



evropský
sociální
fond v ČR



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



INVESTICE
DO ROZVOJE
Vzdělávání

Analysis of the immunogenic properties of recombinant antigens of the spirochete *Borrelia burgdorferi*

Faculty of Medicine and Dentistry
Department of Immunology

Mgr. Michal Křupka, Ph.D.

Michaela Sopko

Propojení výuky oborů Molekulární a buněčné biologie a Ochrany a tvorby životního prostředí OPVK
(CZ.1.07/2.2.00/28.0032)



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



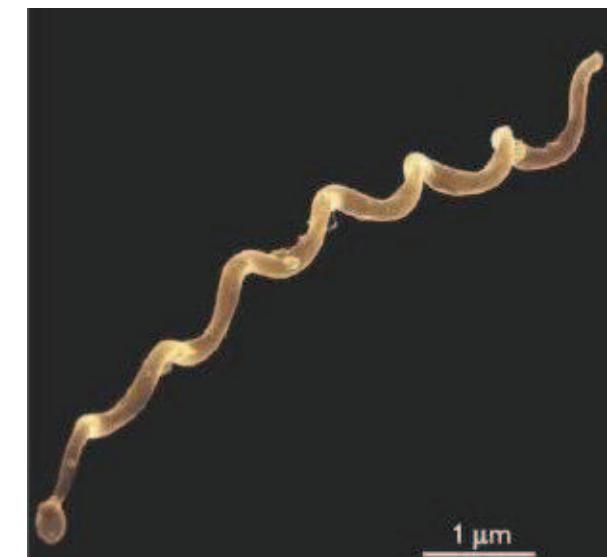
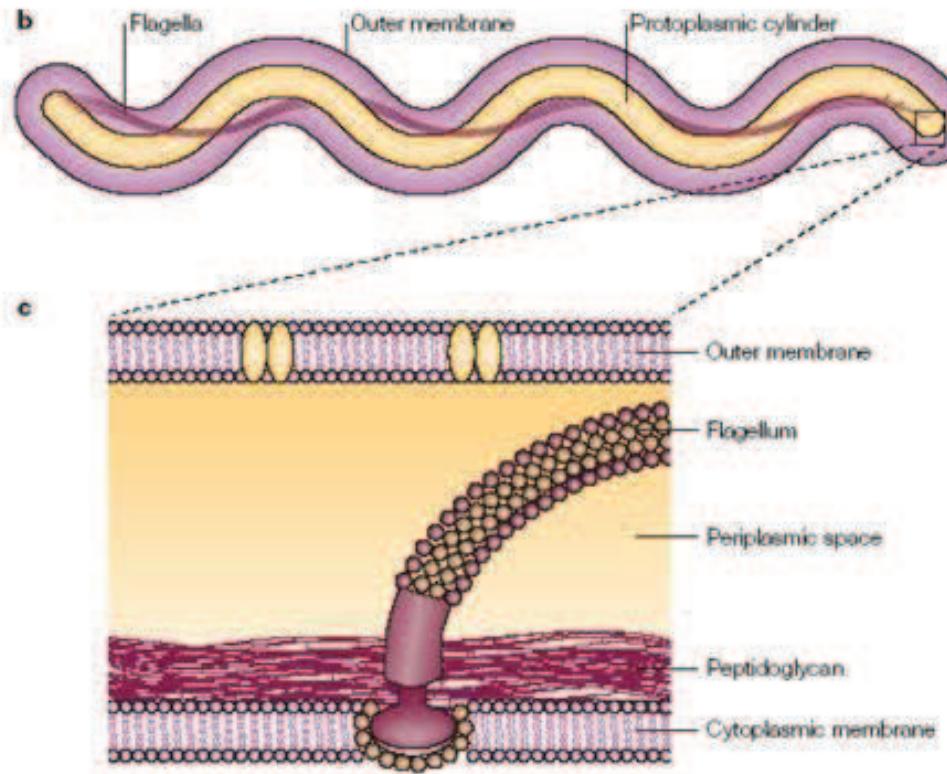
INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

- # Aims
- Purification of the recombinant antigen using chromatographic methods
 - Characterization and quantification of antigen
 - Evaluation of antibody response after vaccination of experimental mice

