

Tkáňově specifické kmenové
buňky

a jiné

Adult stem cells

- Tkáňově/orgánově specifické kmenové buňky
- Sebeobnova populace/tkáně
- Dlouhověké
- Niche

Dlouhověkost

- Aktivní po celý život jedince
- Změny v počtu, potenciálu diferenciace s věkem ubývají (?vyčerpání poolu, nevhodné niche?,...)
diferenciace do „preferovaného“ buněčného typu (myo-fibroblastoidní buňky, adipo-)
- quiescence

Kmenové somatické buňky

- Hematopoetické
- Nervové
- Epiteliální (epidermis, střevní výstelka,....)
- Mezenchymové (MSC, SKP, tuková tkáň,...)
- Svalové
- Jaterní

Vyplavení HSC progenitorů do mPB

- cirhoza nebo resekce jater vede ke zvýšení konc. SDF-1 v krvi.
- vyplavují se CD45+, CD133+, CD14+ (část z nich expr. CXCR4)
 - hematopoeza in vitro
 - hepatocyty in vitro

(Gehling et.al. 2010)

Izolace VSEL

- přítomné v BM, mPB, UCB
- x hustotní gradient
- 100-200 bb/ml periferní krve
- mobilizace: G-CSF, jaterní poškození, svalové poškození
- neg selekce (lin+CD45+) UCB
- pos. selekce (CXCR4+, CD34+ and CD133+) UCB
- Ratajczak team

Izolace „kmenových“ populací kosterní sval

- Adheze na plastik, postupné výsevy (pv)
24h interval
- Adheze po 1h a 2h - fibroblasty
- Adheze po 2-4 pv - **satelitní buňky**
- Adheze po 4 pv - MDSC - Myo, Hem, Ost

Stárnutí

- Množství sat. buněk klesá s věkem 15% po narození vs 1-6% dospělá tkáň (Hu)
- Podstatnější je vliv okolní tkáně a faktorů než věk satelitních buněk parabiotický experiment, - regenerační schopnosti staršího organismu se výrazně zlepšily, a naopak.

Cvičení

- Efekt po 24h.
- Zvyšuje počet satelitních buněk až o 140% u mladších jedinců
- U starších „jen“ o 50 %.

Játra

- Hepatocyty - pomalu cyklující (1-2 roky) rodenti, mohou dif. do cholengiocyty
- Buňky žlučových kanálků
- Hepatic stellate cells

Indukce oválných buněk

- 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy (AAF/PH) a jiné, diety, chemické prostředky
- Onemocnění jater - ov. buňky jsou zdrojem CTGF, který podporuje tvorbu fibrózní tkáně (kolagen..)

