



Z našich patentů

Nanočástice pro magnetické a fluorescenční značení buněk, postup přípravy a výroby a jejich použití

Kompozitní chirurgická síť s nanovláknovou vrstvou

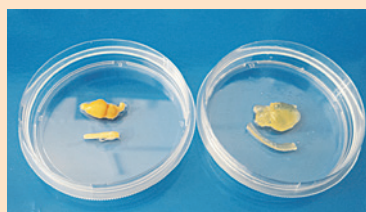
Variabilní kit pro kultivaci buněčných struktur v kultivačních destičkách

Prostředek obsahující kmenové buňky k léčení zánětlivých onemocnění, posttraumatických reakcí a degenerativních onemocnění

3D kompozitní gely pro řízenou diferenciaci buněk v podmínkách *in vitro*

Prostředek pro uchování, transport a aplikaci kmenových buněk

Zdroj nízkoteplotního plazmatu, zejména pro generaci plazmatu při využití v medicínských bioaplikacích



KONTAKTY:

Ústav experimentální
medicíny AV ČR, v. v. i.

Vídeňská 1083
142 00 Praha - Krč
Tel. 241 062 230
Fax: 241 062 782

E-mail: uemavcr@biomed.cas.cz

Rozsáhlý výzkum pro zdraví

Ústav experimentální medicíny AV ČR, v. v. i. byl založen v roce 1975. Je uznávaným centrem základního biomedicínského výzkumu v České republice, zvláště v oblasti buněčné biologie a patologie, neurobiologie, neurofyzologie, neuropatologie, vývojové biologie

a teratologie, toxikologie, molekulární farmakologie, imunofarmakologie, výzkumu rakoviny, molekulární embryologie, kmenových buněk a tkáňových náhrad. V současné době má ústav 12 samostatných vědeckých oddělení.

Špičkové výsledky na mezinárodní úrovni

Výsledky výzkumu jsou vysoce hodnoceny i na mezinárodní úrovni - svědčí o tom udělený status Centra excellence EU – MEDIPRA, účast pracovníků ústavu v projektech 6. a 7. rámcového programu EU a rozsáhlá domácí a mezinárodní spolupráce. V ústavu pracují zahraniční postgraduální studenti financovaní z grantů EU i ze mzdových prostředků ústavu a jsou podporováni mladí vedoucí skupin. Ústav byl zařazen

do projektu Evropské unie ENI-NET, který sdružuje excelentní evropské ústavy v oblasti neurověd a je také sídlem komise biomedicíny pro obhajoby titulu DSc. ÚEM má procentuálně největší množství doktorandů z ústavů AV ČR. Výsledkem výzkumu probíhajícím na půdě ústavu jsou již aplikovatelné výsledky v oboru ochrany životního prostředí, neurověd, regenerativní medicíny, farmakologie a diagnostických metod.

Centrum rekonstrukčních neurověd – NEURORECON

Náplní projektu Centrum rekonstrukčních neurověd – NEURORECON je vytvoření a rozvoj excelentního výzkumného týmu pod vedením předního zahraničního vědce, prof. Jamese Fawcetta (University of Cambridge), který se bude zabývat vědou a výzkumem v oblasti léčebných metod nervového systému.

Projekt navazuje na dosavadní vědecké

a výzkumné aktivity Ústavu experimentální medicíny AV ČR, v. v. i. a v souvislosti s jeho realizací dojde k posílení kvality výzkumu na mezinárodní úrovni, pořízení chybějící výzkumné infrastruktury a prohloubení mezinárodní spolupráce ÚEM.

Projekt je financován z Operačního programu Výzkum, vývoj a vzdělávání (OP VVV).



Centrum vývoje originálních léčiv Technologické agentury ČR

ÚEM je jedním z členů Centra vývoje originálních léčiv Technologické agentury ČR, jehož hlavním příjemcem je Ústav organické chemie a biochemie AV ČR. Projekt Centra je strategickým plánem, který zhodnocuje výsledky základního výzkumu v oblastech medicínské chemie a farmakologie. Účast ÚEM je soustředěna na testování

protizánětlivých vlastností látek. Zjistili jsme, že nově vyvíjené deriváty pyrimidinů jsou velmi výraznými inhibitory produkce prostaglandinu E2, který je jedním z hlavních mediátorů zánětlivých reakcí. Výzkum pokračuje hledáním mechanismů tohoto účinku.

Centrum studií toxicity nanočástic (GENATOX)

CENATOX (2012-2018) je Centrum excelence v základním výzkumu podporované

Grantovou agenturou České republiky. Centrum zahrnuje laboratoře schopné provádět



komplexní výzkum mechanismů toxicity důležitých a široce používaných vyráběných nanočástic a též nanočástic vznikajících antropogenní činností v životním prostředí se zvláštním zřetelem ke znečištěným oblastem České republiky. Studie analyzují biologické účinky a možnou toxicitu nanočástic. Výsledky slouží k rozvoji nových metod studia nežádoucích zdravotních účinků nanočástic.

Výzkumné centrum buněčné terapie a tkáňových náhrad

VCBT bylo vybudováno a zprovozněno Ústavem experimentální medicíny AV ČR, v. v. i. v rámci Operačního programu Praha Konkurenceschopnost (OPPK) jako součást infrastruktury pro biomedicínský výzkum.

Centrum navazuje na úspěšnou realizaci „Centra buněčné terapie a tkáňových náhrad“ (MŠMT 1M0538; CEP12-MSM-1M-U/01:1), řešeného v letech 2000-2004 a 2005-2011, které koordinovalo výzkum a vývoj v oblasti buněčné terapie, buněčných zdrojů a biokompatibilních materiálů a umožnilo vzájemné propojení klíčových

vědeckých kapacit a výzkumných skupin v oblasti buněčné terapie a tkáňového inženýrství v ČR. V období 2014 – 2019 je VCBT finančně podporováno v rámci Národního programu udržitelnosti MŠMT (NPU I – LO1309).

Smyslem projektu VCBT je získávat výsledky základního výzkumu v oblastech buněčné terapie, tkáňového inženýrství a nanotechnologií, které povedou ke zkvalitnění vědecko-výzkumné činnosti VCBT a upevnění jeho postavení v těchto oborech.



Ing. Miroslava Anděrová, CSc.
ředitelka ÚEM AV ČR, v. v. i.

Výzkumné projekty

Český národní uzel Evropské infrastruktury pro translační medicínu

Centrum rekonstrukčních neurověd

Výzkumné centrum genomiky a proteomiky

Pokročilé zobrazování živých tkání

Systém k měření genotoxicity nanočástic

Buněčná terapie a tkáňové náhrady

Nízkoteplotní plazma v medicíně

Biomateriály a kmenové buňky v léčbě iktu a míšního poranění

Inovativní metody monitorování toxicity dieselových emisí v reálném městském provozu

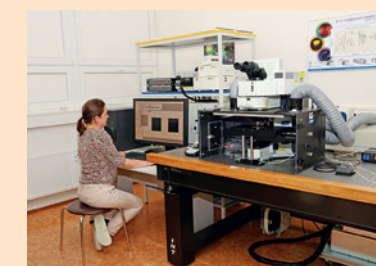
Toxické účinky nanomateriálů jako funkce jejich struktury a fyzikálně chemických vlastností

Genomika a proteomika při studiu mechanismů biologických účinků vyráběných nanočástic

Nanomateriály a nanotechnologie pro ochranu životního prostředí a udržitelnou budoucnost

Centrum vývoje originálních léčiv

Genetické a funkční determinanty nádorů tlustého střeva a konečníku a východiska k individualizované terapii



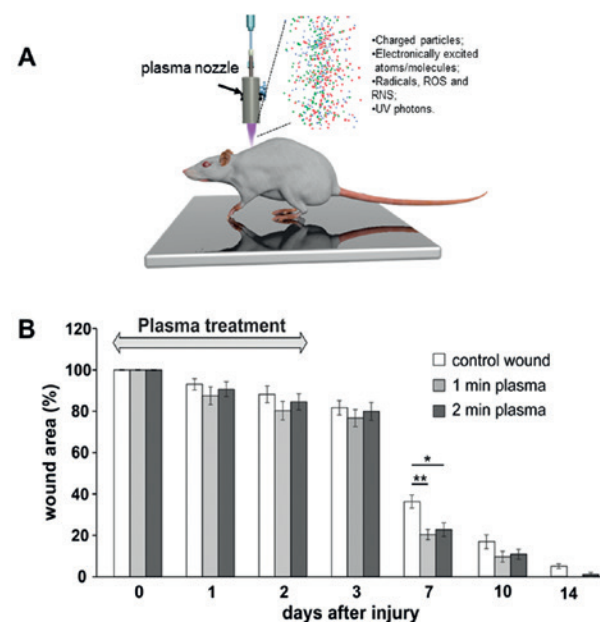


Vedoucí:
PharmDr. Šárka Kubínová, Ph.D.

