

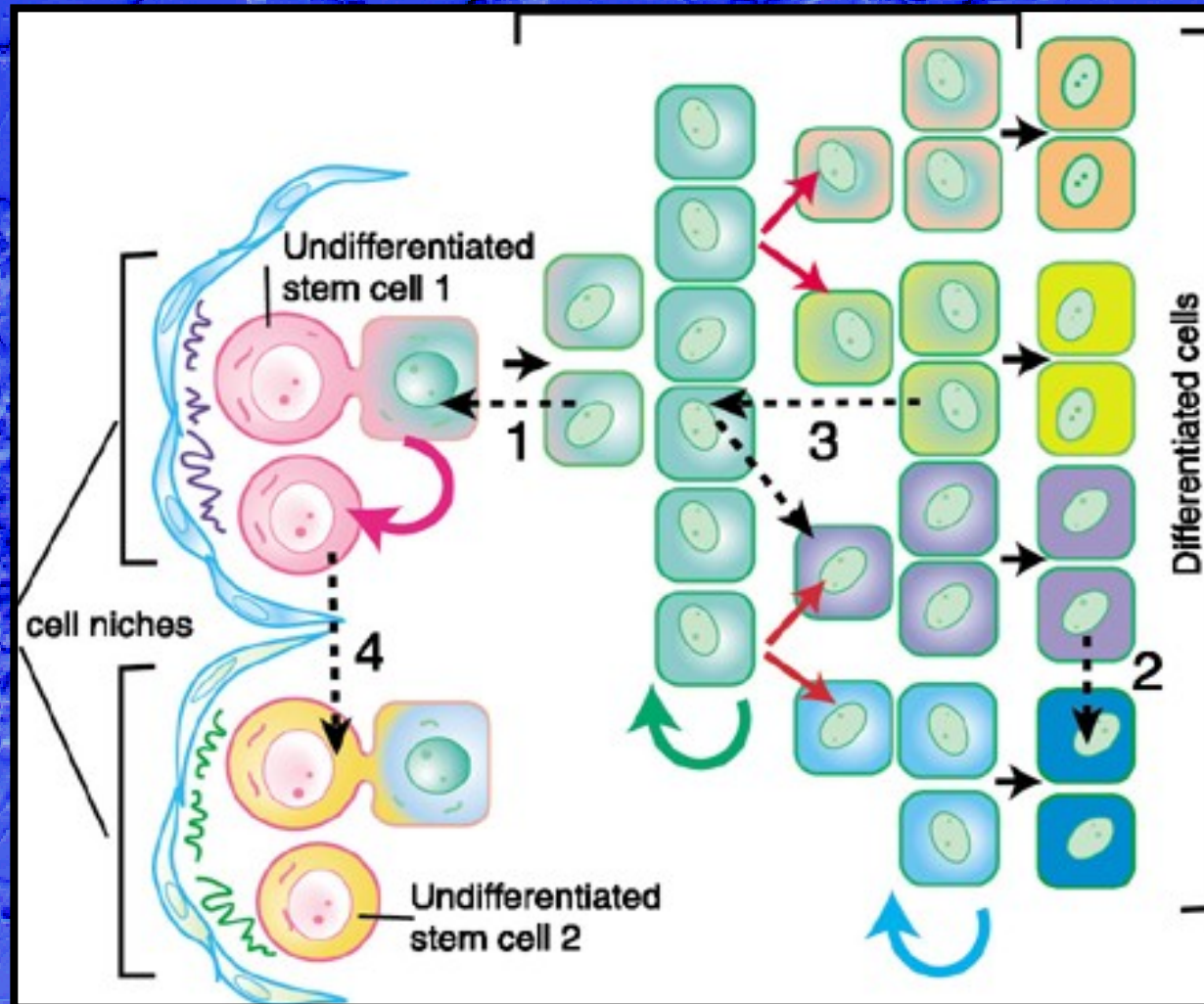
# Úvod do studia biologie kmenových buněk

Jiří Pacherník  
e-mail: [jipa@sci.muni.cz](mailto:jipa@sci.muni.cz)  
tel: 532 146 223



# Co jsou kmenové buňky?

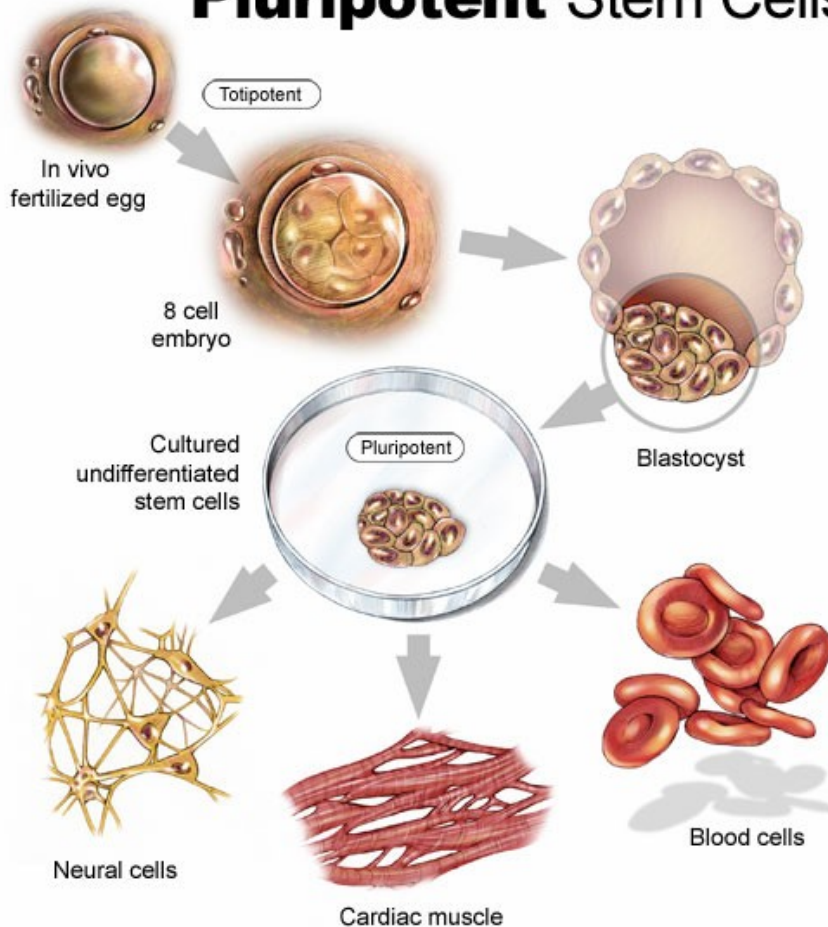
- buňky schopné vlastní obnovy (sebeobnova)
- buňky schopné dávat vznik jiným typům buněk (schopnost diferenciacce / rozrůžňování)



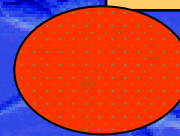
# Diferenciace (rozdružování) buněk

- Buňky mění svůj fenotyp v na základě změny exprese svého genotypu v důsledku vnějších signálů.
- Regulace diferenciace je často provázána s proliferací (epigenetické změny v jádře během mitotického cyklu?).

## Pluripotent Stem Cells



Kmenová buňka  
aktuální <-> potencionální

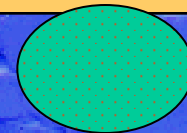


Přechodně/transientně  
se dělicí buňky (Progenitory)\*



\* Často prolifерují a mají  
schopnost krátkodobé sebeobnovy

Terminálně  
diferencovaná buňka\*\*

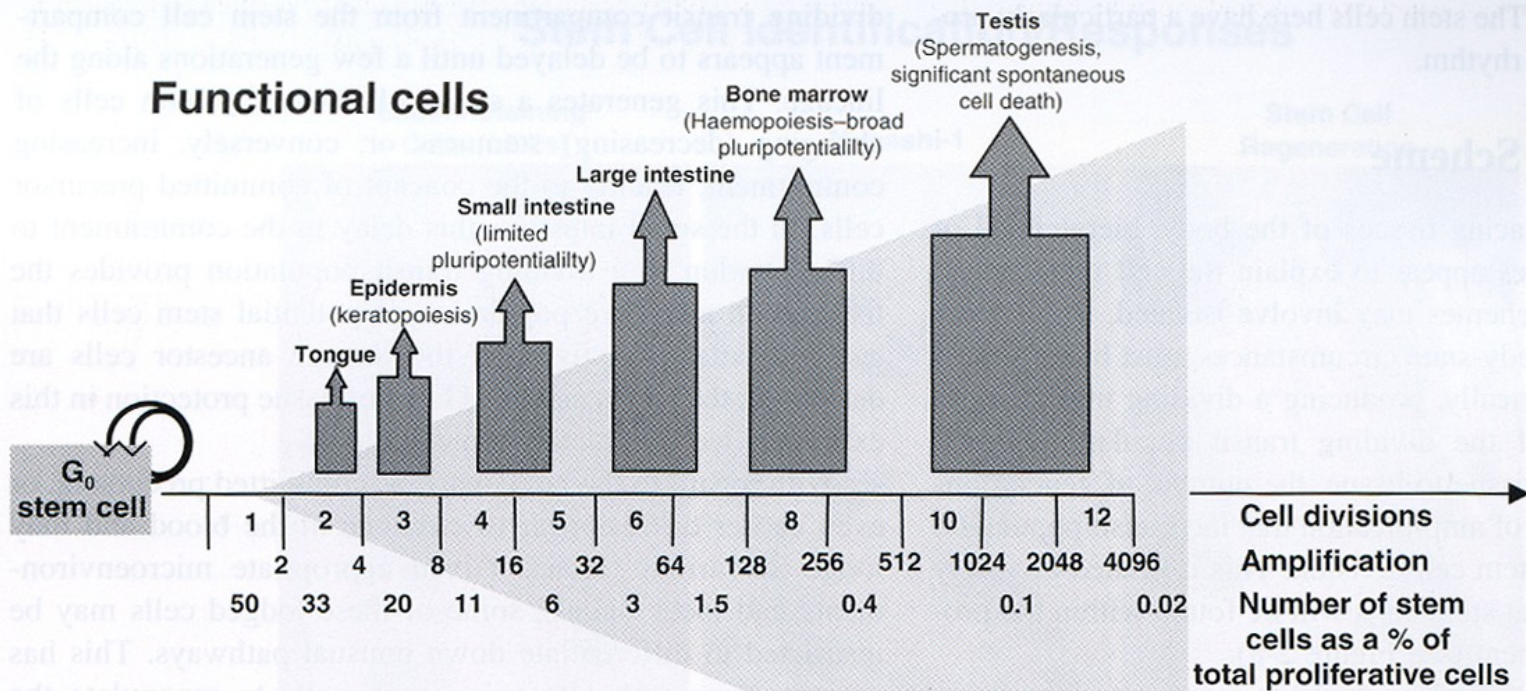


maturace

\*\* Post-mitotické buňky = už se nikdy nedělí.  
Ne všechny terminálně diferencované buňky  
jsou post-mitotické.

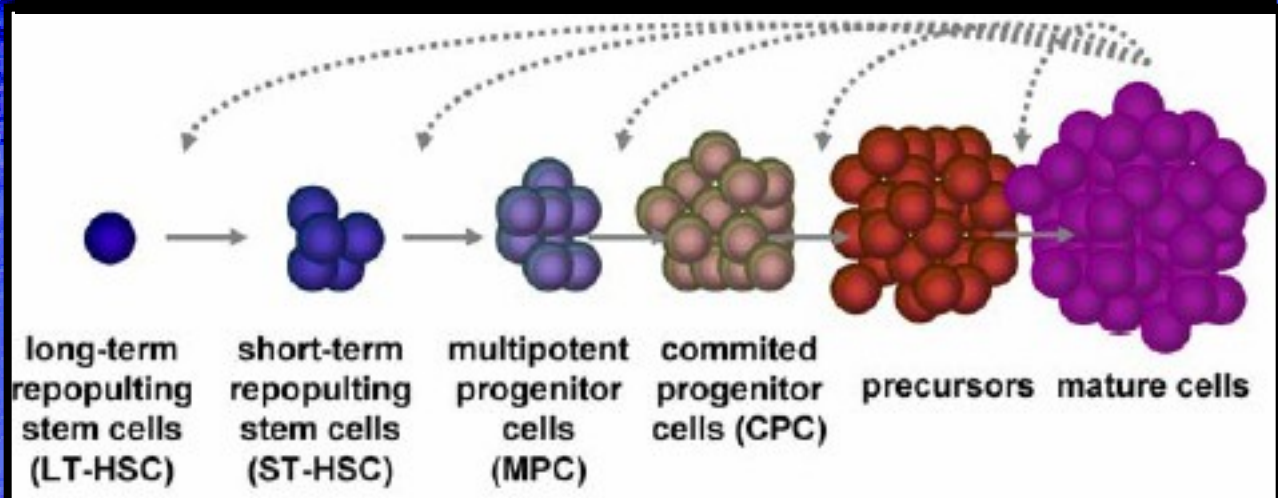


# Functional cells

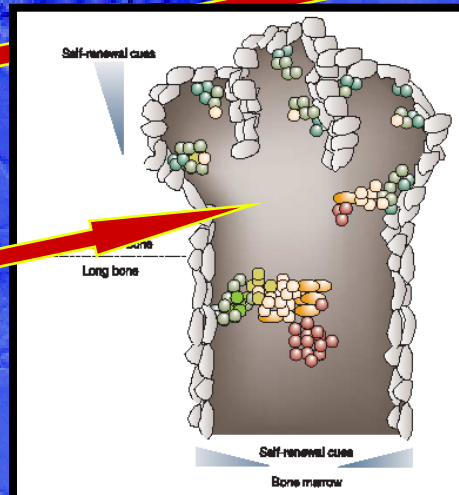
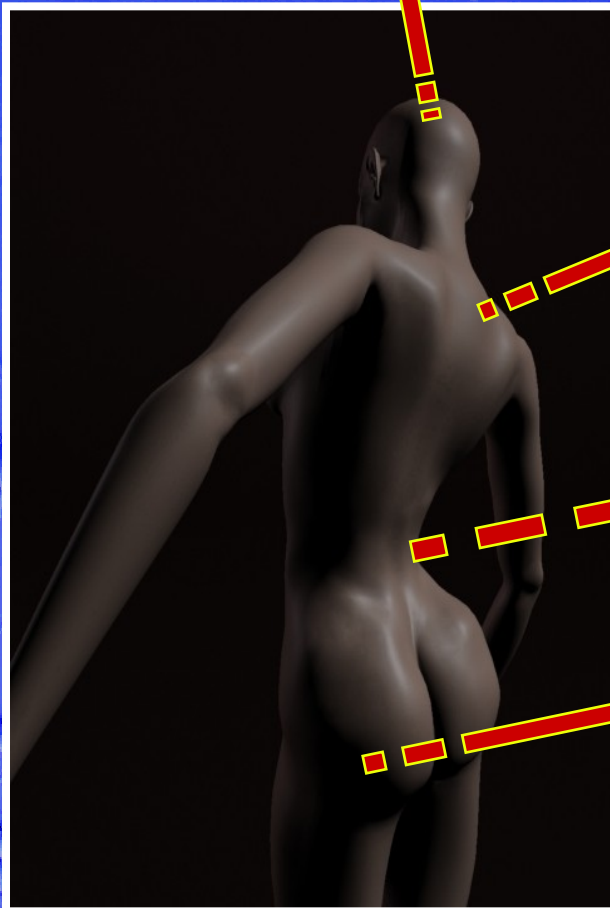
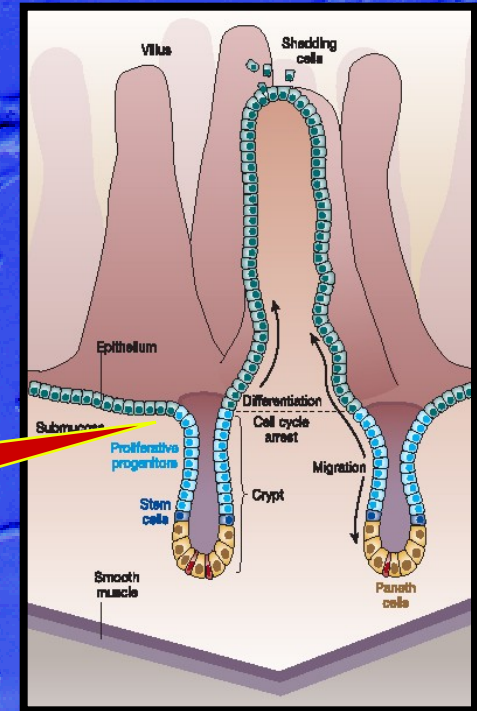
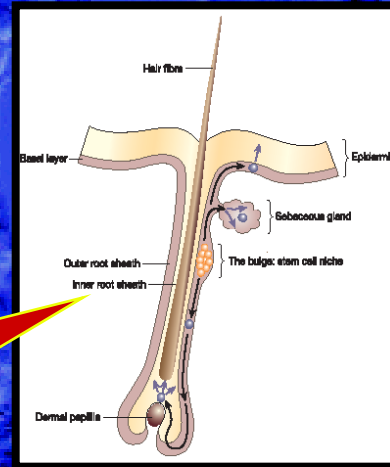
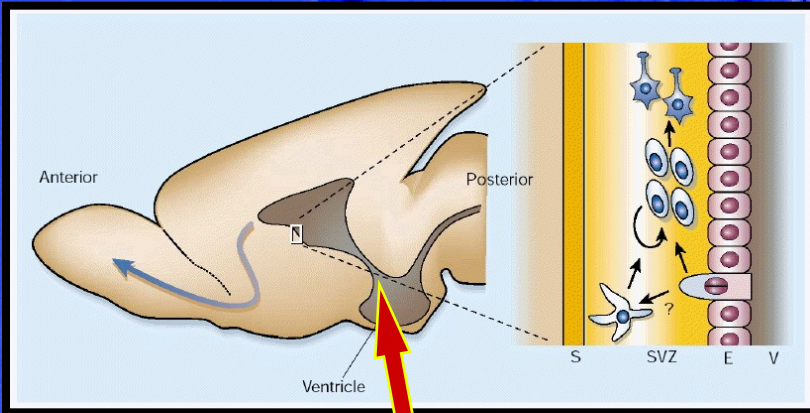


