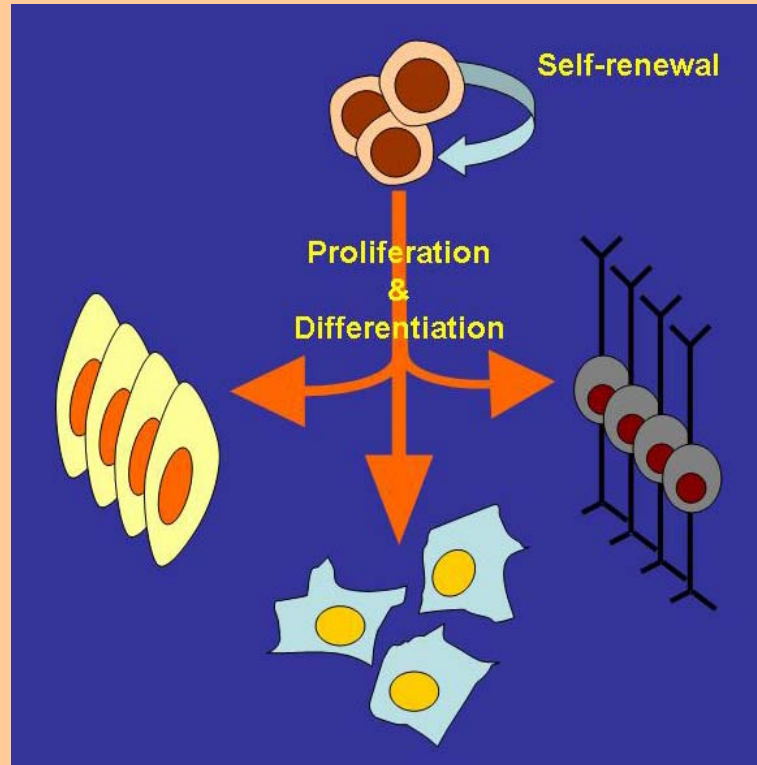


Fyziologie kmenových buněk



Jiří Pacherník

E-mail: jipa@sci.muni.cz

Tel: 532 146 223 / 116

KMENOVÉ BUŇKY

- zdroj buněk dané tkáně / orgánu
- primární buňky pro danou strukturu

Schopnost

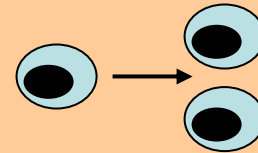
- dávat vznik dalším typům buněk (schopnost diferencovat)
- sebeobnovy (selfrenewal)

=> kmenovost (stemness)

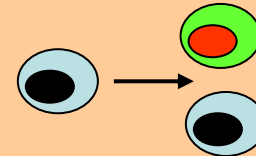
Dělení buněk a jejich sebeobnova

Dělení buněk (proliferace)

Symetricky – vznikají dvě identické buňky



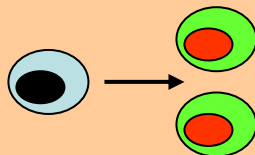
Asymetricky – jedna si zachovává původní fenotyp, druhá je již jiná



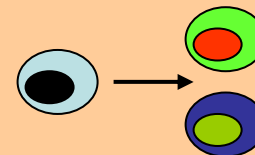
Diferenciační dělení

– obě nově vzniklé buňky mají i nový fenotyp, jsou dalším stupněm v dané diferenciační linii

diferenciační dělení symetrické



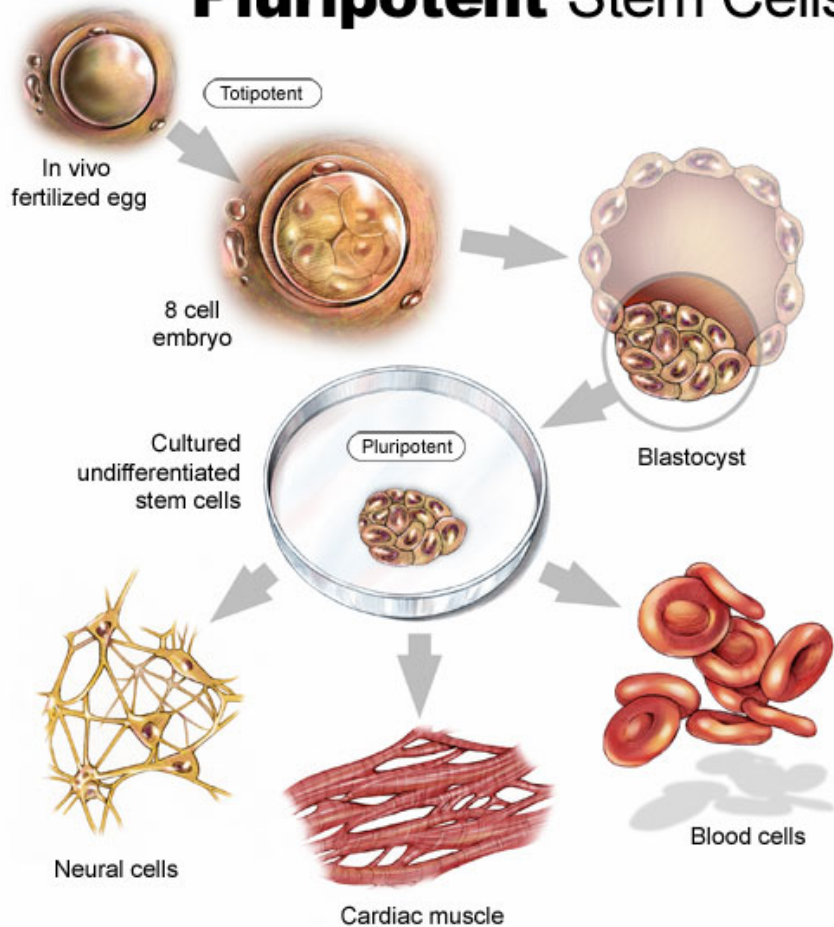
diferenciační dělení asymetrické



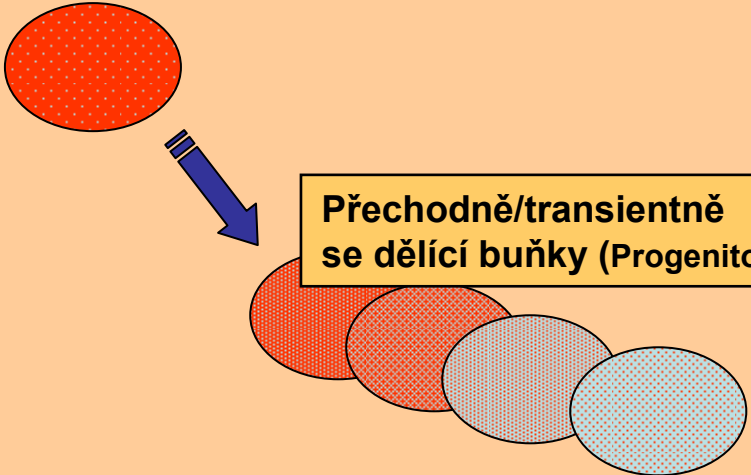
Diferenciace (rozdružování) buněk

- 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



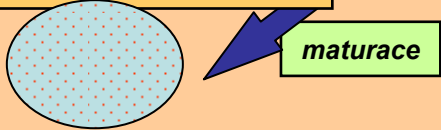
**Kmenová buňka
aktuální <-> potencionální**



**Přechodně/transientně
se dělicí buňky (Progenitory)***

* Často prolifерují a mají schopnost krátkodobé sebeobnovy.

**Terminálně
diferencovaná buňka****

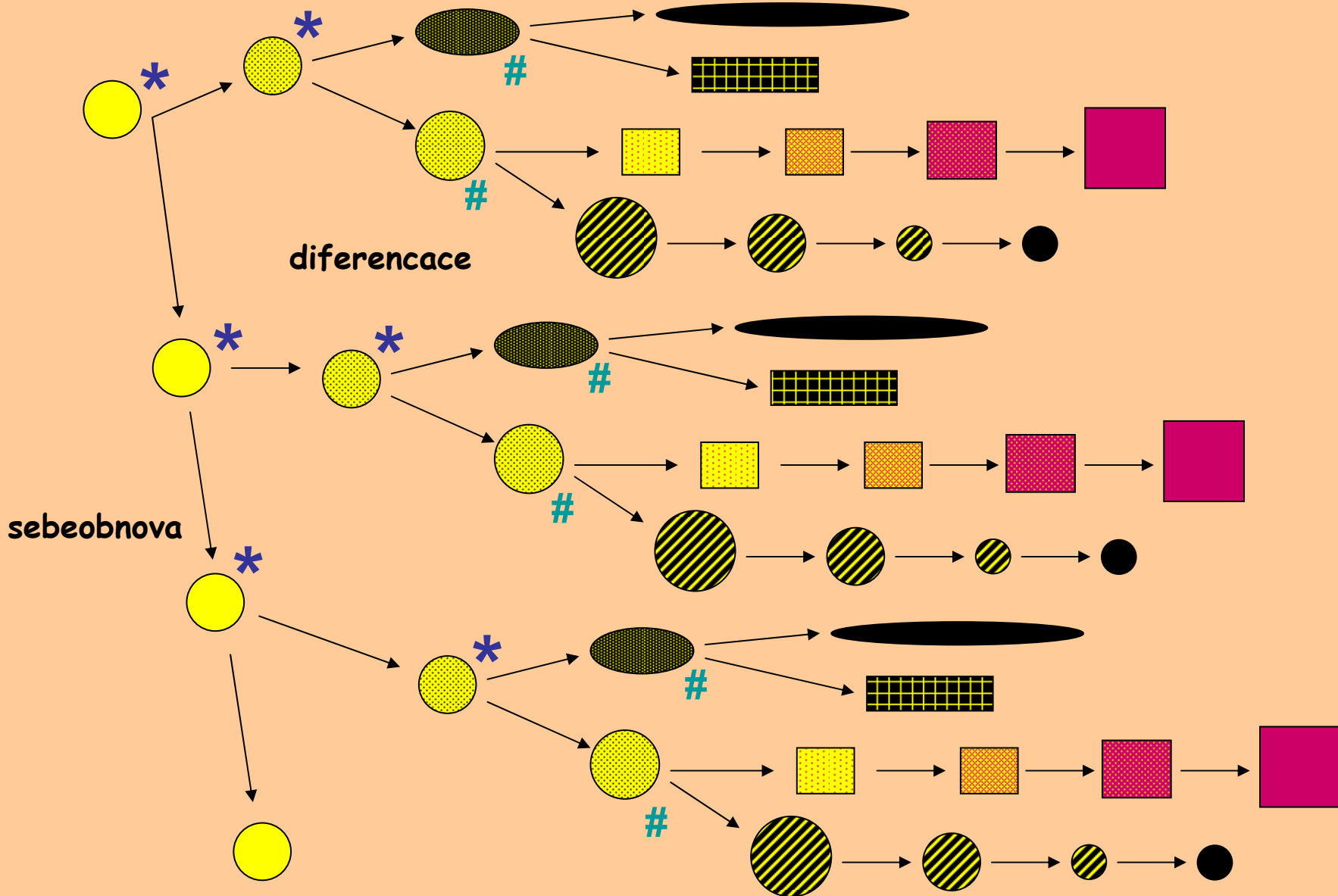


** Post-mitotické buňky = už se nikdy nedělí. Ne všechny terminálně diferencované buňky jsou post-mitotické.

Diferenciace buněk

* sebeobnovující asymetrické dělení

diferenciační asymetrické dělení



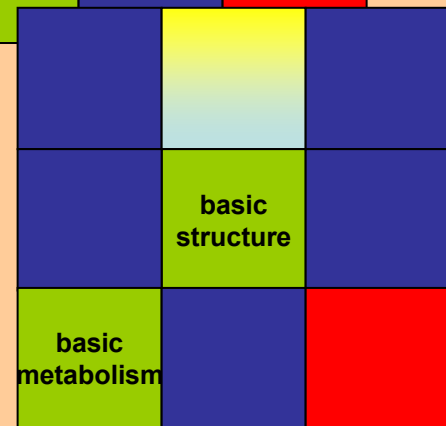
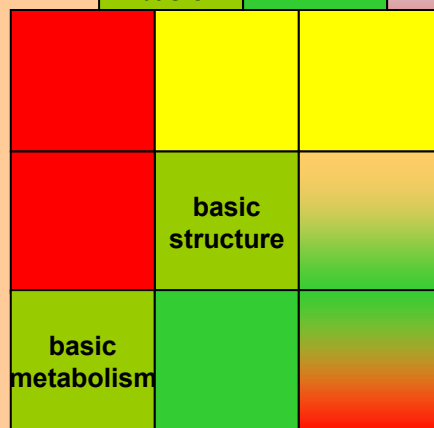
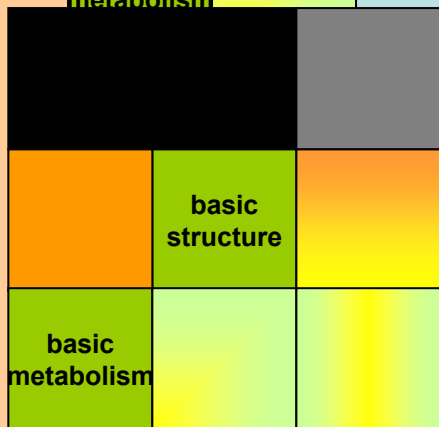
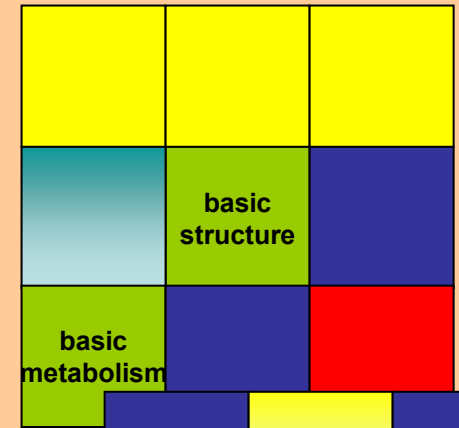
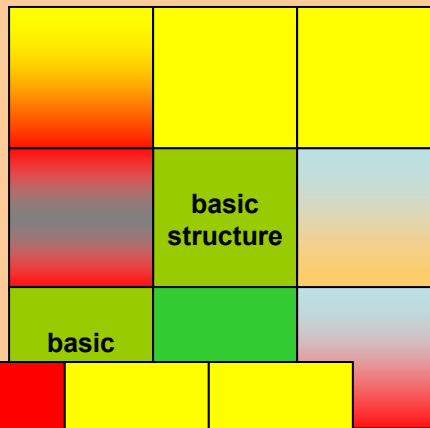
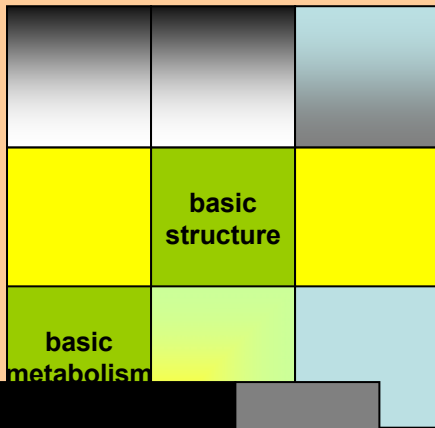
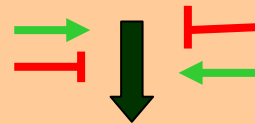
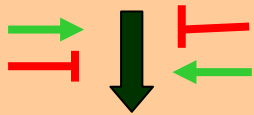
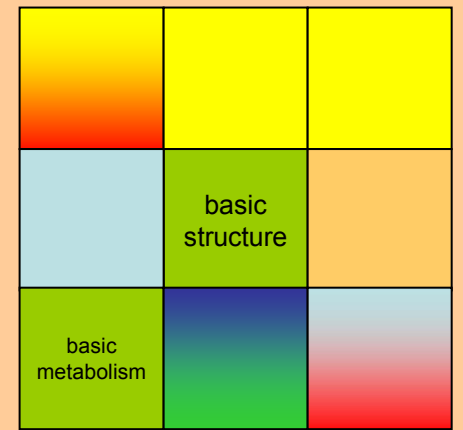
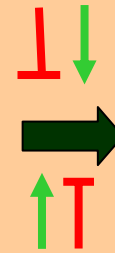
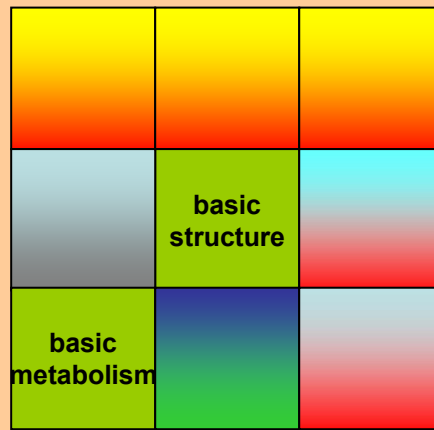
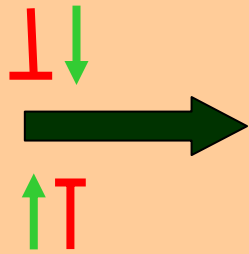
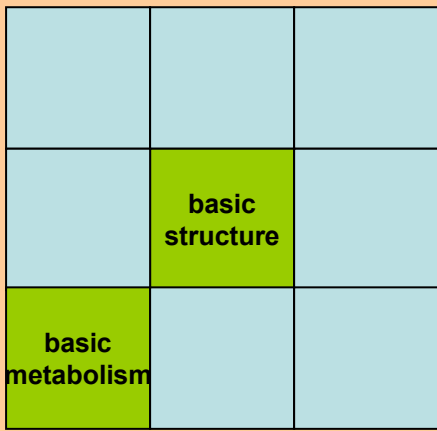
Diferenciace buněk

přestavba genomu / chromatinu → exprese jiného paternu genů → jiná morfologie, jiné funkce a potenciál

