

# ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BIOLOGIE

*Oddělení fyziologie a imunologie živočichů*

Pracovní skupiny studující Fyziologii buňky



**Jiří Pacherník**



**Jiřina  
Medalová**

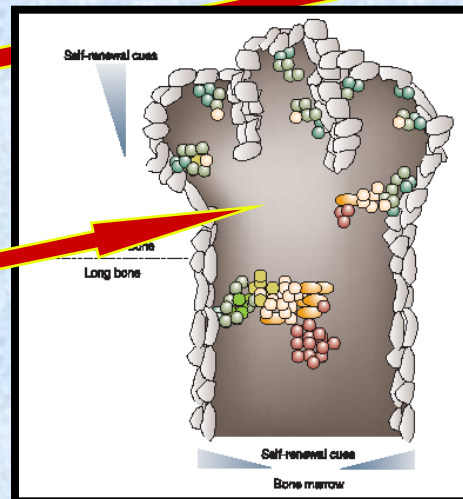
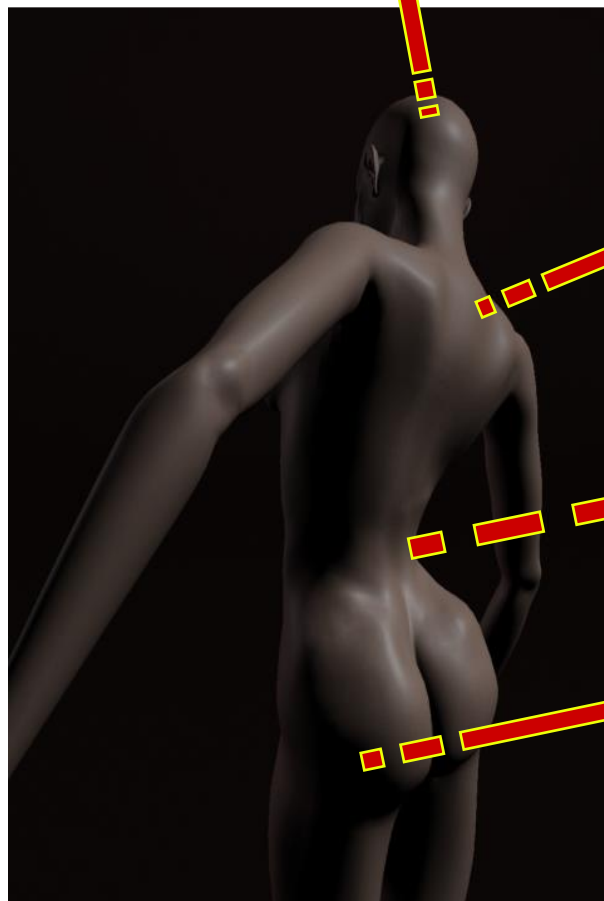
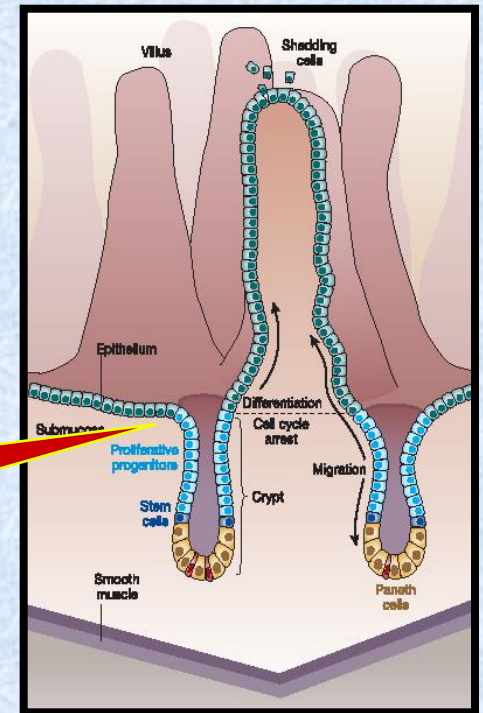
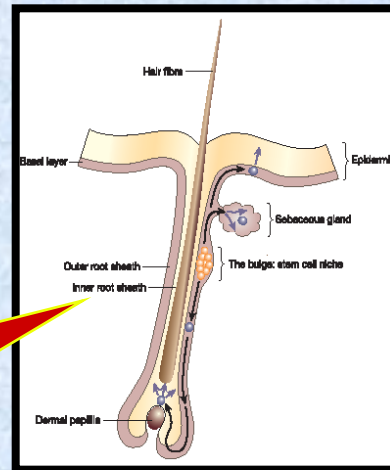
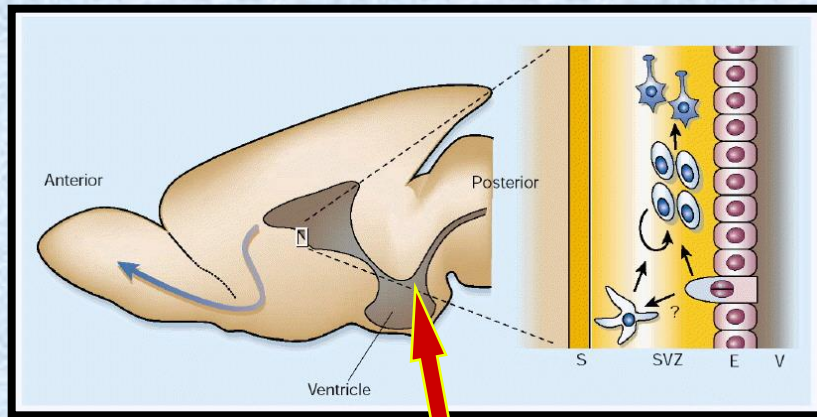


**Vít'a Bryja**



**Marcela  
Buchtová**

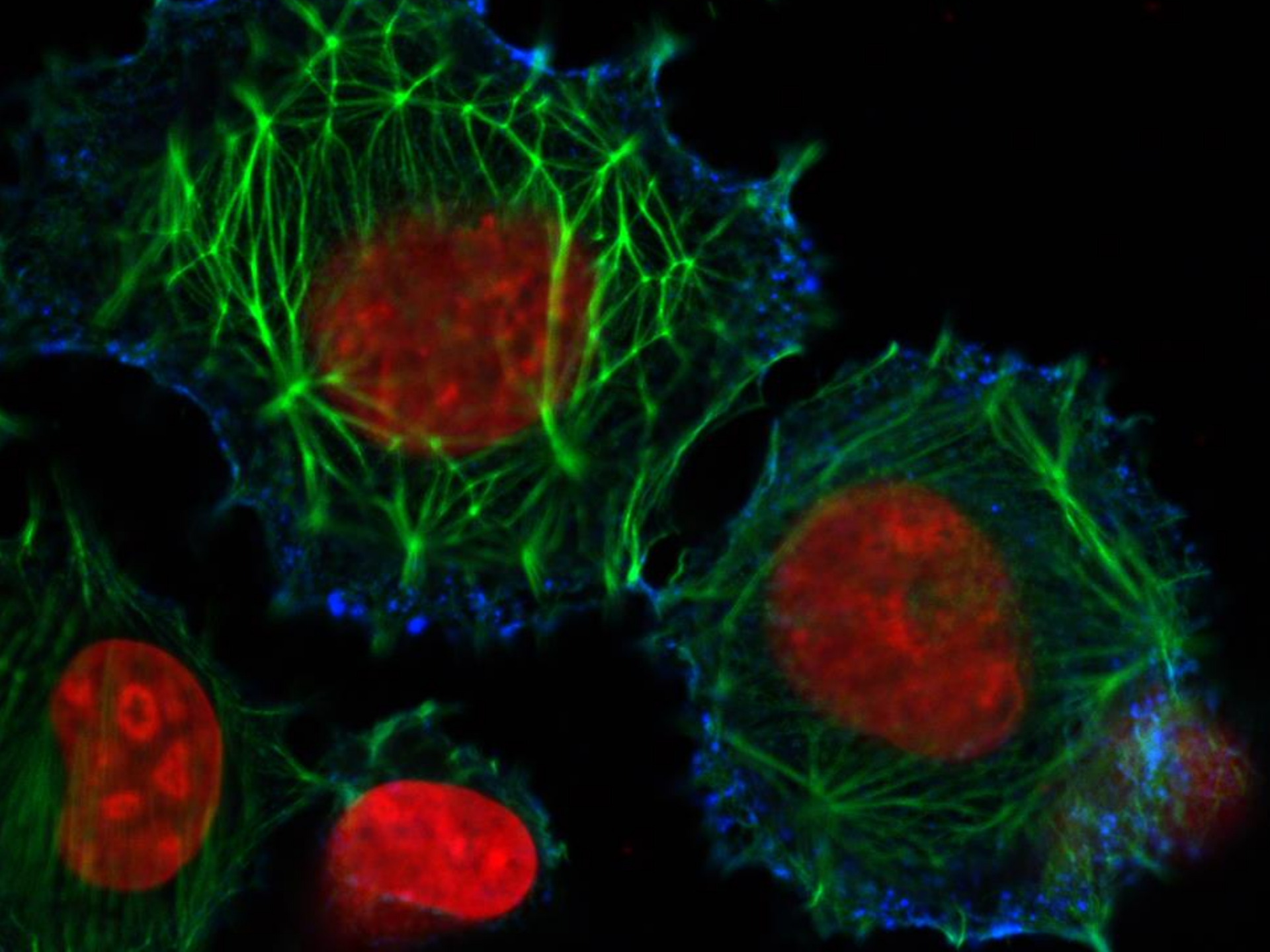
# Buňka je základní funkční jednotka organismu