Functional Cells

**Kmenové buňky tvoří jen zlomek buněk dané tkáně/organismu !**



# Kmenové buňky v dospělém organismu



+ další tkáně



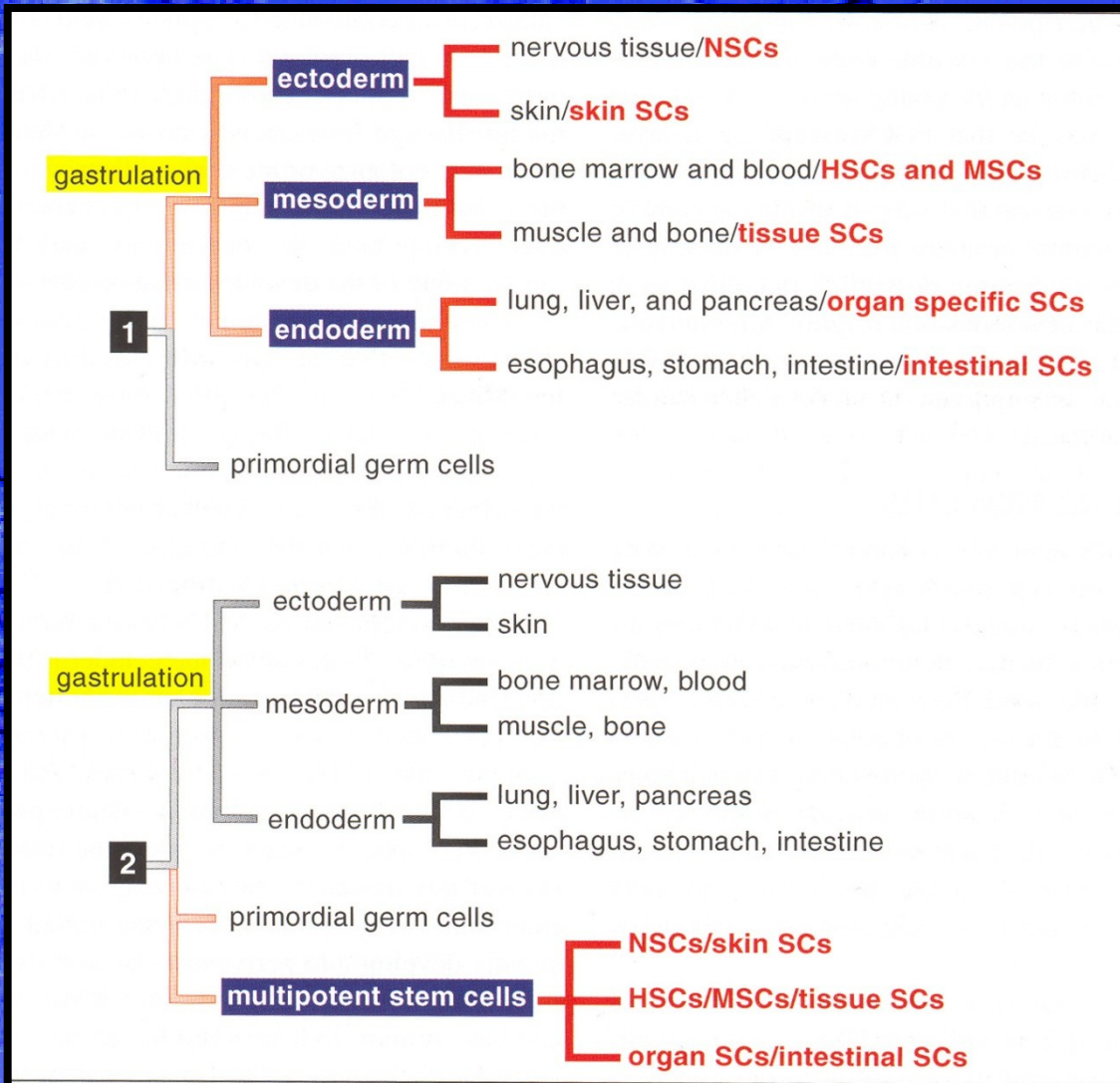
# Proč nás kmenové buňky tak zajímají?

- „neomezený“ zdroj nových buněk pro regeneraci tkání
  - => nezbytné pro zachování homeostázy
  - => zajímavé pro transplantace a buněčnou terapii
- „nemocné“ kmenové buňky
  - => vznik a relaps nádorových onemocnění
  - => poruchy ve schopnosti regenerace, růstu,...

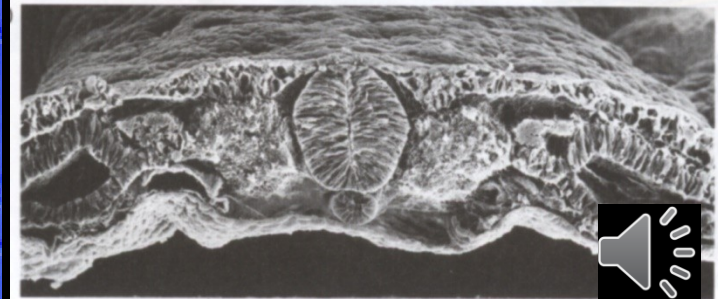
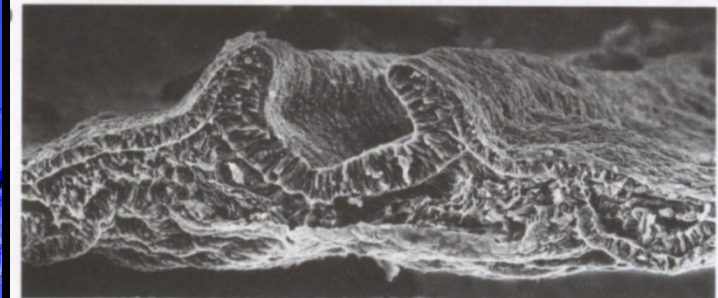
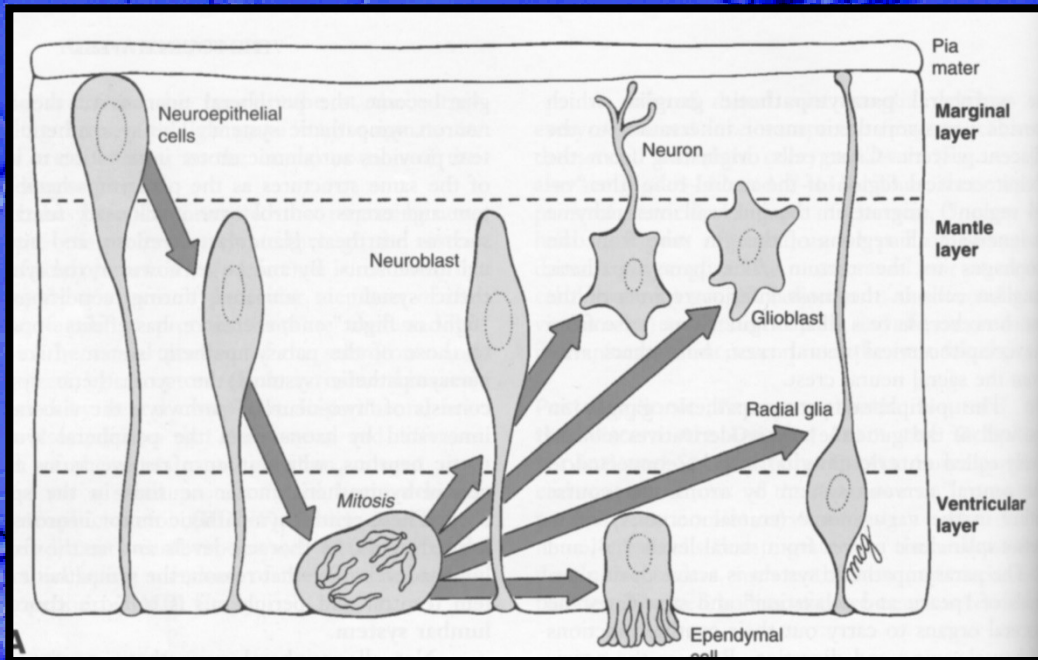
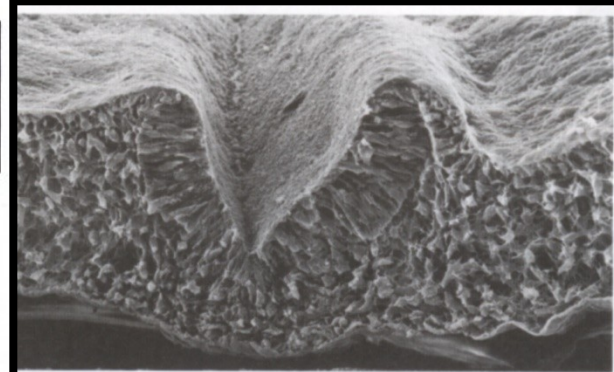
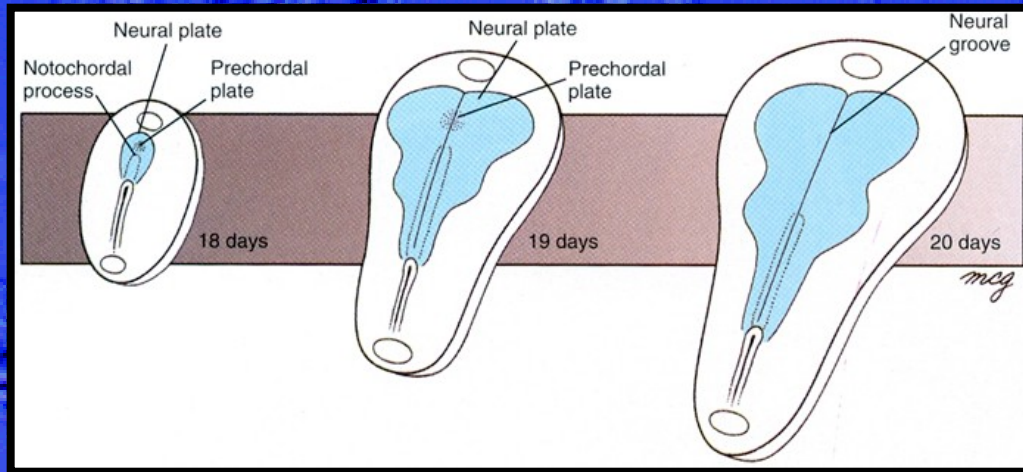


# A) Co nás na kmenových buňkách zajímá?

Jejich původ během ontogeneze, jak vznikají?

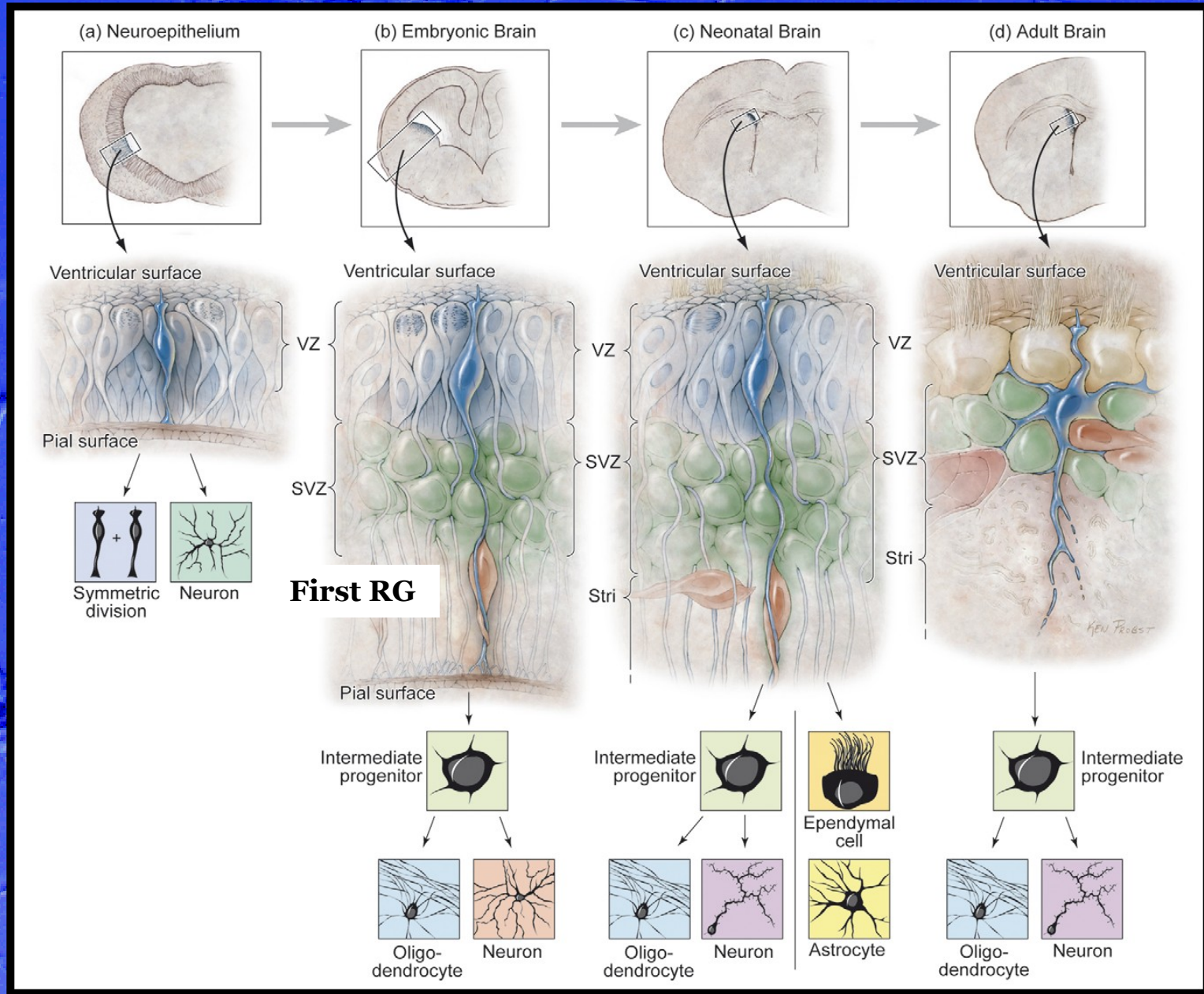


# Příklad: původ NSC, pozůstatek neurogenní populace z časně embryogeneze





# Neuroepithelium → radial glia (RG) → astrocyte-like NSC



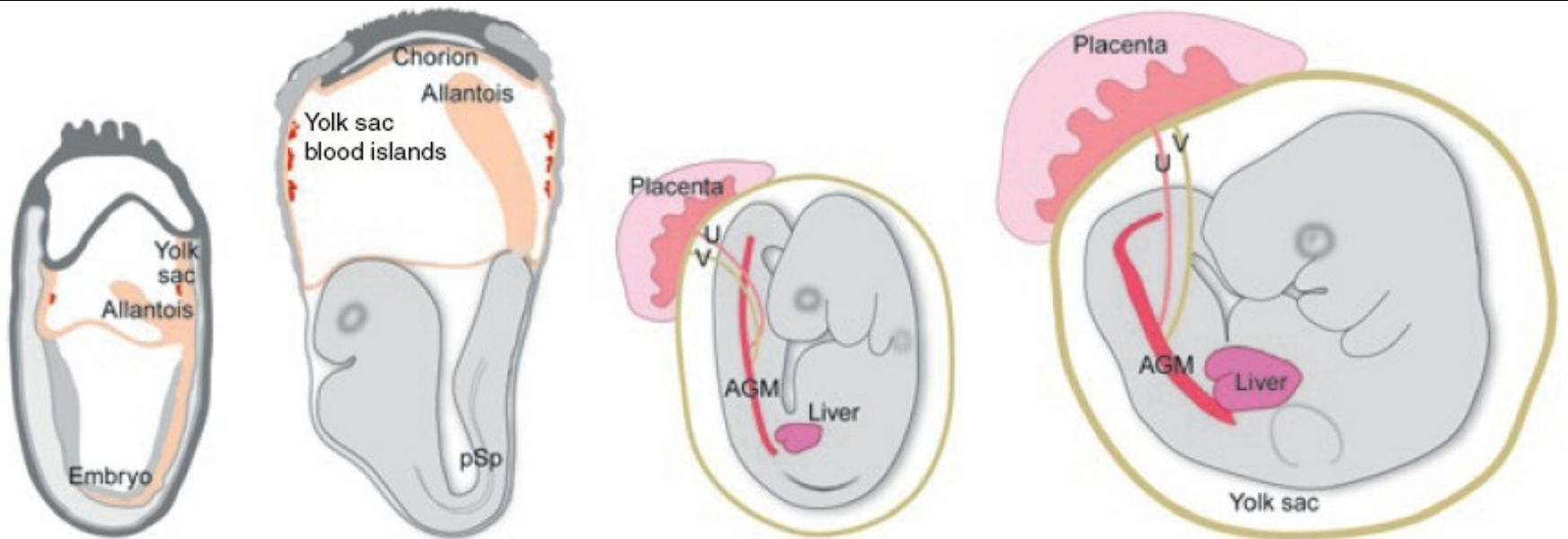
E8-9

E9-birth

(Merkle 2006)

