

Doc. MUDr. Martin Vokurka, CSc.
koordinátor



1. lékařská fakulta UK

PRVOUK 24

MOLEKULOVÁ, BUNĚČNÁ A PATO FYZIOLOGICKÁ PODSTATA NEMOCÍ

20. ČERVNA 2016

- 1) Základní charakteristika projektu
- 2) Výzkumné okruhy a nejdůležitější výsledky
- 3) Shrnutí projektu a výhled do budoucnosti

ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA PROJEKTU

Rada projektu

koordinátor:

[doc. MUDr. Martin Vokurka, CSc.](#) (od 28.3.2013)

[Prof. MUDr. Viktor Kožich, CSc.](#) (do 27.3.2013)

člen rady:

[doc. Ing. Karel Holada, Ph.D.](#)

člen rady:

[prof. MUDr. Michal Holub, Ph.D.](#)

člen rady:

[doc. Ing. Stanislav Kmoch, CSc.](#)

člen rady:

[prof. MUDr. Pavel Martásek, DrSc.](#)

člen rady:

[doc. PhDr. MUDr. Jan Payne, Ph.D.](#)

člen rady:

[prof. MUDr. Tomáš Stopka, Ph.D.](#)

člen rady:

[MUDr. Ivan Šebesta, CSc.](#)

člen rady:

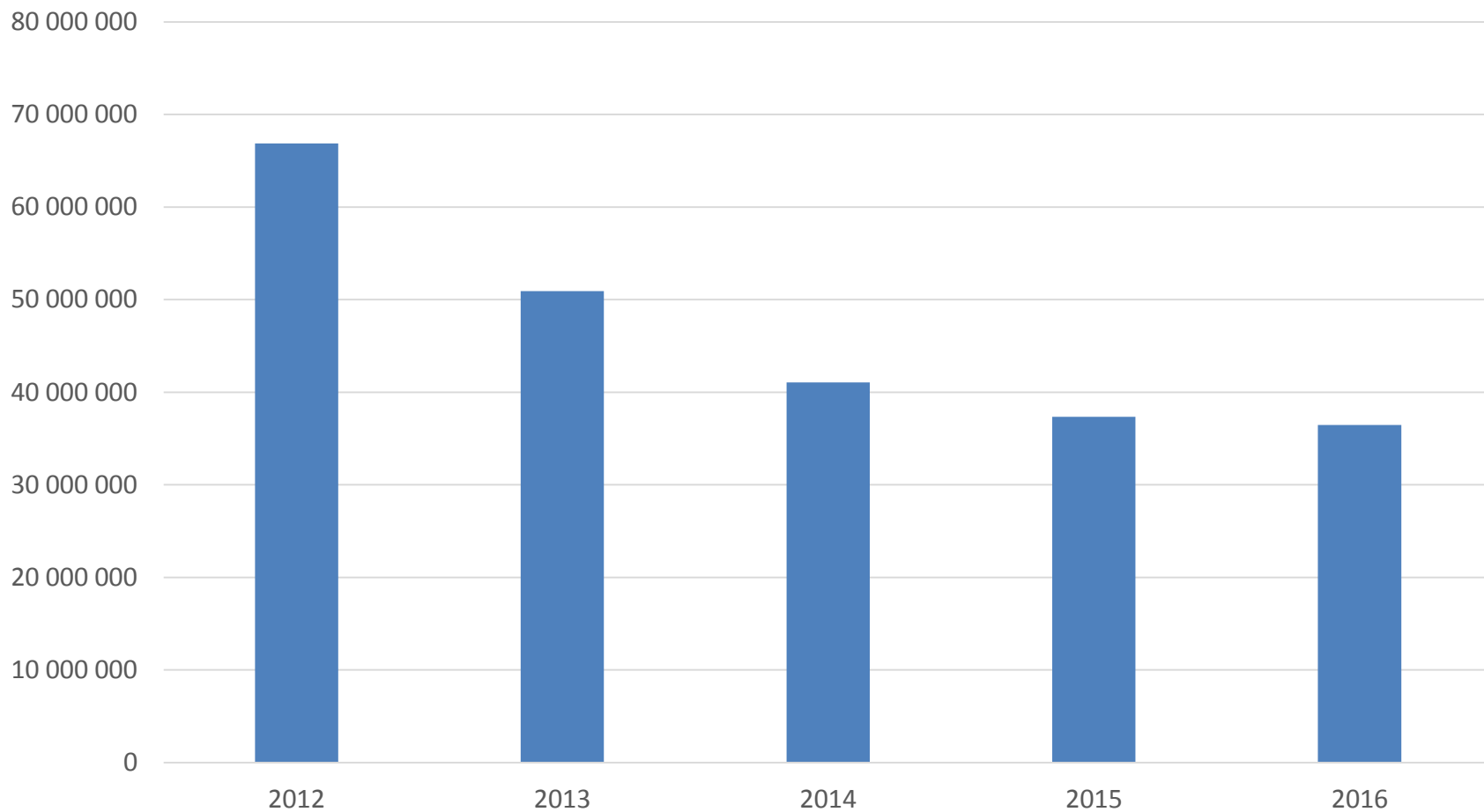
[prof. MUDr. Jiří Zeman, DrSc.](#)

Pracoviště

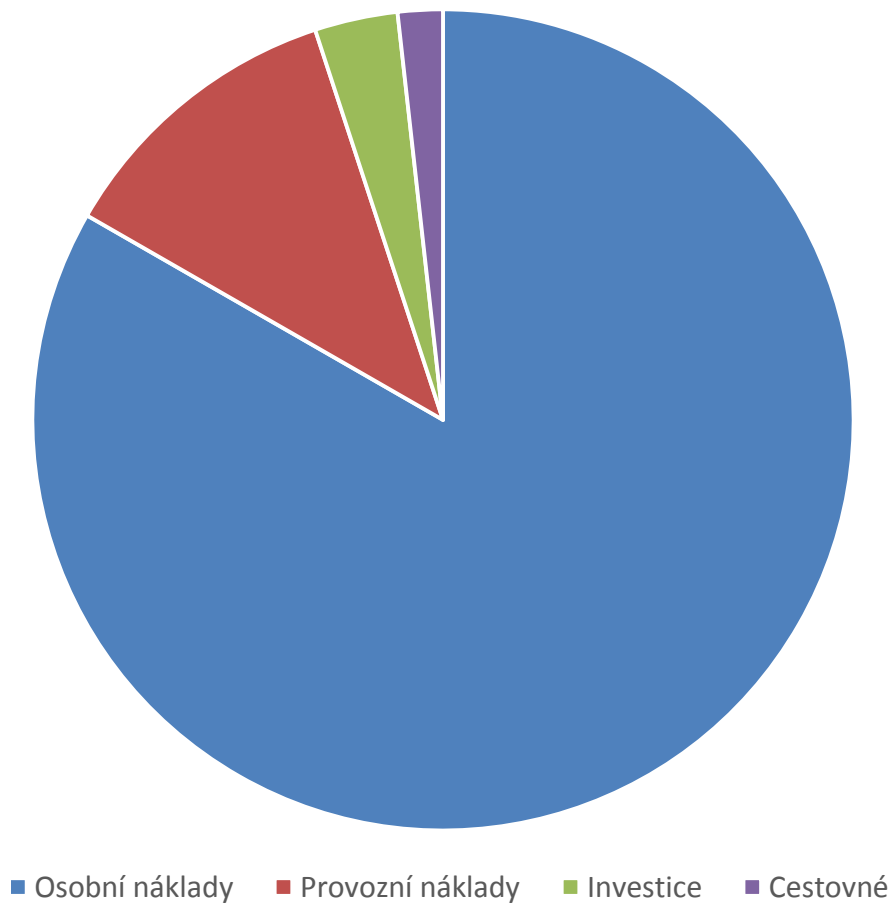
- Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN (ÚDMP)
- Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN (KDDL)
- Ústav patologické fyziologie 1. LF UK (ÚPF)
- Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN (ÚIM)
- Klinika infekčních nemocí 1. LF UK a ÚVN (KIN)
- Ústav humanitních studií 1. LF UK (ÚHS)

Přehled prostředků

Celkem 232 607 570,- Kč



Struktura výdajů 2012-15



Personální obsazení

- V projektu P24 se účastní 157 akademických pracovníků, obv. s částí úvazku

- Postgraduální studenti

Obhájeno 33 disertačních prací

Celkový přehled výsledků

- Originální vědecké práce v časopisech s IF

Počet článků s IF celkem: 336

Souhrnný IF: 1227,53

- Recenzované časopisy bez IF: 46

- Patenty: 2 + podána přihláška
- Užité vzory: 1
- Monografie: 1
- Kapitoly v knize
Česky: 12
Anglicky: 8
- Software: 2

Networking a zapojení do (mezi)národních výzkumných aktivit

- Organizace konferencí:

Homocystinurias and Defects of Folate and Methylation
Metabolism, Feb 29 - Mar 2, 2016

Genes, Genetics & Genomics

Proteomický den

Symposium o močové kyselině

- Zvané mezinárodní přednášky: 30
- Ediční rady časopisů
- Výbory mezinárodních společností
- Rozsáhlá národní a mezinárodní spolupráce

Cíle programu

- Prohloubit existující spolupráci pracovišť a navázat tak na společné řešení Výzkumného záměru
- Získat nové poznatky o molekulových příčinách a mechanismech u lidských onemocnění
- Studovat endogenní i exogenní příčiny onemocnění
- Objasňovat (pato)fyziologické a vývojové a adaptační mechanismy
- Studovat etické aspekty některých postupů a dilemata genetiky a genomiky

Metodické přístupy k řešení programu

- Pokročilé metody molekulární biologie vč. NGS, strukturální i funkční analýzy mutovaných genů
- Modelové systémy – bakterie, bezobratlí, myši, tkáňové kultury...
- Genomické, proteomické, metabolomické analýzy
- Přístupy translační medicíny

VÝZKUMNÉ OKRUHY A HLAVNÍ VÝSLEDKY

Hlavní výzkumné oblasti

1. Dědičně podmíněné nemoci – identifikace genetických příčin a studium mechanismů
2. Vývojové, epigenetické a adaptační mechanismy
3. Interakce mikroorganismů a hostitele
4. Etické aspekty molekulové medicíny

Hlavní výzkumné oblasti

1. Dědičně podmíněné nemoci – identifikace genetických příčin a studium mechanismů
2. Vývojové, epigenetické a adaptační mechanismy
3. Interakce mikroorganismů a hostitele
4. Etické aspekty molekulové medicíny

Hlavní řešené oblasti

- 1) Objasňování genetických příčin vzácných onemocnění
- 2) Studium patofyziologie a fenotypových projevů vzácných genetických poruch, s důrazem na lysosomální poruchy, poruchy metabolismu purinů a poruchy metabolismu sirných aminokyselin a souvisejících vitaminů skupiny B

V letech 2012-2016 celkem 164 publikací v impaktovaných časopisech (souhrnný IF 647,206), 16 publikací v recenzovaných časopisech nebo kapitol v monografiích