Borrelia burgdorferi

- Bacterial species of the spirochete class
- Antigens are bound to the surface membrane and flagella
- Europe and USA
- Transmitted by ticks
- Predominant causative agent of Lyme disease

Borrelia burgdorferi



Lyme disease

- Flu-like early symptoms
- *Erythema migrans*
- Arthritis
- Neurological symptoms
- Diagnosed by ELISA or Western blot
- Treated using antibiotics
- No available vaccine on the market

Erythema migrans





INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Methods

- Affinity chromatography
- SDS-PAGE
- ELISA



INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Sources

- BARTŮNĚK *et al.* (2006): Lymeská borelioza. Grada Publishing, a.s., Praha.
- <http://www.webmd.com/rheumatoid-arthritis/arthritis-lyme-disease>
- <http://lymediseaseguide.org>
- <http://www.antimicrobe.org/new/b84.asp>
- <http://cvmdl.uconn.edu/service/tick.php>
- <http://www.erythemamigrans.nl>
- http://medicine.academic.ru/2845/Erythema_chronicum_migrans
- <http://www.svetkolemnas.info/novinky/zajimavosti/289-16-desivych-snimku-z-mikroskopu>



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenční schopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ



© 2011 J. Bennett Media

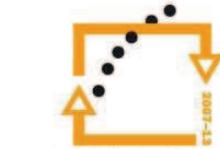
Thank you for your attention!



evropský
sociální
fond v ČR



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenčníchopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Study of the selectivity of clinically tested inhibitors of cyclin-dependent kinases

Laboratory of growth regulators

Palacký University Olomouc & Institute of Experimental
Botany AS CR

Denisa Hendrychová

Propojení výuky oborů Molekulární a buněčné biologie a Ochrany a tvorby životního prostředí OPVK
(CZ.1.07/2.2.00/28.0032)



INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Cyclin-dependent kinases (CDKs)

- Serine/threonine protein kinases
- Cell cycle regulation, transcription and other processes
- Activity requires association with regulatory subunits – a cyclin
- Cyclin synthesis and degradation, phospho- and dephosphorylation, presence of CDK inhibitors, CDK-activating kinases and CDC25 phosphatases, subcellular localization



INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

CDKs

- Number of CDKs increased during evolution
- Human genome
 - 21 genes encoding CDK1-CDK20
 - 5 genes encoding CDK like kinases (CDKL)
- CDKs fall into **8 subfamilies**