# Laboratoře pro výzkum buněk







# ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BIOLOGIE

*Oddělení fyziologie a imunologie živočichů*

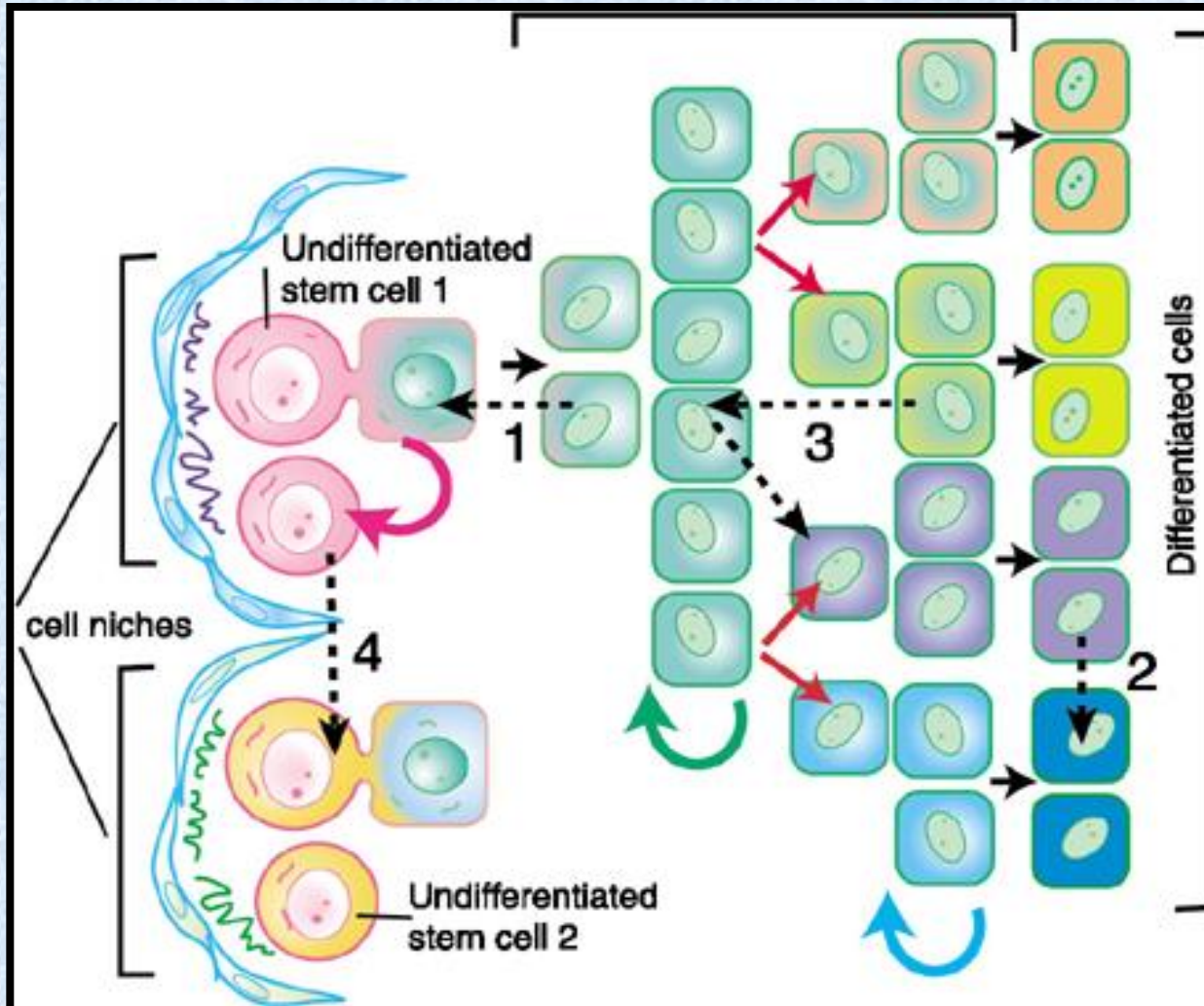
Laboratoř fyziologie kmenových buněk



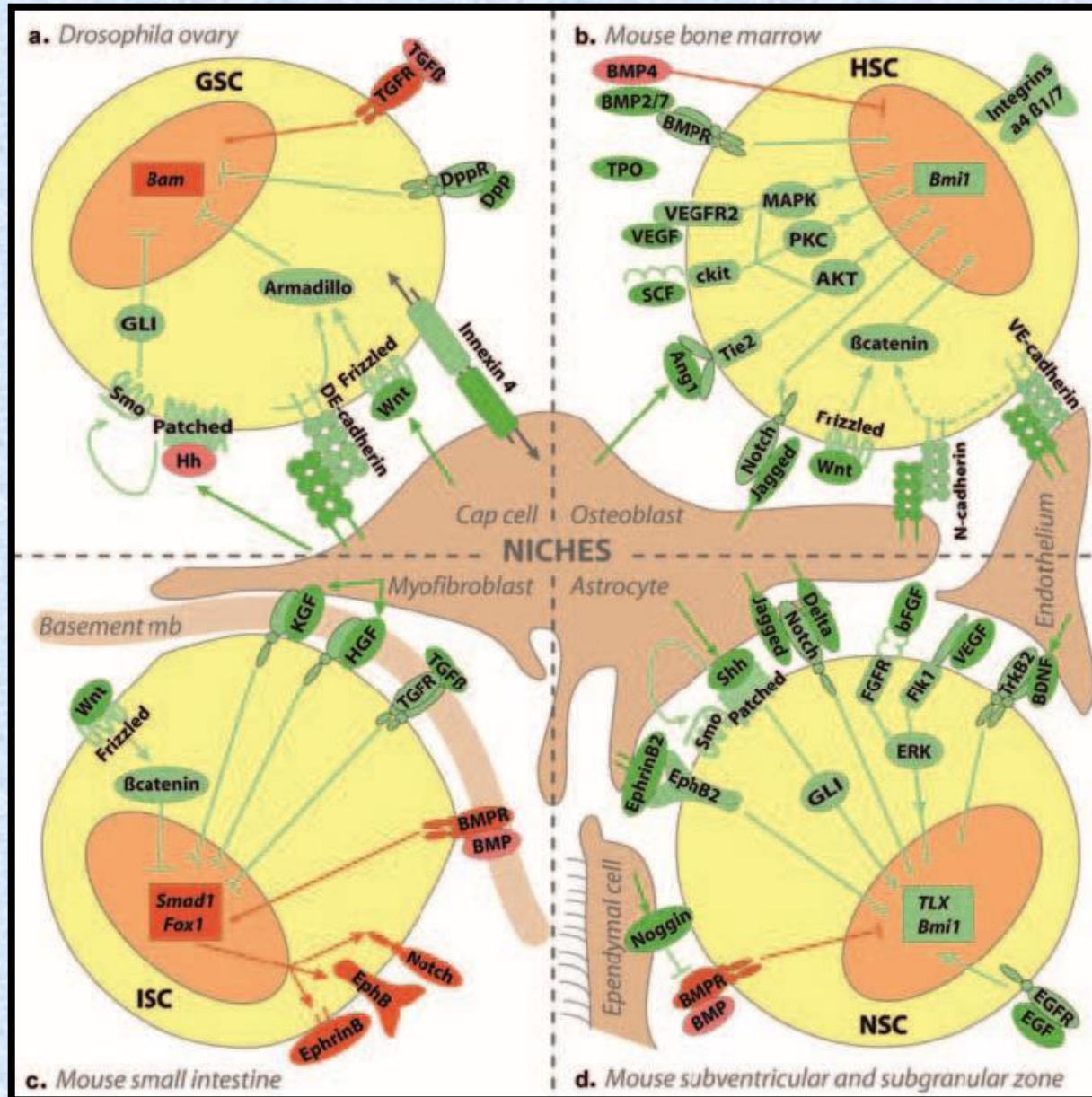
**Jiří Pacherník**

## Co jsou kmenové buňky?

- buňky schopné vlastní obnovy (sebeobnova)
- buňky schopné dát vznik jiným typům buněk (schopnost diferenciacce / rozrůzňování)



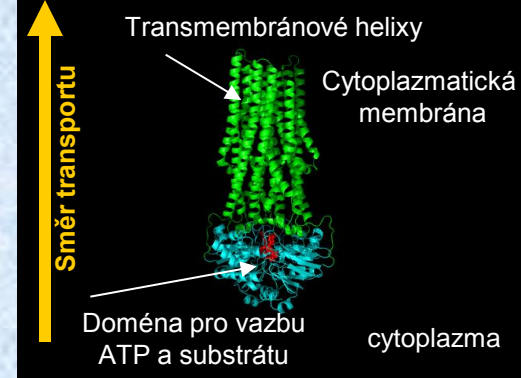
# Mechanismy sloužící k zachování kmenových buněk v organismu.





# ABC transportéry (ATP-binding cassette)

Mgr. Jiřina Medalová, Ph.D.  
jipro@sci.muni.cz



## Transmembránové pumpy závislé na ATP

- Exportují metabolity buněk (nejčastější výskyt játra, ledviny, střevo, krevní buňky...)
- Brání vniknutí toxických látek do buněk (krevně mozková bariéra, kmenové buňky...)

## Patologický výskyt

nadměrné množství ABC transportérů na buňkách

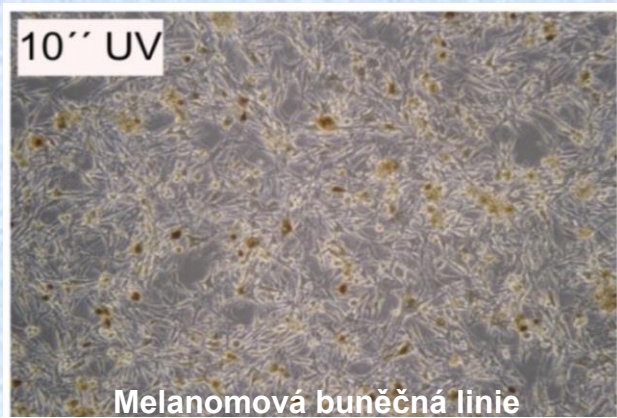
- Multiléková rezistence rakovinných buněk (ABC B1, ABC C1, BCRP)

nedostatečné množství ABC transportérů nebo jejich špatná funkce

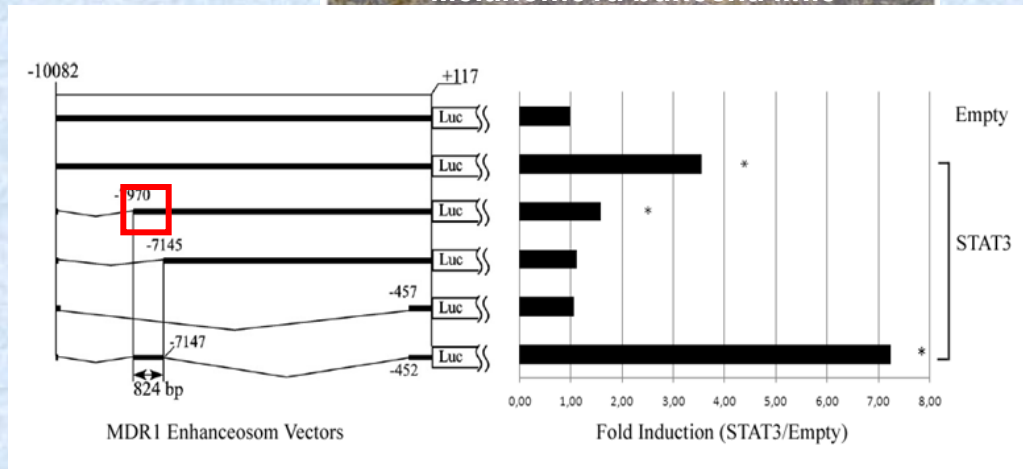
- 16 dědičných onemocnění vedoucích ke kumulaci metabolitů uvnitř buněk
- Neurodegenerativní onemocnění

## Běžící projekty

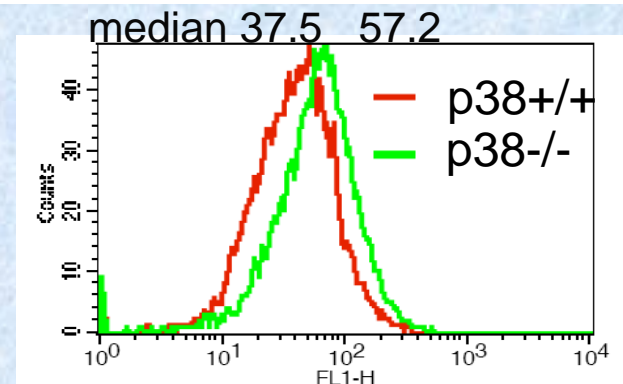
- Rezistence melanomů způsobená MDR5



- Analýza vazebného místa STAT3 v MDR1 enhanceosomu



- Vliv základních kinázových kaskád (p38) na transkripci ABC transportérů v nádorových a ES buňkách



- Role ABC transportérů v buněčném cyklu

# Mezibuněčná signalizace – signální dráhy WNT a jiné



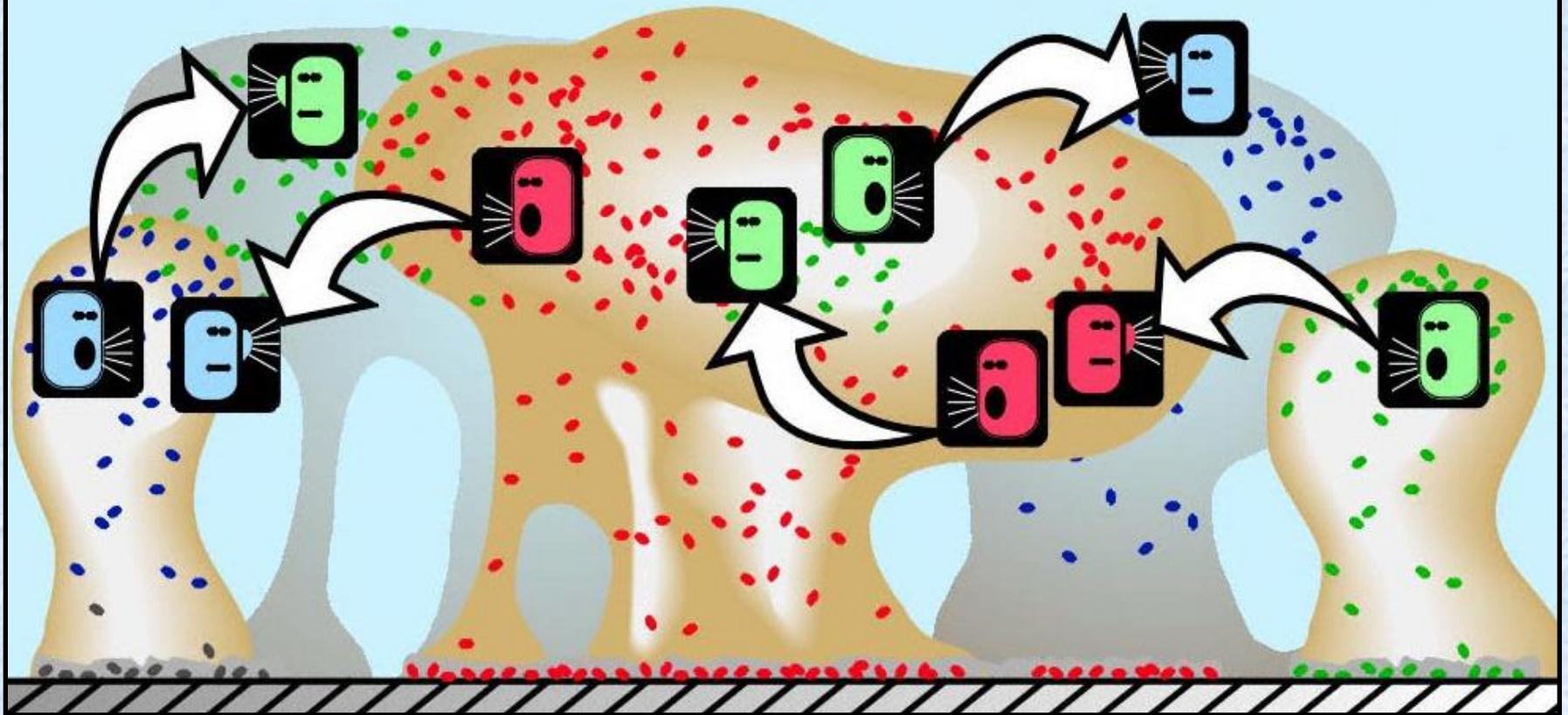
Doc. Vítězslav Bryja

# Komunikace mezi buňkami (signály)

buňky se musejí domluvit co budou dělat

(růst, dělit se, měnit se, cestovat/migrovat, usazovat se, umírat, produkovat, plnit svou funkci,..)

