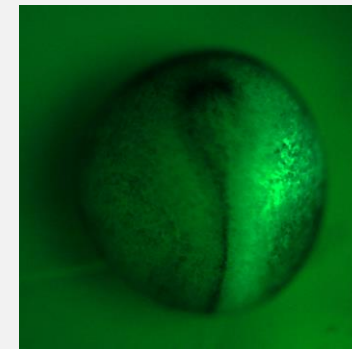


M U N I
S C I



Experimentální embryologie

Bi1130

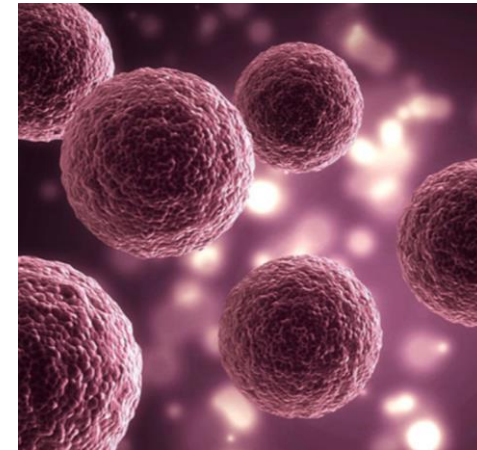
3D kultury – jejich využití jako alternativní experimentální model

3D kultury – Osnova přednášky

- Základní typy a charakterizace
- Organoidové kultury
- Příprava a kultivace
- Charakterizace organoidů
- Příklady využití v bazálním a klinickém výzkumu

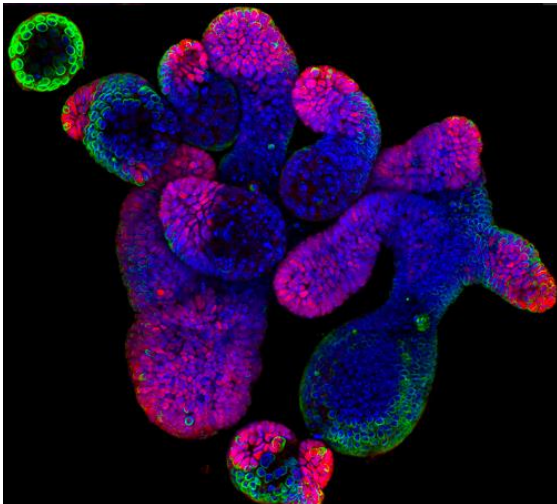
Smysl 3D kultury

- vytvoření 3D *in vitro* modelové kultury za účelem vývoje tkáním a orgánům podobných konstruktů
- konstrukty s podobnou strukturou a funkcí jako reálná tkáň či orgán
- schopnost vytvářet různé buněčné typy, které spolu interagují
- využití v bazálním i klinickém výzkumu
- částečné nahrazení zvířecích modelů (*in vivo*) a 2D buněčných kultur



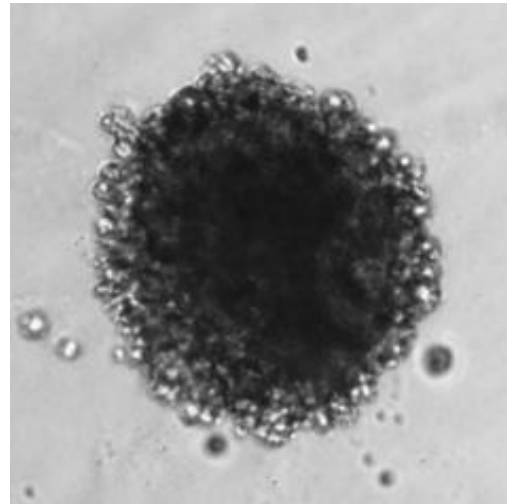
Typy 3D kultur

organoidy



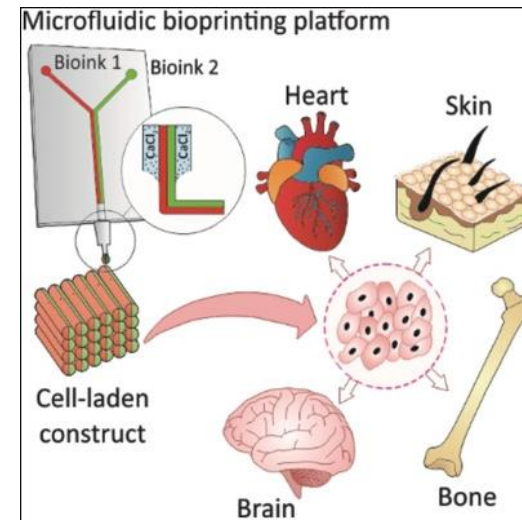
(Lukonin et al.)

sféroidy



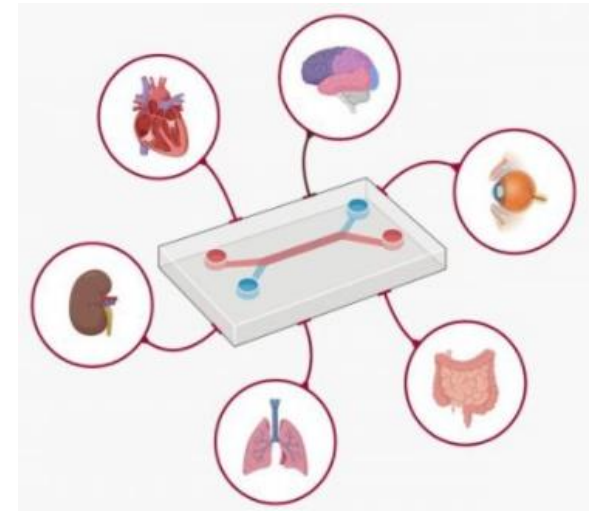
(RND Systems)

Cell-laden biomimetic constructs



(Davoodi et al. 2020)

Organs-on-chips



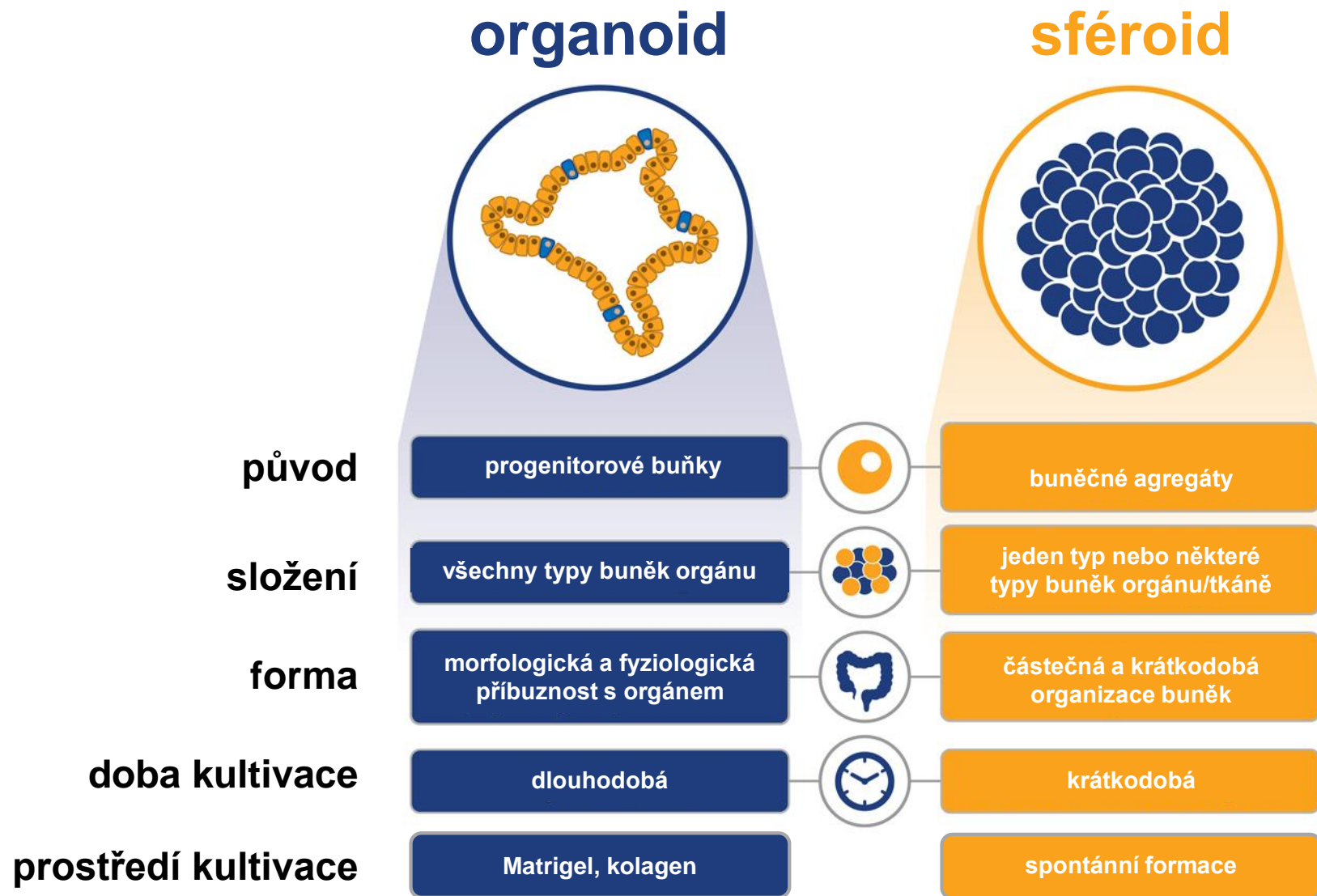
(fluidix.com)

Co rozumíme pod pojmem organoid?

- historie využívání organoidů – relativně nová metoda publikovaná poprvé v roce 2009
- miniaturizované verze tkání resp. orgánů
- organoidy vytvářejí trojrozměrné struktury v *in vitro* podmínkách
- organoidy by měly vykazovat strukturu co nejvíce podobnou reálnému orgánu včetně mikroanatomie a tvorby specifických molekul
- vlastnosti: pozor na rozdíly mezi **organoidem** a **sféroidem**

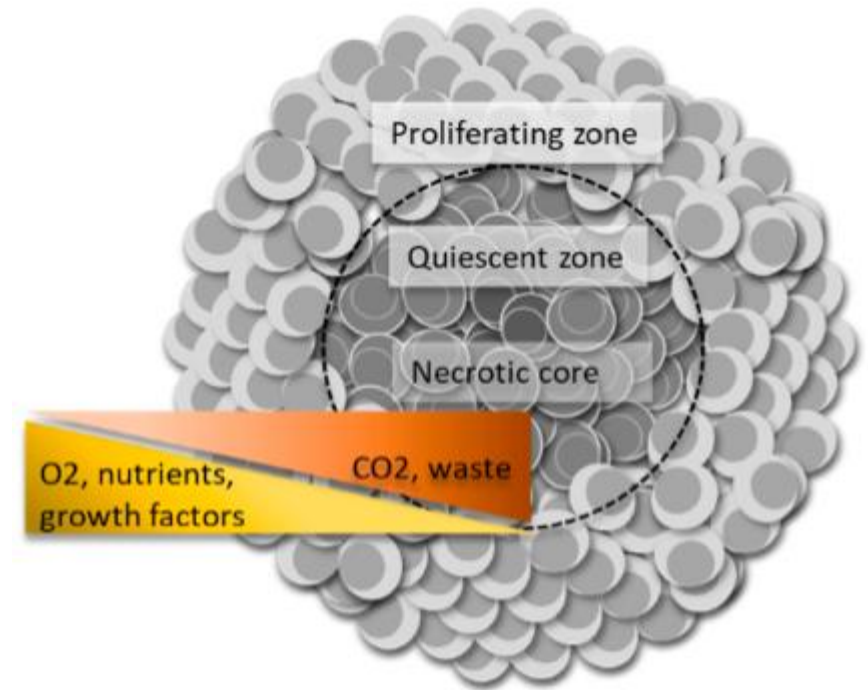
Jaké jsou rozdíly mezi organoidem a sféroidem?

Organoid vs. Sféroid – základní rozdíly



Sféroidy

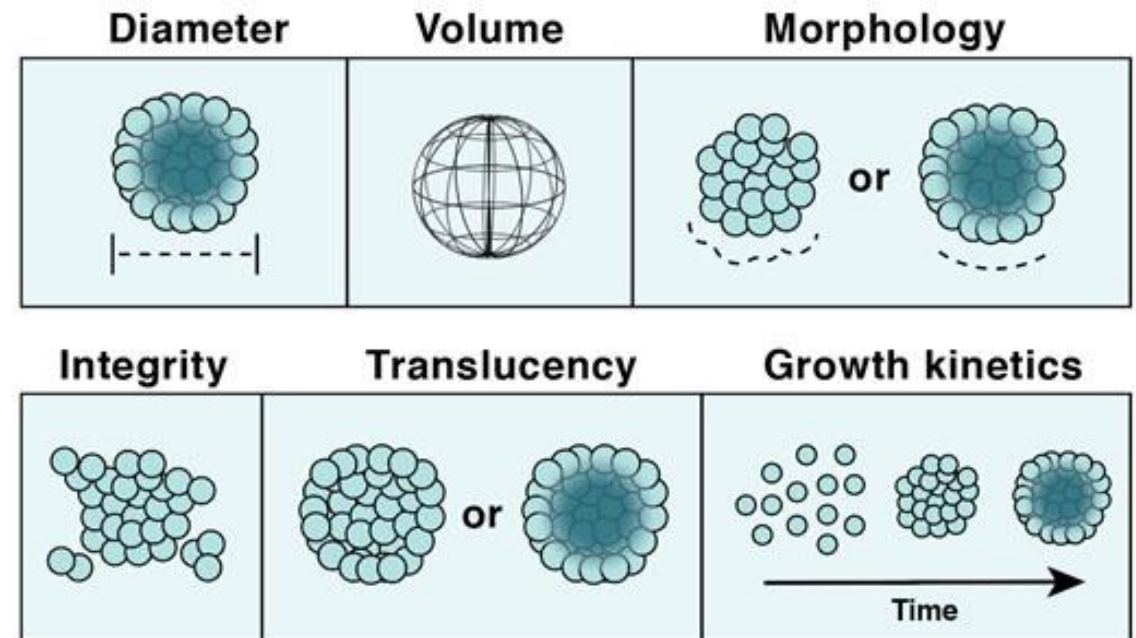
- buňky v suspenzní kultuře se spojují (agregují) a vytvářejí kulovité útvary = **sféroidy**
- pojem sféroid poprvé použit v roce 1971 (používány již dříve)
- dochází k **samovolnému spojování** buněk – ze samostatných buněk vznikají mnohobuněčné útvary (přirozené pro vývoj)
- uvnitř sféroidu dochází k **interakcím** mezi jednotlivými buňkami
- průchod kultivačního média **difúzí** – čím větší je sféroid, tím hůře proniká do hlubších vrstev
- využití ve výzkumu – nádorová biologie, transplantační biologie, testování léčiv



A New Dimension of Cell Culture:
The Rise of Spheroid Culture
Systems. 2019.

