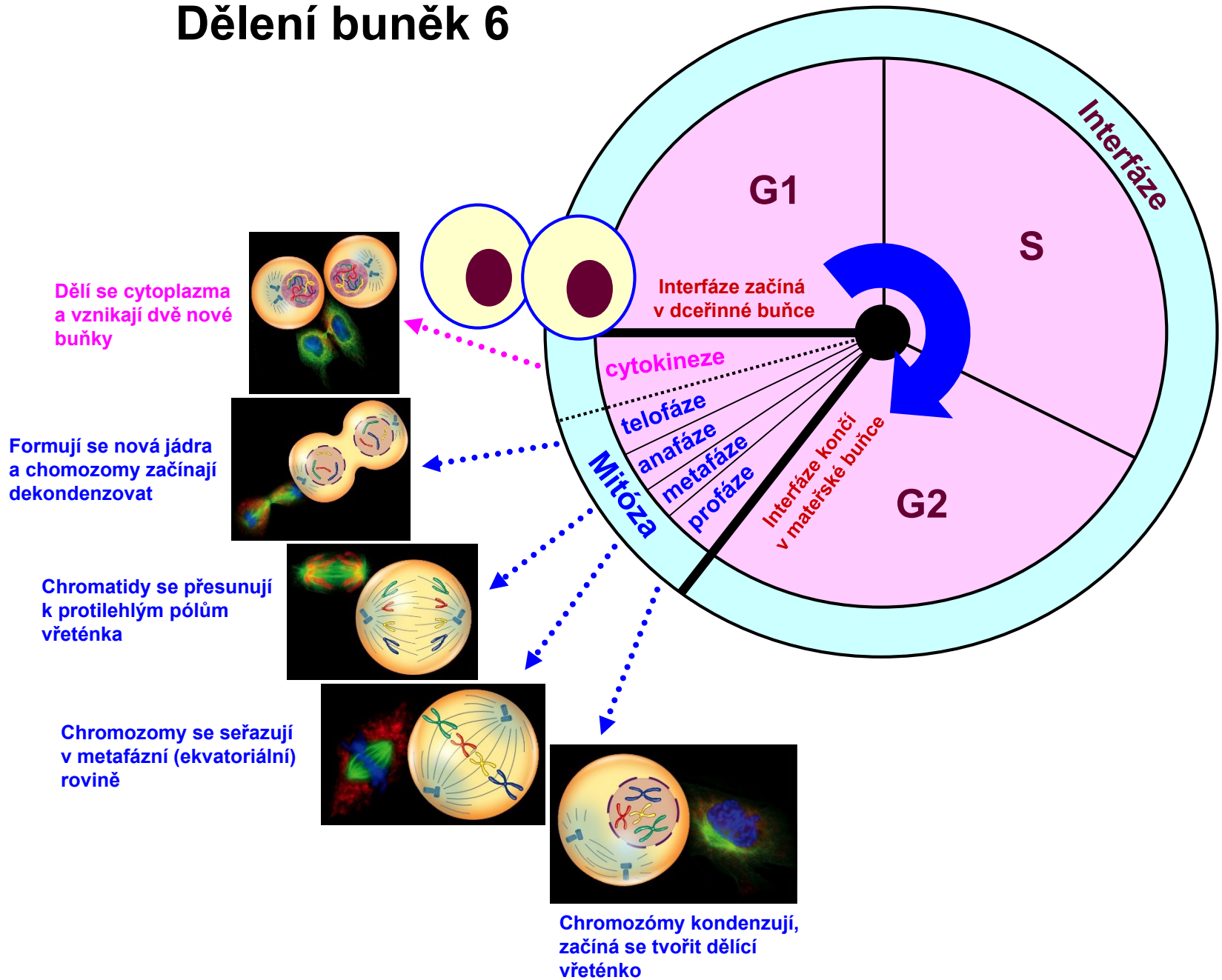
MITÓZA a CYTOKINEZE jsou částí buněčného cyklu