## Cell-Cell Communication



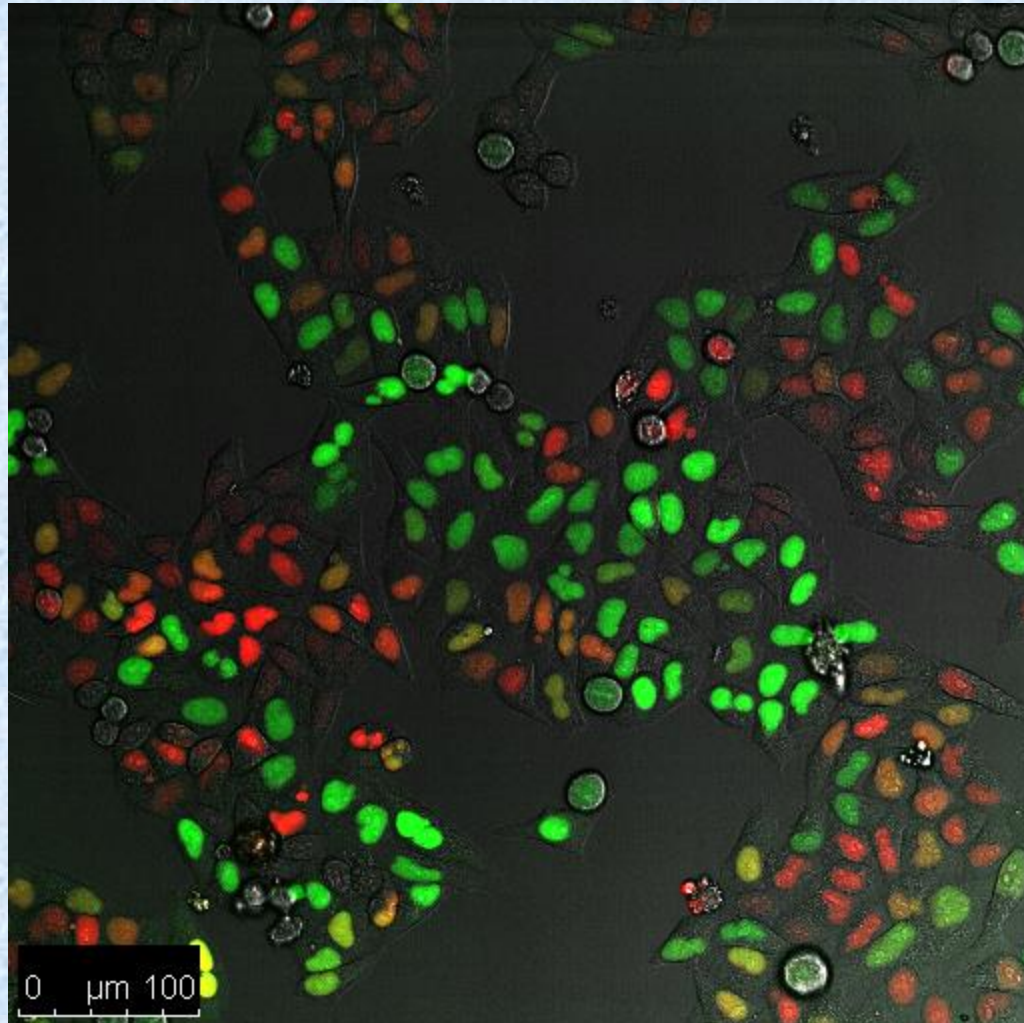
**Problémy v komunikaci mají závažné důsledky!**



# Cíle a nástroje

- molekulární analýza fyziologických, vývojových a buněčných procesů, které jsou pod kontrolou ligandů z rodin WNT a FGF
- analýza metodami vývojové, buněčné, molekulární biologie a proteomiky
- přístup k nejmodernějším technologiím (průtoková cytometrie, hmotnostní spektroskopie, DNA microarrays atd.)

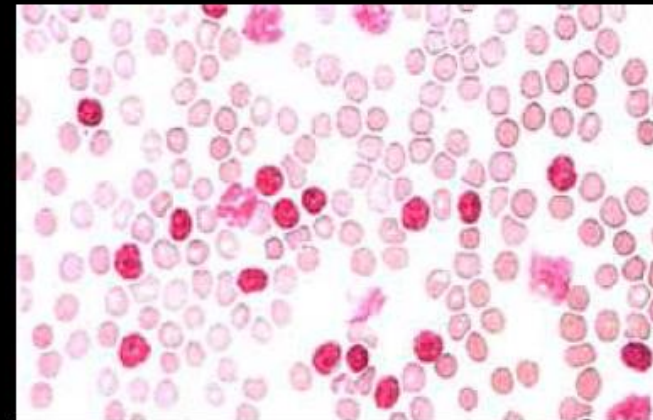
# Fucci – *movie*



Time: 22h

# Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL)

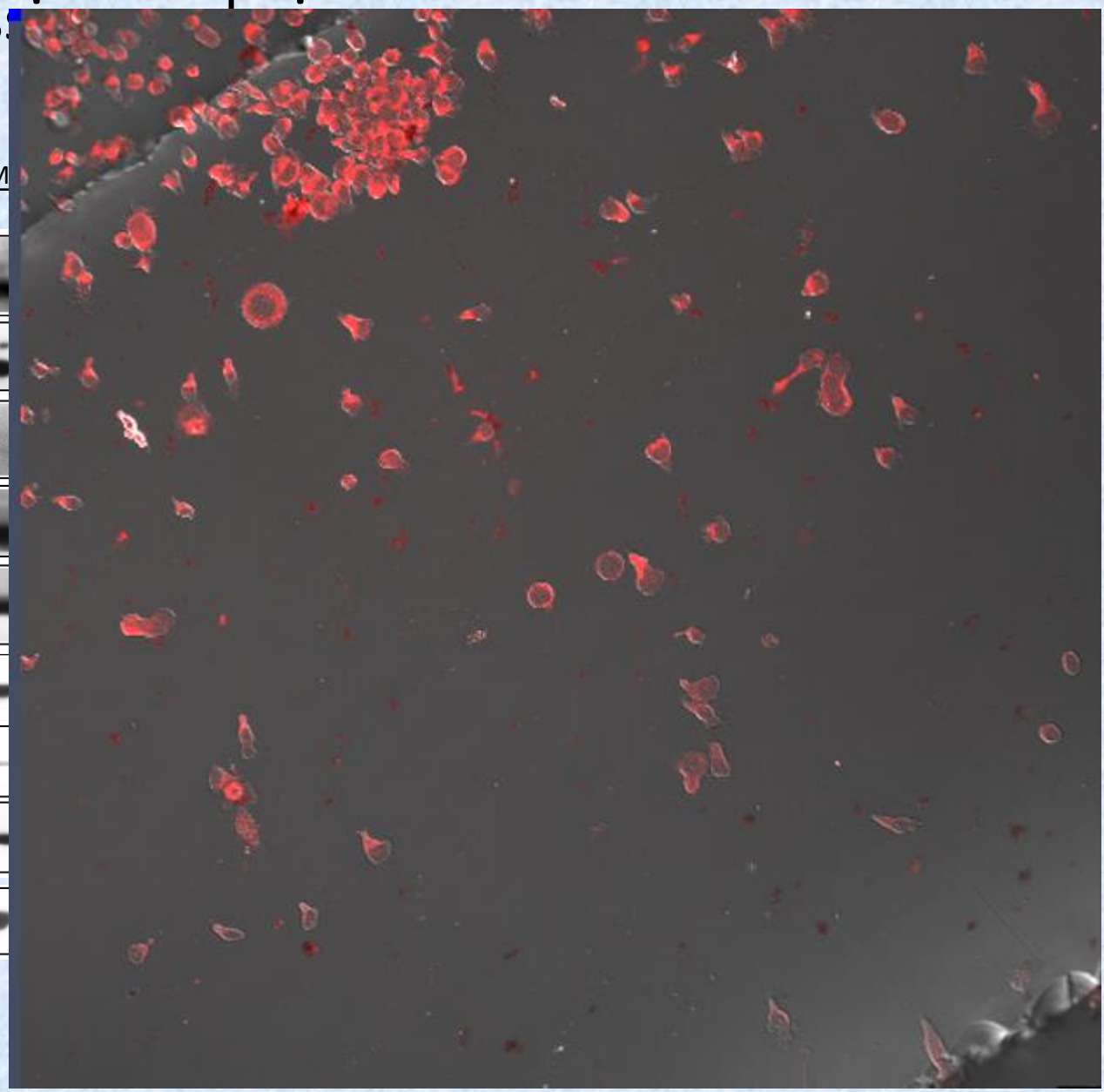
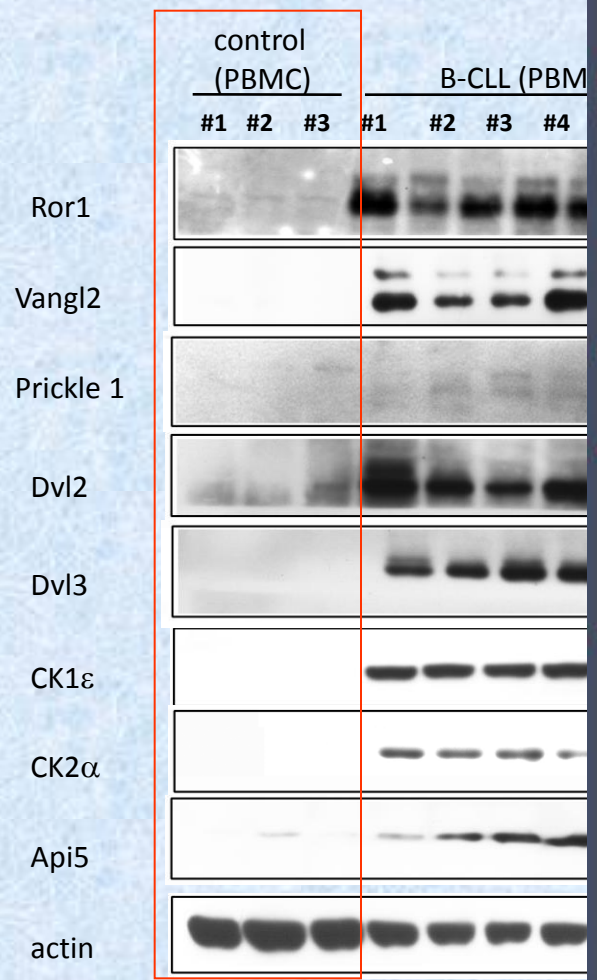
- **Chronic** = slow and protracted course
- **Lymphocytic** = mature B cells affected, clonal expansion
- **Leukemia** = malignant disorder