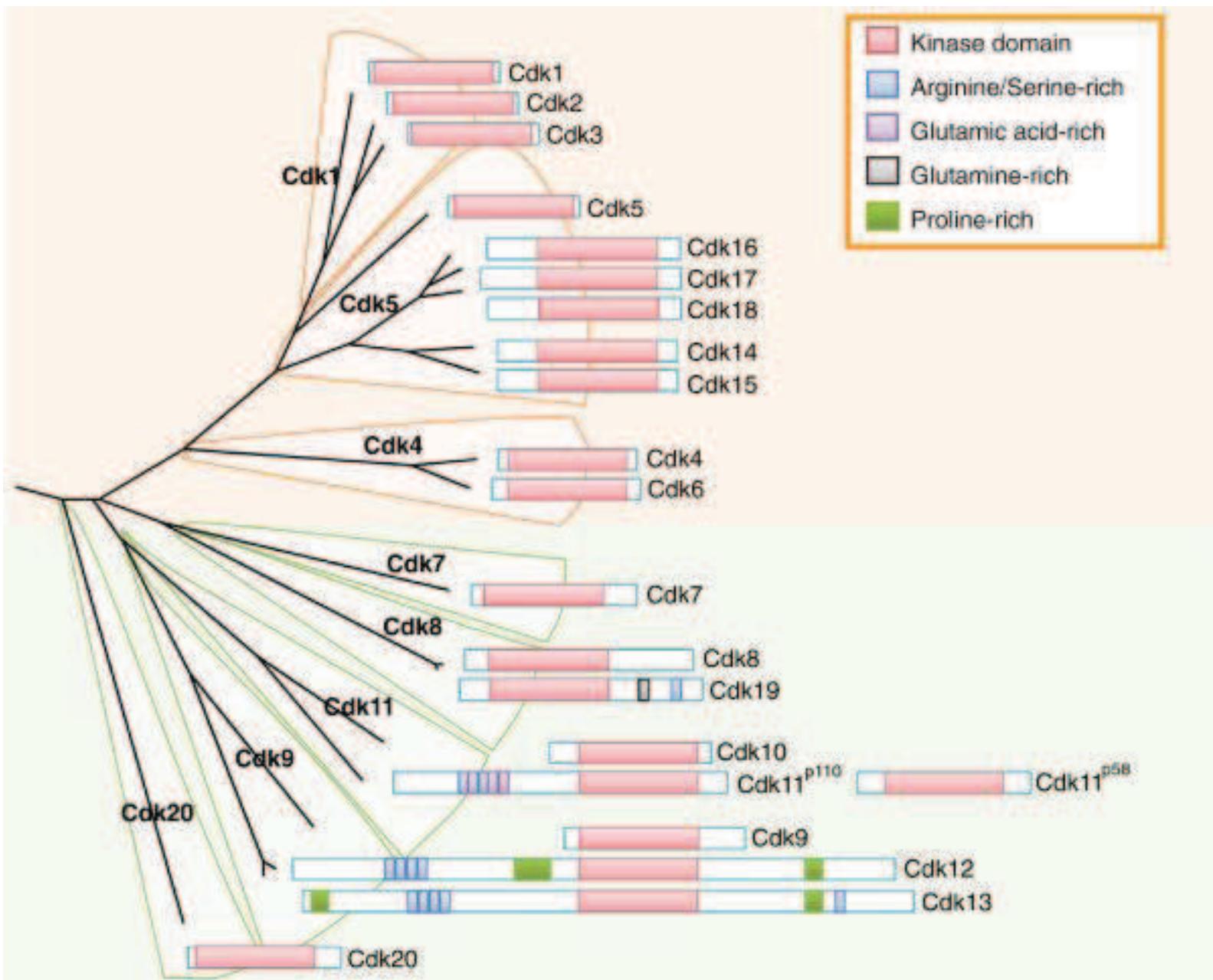


Figure 1: Evolutionary relationships among the mammalian CDK subfamilies



INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

CDKs

- CDK1-9 – well understood
- CDK10-20 – poorly understood
- However, substantial progress has been made in understanding of function and regulation of these kinases



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Cancer therapy

- CDKs due to their important functions become an interesting target
- Development of pan-selective inhibitors
- Selectivity to CDK1-9, but not to CDK10-20



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Practical part of my thesis

- Study of the selectivity of clinically tested inhibitors of CDKs

- Methods:

Transformation of plasmid DNA

Plasmid DNA purification

Transfection

Purification of protein

Western blot analysis

In vitro kinases assays



evropský
sociální
fond v ČR



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



INVESTICE
DO ROZVOJE
Vzdělávání
pro konkurenčníchopnost

Sources

Malumbres, M. (2014): Cyclin-dependent kinases. *Genome Biology* 15: 122.

Cao, L., Chen, F., Yang, X., Xu, W., Xie, J., Yu, L. (2014): Phylogenetic analysis of CDK and cyclin proteins in premetazoan lineages. *BioMed Central Evolutionary Biology* 14: 10.

Mikolcevic, P., Rainer, J., Geley, S. (2012): Orphan kinases turn eccentric, A new class of cyclin Y-activated, membrane-targeted CDKs. *Cell Cycle* 11: 3758-3768.

Malumbres, M., Harlow, E., Hunt, T., Hunter, T., Lahti, J.M., Manning, G., Morgan, D.O., Tsai, L., Wolgemuth, D.J. (2009): Cyclin-dependent kinases: a family portrait. *Nature Cell Biology* 11: 1275-1276.