Determinace – předurčení pro danou diferenciační linii / dráhu

geny a jejich produkty

- „*housekeeping*“ (metabolismus, transkripce / translace, základy cytoskeletu)
- **všeobecně abundantní** (transkripce/translace, cytoskelet, komponenty signálních drah)
- **specifické** (enzymy, specifické transkripční faktory, cytoskelet – komponenty intermediálních filament, s cytoskeletem asociované proteiny)



Z hlediska schopnosti tvořit další buněčné typy se buňky dělí na:

Totipotentní – mohou z nich vznikat všechny buňky daného živočišného druhu

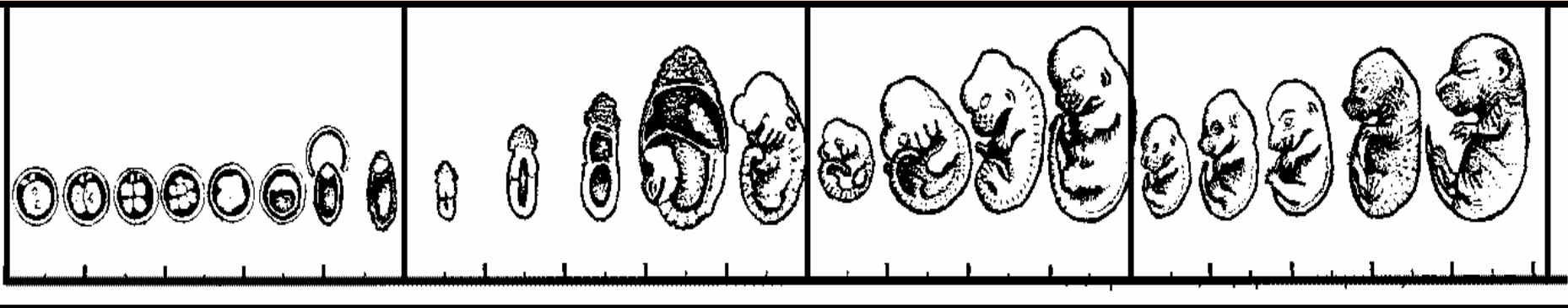
Pluripotentní – mohou dát vznik všem buňkám budoucího jedince (všechny tři zárodečné listy)

Multipotentní – může z nich vznikat větší počet buněčných typů dané buněčné řady

(**Oligopotentní** – podobné jako multipotentní, ale méně typů)

Unipotentní – dávají vznik jen dvěma typům buněk

Nullipotentní – mohou se pouze dělit, nemění fenotyp

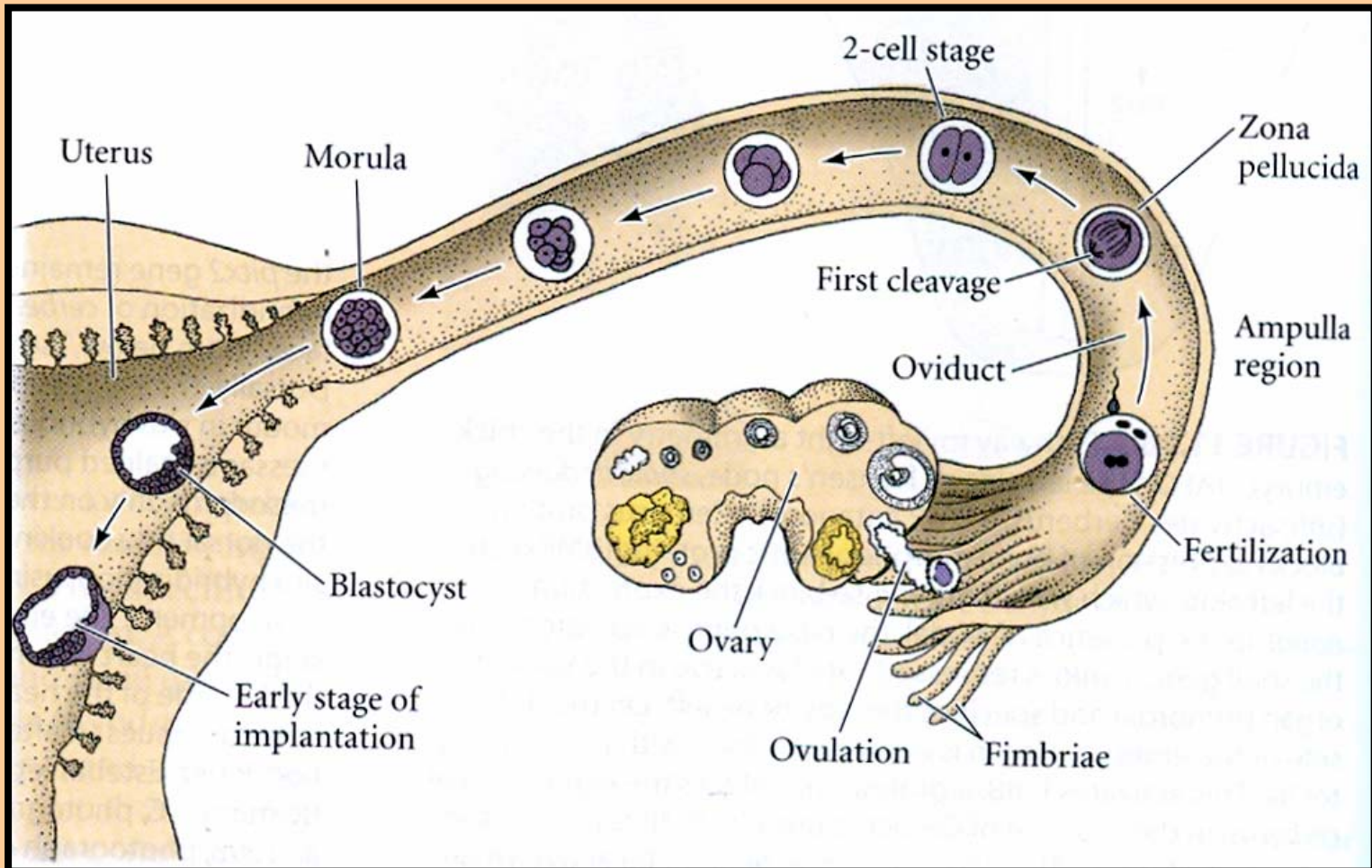


→
**totipotentní
buňky**

→
**pluripotentní, multipotentní,
buňky**

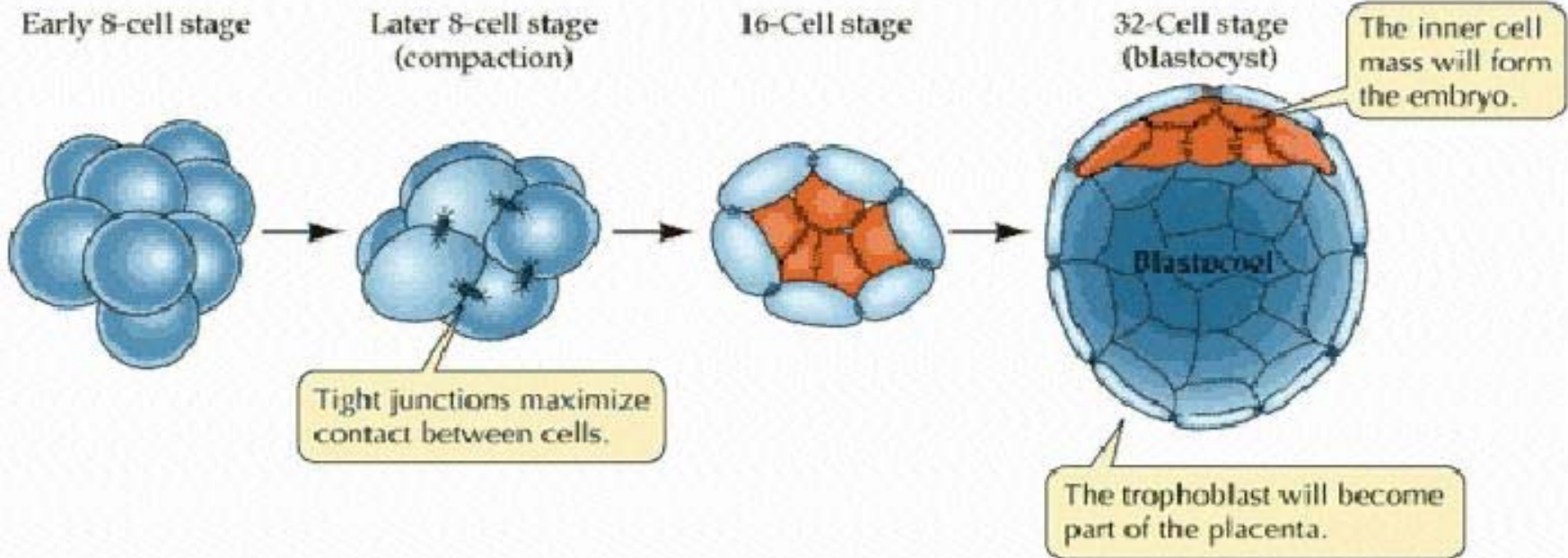
Totipotentní buňky

- 1- až 8-buněčné embryo (= Embryonální nespecifikované - pouze savci)
- Omezené možnosti dělení (neprobíhá transkripce; myš 2/4 b., člověk 8 b.)
- Existují pouze přechodně