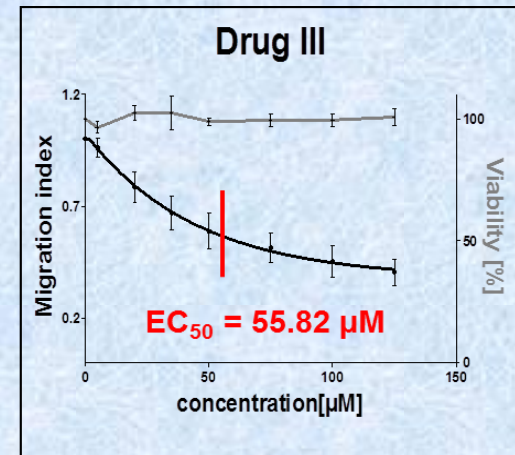
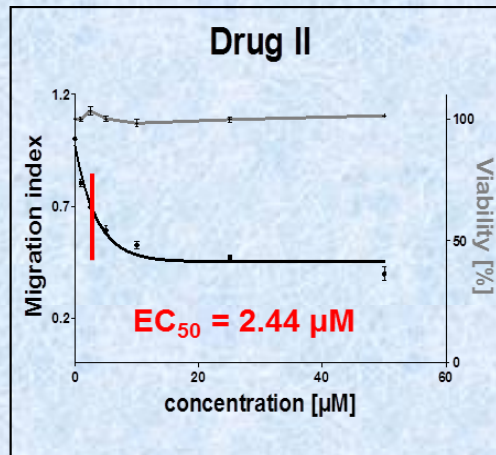
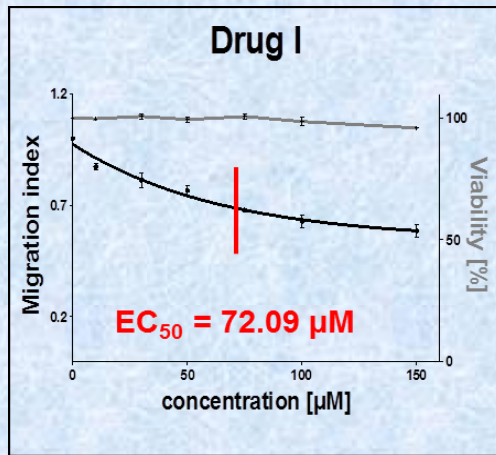
- Most common leukemia in Western world
- Incidence: 3 patients in population of 100 000 per year
- Median age of diagnosis: 65 years
- Survival: from several years to decades



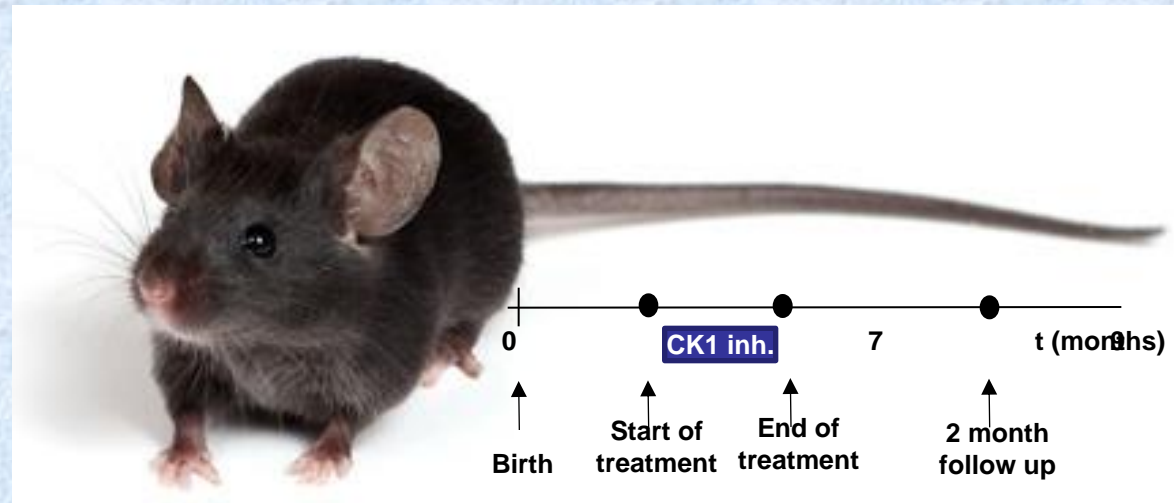
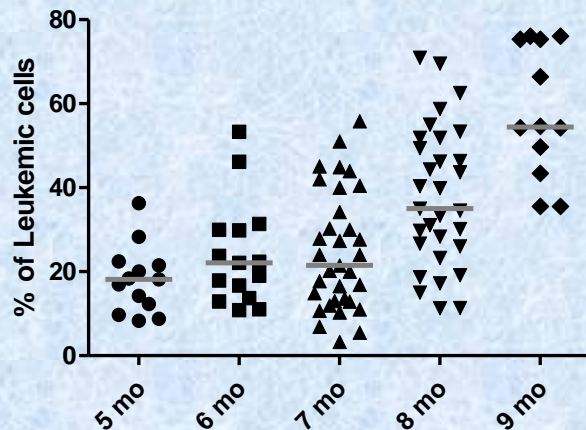
# Protein expression



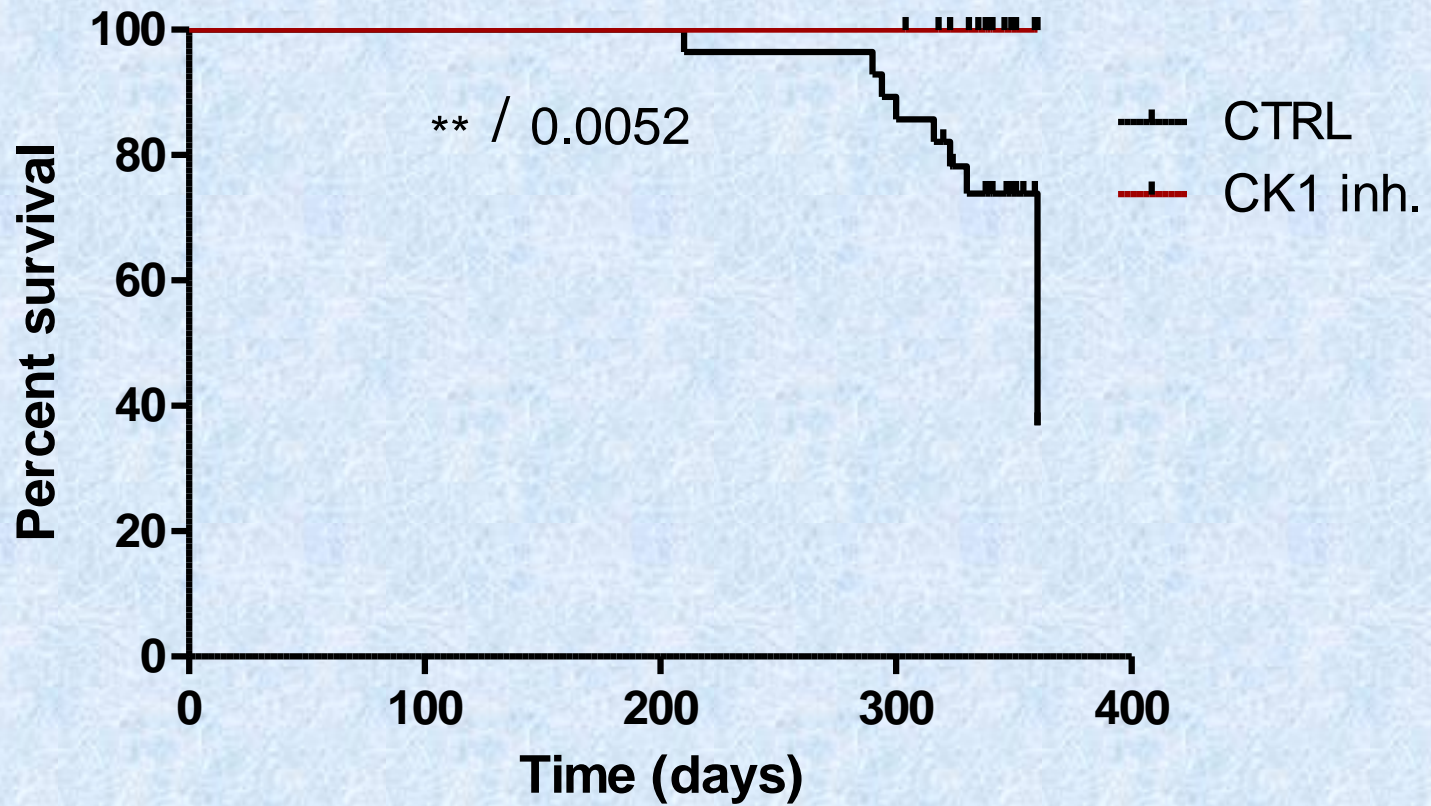
# Treatment and sampling



### CLL% vs Age



# Survival



# Kvalitní vědecké výsledky

272

Resea

## STAT1 and STAT3 do not participate in FGF-mediated growth arrest in chondrocytes

Pavel Krejci<sup>1,2\*</sup>, Lisa Salazar<sup>3</sup>, Helen S. Goodridge<sup>4</sup>, Tamara A. Kashiwada<sup>3</sup>, Matthew J. Schibler<sup>5</sup>, Petra Jelinkova<sup>1</sup>, Leslie Michels Thompson<sup>3</sup> and William R. Wilcox<sup>6,7</sup>

<sup>1</sup>Institute of Experimental Biology, Masaryk University, 61137 Brno, Czech Republic

## $\beta$ -Arrestin is a necessary component of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling *in vitro* and *in vivo*

Vítězslav Bryja<sup>1†</sup>, Dietmar Gradl<sup>2</sup>, Alexandra Schambony<sup>2</sup>, Ernest Arenas<sup>3\*</sup>, and Gunnar Schulte<sup>4</sup>

## High molecular weight FGF2: the biology of a nuclear growth factor

K. Chlebova<sup>a</sup>, V. Bryja<sup>a,b</sup>, P. Dvorak<sup>c,d</sup>, A. Kozubik<sup>a,b</sup>, W. R. Wilcox<sup>e,f</sup> and P. Krejci<sup>a,h,e,\*</sup>



Review

TRENDS in Pharmacological Sciences Vol.28 No.10

Full text provided by www.sciencedirect.com

ScienceDirect

## The Frizzled family of unconventional G-protein-coupled receptors

Gunnar Schulte<sup>1</sup> and Vítězslav Bryja<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Section of Receptor Biology and Signaling, Department of Physiology and Pharmacology, Karolinska Institutet, S-171 77 Stockholm, Sweden

<sup>2</sup>Institute of Experimental Biology, Faculty of Science, Masaryk University, Brno, Czech Republic

<sup>3</sup>Department of Cytokinetics, Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno, Czech Republic

Molecular Biology of the Cell  
Vol. 20, 924–936, February 1, 2009

## The Extracellular Domain of Lrp5/6 Inhibits Noncanonical Wnt Signaling In Vivo

Vitezslav Bryja<sup>1,2\*</sup>, Emma R. Andersson<sup>3†</sup>, Alexandra Schambony<sup>4,5†</sup>, Milan Esner<sup>3\*</sup>, Lenka Bryjová<sup>2\*</sup>, Kristin K. Biris<sup>6</sup>, Anita C. Hall<sup>7,8\*</sup>, Bianca Kraft<sup>5</sup>, Lukas Cajanek<sup>4</sup>, Terry P. Yamaguchi<sup>9</sup>, Margaret Buckingham<sup>3</sup> and Ernest Arenas<sup>4</sup>

EMBO  
reports

scientific report

## $\beta$ -Arrestin and casein kinase 1/2 define distinct branches of non-canonical WNT signalling pathways

Vítězslav Bryja<sup>1,2\*</sup>, Alexandra Schambony<sup>3†\*</sup>, Lukáš Čajánek<sup>1</sup>, Isabel Dominguez<sup>4</sup>, Ernest Arenas<sup>1\*</sup> & Gunnar Schulte<sup>5††</sup>

MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, Jan. 2011, p. 000

0270-7306/11/\$12.00 doi:10.1128/MCB.00550-10

Copyright © 2011, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 31, No. 1

## Mitogen-Activated Protein Kinases Promote WNT/ $\beta$ -Catenin Signaling via Phosphorylation of LRP6<sup>∇</sup>

Igor Červenka<sup>1†</sup>, Joshua Wolf<sup>2†</sup>, Jan Mašek<sup>1†</sup>, Pavel Krejci<sup>1,3,4</sup>, William R. Wilcox<sup>4,5</sup>, Alois Kozubík<sup>1,3</sup>, Gunnar Schulte<sup>6</sup>, J. Silvio Gutkind<sup>2\*</sup> and Vítězslav Bryja<sup>1,3\*</sup>

# Bohaté spolupráce doma a v zahraničí

- FN Bohunice, Jihočeská univerzita, Ústav molekulární genetiky a Biofyzikální ústav AV ČR
- Max-Planck Institute for Molecular Genetics, Berlin
- Karolinska Institutet, Stockholm (= místo, kde se udělují Nobelovy ceny)
- University of Erlangen, Německo
- National Institute of Health, Bethesda, USA
- University of California a Ceders Sinai Medical Institute, Los Angeles, USA





KI-MU



Cooperation between Masaryk University, Brno and Karolinska Institutet, Stockholm in the field of biomedicine

