

Odborné údaje nad rámec zákona pro výzkumné účely

Údaje o darovaném embryu, z kterého linie vznikla

IDENTIFIKAČNÍ ČÍSLO LINIE: 015

1. Bylo embryo připravené metodou IVF (in vitro fertilization) nebo ICSI (intracytoplasmic sperm injection)?

IVF

2. Bylo darované embryo dlouhodobě zamrazené nebo čerstvé, tj. přímo po IVF nebo ICSI a následné kultivaci?

Čerstvé

3. Bylo embryo poškozené a tedy nepoužitelné pro léčbu neplodnosti, nebo v dobrém fyziologickém stavu, avšak nadbytečné pro optimální přenos do dělohy příjemce?

V dobrém fyziologickém stavu, avšak nadbytečné pro optimální přenos do dělohy příjemce

4. Byla u embrya provedena preimplantační diagnostika?
V případě, že ano, s jakým výsledkem?

Ne

Údaje o linii hESCs

5. Byly údaje obsahující základní charakteristiku linie hESCs publikovány v odborném tisku?

V případě, že ano, uveďte citaci.

HAMPL, A.; KOŠKOVÁ, S.; VODINSKÁ, M.; DVOŘÁK, P. (2004) Derivation and characterization of new human embryonic stem cell lines in Czech Republic. **The Pulse - ISSCR Newsletter**, 2, Issue 12.

international Stem Cell Initiative, Adewumi O, Aflatoonian B., Ahrlund-Richter L., Amit M., Andrews P.W., Beighton G., Bello P.A., Benvenisty N., Berry L.S., Bevan S., Blum B., Brooking J., Chen K.G., Choo A.B., Churchill G.A., Corbel M., Damjanov I., Draper J.S., Dvorak P., Emanuelsson K., Fleck R.A., Ford A., Gertow K., Gertsenstein M., Gokhale P.J., Hamilton R.S., Hampl A., Healy L.E., Hovatta O., Hyllner J., Imreh M.P., Itskovitz-Eldor J., Jackson J., Johnson J.L., Jones M., Kee K., King B.L., Knowles B.B., Lako M., Lebrin F., Mallon B.S., Manning D., Mayshar Y., McKay R.D., Michalska A.E., Mikkola M., Mileikovsky M., Minger S.L., Moore H.D., Mummery C.L., Nagy A., Nakatsuji N., O'Brien C.M., Oh S.K., Olsson C., Otonkoski T., Park K.Y., Passier R., Patel H., Patel M., Pedersen R., Pera M.F., Piekarczyk M.S., Pera R.A., Reubinoff B.E., Robins A.J., Rossant J., Rugg-Gunn P., Schulz T.C., Semb H., Sherrer E.S., Siemen H., Stacey G.N., Stojkovic M., Suemori H.,

Szatkiewicz J., Turetsky T., Tuuri T., van den Brink S., Vintersten K., Vuoristo S., Ward D., Weaver T.A., Young L.A., Zhang W.. (2007):
Characterization of human embryonic stem cell lines by the International Stem Cell Initiative.
Nature Biotechnology **25**: 803-816.

Dvořák, P., Dvořáková, D.; Košková, T.; Vodinská, M.; Najvirtová, M.; Krekáč, D.; Hampl, A. (2005) Expression and potential role of fibroblast growth factor 2 and its receptors in human embryonic stem cells. **Stem Cells**, **23**: 1200-1211.

V přípravě k zaslání do časopisu Stem Cells and Development je v recenzním řízení rukopis práce:

Vladimir Vinarsky, Jan Skrivanek, Liina Rankel, Zuzana Nahacka, Ladislav Andera and Ales Hampl. Human embryonic and induced pluripotent stem cells express TRAIL receptors and can be sensitized to TRAIL-induced apoptosis.

6. V případě že základní charakteristika linie hESCs nebyla publikována v odborném tisku, byly provedeny následující analýzy?

- a/ karyotyp včetně určení pohlaví;
- b/ povrchové markery (SSEA1, SSEA3, SSEA4, TRA-1-60, TRA-1-81);
- c/ další povrchové markery;
- d/ exprese Oct-4;
- e/ exprese zásadité fosfatázy;
- f/ diferenční kapacita v systému embryoidních tělísek nebo teratomů.

Byla publikována - viz bod 5.

7. Byly v průběhu dlouhodobé kultivace zjištěny u linie hESCs genetické abnormality?

V případě, že ano, jaké a v jaké pasáži?

Ano

CP 61 (enzymatická pasáž) 47, XX, +12

8. Je linie hESCs určena pro výzkumné nebo klinické použití nebo oboje?

Výzkumné účely

9. Je linie hESCs dostupná pro další laboratoře nebo klinická pracoviště?

V případě, že ano, jaká je cena za ampuli a v jaké pasáži jsou buňky distribuovány?

NE.