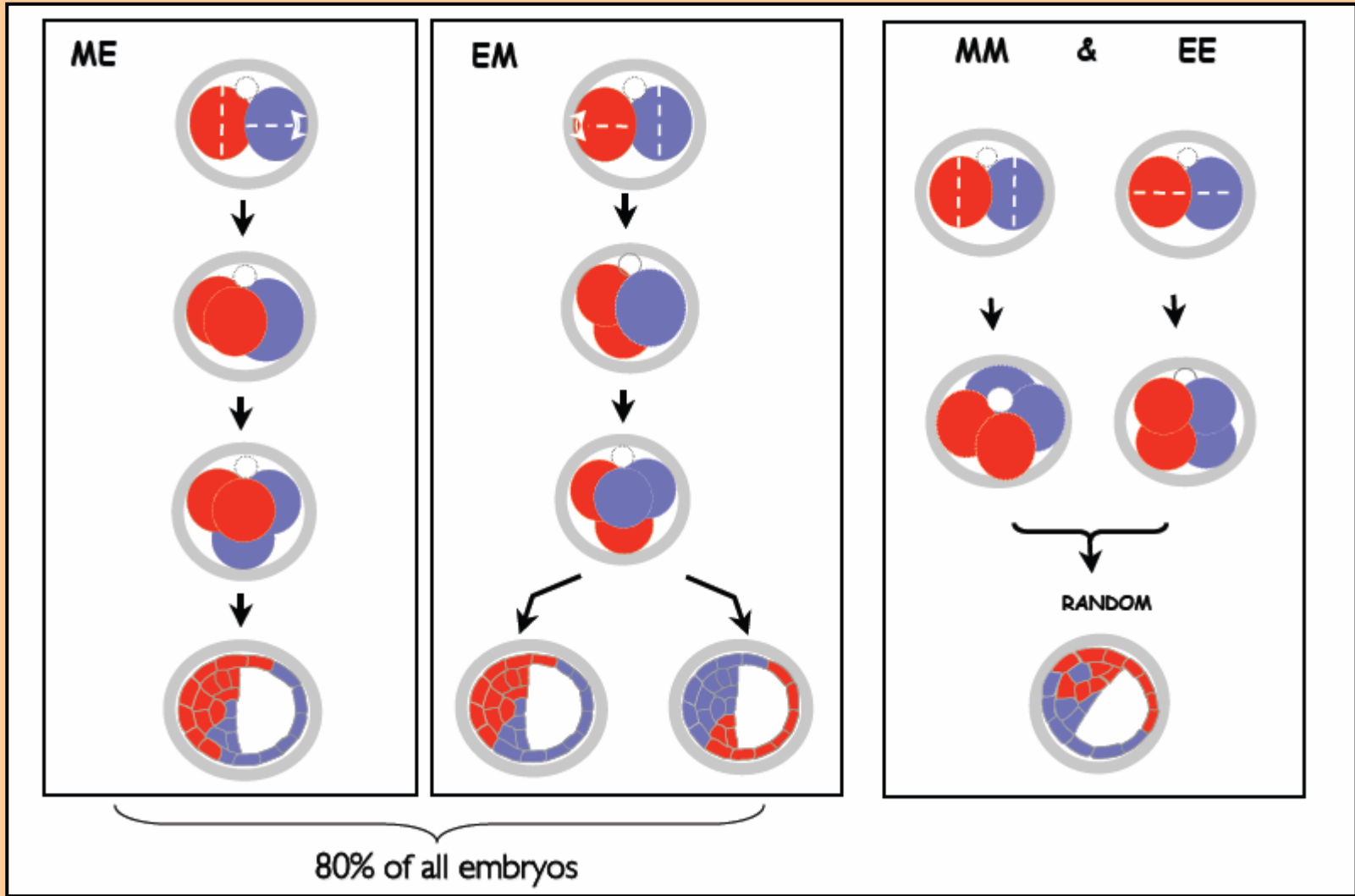


Ztráta totipotence v průběhu časně embryogeneze

- vznik nerovnoměrných podmínek pro růst buněk
- tento proces je ireverzibilní

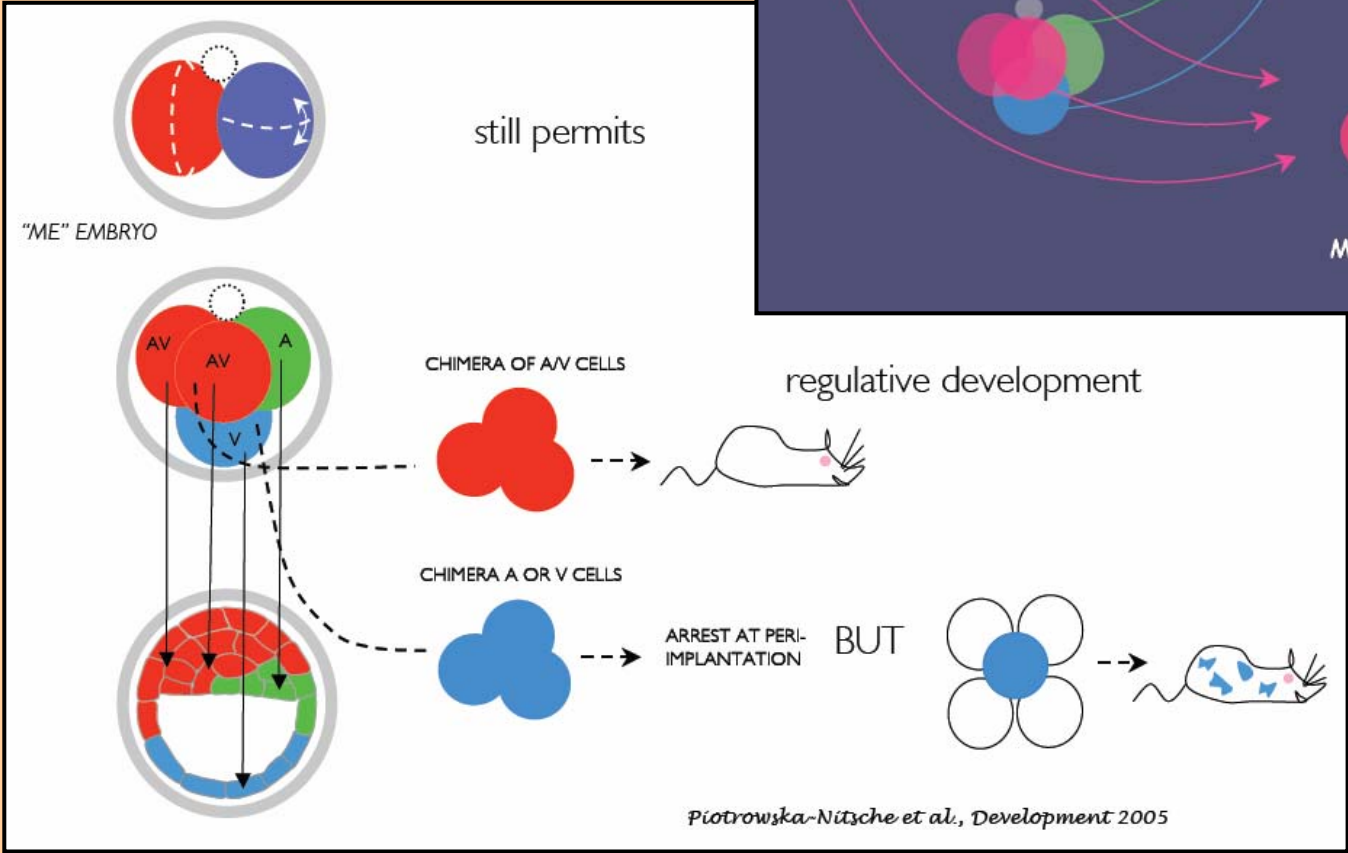
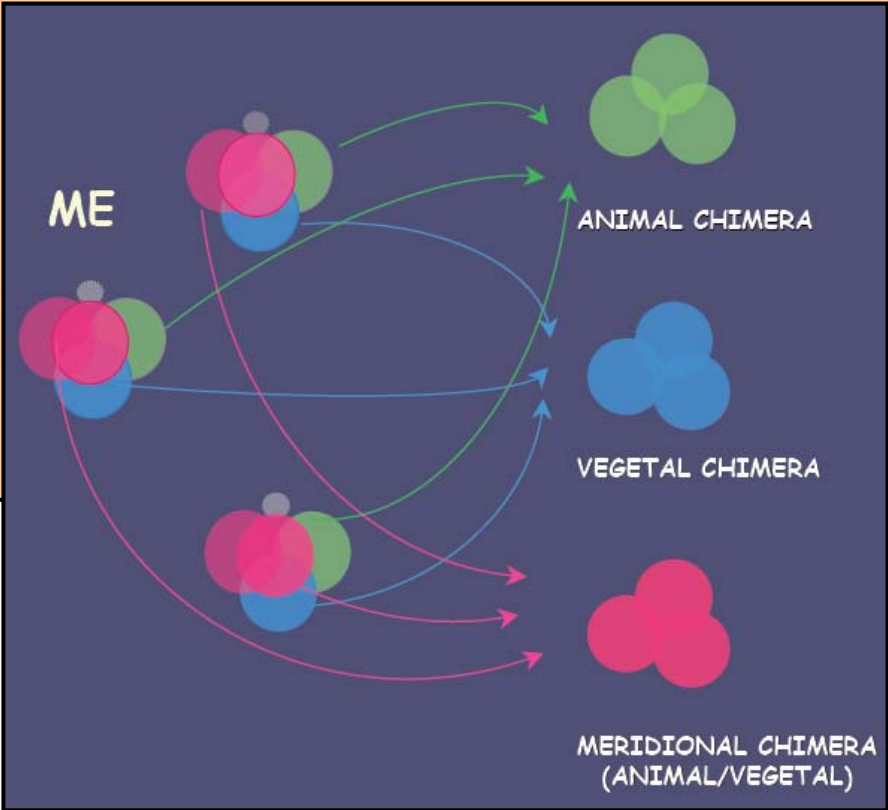


Dělení buněk 2-buněčného embrya, určení polaritu a její vliv na další osud blastomer
Magdalena Zernicka-Goetz 2006



M – meridiální / E - ekvatoriální

Orientace blastomer 4-buněčného embrya a její vliv na zachování absolutní totipotence těchto buněk



Pluripotentní buňky (savci)

a) **In vivo**: buňky vnitřní buněčné masy

buňky epiblastu / primitivního ektodermu

buňky nerální lišty (4tý zárodečný list)

kmenové buňky teratomů (?)

! (**somatické kmenové buňky?**)

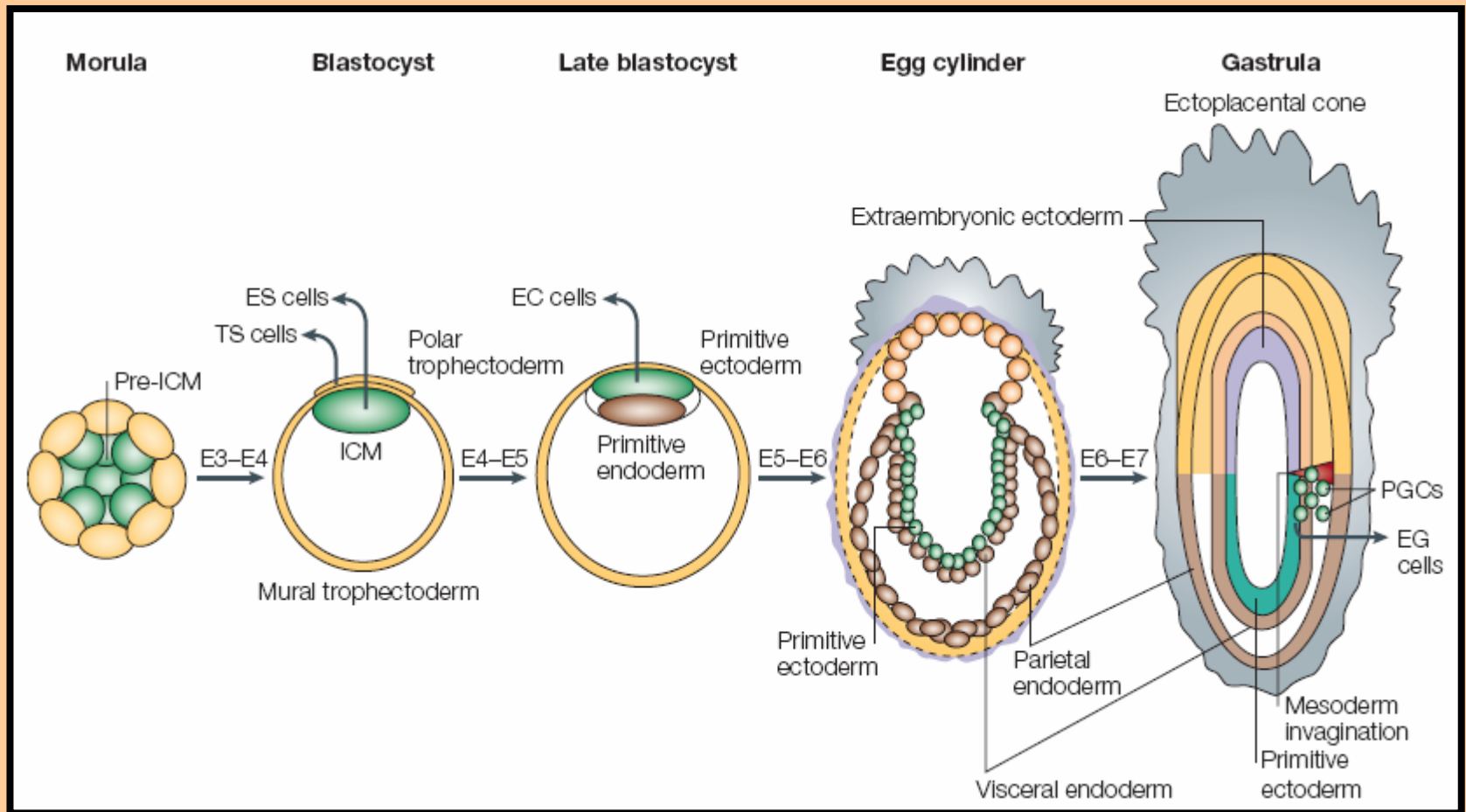
b) **In vitro**: embryonální kmenové buňky

embryonální zárodečné buňky

embryonální nádorové buňky

(kmenové buňky teratomů)

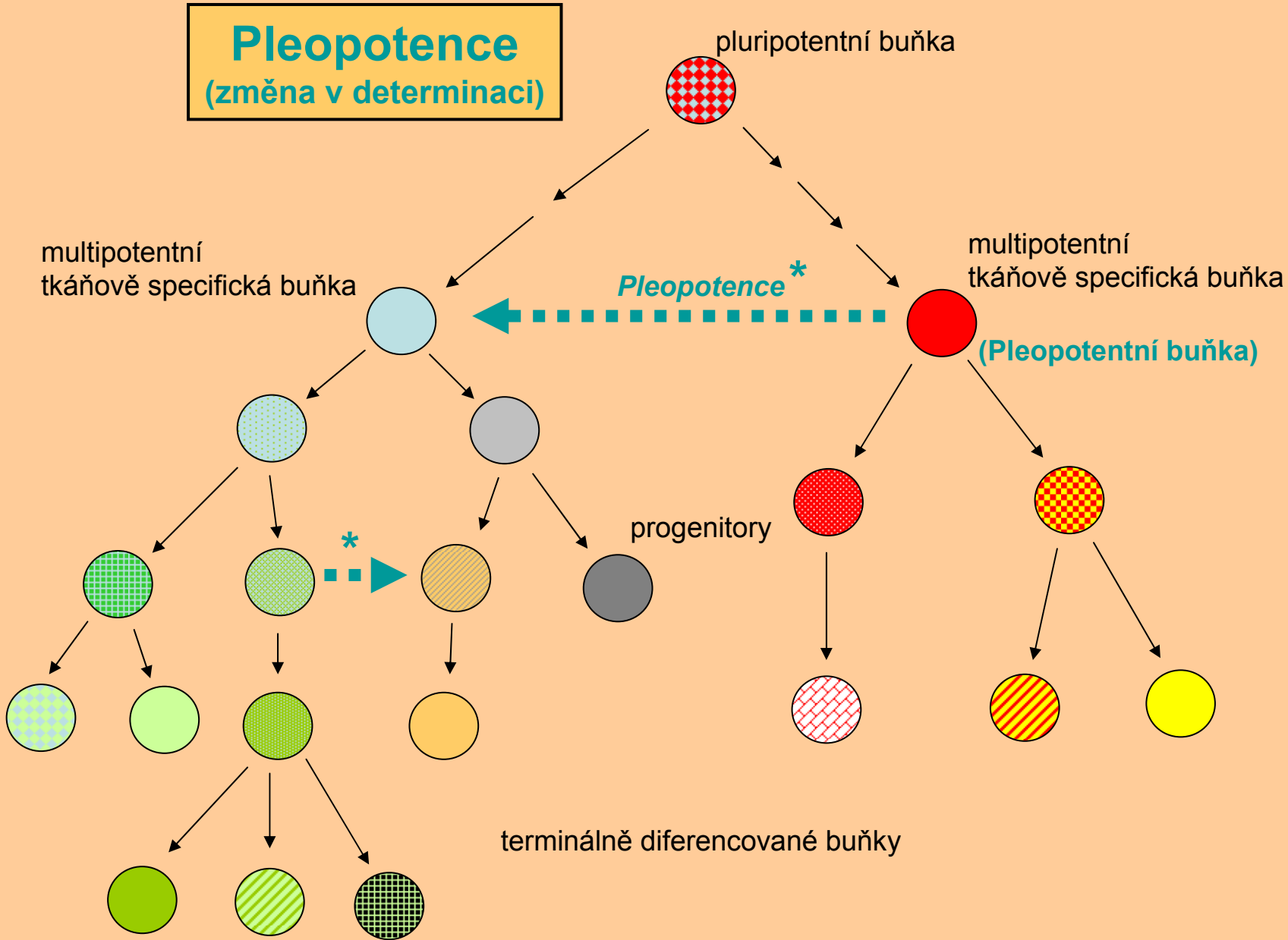
! (**somatické kmenové buňky?**)



Boiani & Scholer 2005

Kmenové buňky mohou být pluripotentní, multipotentní,...
ale pluripotentní nebo multipotentní buňky nemusí být kmenové.

Pleopotence (změna v determinaci)



KMENOVÉ BUŇKY

Schopnost sebeobnovy = self-renewal

Schopnost dávat vznik jiným typům buněk = pluripotence / multipotence /

=> **kmenovost = stemness**

- Společné znaky s embryonálními a nádorovými buňkami, nezralý fenotyp / relativně nediferencované (= dlouhé telomery / vysoká aktivita telomeráz, specifické proteinové markery, velké jádro / plasmový poměr,...)

= **VYHRAZENÉ (PROFESIONÁLNÍ) KMENOVÉ BUŇKY**

- Některé somatické, terminálně diferencované buňky si zachovávají schopnost sebeobnovy a v případě potřeby i multipotence, normálně jsou ale quiescentní (spící)

= **FAKULTATIVNÍ KMENOVÉ BUŇKY** (snad některé hepatocyty a buňky plicních epitelů)

- Některé diferencované buňky si také dlouhodobě zachovávají schopnost proliferace, sebeobnovování a podílejí se tak na udržení homeostáze v tkáni

= **Sebeobnovující se diferencované buňky**

KMENOVÉ BUŇKY PRIMÁRNÍ = existují „in vivo“

- dávají vznik buňkám dané buněčné struktury / tkáně / orgánu / (organismu)
- relativně pomalá proliferace
- jsou nejčastěji multipotentní, snad některé i pluripotentní či unipotentní
- jsou základním zdrojem buněk pro regeneraci organismu a homeostázi
- mají schopnost sebeobnovy (**self-renewal**) = *in vivo* asymetrické dělení
- s věkem jich ubývá, ale pravděpodobně nikdy během života jedince úplně nevymizí

profesionální SC

- v tkáni jsou lokalizovány ve specifické oblasti, „**niche**“ (koutek)
- mají společné znaky s embryonálními a nádorovými buňkami = dlouhé telomery, specifické proteinové markery, velký jádro / plasmový poměr,...
- ???