Pro regeneraci a rekonstrukci tkání

Oddělení je zaměřeno na výzkum biomateriálů a kmenových buněk a jejich sekretomů pro regeneraci a rekonstrukci tkání a studium jejich funkčnosti na různých biologických modelech (míšňí poranění, poškození rohovky). Je zapojeno do Centra rekonstrukčních neurověd, kde řeší projekty zaměřené na podpoření růstu axonů po míšňí poranění pomocí aktivace integrinů a na roli extracelulární matrix a perineuronálních sítí v tvorbě paměti. V rámci spolupráce s Fyzikálním ústavem AV ČR se oddělení zabývá

vá aplikovaným vývojem nízkoteplotního plazmatu pro využití ve veterinární a humánní medicíně.

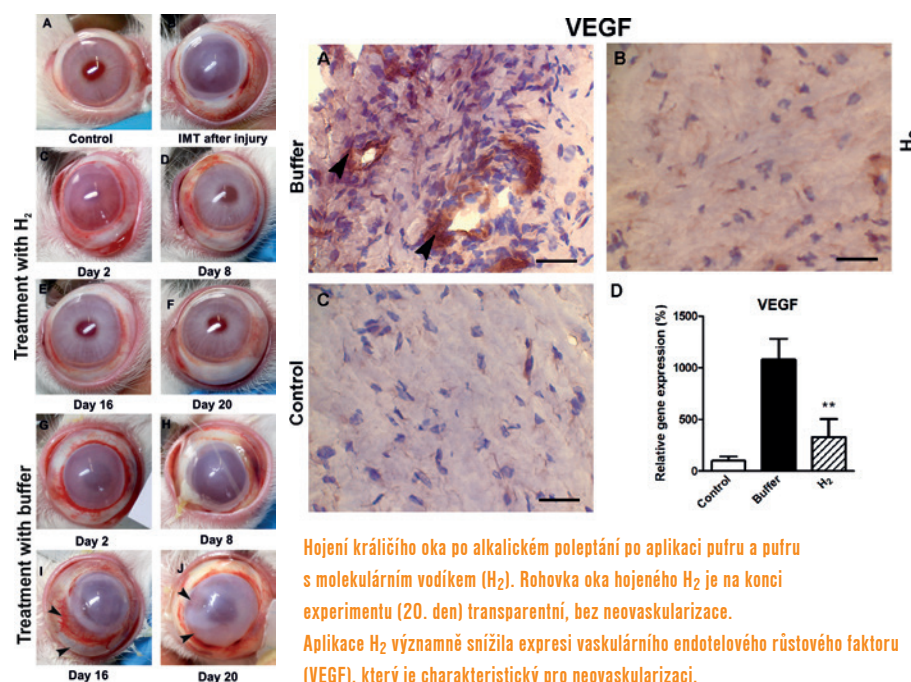


Hojení akutní kožní rány u potkana po aplikaci nízkoteplotního plazmatu

Nízkoteplotní plazma stimuluje hojení akutních ran u potkana

Nízkoteplotní plazma (NTP) má nespecifické antibakteriální účinky a může být aplikováno jako účinný nástroj v léčbě infikovaných ran a dalších patologických onemocnění kůže. Analyzovali jsme účinek NTP na hojení akutní kožní rány u potkana. Léčba NTP zlepšila hojení akutních kožních ran bez viditelných vedlejších účinků a bez souběžné aktivace prozánětlivé signalizace. Získané výsledky prokázaly bezpečnost a účinnost NTP po jeho aplikaci na akutní ránu, což je důležité pro další vývoj zařízení do klinické praxe.

Molekulární vodík hojí alkalicky poleptanou rohovku



Hojení králičího oka po alkalickém poleptání po aplikaci pufru a pufru s molekulárním vodíkem (H₂). Rohovka oka hojeného H₂ je na konci experimentu (20. den) transparentní, bez neovaskularizace.

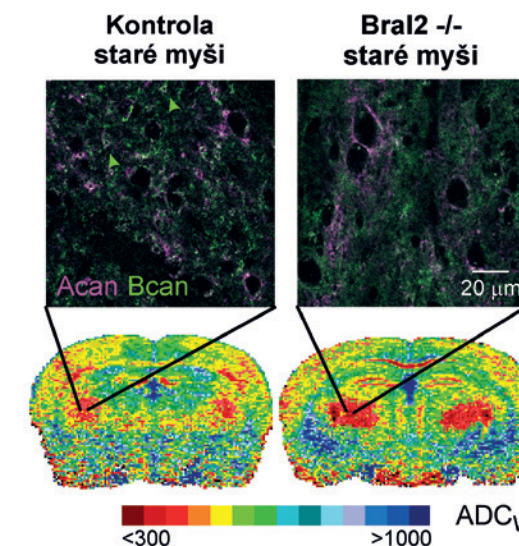
Aplikace H₂ významně snížila expresi vaskulárního endotelového růstového faktoru (VEGF), který je charakteristický pro neovaskularizaci.

Molekulární vodík efektivně hojí rohovku po jejím alkalickém poleptání tím, že potlačuje oxidační stres, redukuje buněčnou apoptózu, snižuje rozvoj zánětu v předním očním segmentu a zabraňuje vaskularizaci rohovky.

Alkalické poleptání předního segmentu oka vyvolá v tkáních oxidační stres, neboť dochází k vyčerpání kapacity přítomných antioxidantních mechanismů. Vzniká nerovnováha mezi oxidanty a antioxidanty, na kterou velmi rychle navazuje nerovnováha mezi proteázami a jejich inhibitory. Tento stav vede ke vzniku nadměrného zánětu. Aplikace molekulárního vodíku obsaženého v roztoku na povrch poraněného oka časně po jeho poškození působí antioxidantně a ve svém důsledku snižuje zánět a urychluje hojení.

Gliové buňky a extracelulární matrix

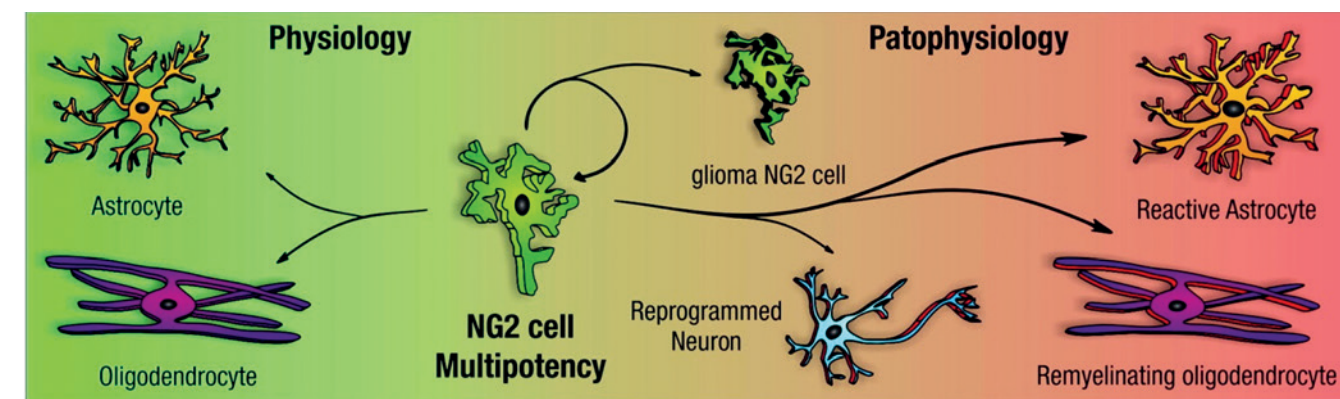
Zabýváme se morfologickými a funkčními vlastnostmi astrocytů a polydendrocytů (NG2 gliových buněk) a změnami extracelulární matrix (ECM) za fyziologických a patologických podmínek (vývoj, stárnutí, ischemie, Alzheimerova či Huntingtonova choroba atd.). Studujeme rovněž jaký účinek mají změny glie a extracelulární matrix na difúzní vlastnosti extracelulárního prostoru mozku, které ovlivňují extrasynaptický přenos a komunikaci mezi neurony a glií.



S věkem související změny difuzivity a složení extracelulární matrix thalamu u Bral2 deficitních myši. Deficit spojovacího proteinu Bral2 je spojen s rozpadem axonálních obalů s obsahem brevikanu (*Sripka*) a významně ovlivňuje difuzivitu v thalamicém ventroposteromediálním jádře thalamu u starých, ale ne mladých myši.

NG2 buňky – multipotentní zásobárna pro vznik nových nervových buněk?

Zaměřili jsme se na proliferaci a diferenciaci NG2 buněk v embryogenezi a v postnatálním CNS za fyziologických i patologických podmínek, s důrazem na úlohu signálních molekul, růstových faktorů, hormonů a dokonce i neurotransmiterů na diferenciální potenciál NG2 buněk. V několika studiích jsme ukázali, že tyto buňky jsou především významným zdrojem oligodendrocytů, avšak po poranění CNS (de-



Proliferace a diferenciace NG2 buněk za fyziologických a patologických podmínek v CNS. Ve vyvíjejícím se CNS dávají NG2 buňky vznik astrocytům a oligodendrocytům, avšak v důsledku ischemického či traumatického poškození CNS dávají tyto buňky vznik oligodendrocytům, reaktivním astrocytům a za určitých podmínek i nezralým neuronům.



Vedoucí:
Ing. Miroslava Anděrová, CSc.