Stanislav Knoch



Viktor Stránecký

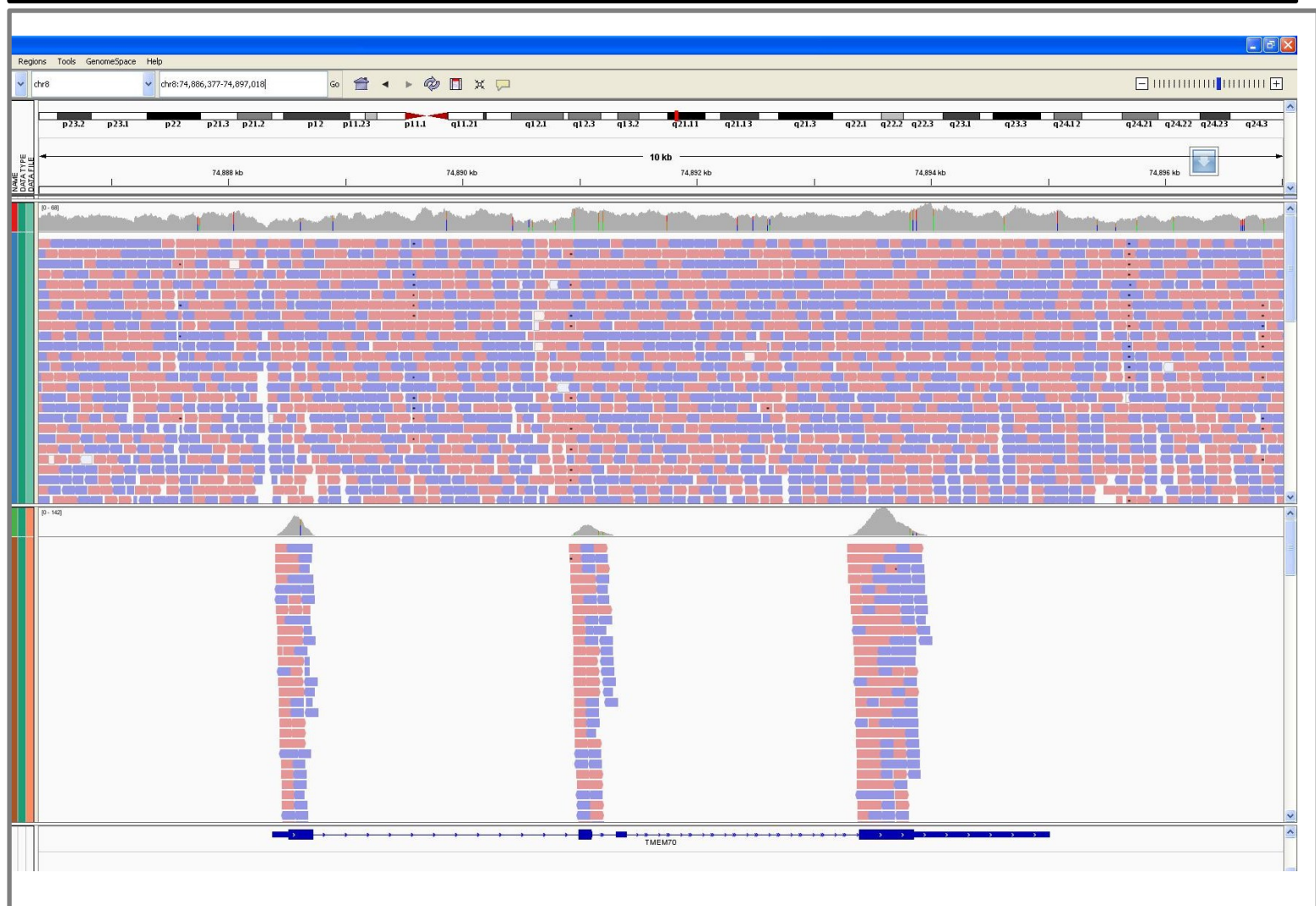


Hana Hartmannová



Kateřina Hodaňová

2010 - 2016, ÚDMP, genomové sekvenování



2010-2016, ÚDMP, genomové sekvenování

- › 50 vzácných geneticky podmíněných nemocí
- 23 případů úspěšně vyřešeno, 11 “nových” genů
- úspěšnost v určení genetické příčiny se zvýšila ze 2% na 45 %
- nové poznatky o funkci genů a genových produktů, nové patofyziologické mechanismy
- role *de novo* mutací
- › 800 exomů, › 1200 panelů, › 30 genomů
- genetická variabilita populace ČR
- funkčně závažné mutace u zdravých jedinců

Pokrývá výzkum dědičných chorob různých orgánů:

CNS

ledviny

oko

kardiovaskulární aparát

geneticky podmíněné nádory

dosud geneticky neobjasněné nemoci

Hereditary truncating mutations of DNA repair and other genes in *BRCA1/BRCA2/PALB2*- negatively tested breast cancer patients

Lhota F, Zemankova P, Kleiblova P, Soukupova J., Vocka M., Stranecky V.,
Janatova M., Hartmannova H., Hodanova K., Kmoch S., Kleibl Z.

Clin Genet. 2016

Cerebellar dysfunction in a family harboring a Cathepsin D variant p.A58V

Rainer Ehling^{a,1}, Lenka Nosková^{b,1}, Viktor Stránecký^b, Hana Hartmannová^b, Anna Přistoupilová^b,
Kateřina Hodaňová^b, Thomas Benke^a, Gabor G. Kovacs^c, Thomas Ströbel^c, Ulrike Niedermüller^d,
Michaela Wagner^e, Wolfgang Nachbauer^a, Andreas Janecke^f, Herbert Budka^c,
Sylvia Boesch^{a,*,2}, Stanislav Kmoch^{b,*,2} J Neurol Sci, 2013

AJHG, 2016

ARTICLE

Autosomal-Dominant Corneal Endothelial Dystrophies CHED1 and PPCD1 Are Allelic Disorders Caused by Non-coding Mutations in the Promoter of *OVOL2*

Alice E. Davidson,^{1,9} Petra Liskova,^{1,2,3,9,*} Cerys J. Evans,^{1,9} Lubica Dudakova,² Lenka Nosková,²
Nikolas Pontikos,^{1,4} Hana Hartmannová,² Kateřina Hodaňová,² Viktor Stránecký,² Zbyněk Kozmik,⁵
Hannah J. Levis,¹ Nwamaka Idigo,¹ Noriaki Sasai,¹ Geoffrey J. Maher,⁶ James Bellingham,¹ Neyme Veli,⁷
Neil D. Ebenezer,¹ Michael E. Cheetham,¹ Julie T. Daniels,¹ Caroline M.H. Thaug,^{1,7} Katerina Jirsova,²
Vincent Plagnol,⁴ Martin Filipek,⁸ Stanislav Kmoch,² Stephen J. Tuft,^{1,7} and Alison J. Hardcastle^{1,*}

AJHG, 2013

REPORT

Mutations in *ANTXR1* Cause GAPO Syndrome

Viktor Stránecký,^{1,9} Alexander Hoischen,^{2,9} Hana Hartmannová,^{1,9} Maha S. Zaki,³ Amit Chaudhary,⁴
Enrique Zudaire,⁴ Lenka Nosková,¹ Veronika Barešová,¹ Anna Přistoupilová,¹ Kateřina Hodaňová,¹
Jana Sovová,¹ Helena Hůlková,¹ Lenka Piherová,¹ Jayne Y. Hehir-Kwa,² Deepthi de Silva,⁵
Manouri P. Senanayake,⁶ Sameh Farrag,⁷ Jiří Zeman,⁷ Pavel Martásek,⁷ Alice Baxová,⁸ Hannah H. Af
Brad St. Croix,⁴ Han G. Brunner,² Samia Temtamy,³ and Stanislav Kmoch^{1,*}

Isolated X-Linked Hypertrophic Cardiomyopathy Caused by a Novel Mutation of the Four-and-a-Half LIM Domain 1 Gene

Hana Hartmannova¹, Milos Kubanek^{2*}, Marek Sramko², Lenka Piherova¹,
Lenka Noskova¹, Katerina Hodanova¹, Viktor Stranecky¹, Anna Pristoupilova¹,
Jana Sovova¹, Tomas Marek², Jana Maluskova³, Petr Ridzon⁴, Josef Kautzner²,
Helena Hulkova¹ and Stanislav Kmoch¹ Circ Cardiovasc Genet. 2013

2013

LETTERS

nature
genetics

2014

Cell Metabolism
Article

Mutation of Nogo-B Receptor, a Subunit of *cis*-Prenyltransferase, Causes a Congenital Disorder of Glycosylation

Eon Joo Park,^{1,6} Kariona A. Grabińska,^{1,6} Ziqiang Guan,² Viktor Stránecký,³ Hana Hartmannová,³ Kateřina Hodaňová,³
Veronika Barešová,³ Jana Sovová,³ Levente Jozsef,¹ Nina Ondrušková,⁴ Hana Hansiková,⁴ Tomáš Honzík,⁴ Jiří Zeman,⁴
Helena Hůlková,³ Rong Wen,⁵ Stanislav Kmoch,^{3,*} and William C. Sessa^{1,*}

Mutations causing medullary cystic kidney disease type 1 lie in a large VNTR in *MUC1* missed by massively parallel sequencing

Andrew Kirby^{1,2}, Andreas Gnirke¹, David B Jaffe¹, Veronika Barešová³, Nathalie Pochet^{1,4},
Brendan Blumenstiel¹, Chun Ye¹, Daniel Aird¹, Christine Stevens¹, James T Robinson¹, Moran N Cabili^{1,5},
Brit Gat-Viks^{1,6}, Edward Kelliher¹, Riza Daza¹, Matthew DeFelicis¹, Helena Hůlková³, Jana Sovová³, Petr Vyleťal³,
Lorinne Antignac⁷⁻⁹, Mitchell Guttman¹, Robert E Handsaker^{1,10}, Danielle Perrin¹, Scott Steelman¹,
Mona Naevar Sigurdsson¹, Steven J Scheinman¹¹, Carrie Sougnez¹, Kristian Cibulskis¹, Melissa Parkin¹,
Todd Green¹, Elizabeth Rossin¹, Michael C Zody¹, Rannik J Xavier^{1,12}, Martin R Pollak^{13,14}, Seth L Alper^{13,14},
Kerstin Lindblad-Toh^{1,15}, Stacey Gabriel¹, P Suzanne Hart¹⁶, Aviv Regev¹, Chad Nusbaum¹, Stanislav Kmoch³,
H. Li^{1,17}, E. S. L. Li^{1,18}, M. Li^{1,17,18}

nature
COMMUNICATIONS

2015

ARTICLE

Received 12 Jan 2014 | Accepted 21 Oct 2014 | Published 8 Jan 2015

DOI: 10.1038/ncomms6614

Mutations in *PNPLA6* are linked to photoreceptor degeneration and various forms of childhood blindness

S. Kmoch^{1,*}, J. Majewski^{2,*}, V. Ramamurthy^{3,*}, S. Cao^{4,5}, S. Fahiminiya², H. Ren^{4,5}, I.M. MacDonald⁶, I. Lopez^{4,5},
V. Sun^{4,5}, V. Keser^{4,5}, A. Khan^{4,5}, V. Stránecký¹, H. Hartmannová¹, A. Přistoupilová¹, K. Hodaňová¹,
L. Piherová¹, L. Kuchař¹, A. Baxová⁷, R. Chen⁸, O.G.P. Barsottini⁹, A. Pyle¹⁰, H. Griffin¹⁰, M. Splitt¹⁰, J. Sallum¹¹,
J.L. Tolmie¹², J.R. Samson¹³, P. Chinnery¹⁰, Care4Rare Canada¹, E. Banin¹⁴, D. Sharon¹⁴, S. Dutta¹⁵, R. Grebler¹⁶,