Somatické kmenové buňky (embryonální a adultní)

**Buňky některých zárodečných linií (neurální lišta, primordiální zárodečné buňky)
a kmenové buňky trofoblastu**

KMENOVÉ BUŇKY ODVOZENÉ/SEKUNDÁRNÍ = existují jen „in vitro“

- jsou připravené z populací pluripotentních embryonálních buněk, ze zárodečných buněk, nebo z progenitorů embryonálních a dospělých tkání
- relativně rychle proliferují
- některé jsou multipotentní (z embryonálních a dospělých tkání), některé pluripotentní (embryonální původ)
- mohou být zdrojem buněk pro regeneraci organismu
- mají schopnost sebeobnovy (**self-renewal**) = „asymetrické/symetrické“ dělení
- mají společné znaky s embryonálními a nádorovými buňkami = dlouhé telomery, specifické proteinové markery, velké jádro / plasmový poměr,...
- ???

Embryonální kmenové buňky

-> odvozené z vnitřní buněčné masy
(**Kmenové buňky epiblastu**)

Embryonální zárodečné buňky

-> odvozené z primordiálních zárodečných buněk

Embryonální nádorové buňky

-> odvozené z kmenových buněk teratomů

Somatické kmenové buňky odvozené

-> odvozené ze somatických kmenových buněk

REGULACE KMENOVÝCH BUNĚK

Existence kmenových buněk je regulována

- a) vnitřními (intrinsic) faktory (vývojově specifické transkripční faktory a specifické kombinace drah transdukce signálů)
- b) vnějšími (extrinsic) faktory (v niche)

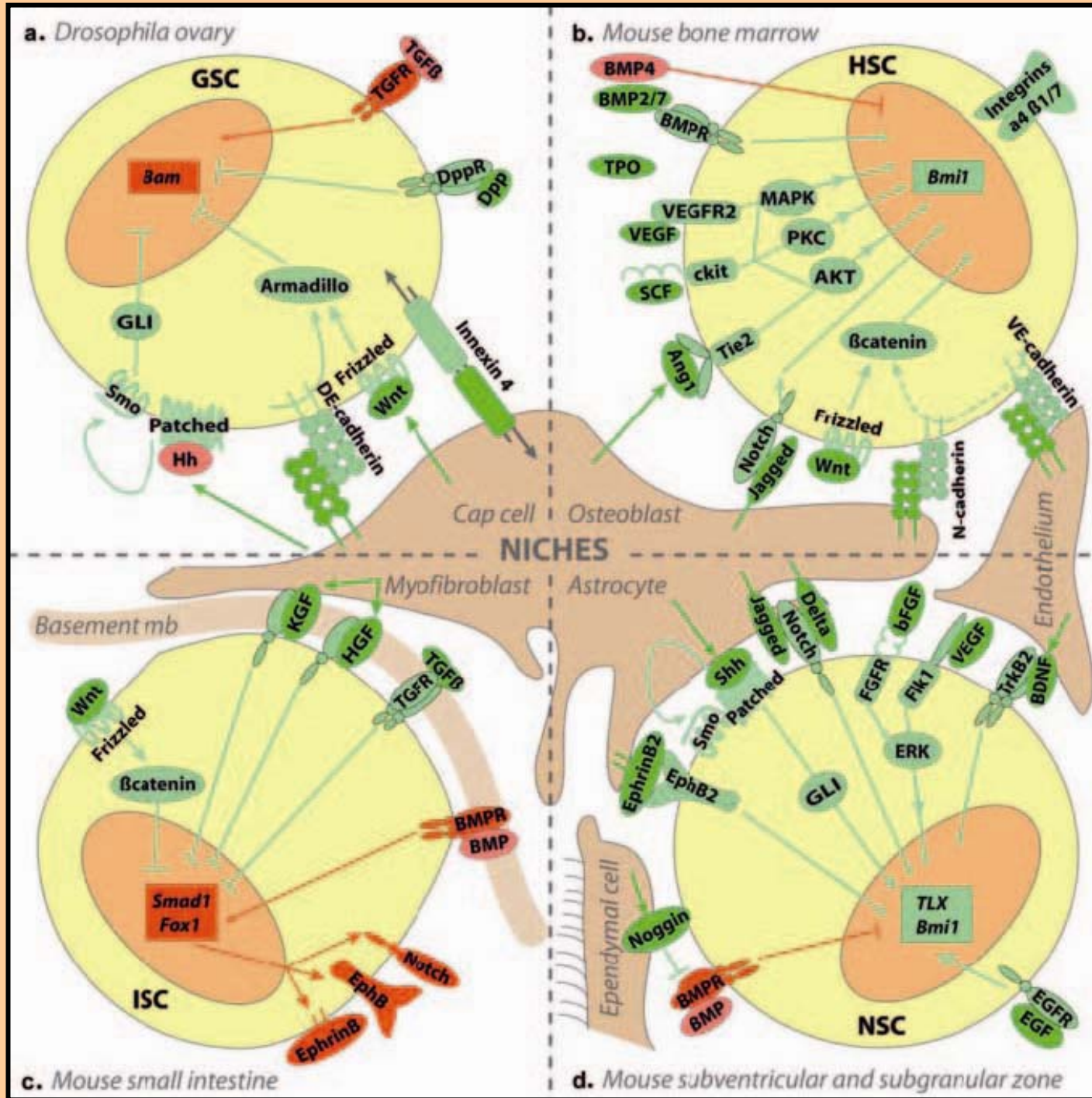
Kmenové buňky mohou existovat jen v příslušném „NICHE“

Co v NICHE najdeme?

růstové faktory, proteiny extracelulární matrix, povrchy buněk / buněčný kontakt, hypoxie, nedostatek živin?

Podobně jako se zdají být SSCs tkáňově/orgánově specifické, jsou specifické i jejich „niche“.

NICHE



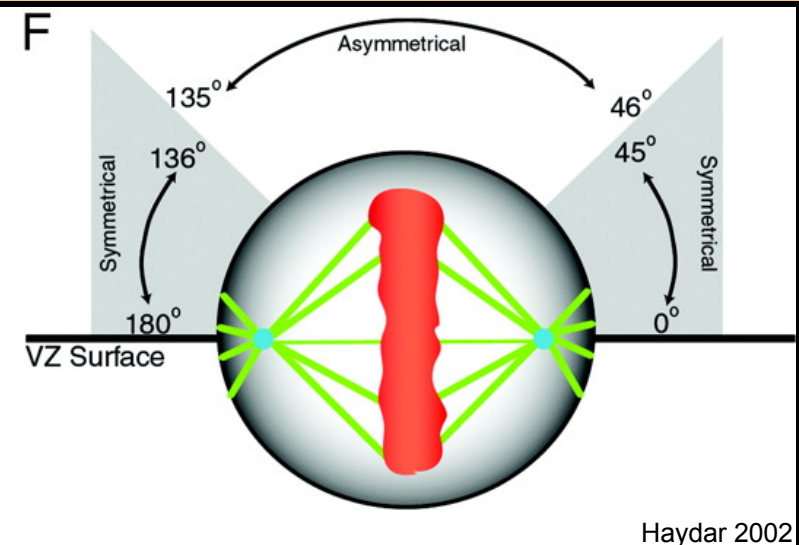
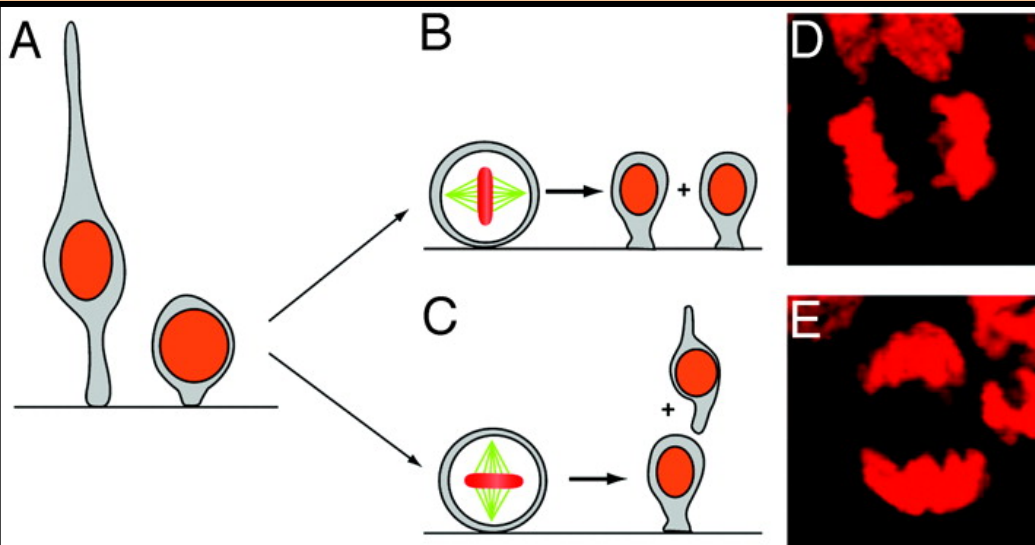
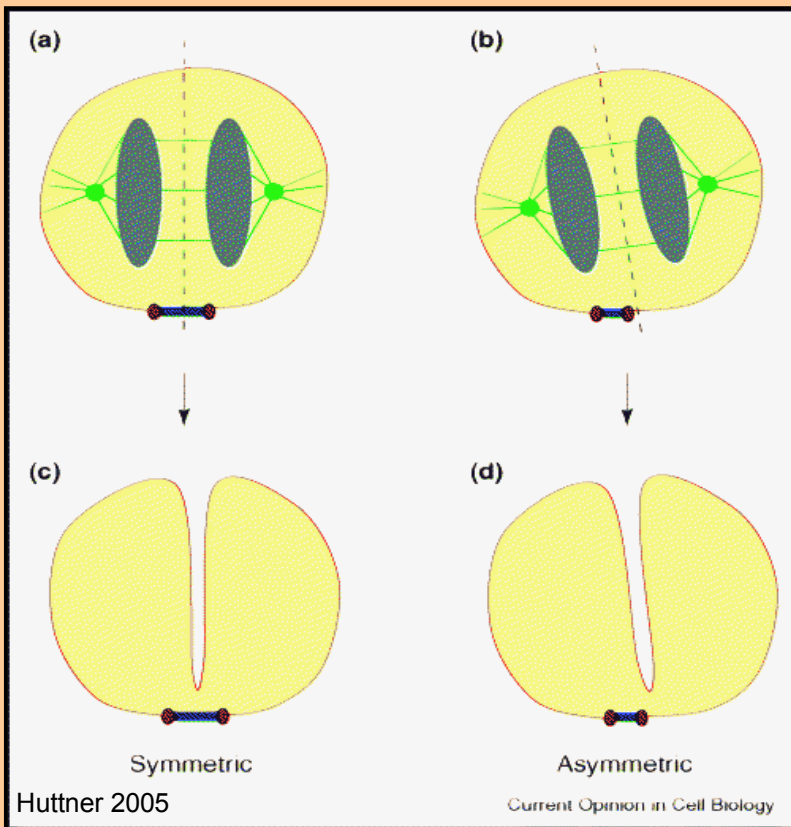
ASYMETRICKÉ DĚLENÍ BUNĚK

O symetrii dělení rozhoduje

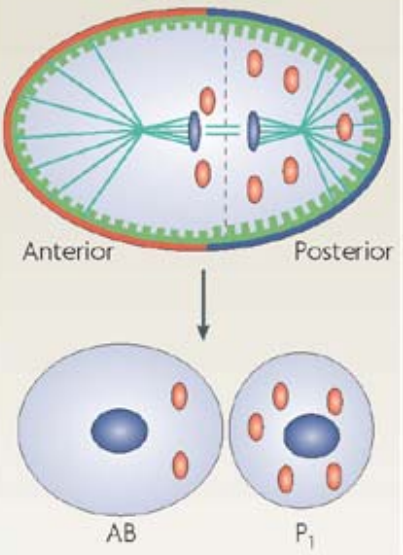
- orientace dělicího aparátu (vřeténka)
- polarizace buněk v tkáni
- gradienty v buňce

-...

=> souvislost s niche

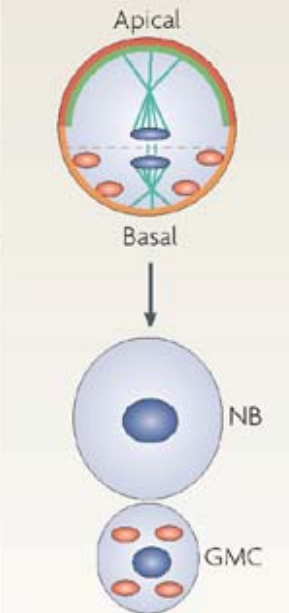


a *C. elegans*
(one-cell stage)



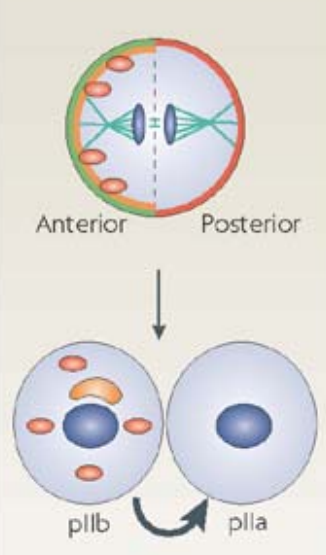
- PAR-3/PAR-6/PKC-3
- PAR-2, PAR-1
- LIN-5/G_α
- GPR-1/2
- PIE-1
- Microtubules
- DNA

b *D. melanogaster*
(neuroblast)

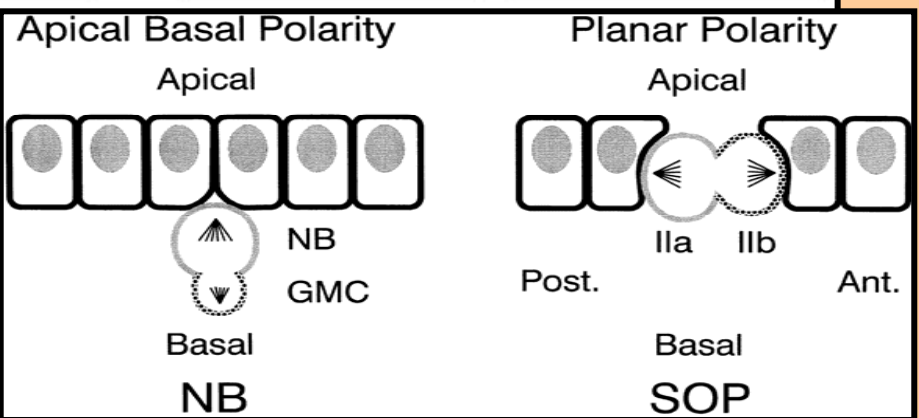


- PAR3/PAR6/aPKC
- Mud/Pins-Looco/G_α
- Mira, Pon
- Brat, Numb, Prospero
- Microtubules
- DNA

c *D. melanogaster*
(SOP)



- PAR3/PAR6/aPKC
- Mud/Pins-Looco/G_α
- Pon
- Numb, Neuralized
- Recycling endosome
- Microtubules
- DNA

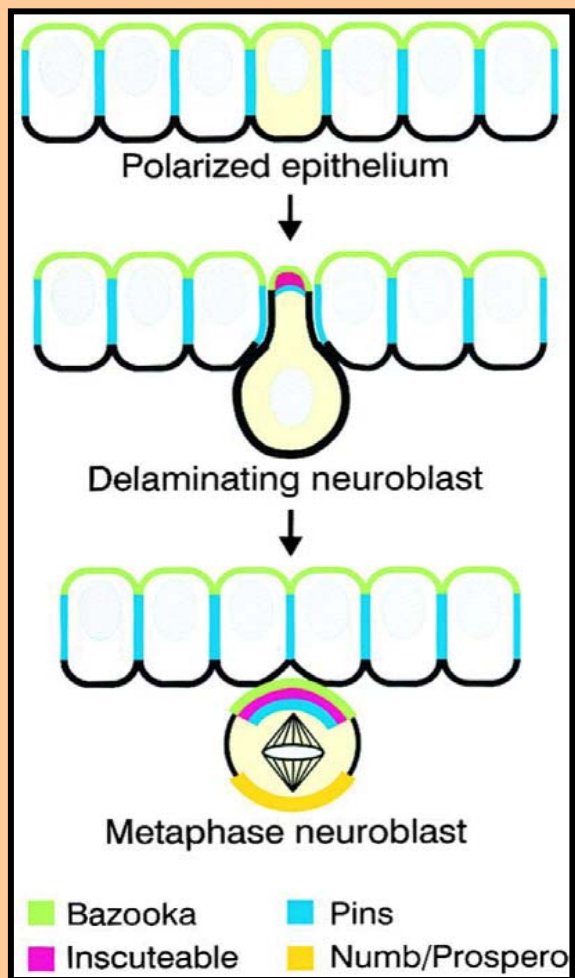


Příklady mechanismů regulujících symetrii buněčného dělení na modelových orgaismech