Jednoduchá charakterizace sféroidu

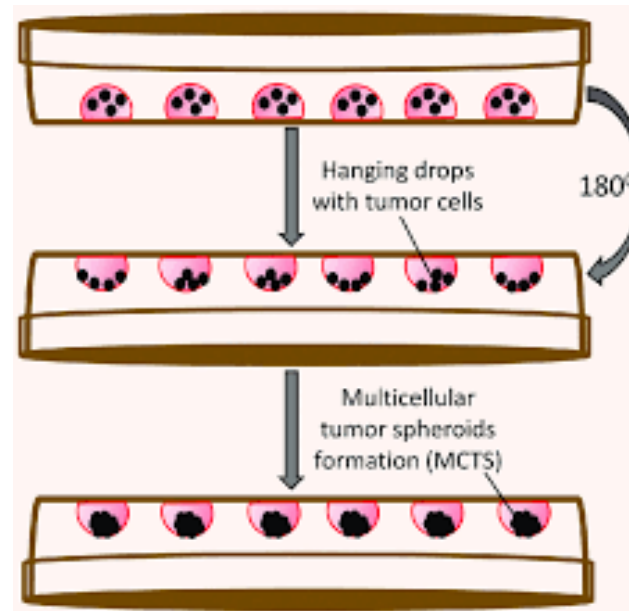
- určení morfologie pomocí světelného mikroskopu bez specifického značení:
- průměr a objem
- vnější morfologie
- integrita
- translucence – kompaktnost sféroidu
- rychlost růstu



Cytosmart: Spheroids: properties, image analysis, and culture methods. Steward, 2020.

Tvorba sféroidů – typy kultivace

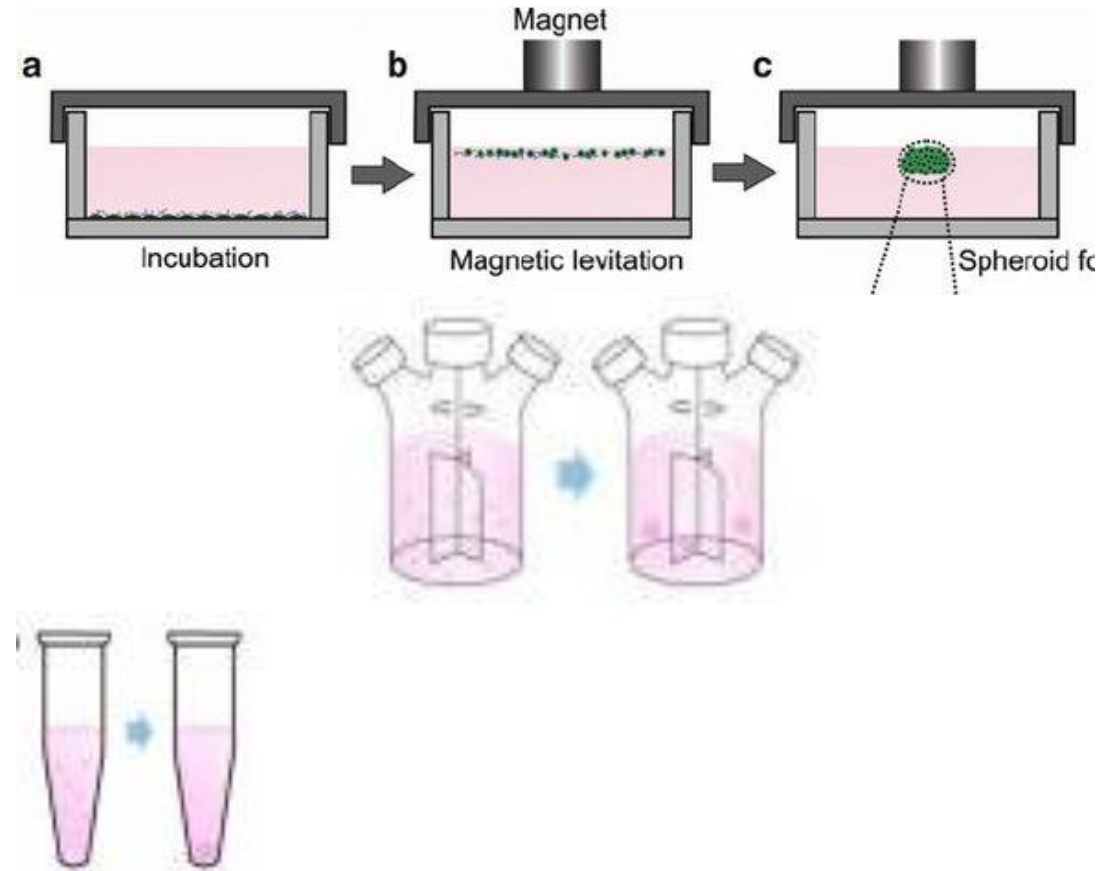
- **Hanging drop** – jedna z nejstarších metod (1907)
- kapka buněčné suspenze s definovanou buněčnou denzitou
- aplikace na kultivační plastik, otočení vzhůru nohama
- kapka drží díky povrchovému napětí, buňky se vlivem gravitace shlukují ve spodní části kapky a agregují
- jednoduchost a nízká cena



Penfornis et al. 2017. *Front Bio*

Tvorba sféroidu – další typy kultivace

- **Magnetic levitation** – smíchání buněk s magnetickými částicemi a vystavení působení magnetických sil – vznik agregátů
- **Spinner culture** – neustálé míchání kultury vede k agregaci buněk
- **Pellet culture** – buňky jsou „donuceny“ ke kontaktu centrifugací



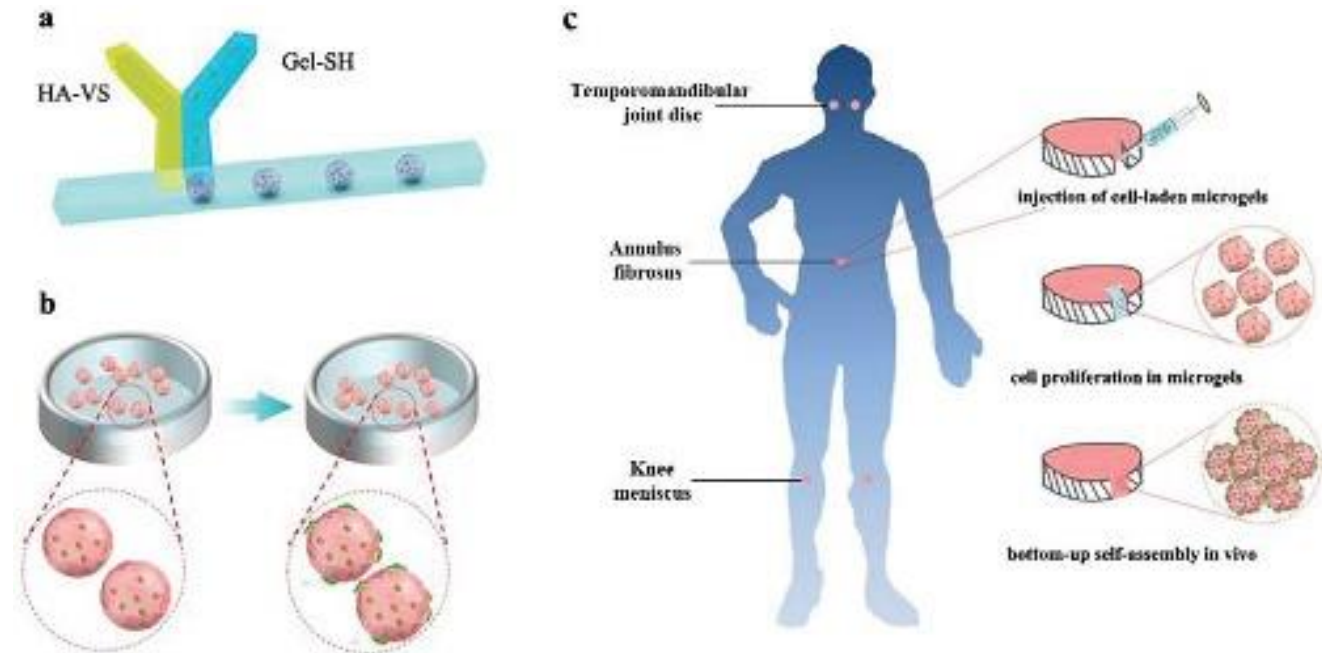
Ryu et al. 2019. *Cells*

Cell-laden biomimetic constructs

- určeno pro **tkáňové inženýrství a transplantace**
- buněčná suspenze v gelovité extracelulární matrix (tzv. **mikrogely**)
- navození strukturní a funkční charakteristiky tkáně či orgánu

Příklad: **Regenerace chrupavky**

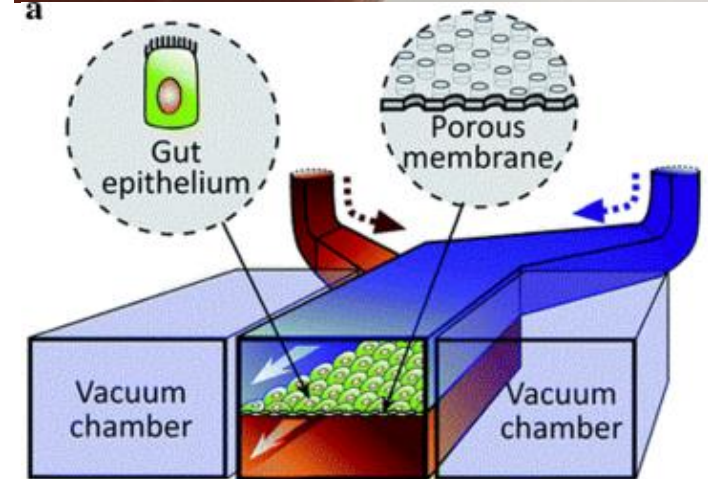
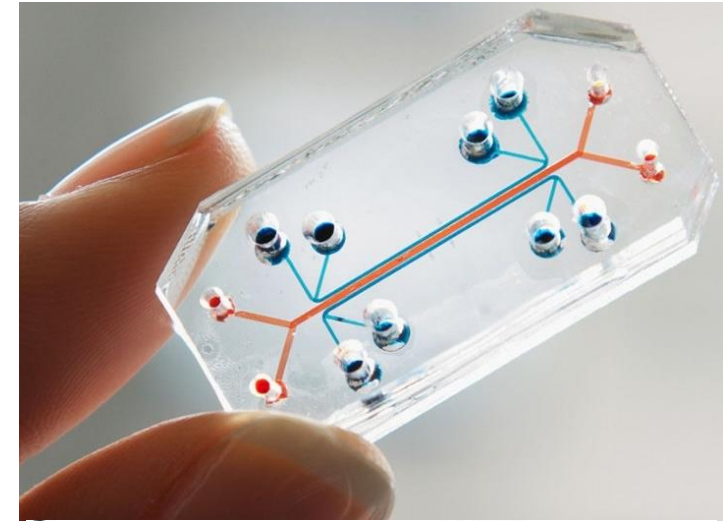
- mikrogel – upravená hyaluronová kyselina (HA-VS) v kombinaci s upravenou želatinou (Gel-SH)
- smícháno s kostními mezenchymovými kmenovými buňkami (BMSCs) – vytvoření gelových kapének se zapouzdřenými buňkami
- *in vitro* a *in vivo* testování



Feng et al. 2019. *Adv Func Mat*

Organs-on-chips

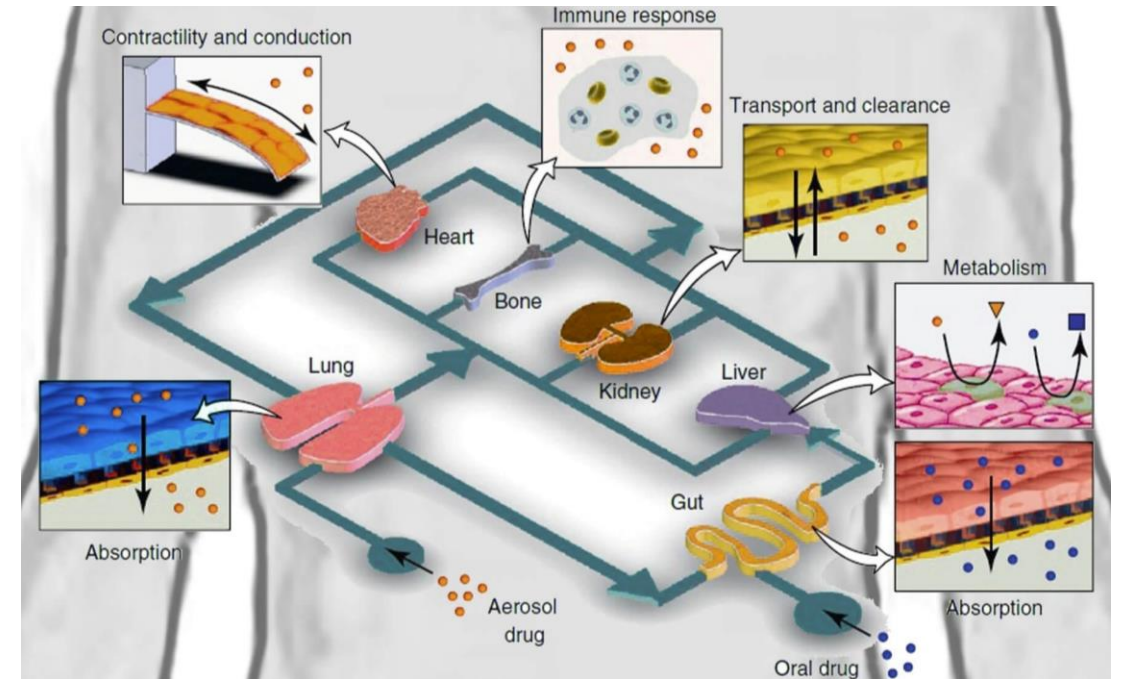
- mikrofluidní zařízení pro kultivaci buněk v mikrometrových komorách s neustálým prouděním média
- modelování fyziologických funkcí tkání a orgánů, testování léčiv
- **Jednoduché** – jedna perfuzovaná komora, jeden buněčný typ, pozorování specifických funkcí jednoho typu tkáně
- **Složené** – více spojených perfuzovaných komor, každá komora jeden buněčný typ, pozorování ovlivňování buněčných typů navzájem – interakce mezi tkáněmi
- **VIDEO:** <https://www.youtube.com/watch?v=0jf6Tor9WtA>