Mutations in *ANTXR1* Cause GAPO Syndrome

Viktor Stránecký,^{1,9} Alexander Hoischen,^{2,9} Hana Hartmannová,^{1,9} Maha S. Zaki,³ Amit Chaudhary,⁴ Enrique Zudaire,⁴ Lenka Nosková,¹ Veronika Barešová,¹ Anna Přistoupilová,¹ Kateřina Hodaňová,¹ Jana Sovová,¹ Helena Hůlková,¹ Lenka Piherová,¹ Jayne Y. Hehir-Kwa,² Deepthi de Silva,⁵ Manouri P. Senanayake,⁶ Sameh Farrag,⁷ Jiří Zeman,⁷ Pavel Martásek,⁷ Alice Baxová,⁸ Hanan H. Afifi,³ Brad St. Croix,⁴ Han G. Brunner,² Samia Temtamy,³ and Stanislav Kmoch^{1,*}

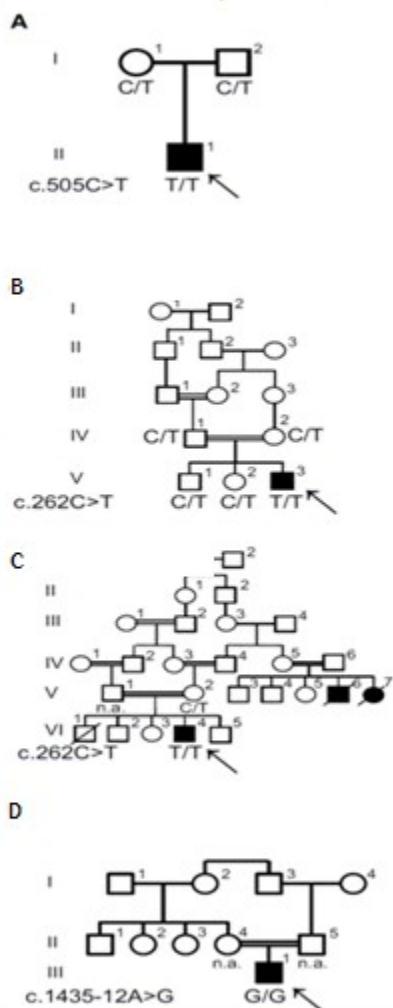


Figure 3. Family Pedigrees, Segregation of the *ANTXR1* Mutations

- A) Pedigree of the Czech family, CZE1
- B) Pedigree of Egyptian family, EGY1
- C) Pedigree of Egyptian family, EGY2
- D) Pedigree of the Sri Lankan family, SRI1

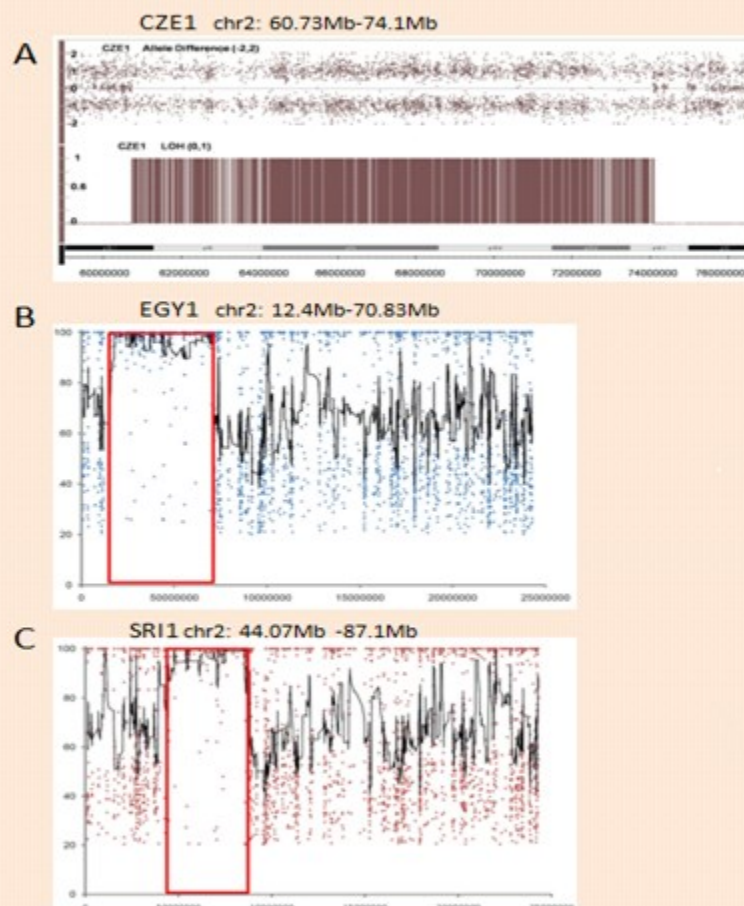


Figure 4. A) Homozygous region identified by Affymetrix SNP 6.0 array in CZE1, (II-1). B) and C) Homozygous regions identified by exome sequencing in cases EGY1, (V-3) and SRI1, (III-1).

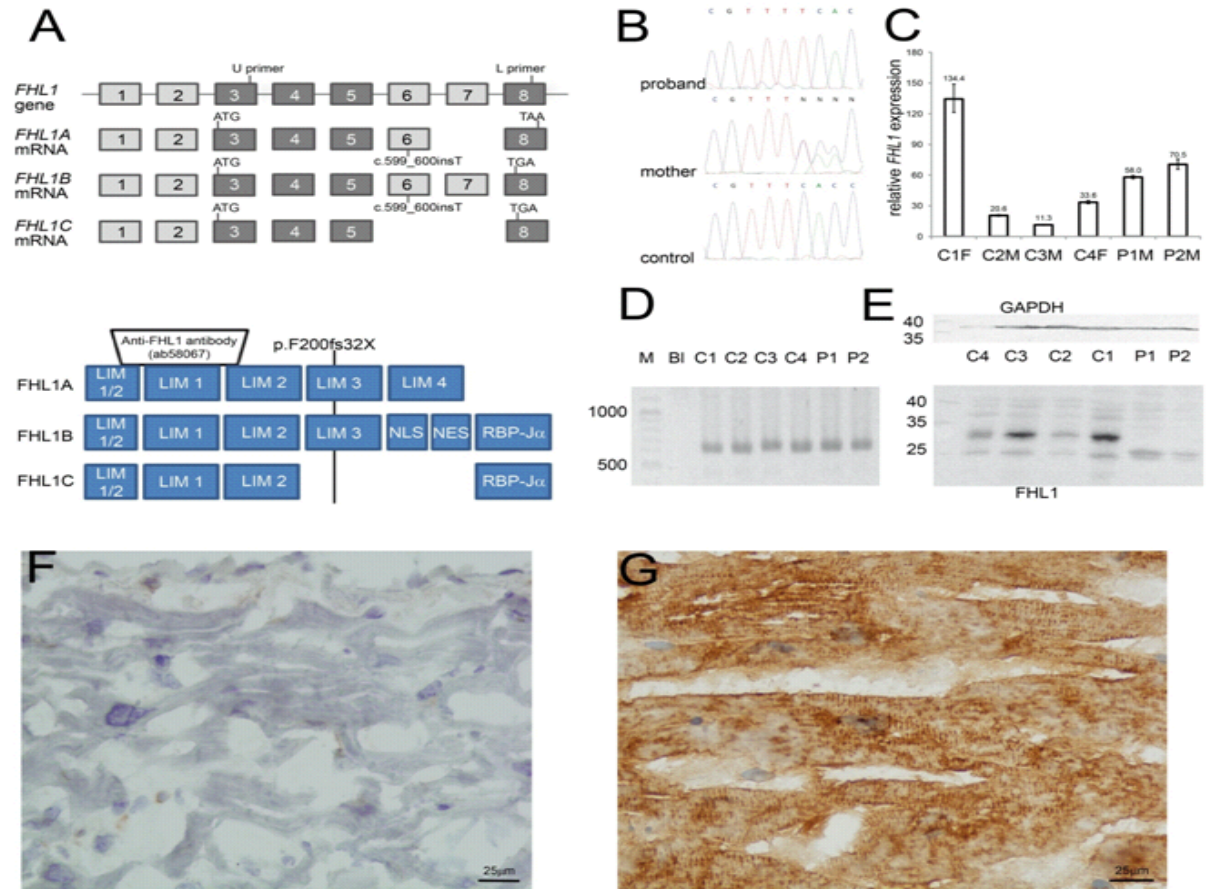


Figure 5: Effects of the identified *FHL1* mutation. (A) Schematic representations of *FHL1* genomic structure (*FHL1* gene), *FHL1* mRNA isoforms (*FHL1A*, *FHL1B* and *FHL1C*) and corresponding FHL1 protein variants. Blue boxes demonstrate FHL1 domains. (B) Chromatograms of *FHL1* genomic DNA sequences showing identified mutations in the Czech family. (C) Relative amounts of *FHL1* mRNA normalized to amounts of Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (*GAPDH*) mRNA in myocardial specimens; C1-C4 denotes specimens from controls, P1 and P2 denotes specimens from probands III/4 and II/3, respectively (D) *FHL1A* cDNA analysis showing profiles of RT-PCR products amplified from total RNA isolated from snap-frozen myocardial specimens of control (C1-C4) and probands III/4 (P1) and II/3 (P2). A single RT-PCR product of the size of 699 base pairs expected for *FHL1A* isoform is detected. RT-PCR product of the size 512 bp expected for *FHL1C* isoform is absent (E) Western blot analysis of homogenates prepared from snap frozen myocardial specimens showing presence of the immune-reactive protein of a molecular weight ~ 27 kDa corresponding to predicted molecular weight of the p.F200fs32X FHL1 protein in samples from probands P1 and P2. Immunoreactive protein of a molecular weight ~ 32 kDa, corresponding to predicted molecular weight of the FHL1A identified in high abundance in control samples (C1-C4), is in patients' samples (P1, P2) absent. (F,G) Immunofluorescence analysis of cryostat sections of myocardium showing absence of immuno-reactive FHL1 in the proband III/4, (F) in comparison to distinct cross-striation pattern in control cardiocytes (G).