The Education for Competitiveness Operational Programme



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

# Skvělá parta a mnoho volnočasových aktivit!



# Laboratoř molekulární morfogeneze

Marcela Buchtova

1mm





# Laboratoř molekulární morfogeneze

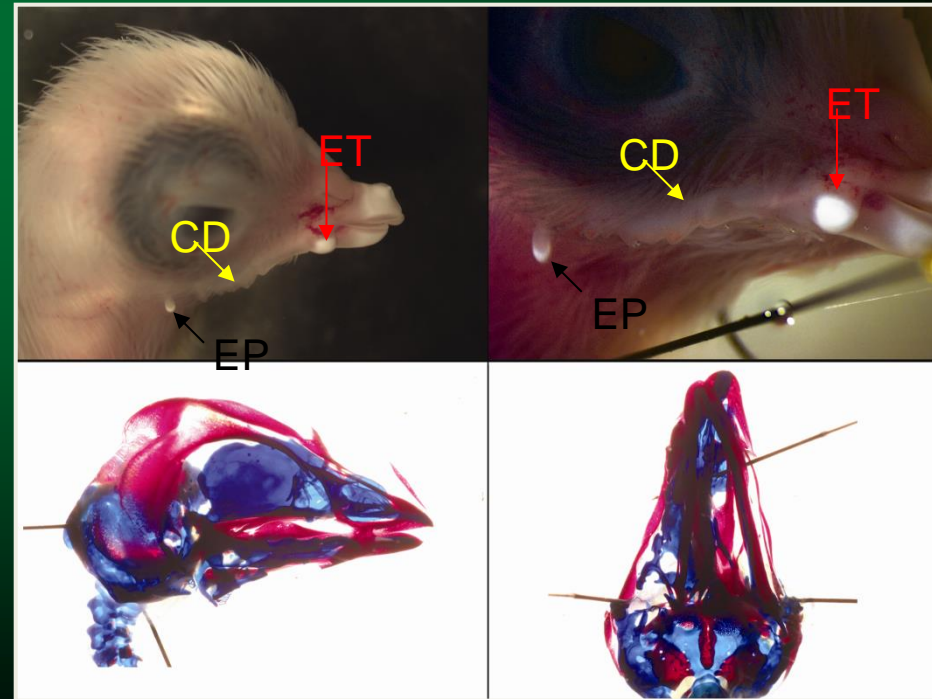
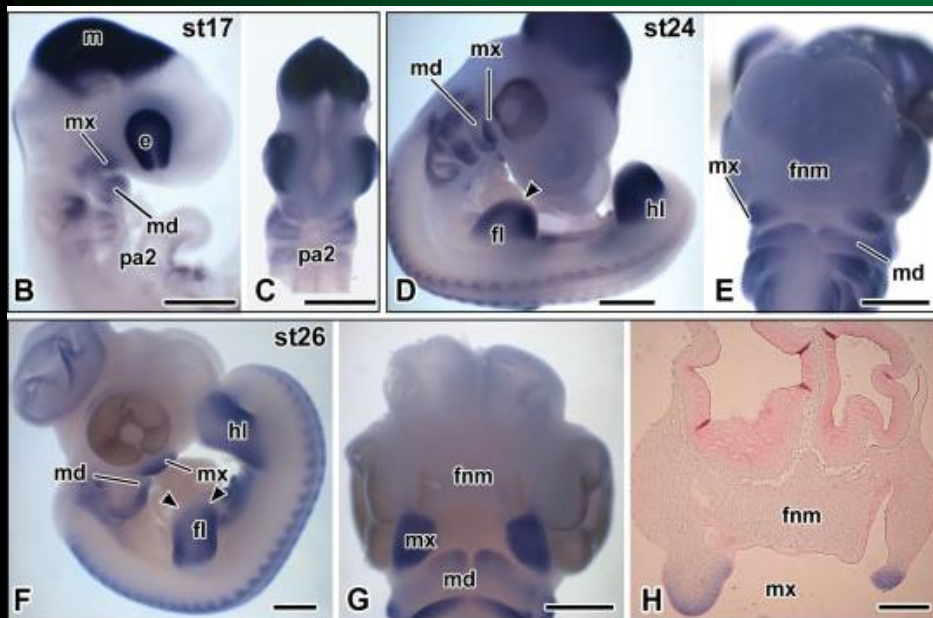
- buněčné a molekulární procesy během embryonálního a postnatálního vývoje
- změny buněčné proliferace, apoptózy a diferenciaci buněk tvrdých i měkkých tkání
- studium mechanismů vývoje končetin a kraniofaciálních struktur a poruch s nimi souvisejících



# Hlavní oblasti studia

## Kraniofaciální morfogeneze

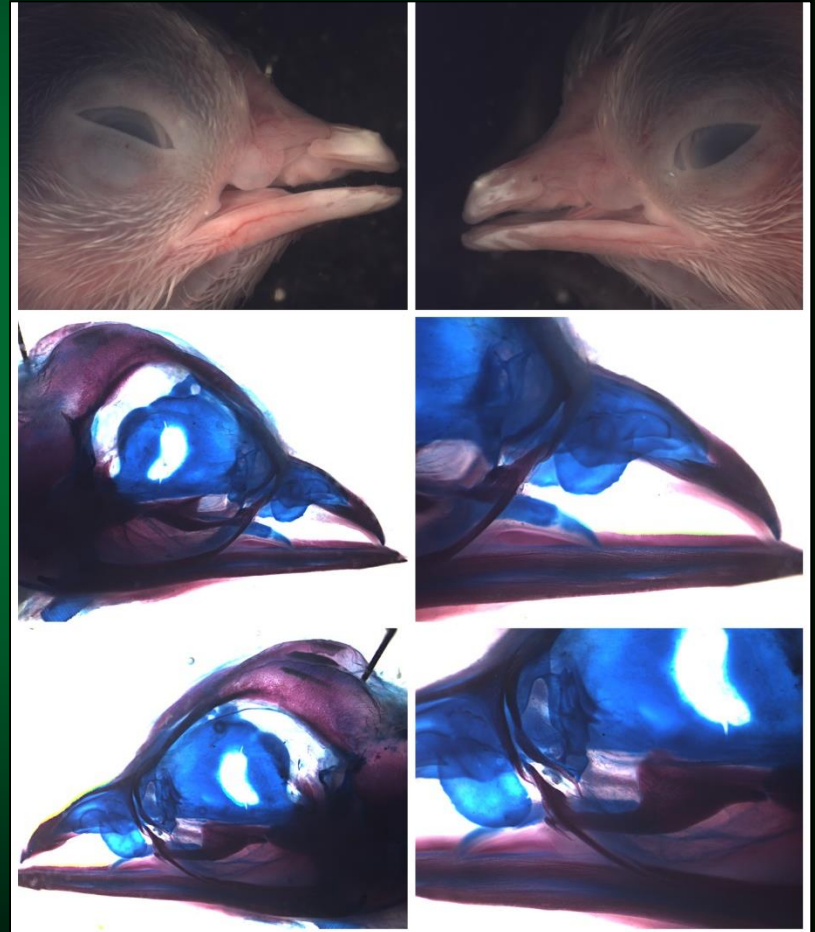
- studium regulací podílejících se na stanovení identity obličejových prominencí
- klonování nových transkripčních faktorů a studium jejich genové exprese
- jejich začlenění do signálních drah
- funkční studie kandidátních genů



# Hlavní oblasti studia

## Vývojové procesy podílející se na vzniku rozštěpů rtů a patra

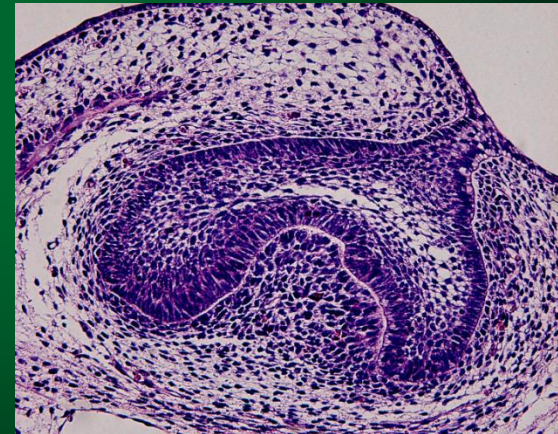
- odhalení molekulárních a buněčných mechanismů podílejících se na vzniku defektů v kraniofaciální oblasti
- pozornost je věnována zejména interakcím mezi jednotlivými obličejovými prominencemi a sledování morfologických a molekulárních parametrů po experimentálním ovlivnění u modelových druhů



# Hlavní oblasti studia

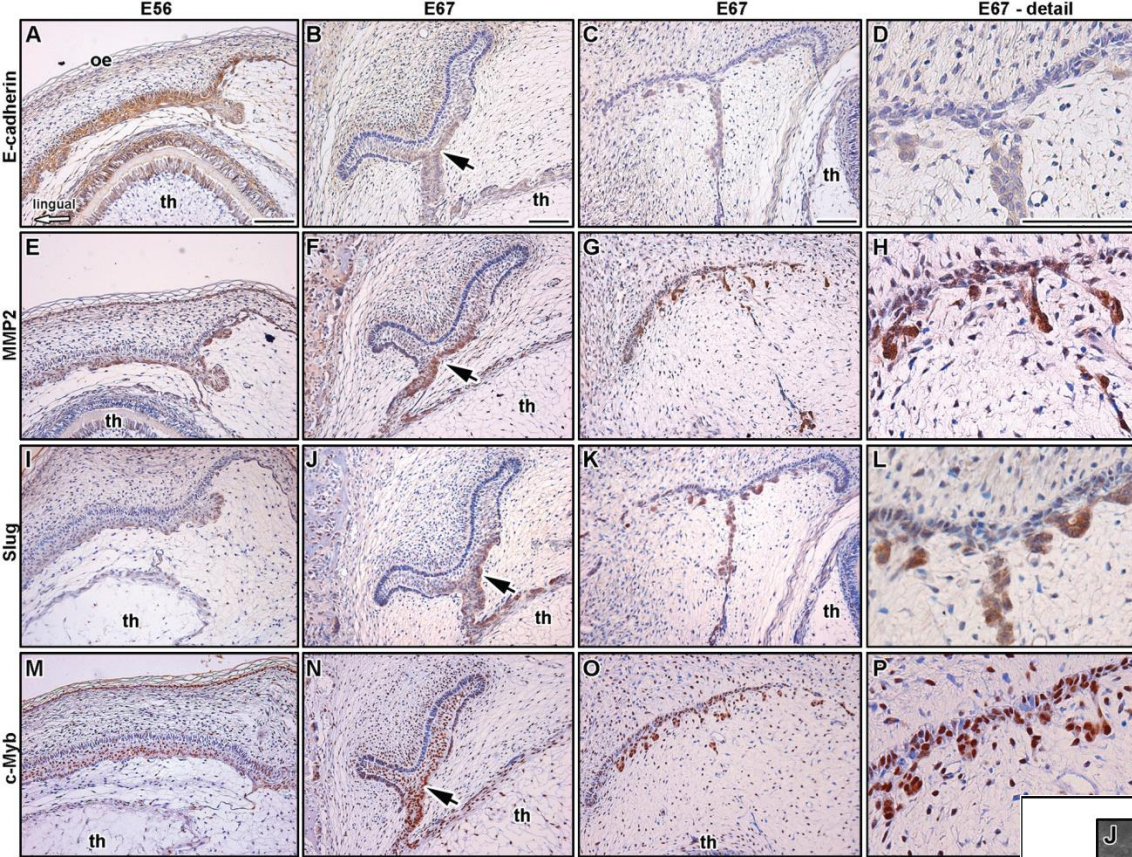
## Odontogeneze

- vývoj náhradní dentice
- studium mechanismu degradace zubní lišty
- evoluční aspekty vývoje dentice
- interakce zubů s podkladovou kostí
- apoptotické procesy během odontogeneze