Wu et al. 2020. *BMC Biomed Eng*

Multi-organ-on-a-chip (human-on-a-chip)

- více typů buněk různých tkání propojených kanály („cévy“) – integrace různých orgánů do systému
- 2 orgány (střevo, játra)
- 3 orgány (střevo, játra, kůže)
- 4 orgány (střevo, játra, kůže, ledvina)
- 10 orgánů (střevo, játra, kůže, ledvina, slinivka, plíce, srdce, svaly, mozek, děloha)

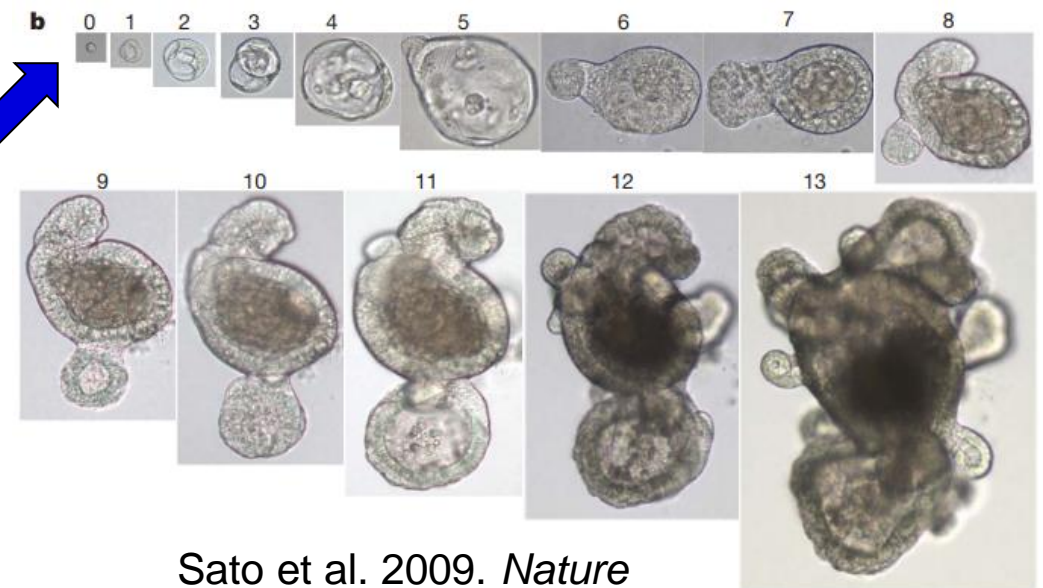
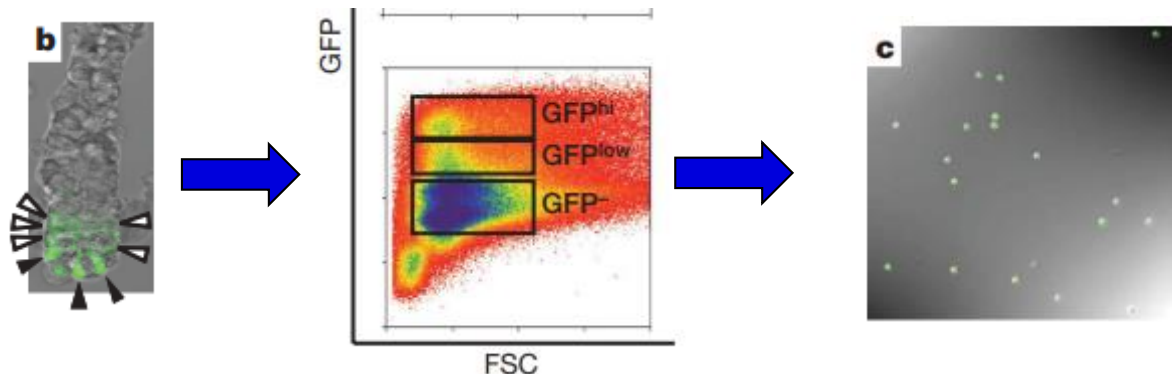


Organs-on-chips. Microfluidic reviews.

Vznik organoidové kultury

- organoidy poprvé využity pro modelování růstu střevních krypt (Sato et al. 2009. *Nature*)
- není systém kultivace udržující základní fyziologické vlastnosti střevních krypt → izolace kmenových buněk střeva ($Lgr5^+$ buňky, Barker et al. 2007. *Nature*)
- použití specifických faktorů při kultivaci = vznik střevní krypty z jedné kmenové buňky

Faktory: **R-spondin** (Wnt agonista, sebeobnova)
EGF (proliferace epitelových buněk)
Noggin (zvýšení množství krypt)
matrigel s **lamininem** (zabraňuje anoikis)



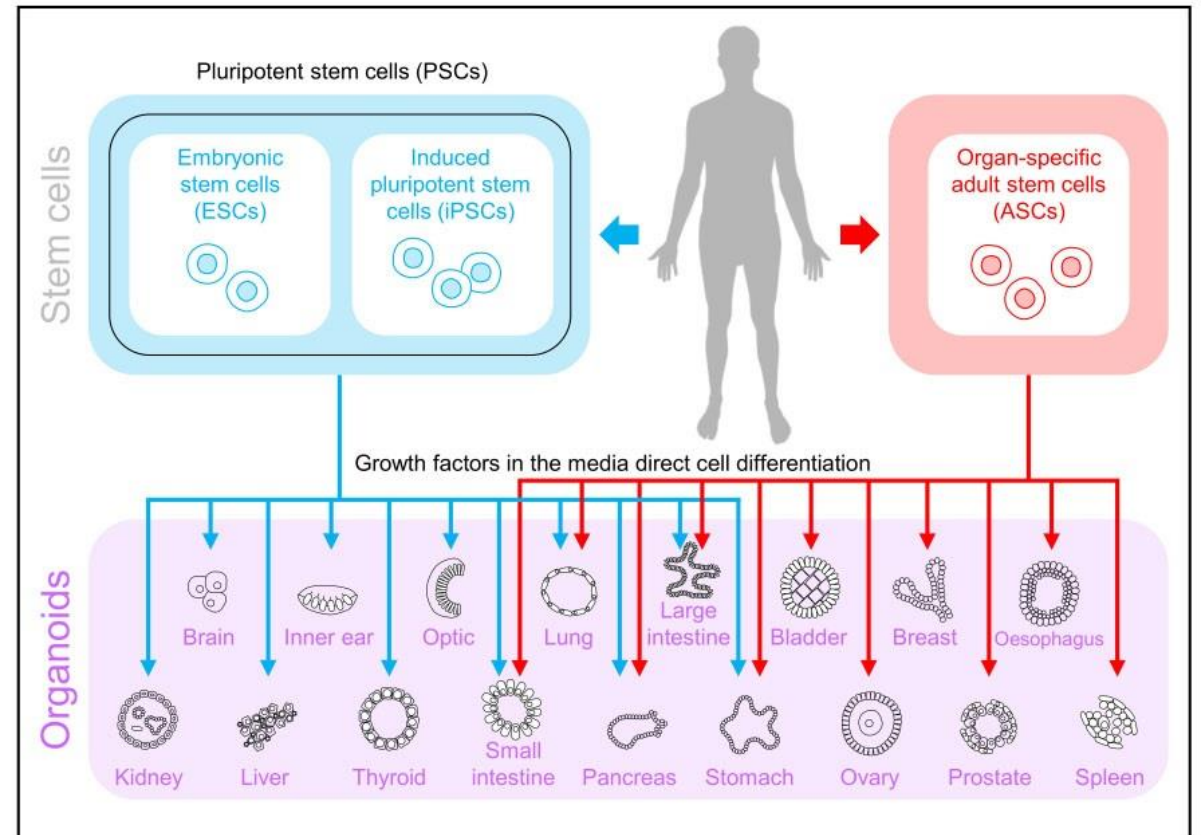
Základní typy organoidů

- organoidy se vytvářejí díky schopnosti samoorganizace a diferenciace kmenových buněk
- byly vytvořeny organoidy pro různé typy orgánů – tenké a tlusté střevo, játra, ledviny, plíce, prostata, slinivka, žaludek, děloha, mozková kůra, retina, atd.

- **dva typy organoidů** v závislosti na použití vstupních kmenových buněk:

– derivované z **dospělých orgánově specifických kmenových buněk (ASCs)**

– derivované z **pluripotentních kmenových buněk (PSCs)** – embryonální (ESCs) a indukované pluripotentní (iPSCs)



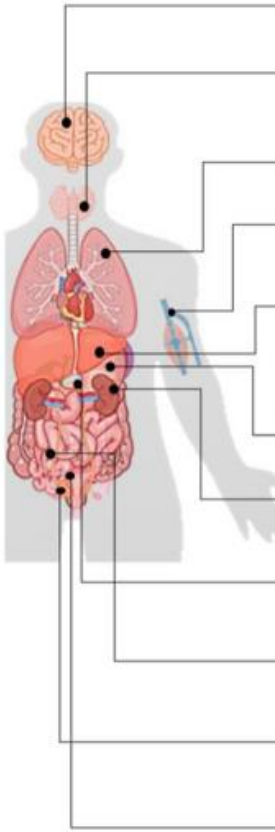
Regnard and Hammers, 2020.












Podmínky pro vznik specifických organoidů

- nezbytná součást kultivačního média – **tkáňově specifické růstové faktory**
- různé typy organoidů se vyvíjejí a diferencují v závislosti na přidaných růstových faktorech
- závislost použití růstových faktorů na původu kmenových buněk

– Příklad: **Játra**

- PSCs: BMP↑, FGF↑
- ASCs: BMP↓, FGF↓, Wnt↑, TGF↑, HGF↑, EGF↑, ROCK↓



ORGANOIDS	PSCs	Tissue Specific Growth Factors for PSCs	AdSCs	Tissue Specific Growth Factors for AdSCs
 Brain	✓	TGF↑, BMP↑		
 Thyroid	✓	EGF↑, FGF↑, Wnt↑, BMP↓		
 Lung	✓	FGF↑, Wnt↑, TGF↓, BMP↓	✓	TGF↓, BMP↓, ROCK↓, MAPK↓, FGF↑, Wnt↑
 Blood Vessel	✓	FGF↑, BMP↑, VEGF↑, Wnt↑		
 Liver	✓	BMP↑, FGF↑	✓	FGF↑, HGF↑, Wnt↑, EGF↓, BMP↓, ROCK↓, TGF↓
 Stomach	✓	EGF↑, FGF↑, Wnt↑, BMP↓	✓	EGF↑, FGF↑, Wnt↑, BMP↓, TGF↓
 Kidney	✓	FGF↑, Wnt↑		
 Pancreas			✓	Wnt↑, EGF↑, FGF↑, BMP↓, TGF↓
 Intestine	✓	EGF↑, FGF↑, Wnt↑, BMP↓	✓	EGF↑, FGF↑, Wnt↑, IGF↑, TGF↓, BMP↓
 Prostate			✓	FGF↑, Wnt↑, EGF↑, BMP↓, TGF↓
 Endometrium			✓	FGF↑, HGF↑, Wnt↑, EGF↑, BMP↓, TGF↓

Tortorella et al. 2021. *Eur Bioph J*

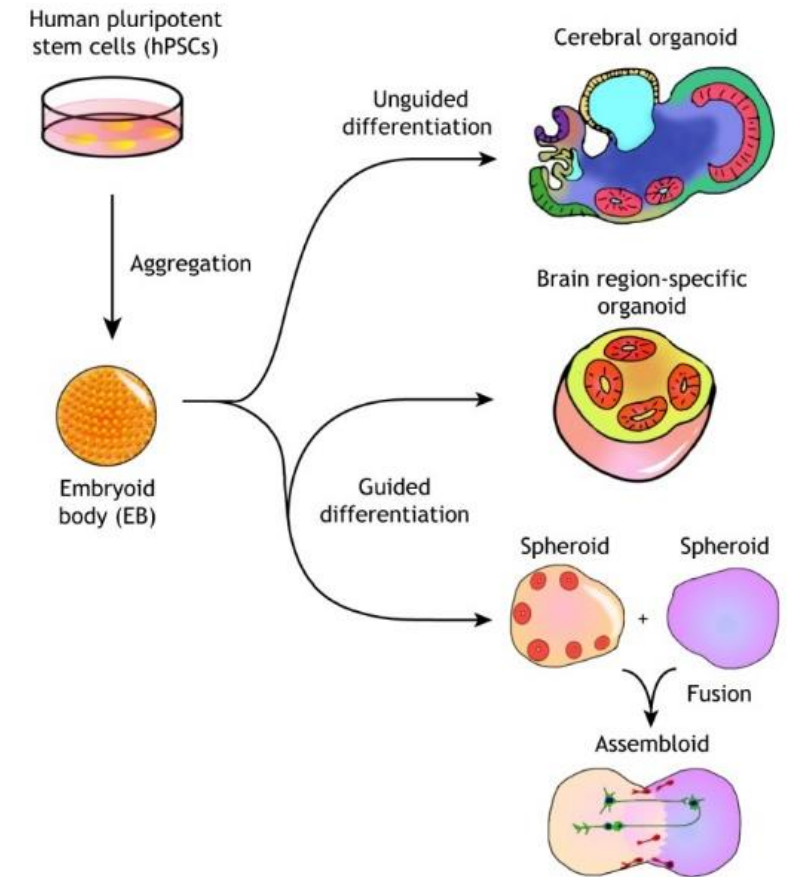
Způsoby přípravy organoidů

– příprava organoidů může probíhat dvěma způsoby a oba způsoby mohou být navíc kombinovány v závislosti na potřebách experimentu:

- **neřízená** (unguided) metoda přípravy – spontánní diferenciaci a morfogeneze SCs
- **řízená** (guided) metoda přípravy – indukce SCs do specifické buněčné linie pomocí suplementace růstových faktorů

Jaké jsou základní rozdíly v přípravě a jaké jsou výhody a nevýhody použitých způsobů přípravy?