Mutations in *PNPLA6* are linked to photoreceptor degeneration and various forms of childhood blindness

S. Knoch^{1,*}, J. Majewski^{2,*}, V. Ramamurthy^{3,*}, S. Cao^{4,5}, S. Fahiminiya², H. Ren^{4,5}, I.M. MacDonald⁶, I. Lopez^{4,5}, V. Sun^{4,5}, V. Keser^{4,5}, A. Khan^{4,5}, V. Stránecký¹, H. Hartmannová¹, A. Přistoupilová¹, K. Hodaňová¹, L. Piherová¹, L. Kuchař¹, A. Baxová⁷, R. Chen⁸, O.G.P. Barsottini⁹, A. Pyle¹⁰, H. Griffin¹⁰, M. Splitt¹⁰, J. Sallum¹¹, J.L. Tolmie¹², J.R. Sampson¹³, P. Chinnery¹⁰, Care4Rare Canada¹, E. Banin¹⁴, D. Sharon¹⁴, S. Dutta¹⁵, R. Grebler¹⁶, C. Helfrich-Foerster¹⁶, J.L. Pedroso⁹, D. Kretzschmar¹⁵, M. Cayouette^{3,17,18} & R.K. Koeneke^{4,5}

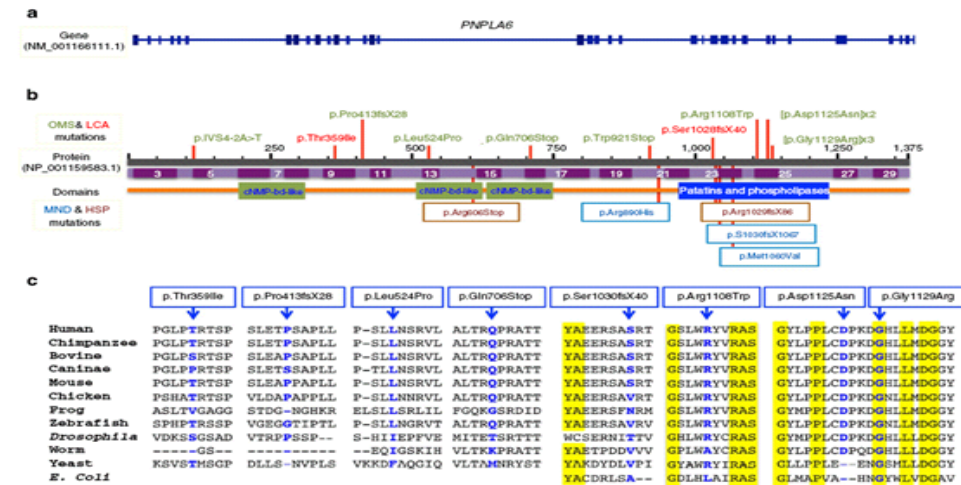


Figure 3. Mutations identified in *PNPLA6* patients. Shown here is the genetic structure (a) and the protein structure (b) with all the mutations (ten) identified in the current study indicated above the *PNPLA6* protein. Previously reported mutations causing the paraplegia syndrome (SPG39) are shown below the protein. A line-up of the affected protein regions from various species (from *E. coli* to man) is shown in c, showing the marked and significant evolutionary conservation of the residues, some down to *E. coli*.

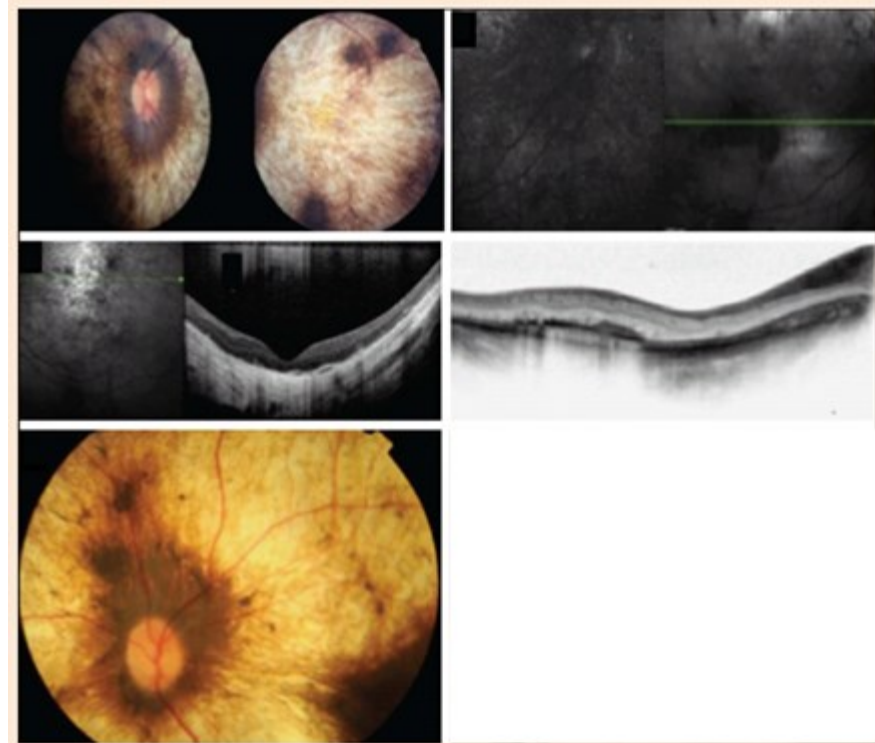


Figure 4. Retinal phenotypes of children with *PNPLA6* mutations. (a) A retinal photo shows severe choroidal and retinal atrophy ‘choroideremia like’ in patient 5,267. (b) Fundus autofluorescence (FAF) shows severely abnormal and grossly absent lipofuscin metabolism. (c) Optical coherence tomography reveals severe photoreceptor loss, retinal thinning and retinal remodeling. (d) Using optical coherence tomography, we found that the inner retinal layers are also abnormal. (e) Another child (167) with mutations in *PNPLA6* shows a strikingly similar retinal appearance as shown in a, again illustrating the ‘choroideremia-like’ retinal changes.

Cíl projektu: charakterizace prvního myšního modelu mukopolysacharidózy typu IIIC (Hgsnat^{-/-})

Publikace: Neuroinflammation, mitochondrial defects and neurodegeneration in mucopolysaccharidosis III type C mouse model. Carla M, Hůlková H* et al. Brain 2014.

*Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN Praha

Helena Hůlková

Martin Hřebíček

Eva Svobodová

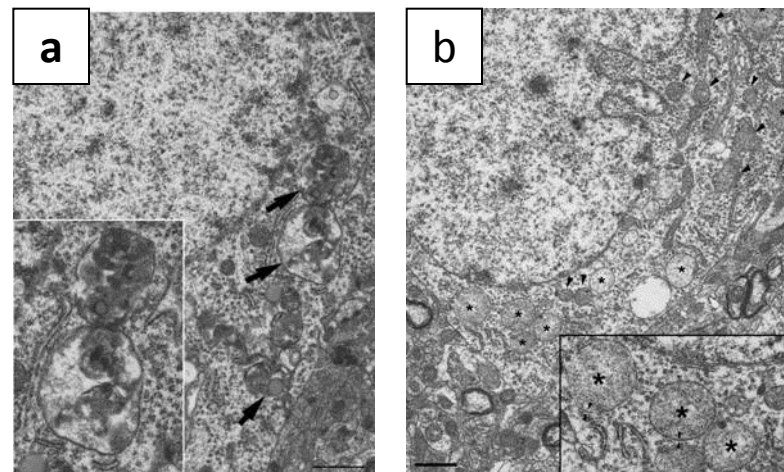
Ladislav Kuchař

Hana Hansíková

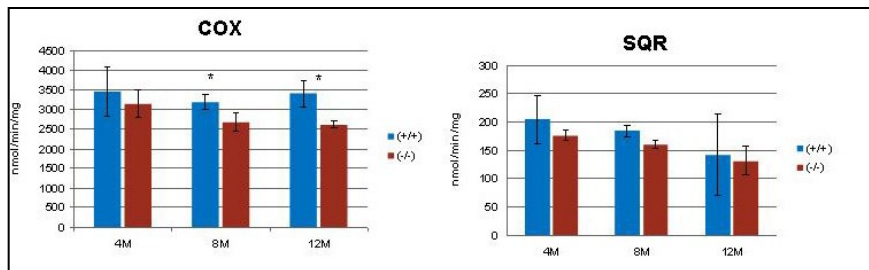
Markéta Tesařová

Zuzana Hájková

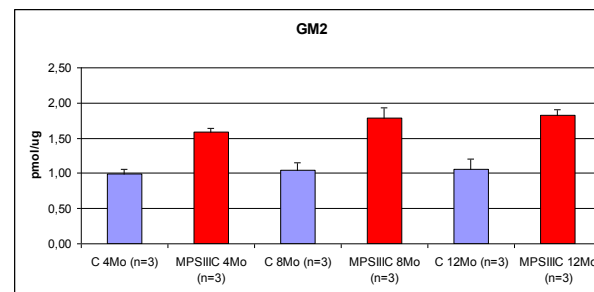
Ultrastrukturální průkaz lysosomálního střádání (a) a mitochondriálních abnormalit (b) v neuronech u Hgsnat^{-/-}



Signifikantní pokles enzymatických aktivit komplexu IV (COX) a II (SQR) v mozcích u Hgsnat^{-/-}



Významná akumulace gangliosidů v mozcích Hgsnat^{-/-} (MS/MS)



Skupina poruch metabolismu sirných aminokyselin a vitaminů skupiny B (V. Kožich a spolupracovníci)

Skupina: J. Krijt, J. Sokolová, P. Melenovská, V. Kožich
bývalí členové A. Hnízda a R. Vozdek

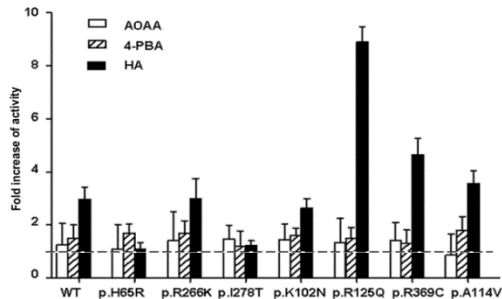
Témata a hlavní výsledky

- **Molekulární patologie a patofysiologie:** rozšíření spektra mutací u homocystinurií a poruch metabolismu kobalaminu, průkaz mechanismů-abnormální skládání proteinů a abnormální sestřih mRNA, průkaz změněného metabolismu sirovodíku u homocystinurií
- **Metabolismus sirných aminokyselin u *C.elegans* jako modelu:** charakterizace 8 nových genů a jejich úlohy při metabolismu sirných aminokyselin a sirovodíku
- **Vývoj nových diagnostických a analytických postupů:** zavedena neinvazivní „biochemická biopsie“ jater u DMP, využití suchých krevních kapek pro monitorování léčby, nové metody pro měření metabolismu sirovodíku pomocí thioetherů
- **Vývoj nových léčebných postupů:** významný efekt chaperonů na skládání mutantních proteinů, korekce abnormálního sestřihu RNA pomocí antisense oligonukleotidů, podíl na hodnocení efektivity nově vyvinuté enzymová náhradní terapie

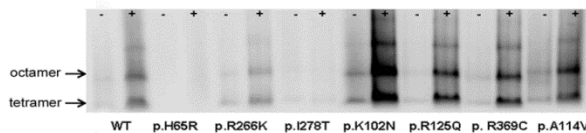
Výsledky: 28 publikací v časopisech s IF, 1 kapitola v zahraniční monografii

Skupina poruch metabolismu sirných aminokyselin a vitaminů skupiny B (V. Kožich a spolupracovníci)

Příklad vývoje nové léčby pro homocystinurii (chaperonová terapie)-alternativní postup místo nízkobílkovinné diety



Zvýšená aktivita mutant po přidavku několika chaperonů



Hem stabilizuje mutanty a zvyšuje množství tetrameru u mutací

- Ukázka 7 mutantních proteinů v expresním systému v křeččích ovariálních buňkách
- Měřena enzymová aktivita a stanovené množství správně sbaleného enzymu na nativním westernu

