

Posudek školitele diplomové práce „Ustavení a charakterizace nové myelomové buněčné linie ÚHKT-893 závislé na IL-6“ předkládané diplomantkou Bc. Irenou Vančurovou.

Bc. Irena Vančurová, absolventka 4.-5. ročníku magisterského studijního programu biologie, studijního oboru imunologie, vypracovávala diplomovou práci s názvem „Ustavení a charakterizace nové myelomové buněčné linie ÚHKT-893 závislé na IL-6“ v naší laboratoři na oddělení buněčné biochemie Ústavu hematologie krevní transfuze v Praze v letech 2010-11 pod mým vedením.

Hlavním cílem předkládané diplomové práce byla dlouhodobá kultivace a studium nádorových-myelomových buněk nemocných mnohočetným myelomem. Dlouhodobým cílem řešeným v naší laboratoři bylo ustavení nových permanentních buněčných linií myelomových plasmatických buněk. Tohoto cíle bylo dosaženo postupnou kultivací 49 vzorků kostní dřeně nemocných, kdy u nemocné po autologní transplantaci kmenových buněk došlo k relapsu onemocnění a znovuobjevení klonu myelomových buněk schopných neomezeného dělení v tkáňové kultuře po dobu delší než 1 rok. Takto ustavená buněčná linie byla nazvána ÚHKT-893.

Přestože kultura vznikala v přítomnosti faktoru stimulujícího kolonie granulocytů (G-CSF), vzniklá permanentní linie měla charakter plasmatických buněk produkujících monoklonální imunoglobulin IgG a jeho lehké řetězce K.

Kultura však je do současnosti závislá na trvalé přítomnosti interleukinu 6 (IL-6) v koncentraci minimálně 1 ng/ml.

Byla provedena základní charakterizace vznikající buněčné linie, jedná se především o průkaz sekrece imunoglobulinů a jejich volných lehkých řetězců, dále byla provedena dvourozměrná elektroforéza v polyakrylamidovém gelu s návaznou analýzou

silného spotu technikou MALDI. Bylo zjištěno, že se jedná o lehký řetězec Ig kapa.

Podrobně byly také studovány růstové charakteristiky buněk linie ÚHKT-893 během celého více než ročního období kultivace v naší laboratoři.

Velká část práce se zabývá charakterizací fenotypu buněčné linie. Opakovaně se během celého kultivačního období podařilo prokázat expresi povrchových molekul typických pro zralé plasmatické buňky – CD138 a CD38, naopak antigeny charakteristické pro B buňky, CD19, CD20, CD21 a HLA-DR exprimovány nebyly. Buňky této linie kromě toho také exprimují antigeny CD45, CD56, CD117 a CD44. Linie neexprimuje žádné T-buněčné antigeny ani CD5.

Je přínosem, že k typování bylo využito panelu dříve ustavených hematopoetických linií jako pozitivních i negativních kontrol. To značně zvyšuje přesnost a specifičnost hodnot naměřených fluorescenční průtokovou cytometrií. Pozitivní exprese některých antigenů byla také potvrzena ve fluorescenční mikroskopii, což je demonstrováno na Obr. 12.

Byly také provedeny pokusy indukce senescento těchto buněk, což je demonstrováno na obr. 13.

Diplomová práce má celkem 73 stran, obsahuje 77 citací, má 13 barevných obrázků, množství grafů, tabulek a histogramů průtokové cytometrie. Práce je také metodicky bohatá a využívá jak metod buněčné biologie tak i metod biochemických. Práce kromě bohatých výsledků obsahuje i vyčerpávající teoretickou část, seznamující s historií tohoto zhoubného onemocnění a s historií myelomových kultur a podává jejich přehled do současnosti včetně tabulky s charakteristikami dosud ustavených lidských plasmocytových buněčných linií ve světové literatuře.

Diplomová práce jasně dokazuje vědecké schopnosti a vyčerpávající znalosti absolventa magisterského studia biologie, čímž jistě splňuje kriteria pro udělení titulu Mgr.

V Praze dne 12. 9. 2011

Doc. RNDr. Petr Stöckbauer, CSc.
Oddělení buněčné biochemie ÚHKT
U Nemocnice 1, 12820 Praha 2
petr.stockbauer@uhkt.cz