Carnero, A. (2002): Targeting the cell cycle for cancer therapy. *British Journal of Cancer* 87: 129-133.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenčníchopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

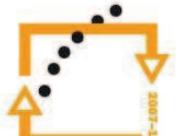
**Thank you for your
attention!**



evropský
sociální
fond v ČR



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenčníchopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Variability of *Plasmopara halstedii* populations in the Czech republic

doc. RNDr. Michaela Sedlářová, Ph.D.
Department of Botany

Autor: Lucie Slobodianová

Propojení výuky oborů Molekulární a buněčné biologie a Ochrany a tvorby životního prostředí OPVK
(CZ.1.07/2.2.00/28.0032)



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenčníchopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Plasmopara halstedii

- Obligate, biotrophic parasite
- Fungal organism (Kingdom: Chromista, a group called peronosporales mildew)
- Infect plants from the family *Asteraceae*
- Cause a quarantine disease known as sunflowers downy mildew
- Its host is the most important agricultural crop *Helianthus annuus* L. (sunflower)
- Cause economic losses

Symptoms

Cause morphological and anatomical changes:

- Visible light green to yellow spots (chlorotic lesions) on the upper side of leaves = chlorosis, necrosis



(www.web2.mendelu.cz, 17. 3. 2015)



(www.forestryimages.org, 17. 3. 2015)



evropský
sociální
fond v ČR



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Symptoms

- Deformation inflorescence
- Seeds - small, deformed



(www3.syngenta.com, 16. 3. 2015)



([www.commons.wikimedia.org](https://commons.wikimedia.org), 16. 3. 2015)

Symptoms

- Presence of white mycelium on leaf surface



(www.biolib.cz, 16. 3. 2015)

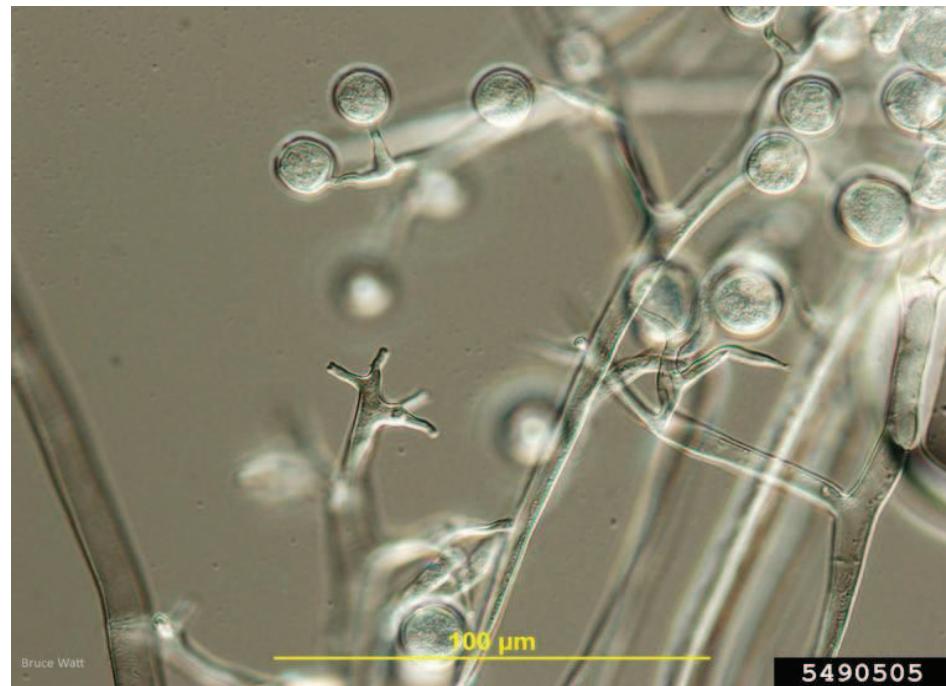


- Dwarf infected plants →

(www.eppo.int, 16 . 3. 2015)

Morphology

- Sporangiophores: slim and branched and on their ends are located sporangia - ovoid or ellipsoidal shape



(www.forestryimages.org, 16. 3. 2015)



INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Aims and Methods

- Literature review
- Cultivation isolates of *Plasmoroma halstedii*
- Plant inoculation, isolation zoospore
- Study of polymorphisms:
molecular method – AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

AFLP

- Is based on the selective amplification of restriction fragments genomic DNA, in which is used PCR

Basic steps:

- DNA cleavage by restriction endonucleases
- Ligation of adapters
- Selective amplification of restriction fragment
- Electrophoresis
- Detection



INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Thank you for your attention



Zdroje

- PlantPro [online] 2014 [cit. 29. 12. 2014]: Vše o slunečnici. Dostupné z: <http://www.plantprotection.hu/modulok/cseh/sunflower/downy_sun.htm>.
- Sedlářová, M., Stojaspal, K., Lebeda, A. (2010): Rozšíření a patogenita *Plasmopara halstedii*, původce plísň slunečnice, v České Republice. Rostlinolékař, 1: 17–20.
- Spring, O. (2001): Nonsystemic infection of sunflower with *Plasmopara halstedii* and their putative role in the distribution of the pathogen. Journal of Plant Diseases and Protection, 108: 329–336.
- Syngenta [online] 2014 [cit. 28. 12. 2014]: Plíseň slunečnicová. Dostupné z: <<http://www3.syngenta.com/country/cz/cz/syngenta/reseni-syngenta/agroservis/atlas-nemoci/Pages/plisen-slunecnicova.aspx>>.
- Úroda [online] 2014 [cit. 27. 12. 2014]: Aktuálně o chorobách slunečnice. Dostupné z: <<http://uroda.cz/aktualne-o-chorobach-slunecnice/>>.



evropský
sociální
fond v ČR



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Zdroje (obrázky)

- EPPO [online] 2015 [cit. 16. 3. 2015]: European and Mediterranean Plant Protection Organization, *Plasmopara halstedii*. Dostupné z: <http://www.eppo.int/QUARANTINE/fungi/Plasmopara_halstedii/PLASHA_images.htm?utm_source=www.eppo.org&utm_medium=int_redirect>.
- Biolib.cz [online] 2015 [cit 16. 3. 2015]: Vřetenatka slunečnicová *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. et De Toni 1888. Dostupné z: <<http://www.biolib.cz/cz/taxonimage/id79607/?taxonid=366034&type=1>>.
- Forestry images [online] 2015 [cit 17. 3. 2015]: Downy mildew *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. et De Toni. Dostupné z: <<http://www.forestryimages.org/browse/subinfo.cfm?sub=11133>>
- Forestry images [online] 2015 [cit 16. 3. 2015]: Downy mildew *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. et De Toni. Dostupné z: <www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5490505>.
- Syngeta [online] 2015 [cit. 16. 3. 2015]: Plíseň slunečnicová. Dostupné z: <<http://www3.syngenta.com/country/cz/cz/syngenta/resensi-syngenta/agroservis/atlas-nemoci/Pages/plisen-slunecnicova.aspx>>.
- Fytopatologie cvičení [online] 2015 [cit. 17. 3. 2015]: Houby a houbám podobné organismy, Chromista. Dostupné z: <http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=125>



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenčníchopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Locus characterization of yield affecting gene **SRS1** in selected set of wheat cultivars

Svobodová Vendula

Supervisor: Mgr. Miroslav Valárik, Ph.D.
Ústav experimentální botaniky AV ČR, v. v. i.

Propojení výuky oborů Molekulární a buněčné biologie a Ochrany a tvorby životního prostředí OPVK
(CZ.1.07/2.2.00/28.0032)



evropský
sociální
fond v ČR



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Wheat

- Bread wheat (*Triticum aestivum*)
- Feeds 35% of the human population
- Allohexaploid ($2n = 6x = 42$; AABBDD)
- 17 GB, 5x larger than the human genome
- 90% of the wheat grown worldwide

Rice

- Gene *SRS1* (*SMALL AND ROUND SEED 1*)
- Seed size, dense and erect panicle
- Directly determines grain yield
- Phenotype *srs1* mutants were compared with the corresponding wild-type