Příklad: Metodika přípravy mozkových organoidů



Qian et al. 2019. *Development*

Neřízená (unguided) příprava organoidové kultury

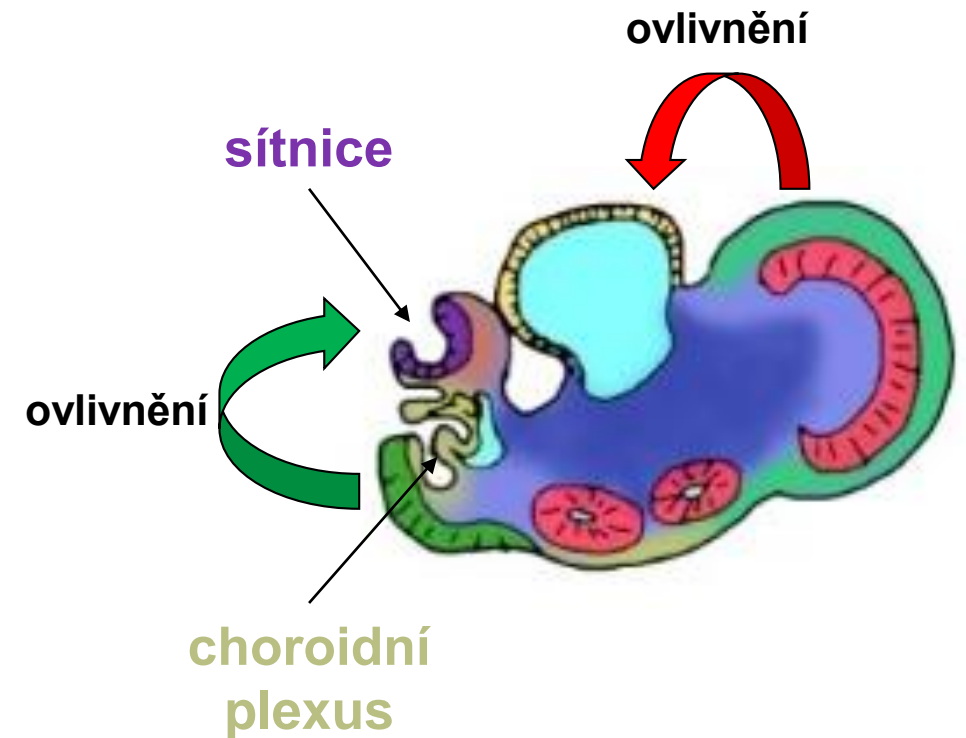
- založeno na schopnosti diferenciaci a spontánní morfogeneze PSCs
- organoidy rostou v ECM, sami se organizují do mozkových částí na základě vnitřní signalizace
- vznik heterogenní tkáně – přední, střední a zadní mozek, choroidní plexus, sítnice, ...
- spontánní diferenciaci způsobuje náhodnou variabilitu

Výhoda:

komplexní tkáň, navzájem se **ovlivňující** buněčné typy

Nevýhoda:

nepředvídatelný poměr jednotlivých buněčných typů, heterogenní uspořádání tkání



Qian et al. 2019. *Development*

Řízená (guided) příprava organoidové kultury

- diferenciace a morfogeneze PSCs ovlivněna přidáním specifických růstových faktorů v raných fázích (možnost odstranění později)
- heterogenita tkáně regulovaná, vznik specifického regionu s danou funkcí
- možnost spojení specifických organoidů do asembloidů

Výhoda:

imitace *in vivo* vývoje daného typu regionu

Nevýhoda:

narušení komplexity vývoje tkáně - zanedbání podstatných vlivů na vývoj



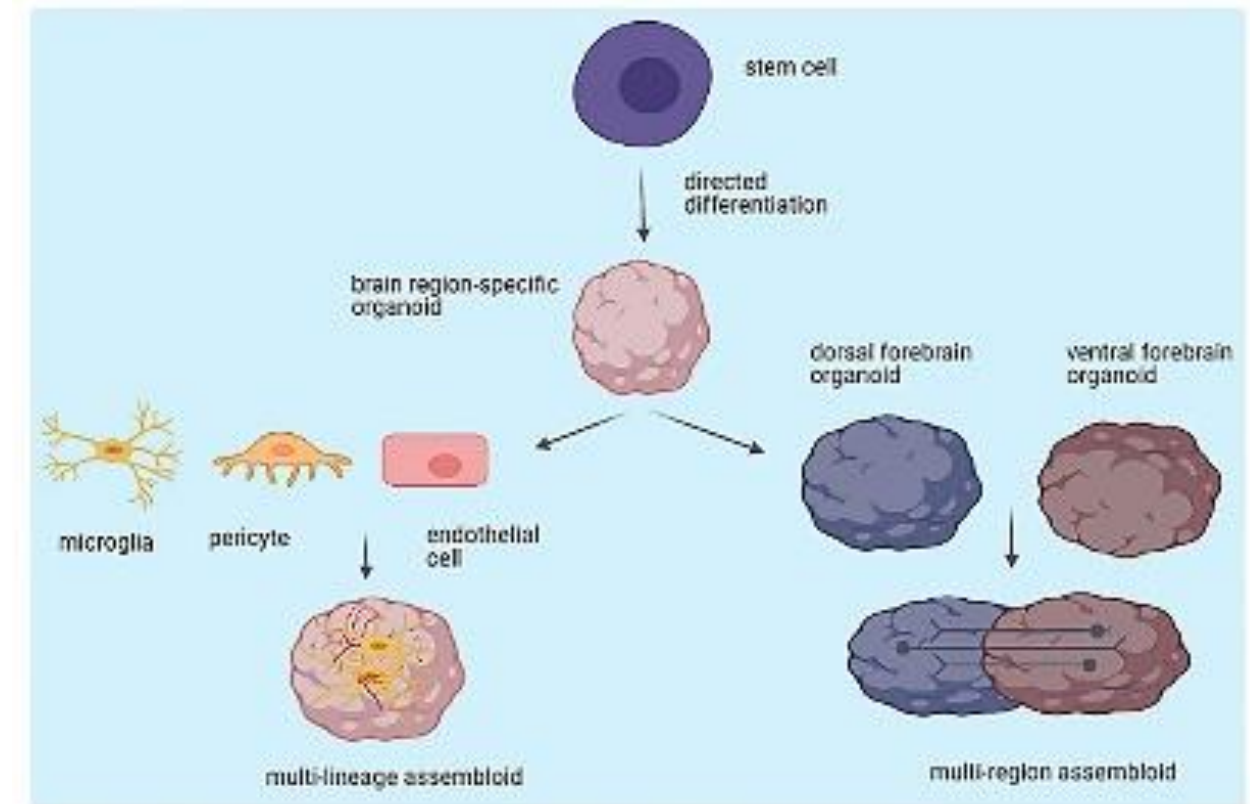
Qian et al. 2019. *Development*

Vznik asembloidů

- nová generace cerebrálních organoidů
- modelování interakcí mezi jednotlivými „částmi“ mozku

Příklad: spojení mozkových organoidů

- vytvoření regionově-specifických organoidů → sledování vzniku nervových okruhů propojením morfologicky a funkčně různých organoidů



Makrygianni and Chrousos.
2021. *Front Physiol*

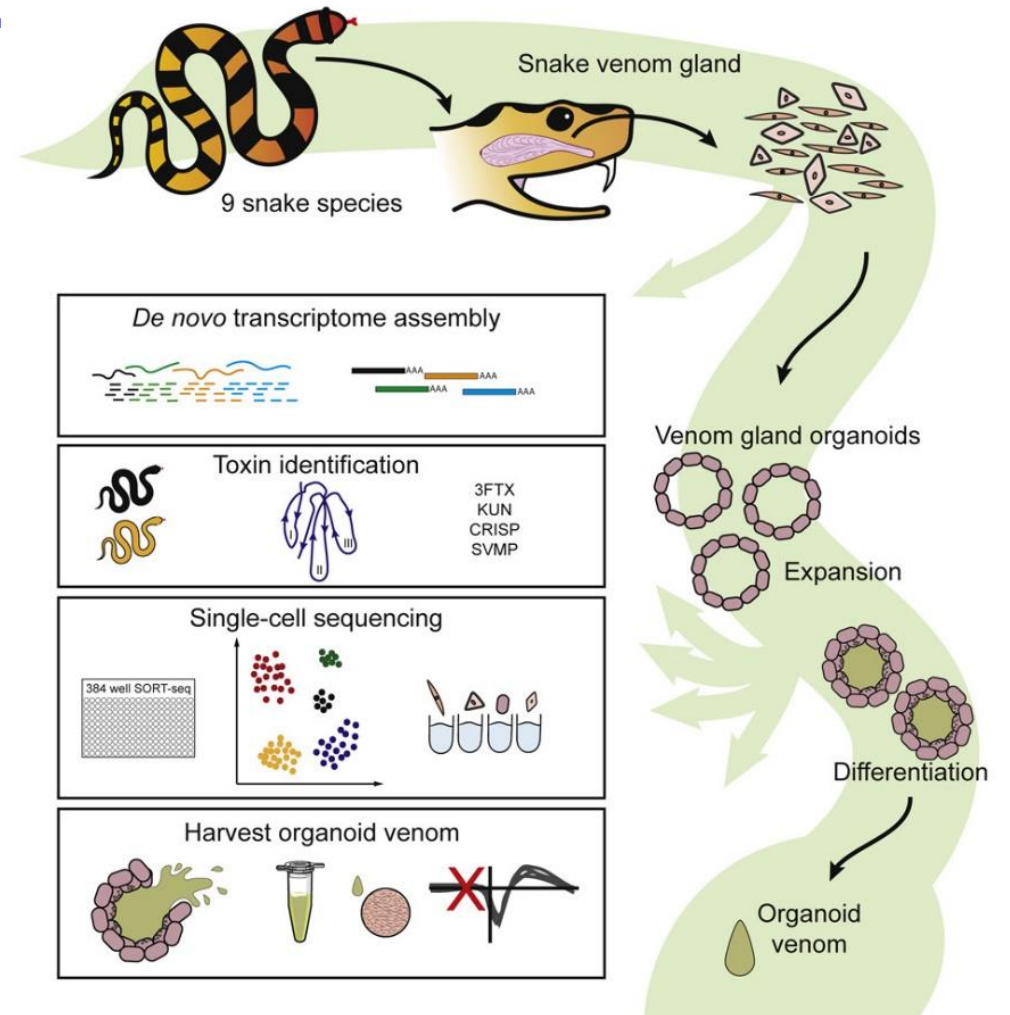
Zajímavosti ze světa 3D kultur

- vznik nejen klinicky zaměřených organoidů
- porozumění biologicky zajímavým pochodům
- využití ve veterinární oblasti (hospodářství)

- Organoidy z **jedových žláz hada** vytvářející jed
- Organoidy ze střev **hospodářských zvířat** – skot, prase, králík, kůň, ovce, slepice
- „**Xenoboti**“

Organoidy z hadích jedových žláz

- předchůdce organoidů – **krátkodobé kultivace** explantátů, suspenzní kultury, buněčné linie
- **dlouhodobá kultivace** – organoidy – sledování biologie jedové žlázy a složení jedu
- využitelné v tvorbě **antiséra**

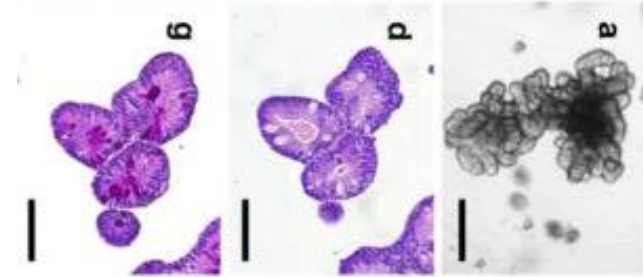


Post et al. 2020. *Cell*

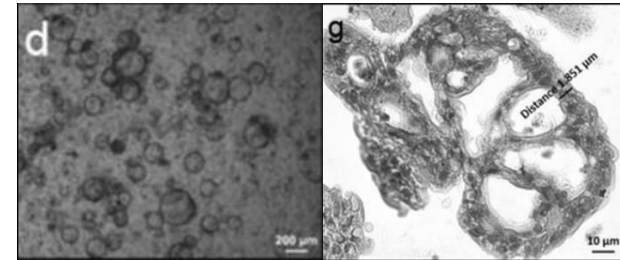
Organoidy ve veterinární oblasti

- derivace z tkáňových kmenových buněk dospělců
- **Prase** – studium vstřebávání živin a interakce s patogenními mikroby (střevo)
- **Kuře** – fyziologie střeva, interakce s mikroorganismy, absorpce léčiv
- **Pes** – vstřebávání léčiv ve střevě, keratinocytové organoidy (nemoci kůže), organoidy z nádorů prostaty a močového měchýře
- Kočky, koně, ovce,...