Buněčný cyklus

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

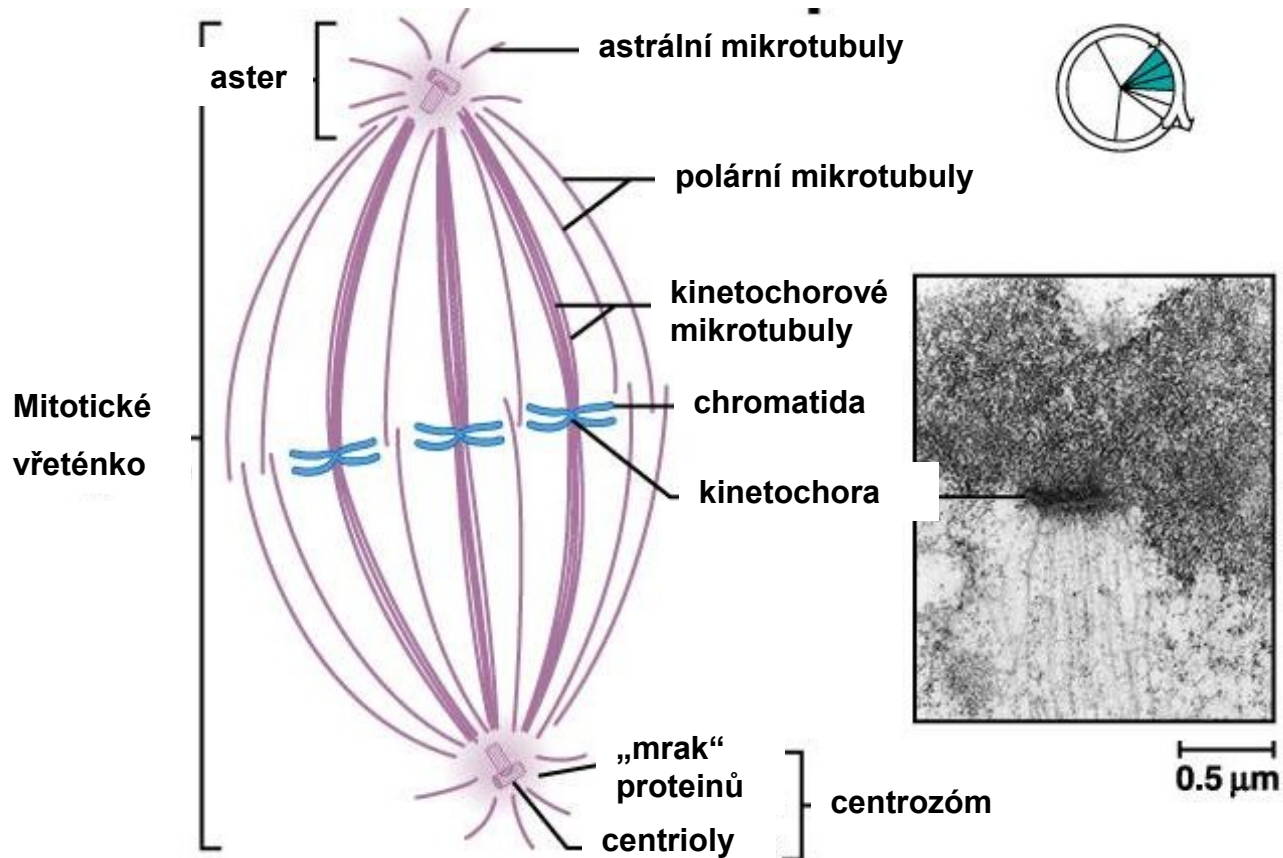