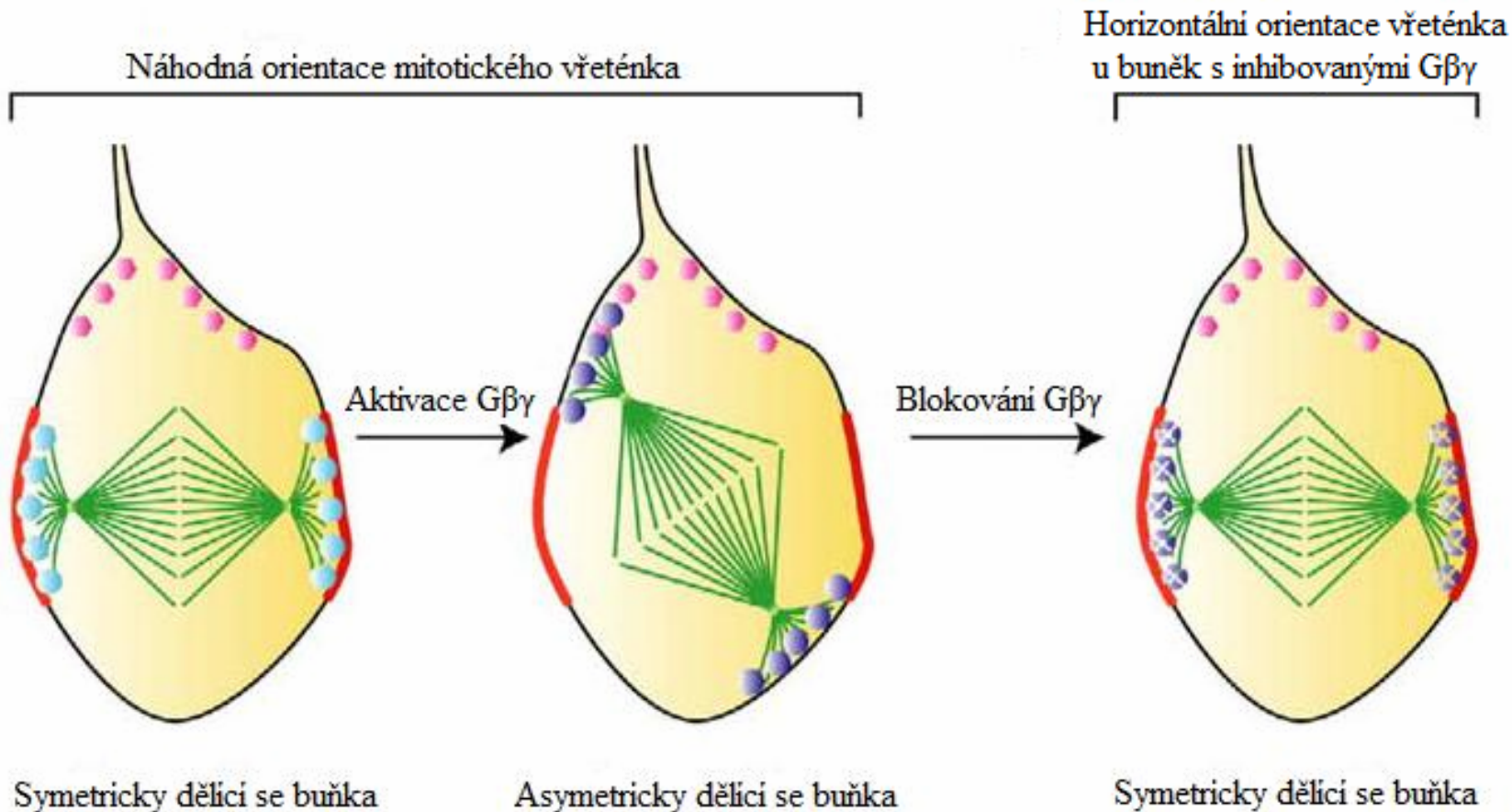
NB – neuroblast

SOP – sensory organ progenitor

(Jan & Jan 2000; Robert Andrews & Julie Ahringer 2007)



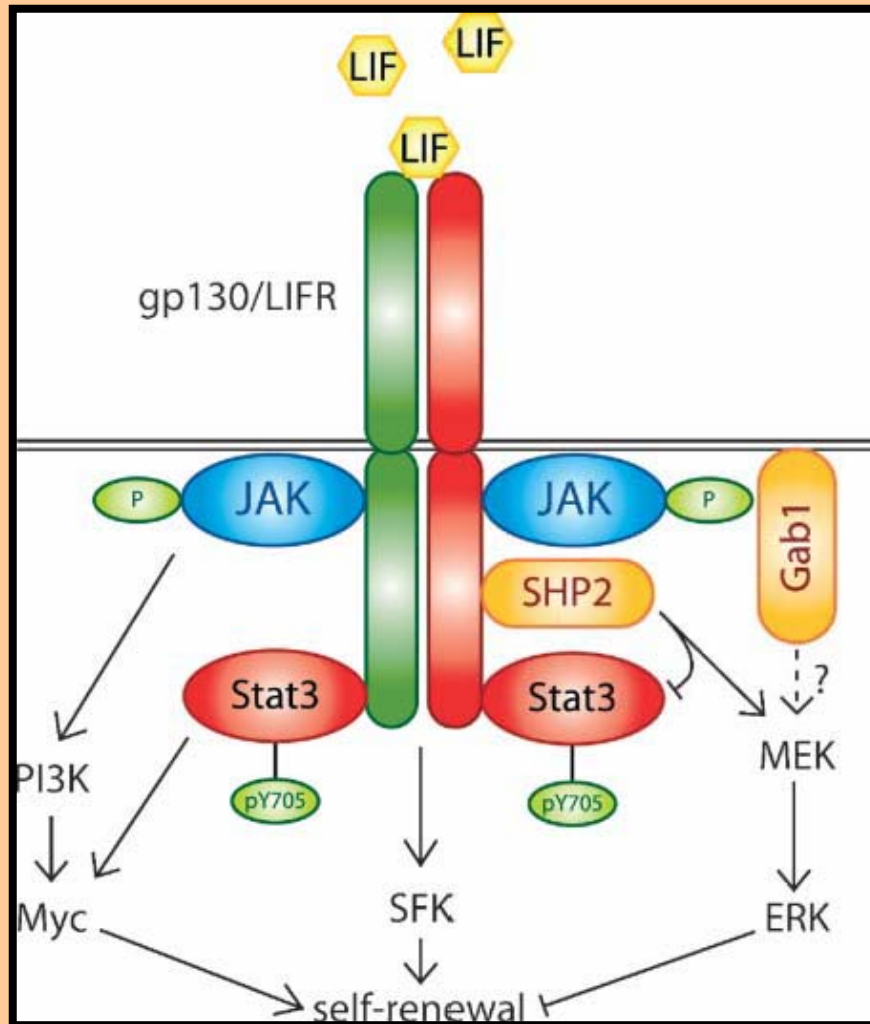
Úloha (trimerických) G-proteinů v regulaci polohy dělicího vřeténka



- Podnět laterální polarity
- Proteiny určující neurální osud buňky
- G $\beta\gamma$ v komplexu s G α
- Volný G $\beta\gamma$
- ⊗ Inaktivovaný volný G $\beta\gamma$

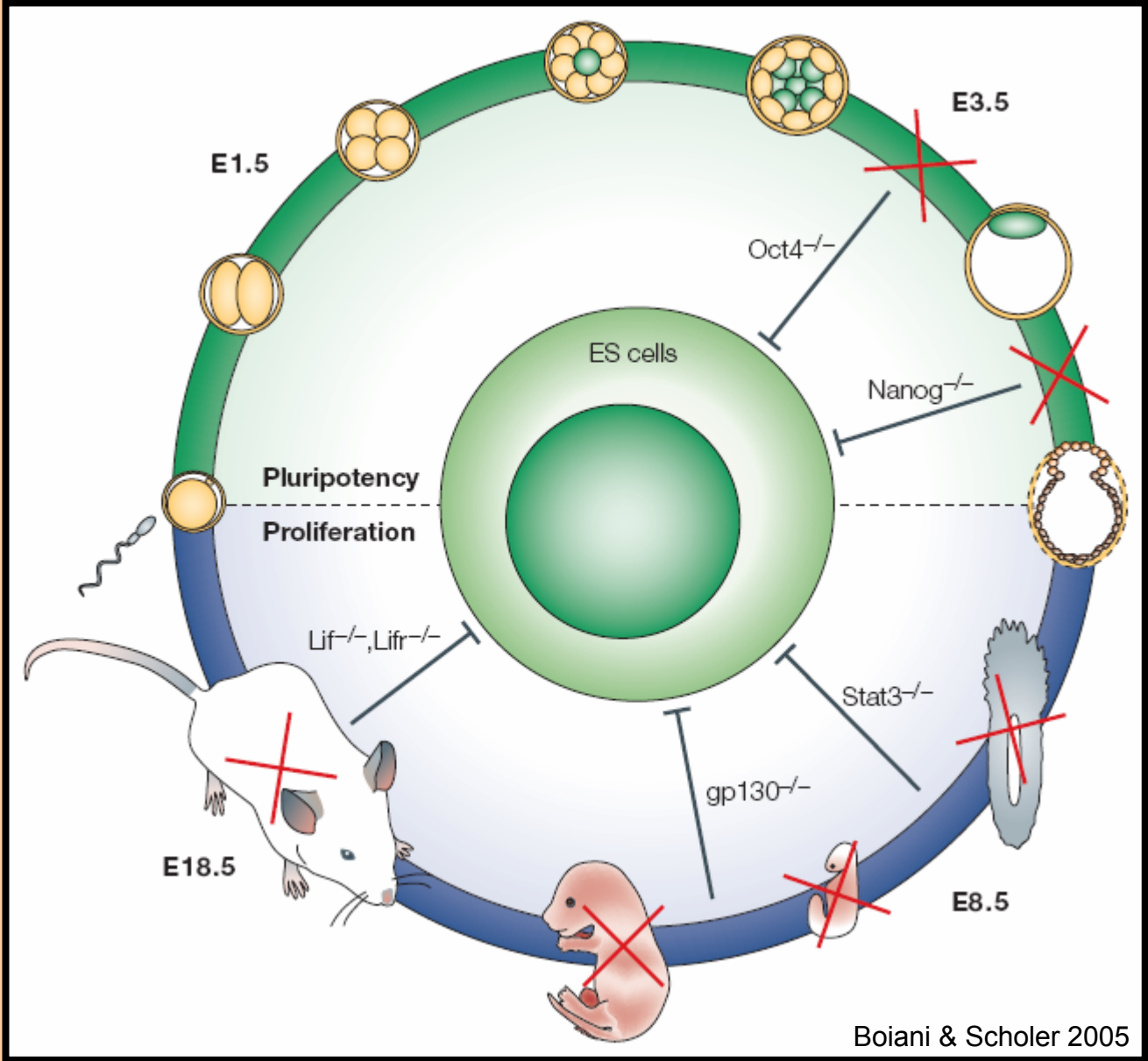
Vybrané signální dráhy

Signální dráha LIF (leukemii inhibující faktor) -> *gp130 signalling*

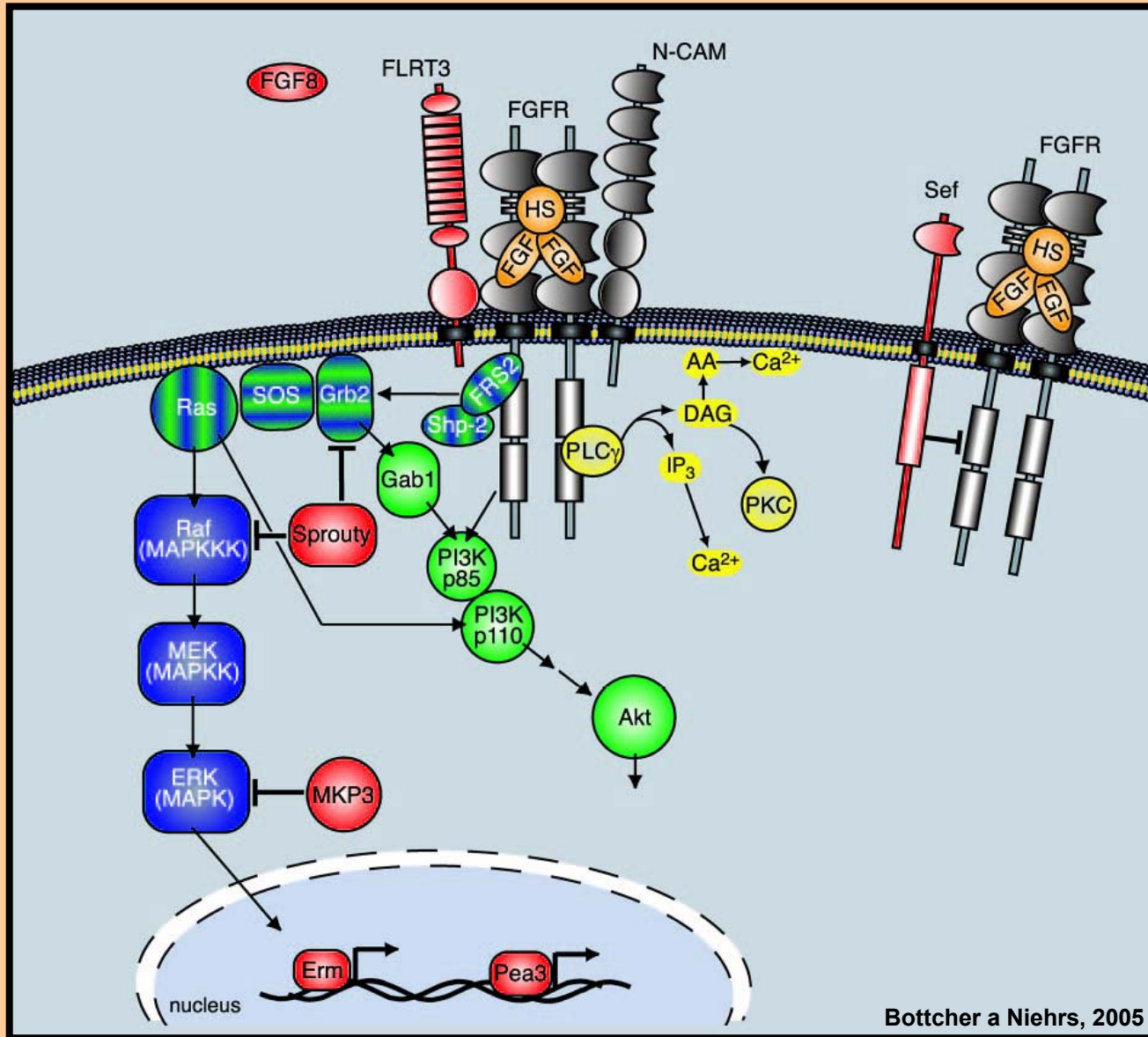


Evolučně se zdá, že tato dráha hraje důležitou úlohu v regulaci pluripotentních a snad i multipotentních buněk u živočichů obecně (prokázáno i u *Drosophily*)