Ochrana mozku před stárnutím

Deficit spojovacího proteinu Bral2, který stabilizuje komplexy extracelulární matrix, vede k redukcii perineuronálních sítí a axonálních obalů ve ventroposteromediálním jádře thalamu (VPM). Deficit Bral2 nezpůsobuje změny difuzivity tkáně u mladých myši, ale ochranná schopnost komplexů extracelulární matrix např. proti oxidačním látkám může být snížena. Pokles extracelulárního objemu, typický pro stárnutí např. v kůře, jsme pozorovali pouze ve VPM starých Bral2 negativních zvířat, ale ne u stejně starých kontrol. Výsledky naznačují, že vliv deficitu Bral2 na difuzi ve VPM je pravděpodobně nepřímý a je způsoben zvýšeným poškozením neuronů s chybějícími ochrannými obaly během stárnutí.



Do boje se záněty!

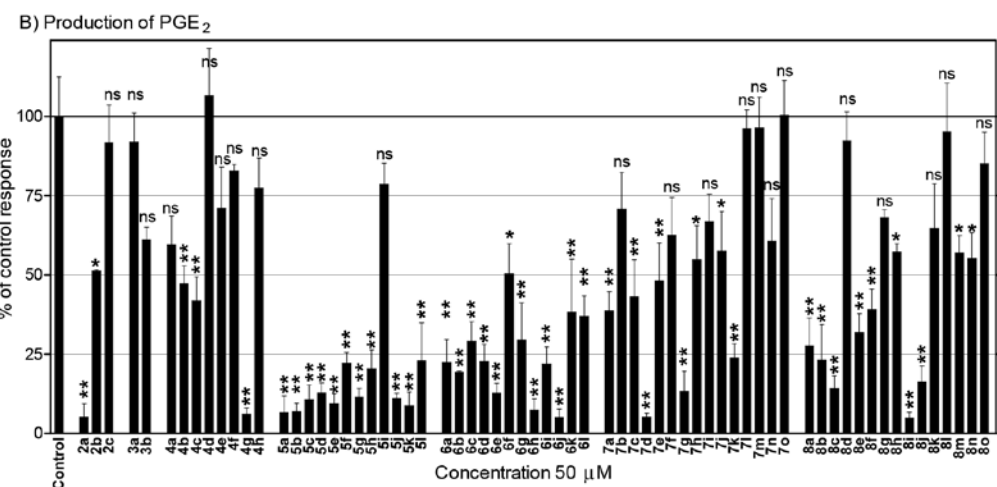
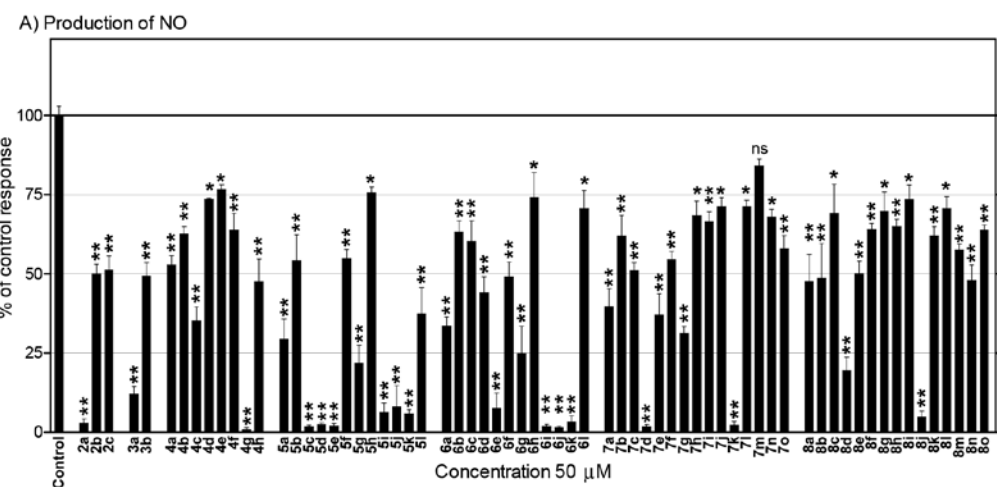
Aktivita oddělení farmakologie je soustředěna na analýzu biologických vlastností látek, a to především takových, které ovlivňují příčiny a důsledky zánětlivých procesů. Cílem základního výzkumu v této oblasti je hledání nových kandidátů pro perspektivní terapeutické využití. V pilotních studiích

sledujeme jejich interakci s mediátory zánětu, např. s cytokiny, prostaglandiny a oxidem dusnatým. Jedná se o látky nízkomolekulárního charakteru, jejichž vývoj a výzkum je založen na spolupráci s Ústavem organické chemie a a biochemie AV ČR. Kromě biologické účinnosti jsou dalšími kritérii pro zařazení látek do preklinického výzkumu i hodnocení jejich bezpečnosti a stanovení mechanismů účinku. Terapeutický potenciál látek ověřujeme v experimentálních modelech lidských zánětlivých nemocí.

Nové inhibitory mediátorů zánětu: pyrimidiny

Byla připravena série 67 nových polysubstituovaných 2-aminopyrimidinů. Zjistili jsme, že v závislosti na struktuře jsou významnými inhibitory produkce prostaglandinu E₂ (PGE₂). Většina z nich rovněž inhibuje produkci oxidu dusnatého (NO). Látky nejsou toxické, přesný mechanismus inhibičních

účinků nebyl však zatím objasněn. Vzhledem k tomu, že netoxickým duálním inhibitorům PGE₂ a NO je přisuzována perspektiva v léčbě zánětlivých onemocnění, budou nově syntetizované pyrimidiny hodnoceny v dalších preklinických studiích.

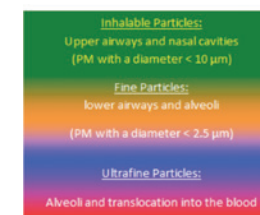


Změny v produkci oxidu dusnatého (NO) a prostaglandinu E₂ (PGE₂) Polysubstituované deriváty pyrimidinu (2a - 80) inhibují produkci NO a PGE₂. *In vitro* produkce mediátorů zánětu byla stimulována u myších makrofágů kombinací lipopolysacharidu (LPS) a interferonu-gamma (IFN-γ), v případě PGE₂ jen samotným LPS. Vliv látek byl vyhodnocen v procentech kontrolní stimulované produkce mediátorů, a to po 24 (NO) nebo 6 hodinách (PGE₂) kultivace buněk. Statistická významnost efektů byla hodnocena analýzou variance: * P < 0.05; ** P < 0.01; ns, nevýznamné.

Jak nanočástice poškozují genetický materiál

Hlavní náplní výzkumu Oddělení genetické toxikologie a nanotoxikologie je genetické poškození způsobené nanočásticemi vznikajícími při spalovacích procesech, jakož i vyráběnými nanomateriály, toxickými a karcinogenními látkami, jako jsou polycyklické aromatické uhlovodíky a jejich deriváty. Účinek těchto faktorů je

studován jak na buněčných kulturách, tak na laboratorních zvířatech i v lidských translačních molekulárně epidemiologických studiích a pozorovacích epidemiologických studiích.



Ultrajemné a jemné částice a hospitalizace ve střední Evropě

Studovali jsme krátkodobé účinky ultrajemných a jemných prachových částic v ovzduší na frekvenci hospitalizací osob žijících ve městech střední a východní Evropy. Zjistili jsme, že zvýšení množství ultrajemných částic o 2750/cm³ je spojeno s vyšším rizikem hospitalizací v důsledku respiračních onemocnění. Současně jsme pozorovali i vliv částic o aerodynamickém průměru < 2.5 μm na zvýšení rizika hospitalizací souvisejících s kardiovaskulárními a respiračními onemocněními.

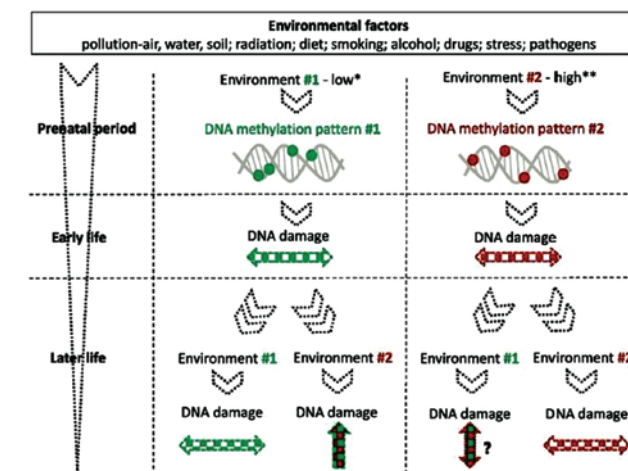
Velikost částic a jejich pronikání do dýchacího systému (<http://www.ufireg-central.eu/>)

Přizpůsobují se lidé životnímu prostředí?

V přehledném článku jsme shrnuli téma Adaptace lidské populace na vlivy životního prostředí - současné znalosti, důkazy z českých cytogenetických a „omics“ biomonitorovacích studií a možný mechanismus. Hlavním cílem článku byla reanalýza výsledků nasbíraných v průběhu posledních deseti let v českých biomonitorovacích studiích zaměřených na vliv expozice různým hladinám znečištěného ovzduší a radiace v různých exponovaných populačních skupinách. Detailní analýza dat nás přivedla k hypotéze univerzálního modelu adaptace k expozičním stresorům v životním prostředí prostřednictvím nastavení methylace DNA. Toto nastavení může mít

původ již v prenatálním vývoji a představuje potenciál pro redukci poškození DNA.