Melenovská et al, Journal of Inherited Metabolic Disease 2015

Příklad mezinárodní spolupráce při vývoji nové léčby pro homocystinurii (enzymová náhradní terapie)-alternativní postup místo nízkobílkovinné diety

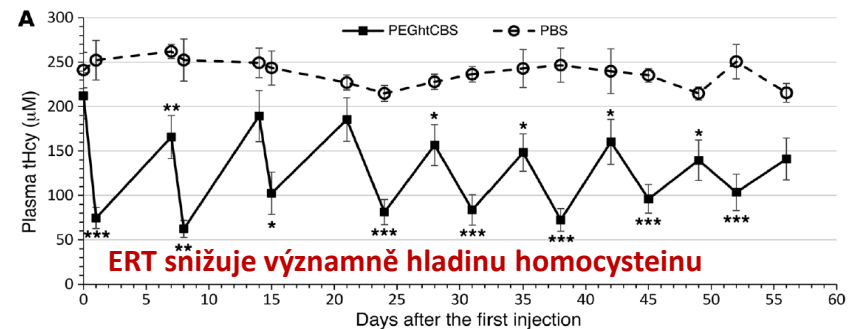
RESEARCH ARTICLE

The Journal of Clinical Investigation

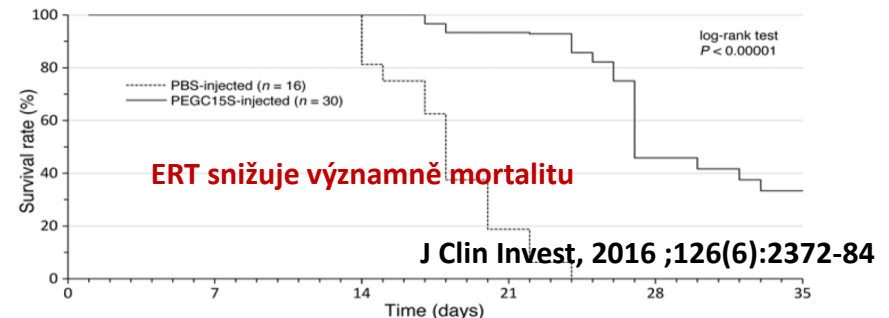
Enzyme replacement with PEGylated cystathionine β -synthase ameliorates homocystinuria in murine model

Erez M. Bublii,¹ Tomas Majtan,¹ Insun Park,¹ Richard S. Carrillo,¹ Helena Hůlková,² Jakub Krijt,² Viktor Kožich,² and Jan P. Kraus¹

¹Department of Pediatrics, University of Colorado School of Medicine, Aurora, Colorado, USA. ²Institute of Inherited Metabolic Disorders, Charles University in Prague – First Faculty of Medicine, Prague, Czech Republic.



ERT snižuje významně hladinu homocysteinu



ERT snižuje významně mortalitu

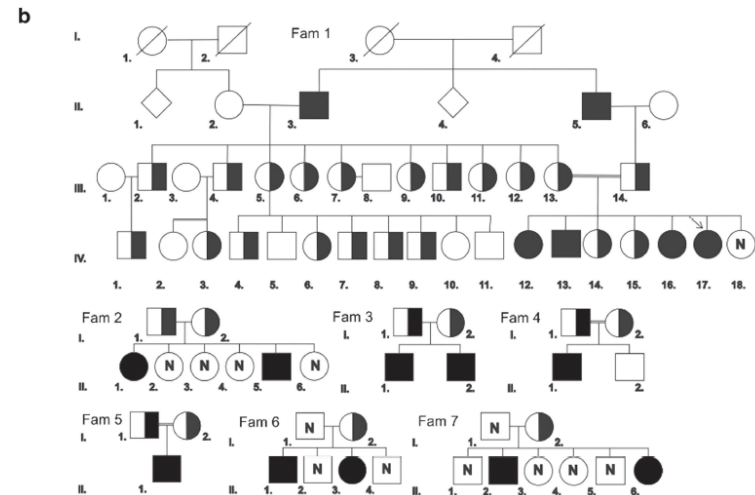
J Clin Invest, 2016 ;126(6):2372-84

ARTICLE

Genetic and biochemical study of dual hereditary jaundice: Dubin–Johnson and Gilbert’s syndromes. Haplotyping and founder effect of deletion in *ABCC2*

Lenka Slachtova^{*,1}, Ondrej Seda², Jana Behunova^{3,4}, Martin Mistrik⁵ and Pavel Martasek¹

Charakterizovali jsme unikátní geneticky podmíněnou dvojitou žloutenku, spojení Dubin-Johnsonova a Gilbertova syndromu se zakladatelskou mutací v genu *ABCC2* v rómských rodinách na Slovensku. Výsledky studie mají rovněž praktický dopad v péči o takto nemocné, nejsou často opakovaně hospitalizováni na infekčních oddeleních.



Metabolismus purinů

(B. Stibůrková, I. Šebesta a spolupracovníci)

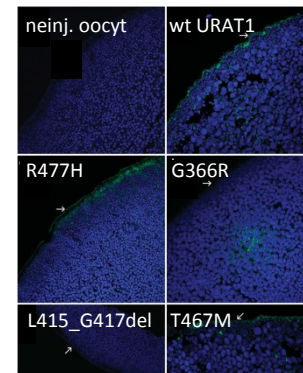
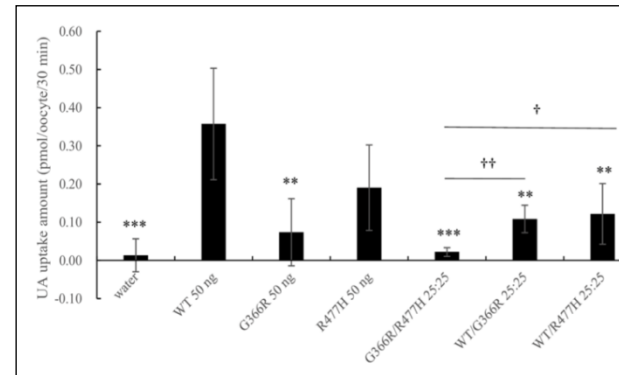
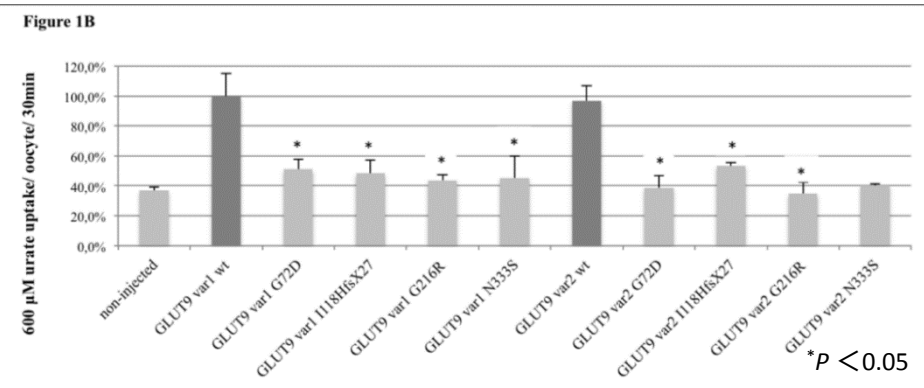
- podařilo se **diagnostikovat první pacienty s RENÁLNÍ HYPOURIKÉMIÍ** (typ I a II, OMIM 220150 a 612076) v naší české populaci (druhý největší celosvětový soubor)
- studie těchto pacientů :
 - přispěly k objasnění mechanismu vylučování urátu v ledvinách
 - byly detekovány **nové sekvenční varianty urátových transportérů** (hURAT1 a GLUT9)
 - ukazují : **asymptomatická hypourikémie** → **rizikový faktor poškození ledvin**

Publikováno celkem 9 publikací v impaktovaných časopisech (souhrnný IF 18,748), 1 kapitola v zahraniční monografii, obhájena 1 diplomová práce (VŠCHT)

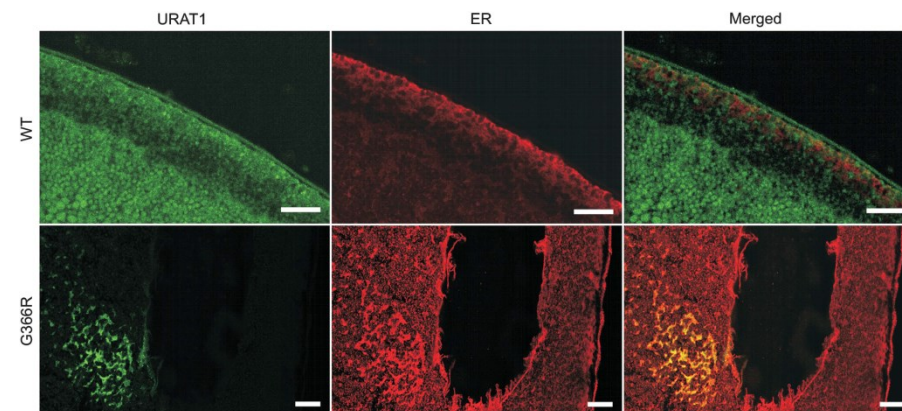
CÍL: objasnění vlivu individuálních alelických variant majoritních urátových transportérů na hodnoty sérové hladiny kyseliny močové

SHRNUTÍ VÝSLEDKŮ A PŘÍNOS PROJEKTU

- nové poznatky o ovlivnění **exprese, buněčné lokalizace a urátového transportu** u alelických variant genů *SLC2A9* a *SLC22A12* v souboru pacientů s renální hypourikémií
- identifikace prevalentních **kauzálních variant pro renální hypourikémií 1** v romské populaci (1016 subjektů; *SLC22A12*: p.delA415_417: 1.92%, p.T467M: 5.56%)
- selekce šesti kandidátních genů pro RHUC 3



- Stiburkova et al. *Pediatr Nephrol.* 2012
 Stiburkova et al. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2012
 Stiburkova et al. *Eur J Hum Genet.* 2013
 Stiburkova et al. *PLoS One.* 2014
 Stiburkova et al. *Am J Med Sci.* 2015
 Mraz et al. *Urolithiasis.* 2015
 Mancikova et al. *Clin Exp Nephrol.* 2015



Mitochondriální poruchy

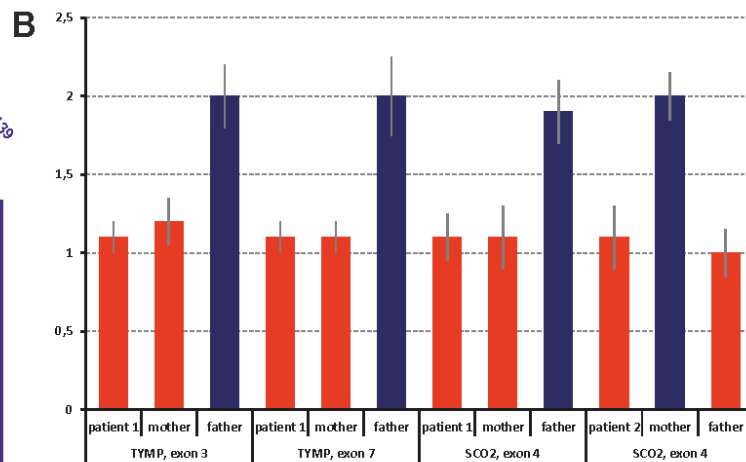
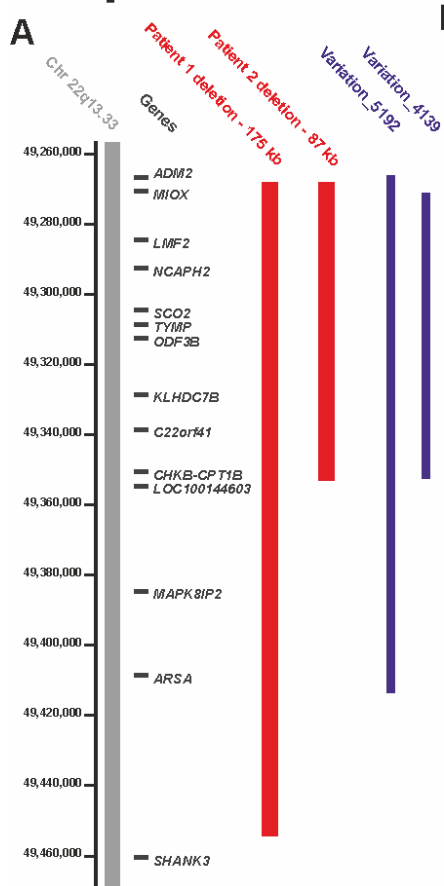
(J. Zeman, M. Tesařová a spol.)