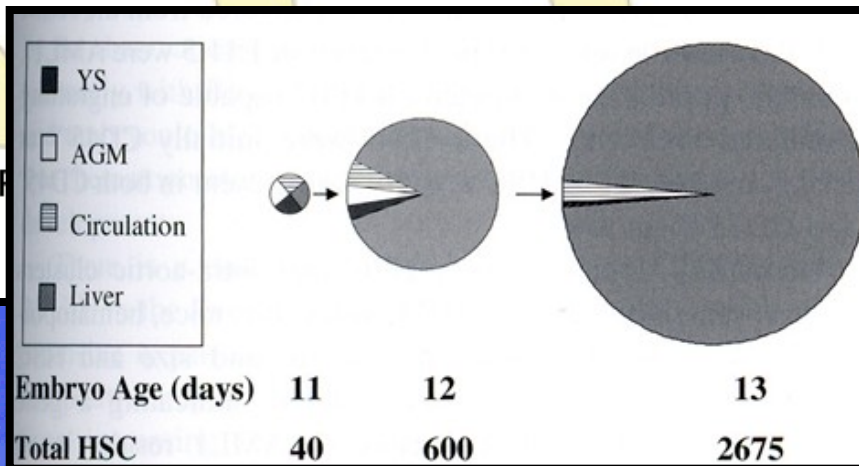


# Původ hematopoetických/krvetvorných kmenových buněk



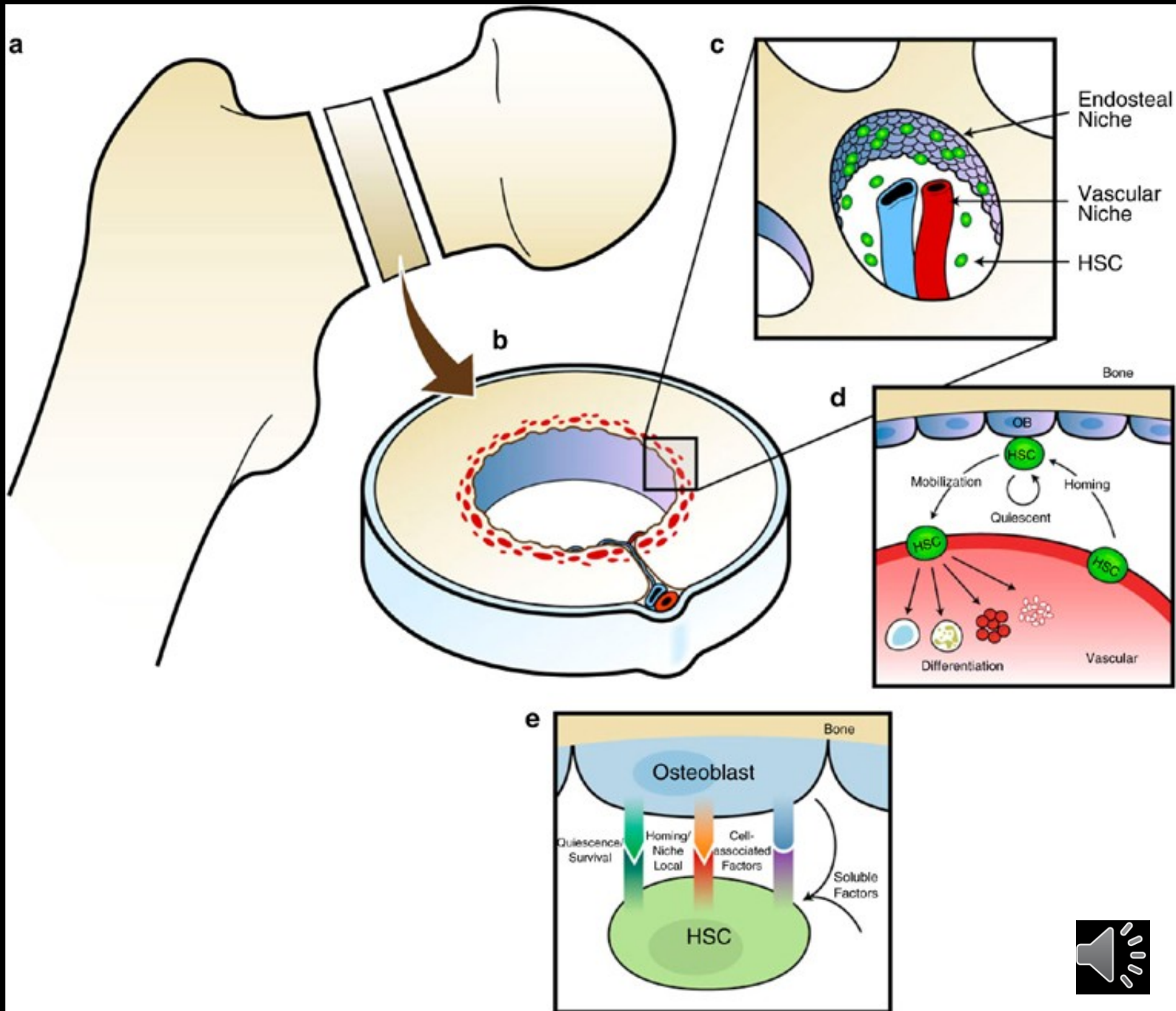
Hemangioblast

Hemogenic endothelium



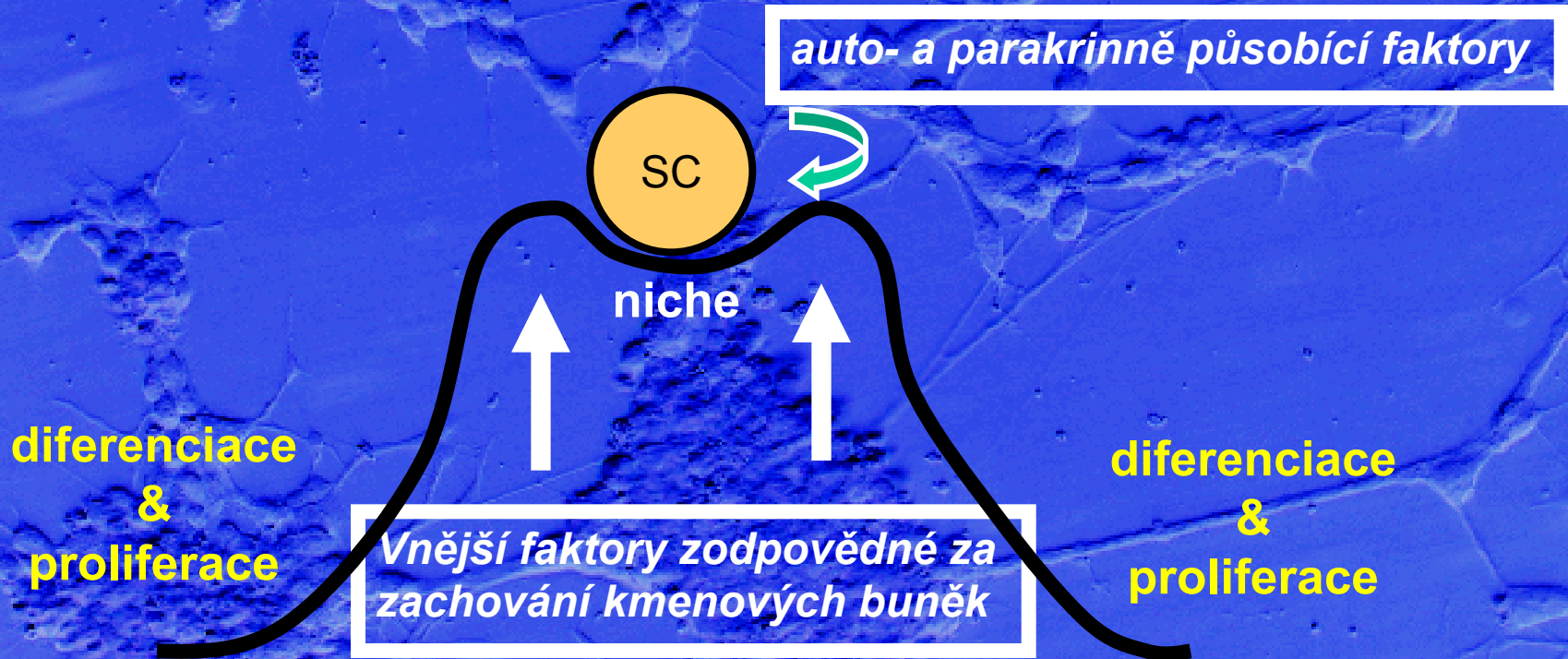
	Meta-definitive	Adult-definitive
CFU-S		
Neonatal HSCs		
HSCs		





## B) Co nás na kmenových buňkách zajímá?

Jaké vnější a jejich vnitřní faktory regulují jejich existenci?

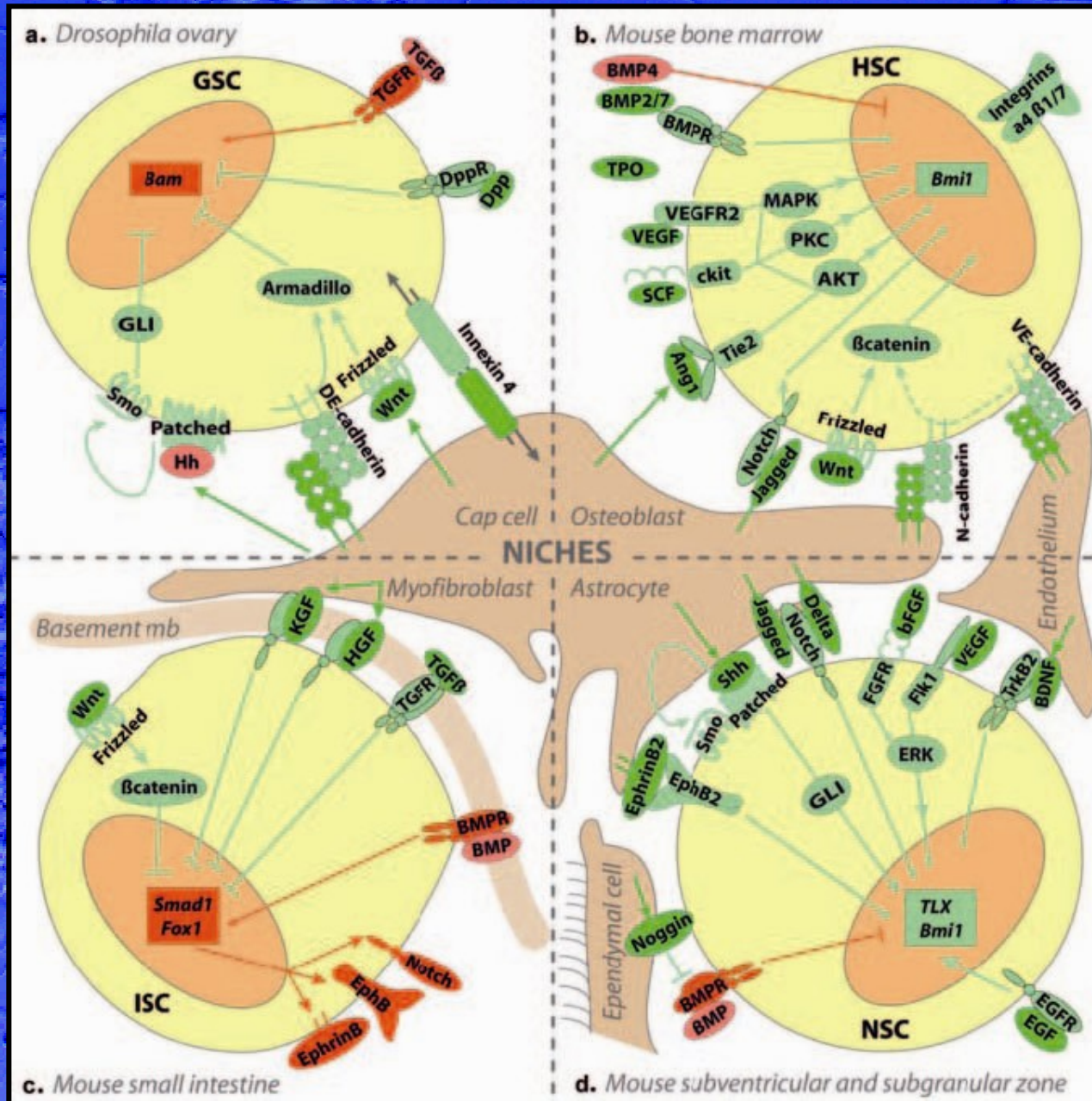


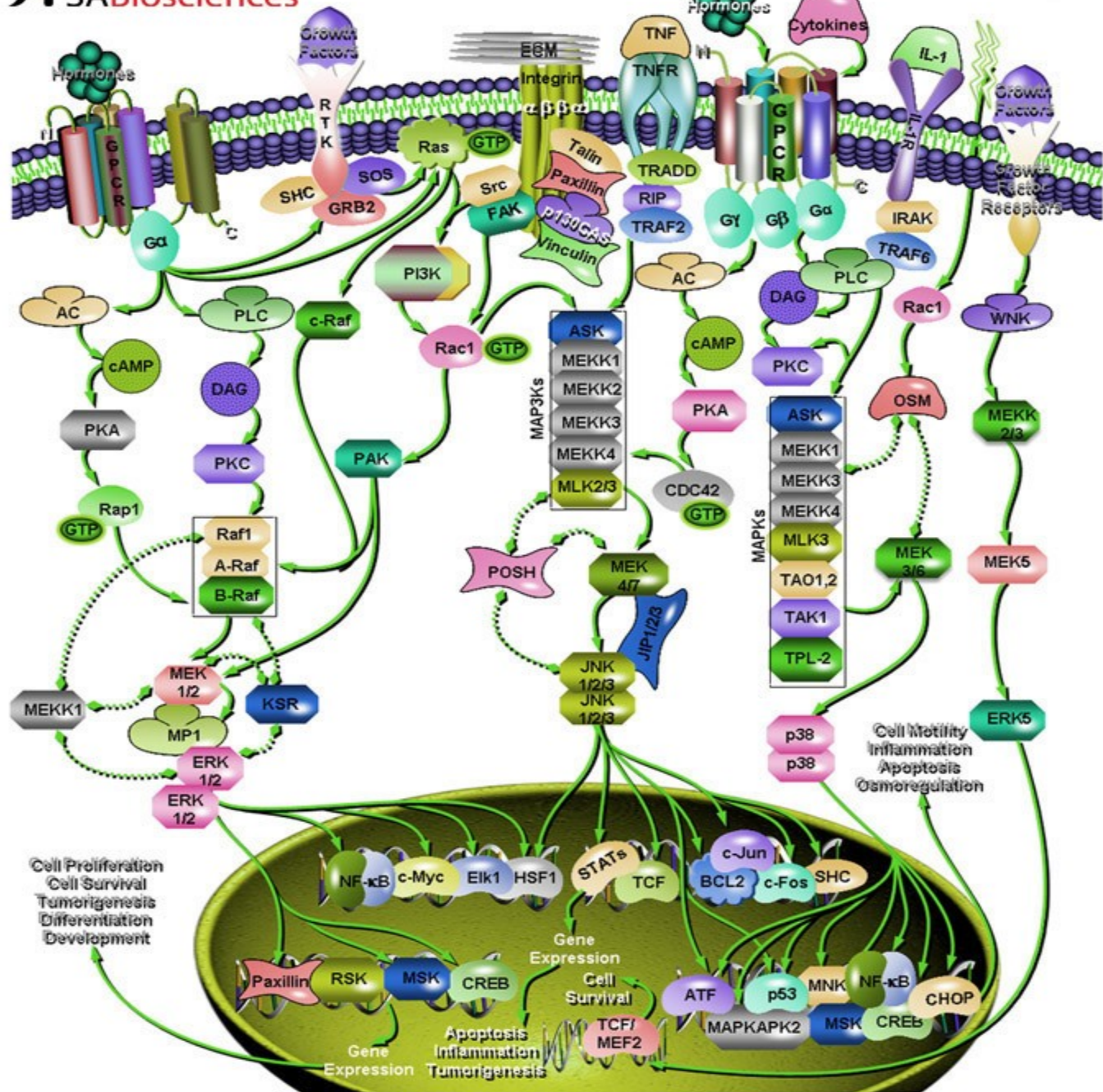
Diferenciace = rozrůžňování => vznik jiných typů buněk  
Proliferace = dělení buněk => zvyšování počtu buněk



# Niche

(Naveiras, 2006)