Dělení buněk 6



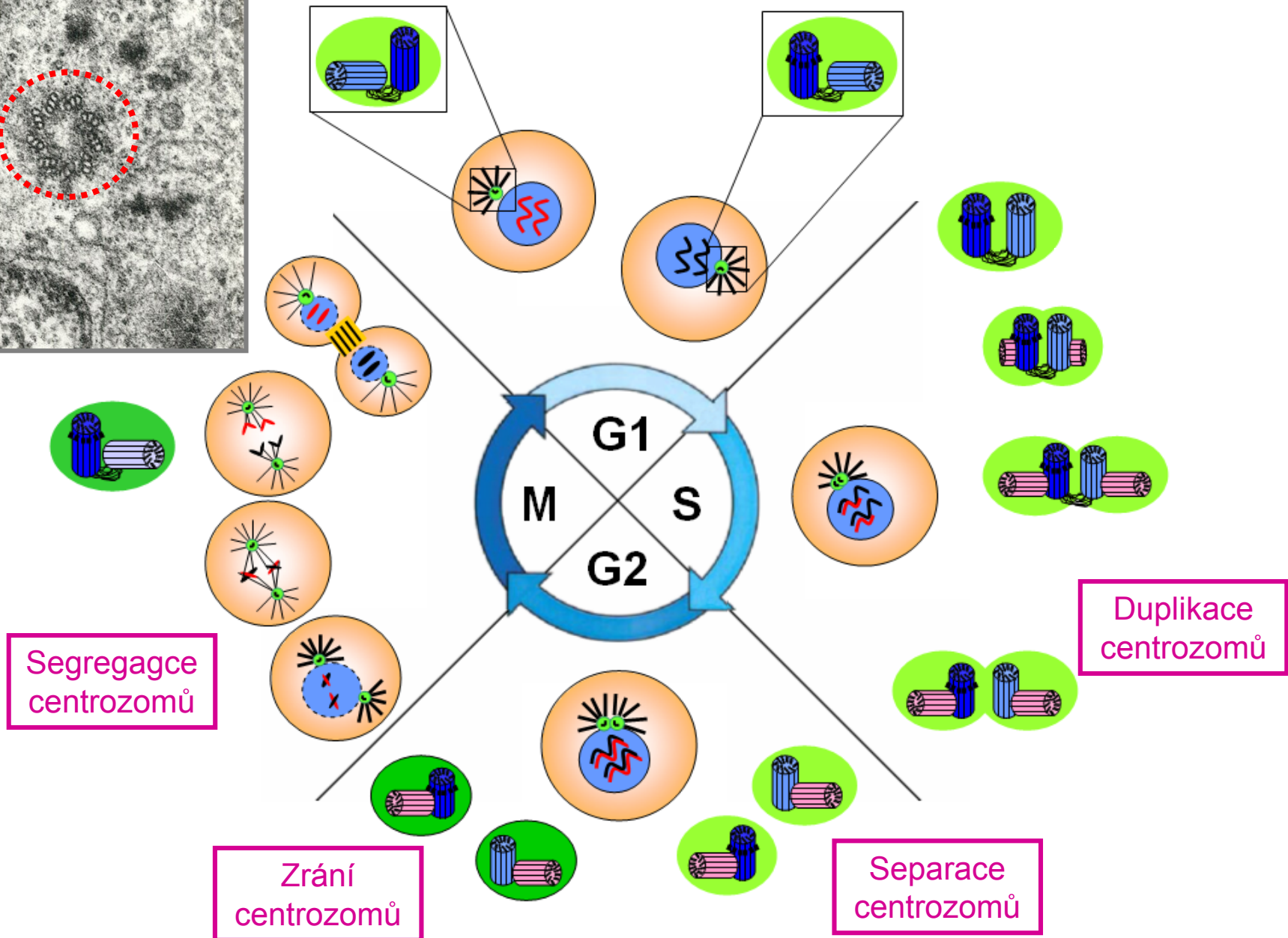
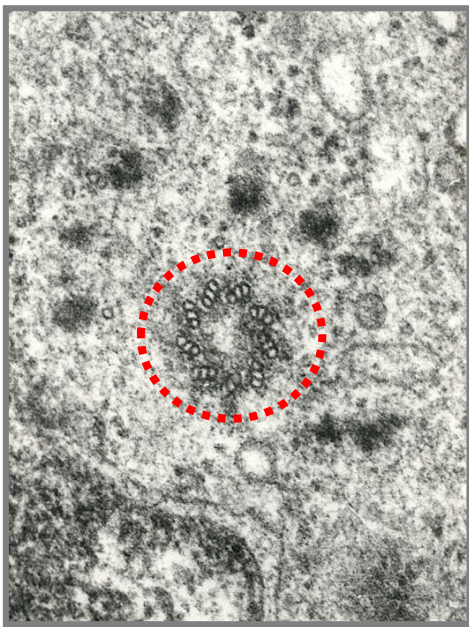
Dělení buněk 7