Význam gp130 signalizace v průběhu embryogeneze

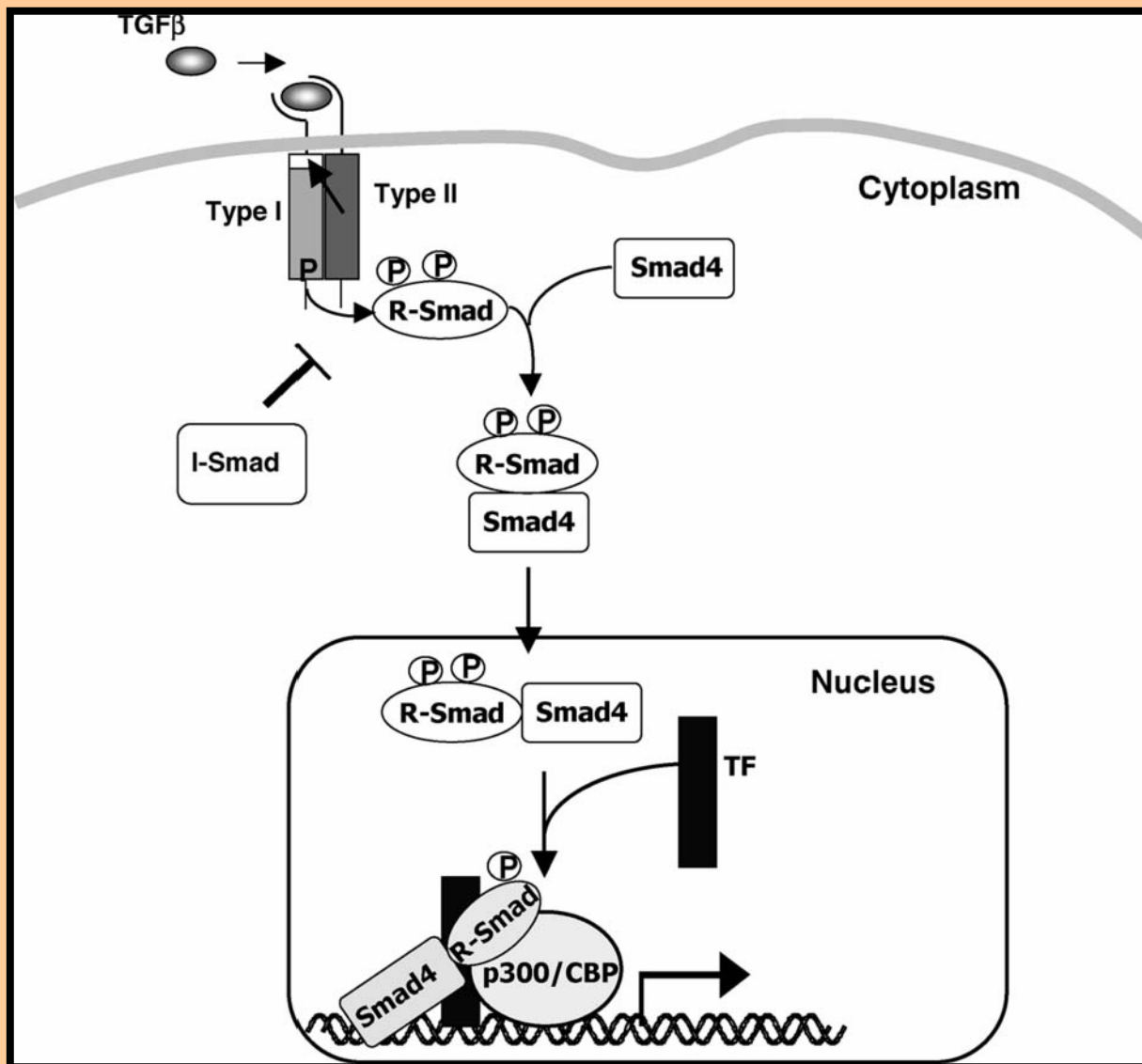


Signální dráha FGFs (Fibroblastové růstové faktory)



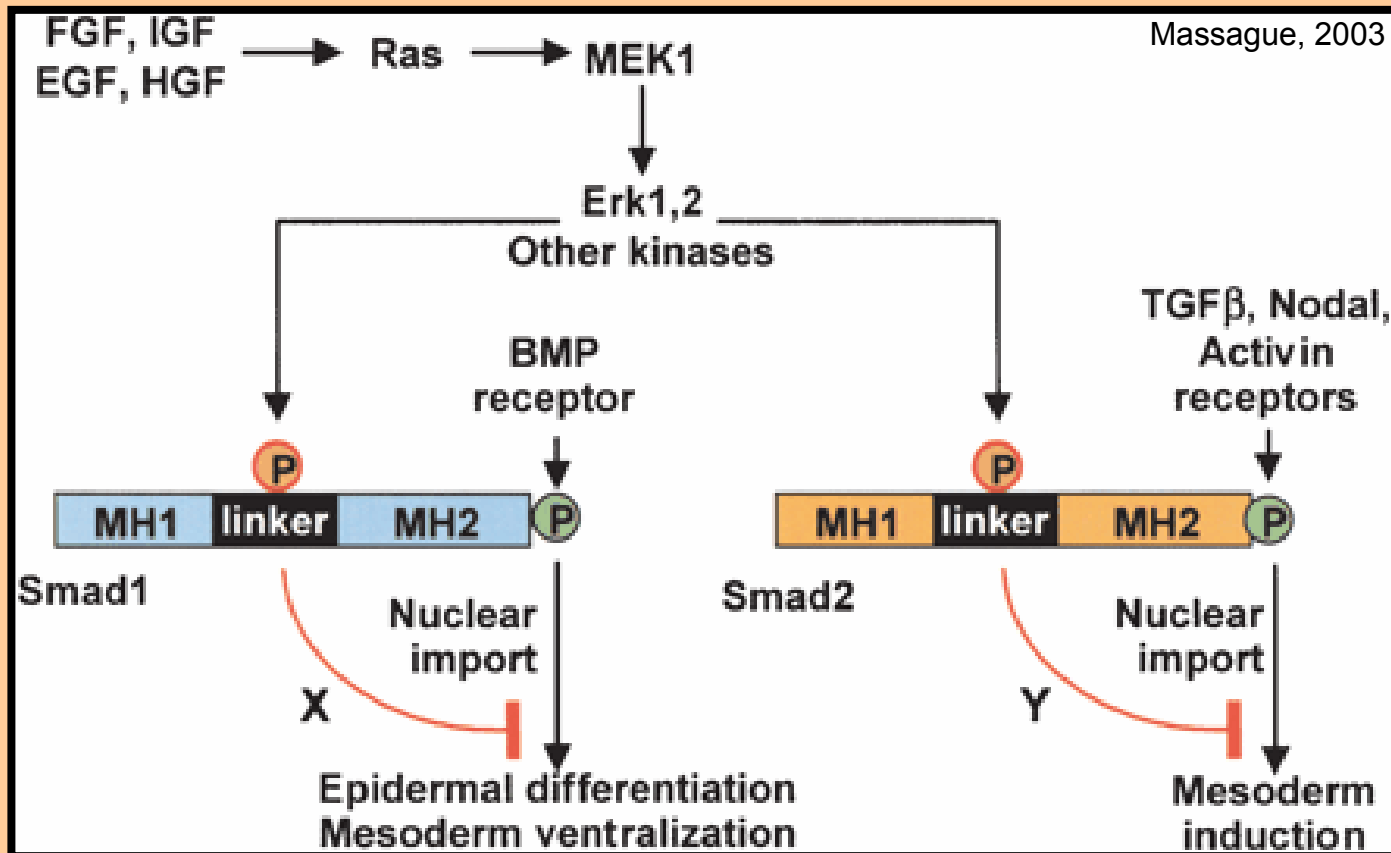
Signální dráha TGF β / BMPs

(Transformující růstový (*growth*) faktor β
kostní (*bone*) morfogenetické proteiny)



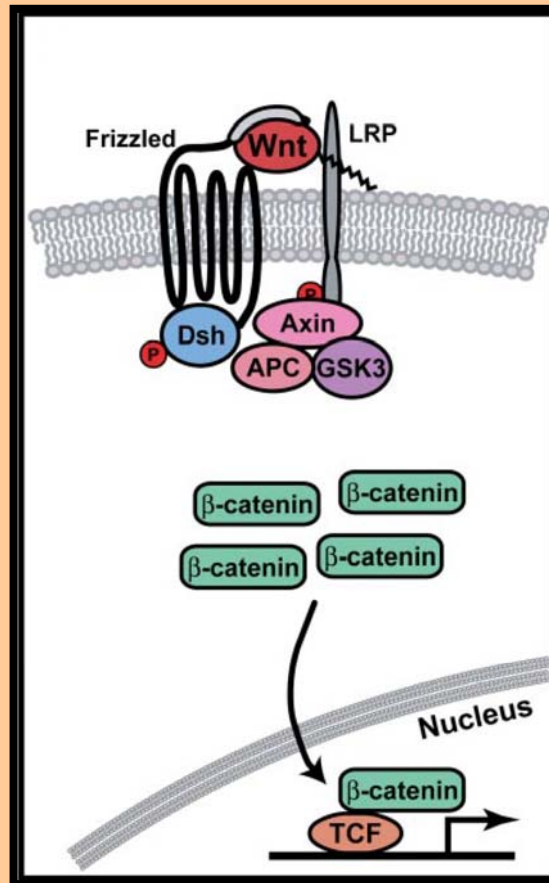
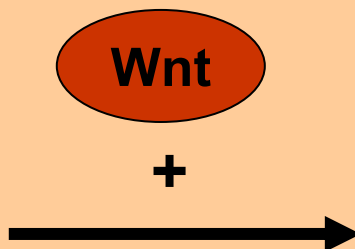
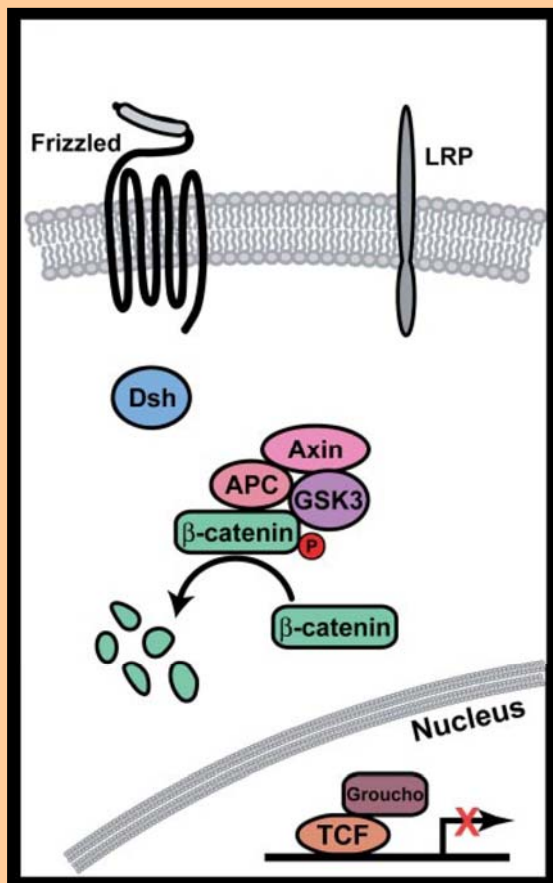
CROSSTALK FGF & TGF β DRÁHY TRANSDUKCE SIGNÁLU

Potlačení sérového BMP přidáním FGF-2 => inhibice diferenciace hES

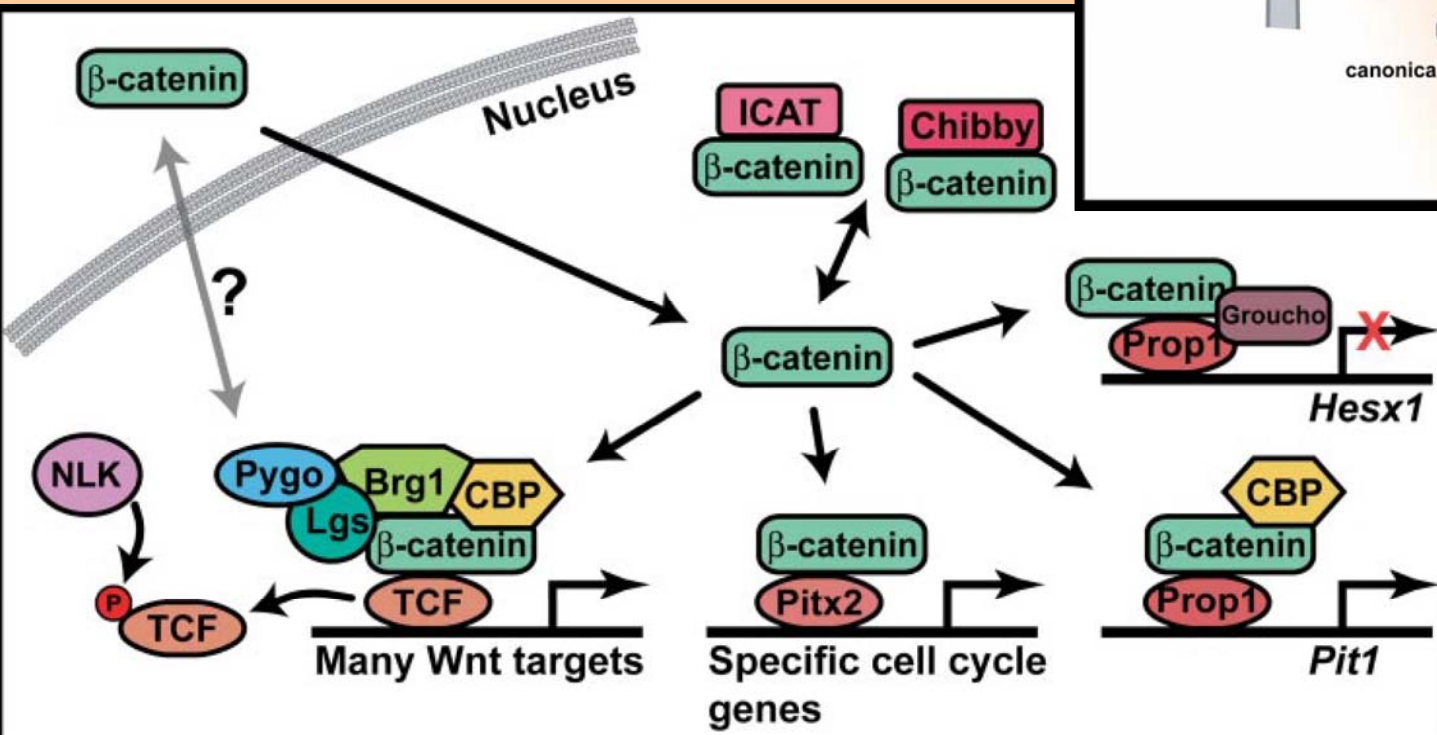
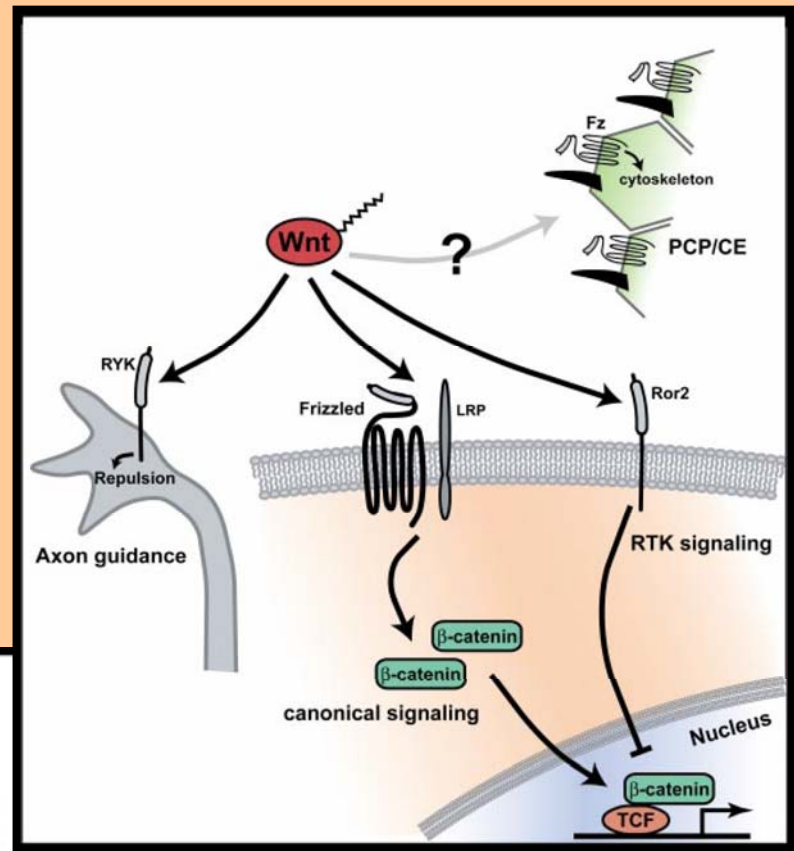