Model epigenetického mechanismu ukazující souvislosti mezi změnami hladin stresoru z životního prostředí v průběhu života a hladinou poškození DNA. Vidíme rozdílné rozložení methylačních skupin v závislosti na prostředí v období prenatálního vývoje; nízká hladina stresoru v prostředí (zelená); vysoká hladina stresoru v prostředí (červená). Stablní hladina stresoru v průběhu života je provázána stablní hladinou poškození DNA. Významná změna prostředí s výrazně odlišnou hladinou stresoru je v průběhu života provázána změnou v hladině poškození DNA.



Náhradní paliva pro naftové motory

Studovali jsme účinnost dvou důležitých biopaliv, butanolu a hydrogenovaného rostlinného oleje (HVO), na naftovém motoru Iveco Tector. HVO, možné náhradní palivo pro naftové motory ukázalo vynikající

spalovací a emisní charakteristiky. V porovnání s klasickou naftou prokázala všechna biopaliva snížení množství PAU a n-alkanů v emisích, zatímco hopany a stearany pocházející z mazacích olejů byly srovnatelné pro všechna paliva. Studené starty vedly k přibližně 15% zvýšení koncentrací částic a na ně navázaných organických sloučenin v emisích ve srovnání s teplými starty.

Vzorkovací zařízení Digital pro pevné emise z motorů



Vedoucí:
doc. RNDr. Jan Malínský, Ph.D.

Zrod a dynamika buněčných struktur

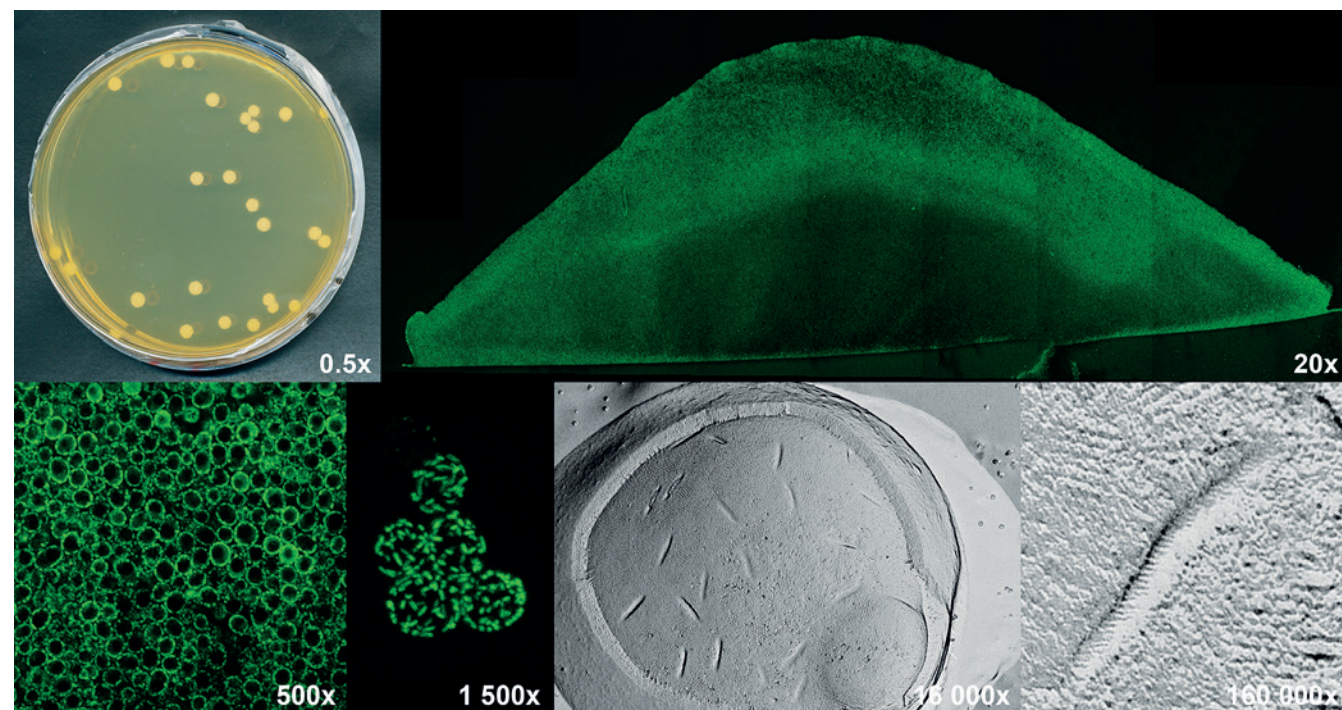
Řada biomolekul je v buňce soustředěna ve specializovaných strukturách, které postrádají jasně definované hranice. Dlouhodobě se zaměřujeme na formování, distribuci a dynamiku těchto

ustálených buněčných struktur, zejména laterálních mikrodomén biologických membrán, jaderných kompartmentů apod. Pomocí moderních mikroskopických metod tyto struktury dokážeme nejen přesně lokalizovat, ale též monitorovat jejich pohyb či vývoj v čase a studovat jejich biologickou funkci na molekulární úrovni.

Nový mechanismus regulace genové exprese na specifické mikrodoméně plasmatické membrány

Nedávno jsme mj. popsali nový mechanismus, kterým kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* reguluje odbourávání nepotřebné mRNA při dlouhodobém nedostatku glukosy. Podstatou této regulace je oddělení hlavního enzymu, 5'-3' mRNA exoribonukleázy Xrn1, který zprostředkuje vlastní rozbití molekuly mRNA na jednotlivé nukleotidy, od dalších proteinů nezbytných k zahájení a dokončení tohoto procesu. Zjistili jsme, že Xrn1 se za daných podmínek aku-

muluje na eisosomu, proteinovém komplexu navázaném na specializovanou mikrodoménu plasmatické membrány. Na eisosom navázaný enzym je neaktivní, ale podrží si funkčnost. Při výskytu fermentovatelného zdroje uhlíku (cukru) v okolí buňky se od membrány rychle uvolní a je opět plně aktivní. Vzhledem k tomu, že exoribonukleáza Xrn1 je evolučně konzervována od kvasinek po člověka, mohly by naše nálezy mít obecnou platnost i pro další eukaryota.



Od misky k molekulám. (horní řádek zleva) Kultivační miska s jednotlivými koloniemi kvasinek; příčný řez jednou kolonií s fluorescenčně značeným Xrn1. (dolní řádek zleva) V buňkách z vnitřní části kolonie je většina fluorescenčního signálu soustředěna na izolovaných oblastech plasmatické membrány, eisosomech; na prostorové rekonstrukci plasmatické membrány mají jednotlivé eisosomy protáhlý tvar; v elektronovém mikroskopu mají místa asociace eisosomu s membránou podobu žlábků; struktura jednotlivých proteinů samotného eisosomu je na dně žlábků patrná jako šikmé vroubkování. Čísla udávají přibližné zvětšení.

Všemi prostředky proti rakovině

Výzkumná činnost Oddělení molekulární biologie nádorů se zabývá základními molekulárními mechanismy kaskády genotoxických/karcinogenních účinků xenobiotik, faktory individuální vnímavosti, které modulují individuální vnímavost vůči genotoxickým a karcinogenním účinkům a konečně mapováním faktorů ovlivňujících individuální odpověď na protinádorovou léčbu a prognózu onemocnění. Oddělení se arbitrárně člení do dvou sekcí:

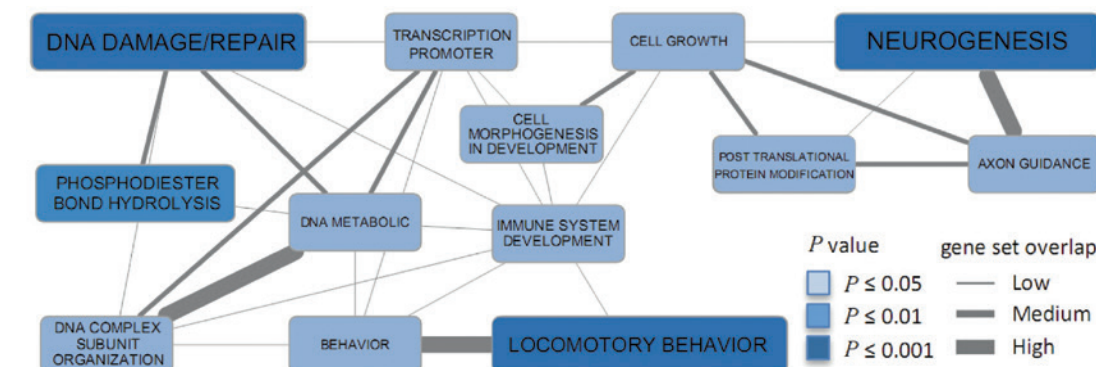
Laboratoř oprav DNA se soustřeďuje na mechanismy oprav DNA poškození, funkční testy mapující kapacitu DNA opravy, expresi relevantních kandidátních genů DNA opravy a jejich expresi proteinovou, a interakce genotypu s fenotypem. Naším cílem je rovněž sledovat úlohu DNA opravy v buněčné odpovědi na chemoterapii a při vzniku rezistence vůči protinádorové terapii.