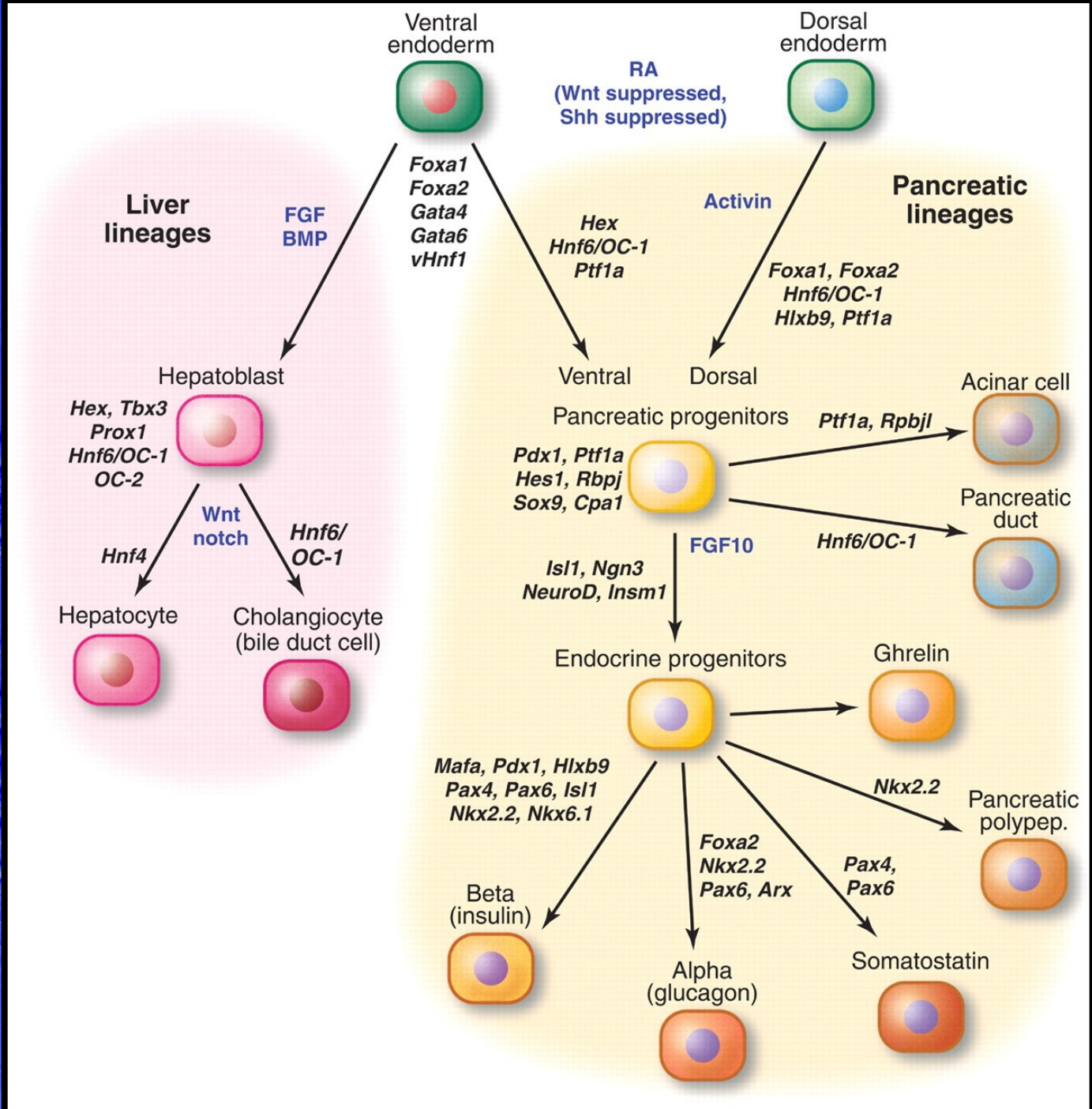




# Verifikace kmenových buněk sebeobnova x schopnost diferenciaci

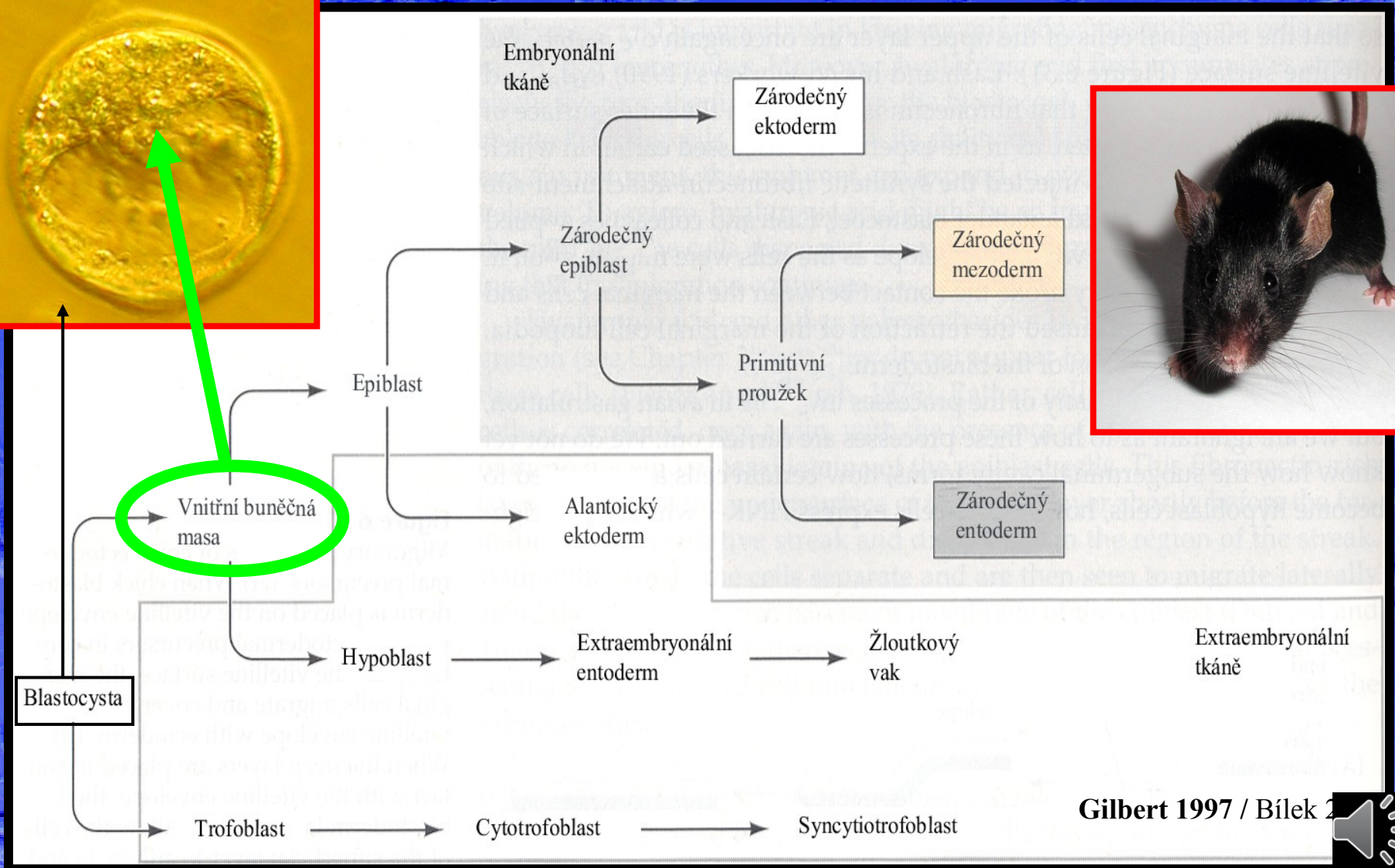
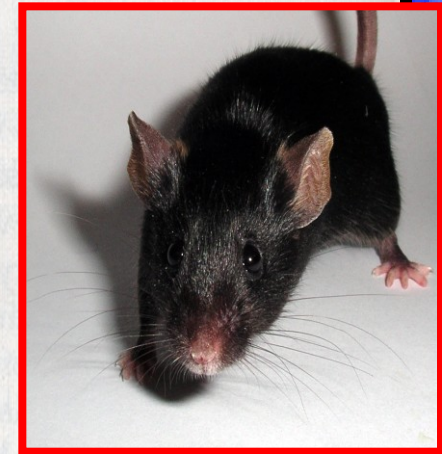
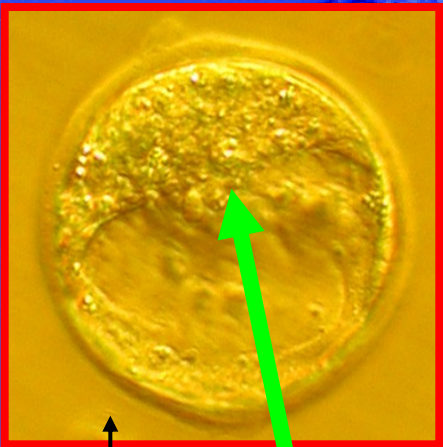
- ❖ specifické znaky/markery a vlastnosti (vývojově specifické)
- ❖ sebeobnova - nesmrtelnost
- ❖ diferenciaci in vitro
- ❖ diferenciaci in vivo





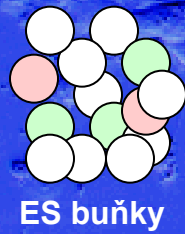


# Embryonální kmenové buňky (ES - embryonic stem cell)

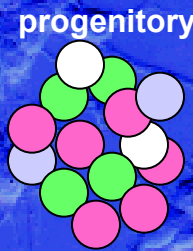


# Model pro studium vzniku a zachování somatických kmenových buněk

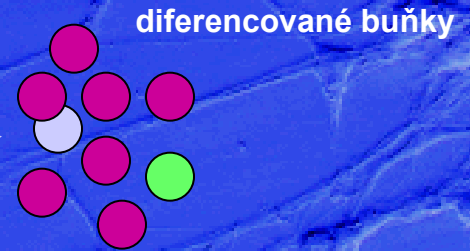
kultivace



indukce

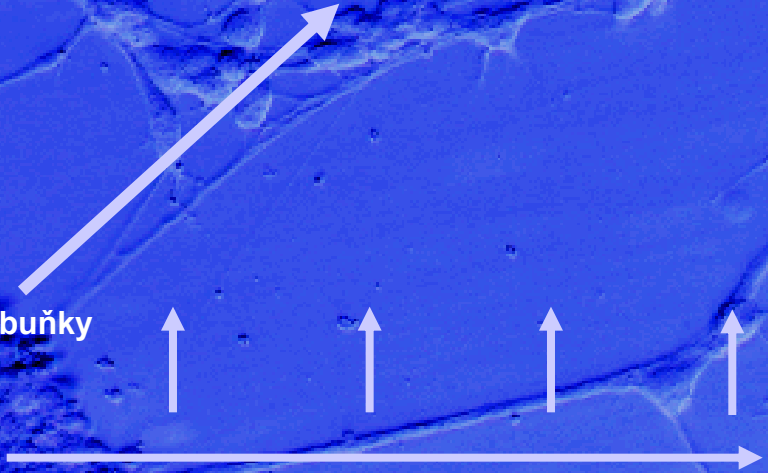
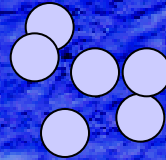


selektce

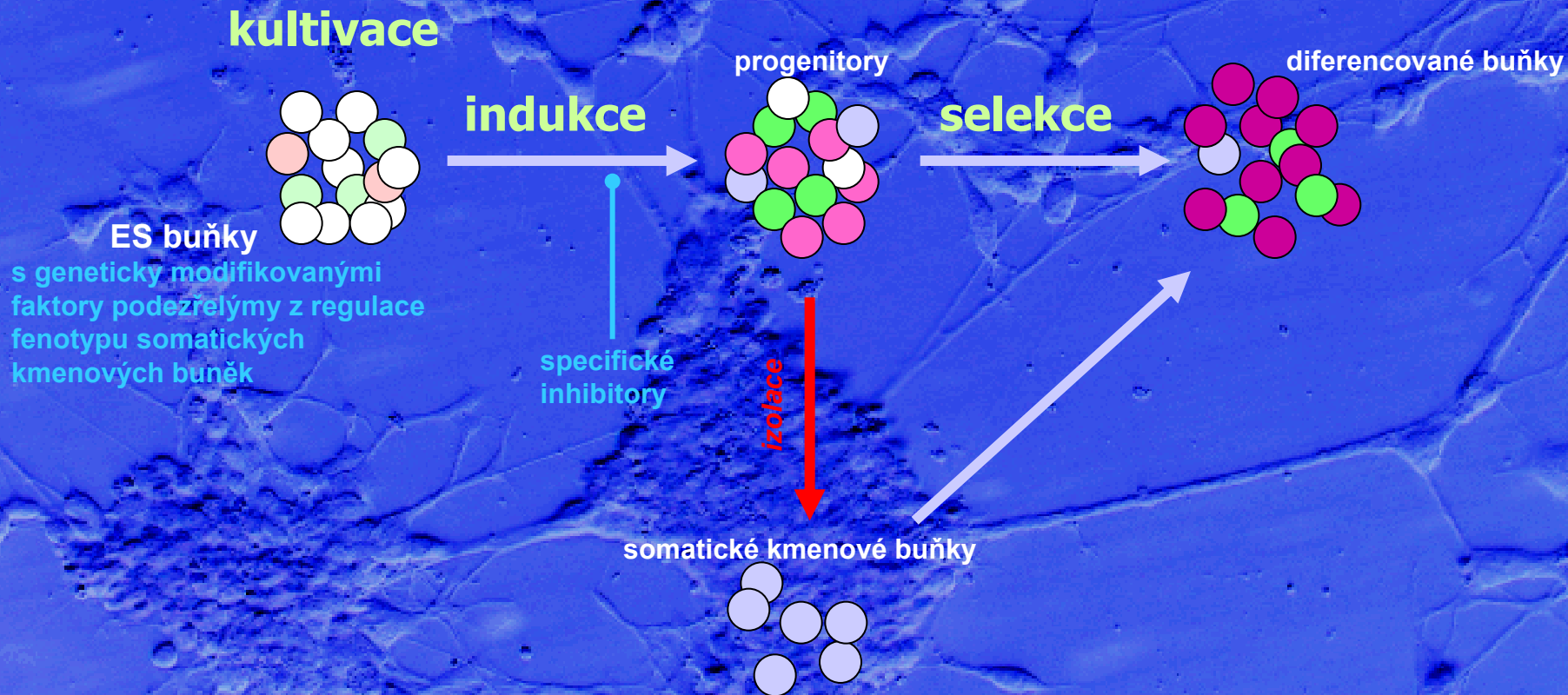


izolace

somatické kmenové buňky



# Model pro studium vzniku a zachování somatických kmenových buněk v našich experimentech

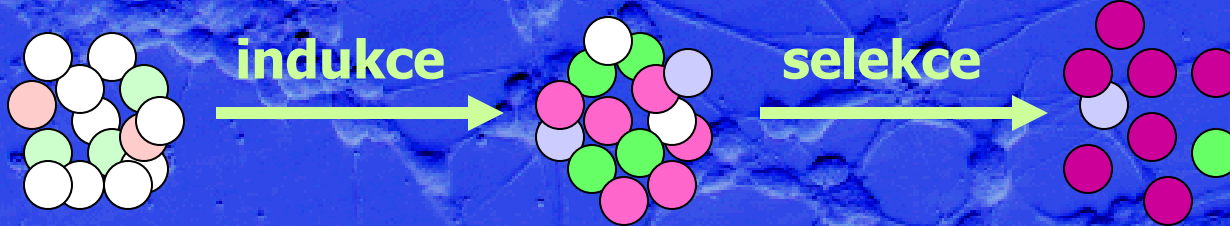


- četnost vzniklých somatických kmenových buněk
- jejich vlastnosti (fenotyp a potenciál pro další diferenciaci)



# Diferenciace ES buněk *in vitro*

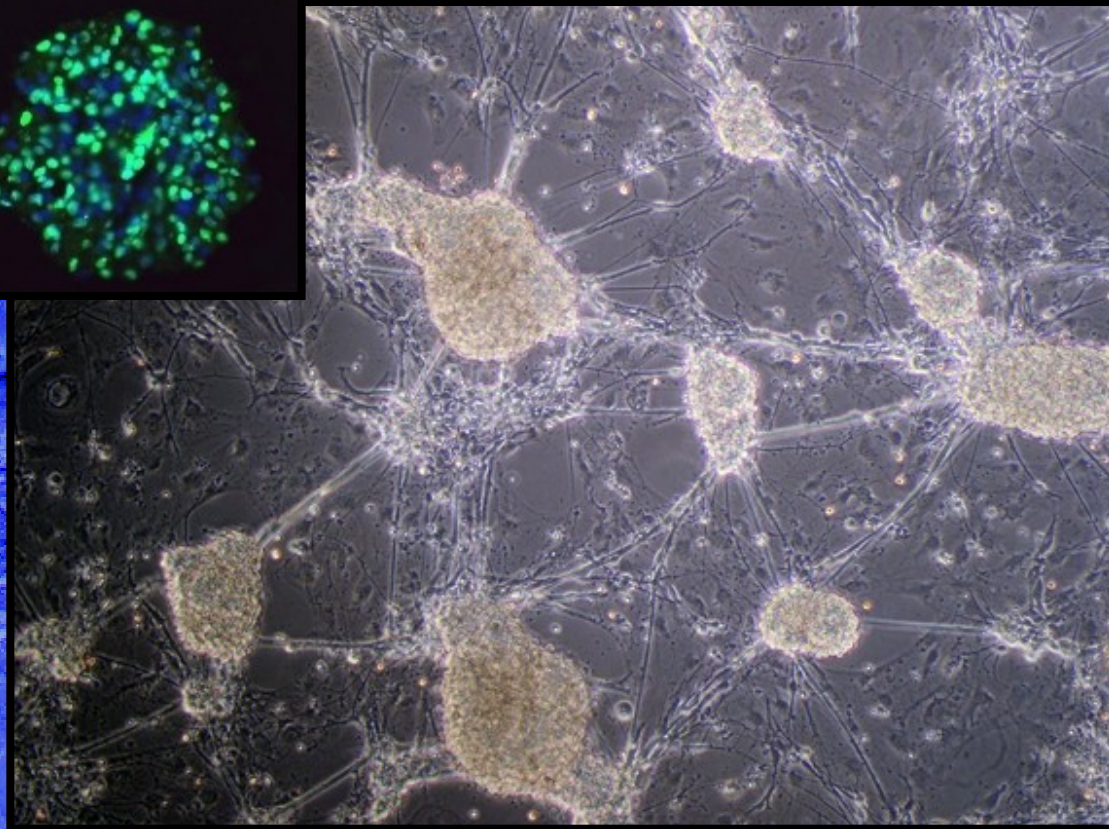
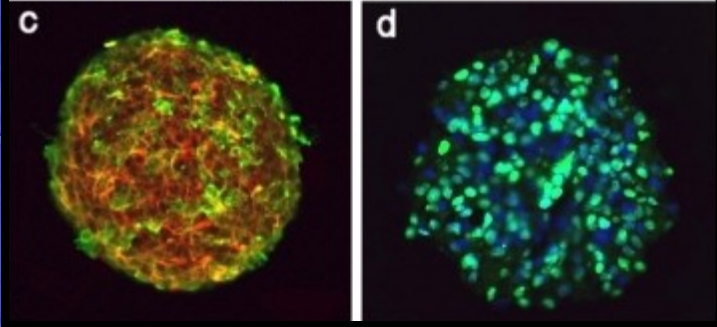
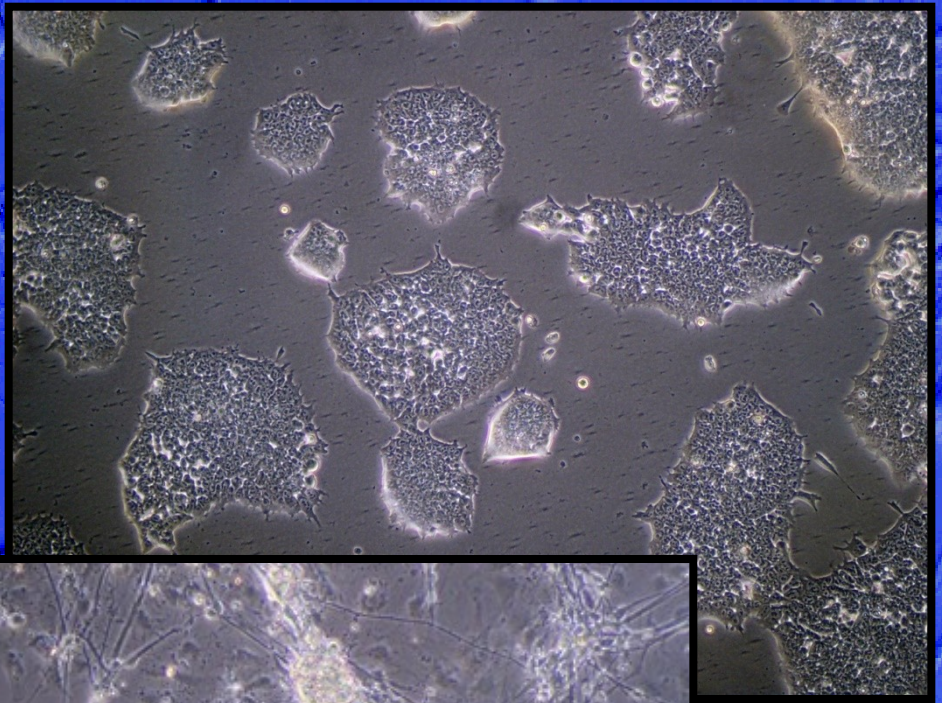
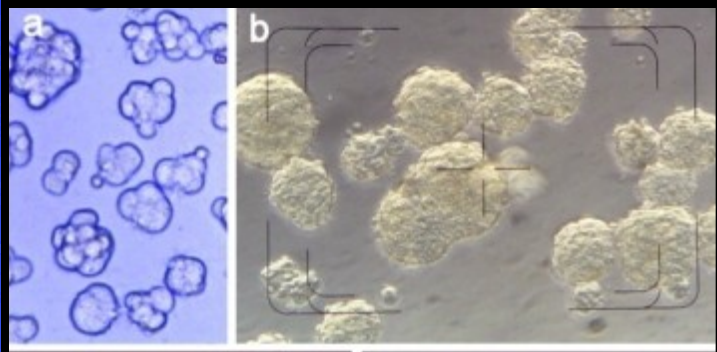
kultivace