Signální dráha Wnts

<http://www.stanford.edu/~rnusse/wntwindow.html>

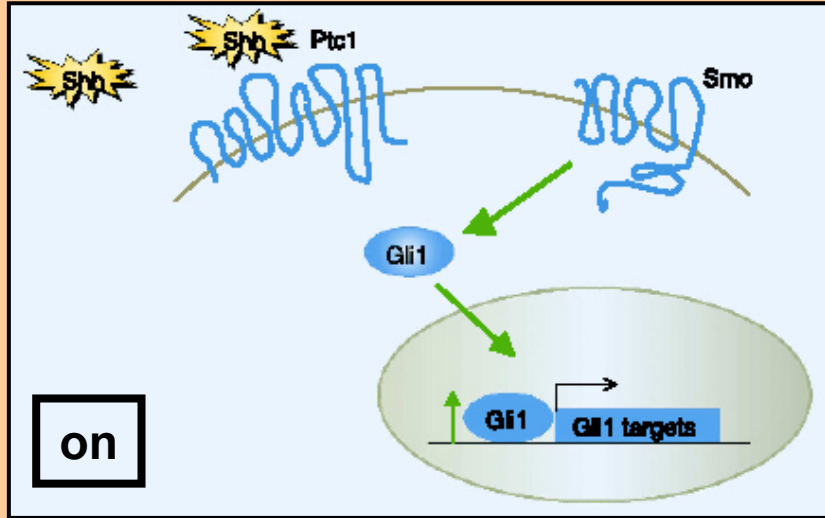
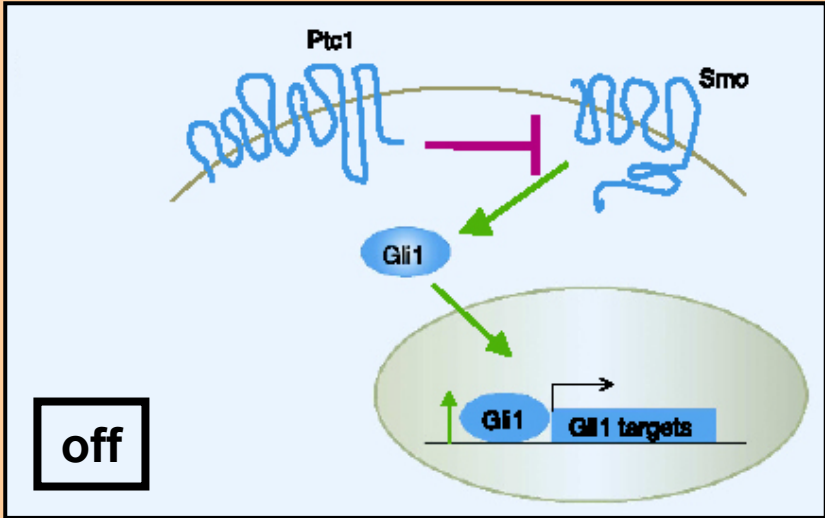


Signální dráha Wnts

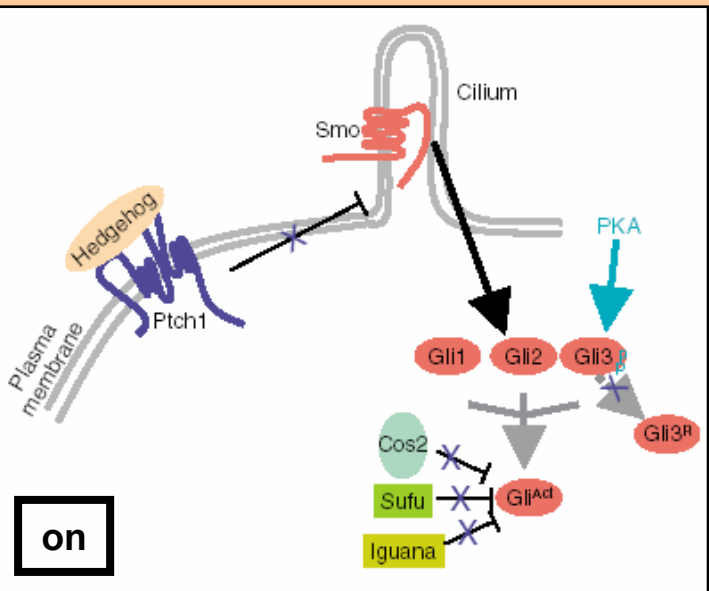
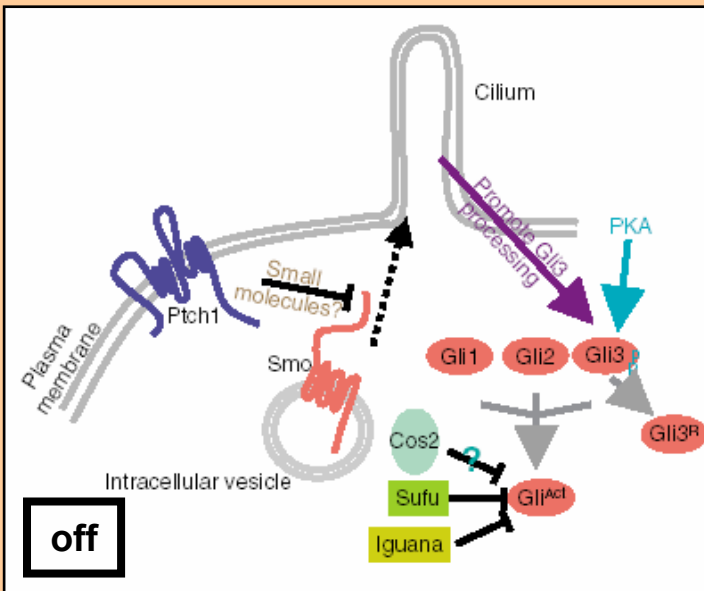


Signální dráha Hedgehog

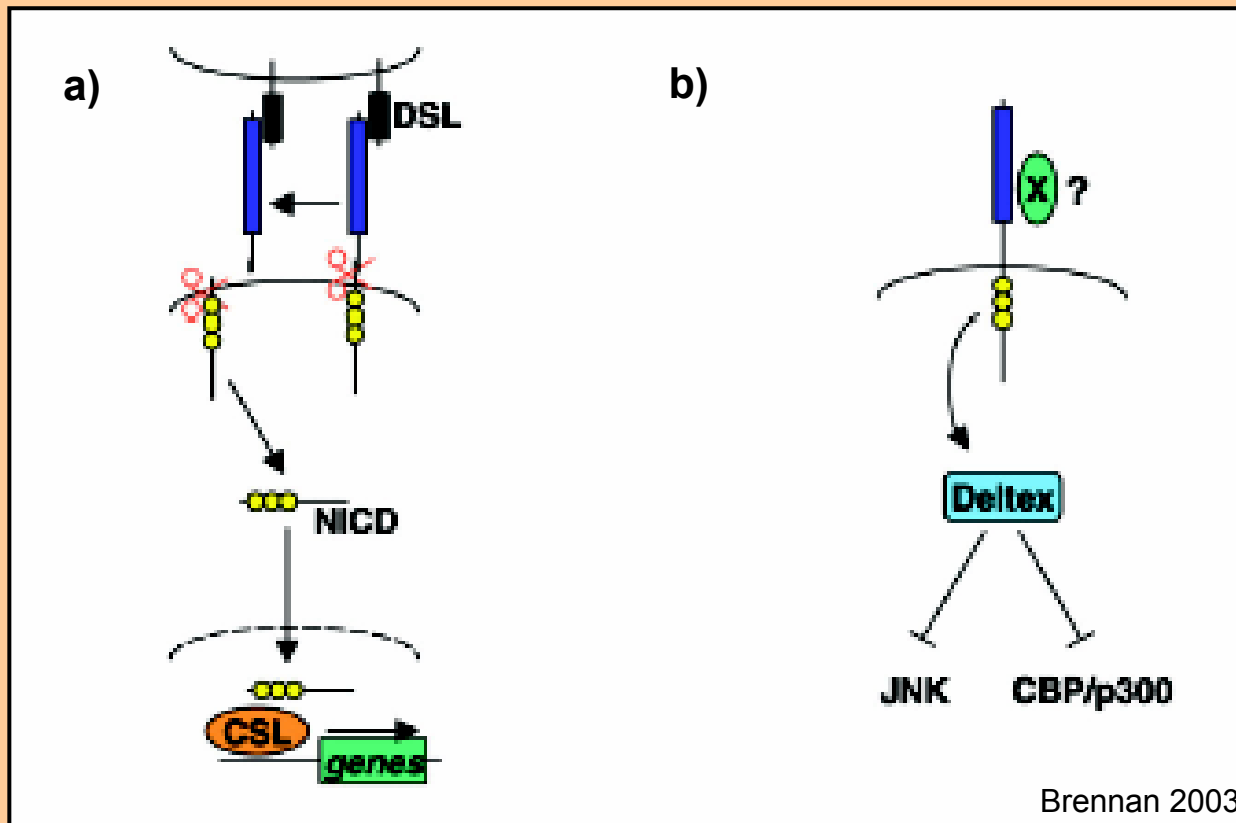
sonic hedgehog (Shh), Indian hedgehog (Ihh)