Laboratoř nádorové genetiky pak studuje rozličné biomarkery v karcinogenezi, a to s ohledem na individuální vnímavost vůči různým xenobiotikům, mapování genetické variability v kritických

drahách, jak jsou dráhy DNA opravy, buněčného cyklu, biotransformace xenobiotik a transportu látek, stanovování poškození DNA a chromosomů, identifikaci relevantních kandidátních genů určujících chromosomální a genomovou instabilitu spolu s úlohou genů nízké penetrance při vzniku sporadických nádorových onemocnění. V poslední době intenzivně studujeme epigenetické regulace výše uvedených kandidátních drah v procesu karcinogeneze, se zvláštním důrazem na proces aberantních methylací a nekódujících RNA molekul. Zásadním rysem činnosti našeho oddělení je mapování odpovědi na onkologickou léčbu a hledání cest její individualizace a optimalizace.



Vedoucí:
MUDr. Pavel Vodička, CSc.



Co je příčinou syndromu neklidných nohou?

Syndrom neklidných nohou je neurologická porucha se závažnými fyzickými i mentálními zdravotními důsledky. Metaanalýza celogenomových asociačních studií identifikovala molekulární cíle u evropské populace (15126 případů a 95725 kontrol), které zahrno-

valy 13 nových rizikových lokusů pro uvedený syndrom. MEIS1 pak představoval nejsilnější genetický rizikový faktor pro syndrom neklidných nohou. Identifikace nových kandidátních genů a příslušných drah umožní další funkční studie a vyústí v nové léčebné možnosti.

Genové variace při vzniku nádorů tlustého střeva a konečníku

Polymorfismy v místech vazby mikroRNA (miRSNPs) ovlivňují interakce mezi cílovým genem a miRNA, vedoucí ke změněným expresím mRNA či proteinů a v důsledku k vyšší vnímavosti vůči chronickým onemocněním. Stanovovali jsme 3'UTR genů, které

jsou často mutovány u kolorektálního karcinomu (CRC), a hledali jsme vztahy s rizikem CRC a klinickým obrazem onemocnění. Varianty v místech vazby mikroRNA v 3'UTR genu PARP mají vliv na riziko vzniku CRC a prognózu onemocnění po terapii.

Integrita genomu a incidentní nádorová onemocnění

Narušení genomové integrity deficientní DNA opravou a zkracováním telomer představuje znaky maligní transformace. Studovali jsme chromosomální integrity v periferních lymfocytech (PBL) u nově diagnostikovaných pacientů s nádory prsu a kolorekta. Naše

výsledky ukazují, že alterovaná oprava dvouřetězcových zlomů (měřená citlivostí vůči mutagenu) v PBL se vyskytuje zejména v CRC. Bez ohledu na typ nádoru je zkracování telomer spjata s poklesem DSB DNA opravy.



Vedoucí:
Mgr. Martin Horák, Ph.D.

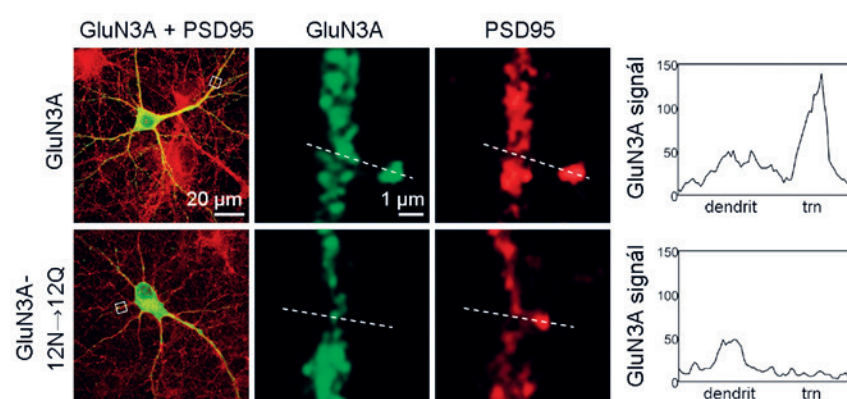
Pro léčbu neurodegenerativních onemocnění a kognitivních poruch

Oddělení neurochemie se zabývá studiem molekulárních mechanismů, které regulují funkci glutamátových receptorů v savčím centrálním nervovém systému (CNS). Dále vyvíjíme nové farmakologické modulatory glutamátových receptorů s cílem léčby kognitiv-

ních poruch spojených s neurodegenerací. Naše experimentální práce je prováděna pomocí mikroskopických, biochemických a elektrofyziologických technik v savčích neuronech a lidských liniích z pacientů trpících různými formami neurodegenerativních onemocnění. Získané výsledky přispívají k porozumění a budoucí terapii neurodegenerativních onemocnění lidského CNS včetně Alzheimerovy demence.

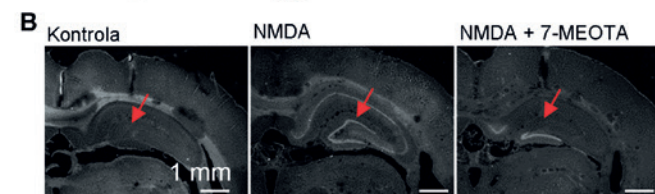
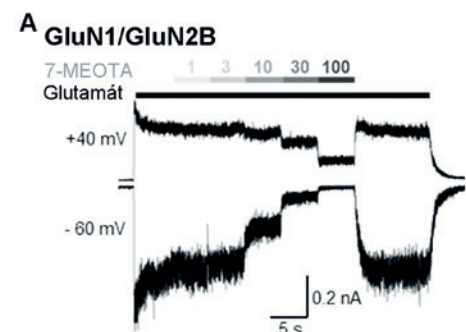
Cukry regulují glutamátové receptory

Glykosylace je jednou z nejčastějších posttranslačních modifikací proteinů, avšak není doposud plně objasněna její role v regulaci glutamátových receptorů v savčím mozku. Pomocí mikroskopických, biochemických a elektrofyziologických technik v savčích neuronech a buněčných liniích včetně lidských fibroblastů z pacientů s kongenitálními poruchami glykosylace studujeme roli glykosylace v transportu a funkci jednotlivých podtypů glutamátových receptorů. Získané výsledky přispívají k porozumění základním mechanismům regulace glutamátových receptorů v savčích neuronech za normálních i patologických stavů.



Hipokampální neurony exprimující normální formu GluN3A podjednotky (GluN3A) a GluN3A podjednotku bez glykosylačních míst (GluN3A-12N→12Q) byly značeny fluorescenční protilátkou proti GluN3A podjednotce (zeleně) a proti PSD95 (červeně; marker excitačních synapsí). Z obrázku je patrné, že GluN3A-12N→12Q podjednotka není přítomna v excitačních synapsích v dendritickém trnu, na rozdíl od GluN3A podjednotky.

Nové látky s neuroprotektivním účinkem



Ve spolupráci s Národním ústavem duševního zdraví v Klecanech a Centrem biomedicínského výzkumu v Hradci Králové vyvíjíme nové farmakologické látky pro léčbu neurodegenerativních onemocnění. Pro vývoj nových molekul s neuroprotektivním účinkem hledáme látky s unikátním mechanismem účinku na glutamátových receptorech, a to pomocí molekulárně-biologických a elektrofyziologických přístupů v savčích buňkách exprimujících definované podtypy glutamátových receptorů včetně lidských variant glutamátových receptorů obsahujících patogenní mutace způsobující vážné poruchy lidského centrálního nervového systému.

A, HEK293 buňky exprimující GluN1/GluN2B podtyp glutamátového receptoru byly použity pro charakterizaci farmakologického účinku látky 7-MEOTA metodou terčíkového zámku. Obrázek ukazuje, že 7-MEOTA je účinnější inhibitor GluN1/GluN2B receptorů při membránovém potenciálu -60 mV v porovnání s +40 mV.

B, Aplikace NMDA do potkaního hipokampu způsobila na rozdíl od kontrolních podmínek výraznou neurodegeneraci (detegovanou pomocí fluorescenční sondy FluoroJade). 7-MEOTA významně snížila poškození hipokampu vyvolané NMDA (oblast hipokampu označena červenou šipkou).

Jak vnímáme zvuky

Oddělení studuje mechanismy zpracování zvukových podnětů ve sluchovém systému savců a vývojovou plasticitu sluchové dráhy za normálních a patologických podmínek. Při experimentální práci používáme elektrofyziologické, imunohistochemické, behaviorální a *in vivo* zobrazovací metody u zvířat a audiometrické testy

a MRI u člověka. Výsledky získané studiem sluchové dráhy zvířat mají širší uplatnění při poznání obecných molekulárních mechanismů přenosu signálů v nervovém systému.