Prase



Kuře



Pes

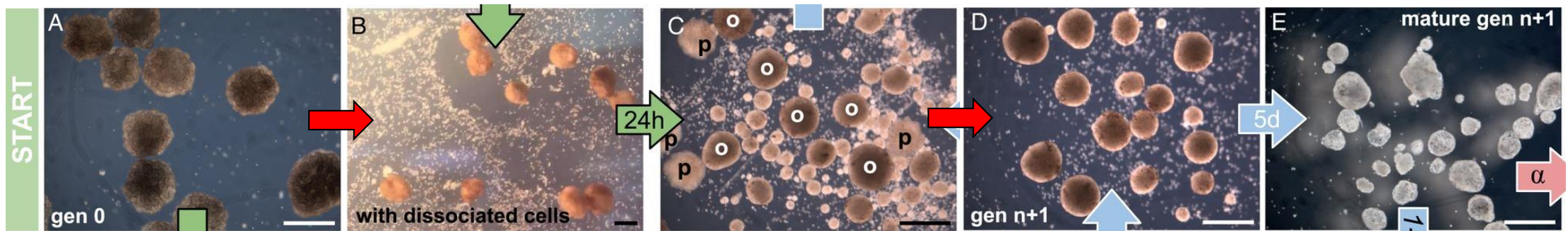


Kar et al. 2021. *Vet Res*

NOVINKA – konec roku 2021: Xenoboti

Xenoboti – samostatně se rozmnožující shluky buněk ze zárodku *Xenopus laevis* (Kriegmann et al. 2021. *PNAS*)

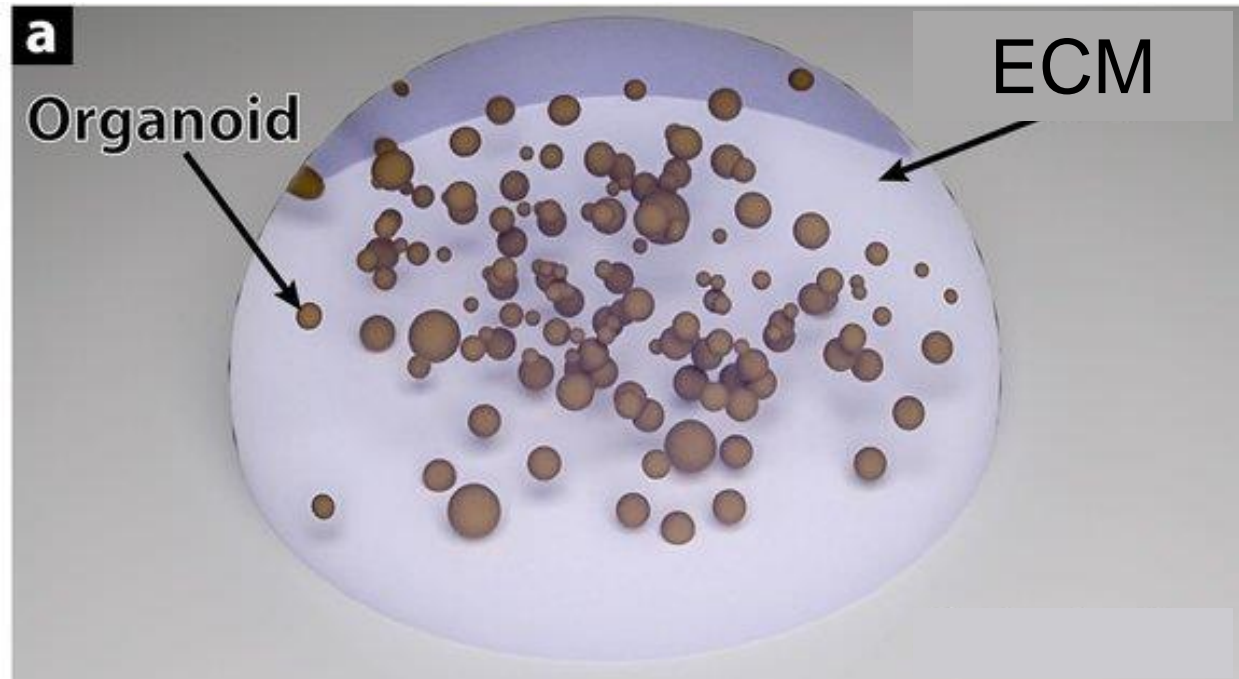
- uměle vytvořené shluky buněk původem ze zárodku žáby drápatky (pluripotentní buňky z animálního pólu embrya *Xenopus laevis*)
- schopnost samostatného rozmnožování - oproti ostatním mnohobuněčným organizmům nepotřebují k rozmnožování jiného jedince (vnitřní ani vnější povrch)
- podobné rozmnožování jako na subcelulární úrovni – nashromáždění extracelulárního materiálu a z toho vytvoření funkčních samostatně se rozmnožujících kopií



- **VIDEO:** <https://www.pnas.org/content/118/49/e2112672118>

Kultivační prostředí – extracelulární matrix (ECM)

- **organizace** – buňky potřebují vnější prostředí co nejvíce podobné přirozenému
- zaručení možnosti buňkám organizovat se a rozrůstat se do **trojrozměrného** útvaru
- použití tzv. **hydrogelů** (vysoce hydratované polymerní materiály)
- přírodní nebo syntetické



Kassis et al. 2019. *Sci Rep*

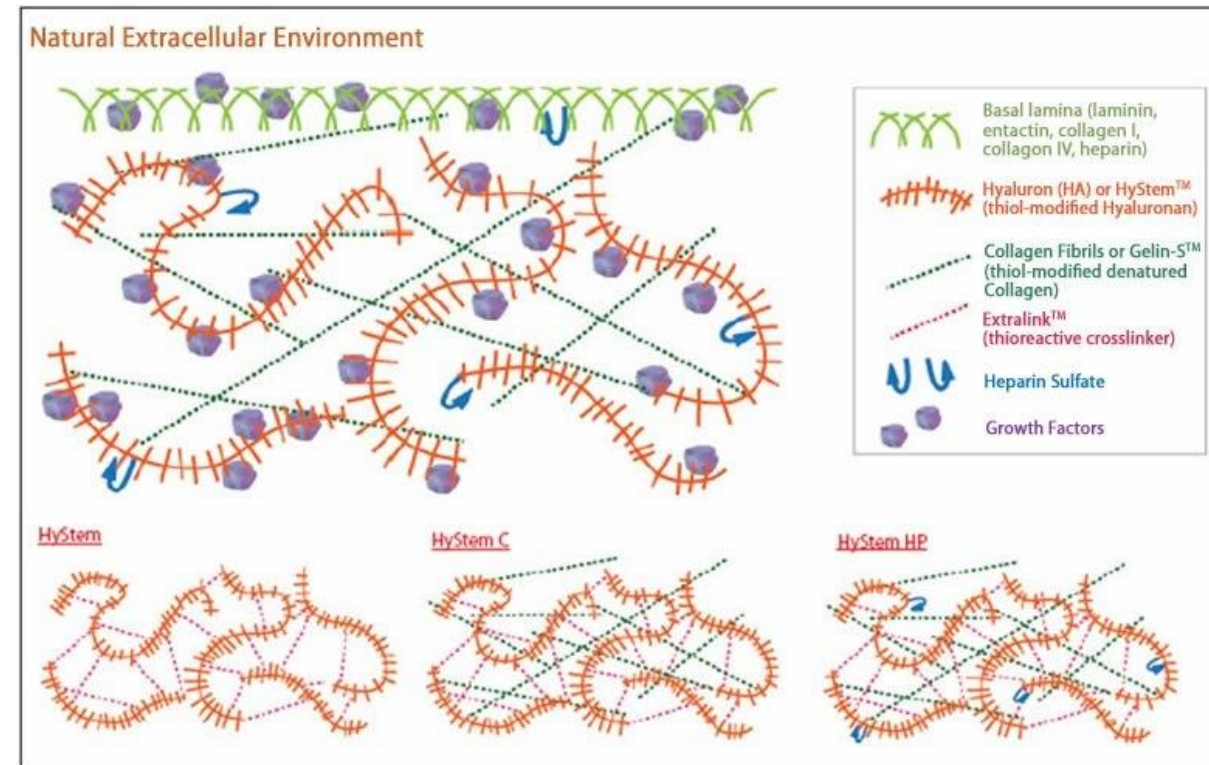
Matrigel, Geltrex, Cultrex BME

- Bazální membrána z myšního sarkomu (Engelbreth-Hold-Swarm matrix)
- Různé obchodní názvy pro jeden typ ECM
- Kolagen IV, laminin, heparan sulfát, entactin
- **Nevýhoda:** špatně definovatelné složení, velká variabilita rozdílů mezi šaržemi, xenogenní původ (limit pro klinické aplikace)



Alternativa – přírodní hydrogely

- **Matrigel** – více než 1800 různých proteinů
- Definovatelné a stálé složení
- **Alginát** - biopolymer z hnědé řasy, podobnost živočišné extracelulární matrix, biokompatibilní
- **Chitosan** – polysacharid, výroba z chitinu (schránky koryšů)
- **Kolagen** – např. izolovaný kolagen I. typu z prasečích šlach
- **Kyselina hyaluronová** – Hystem™ hydrogel



Merck/Sigma Aldrich

Decelularizované hydrogely

Decelularizovaná ECM určená k vytvoření gelu

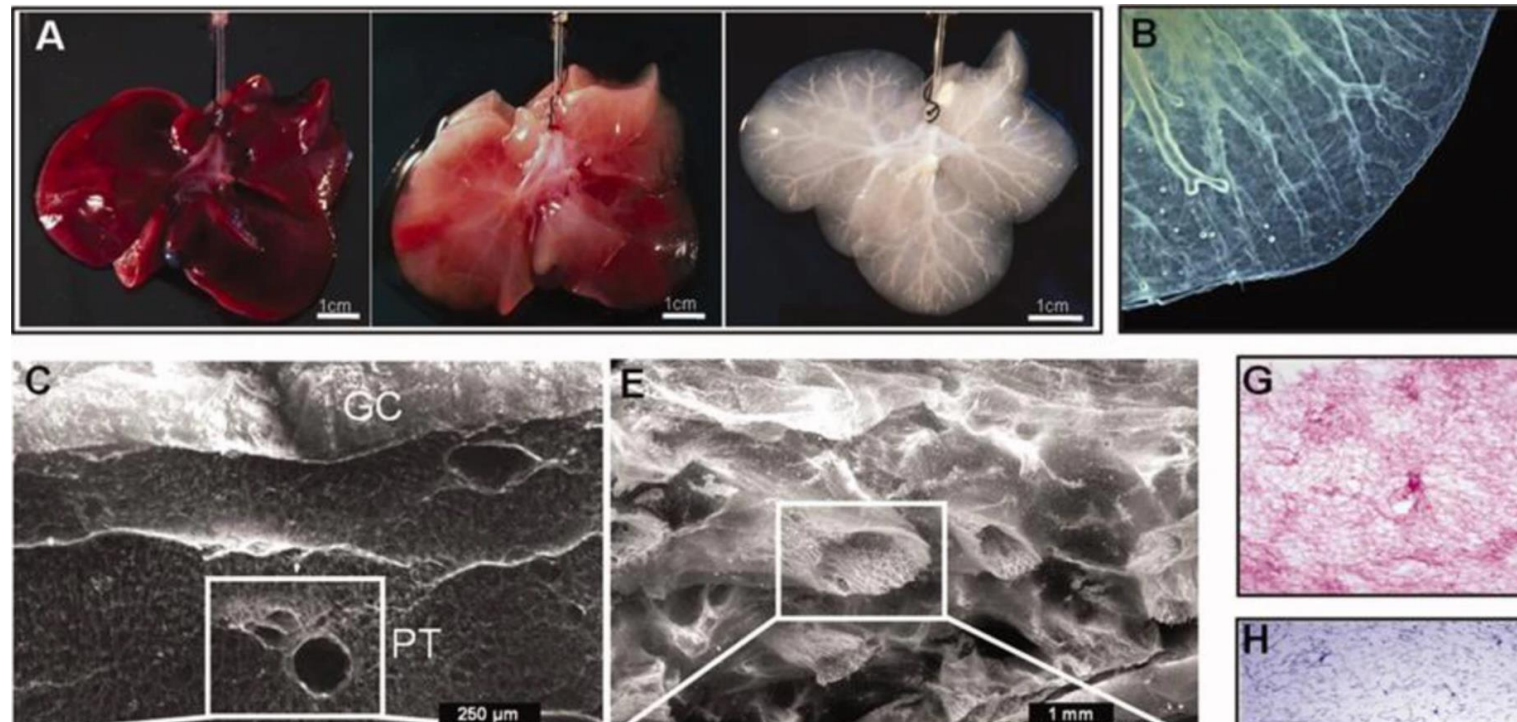
- nejvýznamnější matrice podobné tkáním pro 3D kultivace
- velice podobné přirozené extracelulární matrix
- jednosložkové a kompozitní (obohacený např. o růstové faktory, enzymy, syntetické polymery...) hydrogely
- Příprava např.: odběr tkáně – decelularizace - vysušení mrazem a rozemletí – ozáření a enzymatické rozložení - neutralizace
- schopnost vytvořit **gel**, zachování **struktury ECM**, schopnost **indukovat** tvorbu **organoidů**



Giobbe et al. 2019. *Nat Comm*

Decelularizovaná játra

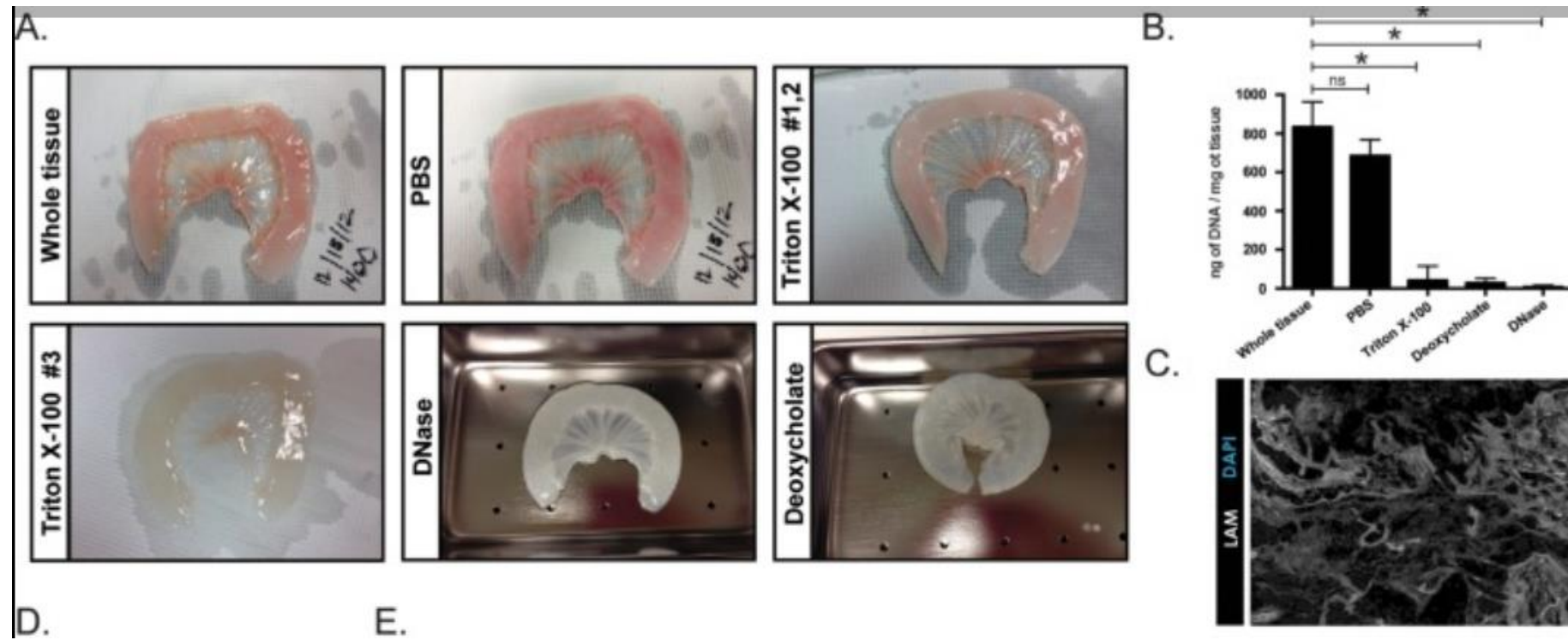
- odstranění jaterních **buněk** promytím – není narušena **struktura**
- výborné výsledky v kultivaci jaterních organoidů
- lepší výsledky než při použití kolagenových ECM