Mitotické vřeténko



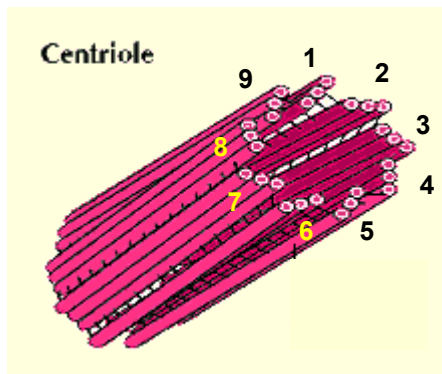
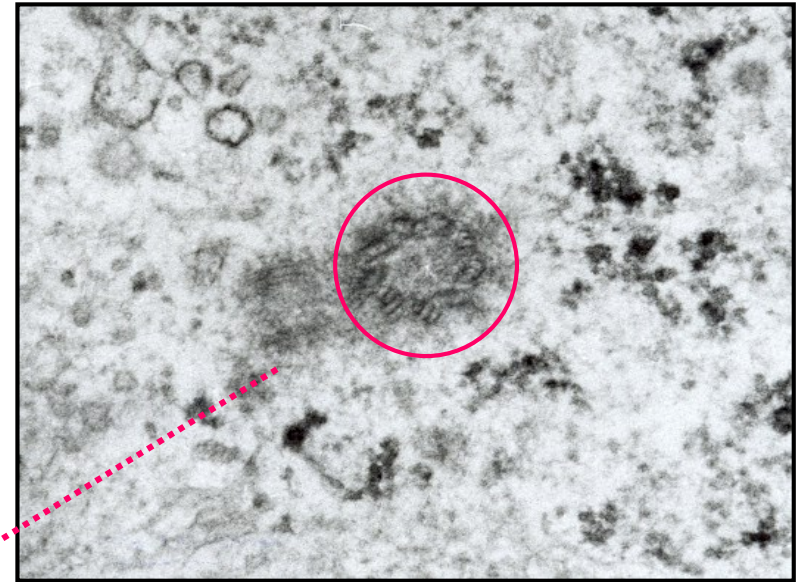
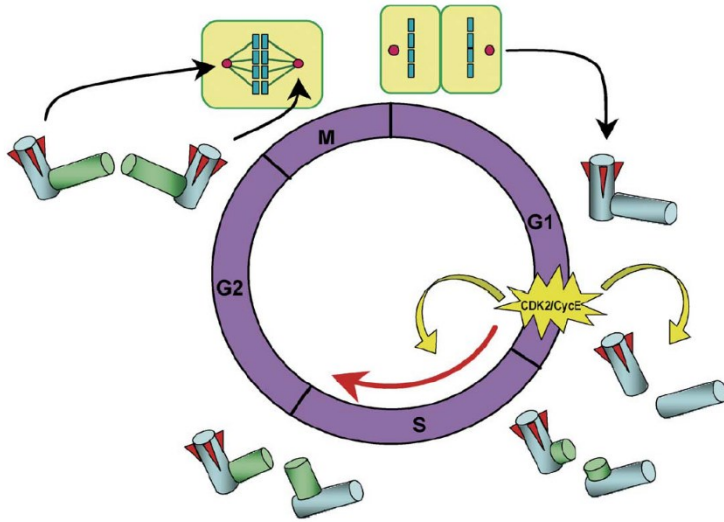
Dělení buněk 8