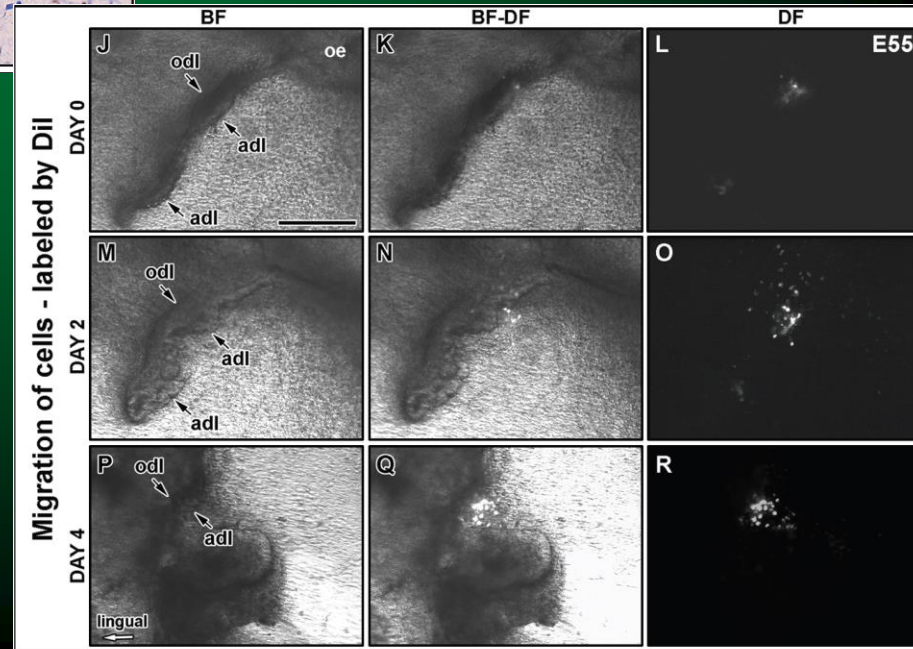
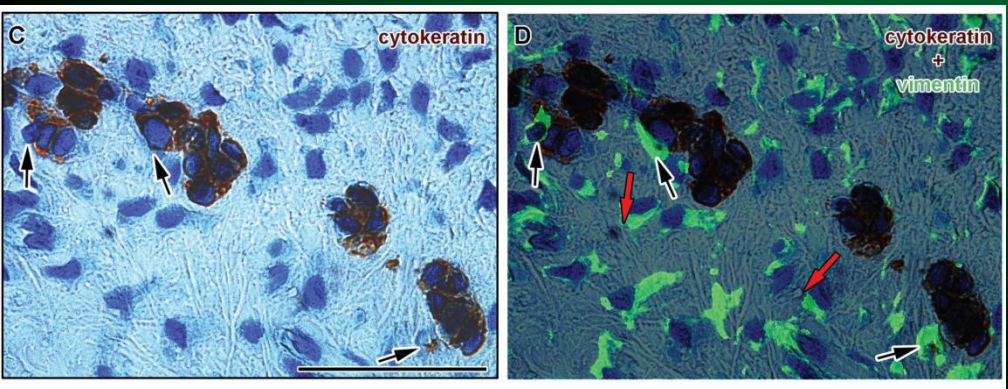


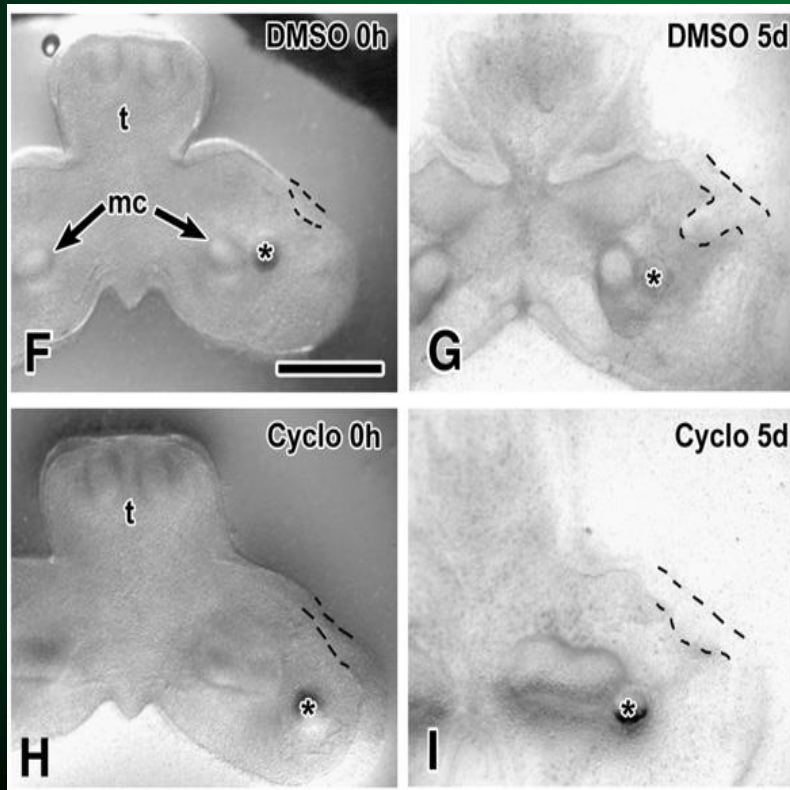
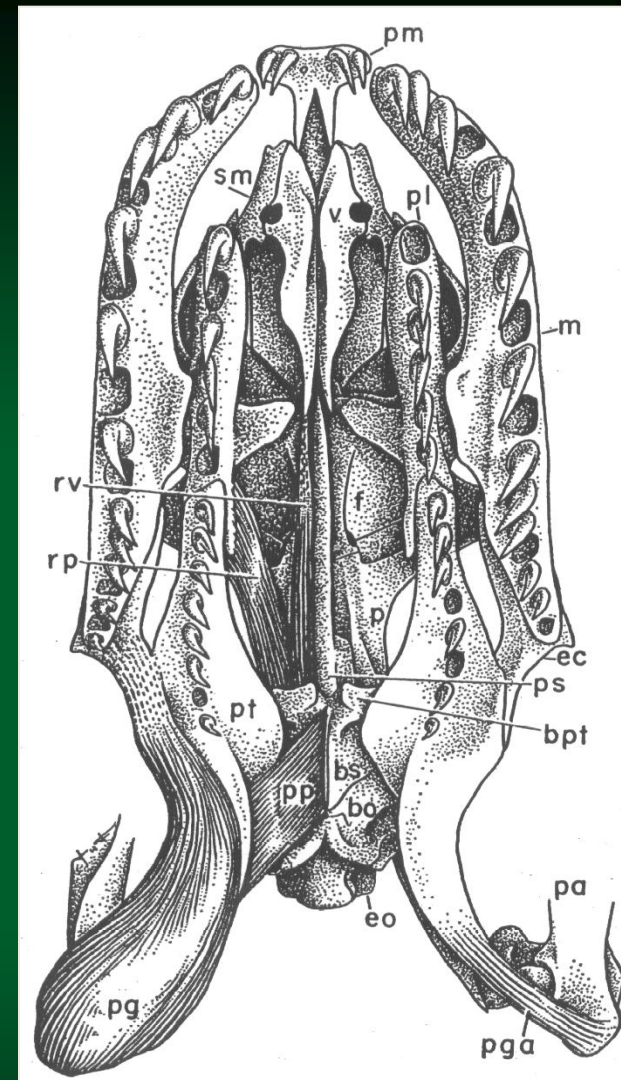
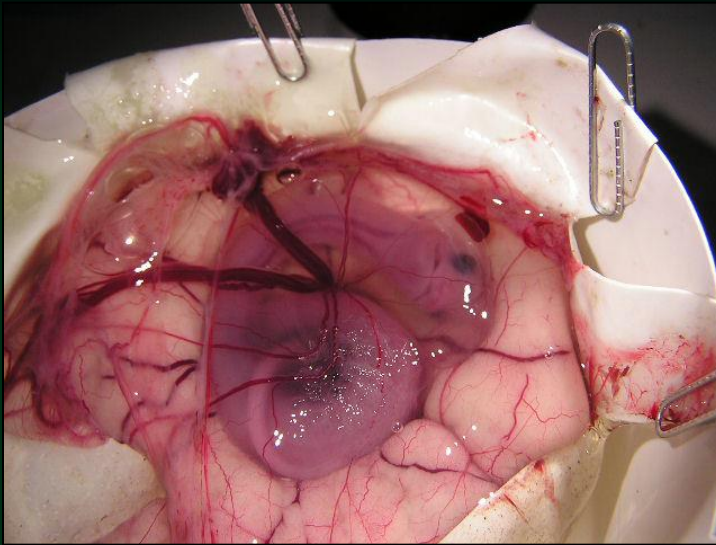
Proč savci (včetně člověka) mohou iniciovat maximálně dvě generace zubů?

- porovnání rozdílů ve vývoji monofyodontní, difyodontní a polyfyodontní dentice



# Náhradní dentice



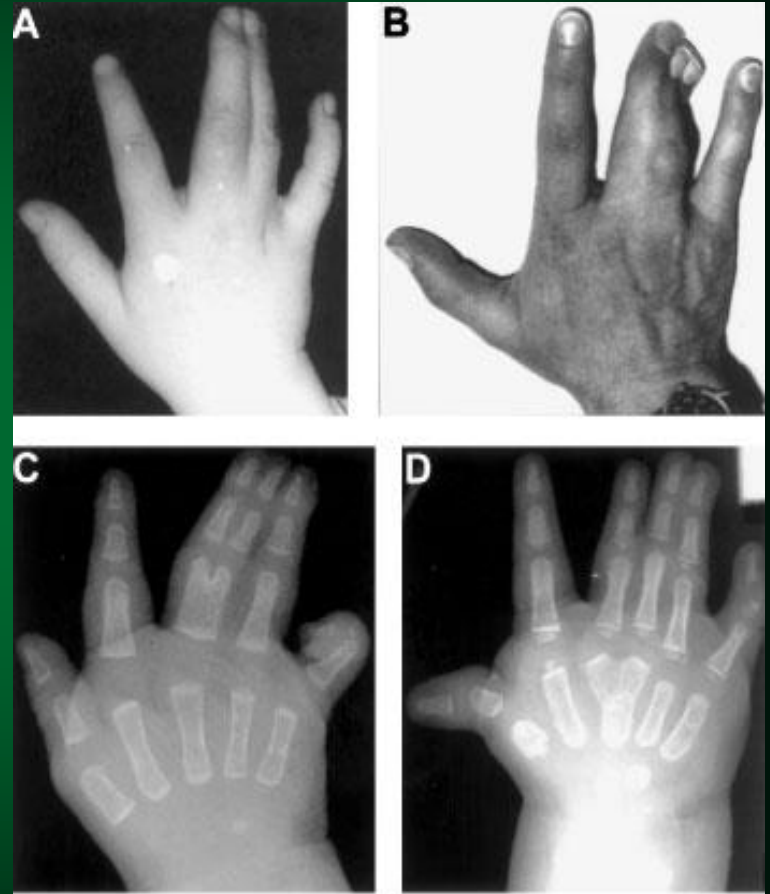


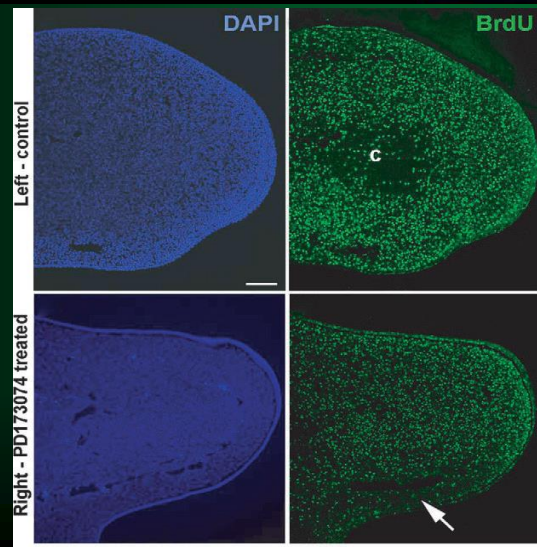
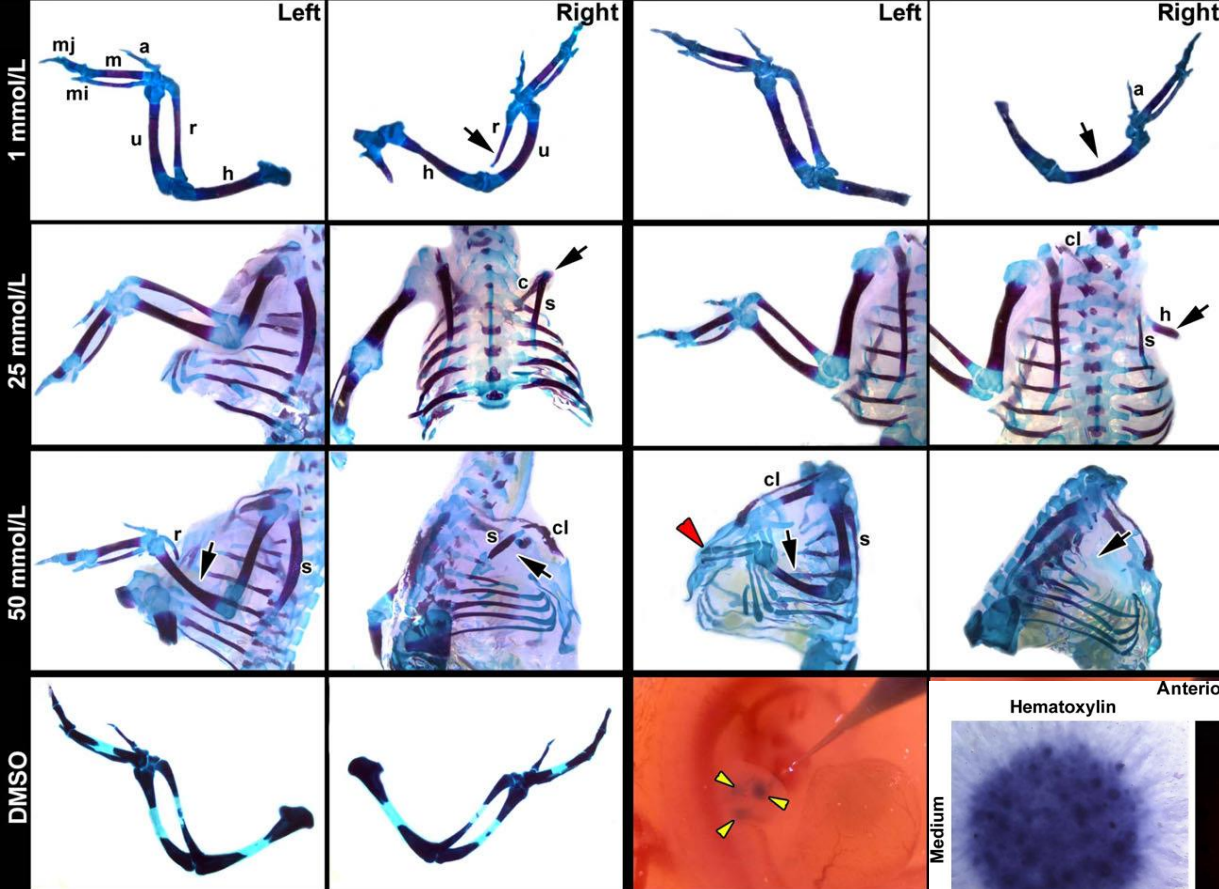
- 17 - maxila
- 2 - premaxila
- 6 - palatrová kost
- 6-10 - pterygoid
- 18-19 - mandibula