Baptista et al. 2011. *Hepatology*

Decelularizovaná střeva

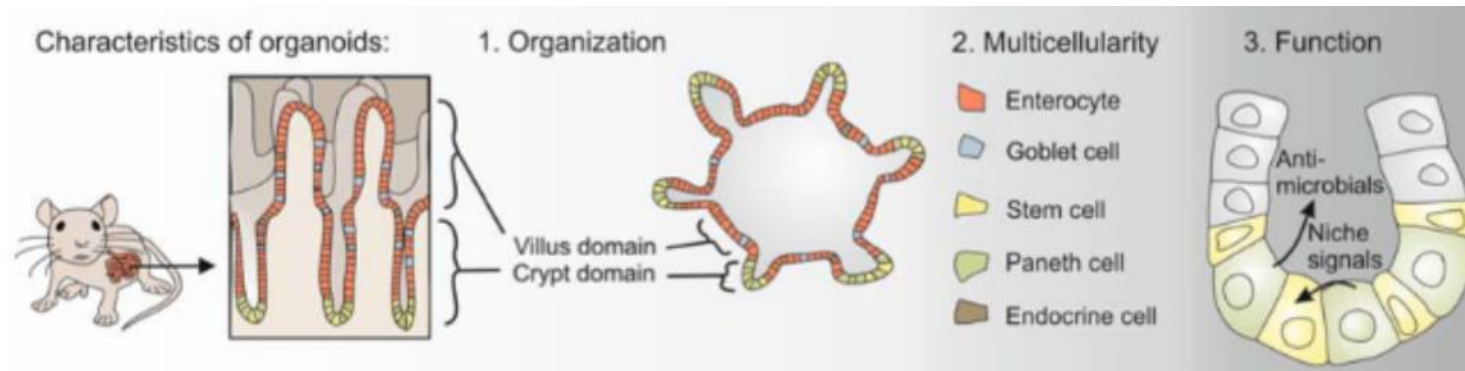
- odstranění všech buněčných **komponent** promytím – není narušena **struktura**
- zachování lamininu a kolagenu II. typu po decelularizaci
- nestimuluje tvorbu střevních organoidů z ESCs → částečně diferencované střevní organoidy naopak vytvářejí typickou střevní morfologii



Charakterizace organoidů

- charakterizace organoidové kultury v průběhu kultivace a po ukončení kultivace – sledování vlastností organoidů na makroskopické, mikroskopické a molekulární úrovni →

**určení specifické morfologie, exprese molekul a funkce pro danou tkáň
(podobnost s reálnou tkání)**

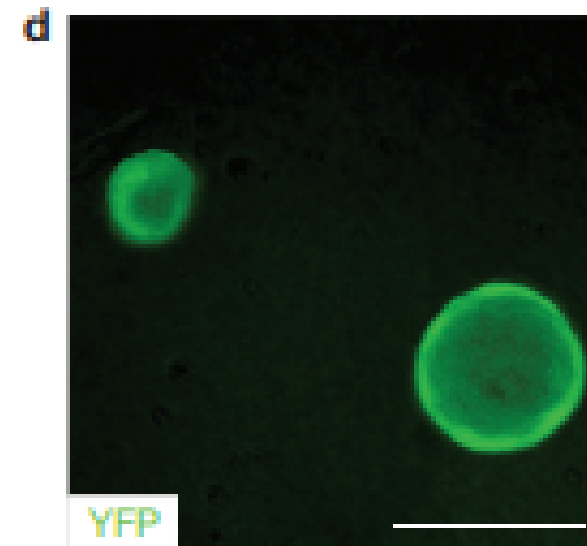
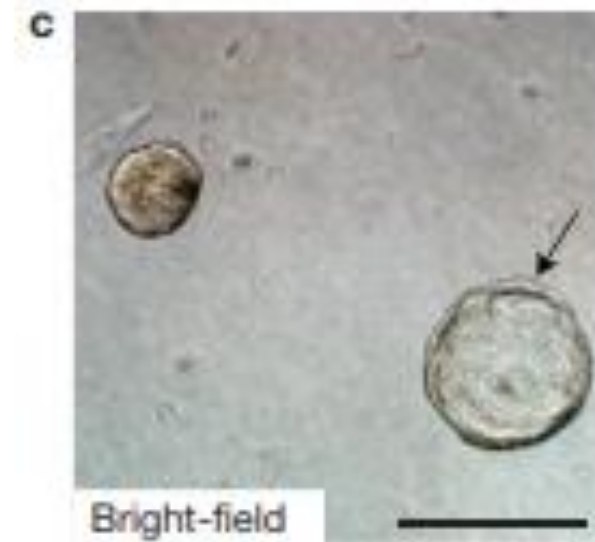


- **Mikroskopie** – bright field, skenovací a rastrovací elektronová mikroskopie
- **Histologické preparáty** – zpracování organoidů na histologické řezy
- **Imunohistochemie** – detekce proteinové exprese
- **RNA-Scope** – detekce genové exprese
- **RNA-sekvence** – Bulk RNA-seq, Single cell RNA-seq

Bartfeld and Clevers. 2017.
J Mol Med

Mikroskopie

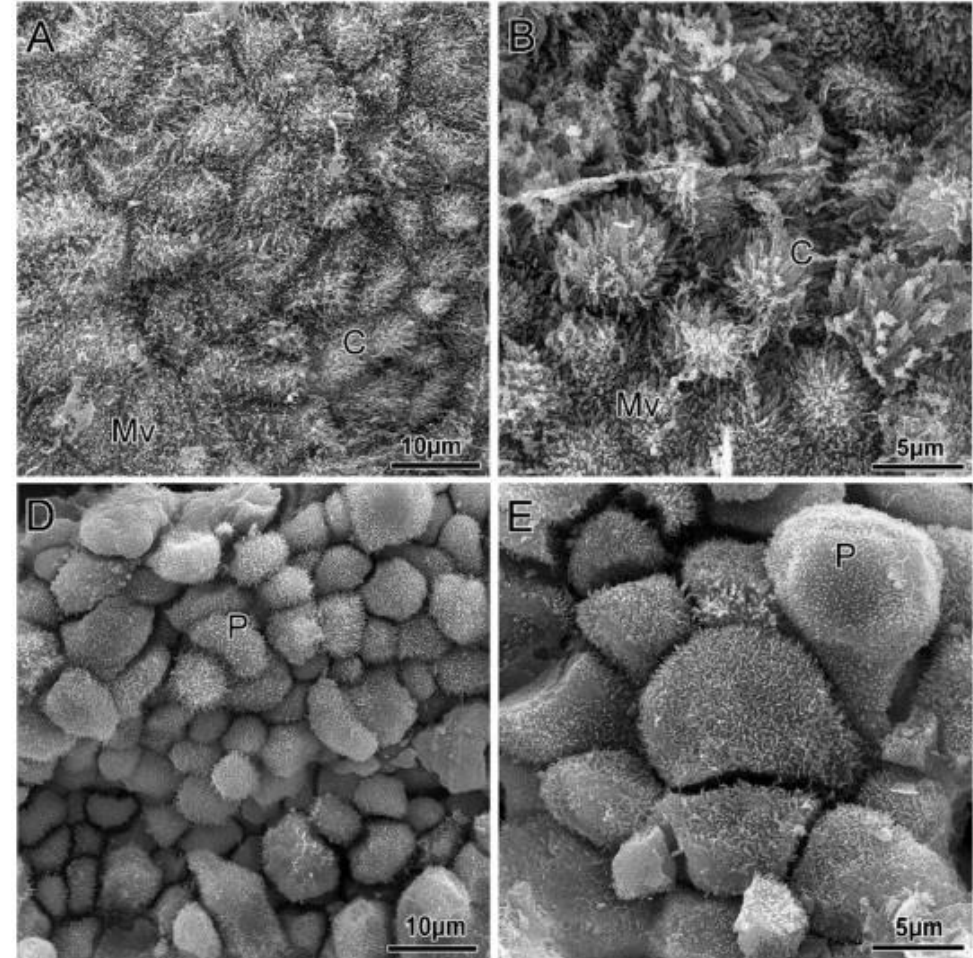
- **Bright-field** makroskopie/mikroskopie – jednoduché určení množství, velikosti, morfologie a rychlosti růstu organoidů
- kombinovatelná s **fluorescenční mikroskopií** – použití fluorescenčních konstruktů (rozlišení pozorovaných organoidů od ostatních)



Chua et al. 2019. *Nat Cell Biol*

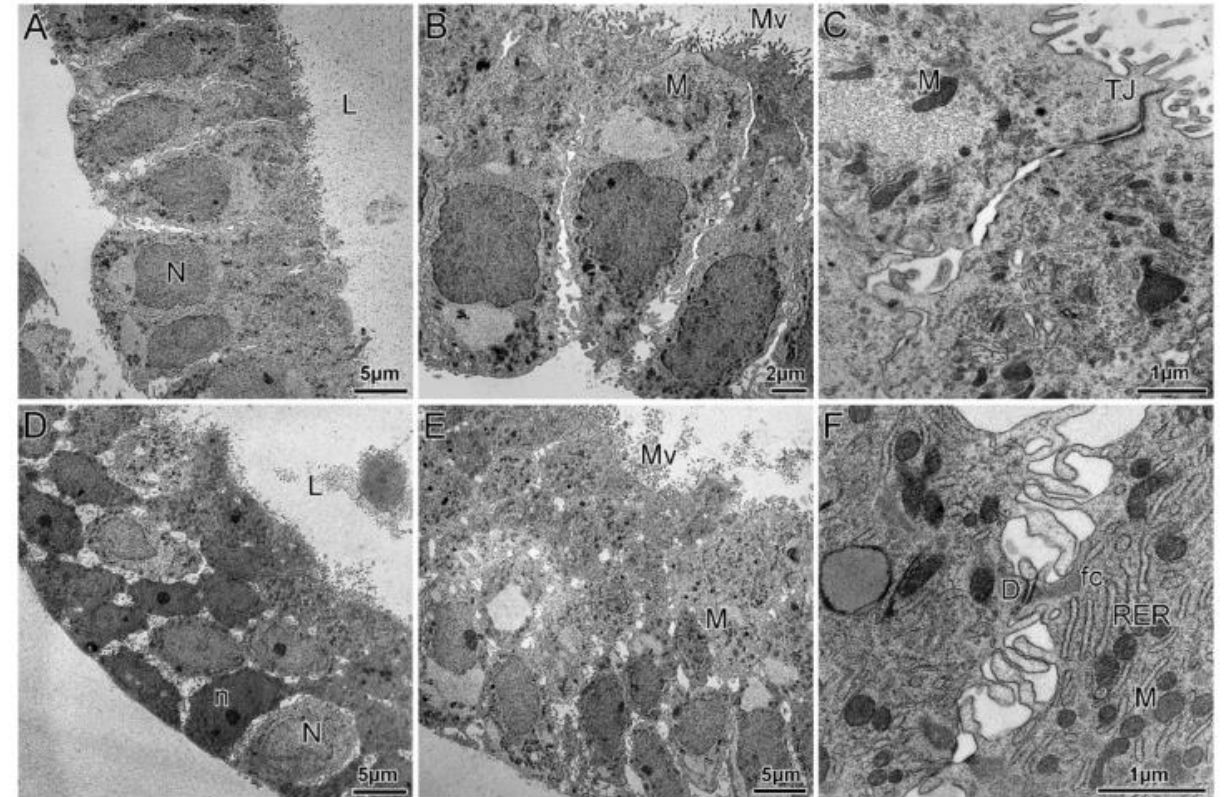
Skenovací elektronová mikroskopie

- charakterizace **povrchových** struktur organoidu
- interakce buněk na povrchu organoidu, struktury na povrchu
- lumen – struktury vytvořené v **dutině** organoidu – **řasinky**
- organoid endometria



Transmisní elektronová mikroskopie

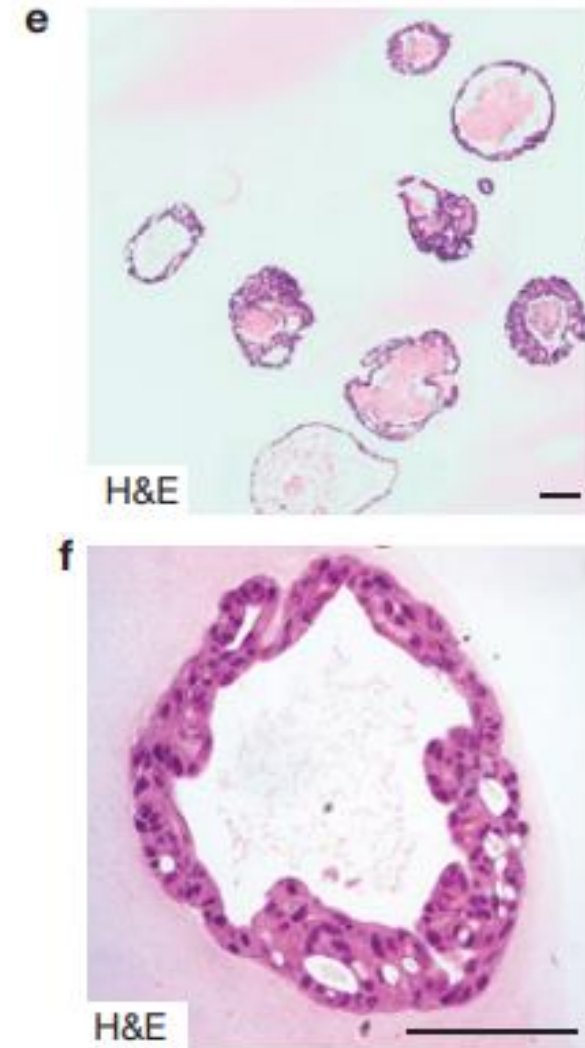
- charakterizace **ultrastruktury** organoidu
- kombinace ultratenkých řezů a velkého zvětšení
- sledování buněčných **organel** a buněčných **produktů** díky velkému zvětšení
- organoid endometria