Metabolismus centrozomů Semikonzervativní duplikace

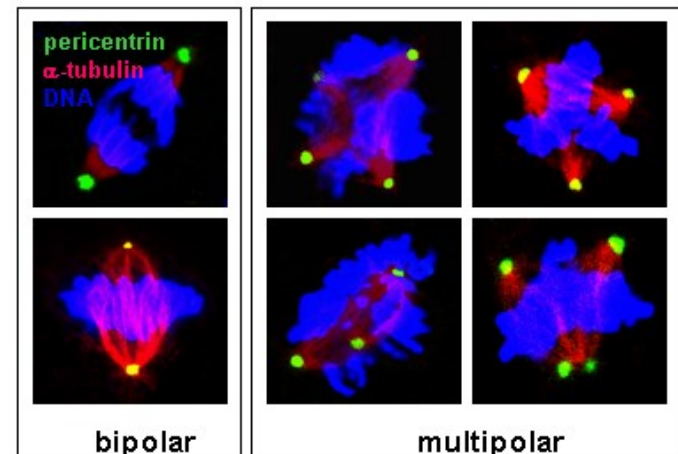


Dělení buněk 9

Struktura centrozomů



Průměr - 0.2 μm
Délka - 0.5 μm



Dělení buněk 10

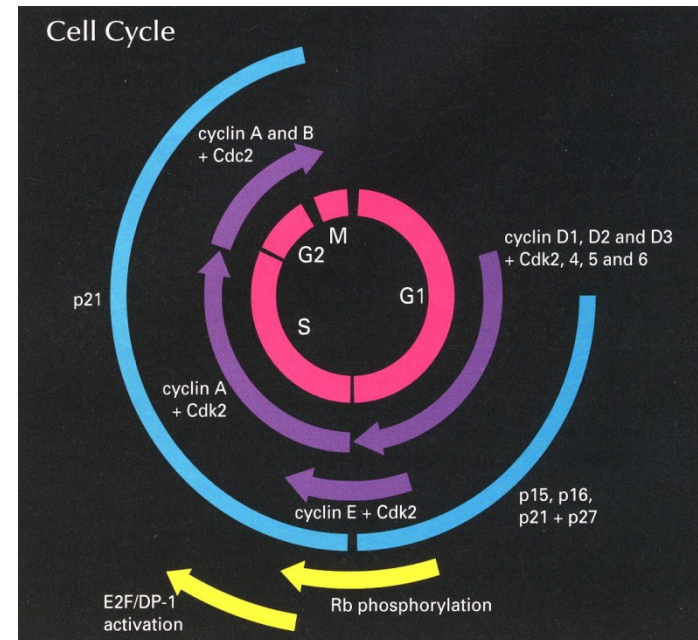
Regulace – Cyklin-Dependentní Kinázy (CDK) + Cykliny