- 1) Systematické hledání příčin onemocnění u pacientů s mitochondriálním onemocněním a dědičnými poruchami glykosylace
- 2) Studium funkce proteinů nezbytné pro biogenezi a homeostázu OXPHOS
- 3) Analýza mitochondriální biogeneze v průběhu prenatálního a časně postnatálního vývoje *Rattus norvegicus*

***Celkem 23 publikací v impaktovaných časopisech,
3 publikace v recenzovaných časopisech a 1 kapitola
v knize***

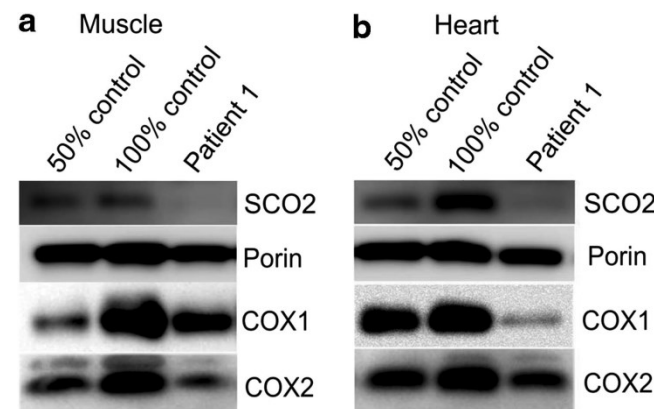
U dvou pacientů s mitochondriálními nemocmi byly prokázány rozsáhlé heterozygotní delece v kombinaci s bodovými mutacemi v genu TYMP a SCO2

22q13.33



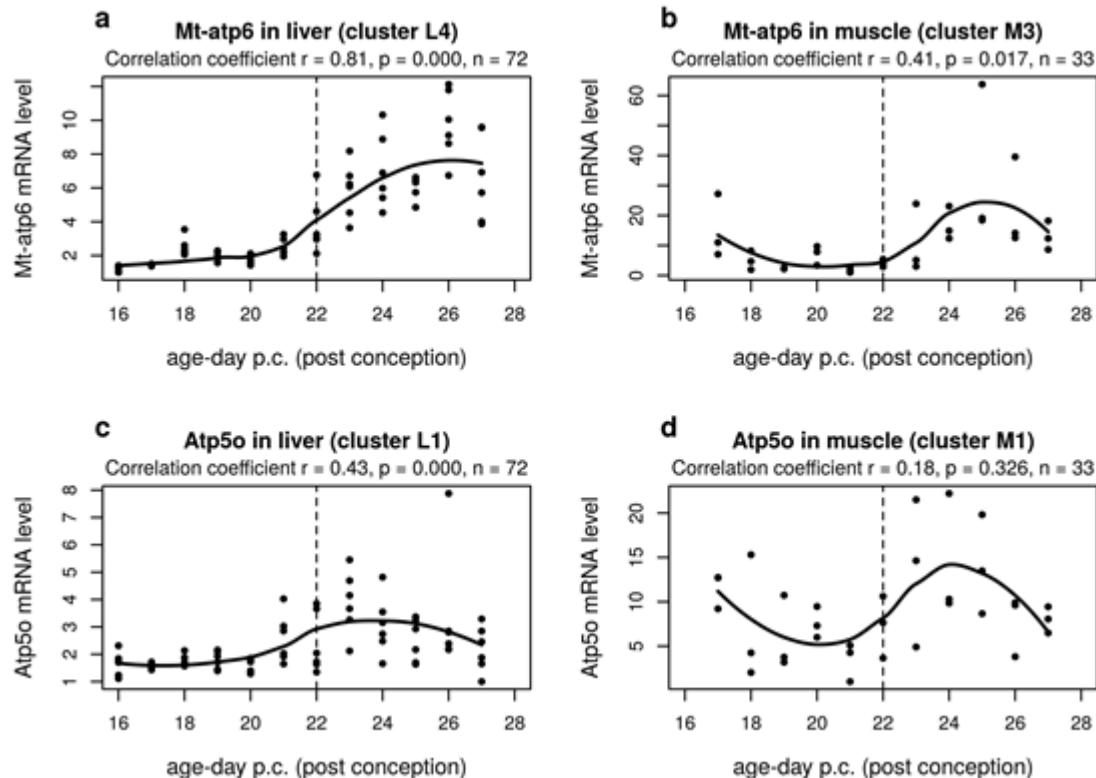
C

	Genotype	
	Maternal allele	Paternal allele
Patient 1	Chr 22:del49275958_49451008	TYMP: c.261G>T (p.Glu87Asp)
Patient 2	SCO2: c.667G>A (p.Asp223Asn)	Chr 22:del492275958_49362964



(Vondráčková et al. 2014 Eur J Hum Genet)

- Ve 300 vzorcích jaterní, srdeční a svalové tkáně odebraných v definovaných časových obdobích vývoje potkana byly stanoveny expresní profily na čípech a následně byly změny exprese vybraných genů studovány podrobně pomocí qRT-PCR a na úrovni hladiny jimi kódovaných proteinů



Hlavní výzkumné oblasti

1. Dědičně podmíněné nemoci – identifikace genetických příčin a studium mechanismů
- 2. Vývojové, epigenetické a adaptační mechanismy**
3. Interakce mikroorganismů a hostitele
4. Etické aspekty molekulové medicíny

Hlavní řešené oblasti

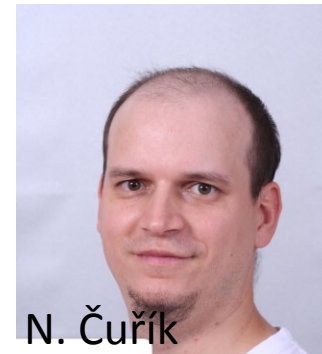
- Epigenetika kmenových buněk, transkripční faktory v hematologii
- Experimentální a translační hematologie
- Metabolismus železa
- Proteomika a hledání nádorových markerů
- Integrativní (pato)fyzilogie
- Neurofyzilogické studie prostorového slyšení
- Studium interakce buněk s nanomateriály

Celkem 71 prací s IF (souhrnný IF 230,098), 12 recenzovaných článků, 11 kapitol v monografiích, 1 monografie, bylo obhájeno 13 disertačních prací

Objev mechanismu četrných rozdílů v agresivitě akutní myeloidní leukemie (AML)

StopkaLab

- Navazující mutace transkripčních faktorů.
- **Identifikována regulační dráha agresivity AML**
- Obsahující tumor supresorické geny PU.1 a p53 a onkogeny MYB a mikroRNA miR-155.
- 4 práce (IF=37.7) již citovány dle WOS 205x



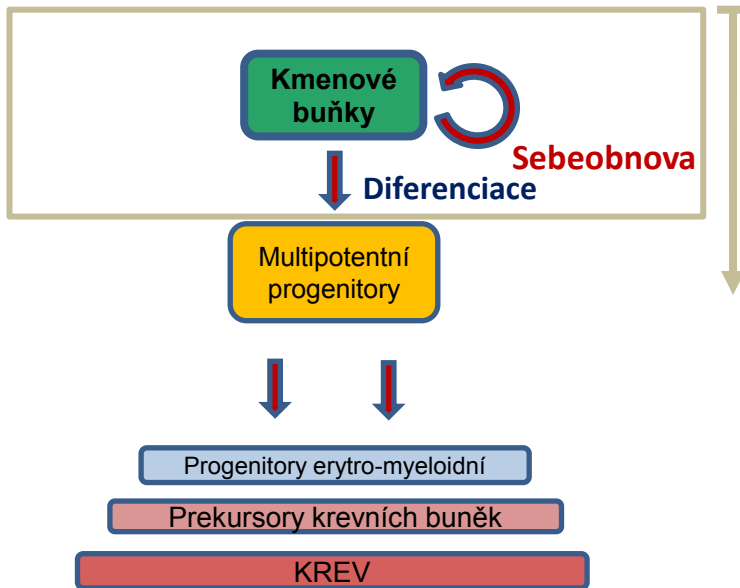
StopkaLab: Bašová et al **Oncogene**. 2014 Sep 25;33(39):4735-45. Vargova et al **Blood**. 2011 Apr 7;117(14):3816-25. Pospíšil et al. **EMBO J**. 2011 Sep 6;30(21):4450-64. Čuřík et al **Leukemia**. 2012 Aug;26(8):1804-11.

Regenerace krvetvorné tkáně

(E. Nečas a spol.)