Histologické řezy

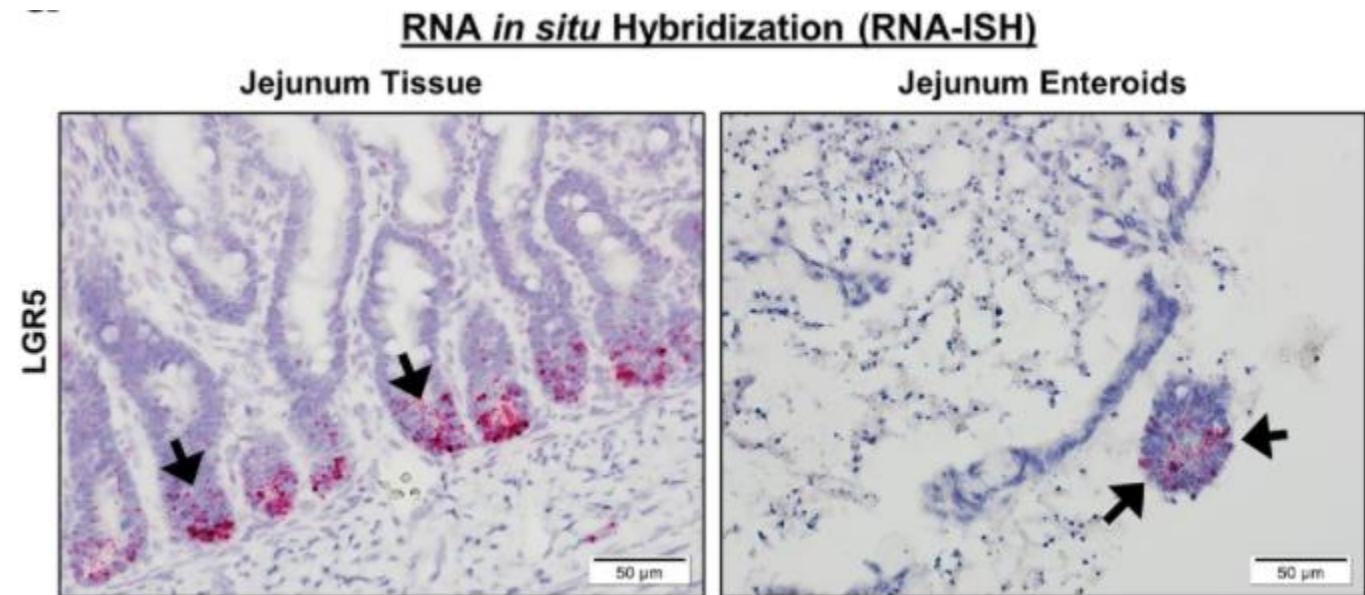
- Fixace
- Zalití do média
- Krájení histologických řezů
- Barvení (Haematoxylin-Eosin)

- sledování **mikroskopické** struktury organoidu –
charakterizace **základních** buněčných **typů**
- **porovnání** s mikroskopickou stavbou skutečného orgánu



Detekce genové exprese – *In situ* hybridizace (ISH)

- detekce genové exprese v organoidu střeva psa:
- detekce **genové** exprese LGR5 (červeně, intestinální kmenové buňky)
- **porovnání exprese** mezi tenkým střevem a střevním organoidem

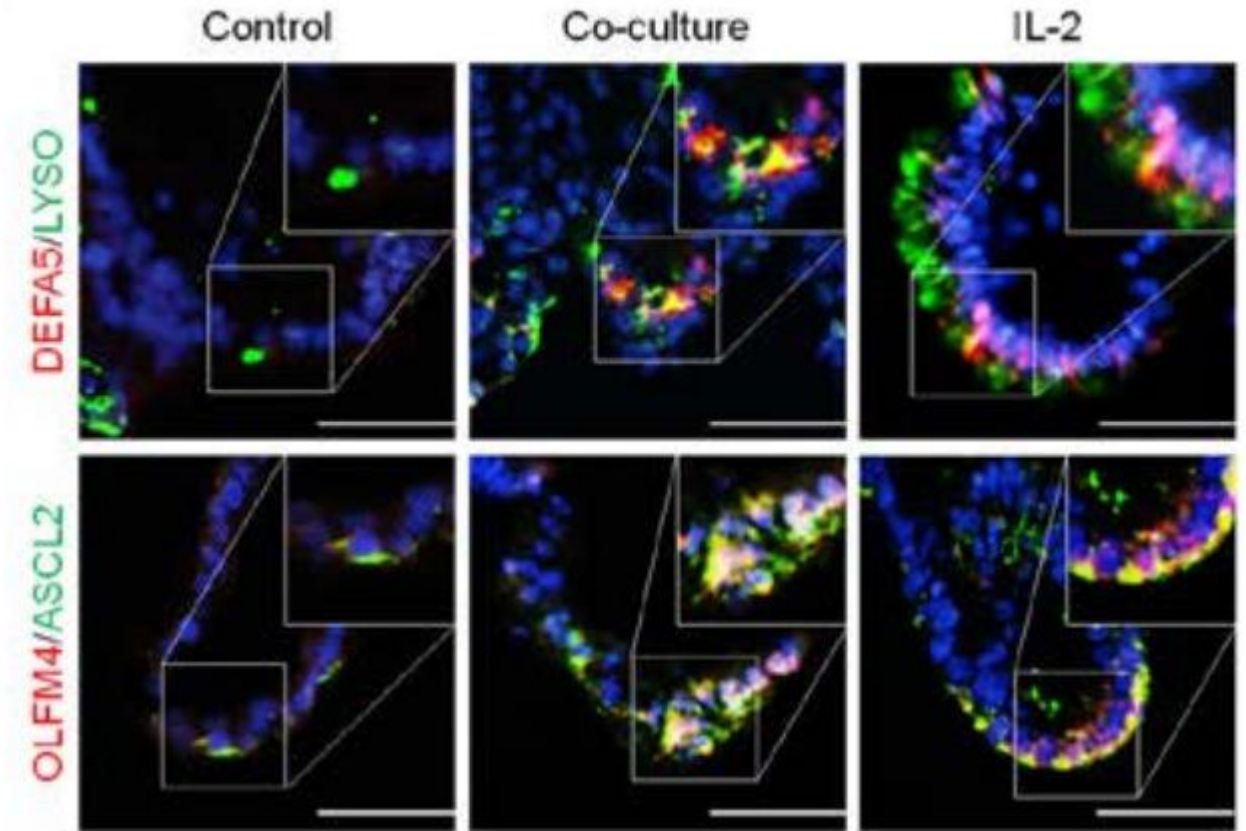


Chandra et al. 2019. *BMC Biol*

- Princip ISH: přednáška - Metody detekce nukleových kyselin - Hampl

Detekce genové exprese – RNAScope

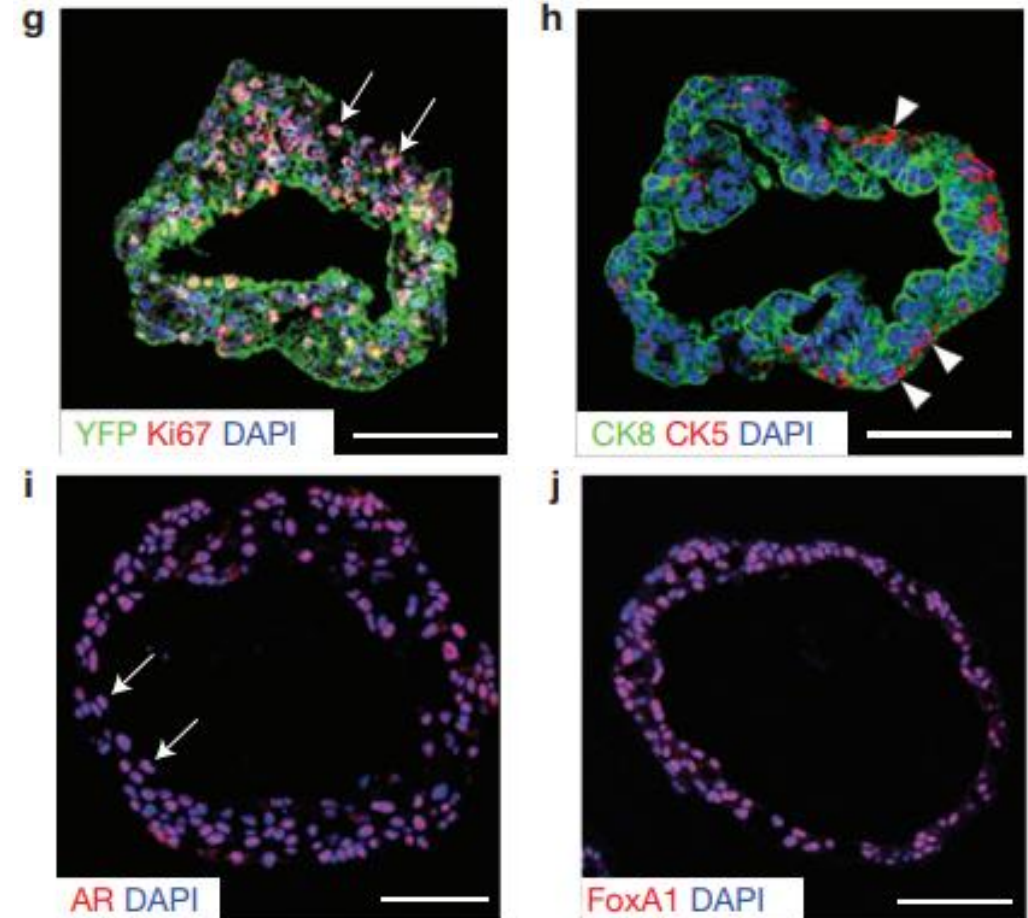
- detekce genové exprese v organoidu střeva:
- **RNAscope** (červeně, markery zralých intestinálních buněk)
- **Imunohistochemie** (protein, zeleně lysozym – Panethovy buňky, Ascl2 – intestinální kmenové buňky)
- Princip RNAscope: přednáška - Metody detekce nukleových kyselin – Hampl
- Princip IHC: přednáška – Metody detekce proteinů - Harnoš



Detekce proteinové exprese – imunohistochemie (IHC)

- detekce **proteinové** exprese v organoidu
- určení exprese **tkáňově specifických** proteinů (červeně) pomocí imunohistochemické metody a fluorescenční mikroskopie

- Princip IHC: přednáška - Metody detekce proteinové exprese - Harnoš



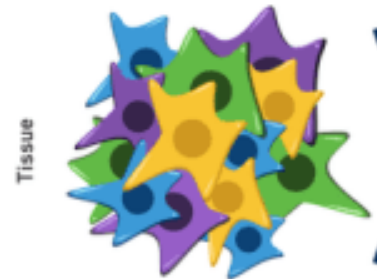
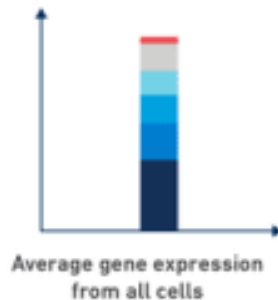
Chua et al. 2019. *Nat Cell Biol*

New generation sequencing (NGS)

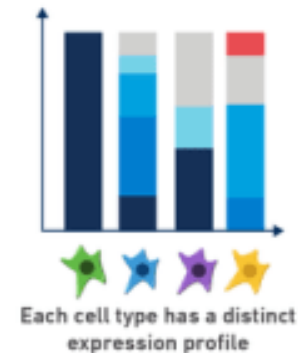
- Jak **efektivně** určit změny v sekvenci nukleových kyselin, určit expresi specifických RNA molekul a případně rozlišit jednotlivé buněčné typy v heterogenní populaci buněk?
- **tradičně** – ISH, IHC, průtoková cytometrie – **omezené množství** molekulárních markerů, neefektivní

Řešení?

Bulk RNA-seq - určení celkové genové exprese v heterogenní populaci buněk



Single-Cell RNA-seq – určení genové exprese individuálně v každé buňce



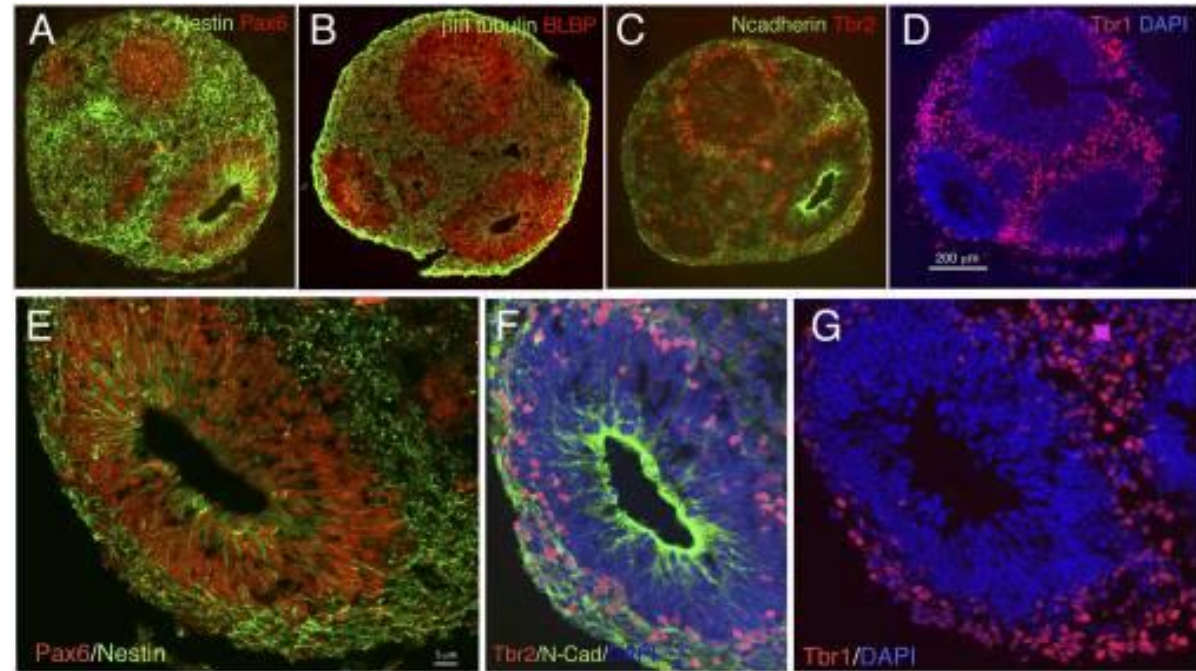
Princip NGS: přednáška - Metody detekce nukleových kyselin – HampI