Linie vznikla oddělením od linie 014 vytvořené Oddělením molekulární embryologie Ústavu experimentální medicíny AV ČR, v. v. i., Kamenice 5, 625 00 Brno, které bylo ke dni 31.12.2011 zrušeno. Linie se používá k výzkumu na Masarykově univerzitě, Žerotínovo náměstí 9, 601 77 Brno, IČ 00216224. Ze zrušeného pracoviště vzniklo další pracoviště Lékařské fakulty Masarykovy univerzity - Ústav histologie a embryologie, budova 1, Kamenice 3, 625 00 Brno, pro které bylo rozšířeno rozhodnutím č.j.: 33/2012-31 povolení k výzkumu na lidských embryonálních kmenových buňkách č.j. 627/2007, které nabylo právní moci 18.1.2012.

Linie je dostupná u Masarykovy univerzity za podmínek uvedených v bodě 9. odborných údajů o registrované linii 014.

Kvůli výzkumným účelům v rámci projektu „Expres, signalizace a funkce receptorů smrti v lidských embryonálních kmenových buňkách“ financovaného Grantovou agenturou ČR a vedeného pod identifikačním číslem P301-10-1971 byly v naší laboratoři připraveny subklony výše zmíněné linie 015. Tyto subklony (výčet níže) byly připraveny standardními technikami molekulární biologie a jsou nezbytné pro přípravu publikace analyzující expresi a signalizaci těchto receptorů v lidských embryonálních buňkách. Subklony jsou evidovány, skladovány za standardních podmínek obdobných jako linii 015 a je s nimi manipulováno v Laboratoři buněčné signalizace a apoptózy ÚMG AV ČR.

Výčet připravených subklonů linie 015:

Číslo	Označení subklonu	Popis subklonu	Rezistence	Poznámka
2300915	hESCs-015/shFlip2	Exprimuje shRNA proti cFLIP	puromycin	Eviduje se
2300916	hESCs-015/shFlip1	Exprimuje shRNA proti cFLIP	puromycin	Eviduje se
2300917	hESCs-015/shMcl-1 2	Exprimuje shRNA proti Mcl-1	puromycin	Eviduje se
2300918	hESCs-015/shMcl-1 4	Exprimuje shRNA proti Mcl-1	puromycin	Eviduje se
2300919	hESCs-015/pLKOempty	Kontrola, neexprimuje shRNA	puromycin	Eviduje se
2300920	hESCs-015/pLKOempty	Kontrola, neexprimuje shRNA	puromycin	Eviduje se
2300880	hESCs-015/EGFP	Exprimuje EGFP	puromycin	Zlikvidován
2300881	hESCs-015/Casp8	Exprimuje kaspázu 8	puromycin	Zlikvidován

Poznámka: Subklony evidovány pod čísly 2300880 a 2300881 se ukázaly jako nefunkční a byly zlikvidovány podle stávajících bezpečnostních předpisů pro manipulaci s lidskými ES buňkami a GMO předpisů.

10. Byla linie hESC derivována v GMP (good manufacturing practices) podmínkách?

Ne

11. Byla linie hESCs derivována za použití myších nebo lidských fibroblastů?

Použití primárních fibroblastů z myší kmene CF-1

12. Je linie hESCs derivována a kultivována v přítomnosti zvířecích produktů?

Ano

Doplňující údaje o okolnostech získání linie hESCs

13. Byla studie zahrnující derivaci linie schválena etickou komisí příslušné instituce, případně jinou etickou komisí?

Ano

14. Byl dárci embrya poskytnutého pro derivaci linie předložen, náležitě vysvětlen a podepsán informovaný souhlas?

Ano

V případě, že ano:

14.1. Obsahoval souhlas informací o typu výzkumu, ke kterému by linie hESCs měla být v budoucnu využívána?

Ano

14.2. Obsahoval souhlas informací o možném použití linie hESCs pro klinické účely?

Ne

14.3. Obsahoval souhlas informací o tom, že dárcovství embrya nebude mít žádný vliv na průběh jejich další léčby?

Ne

14.4. Obsahoval souhlas informací, že darování embrya může být odvoláno pouze do okamžiku zahájení vlastního procesu derivace linie?

Ne

14.5. Obsahoval souhlas informací o tom, že derivace hESCs z darovaného embrya je náročný proces, který často nevede k získání linie a toto může platit i v daném konkrétním případě?

Ne

14.6. Obsahoval souhlas informací o tom, že od okamžiku darování embrya nebudou mít dárce žádnou možnost ovlivňovat výzkumné nebo klinické využívání linie hESCs nebo dalších buněčných sublinií z hESC vytvořených?

Ne

14.7. Obsahoval souhlas informací o tom, že linie hESCs nebo jiné buněčné sublinie z ní derivované mohou být v budoucnosti patentovány nebo použity ke komerčním účelům a že dárce z tohoto nebude mít žádný finanční prospěch?

Ne

14.8. Obsahoval souhlas informací o tom, z jakých zdrojů je podporován výzkum hESCs v konkrétní instituci, ve které jsou linie hESCs derivovány?

Ne

Odborné doplnění bodu 5. a 9.: RNDr. Ladislav Anděra, CSc. (tel.: 241 062 471)
Upřesnění bodu 9: Mgr. L. Krušinová (tel.: 234 811 295)