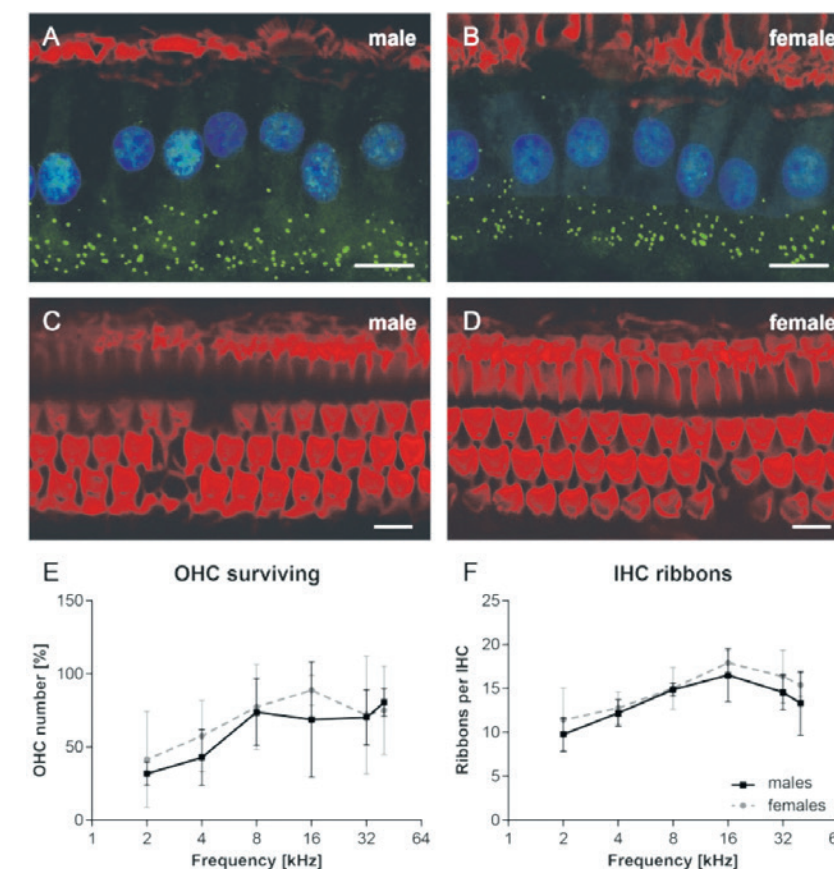
Sluch a věk u samců a samic

Zkoumali jsme rozdíly ve sluchové funkci a kochleární morfologii u samců a samic potkanů Fischer 344 během stárnutí. Starší samci potkana kmene Fischer 344 měli výrazně horší sluchový práh a menší amplitudu ABR a DPOAE ve srovnání s F344 samicemi stejného věku. Počet vnějších vláskových buněk a počet páskových synapsí u vnitřních vláskových buněk byl stejný u starých

samců a samic potkanů Fischer 344, ale struktura stria vascularis byla výrazně poškozena u starých samců Fischer 344. Starší samci potkanů F344 tak mohou být využiti jako experimentální model striální presbykuzy u lidí.



Vedoucí:
RNDr. Rostislav Tureček, CSc.



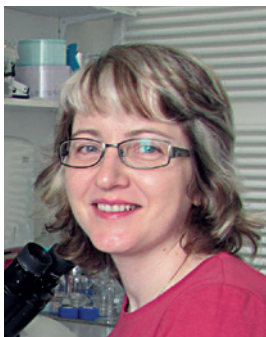
Plošné preparáty z kochleí starých potkanů kmene Fischer 344. Příklady kochleárních plošných preparátů z 27 měsíců starých potkanů zobrazujících páskové synapse ve vnitřních vláskových buňkách (IHC) (zeleně) u samců (A) a samic (B) potkanů F344, a vnitřní (IHC) a vnější vláskové buňky (OHC) u samců (C) a samic (D) potkanů F344. Jádra IHC jsou obarvena DAPI (modře). E - průměrný počet přežívajících OHC v jednotlivých tonotopických oblastech Cortiho orgánu u starých F344 samců a samic. F - průměrný počet páskových synapsí na jednu IHC v jednotlivých tonotopických oblastech Cortiho orgánu u starých F344 samců a samic.

Aktivace proudů s jedinečnými kinetickými vlastnostmi

KCTD hetero-oligomery umožňují specifickou kinetiku K⁺ proudů vyvolaných hipokampálními GABAB receptory. Ukazujeme, že GABAB receptory vážou KCTD proteiny, které tvoří hetero-oligomery prostřednictvím T1 a H1 homologních oblastí. Přítomnost KCTD12/16 hetero-oligomerů umožňuje GABAB receptoru aktivovat K⁺ proudy s jedinečnými kinetickými vlastnostmi. Naše výsledky ukazují, že interakce GABAB receptoru s různými KCTD proteiny zvyšuje jeho molekulární a funkční variabilitu a moduluje fyziologicky aktivované K⁺ proudy v nervovém systému.

Účinek zvuků v raném období vývoje

Akusticky obohacené prostředí během kritické periody vývoje potkana trvale ovlivnilo základní parametry neuronových receptivních polí ve sluchové kůře, což může mít význam pro schopnost detegovat a rozlišovat zvuky u dospělých potkanů.



Vedoucí:
Mgr. Eva Filová, Ph.D.

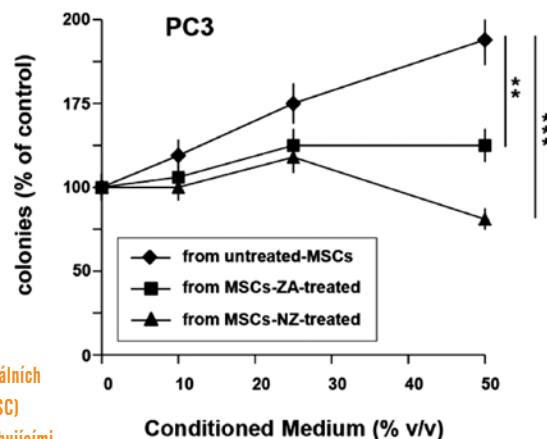
Ať se rány zacelí!

Oddělení je zaměřeno na vývoj tkáňových náhrad, především biodegradovatelných a na bázi nanovláken, modelování proteinových struktur, ale také na vyhledávání využití výsledků. Pracoviště vyvíjí technologie uvolňová-

Účinněji proti rakovině

Vyvinuli jsme samouspořádávající se nanočástice enkapsulující zoledronovou kyselinu (NZ) umožňující vyšší dodávání léčiva do nádoru ve srovnání s volnou zoledronovou kyselinou v *in vivo* modelu rakoviny prostaty (PCa). Terapie s NZ snížila migraci a diferenciaci MSCs do adipocytů a osteoblastů a inhibovala sekreci proangiogenních faktorů. NZ byla schopna inhibovat interakci mezi MSCs a PCa, což vysvětluje protirakovinné účinky NZ na PCa.

ní bioaktivních látek s využitím nanovláknenných nosičů obohacených o liposomy, což umožní postupné uvolnění látek v místě defektu. Vyvíjí také 3D nanovláknna připravená metodou Force-spinning®. Připravují se nosiče pro regeneraci kostních defektů a incizionální hernie a nové materiály pro kostní implantáty pro klinické použití.

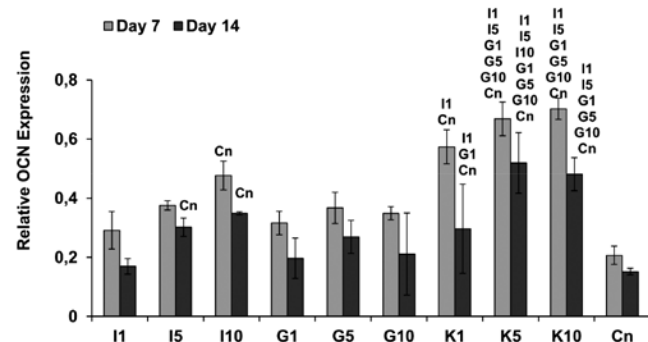


Kultivace mezenchymálních kmenových buněk (MSC) s nanočásticemi obsahujícími zoledronovou kyselinu (NZ) nebo roztokem zoledronové kyseliny (ZA) snížila klonogenní růst buněk rakoviny prostaty (PC3 buněk) indukovaný kondicionovaným médiem MSC (MSC-CM).

100 PC3 buněk bylo nasazeno do 24jambkové destičky. Po 24 hodinách adheze byly buňky kultivovány při vyšších koncentracích supernatantu z MSC léčených nanočásticemi obsahujícími zoledronovou kyselinu (NZ) nebo roztokem kyseliny zoledronové (ZA). Po 7 dnech byly buňky pozorovány v mikroskopu s fázovým kontrastem a byly spočítány kolonie. Hodnoty vyjadřují průměr ± standardní odchylku tří nezávislých experimentů.

Navodit potřebný růst

Třírozměrná PCL vlákna byla připravena pomocí centrifugačního zvláknování a byla funkcionalizována pomocí adhezaních krevních destiček 5 různých koncentrací. Uvolněné růstové faktory stimulovaly proliferaci a metabolickou aktivitu MG-63 buněk v koncentraci destiček větší než fyziologické ($300 \times 10^9/l$). Nižší koncentrace byly srovnatelné s kontrolní skupinou. Podobně i aktivita alkalické fosfatázy byla zvýšena u dvou nosičů s 2 nejvyššími koncentracemi destiček.