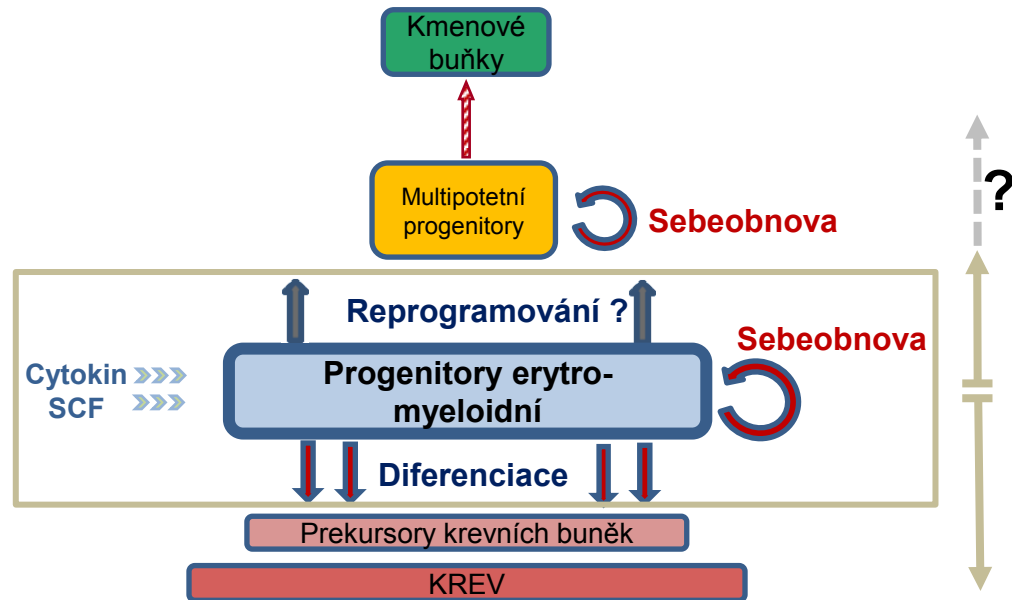
SOUČASNÝ „TOP-TO-BOTTOM“ MODEL REGENERACE

Podle současné představy regeneruje kostní dřeň z neproliferujících **kmenových buněk**, které získají vlastnost progenitorů: **schopnost buněčného dělení**



P24 - „BOTTOM-TO-TOP“ MODEL REGENERACE

P24 VÝZKUM UKAZUJE JINÝ MECHANISMUS.
REGENERACE VYCHÁZÍ Z PROLIFERUJÍCÍCH BUNĚK PROGENITOROVÝCH, KTERÉ ZÍSKAJÍ VLASTNOST BUNĚK KMENOVÝCH: **SCHOPNOST SEBEREPRODUKCE**



Experimentální terapie ne Hodgkinových lymfomů (NHL)

(P. Klener Jr. a spol.)

1. Narušení mechanismů apoptózy a její význam pro přežívání buněk NHL

2. Studium molekulárních mechanismů získané rezistence NHL k cytotoxickým látkám

3. Zavádění a charakterizace myších modelů lidských NHL

Cancer Therapy: Preclinical

Clinical
Cancer
Research

Targeting of BCL2 Family Proteins with ABT-199 and Homoharringtonine Reveals BCL2- and MCL1-Dependent Subgroups of Diffuse Large B-Cell Lymphoma

Magdalena Klanova^{1,2}, Ladislav Andera³, Jan Brazina³, Jan Svadlenka³, Simona Benesova³, Jan Soukup⁴, Dana Prukova¹, Dana Vejmelkova², Radek Jaksa⁵, Karel Helman⁶, Petra Vockova^{1,2}, Lucie Lateckova^{1,2}, Jan Molinsky^{1,2}, Bokang Calvin Lényeletse Maswabi¹, Mahmudul Alam¹, Roman Kodet⁴, Robert Pytlik², Marek Trnety², and Pavel Klener^{1,2}

Klanova et al. *Molecular Cancer* 2014, **13**:159
<http://www.molecular-cancer.com/content/13/1/159>



RESEARCH

Open Access

Downregulation of deoxycytidine kinase in cytarabine-resistant mantle cell lymphoma cells confers cross-resistance to nucleoside analogs gemcitabine, fludarabine and cladribine, but not to other classes of anti-lymphoma agents

Magdalena Klanova^{1,2}, Lucie Lorkova¹, Ondrej Vit¹, Bokang Maswabi¹, Jan Molinsky^{1,2}, Jana Pospisilova¹, Petra Vockova^{1,2}, Cory Mavis³, Lucie Lateckova^{1,2}, Vojtech Kulvait¹, Dana Vejmelkova², Radek Jaksa³, Francisco Hernandez⁴, Marek Trnety², Martin Vokurka¹, Jiri Petrak^{1,5†} and Pavel Klener Jr.^{1,2†}

Mouse models of mantle cell lymphoma, complex changes in gene expression and phenotype of engrafted MCL cells: implications for preclinical research

Magdalena Klanova^{1,2}, Tomas Soukup³, Radek Jaksa⁴, Jan Molinsky^{1,2}, Lucie Lateckova^{1,2}, Bokang CL Maswabi¹, Dana Prukova¹, Jana Brezinova⁵, Kyra Michalova⁵, Petra Vockova^{1,2}, Francisco Hernandez-lizaliturri⁶, Vojtech Kulvait¹, Jan Zivny¹, Martin Vokurka¹, Emanuel Necas¹, Marek Trnety^{2,5} and Pavel Klener^{1,2}

Laboratoř interakce buněk s nanomateriály

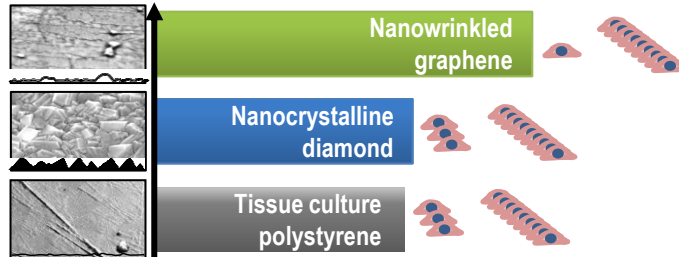
Doc. RNDr. Marie Hubálek Kalbáčová

Interakce buněk

1) s povrchy

- grafen
- nanokrystalický diamant
- biodegradabilní nosiče
- ultra-jemný titan

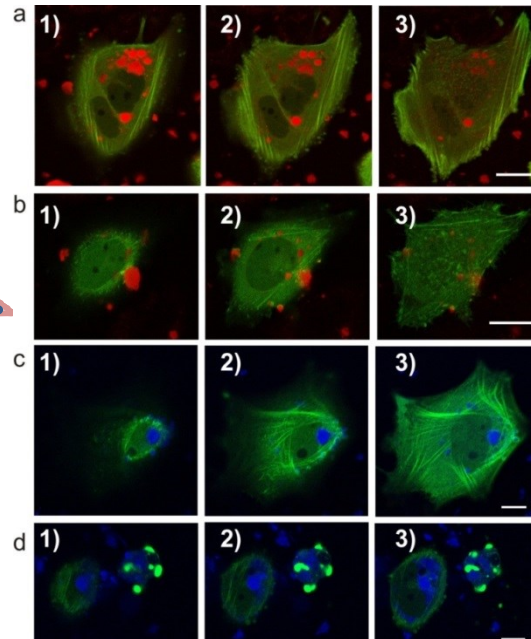
Osteoblast Proliferation Rate



Verdanova et al., 2016, Small
IF- 8,315

2) s nanočásticemi

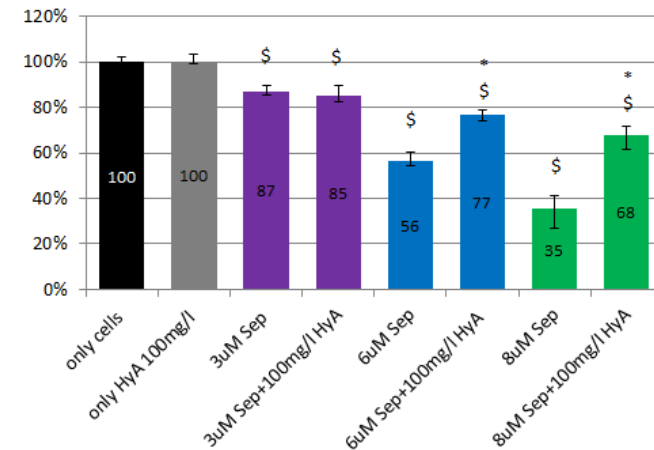
- křemíkové nanočástice



Fucikova et al, 2014, RSC Advances, IF-
3,840

3) s hyaluronovou kyselinou

- komplexy se surfaktanty



Sauerova et al., 2015, Colloids and
Surfaces A, IF-2,760

Celkem 13 prací s IF (souhrnný IF 33,582), 1 kapitola v monografii

Hlavní výzkumné oblasti

1. Dědičně podmíněné nemoci – identifikace genetických příčin a studium mechanismů
2. Vývojové, epigenetické a adaptační mechanismy
- 3. Interakce mikroorganismů a hostitele**
4. Etické aspekty molekulové medicíny

Interakce mikroorganismů a hostitele

(K. Holada, J. Bobek, Z. Mělková a spol.)

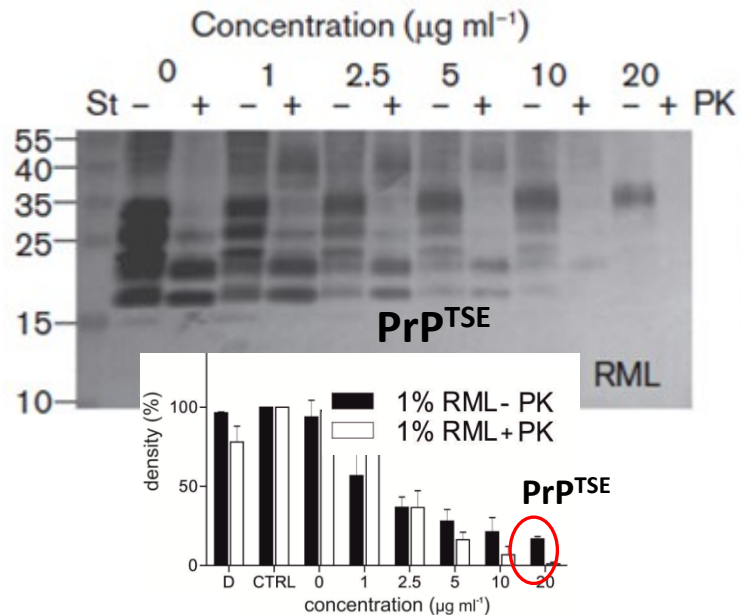
- Virus Kaposiho sarkomu (ukončeno v průběhu trvání projektu, ale články k tématu byly publikovány)
- Prionové choroby
- Regulace genové exprese u streptomycet
- Interakce viru vakcinie s hostitelskými buňkami

Publikováno 24 impaktovaných publikací (celkový IF 79.3), vznikl 1 národní patent, byly obhájeny 2 dizertační a 2 diplomové práce

Fotodynamická inaktivace prionů pomocí derivátů ftalocyaninu



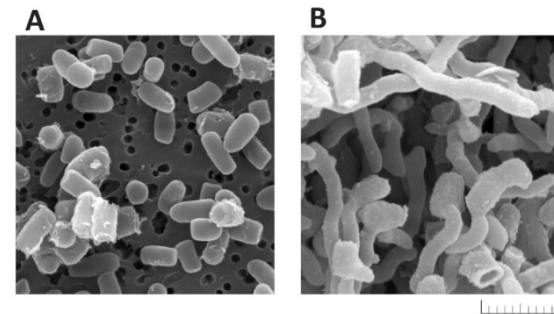
- Disulfonovaný hydroxyhlinitý ftalocyanin (**AIPc**)
- Fotodynamické působení (~670 nm ➔ singlet. O₂)
- Afinity **AIPc** k PrP^{TSE} – specifická inaktivace prionů



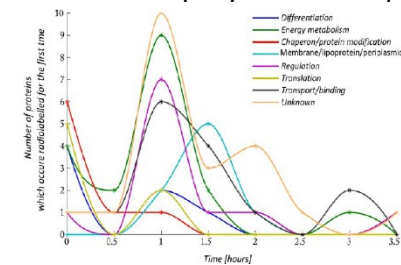
Janouskova et al., *J Gen Virol.* 2012;93:2512-7.
 Na metodu inaktivace získán národní patent
 č.303355

Studium germinace a aktivity metabolických a regulačních drah u *Streptomyces coelicolor*

- Systémovým přístupem byl analyzován transkriptom a proteom při germinaci streptomycet.
- Srovnáním expresí transkripčních regulátorů byl předpovězen jejich regulon.