# Hlavní oblasti studia

## Morfogeneze končetin

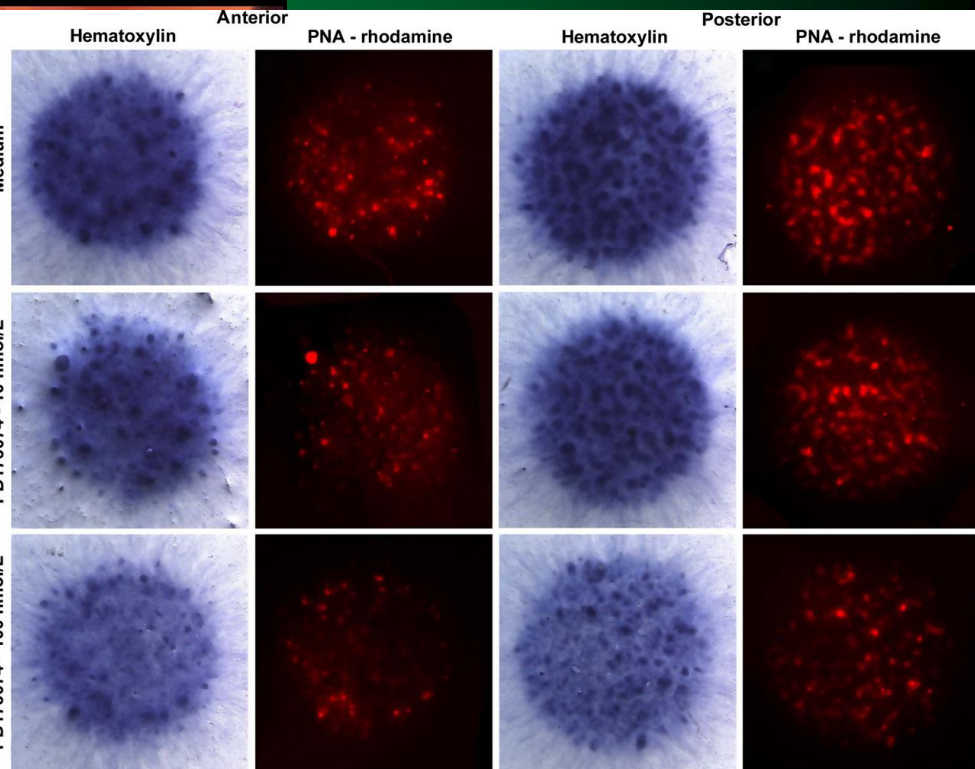
- raný vývoj končetin:  
anterio-posteriorní modelování  
skeletu, digitalizace
- chondrogenese a osteogeneze  
(endochondrální kosti) –  
buněčné a molekulární  
procesy: nové molekuly  
podílející se na diferenciaci  
buněk (c-Myb, Evi-1, .. )
- příčiny vzniku vývojových  
defektů



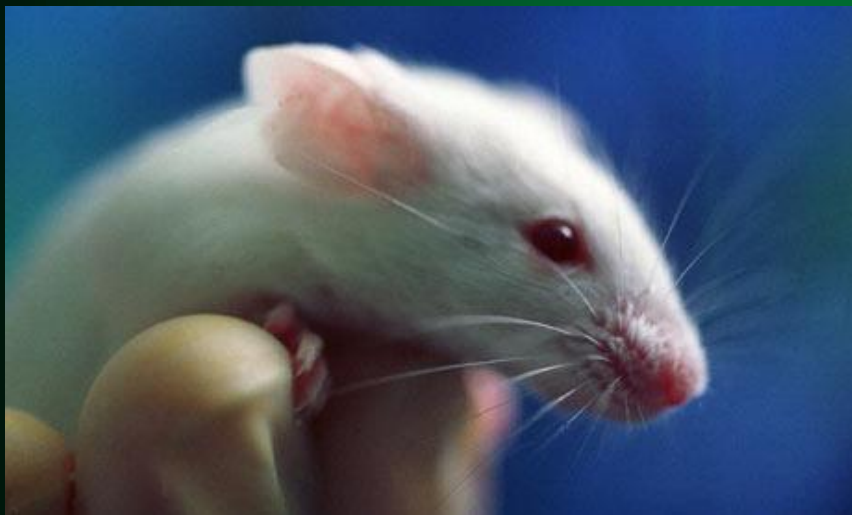
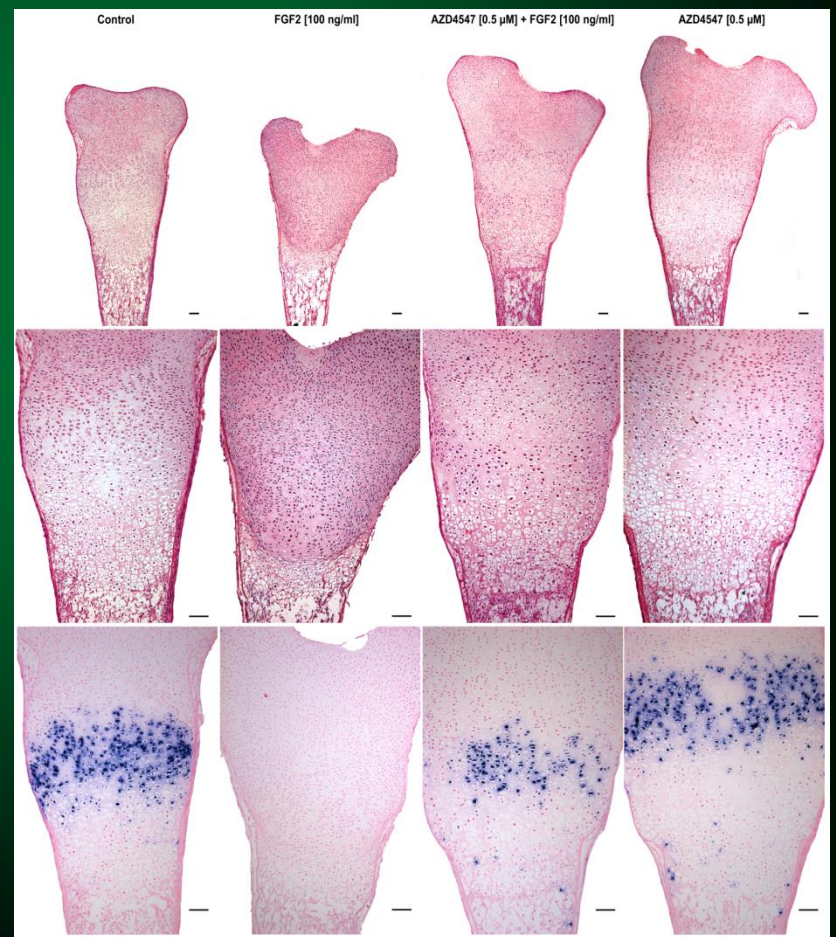
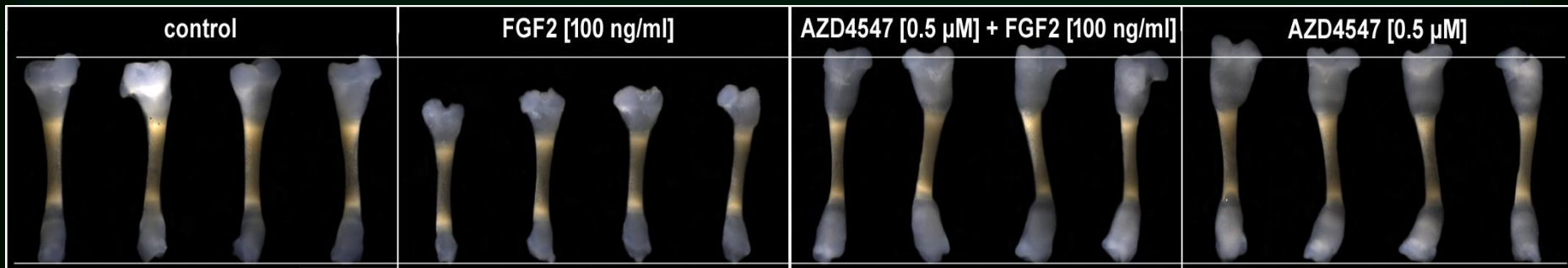


PD173074 - 10 nmol/L

PD173074 - 100 nmol/L









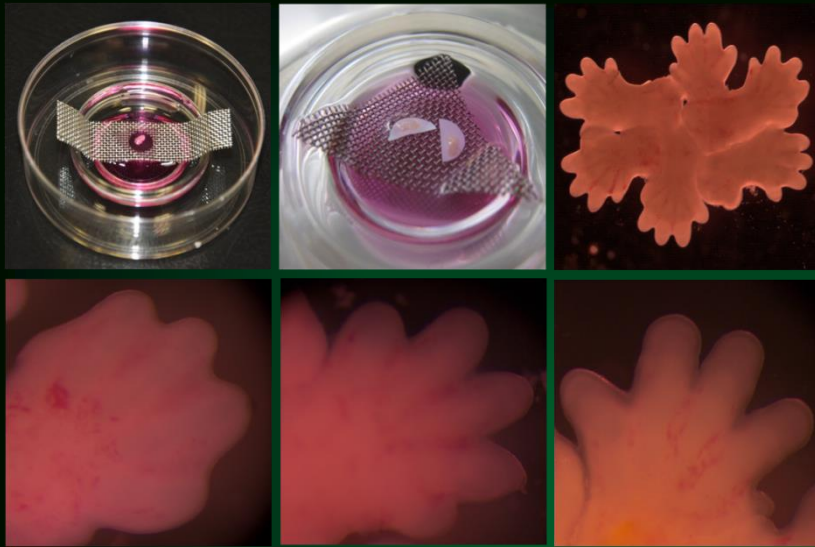
## Hlavní oblasti studia



**Komparativní morfogeneze** s využitím širokého spektra modelových druhů:

- savci (myš, prase, králík, osmák)
- ptáci (kur)
- plazi (krajta, chřestýšovec, anolis, chameleon)