Krevní destičky adhezané na vlákna z poly-ε-kaprolaktanu. SEM vizualizace krevních destiček na PCL vláknech. Destičky byly částečně aktivovány a vytvořily fibrinovou síť 24 h od adheze (a). Destičky byly viditelně adhezané na vláknech dokonce po 14 dnech experimentu (b).

Pro obnovu kostí

Indukce osteogenní diferenciaci kmenových buněk pomocí bioaktivních peptidů kultivovaných ve 3D prostředí. Studie porovnává bioaktivní peptidy odvozené z proteinů extracelulární matrix, jmenovitě kolagen typu III, BMP-7 a BMP-2. Peptid odvozený z BMP-2 má nejvyšší potenciál navodit osteogenní diferenciaci kultivovaných prasečích MSC (pMSC).

Expresí genu pro osteokalcin. Hladina exprese osteokalcinu, který je pozdním markerem osteogenní diferenciaci, byla sledována 7. a 14. den. Zkratky nad sloupcovým grafem znamenají statistické rozdíly mezi skupinami ($P < 0,05$). MSCs, mezenchymální kmenové buňky; OCN, osteokalcin; aminokyselinové sekvence: I, IAGVGGKSGGG; G, GQGFSPYKAVFSTQ; K, KIPKASSVPELSAISTLYL; 1, 1 μg/ml koncentrace peptidů; 5, 5 μg/ml; 10, 10 μg/ml; Cn, kontrolní skupina (bez přidání peptidů).

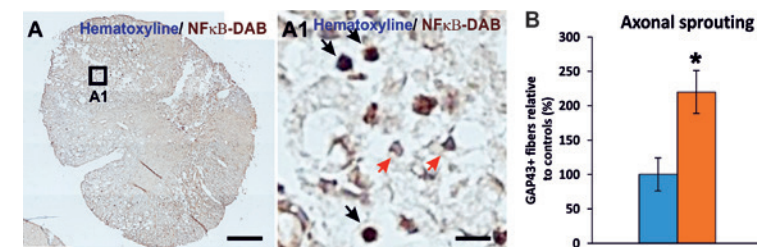
Obnovit nervovou tkáň

V oddělení jsou studovány mechanismy onemocnění CNS, poranění mozku a míchy a neurodegenerativních onemocnění. Zabýváme se izolací, značením a využitím kmenových buněk a neurálních prekursorů k léčbě poranění mozku, míchy, Alzheimerovy choroby a amyotrofické laterální sklerózy. Pracujeme s různými typy buněk (mezenchymové kmenové buňky, neurální prekursorové buňky derivované z linie fetálních spinálních buněk nebo z indukovaných pluripotentních buněk) a přírodními protizánětlivými látkami z hlediska jejich potenciálu napomáhat regeneraci nervové tkáně. Makroporézní polymerní hydrogely jsou využívány jako vhodné nosiče pro růst buněk jak v kulturách *in vitro*, tak v *in vivo*

implantacích jako cílené nosiče buněk, které podporují regeneraci poraněné tkáně. Cílem buněčné terapie je opravit nebo nahradit, případně zlepšit biologické funkce poškozené nervové tkáně. K zobrazování transplantovaných buněk a jako cílené nosiče pro doručování léčiv využíváme magnetické nanočástice, u kterých testujeme jejich vliv na kmenové buňky i tkáň příjemce.



Vedoucí:
doc. RNDr. Pavla Jendelová, Ph.D.



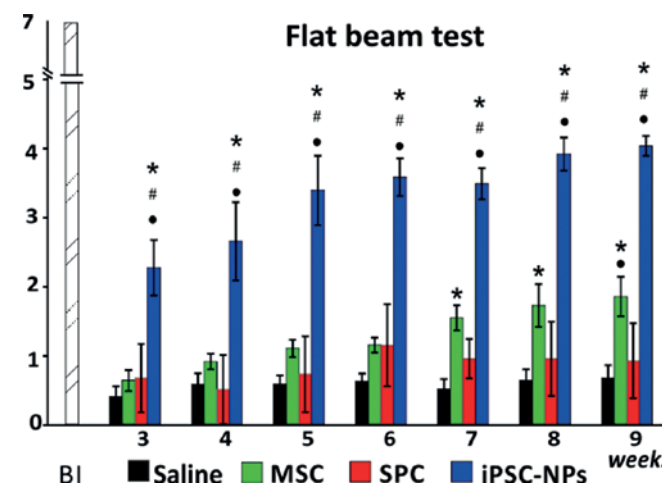
Na obrázku je znázorněna zvýšená jaderná translokace podjednotky p65 (RelA) NF-κB dimeru po podání EGCG (černá šipka) a nárůst počtu regenerujících axonů po aplikaci EGCG (B).

Uzdravit poraněnou míchu

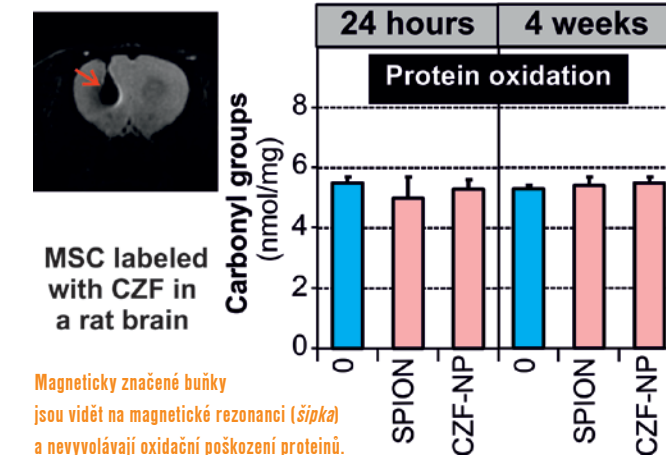
Polyfenol epigallocatechin-3-galát ze zeleného čaje moduluje zánětlivou odpověď, a tím pomáhá regeneraci poraněné tkáně. Studovali jsme vliv EGCG na regeneraci míšní tkáně po poranění. Potkani po podání EGCG vykazovali lepší motorické vlastnosti, vyšší axonální sprouting a remodelaci gliové jizvy. Léčba EGCG také tlumí kanonickou dráhu NFκB a moduluje hladiny zánětlivých cytokinů.

Mohou transplantované buňky poškodit mozek?

Magneticky značené kmenové buňky jsme transplantovali do mozku potkana a sledovali jsme oxidační poškození mozkové tkáně. Magneticky značené nanočástice nevyvolaly větší oxidační poškození tkáně než neznačené.



Nejlépe chodili po kladině potkani s transplantovanými neurálními prekursorů z iPSC.



Které buňky jsou nejlepší?

V naší studii jsme porovnávali vliv třech různých typů kmenových buněk, připravených z různých zdrojů, na regeneraci nervové tkáně po míšním poranění u potkana. Použili jsme lidské mezenchymové kmenové buňky izolované z kostní dřevě, linii spinálních progenitorových buněk a neurální prekursorů z indukovaných pluripotentních buněk (iPSC). Všechny tři typy buněk výrazně zlepšily obnovu motoriky. Největší efekt byl pozorován po aplikaci neurálních prekursorů z iPSC.

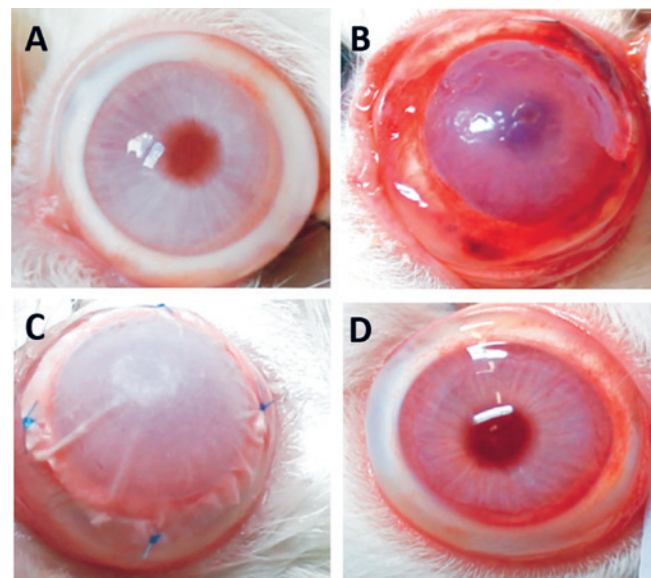


Vedoucí:
prof. RNDr. Vladimír Holáň, DrSc.

Poznat a využít mechanismy imunitních reakcí po transplantaci kmenových buněk

Výzkum Oddělení transplantační imunologie je zaměřen na přípravu kmenových buněk a jejich využití k léčbě těžkých poranění nebo doposud neléčitelných onemocnění. Kmenové buňky jsou množeny v tkáňových kulturách a pomocí nanovlákných nosičů jsou přenášeny na poškozené nebo nefunkční tkáně. Hodnocena je schopnost kmenových buněk inhibovat nežádoucí zánětlivou reakci a podporovat hojení nemocných tkání nebo orgánů. Cílem výzkumu je poznat mechanismy specifické imunitní reakce po transplantaci kmenových buněk a využít tyto poznatky k zesílení terapeutických účinků transplantovaných buněk. Kombinace znalostí mechanismů transplantačních reakcí, nano-

technologí a využití kmenových buněk umožňuje navrhovat a testovat nové léčebné postupy, které povedou ke zvýšení kvality života nebo dokonce k jeho záchraně.