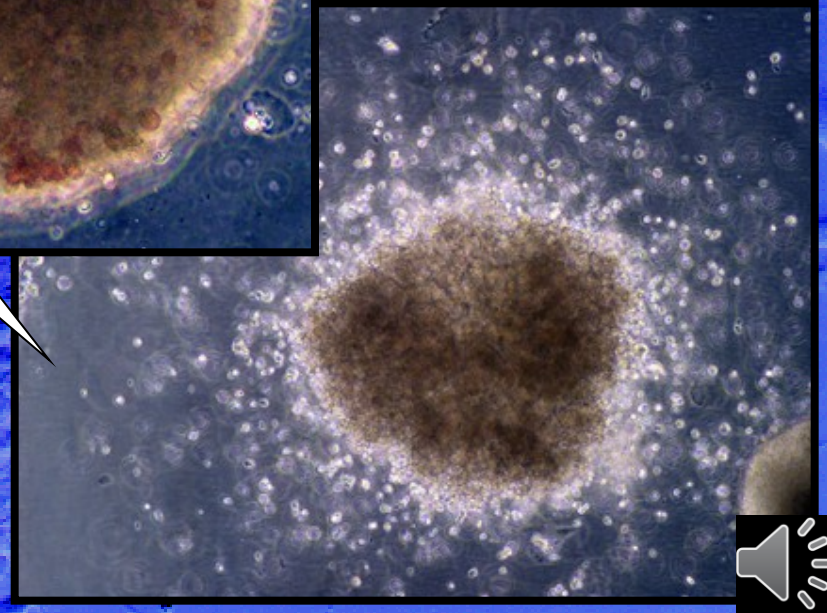
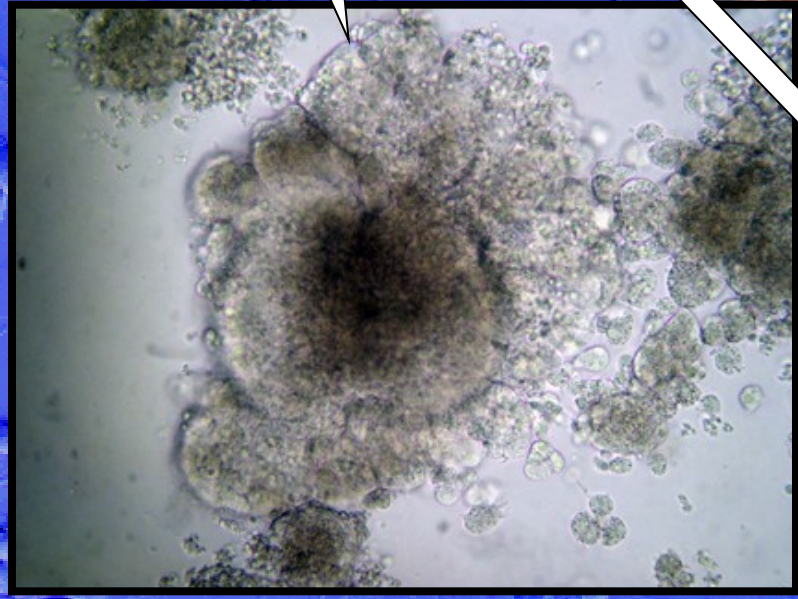
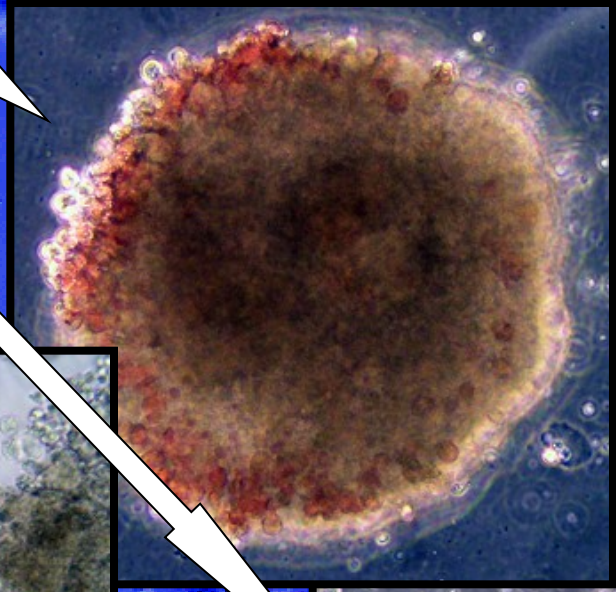
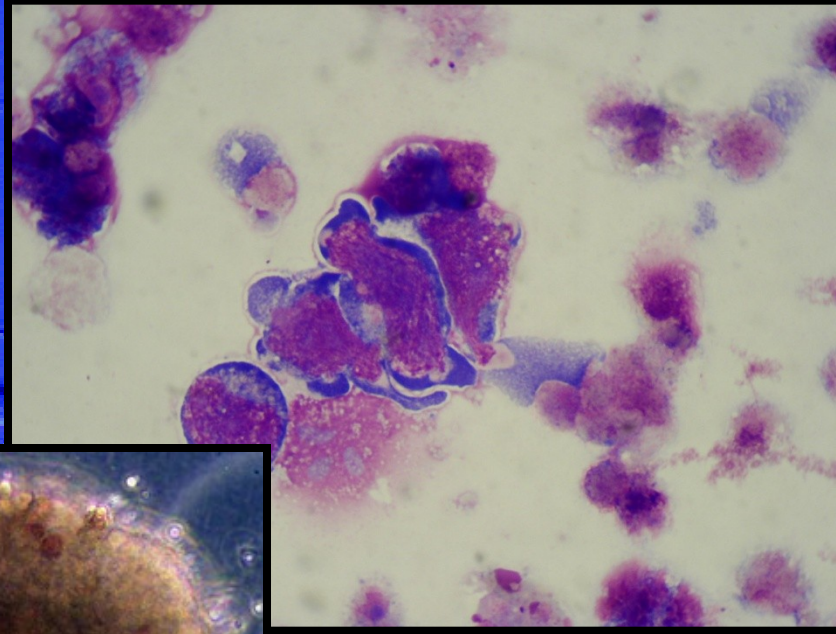
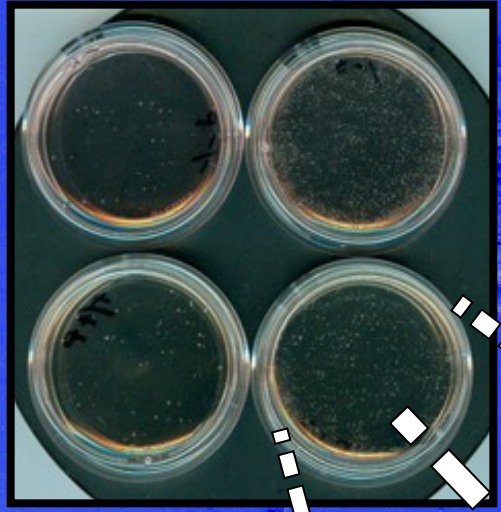
embryoidní tělíska



# Neurogeneze

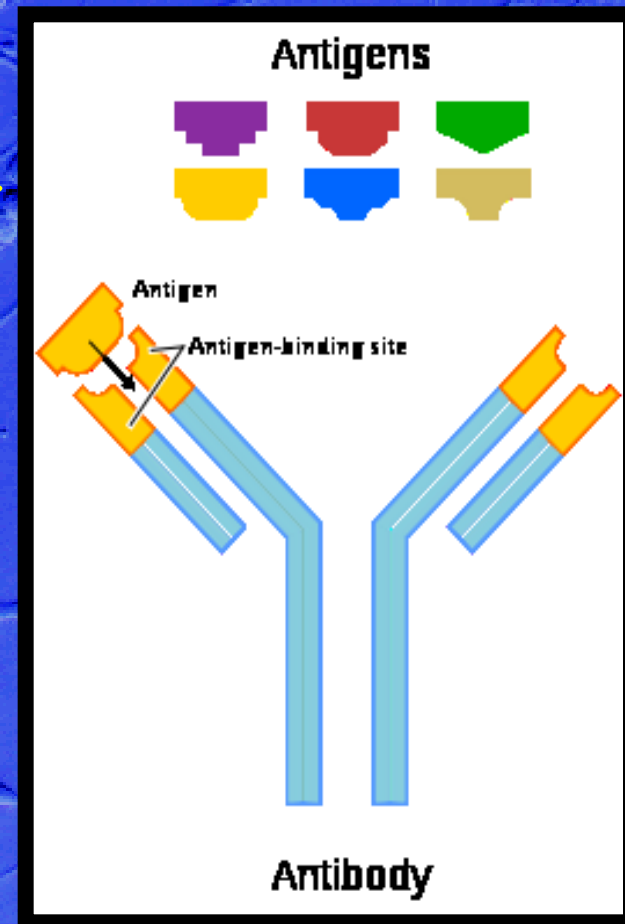


# Hematopoéza



# Protilátky - Ab = antibody

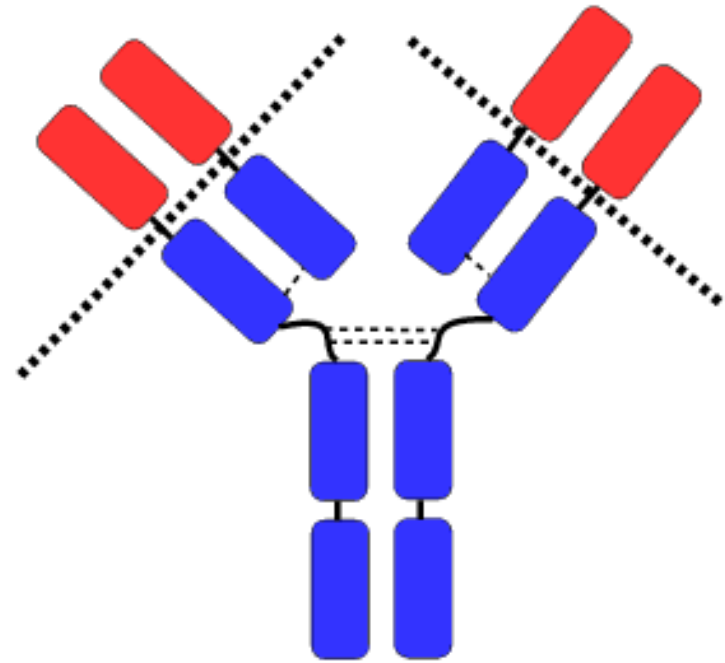
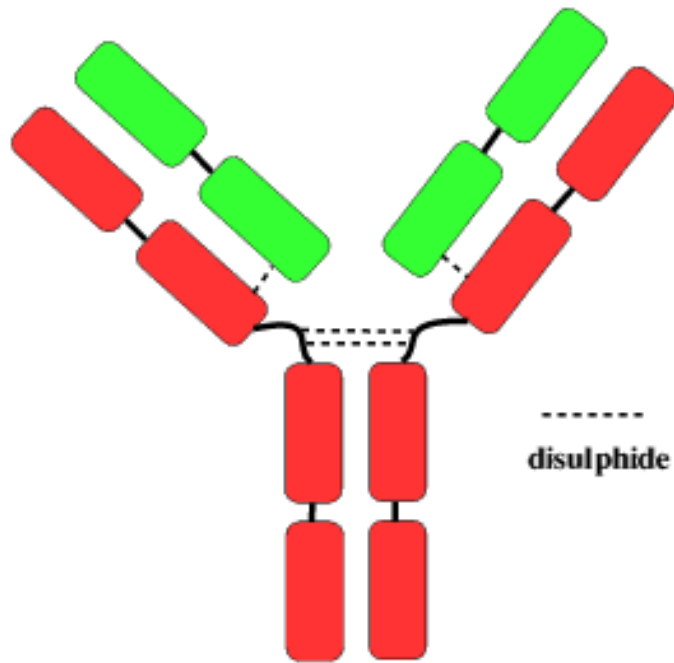
- produkt plasmatických buněk (zralé B-lymfocyty)
- bílkovina/protein, 4 proteinové řetězce, 2 lehké a 2 těžké
- rozpoznání cizorodého materiálu - antigenu  
=> regulace imunitních/obranných reakcí
- detekce antigenů ve výzkumu
- antigen - látka na kterou je protilátka se schopná specificky navázat
- imunogen - struktura schopná vyvolat tvorbu protilátek
- monoklonální x polyklonální => dle původu (jeden nebo více klonů produkujících buněk)
- primární x sekundární x terciální => dle použití...