Využití technologie organoidů

- **podobnost** orgánů s organoidy – využití organoidů jako nástroje v modelování a studování fyziologických funkcí a orgánových patologií
- **Bazální výzkum:**
 - Vývojová biologie – embryonální vývoj orgánů
 - Biologie tkání – homeostáza tkání a orgánů dospělců (obnova střevního epitelu)
- **Klinický výzkum:**
 - Regenerativní medicína
 - Modelování orgánových patologií
 - Vývoj léků a personalizovaná léčba
- **Organoidové assaye**
 - Centrum organoidových technologií Hubrecht

Využití organoidů ve vývojové biologii

- embryonální vývoj mozku
- vytvoření mozkového organoidu telencefala z lidských **iPSCs**
- obsahuje **radiální glie** (progenitorové buňky CNS) a **specifické** typy **neuronů**
- exprese **genů** typických pro **telencefalon**, geny typické pro **jiné** oblasti **nejsou** exprimovány
- studium **vývoje** lidského mozku a **vývojových vad** mozkové kůry



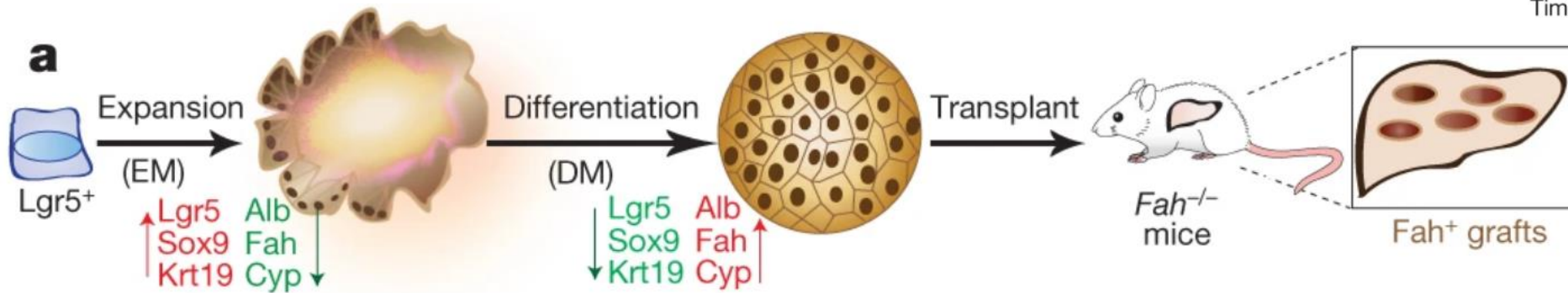
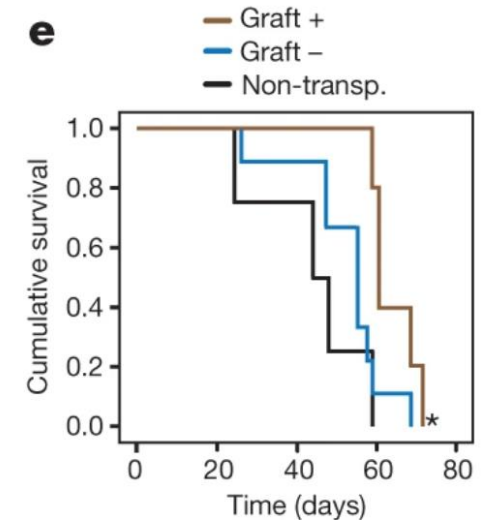
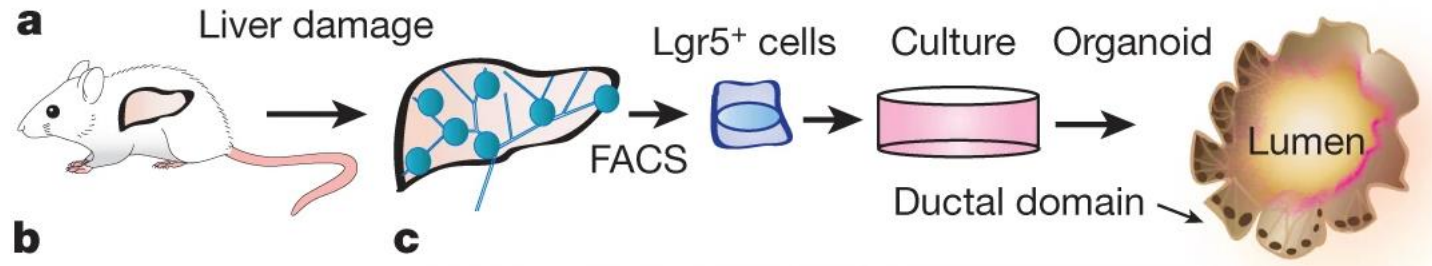
Mariani et al. 2012. *PNAS*

Využití organoidů v regenerativní medicíně

- Regenerativní potenciál organoidů?
- Cesta k využití:
 1. Transplantace organoidu do modelového organismu daného onemocnění
 2. Úspěch transplantace – vyléčení nebo prodloužení doby života organismu
 3. Potvrzení funkčnosti organoidu
 4. Možné použití organoidu v regenerativní medicíně jako produktu tkáňového inženýrství, tzv. **tkáňové grafty** (štěpy, transplantáty)

Current Challenges Associated with the Use of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Organoids in Regenerative Medicine. Lee and Son. 2021. Int J Stem Cells

Využití organoidů v regenerativní medicíně - játra

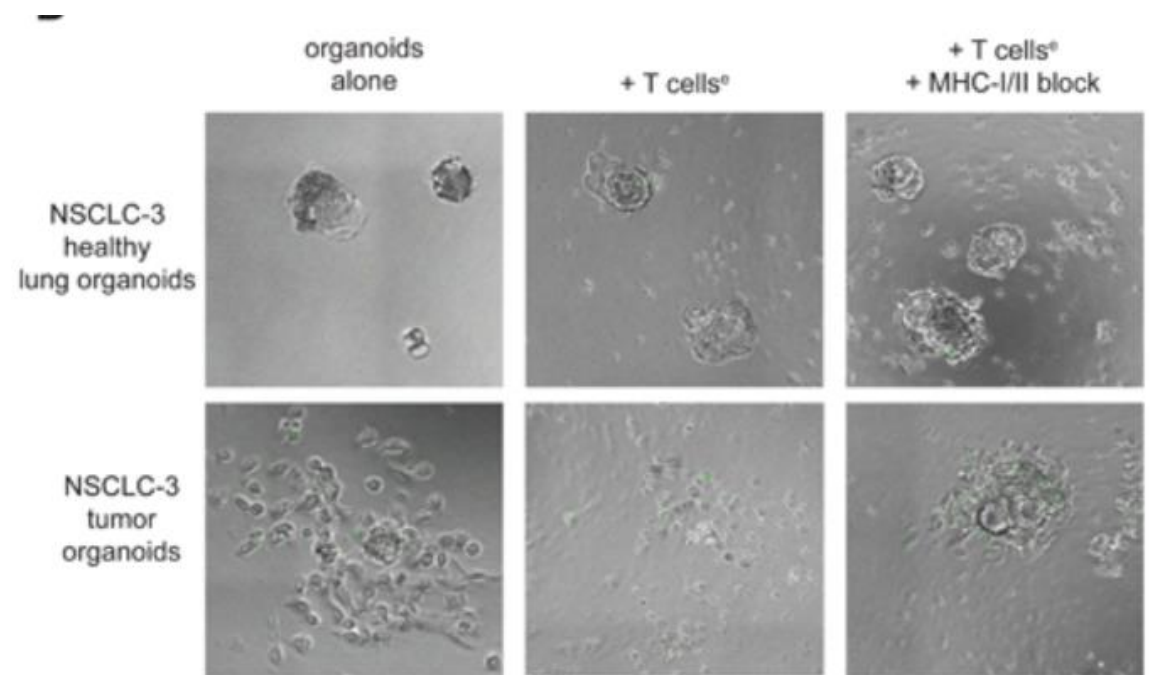


In vitro expansion of single Lgr5⁺ liver stem cells induced by Wnt-driven regeneration. Huch et al. 2013. *Nature*

Využití organoidů pro modelování orgánových patologií

- možnost modelování **vývojových** patologií i patologií **dospělců**
- vytvoření patologických buněk genetickými **technikami** nebo **izolace** přímo z **pacienta**

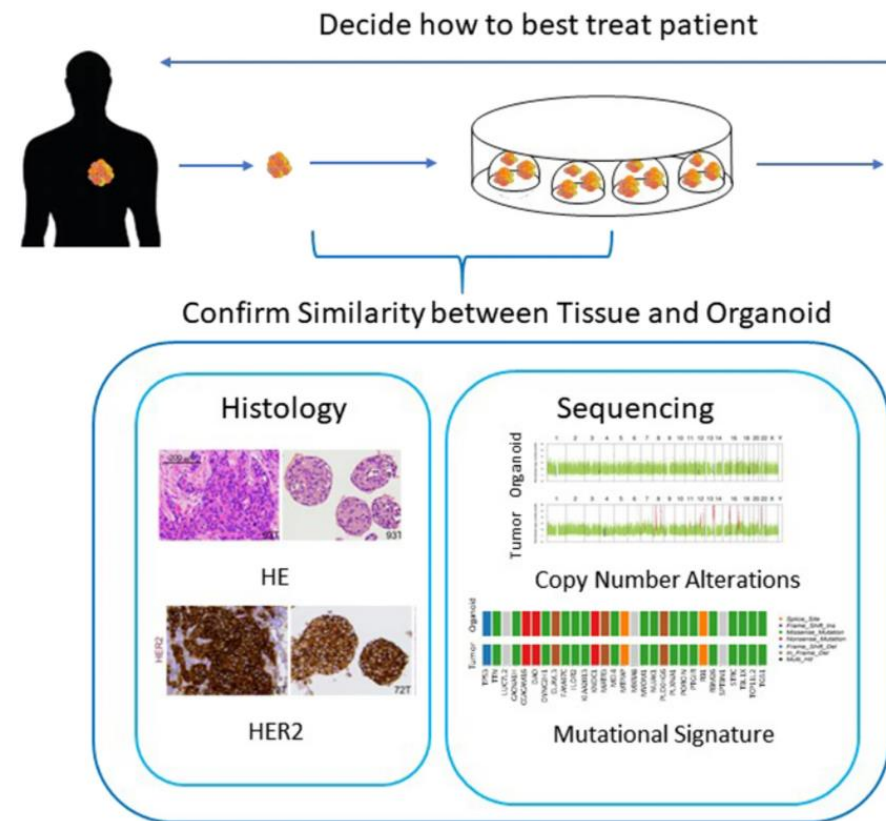
- **kokultivace** nádorových organoidů s periferní krví – stimulace tvorby **T buněk**
- **ničení** nádorových (plicních) **organoidů** **autologními** tumor-reaktivními **T buňkami**



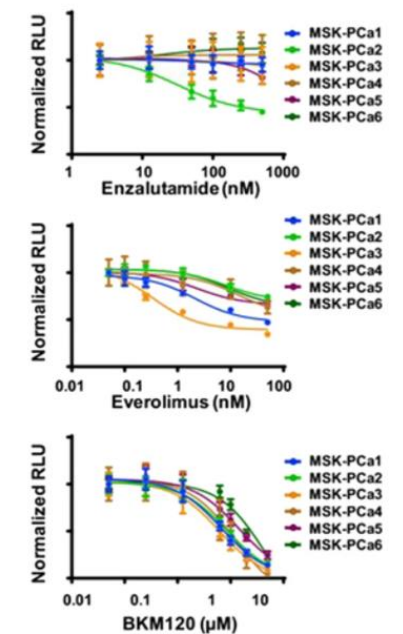
Dijkstra et al. 2018. *Cell*

Využití organoidů pro vývoj a testování léčiv a v personalizované léčbě

- vytvoření organoidů pro vývoj a testování léčiv a léčebných postupů – chemoterapie, radioterapie, imunoterapie
- možnost vytvoření tzv. **patient-derived** organoids → personalizovaná léčba
- upravení léčby pro pacienty tzv. **na tělo** díky předchozímu testování léčiv na organoidech **derivovaných z buněk pacienta**
- možnost **uchování** ostatních organoidů pro případné další testování



Perform Drug Screen



Liu et al. 2021. *J Trans Med*

Hubrecht Organoid Technology (HUB)

- Hubrecht Institute, Utrecht, Holandsko - místo vzniku prvního organoidu – Sato, Clevers
- patent na tvorbu organoidů z lidských tkáňově specifických buněk (ASCs)
- tvorba epiteliálních tkání



Výhody a nevýhody využití organoidů

– Výhody:

- 3D oproti 2D buněčným kulturám
- Dlouhotrvající kultivace
- Nahrazení zvířecích modelů
- Velmi podobné reálným tkáním
- Možnost vytvořit téměř jakoukoliv tkáň
- Heterogenita – efekt léčiva na heterogenní populaci buněk
- Klonalita – tvořen z jedné buňky

– Nevýhody:

- Často nedostatečně prozkoumány a ověřeny charakteristiky
- Efekt hydrogelů z bazální membrány na chování buněk (přirozená diferenciacce nebo náhodné přeprogramování?)
- nevhodnost pro studium nádorů (organoidy potřebují přichycení k podkladu, nádory ne)
- nádory *in vivo* jsou plné struktury, nádorové buňky vytváří duté organoidy (morfologie není stejná)
- nutnost čisté kultury – často jsou nádorové organoidy kontaminovány zdravými buňkami
- Heterogenita – objasnění mechanismu působení léčiva v heterogenní oblasti
- Klonalita – musí být vytvořen z jedné buňky, při vysévání větší hustoty buněk problém
- Reproducibilita – heterogenita se liší mezi organoidy, těžko lze opakovat experimenty
- Mutace – nutnost určit kolik procent buněk nese mutaci (výsledný efekt účinku léčiva na které buňky)

MUNI SCI

ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BIOLOGIE

ODDĚLENÍ FYZIOLOGIE A IMUNOLOGIE
ŽIVOČICHŮ (OFIŽ)



STUDIJNÍ PROGRAM:

EXPERIMENTÁLNÍ A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

SPECIALIZACE:

EXPERIMENTÁLNÍ BIOLOGIE ŽIVOČICHŮ
A IMUNOLOGIE & BUNĚČNÁ BIOLOGIE