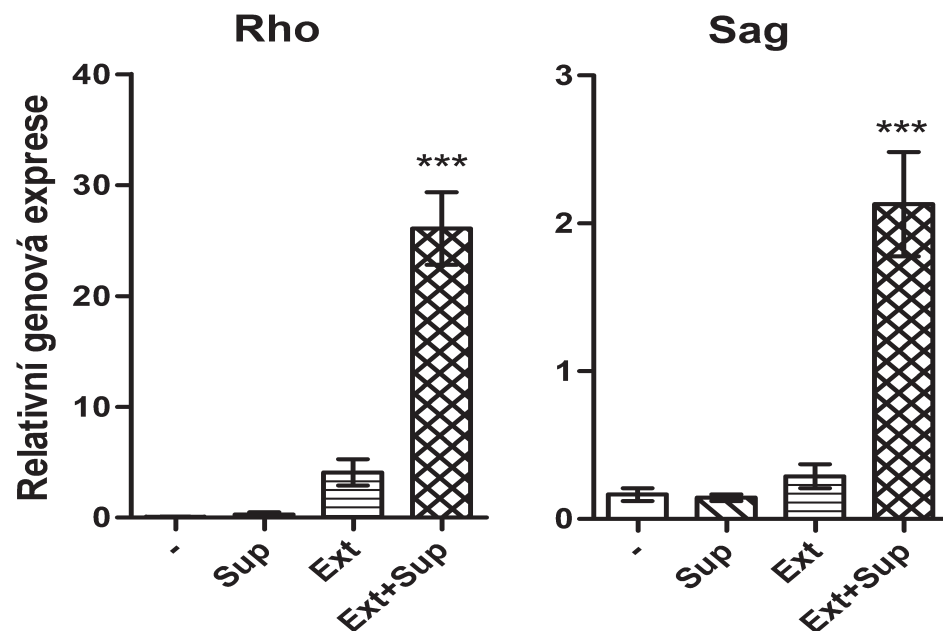


Léčba chemicky poškozeného povrchu oka pomocí kmenových buněk rostoucích na nanovlákném nosiči. A – zdravé oko, B – neléčené poškozené oko, C – poškozené oko pokryté nanovláknem s kmenovými buňkami, D – poškozené oko léčené kmenovými buňkami na nanovlákném nosiči.

Ať slepí prohlédnou

Degenerativní onemocnění sítnice představují hlavní příčinu snížené kvality vidění nebo slepoty. Účinná léčba těchto onemocnění stále chybí. Prokázali jsme, že mesenchymální kmenové buňky mohou být cíleně diferencovány v buňky exprimující znaky a charakteristiky buněk sítnice, mají významné imunoregulační vlastnosti a produkují řadu neuroprotektivních a růstových faktorů. Tyto buňky tak představují slibný nástroj pro léčbu doposud neléčitelných degenerativních onemocnění sítnice.

Diferenciace mesenchymálních kmenových buněk v buňky exprimující znaky sítnice. Myši mesenchymální kmenové buňky byly kultivovány samotné (-), v přítomnosti supernatantu z aktivovaných T buněk (Sup), s extraktem z buněk sítnice (Ext) nebo v přítomnosti Sup + Ext. Po 7 dnech kultivace byla exprese genů pro znaky buněk sítnice (Rho a Sag) detegována pomocí RT-PCR.



Vedoucí:
RNDr. Ondřej Machoň, Ph.D.

Pro zdravý vývoj zárodku

Oddělení vývojové biologie se zabývá genetickou regulací zárodečného vývoje. Využíváme technologie tkáňově specifických knock-out v myších k objasnění funkce některých signalizačních drah a vybraných transkripčních faktorů, které řídí kraniofaciální, neurální, zubní a ušní zárodečný vývoj. Studie v myších modelech jsou doplněny experimenty v embryích kuřete a ryb zebříček. Odon-

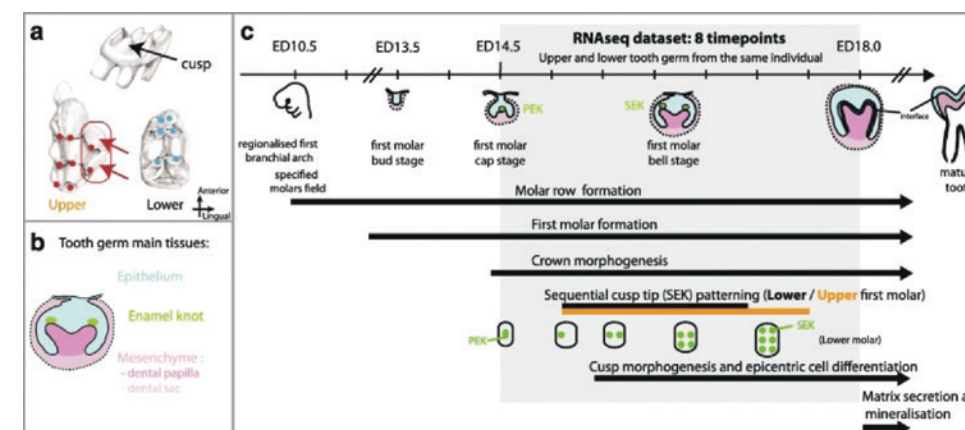
togeneze je sledována i v několika druzích plazů. V těchto experimentálních organismech se snažíme objasnit genetickou podstatu některých lidských vývojových vad.

Jak se vyvíjejí orgány?

Byly srovnány transkriptomy dvou morfologicky odlišných orgánů – horní a dolní první stoličky u myši – s cílem objasnit různé vývojové mechanismy vedoucí ke specifické morfologii těchto struktur. I když obě struktury sdílejí v podstatě tutéž škálu genů podílejících se na vývojových procesech, existuje zde

zásadní rozdíl v relativním zastoupení jednotlivých tkání.

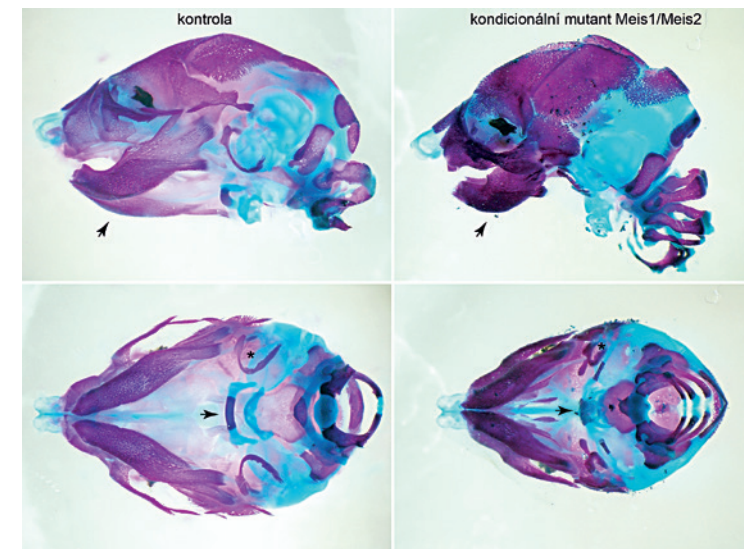
Zásadní rozdíl směřující buď k morfologii horní či dolní stoličky je dán právě množstvím mesenchymu ve vývojových základech a také v čase nástupu exprese jednotlivých genů. Tento přístup jsme použili i na objasnění vývoje předních a zadních končetin.



Vývoj horní a dolní stoličky u myši. (a) Boční pohled na horní první stoličku a zubní pohárek. (b) Zjednodušený pohled na zárodek zubu, který se skládá z mesenchymu, epitelu a sklovinného uzlíku, který iniciuje diferenciaci epitelu. (c) Schéma hlavních stadií vývoje stoliček

Vývoj hlavových a obličejových kostí z buněk neurální lišty

Buňky neurální lišty představují unikátní formu kmenových buněk původně pocházejících z nervové tkáně. Během embryonálního vývoje jsou tyto kmenové buňky schopné diferencovat do mnoha odlišných typů, jako jsou chrupavky a kosti v hlavě a obličejí, hlavové nervy, periferní nervy ve střevě, srdeční chlopně či pigmentové buňky v kůži. Vytvořili jsme v myši kondicionální knock-out transkripčních faktorů Meis1 a Meis2 v buňkách neurální lišty. Zárodky těchto mutovaných linií mají mnohé vývojové vady hlavových kostí a nervů a poškozený vývoj srdce. Studujeme buňkový mechanismus těchto defektů a úlohu transkripčních faktorů Meis při vyvojové diferenciaci.



Chrupavčité a kostní tkáně u normálních embryí a mutantů s vyřazenými geny pro transkripční faktory Meis1 a Meis2 v neurální liště. Chrupavky byly obarvené alcianovou modří a kosti alizarinovou červení. Mutanty mají kratší a více osifikovanou dolní čelist a chybí jim jazyk (šipky). Dále jsou špatně vyvinuté kosti středního ucha (*).