

Program rektora MU na podporu tvůrčí činnosti studentů

Podpora výzkumné činnosti studentů (kategorie E,F)

Závěrečná zpráva o výsledcích projektu

Identifikační kód projektu

2	0	0	7	1	4	3	1	e	0	0	1	5
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Základní údaje	
Kategorie projektu (čl. 2 odst. 1)	e. Podpora výzkumné činnosti studentů v oborech lékařství, zdravotnictví, přírodovědy a informatiky
Navrhovatel (jméno, příjmení, UČO)	Bc. Tomáš Bárta, 106061
Kontakt (adresa, telefon, e-mail)	Pod Lípou 348, Vřesina 74285, tel: 724842309, email: tom.barta@gmail.com
Fakulta	Přírodovědecká fakulta
Studijní program – obor	Biologie – Molekulární biologie a genetika
Název projektu	Analýza molekulárních mechanismů podmiňujících reakci lidských embryonálních kmenových buněk na poškození DNA
Akronym	
Odborný garant – spoluředitel (+UČO)	Doc. MVDr. Aleš Hampl, CSc.
VŠ – fakulta – pracoviště	Masarykova univerzita – Lékařská fakulta – Biologický ústav
Kontakt (adresa, telefon, e-mail)	Kamenice 5, Brno-Bohunice 62500; tel: 549493514; email: ahampl@med.muni.cz
Další spolupracovníci	studenti-počet : 0 zaměstnanci-počet: 1

Výstupy projektu

Přednáška

Bárta, Tomáš - Doležalová, Dáša - Dvořák, Petr - Hampl, Aleš. Reaction of human embryonic stem cells to UVC-induced DNA damage. In *XII. Setkání biochemiků a molekulárních biologů 5.-6. února 2008 Brno*. 2008. ISBN 978-80-210-4526-2.

V předpokládaných výstupech projektu byla jedna přednáška plánována.

Přednáška

Doležalová, Dáša - **Bárta, Tomáš** - Slaninová, Iva - Dvořák, Petr - Hampl, Aleš. Analýza efektu inhibice cyklin dependentních kináz na diferenciaci lidských embryonálních kmenových buněk. In *XII. Setkání biochemiků a molekulárních biologů 5.-6. února 2008 Brno*. 2008. ISBN 978-80-210-4526-2.

Přednáška

Hampl, Aleš – Holubcová, Zuzana – **Bárta, Tomáš** – Pospíšilová, Šárka – Verner, Jan – Doležalová, Dáša – Vinarský, Vladimír – Dvořák, Petr. Human Embryonic Stem Cells: Stable or Vulnerable? In *XXII. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí 28.-31. května 2008 Olomouc*. 2008.

Přednáška

Hampl, Ales - Holubcova, Zuzana – **Barta, Tomas** – Pospisilova, Sarka - Verner, Jan - Dolezalova, Dasa - Vinarsky, Vladimir – Dvorak, Petr. How do hESC sense and respond to damage to their DNA? In *1 st Midwest Conference on Stem Cell Biology & Therapy May 9-11, 2008 Oakland*. 2008.

Posterové sdělení

Barta, Tomas – Vinarsky, Vladimir - Holubcova, Zuzana - Dolezalova, Dasa - Verner, Jan - Jaros, Josef - Pospisilova, Sarka - Dvorak, Petr – Hampl, Ales. Human embryonic stem cells can activate checkpoint control pathways. In *ESTOOLS Annual Meeting 1-5 June 2008 – Budapest*. 2008.

Poster byl v předpokládaných výstupech projektu plánován.

Posterové sdělení

Dolezalova, Dasa - **Barta, Tomas** - Holubcova, Zuzana - Hubertova, Daniela - Dvorak, Petr – Hampl, Ales. Chemical inhibition of CDKs drives human embryonic stem cells into differentiation. In *ESTOOLS Annual Meeting 1-5 June 2008 – Budapest*. 2008.

V současné době píšeme článek, který plánujeme publikovat v zahraničním impaktovaném časopise.

Odborná charakteristika dosažených výsledků

Lidské embryonální kmenové (hES) buňky jsou pluripotentní buňky, které si udržují svůj nediferencovaný stav během propagace *in vitro*. hES buňky nacházejí využití v testování a vývoji nových léčiv, výzkumu buněčné diferenciaci, výzkumu ontogenetického vývoje organismu a v potencionální buněčné terapii. Potencionální využití hES buněk v buněčné terapii vyžaduje jejich expanzi *in vitro*. Během expanze *in vitro* jsou hES buňky vystaveny mnoha typům stresu, které způsobují poškození DNA. Tyto změny se běžně nacházejí v nádorových buňkách.