## Basic structure of an Antibody

Light chain

Variable region



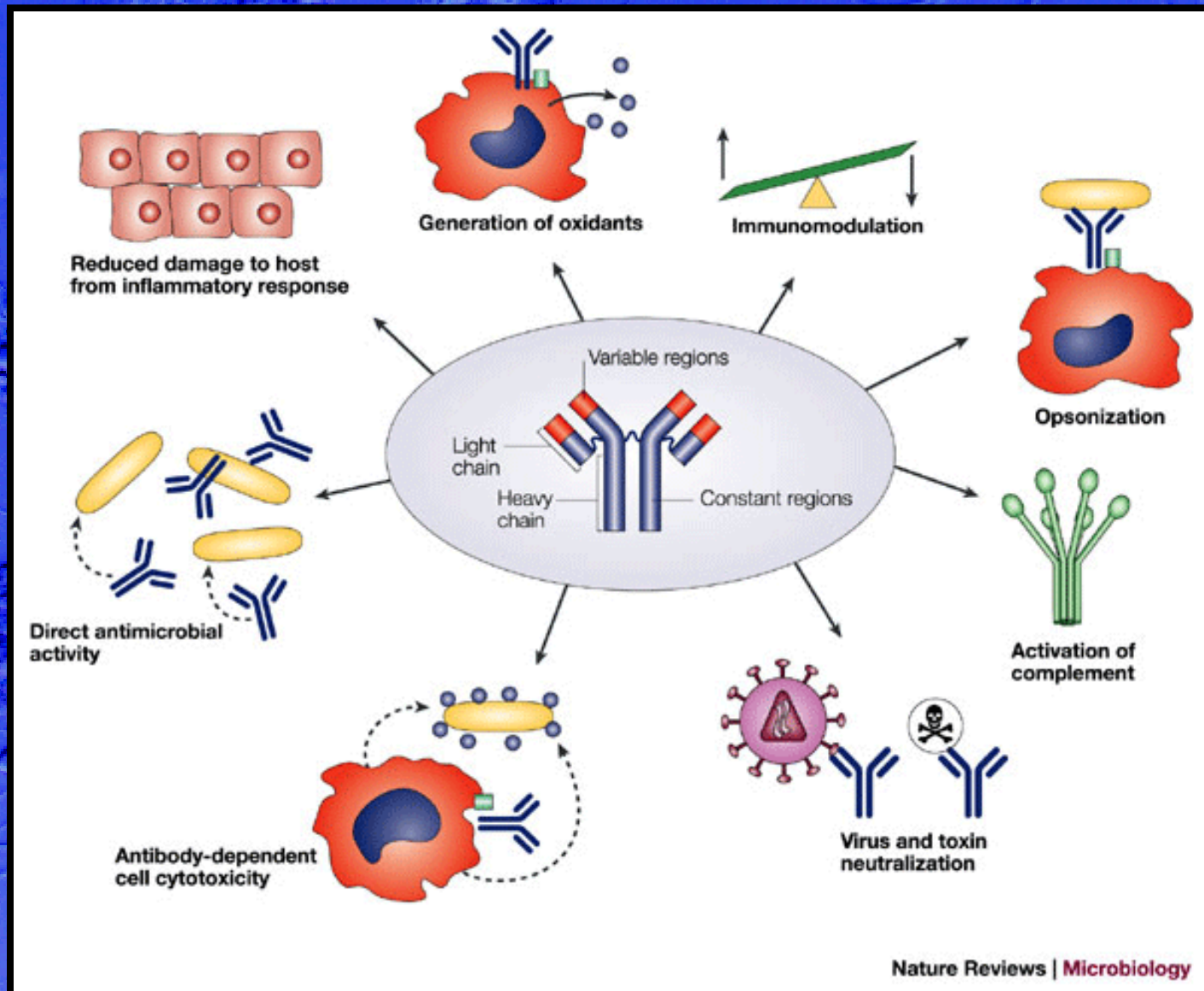
Heavy chain

Constant region



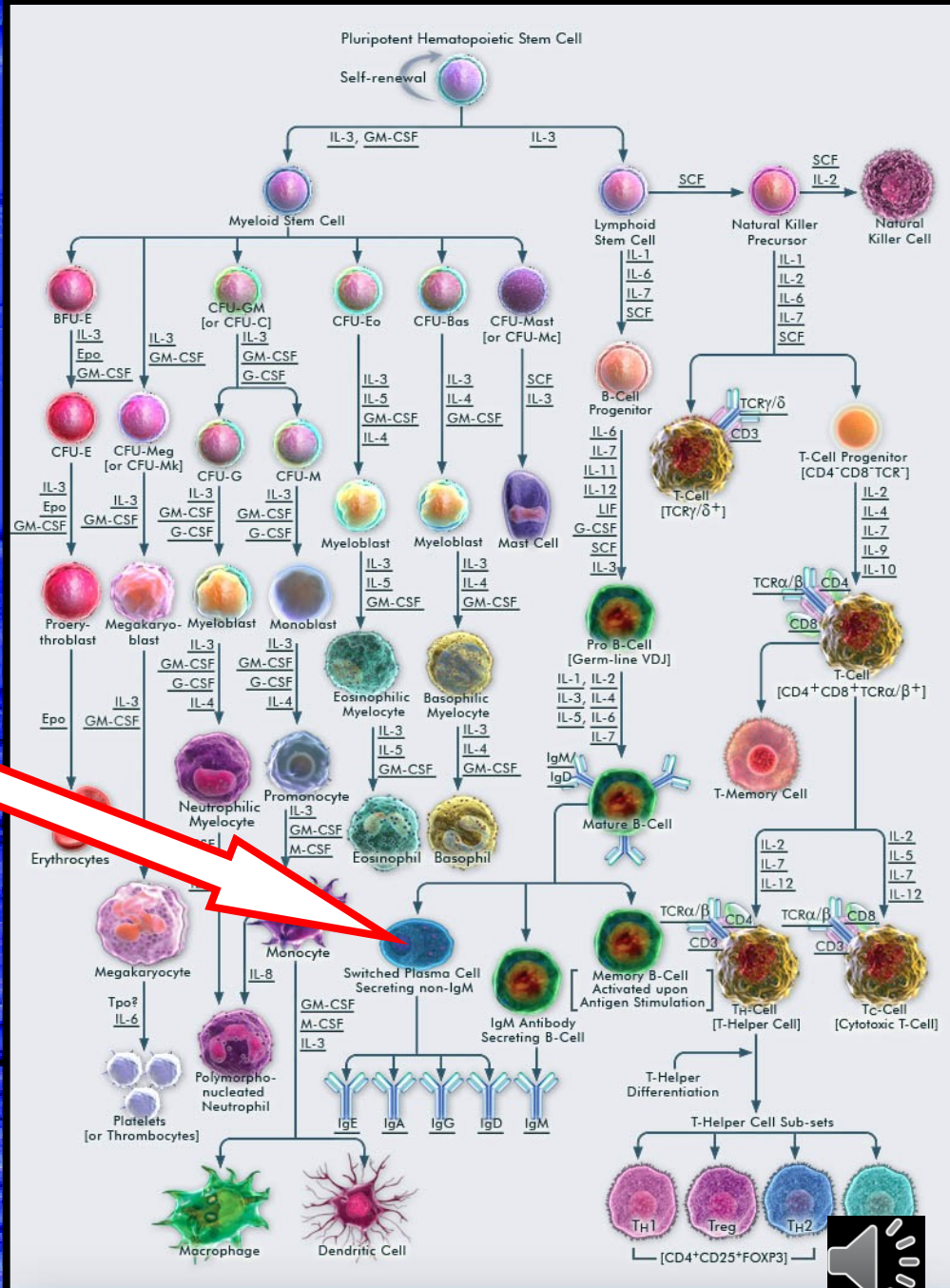
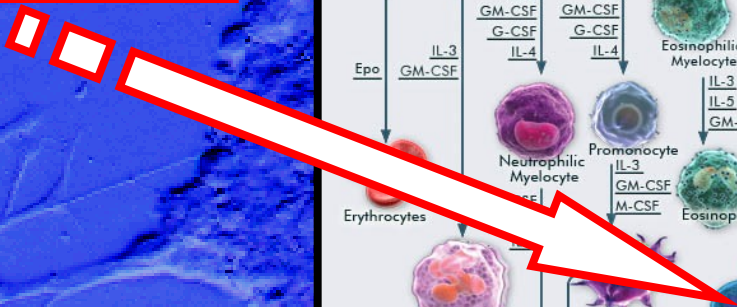


# Úloha protilátek v organismu



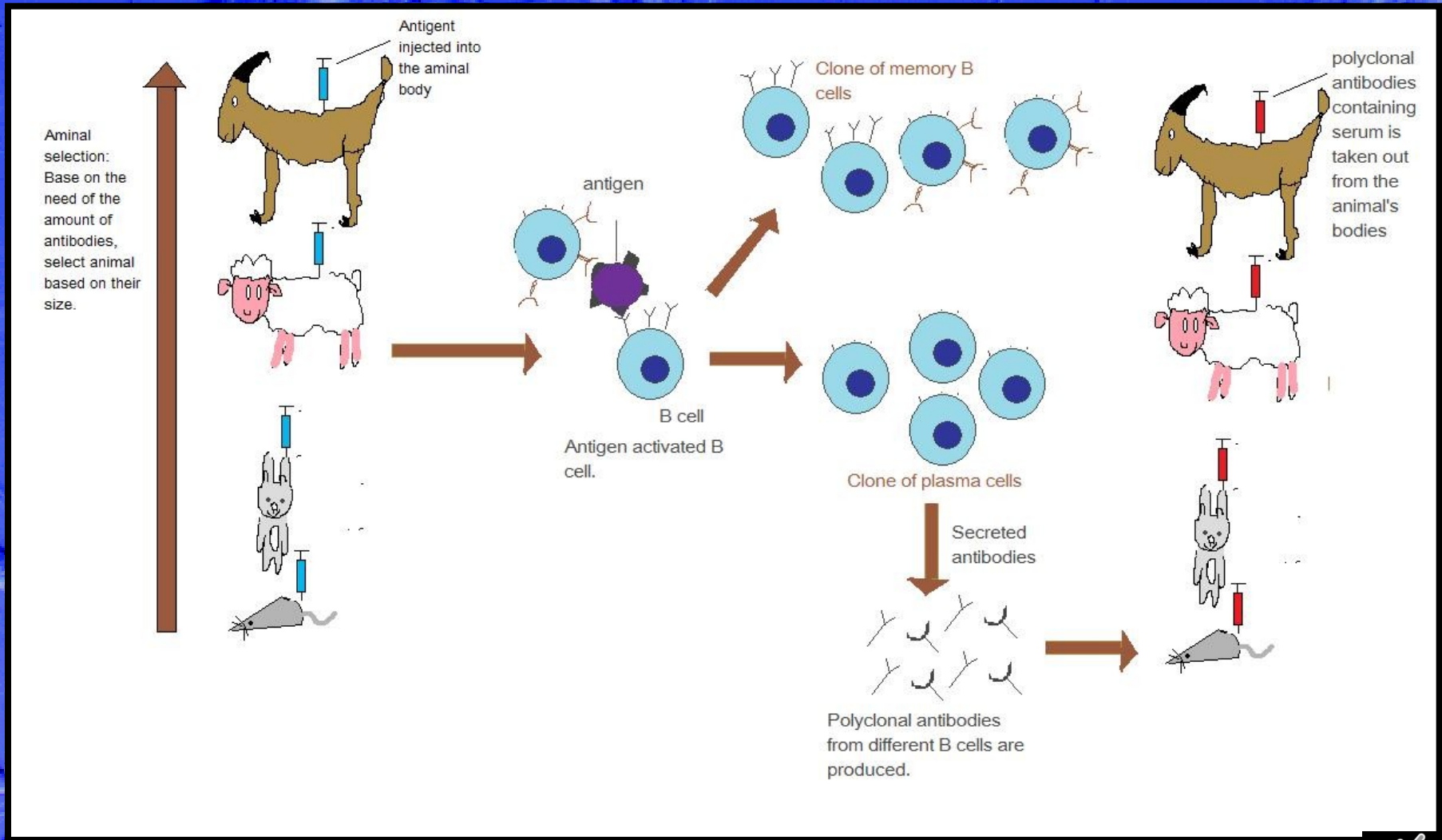
# Kde protilátky vznikají?

Jsou produkovány plasmatickými B-lymfocyty!



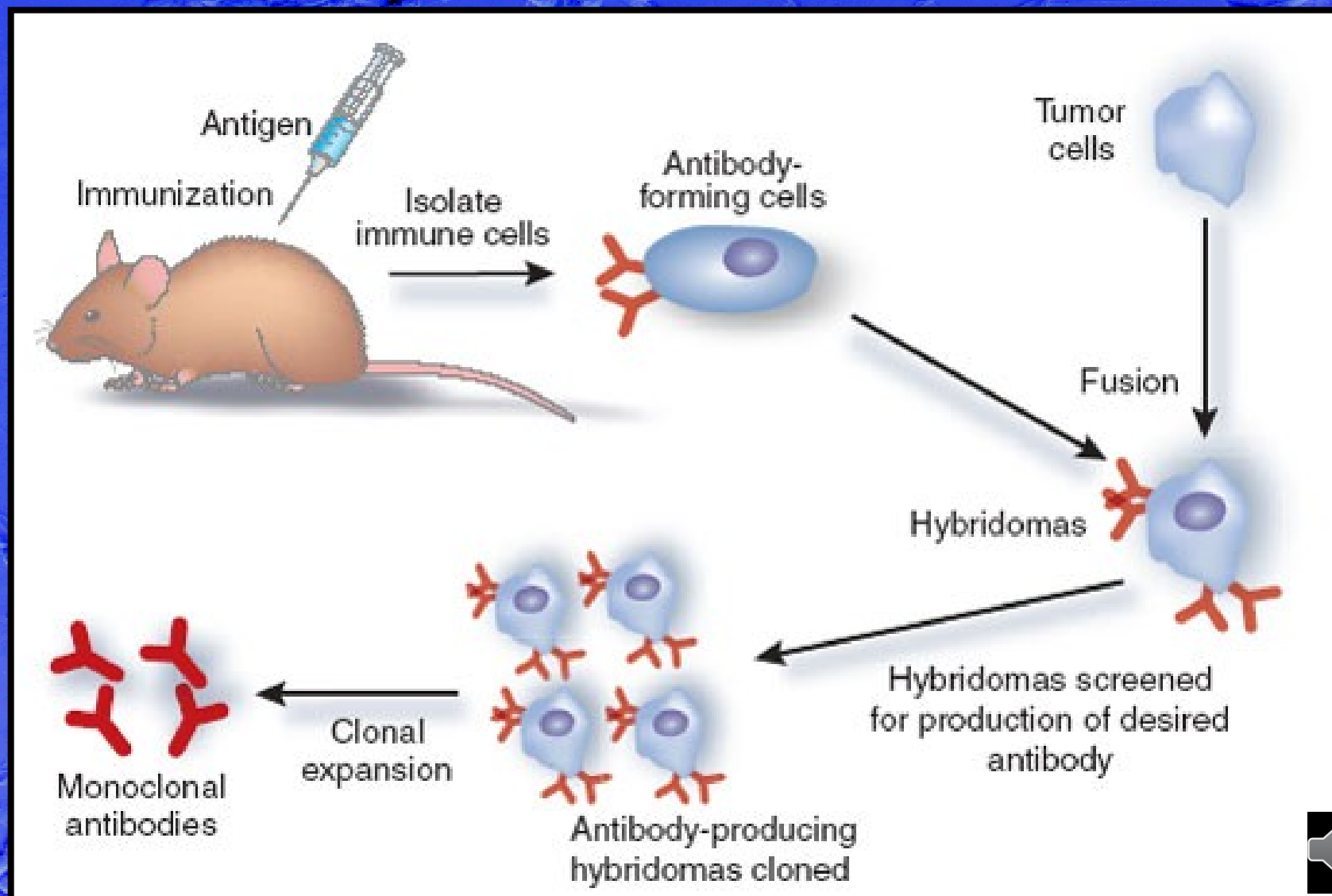
# Polyklonální protilátky

- původem z více klonů

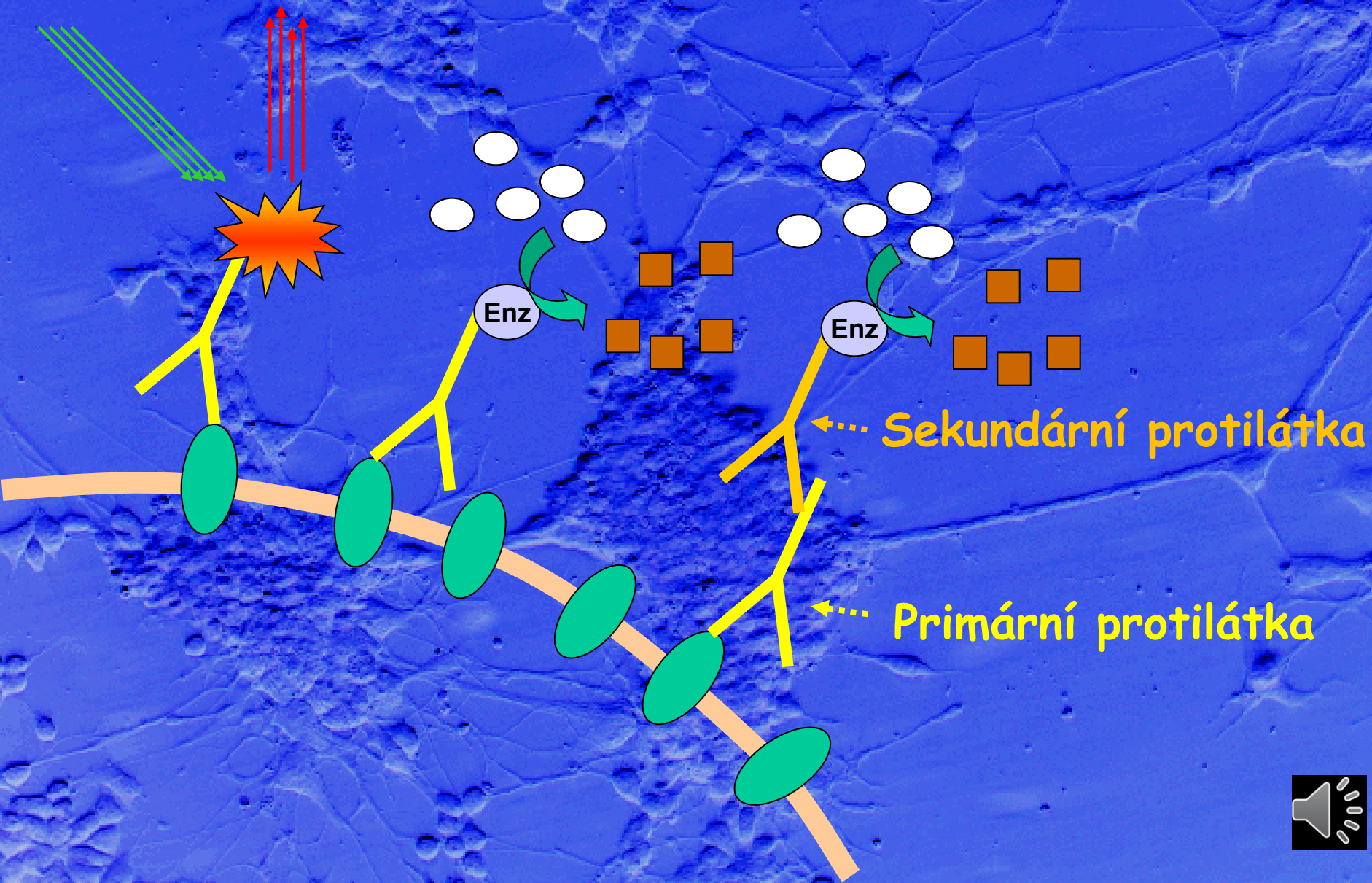


# Monoklonální protilátky

- původem z jediného klonu!!!