Ptc – Patched Smo - Smoothened

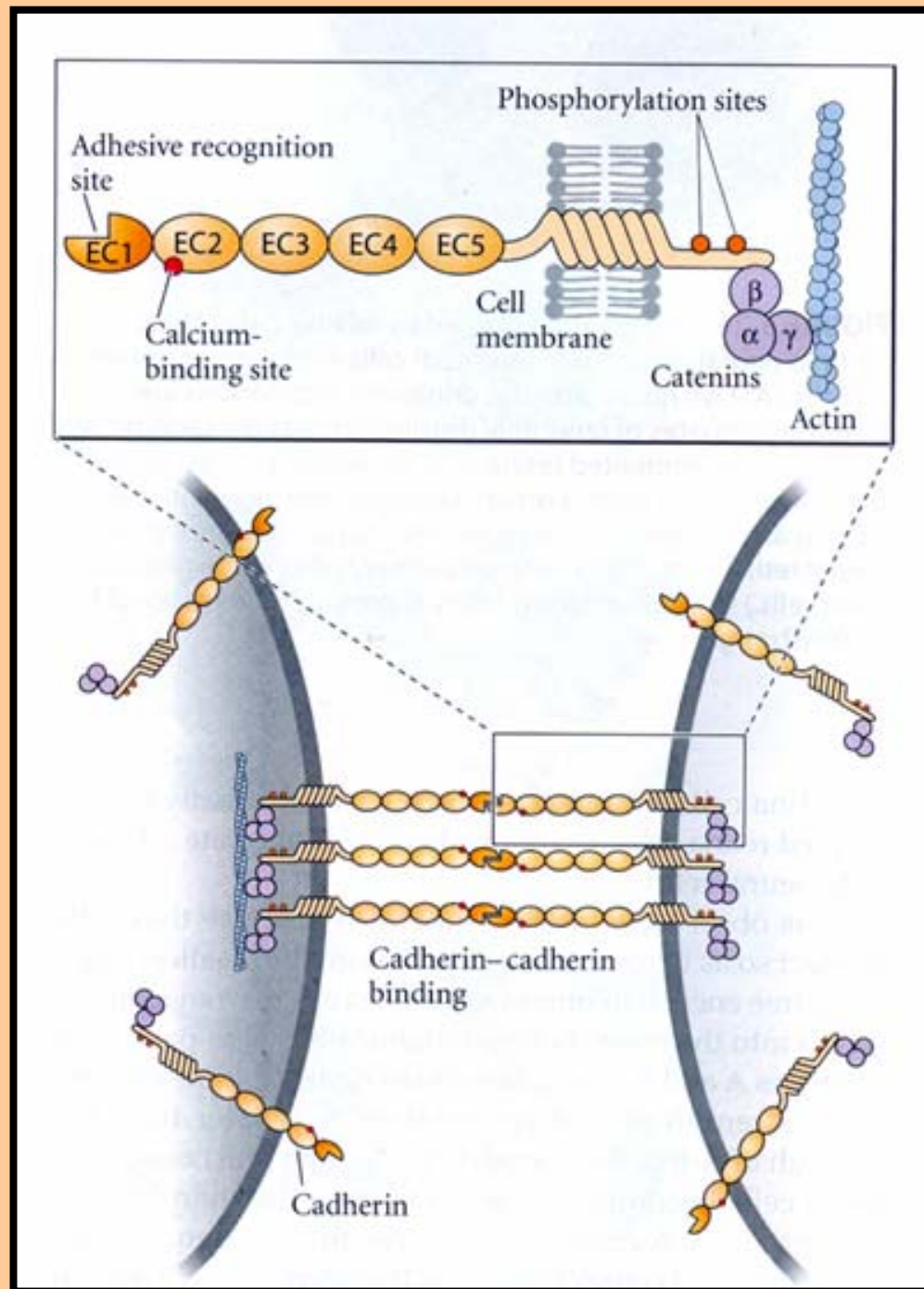


Signální dráha Notch

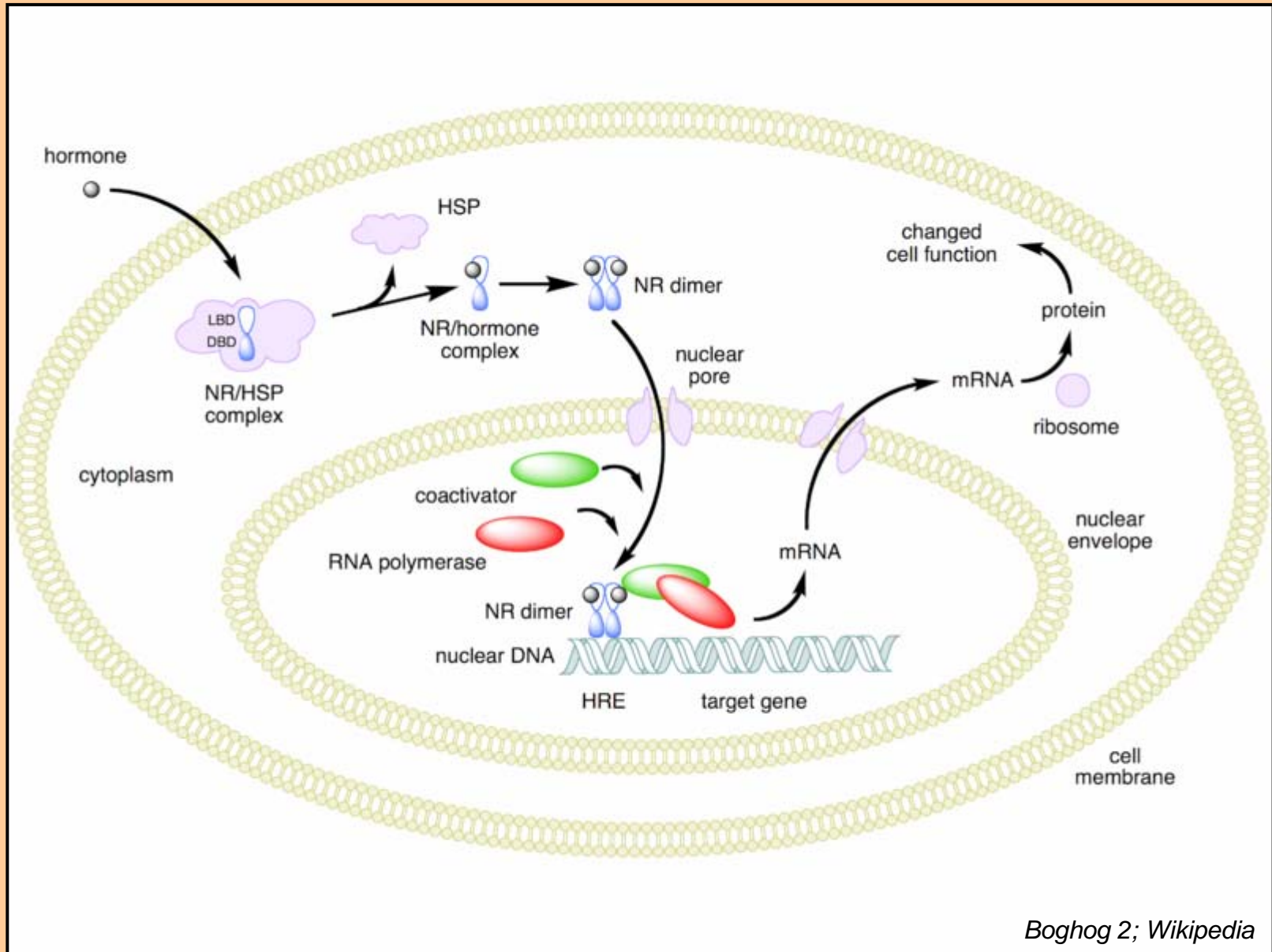


- a) klasická dráha signální transdukce Notch, po navázání ligandu (DSL rodina = Delta, Serrate, Lag-2; Jagged) dojde k odštěpení extracelulární části receptoru a následně i intracelulární (NICD – Notch intracellular domain), ta translokuje do jádra a v dimeru s CSL (= CBF1 – Cp binding factor 1) aktivuje transkripci.
- b) dráha snad aktivovaná dosud neznámým faktorem, kdy dochází k aktivaci proteinu Deltax, který pak inhibuje JNK a CBP/p300 aktivitu.

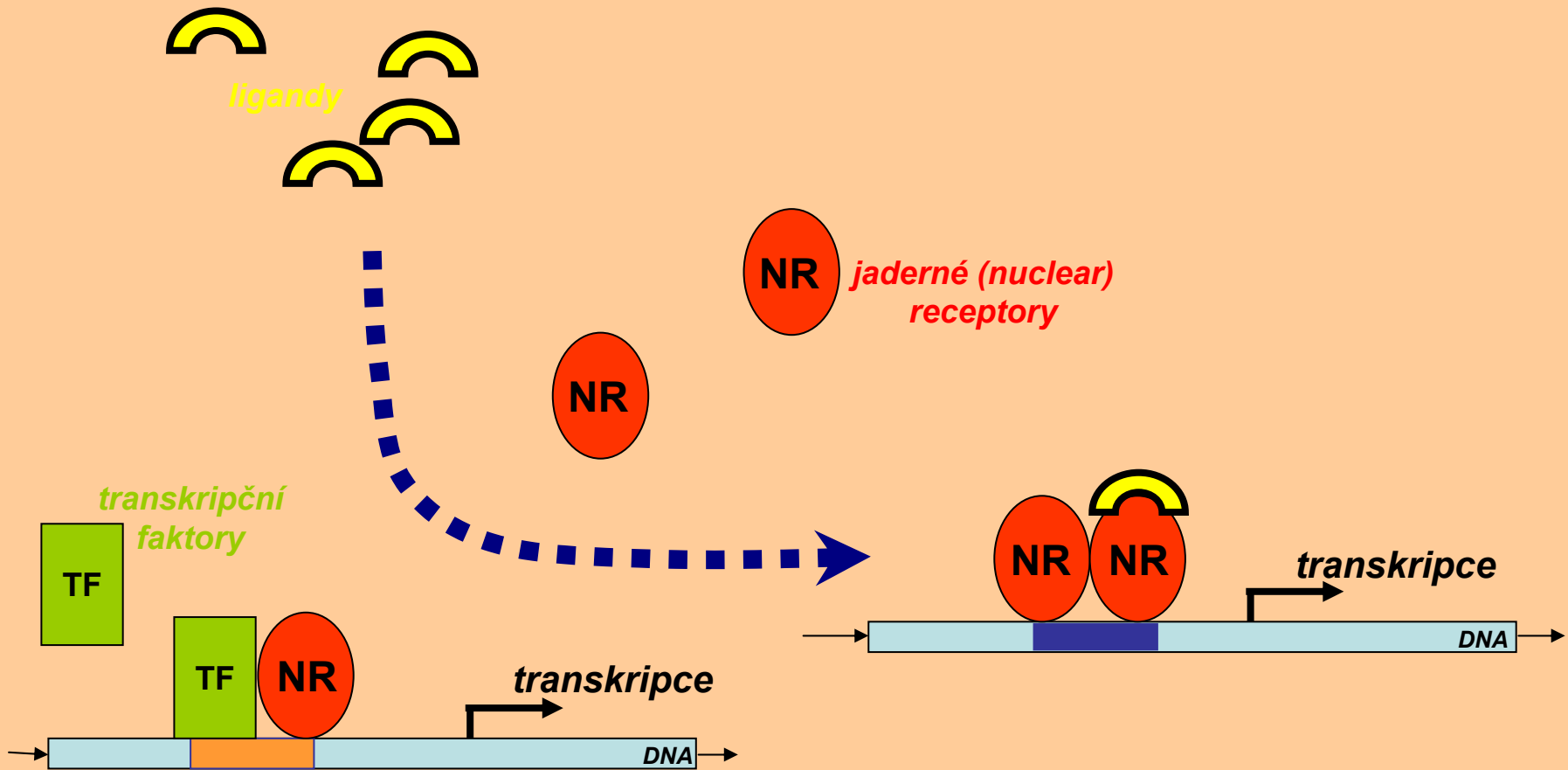
Kadheriny sprostředkovaná komunikace mezi buňkami



Signální dráha jaderných receptorů obecně

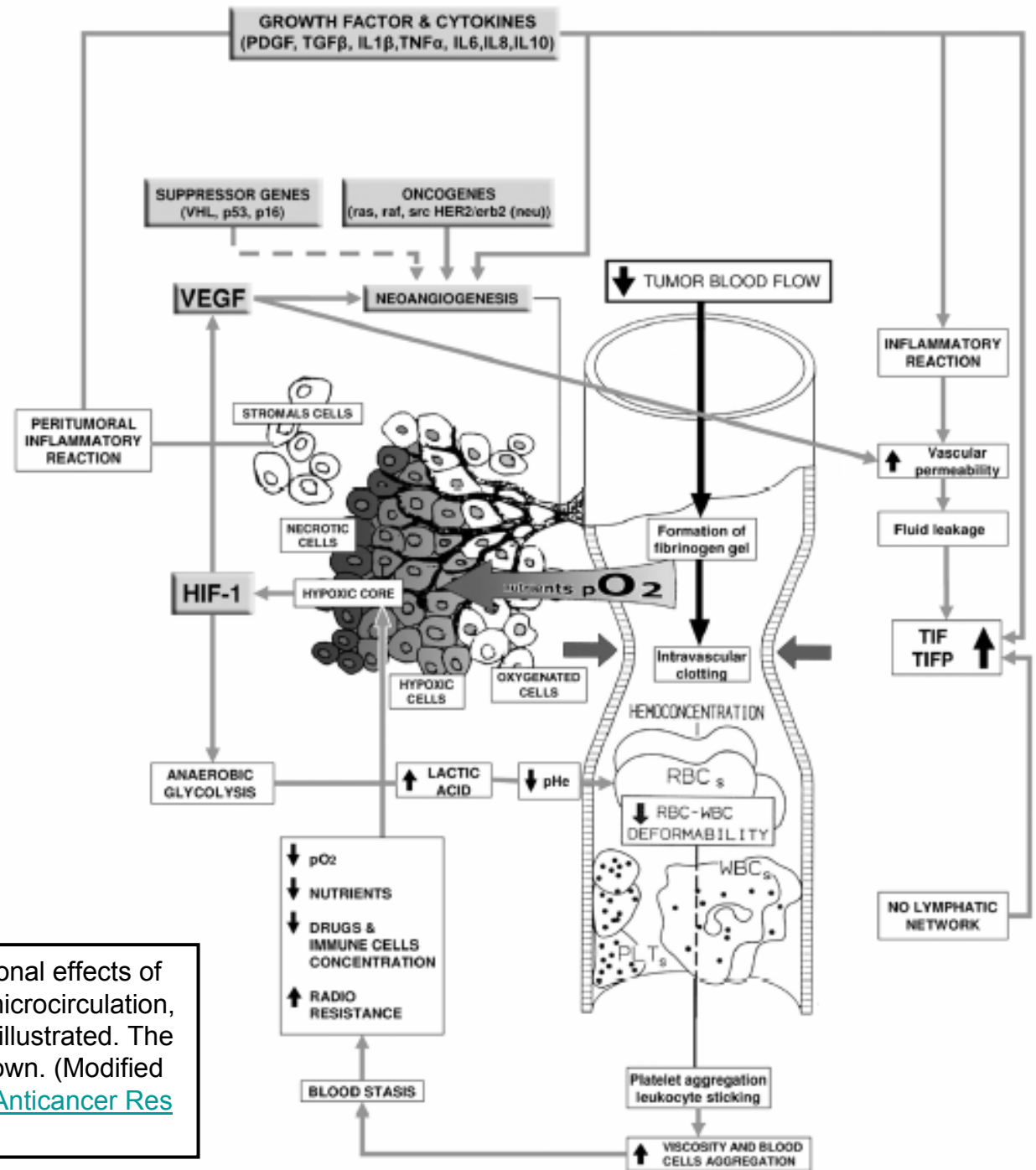


Signální dráha jaderných receptorů



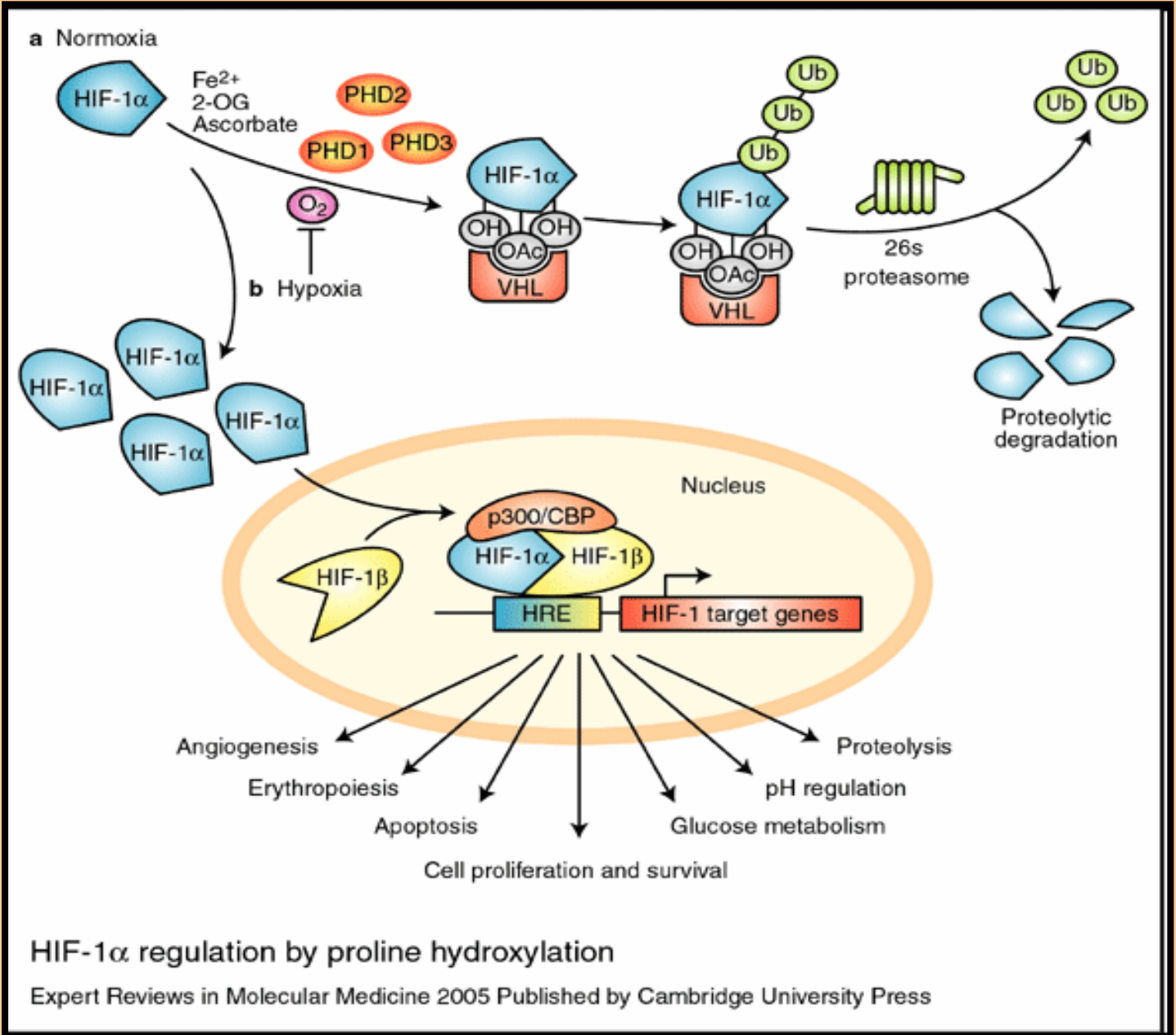
sebeobnova x diferenciace
?diferenciace x sebeobnova?

HYPOXIE



In this figure the structural and functional effects of Hypoxia, HIF-1 and VEGF on tumor microcirculation, cancer metabolism and therapies are illustrated. The vicious circles that occur are also shown. (Modified with permission from: [Baronzio et al. Anticancer Res 1994; 14:1145-1154.](#))

HYPOXIE & HIF (hypoxií indukovaný faktor)



HIF-1α regulation by proline hydroxylation

HYPEROXIE x NORMOXIE x HYPOXIE x ANOXIE

anoxie - 0% kyslíku

tkáňová hypoxie - 0-3% kyslíku

tkáňová normoxie - 3-5% kyslíku

atmosféra - 21% kyslíku

In the human organisms, O_2 concentration varies significantly between the tissues: in the lung parenchyma and in circulation (McKinley and Butler, 1999; Saltzman et al., 2003; Johnson et al., 2005; Wild et al., 2005), as well as in well irrigated parenchymal organs (liver, kidneys, heart; Wolfle and Jungermann, 1985; Jungermann and Kietzmann, 1997; Roy et al., 2000; Welch et al., 2001; Mik et al., 2004) it is comprised between 14% and 4%. In other tissues, relatively less irrigated, O_2 concentration is even lower: in the brain, it varies from 0.5% to 7% (Whalen et al., 1970; Nwaigwe et al., 2000; Hemphill et al., 2005) in the eye (retina, corpus vitreous), from 1 to 5% (Buerk et al., 1993; reviewed in Yu and Cringle, 2005), in the bone marrow, from 0% to 4% (Tondevoid et al., 1979; Chow et al., 2000).