

Oponentský posudek na disertační práci

Jméno oponenta: doc. RNDr. Jan Brábek, Ph.D.

Datum: 3. 11. 2016

Autor: Mgr. Martina Verdánová

Název práce: Vliv uhlíkových nanostruktur na chování lidských buněk a význam fetálního bovinního séra během buněčné adheze

Práce Mgr. Martiny Verdánové byla vytvořena v rámci doktorského studijního programu Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie na Univerzitě Karlově pod vedením Doc. RNDr. Marie Hubálek Kalbáčové, Ph.D.. Práce je zaměřena na charakterizaci vlivu uhlíkových alotropů na chování lidských buněk. Takováto charakterizace je velmi důležitá vzhledem k tomu, že uhlíkové nanomateriály mají rozsáhlé ověřené i potenciální využití v biomedicíně – např. potahování implantátů, doprava léčiv do buněk, biosenzory.

První část práce je tvořena úvodem - dobře napsaným a informativním přehledem problematiky, v němž jsou shrnuty základní informace o uhlíkových nanomateriálech a povrchových vlastnostech materiálů, ovlivňujících chování buněk. Další část přehledu je potom věnována adhezi buněk, včetně popisu hlavních signálních drah a mezibuněčné hmotě. Poslední kapitoly úvodu jsou věnovány vlastnostem fetálního bovinního séra a kryoprezervaci buněk. Následují cíle práce a kapitola Materiál a metody, ve které jsou stručně, ale přehledně a výstižně popsány autorkou používané metody.

Na kapitolu Materiál a metody navazuje nejdůležitější část práce – Výsledky. V této kapitole je komentován obsah a přínos pěti původních publikací, kde je Martina Verdánová autorkou. V první publikaci byl studován vliv grafenu modifikovaného kyslíkem (hydrofilního) a vodíkem (hydrofobního) na adhezi lidských osteoblastů v médiu se sérem i bez séra. V navazující druhé publikaci jsou využity tytéž nanomateriály pro studium dlouhodobé adheze osteoblastů a charakterizaci velikosti a počtu fokálních adhezí. Rovněž jsou detailněji charakterizovány biofyzikální vlastnosti materiálů. Třetí práce se rovněž podrobně zabývá charakterizací biofyzikálních vlastností modifikovaných grafenů, navíc je studována proliferace osteoblastů. Následuje podkapitola o detailní charakterizaci adheze osteoblastů z hlediska zúčastněných integrinových receptorů. Čtvrtá publikace se zabývá efektem proteinů séra na iniciální fázi adheze osteoblastů. Po komentáři této publikace následuje komentář k pilotní transkriptomické studii, doplňující výsledky čtvrté publikace a rovněž podkapitola o srovnání vlivu sérových proteinů na adhezi osteoblastů, fibroblastů a lidských mezenchymálních stromálních buněk. V páté publikaci je ukázána možnost využití sericinu jako alternativního kryoprotektiva pro zamrazování osteoblastů a lidských mezenchymálních stromálních buněk.

V kapitole Diskuse jsou dosažené výsledky zdařile diskutovány a uváděny do kontextu nejnovějších poznatků v oboru. Zároveň je diskutován význam výsledků pro biomedicínu. Kapitola Závěr obsahuje stručné a přehledné shrnutí výsledků práce a jejich významu. Následuje přehled publikací doktorandky, zahrnující sedm kvalitních publikací v mezinárodních recenzovaných časopisech s impaktním faktorem, ve třech případech je

Martina Verdánová první a ve třech případech druhou autorkou. Minimálně jedna další publikace (kde je doktorandka rovněž první autorkou) je v recenzním řízení. Práce je napsaná dobrou angličtinou. I z hlediska literárního a grafického zpracování je velmi dobrá. To dokumentuje autorčinu snahu a schopnost prezentovat výsledky na úrovni.

Podle mého názoru předložená práce jednoznačně prokazuje způsobilost Martiny Verdánové k tvůrčí vědecké práci a odpovídá požadavkům kladeným na doktorandskou disertační práci.
Proto doporučuji, aby práce byla přijata jako základ pro řízení o udělení vědecké hodnosti Ph.D.

K práci nemám žádné zásadní formální připomínky (snad pouze - Úvod by mohl být ještě názornější s více obrázky!) a mám následující otázky:

Myslíte, že by se na okrouhlém tvaru a menším povrchu osteoblastů, adherovaných v přítomnosti FBS (např. str. 131 odst. 3.1) mohla podílet zvýšená aktivace malé GTPázy Rho (A, C) prostřednictvím kyseliny lysofosfatidové za séra?

Zvažujete analyzovat lokalizaci a kvantitu Rho aktivace při adhezi s využitím Rho biosenzoru? Případně analyzovat rozdíly ve fosforylaci substrátů kinázy Src v integrinové signalizaci (pFAK861, pCAS, ppaxillin apod.)?

Zkusila jste se podívat na autokrinní sekreci ECM proteinů (např. fibronektinu) osteoblasty?

Pozn.: Do práce by možná hodilo někam zařadit „zakladatelskou“ citaci:
Grinnell F, Feld MK. Initial adhesion of human fibroblasts in serum-free medium: possible role of secreted fibronectin. Cell. 1979; 17(1):117-29.

Podpis oponenta:



Doc. RNDr. Jan Brábek, Ph.D.