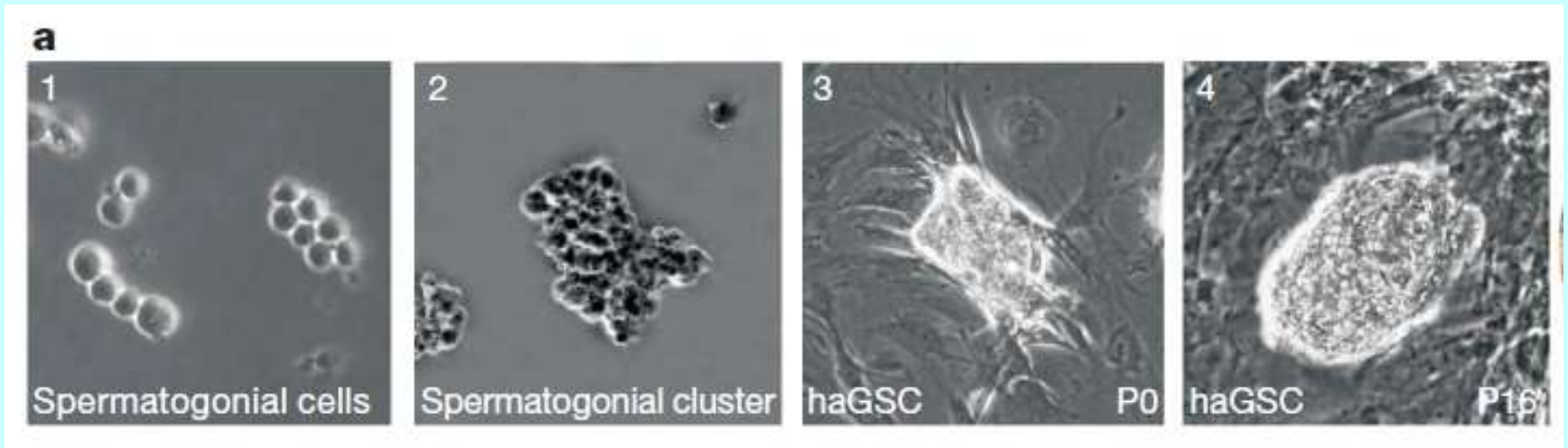
Transplantace oválných buněk

- Velmi nízký přínos u zdravé tkáně (obdobně i pro hepatocyty)
- Nutná PH (partial hepatoctomy), až 40% příspěvek k regeneraci

haGSC

- exprimují SSEA-4, CD133, Vasa, Dazl, ISPY2
- dlouhodobá kultivace, LIF plus FGF2
- dle autorů pluripotentní, linie, tvoří teratomy, obdoba ESC

haGSC



Buněčný cyklus ESC 1

- Extrémně rychlý, obdobné jen u některých embryonálních karcinomových linií
- Epiblast 4-6dpc: 20-25bb 330bb ~10h
6,5-7dpc: 330bb >4000Bbb ~4,4h
somatická buňka 20-25h
- Redukovaná G1 a G2 fáze.
- Diferenciace vede k podloužení b. cyklu (EB.)

Buněčný cyklus ESC 2

- miR-290 inhibuje expresi cdkn1 (p21/CDKN1A)

Buněčný cyklus ESC 3

- Let 7- vysoce konzervovaný
inhibován Lin28, který blokuje
procesování Let 7 přes Drosha
- cíl. Sekv. Cdk6, c-myc, cdc25A

Lin28 koexprimován s OSN mimikuje
účinek Klf4 a c-Myc při odvození iPS

Buněčný cyklus ASC

- fyziologické podmínky – sebeobnova
 - : quiescence (klidový stav), G0/G1
 - asymetrické dělení
- poranění – regenerace
 - :intenzivní dělení, symetrické a asymetrické

Modulace a indukce pluripotence

- Ztráta během ontogeneze (max. epiblast)
?Ireverzibilní?
- Ian Vilmut a kol. - reprogramace somatické buňky přenosem jádra do enukleovaného oocyty. Dolly
- Inkubace somat. buněk v buněčném lyzátu ESC (review Collas & Taranger, 2006)

iPS

- Myší a lidské buňky
 - **Oct4**, Sox2, Klf4, c-Myc
- Nízká efektivita, dlouhodobý proces (cca 2 týdny)
nutná stálá exprese OSKM - virové vektory
- plazmidy
 - transpozony
 - epi. chromozomy
- Zásadní Oct4 (reprogramace NSC, konstitutivní exprese Sox2, Klf4 a c-Myc)

Efektivita generace iPS

- 0,01% ONSK jednotlivé vektory
 - 0,1% ONSK polycistronický přístup
 - 1% ONSK + c-myc
-
- 10% - p53 null pozadí MEF

Hong et al. Nature. Aug 27;460(7259):1132-5. Epub 2009 Aug 9.

„korekce genetických vad“

- Sneider et al., Stem Cell Rev and Rep, 2009
- Tvorba chimérických blastocyst/myší
- Náprava : „thin myocardial syndrome“,
Duchenoova muskulární dystrofie
a další
10-30% chimérismus dostatečný