Cdks and Related Proteins

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

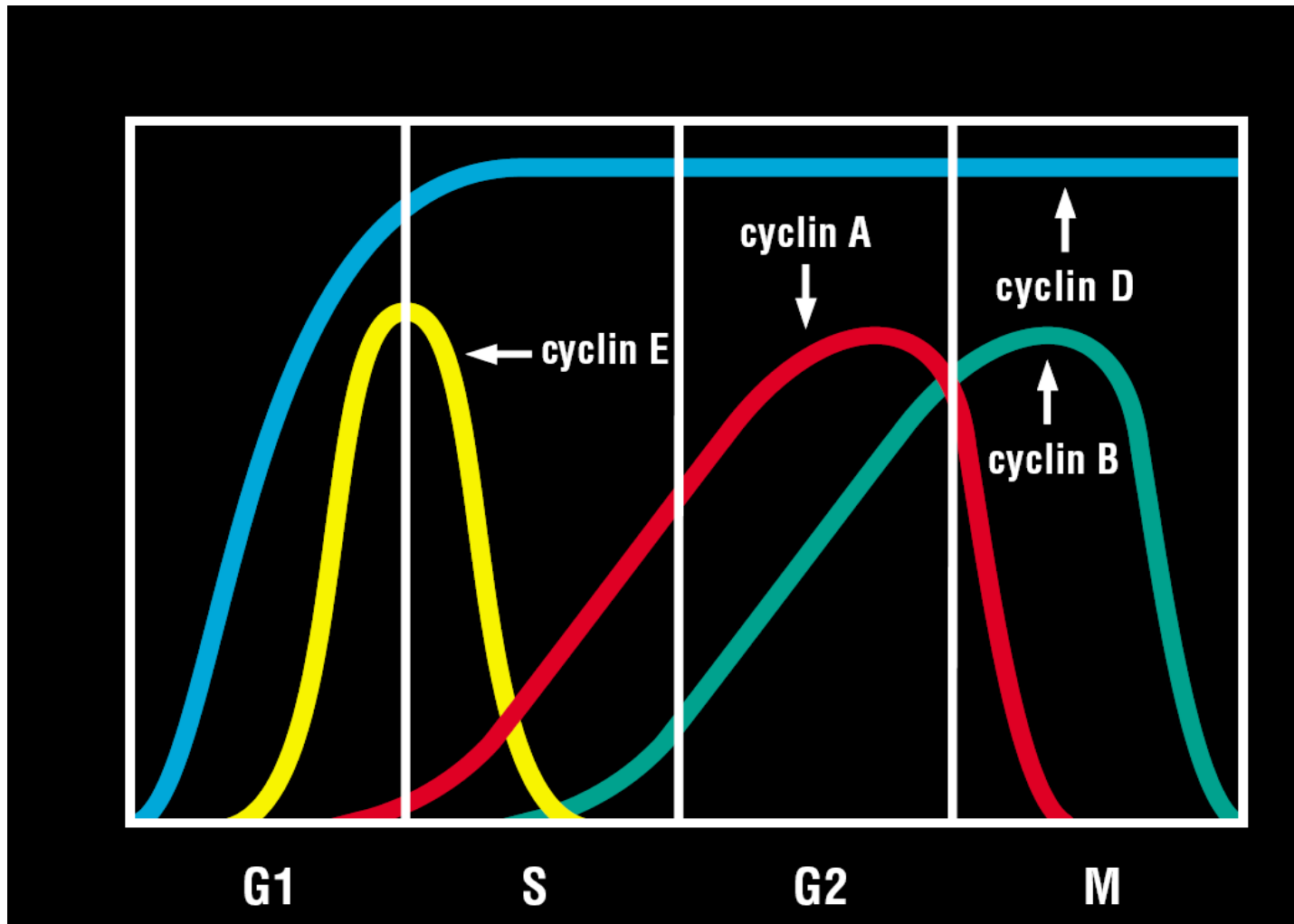
Major Cyclin-Cdk Cell Cycle Complexes

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

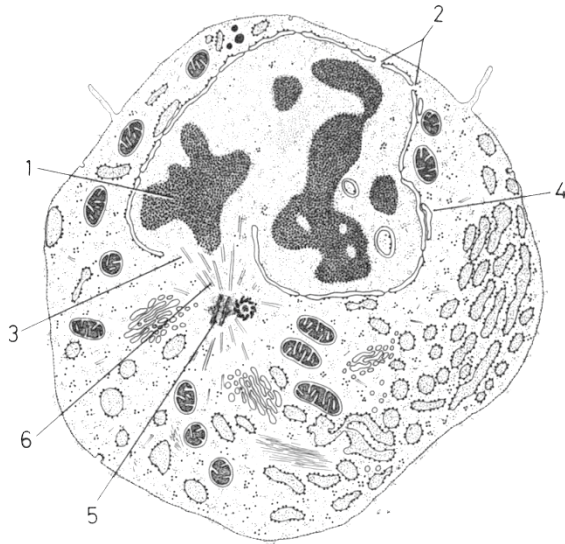


Dělení buněk 11

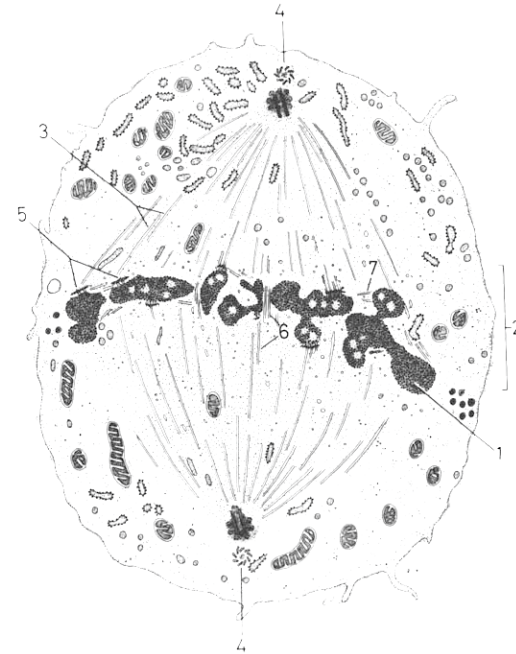
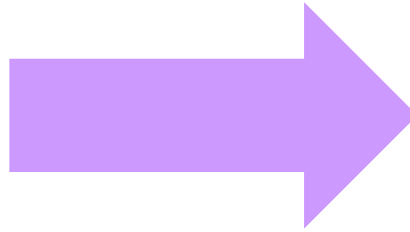
Periodicita exprese cyklinů