Dormantní spory Klíčící spory^m



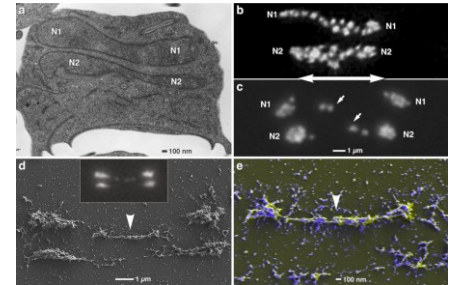
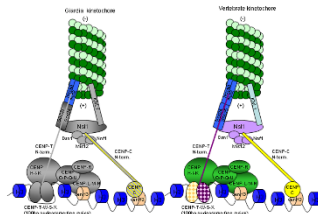
Změny v počtu *de novo* syntetizovaných proteinů

Bobek et al., *BMC Genomics*, 2014;15:1173.

Laboratoř tropických parazitóz

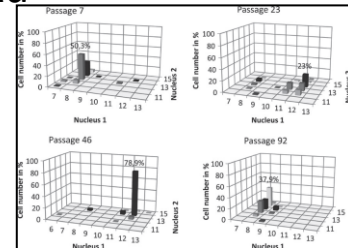
(E. Nohýnková a spol.)

1) Poznání průběhu a kontroly buněčného cyklu a buněčné diferenciace parazitických prvků: model *Giardia intestinalis* – Markova et al., *Eur J Cell Biol*, 2016 *Absence of a conventional spindle mitotic checkpoint in the bi-nucleated single cell parasite Giardia intestinalis*



2) Studium organizace chromozomů parazitických prvků: Tůmová et al., *Chromosoma*, 2015 *Structural organization of very small chromosomes: study on a single-celled evolutionary distant eukaryote Giardia intestinalis*.

3) Studium vztahu mezi ploidií a genetickou diverzitou parazitických prvků - Tůmová et al., *MicrobiologyOpen*, 2016 *Constitutive aneuploidy and genomic instability in the single-celled eukaryote Giardia intestinalis*.



Celkem 10 publikací v impaktovaných časopisech (souhrnný IF 23,82), 3 publikace v recenzovaných časopisech, 1 kapitola v knize, obhájeny 2 dizertační práce (J. Klieščíková, K. Jiráková)

Výzkum infekčních chorob

(M. Holub a spol.)

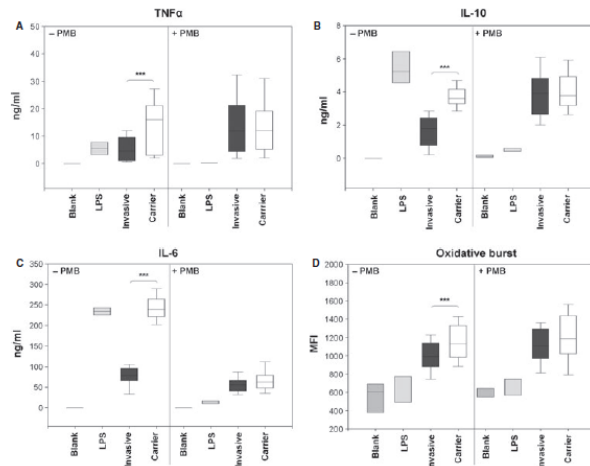
- 1) Role imunitního systému hostitele v patogenezi závažných infekcí
- 2) Studium patofyziologie sepse a závažných bakteriálních infekcí
- 3) Vyhledávání diagnostických a prognostických biomarkerů důležitých lidských infekcí

Celkem 18 publikací v impaktovaných časopisech (souhrnný IF 41,33), 6 publikací v recenzovaných časopisech, 3 kapitoly v knize

Výzkum infekčních chorob – shrnutí a výhled

- Za 5 let trvání projektu jsme popsali **nové aplikace vybraných biomarkerů** infekčních nemocí
- Studium patogeneze těžkých bakteriálních onemocnění vedlo k popsání **odlišností imunostimulačních vlastností typických bakteriálních patogenů**
- Ve spolupráci s partnerským pracovištěm Lunds Universitet (LU) jsme upozornili na **nové možnosti hmotnostní spektrofotometrie** v klinické praxi
- Do budoucna se zaměřujeme na nové biomarkery sepse s adekvátní prediktivní hodnotou (např. S100A8/9, S100A12)
- Pokračujeme ve **studiu imunopatogeneze sepse** ve spolupráci s LU s využitím animálního modelu dvojí stimulace gram pozitivními a gram negativními bakteriemi
- Studium chceme rozšířit o **dlouhodobý imunomonitoring** přeživších sepsi a septický šok

Role imunitního systému hostitele v patogenezi závažných infekcí – sepsy

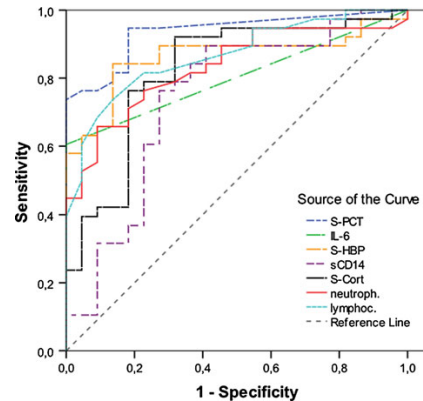


Při in vitro testování jsme zjistili, že kolonizační kmeny meningokoka mají významně intenzivnější imunostimulační aktivitu oproti invazivním kmenům.

Díky nižší imunostimulační aktivitě invazivní kmeny zřejmě lépe proniknout do krevního řečiště

Potměšil et al., APMIS, 2014

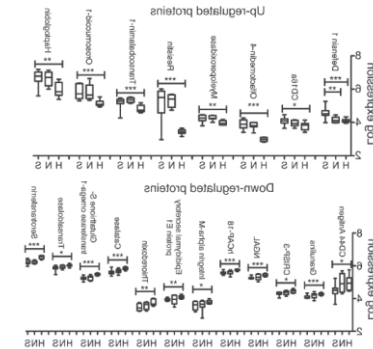
Vhodné biomarkery sepsy a těžké bakteriální infekce



Při analýze významu 7 biomarkerů v diagnostice těžkých bakteriálních infekcí jsme potvrdili nejvyšší senzitivitu a specifitu **procalcitoninu**

Chalupa et al., Infection, 2011

Studium patofyziologie sepsy a závažných bakteriálních infekcí



Pomocí hmotnostní spektrofotometrie bylo vytipováno **20 sérových proteinů**, které jsou specificky regulovány v sepsi.

Tyto proteiny mohou představovat možné budoucí **diagnostické a terapeutické biomarkery**

*Malmström et al.,
Thrombosis and Haemostasis, 2014*

Hlavní výzkumné oblasti

1. Dědičně podmíněné nemoci – identifikace genetických příčin a studium mechanismů
2. Vývojové, epigenetické a adaptační mechanismy
3. Interakce mikroorganismů a hostitele
4. Etické aspekty molekulové medicíny

Etické aspekty molekulové medicíny

Zaměření:

1. novorozenecký screening
2. kvalita života a vrozené předpoklady

Vzniklo 10 dedikovaných publikací v recenzovaných časopisech či monografiích, byly obhájeny 2 disertační práce

Payne J (2015) Dobrý život mezi nadějí a spokojeností.
In: Payne J, Černý D, Doležal A (eds) Dobrý nebo lepší život?
Praha, AV ČR pp 63-83 ISBN 978-80-87439-18-0

Mezi nadějí a spokojeností je zvláštní a dosud skrytá vazba, nelze žít pouze v naději bez spokojeností a nelze žít pouze ve spokojenosti bez naděje. Uvedená hypotéza vyžaduje empirické zkoumání.

Spokojenost nemá symetrický vztah mezi strastí a slastí: slast vzniká pouze při návratu do nulové pozice a nelze ji rozmnožovat bez hranic. Nyní převládající snaha o enhancement za každou cenu je marná. Cítit opět blaho se dá jen tak, že se připustí alespoň jistá míra trápení před tím.

Naděje je vztah k budoucnosti; budoucnost není tabula rasa a je strukturovaná s tím, že člověk se k ní obrací díky své svobodné vůli a že jeho vůle ho konfrontuje s riziky všeho druhu. Ona schopnost riziko snášet je zčásti vrozená a zároveň je klíčová pro dobrý život lidské bytosti. Dle dispozice jsou dva druhy lidského ducha podle vztahu k budoucnosti: budoucnost buď přináší radost, anebo děsí. Ona vrozená schopnost je přímo závislá na fungující frontální kůře mozku a spočívá v adaptabilitě; adaptabilita poskytuje sílu snášet rizika a skrze rizika mít pozitivní vztah k budoucnosti, což je nutné pro ochotu dotyčného alespoň zčásti snášet trápení čili vzdát se spokojenosti.

SHRNUTÍ PROJEKTU A VÝHLEDY DO BUDOUCNOSTI

Celkové shrnutí projektu

Projekt přes klesající množství prostředků umožnil či přispěl k:

- **Stabilizaci týmů**
- Možnosti aplikovat o granty jednotlivým skupinám
- Tvorbě výsledků
- Výchově postgraduálních studentů
- Přípravě některých týmů zapojených do projektu Biocev
- Prezencaci výsledků (publikační náklady, účast na kongresech)

Celkové shrnutí projektu

- Projekt neumožnil zásadní rozvoj ani obnovu přístrojového vybavení
- Vlastní výzkumná práce byla z podstatné části financována účelovými prostředky (granty)
- Základní výzkum, experimentální výzkum, molekulárně biologické metody jsou finančně velmi náročné

Výhled do budoucnosti

- Skupiny soustředěné v P24 plánují pokračovat ve spolupráci i v rámci nového programu PROGRES

Ústav BIOCEV 1. LF UK

Plány v projektu PROGRES:

- Vývoj nových transgenních modelů lidských onemocnění (**Myší klinika BIOCEV**).
- Výzkum genetických aspektů krevních malignit metodami sekvenování NGS.
- Výzkum fenotypových vlastností tkání globálními technologiemi včetně proteomiky a hmotnostní spektrometrie (**Core Facility BIOCEV**) a jejich translace do diagnostiky a terapie lidských onemocnění.
- **Plán:** připojení 2 týmů: Prof. Krále (vývoj epigenetických léků) a Dr. Kostroucha (využití modelů bezobratlých)

Během trvání projektu vzniklo velké množství originálních vědeckých prací, z nichž velká část přinesla zcela prioritní výsledky, a to jak v oblasti základního výzkumu, tak s klinickými aplikacemi v oblasti diagnostiky i terapie, byly udrženy výzkumné týmy a byli podpořeni postgraduální studenti.

Bylo dále rozvíjeno prostředí spolupráce, komplexního přístupu k molekulární patogenezi chorob od genetických příčin po další faktory rozvoje jejich fenotypu endogenními i exogenními faktory.

DĚKUJI ZA POZORNOST