# Využívané metody



- aplikace morfogenů do embryí

- morfologické analýzy

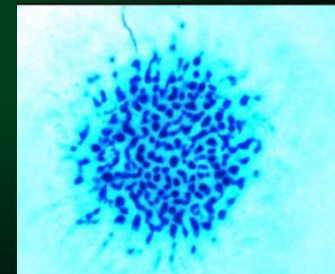
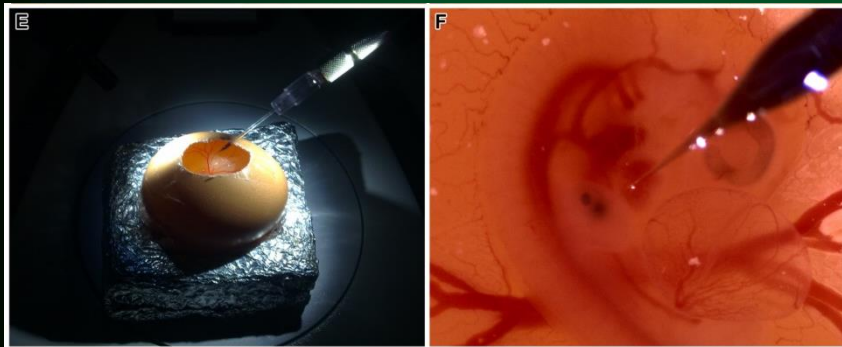
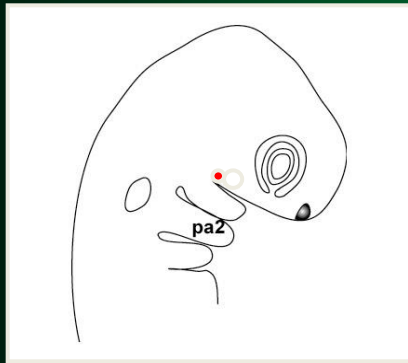
- mikromasy, „slice“ kultury, orgánové kultury

- tkáňové rekombinace

- *in situ* hybridizace

- PCR, QPCR

- PCRArrays, microarrays

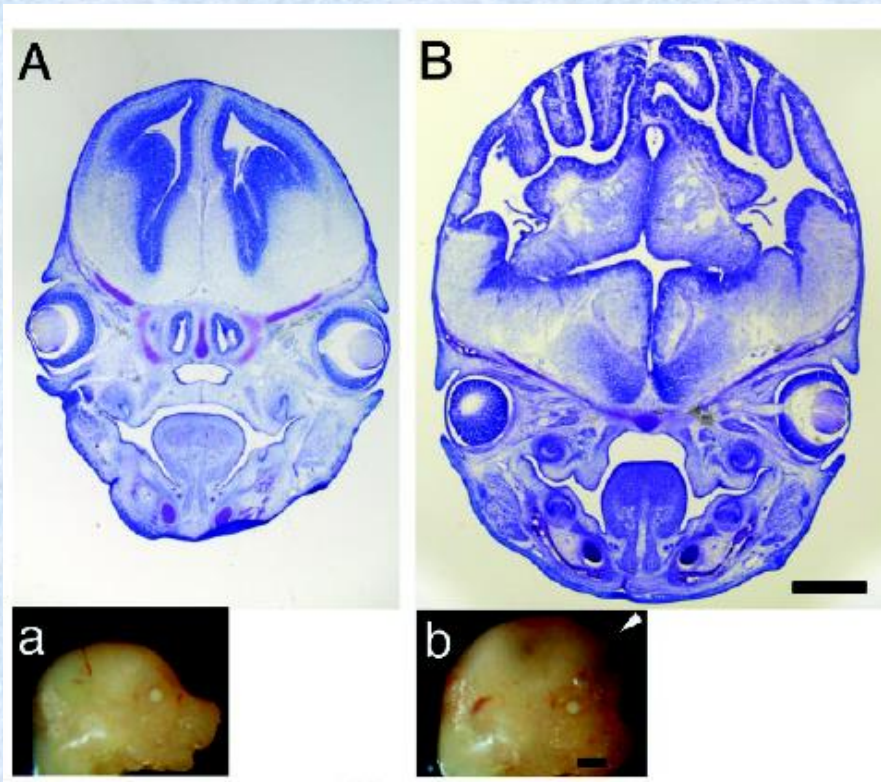




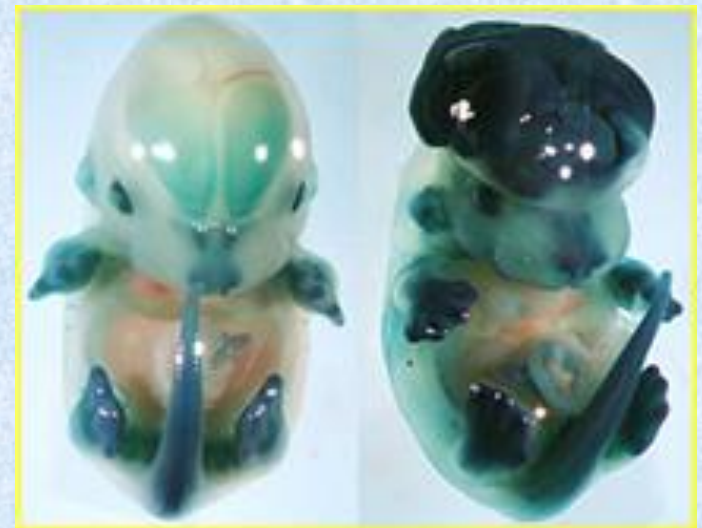


Aktivace Wnt dráhy ve vyvíjející se mozkové trubici:

cortex (nestin enhancer)



Exencefalie (neuzavřená mozková trubice)



Chenn & Walsh, 2002: Science;297:365-369.

# Děkujeme za pozornost!

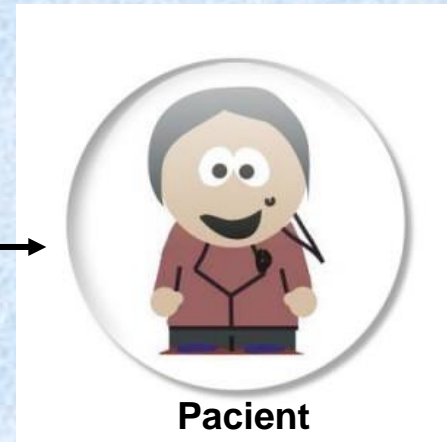
Celogenomové  
techniky

Molekulární  
mechanismus

Celoproteomové  
techniky



Experimentální  
model  
(*in vitro* - tkáňové  
kultury, *in vivo* -  
myš, *C. elegans*,  
*Xenopus*)



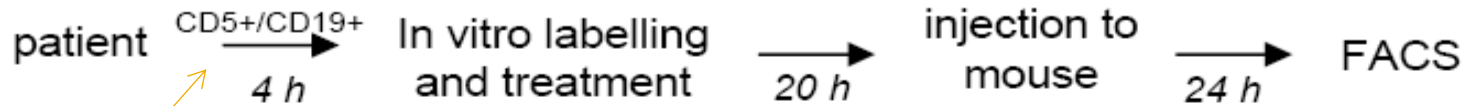
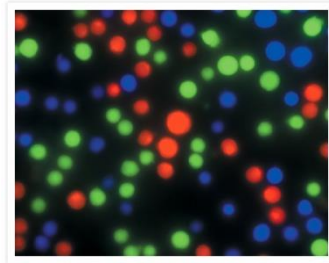
Pacient

# *In vivo* "homing" assay using NOD/SCID gammaC<sup>-/-</sup> mice

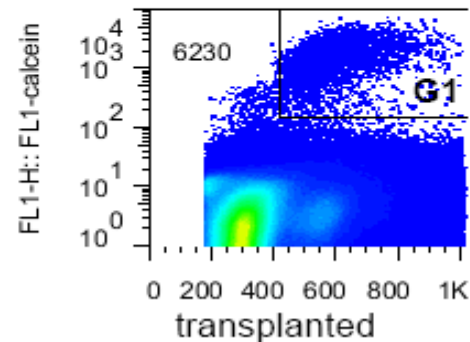
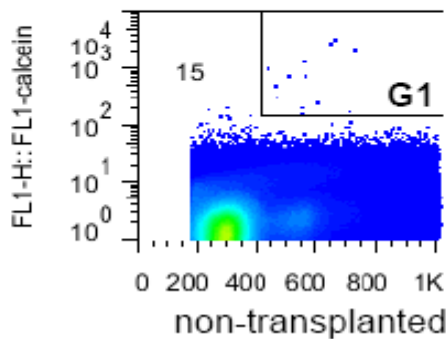
Inhibitors  
Blocking/activating Abs  
Controls (DMSO, IgG,...)

-----  
Cell trackers (Calcein Green AM)

Collect organs  
Fluorescent primary  
Abs



Cell separation  
Cell sorting



NOD SCID gamma c null mice – severe combined immunodeficiency mice



# Mechanismus vývoje končetin a molekulární příčiny vzniku poruch formování jejich skeletu

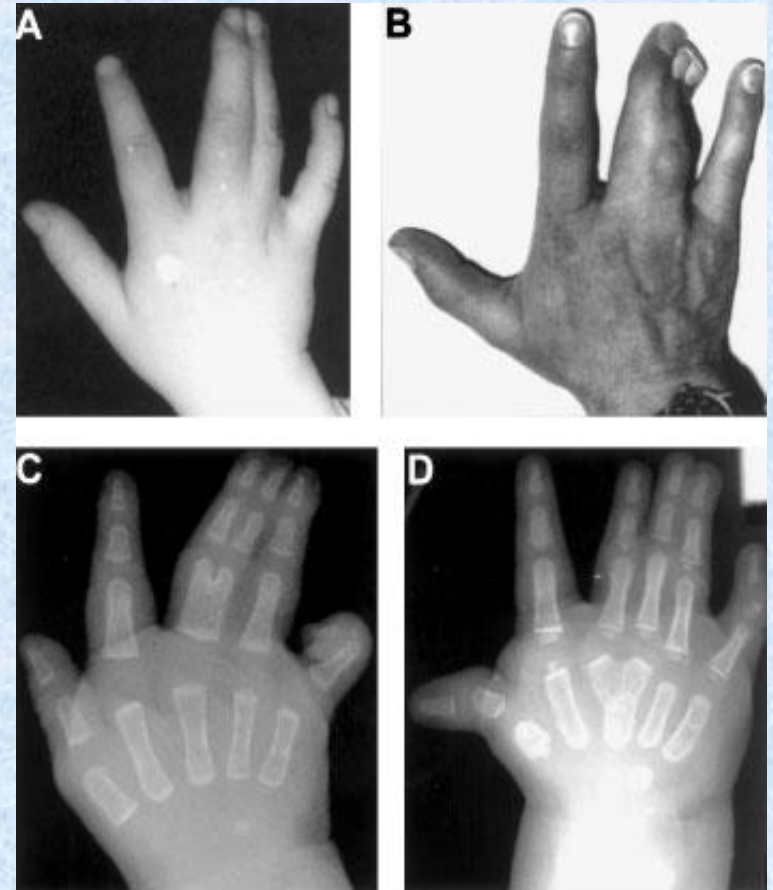
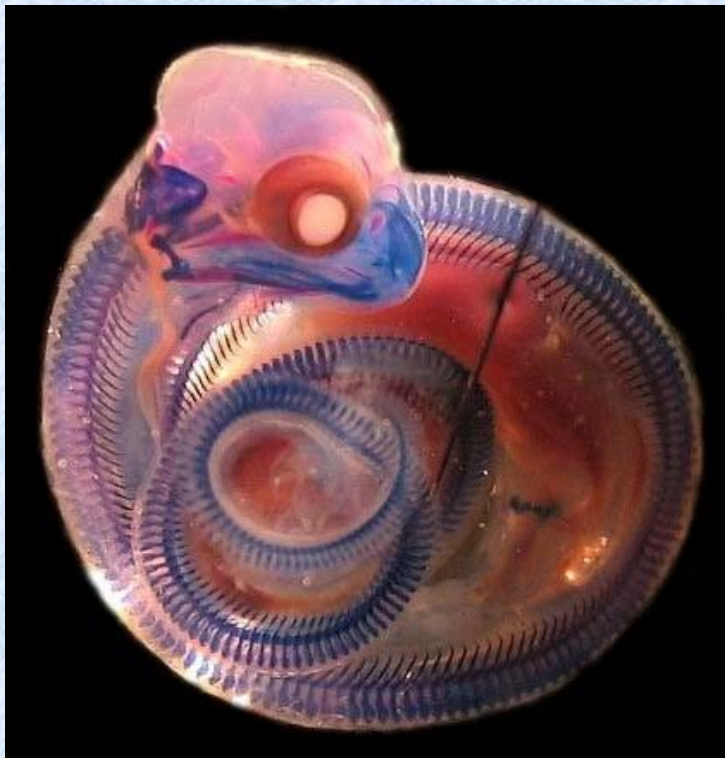


Marcela Buchtová

- studium mechanismů embryonálního vývoje a poruch s nimi souvisejících

- kraniofaciální struktury, končetiny

- modelové organismy: myš, prase, kuře, krajta, chameleon



# FGF signalizace

- sledování vliv několika různých inhibitorů FGF signalizace
- NF449, PD161570 a PD173074

Studium mechanismů působení a funkce FGF dráhy