V somatických buňkách jsou v průběhu buněčného cyklu strategicky rozmístěny kontrolní body, které zajišťují integritu genomu. Regulace kontrolních bodů a buněčného cyklu v embryonálních kmenových buňkách se liší od regulace v diferencovaných somatických buňkách. Cílem této studie bylo zjistit, zda hES buňky obsahují molekulární komponenty zapojené do ATM/ATR signalizace a zda mají plně vyvinuty a funkční G1/S a G2/M kontrolní body.

V této studii jsme stanovili efekt různých dávek UVC záření a efekt různých koncentrací alkylačního agens (Chlorambucilu) na hES buňky. Zjistili jsme, že poškození DNA v G1 fázi způsobuje akumulaci hES buněk v G1/S fázi buněčného cyklu, což naznačuje přítomnost G1/S kontrolního bodu. CDK2 a její aktivační fosfatáza Cdc25A jsou klíčové molekuly, které jsou odpovědné za blok v G1/S kontrolním bodu. Při poškození DNA ($UVC \geq 1.5 \text{ J/m}^2$) dochází k rychlé degradaci Cdc25A a snížení aktivity CDK2 i CDK1. Western blottingová analýza ukázala, že krátkodobě *in vitro* propagované hES buňky jsou náchylnější k UVC záření a aktivují apoptické dráhy při nižších dávkách UVC než hES buňky dlouhodobě *in vitro* propagované a diferencované hES buňky. Nediferencované hES buňky aktivují stresové dráhy p38 a p53, které jsou funkčně zapojeny do regulace kontrolních bodů buněčného cyklu.

Projekt přispívá k pochopení regulace stresových drah zapojených do aktivace kontrolních bodů buněčného cyklu u hES buněk. K detailnějšímu pochopení mechanismu regulace kontrolních bodů u hES buněk je zapotřebí provést podrobnější analýzu stresových drah.

Charakteristika dosažených výsledků z hlediska projektu

Z hlediska cílů projektu bylo dosaženo následujících výsledků:

- aktivace stresových drah byla provedena UVC zářením a alkylačním agens. Gama záření nebylo aplikováno z důvodu zákazu přístupu ke gama zářiči.
- buněčný cyklus hES buněk obsahuje komponenty, které jsou aktivovány při poškození DNA
- synchronizované hES buňky po poškození DNA zastavují progresi buněčným cyklem v G1/S fázi
- byla provedena analýza aktivace a exprese molekulárních komponent, které jsou zapojeny do signalizace stresových drah

Projekt přispěl k pochopení regulace stresových drah zapojených do aktivace kontrolních bodů buněčného cyklu u hES buněk.

Účast na odborných akcích v porovnání s plánem

XII. Setkání biochemiků a molekulárních biologů – Brno – 5.-6. února 2008
Přednáška - Reaction of human embryonic stem cells to UVC-induced DNA damage.
neplánovaná akce – tato odborná akce nebyla v průběhu psaní žádosti známa

ESTOOLS Annual Meeting – Budapešť – 1.-5. června 2008
Posterové sdělení - Human embryonic stem cells can activate checkpoint control pathways.
neplánovaná akce – tato odborná akce byla hrazena z jiných finančních zdrojů

ostatní – viz výstupy projektu

Plánované odborné akce, které se neuskutečnily

Konference mladých molekulárních biologů pořádaná firmou Sigma – důvod: plánovaná konference se koná v nevhodný termín
 Přednáška v ILBIT – důvod: výsledky byly pravidelně přednášeny na seminářích v ILBIT

Čerpání finančních prostředků (uvádět v tisících Kč na jedno desetinné místo)

	položka	přiděleno	čerpání
1	Odměna řešitele	5	2,5
2	Odměna garanta	3	2,2
3	Odměny pro spolupracovníky	3	0
4	Zákonné odvody	4	0,8
5	Sociální fond	0,2	0,04
6	Dohody o provedení práce	0	0
7	Stipendium pro řešitele	10	10
8	Stipendium pro spolupracovníky	0	0
9	Cestovné	2	0,250
10	Studijní literatura	3	2,1
11	Drobný hmotný a nehmotný majetek	0	0
12	Materiál	46,4	34,4
13	Služby	0	0
14	Celkem	76,6	52,25

Zdůvodnění rozdílů v plánovaném čerpání finančních prostředků

1. Mzda nebyla zatím zcela vyplacena.
2. Mzda nebyla zatím zcela vyplacena.
3. Mzda nebyla zatím vyplacena.
4. ad 1-3
5. ad 4
6. Nebylo požadováno.
7. Stipendium vyplaceno v plné výši.
8. Nebylo požadováno.
9. Poplatek za účast na ostatních konferencích byl čerpán z jiných zdrojů.
10. Kniha: Cell Cycle Checkpoint Control Protocols, Howard B. Lieberman, 2004
11. Nebylo požadováno.
12. Částka nebyla zatím zcela vyčerpána.
13. Nebylo požadováno.
14. Zbývající částka bude čerpána v průběhu června 2008

Datum: 28.5.2008