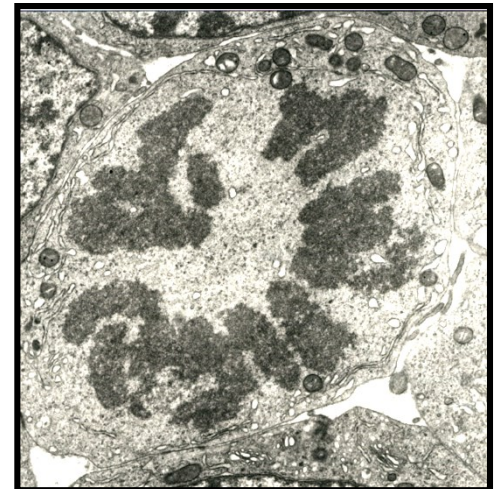
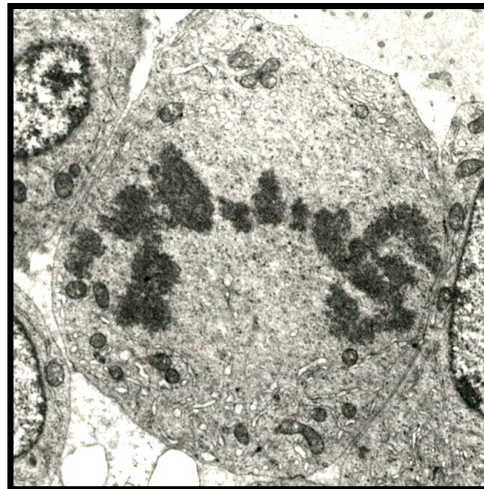
Dělení buněk 12



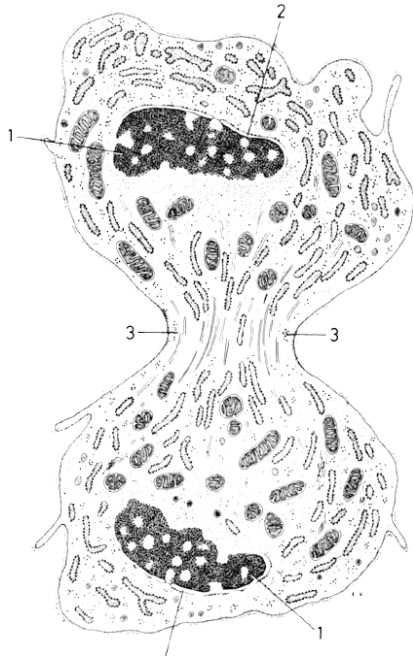
profáze



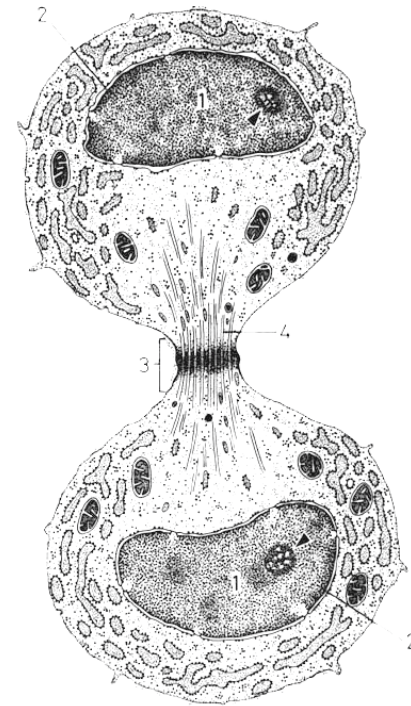
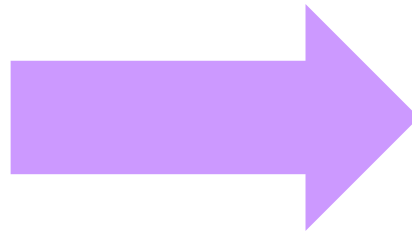
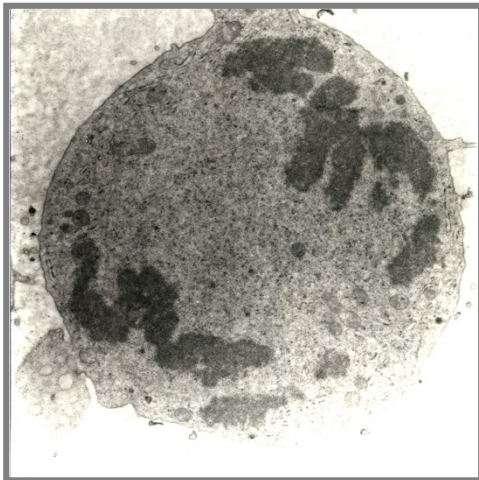
metafáze



Dělení buněk 13



anafáze -telofáze



telofáze

Děkuji za pozornost !