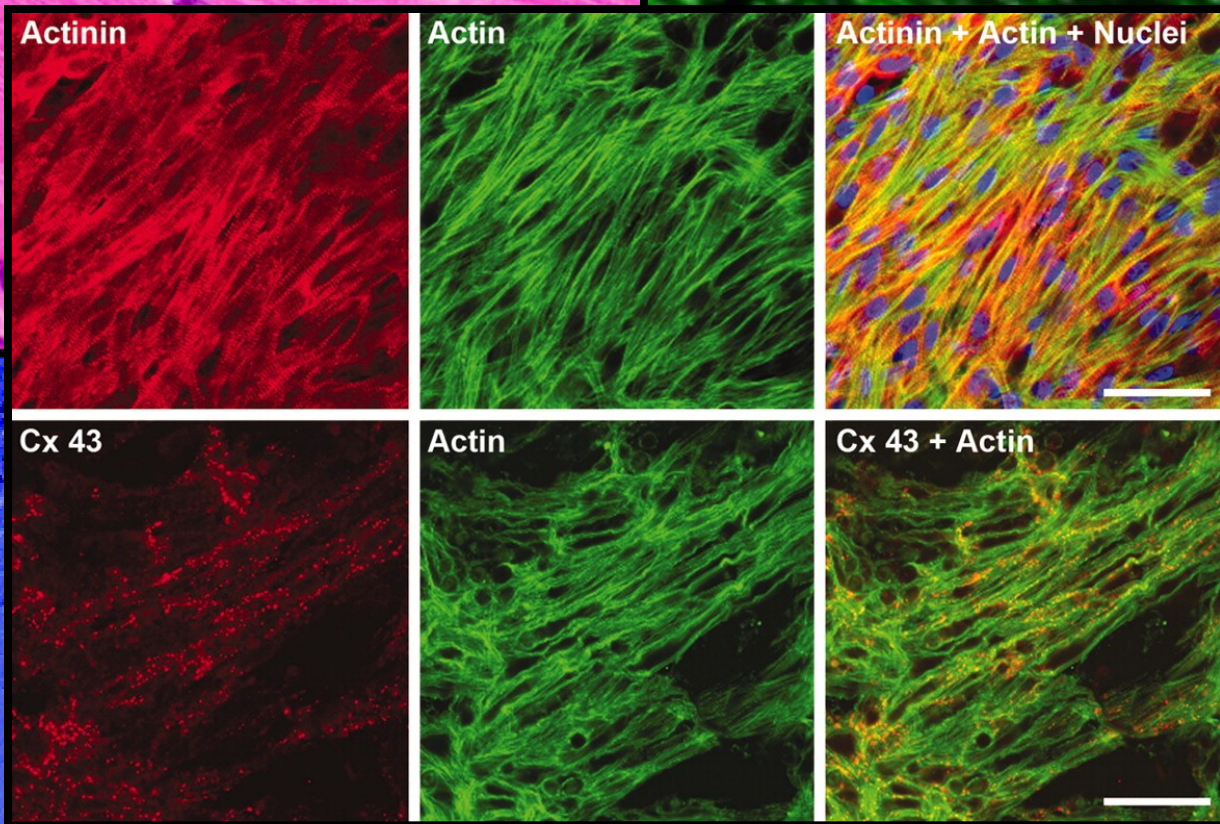
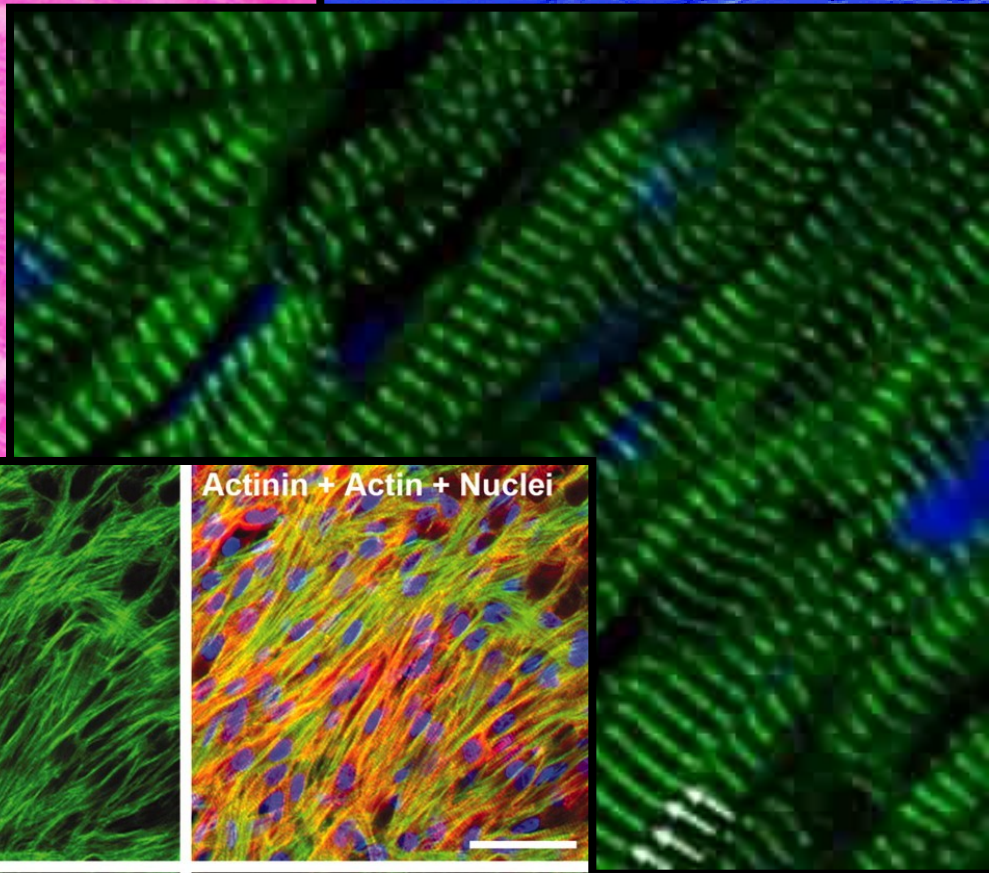
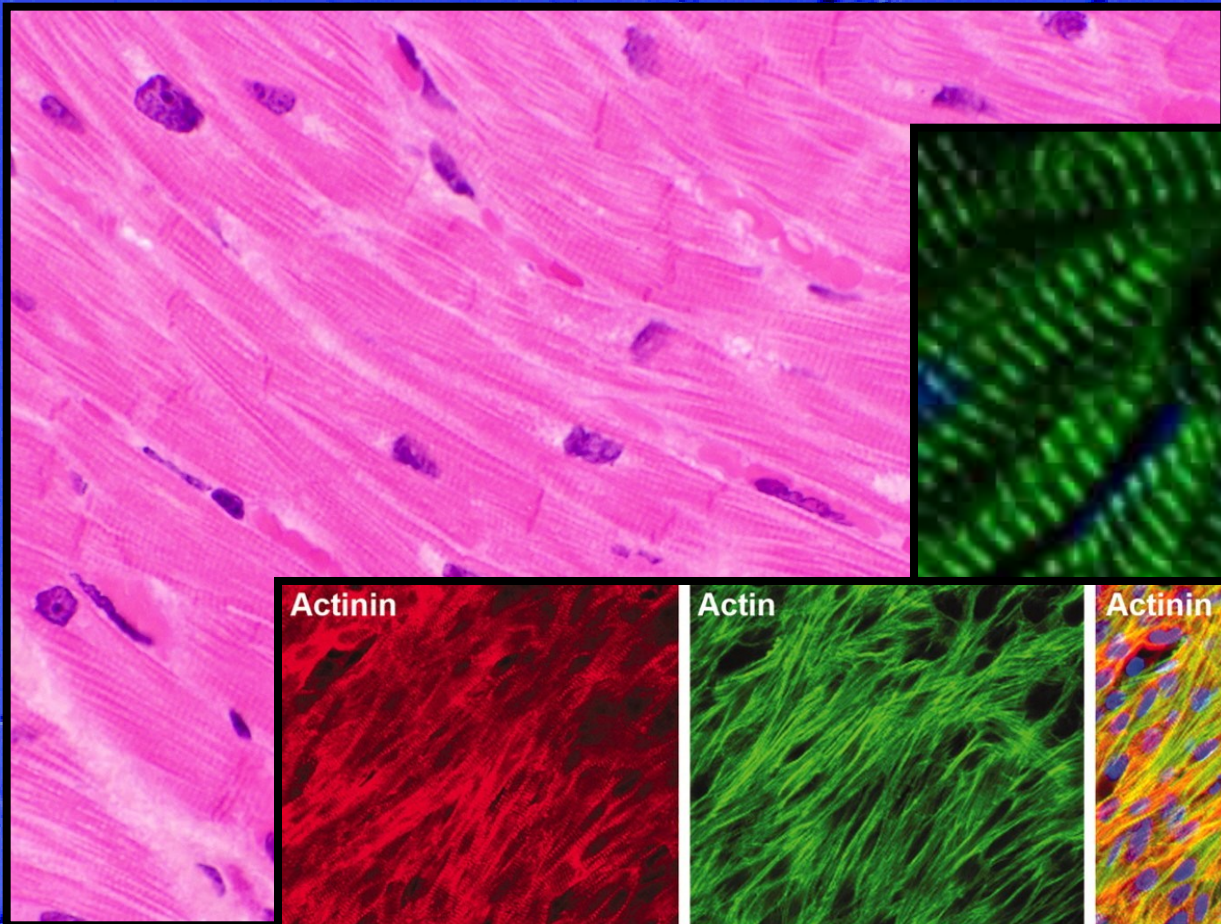
# Schematický princip imunodetekce