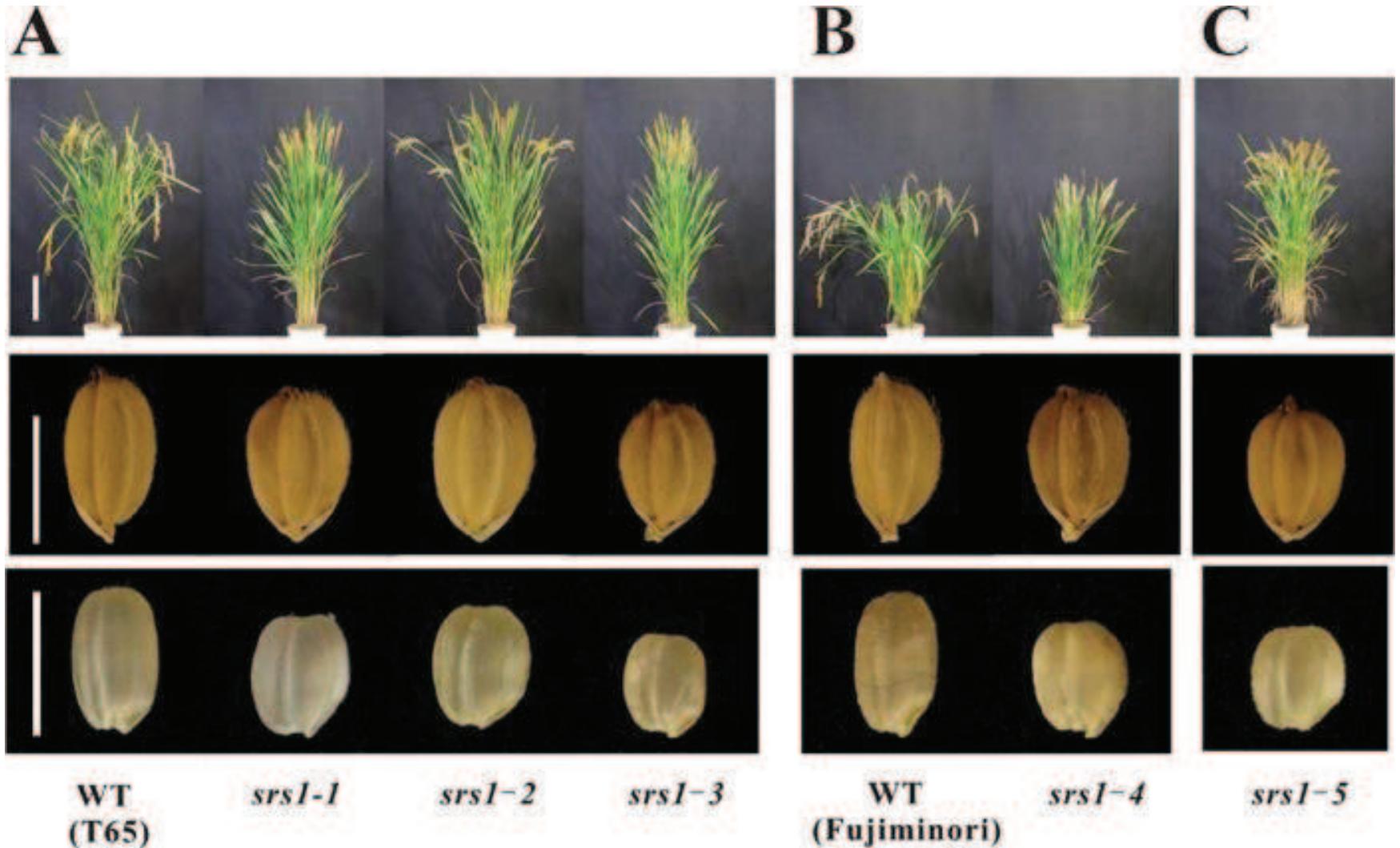
evropský
sociální
fond v ČR



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ



(Abe a kol., 2010)



INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

SRS1 gene

- Identification in wheat
- Diploid species *Triticum monococcum*
- Mapping is based on homology
- Testing sets of primers
- Sequencing of PCR products
- Design new set of primers
- Mapping in other wheat cultivars



evropský
sociální
fond v ČR





INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

- DNA isolation
- PCR with several sets of primers
- PAGE
- Sequencing
- Sequence analysis

Methods

Hypothesis and problems

- Gene function, effect on grain shape, to influence grain yield
- Not sequenced cultivars yet
- Difficult to link genotype with phenotype



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ



Thank you for your attention