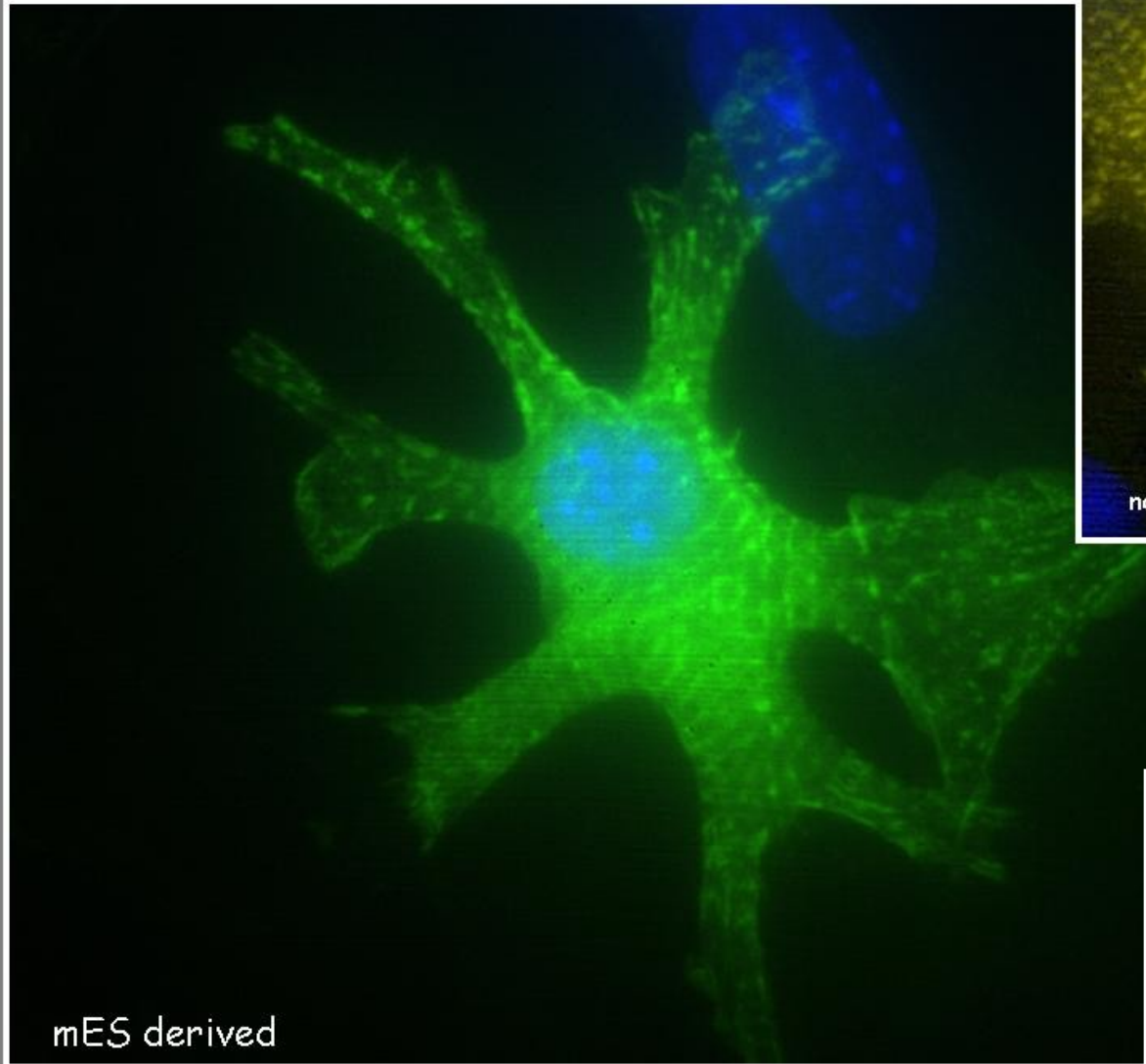


← Sekundární protilátka

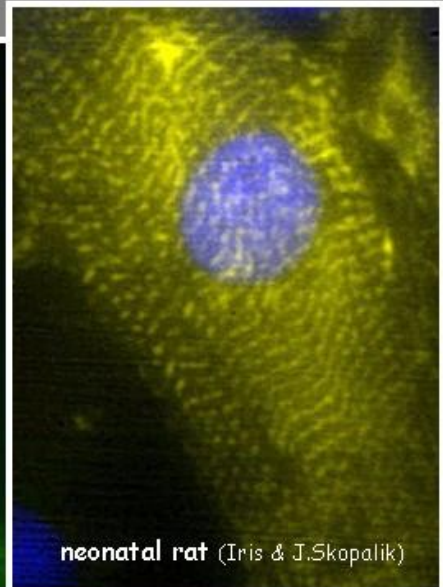
← Primární protilátka



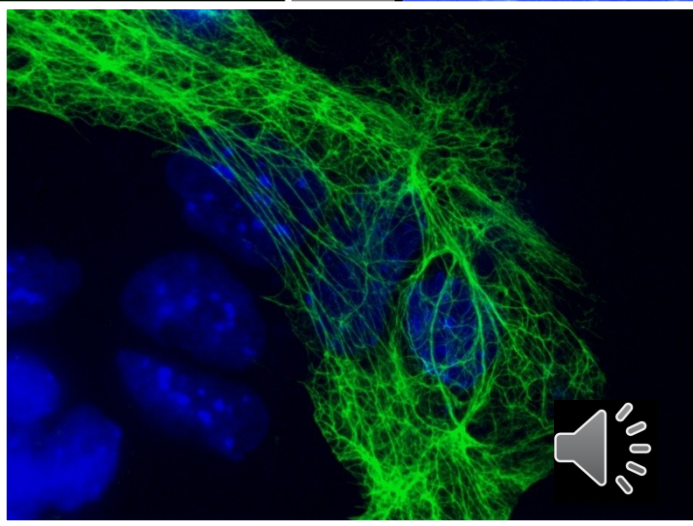


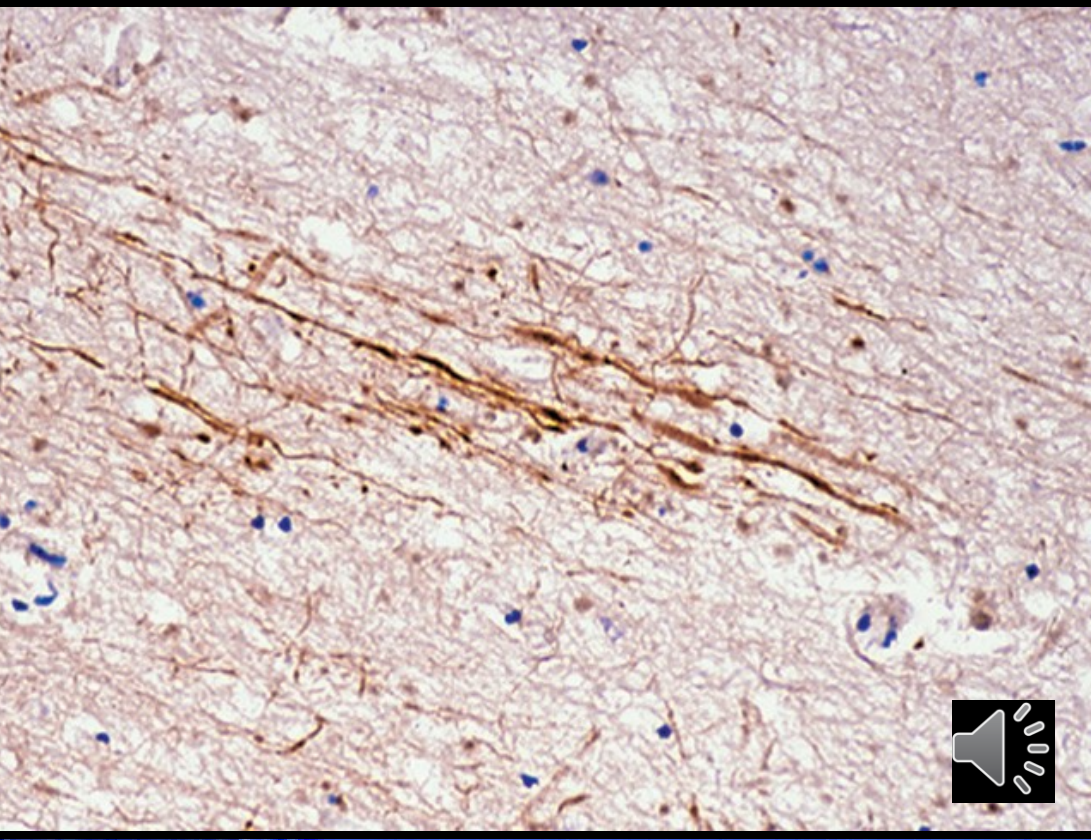
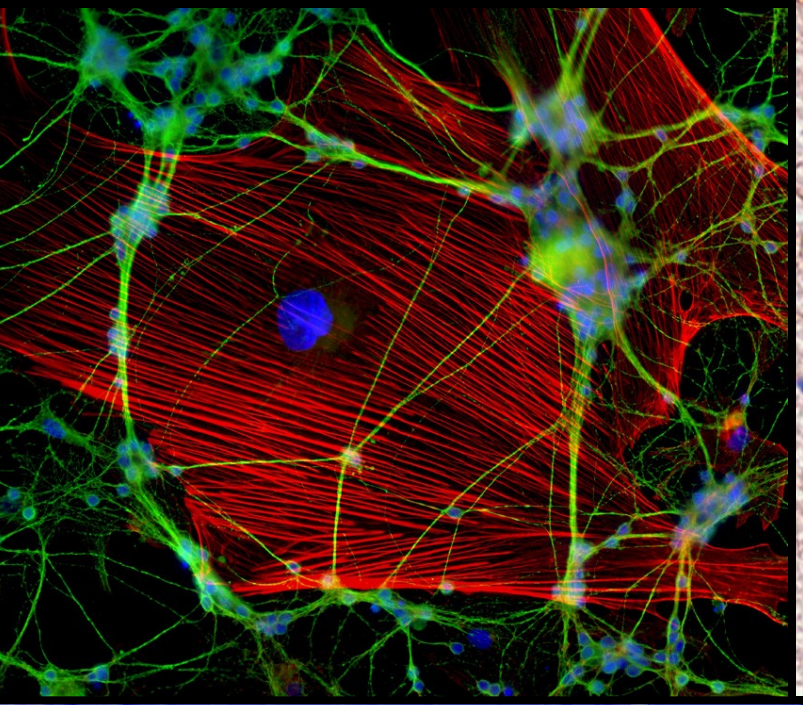
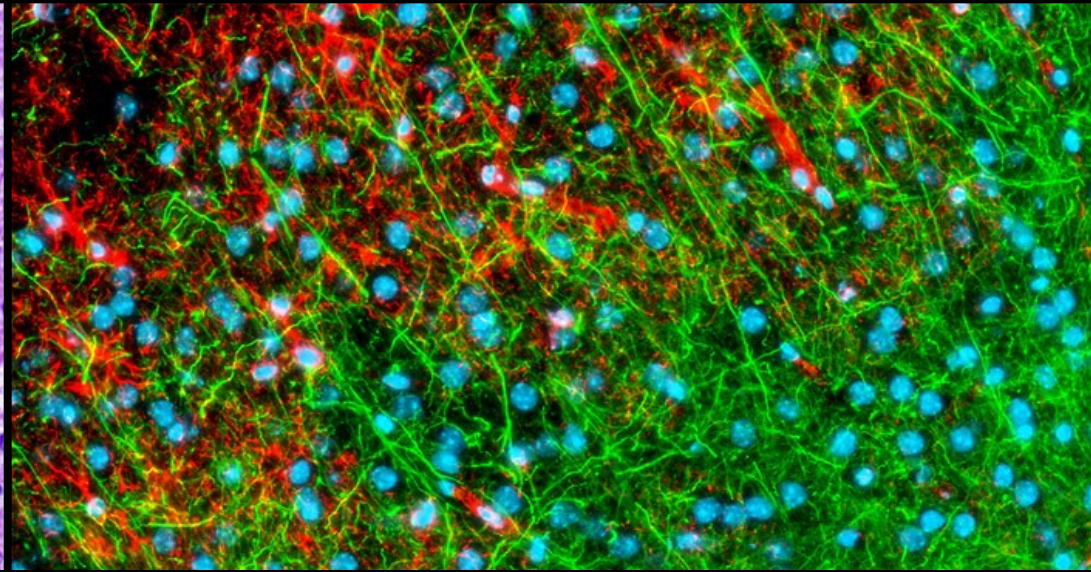
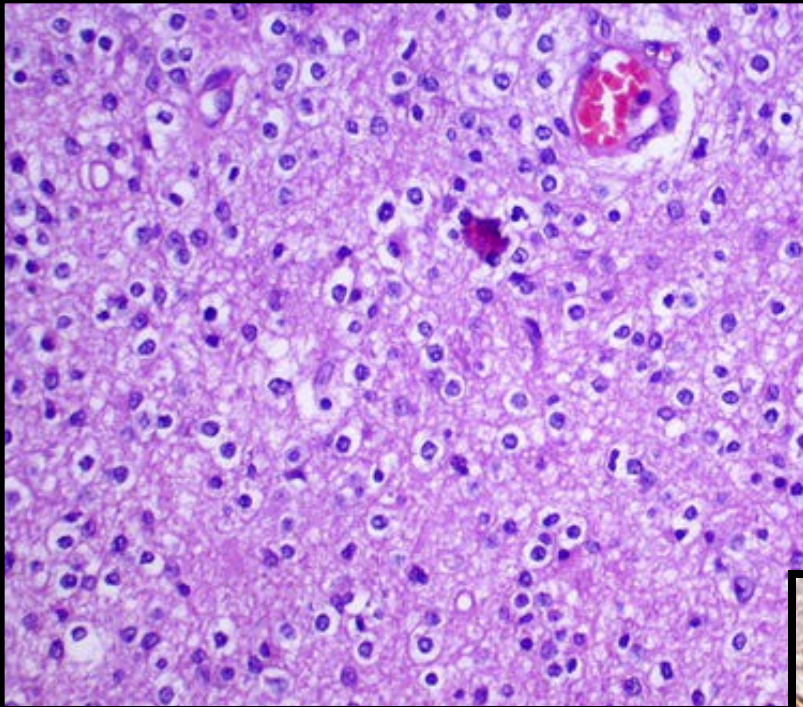


mES derived



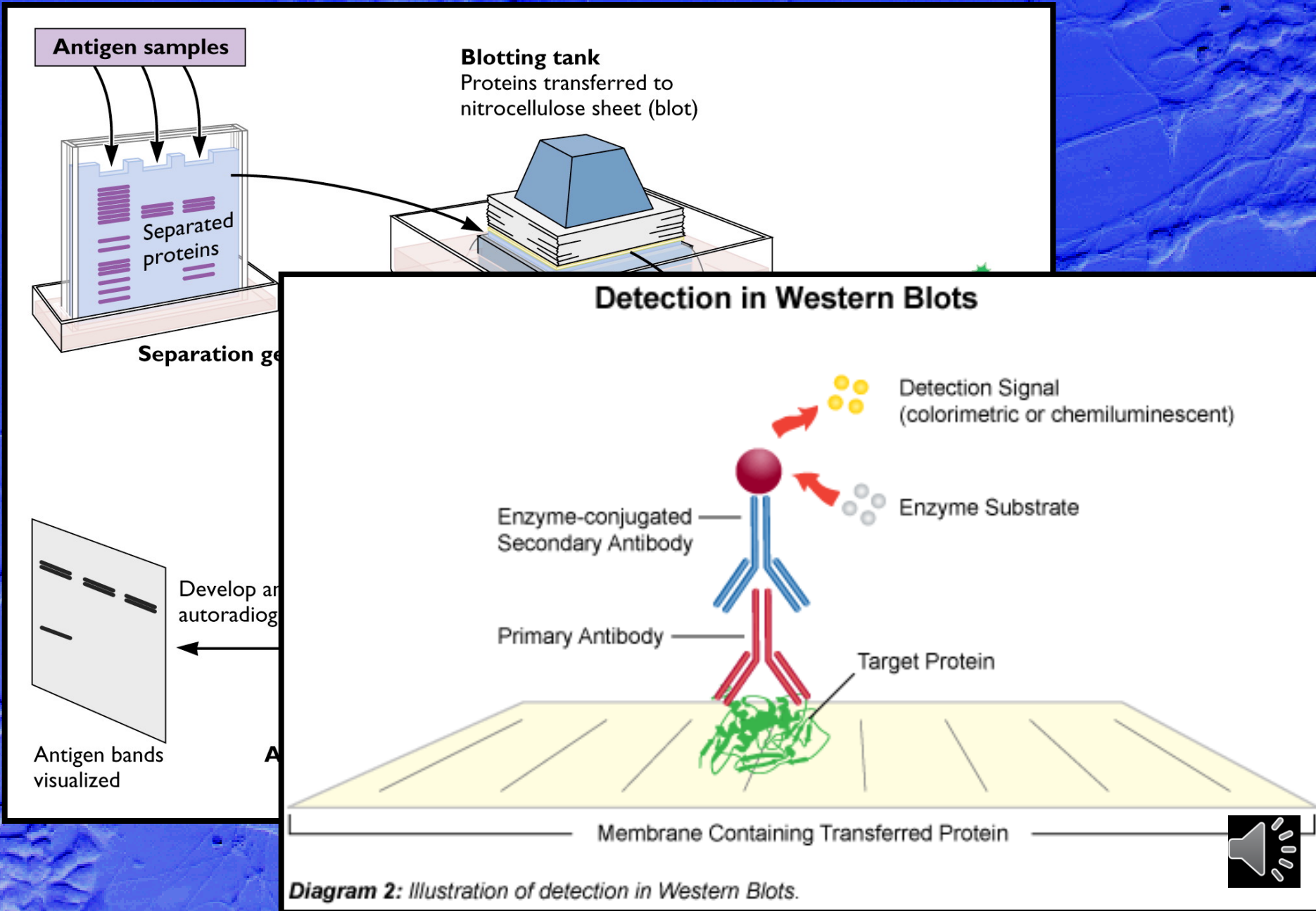
neonatal rat (Iris & J.Skopalik)



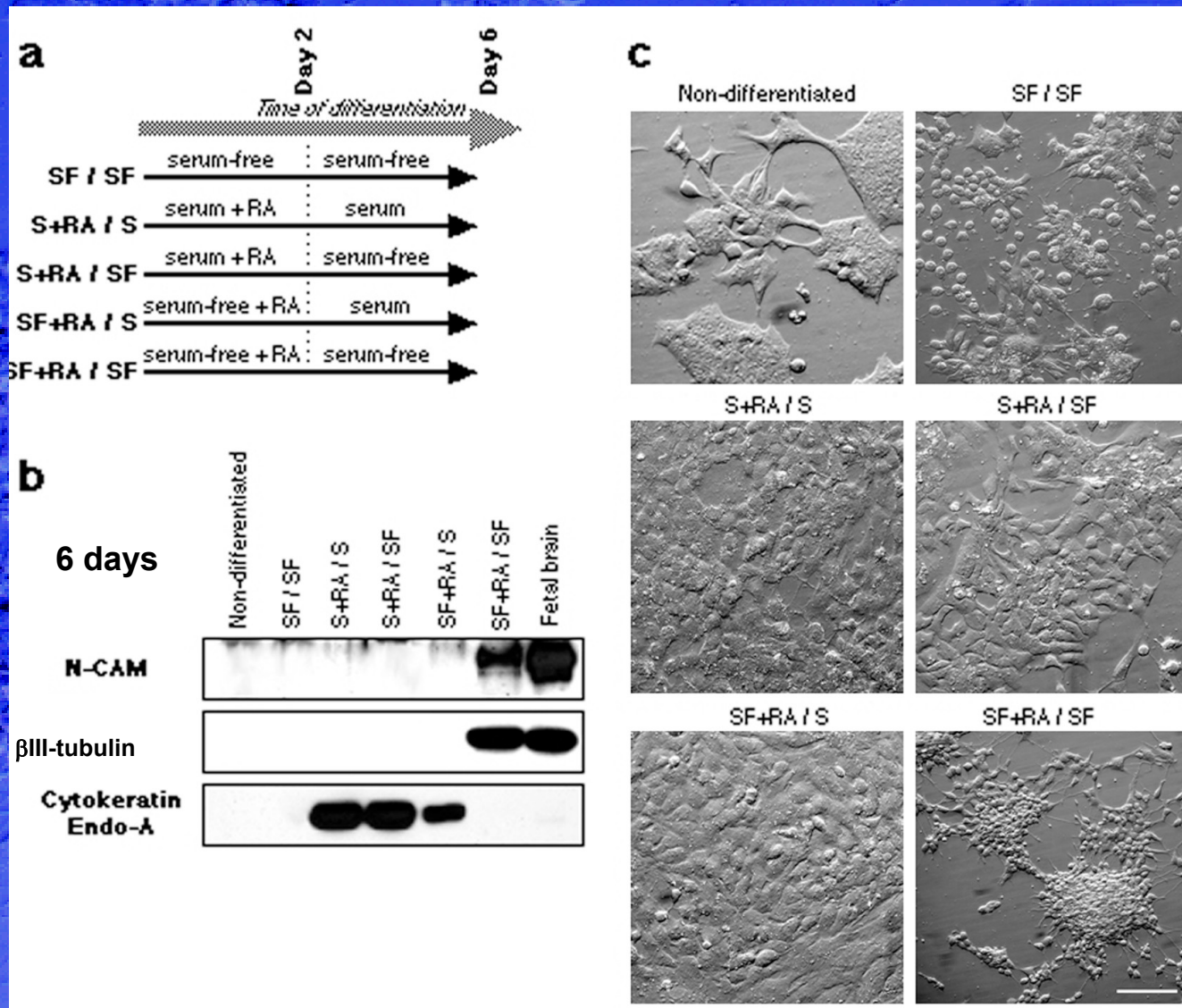




# Western blot



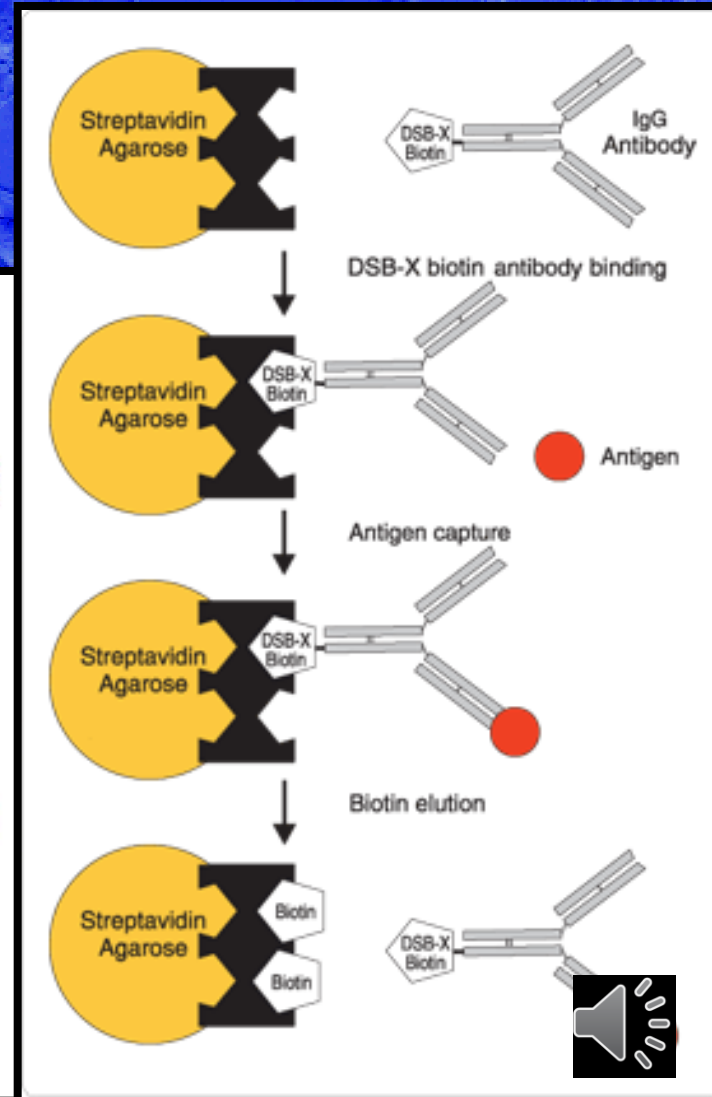
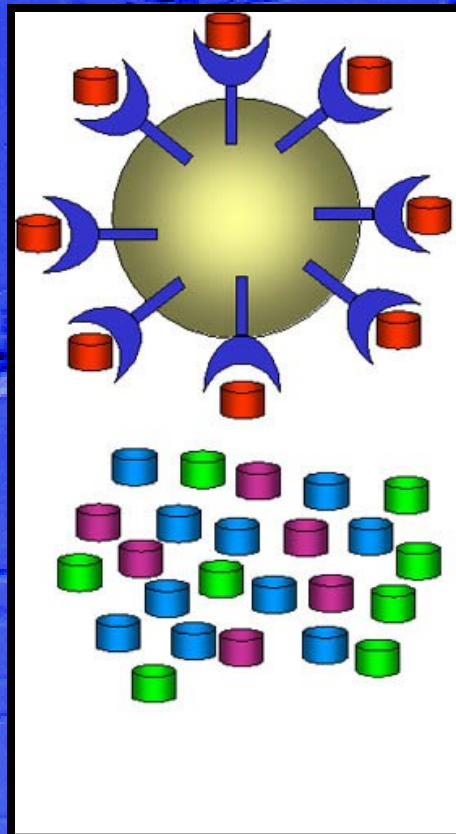
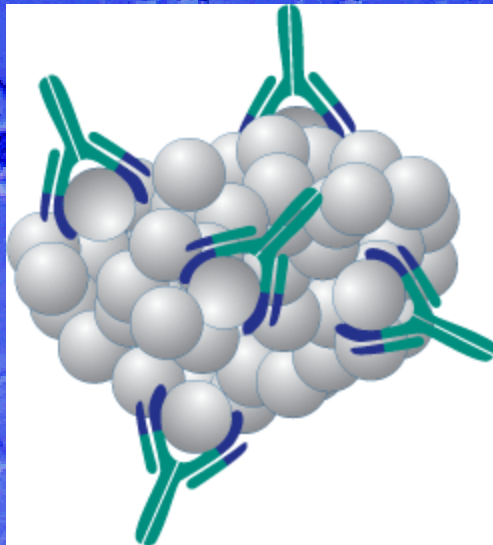
# Účinek séra na RA indukovanou neurální diferenciací



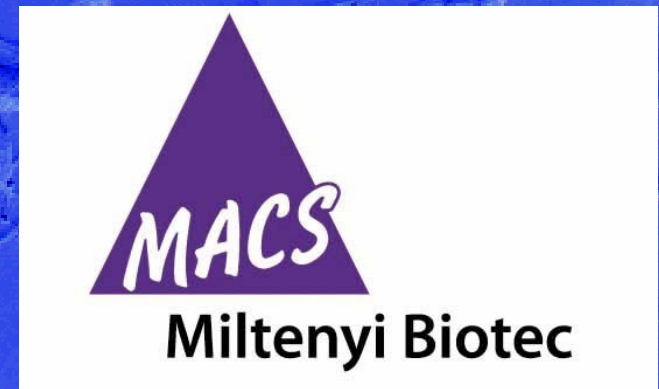
# Afinitní chromatografie + imunoprecipitace

- purifikace a separace látek
- hledání partnerů v komplexech molekul
- studium struktury molekul a komplexů molekul

ELISA techniky, ...



Protilátky jsou komerčně dostupné...



Děkuji za pozornost.

