

# Oponentský posudek

## diplomové práce „Ustanovení a charakterizace nové myelomové buněčné linie ÚHKT-893 závislé na IL-6“

Bc. Irena Vančurová, PřF UK v Praze, 2011

Cílem předložené práce bylo ustavení nových permanentních linií nádorových plasmatických buněk kostní dřeně, které byly odebrány nemocným s mnohočetným myelomem. Primárním úkolem byla kultivace četných primárních sekčních vzorků, morfologické sledování buněk a změn v průběhu dlouhodobých buněčných kultur v podmínkách *ex vivo* při vyloučení EBV infikovaných linií a posléze ustavení a charakterizace linie ÚHKT-893.

Práce obsahuje 73 stran textu, barevných vyobrazení, tabulek a grafů. Dvanáctistránkový teoretický úvod seznamuje velmi přehledně s historií, klinickým obrazem a léčbou mnohočetného myelomu. Představuje plasmatické buňky a vývoj B-lymfocytů. Obsáhle je popsána exprese diferenciacních znaků, která je odvozena od recentního písemnictví. Pasáž věnující se buněčným liniím popisuje podmínky ustavení permanentních linií a historický přehled myelinových linií včetně jejich vybraných vlastností. Draxlerovu tabulku doplňuje o nově popsané linie do roku 2011.

*K této části mám připomínku k pasáži o Ig (str.14) neboť tvrzení že izotypy se liší (kromě jiného) počtem  $C_H$  (v počtu 3-4), pak tato úvaha se netýká jen humánního typu, ale obecně živočišné říše. U kterých druhů je počet  $C_H$  odlišný? K tab. 1: které lidské izotypy IgG neváží komplement?*

V části materiálu a metod je na 10 stranách přehledně zpracována metodika týkající se buněčných kultur od zpracování primárních buněk kostní dřeně, přes kultivační propagaci až po finální zmrazení, vyloučení EBV infikovaných linií a morfologickou charakterizaci. Dále je popsána metodika postupného snižování koncentrace IL-6, průkaz sekrece Ig proteinová analýza lyzátu buněk 2D elektroforézou a hmotnostní spektrometrií. Pasáž o průkazu povrchových markerů imunofluorescenčním značením je zakončena tabulkou 22 aplikovaných primárních protilátek a výčtem pozitivních a negativních kontrolních linií. Měření senescence bylo prováděno komerčním kitem prokazujícím  $\beta$ -galaktosidázovou aktivitu při pH 6.

Výsledková část je pečlivě zpracována a dokumentována na 28 stranách. Byly zahrnuty buňky kostních dření od 49 nemocných, z nichž se zdařilo ustanovit novou linii ÚHKT-893, která byla posléze charakterizována.

*K těmto dvěma částem práce mám jen připomínku, že pokud není uveden typ centrifugy a rotoru, není možno uvádět rychlost v rpm. Mikroskopické (a elektronické) zvětšení není u snímků nátěrů jednotně uvedeno, někde chybí zcela.*

Experimentální část je přehledně řazena a doložena řadou tabulek, grafů a fotografií. Vše je logicky sestaveno tak, jak byly hodnoceny jednotlivé experimentální etapy. Ty jsou pak kriticky diskutovány a porovnány s literárními údaji. Byl sestaven rozsáhlý profil exprese CD znaků nové linie, z měření senescence lze soudit na její relativně malou spontánní míru. U sublinií se podařilo 40 x snížit koncentrační závislost na IL-6.

Ustavení nových linií plasmatických linií myelinových buněk se u nás zabývá nepatrně pracovišť a jsem rád, že tato práce byla úspěšná. Obvykle to je obtížný a zdoluhavý proces s velmi nízkou výtěžností a to zvláště při použití sekčních materiálů z období během nebo po terapii. Přitom tyto linie jsou velmi potřebné pro světovou dostupnost identického buněčného

materiálu. Permanentní linie jsou nepostradatelným modelovým systémem pro základní i aplikovaný a (hlavně farmaceutický) výzkum.

**Závěrem:**

Práce je pečlivě zpracována, obsahuje minimum překlepů, jazykových chyb a termínů laboratorního žargonu. Obsahuje 77 literárních citací, je přehledně a účelně uspořádána. Rozsahem experimentů, použitých metod, dosažených výsledků a jejich kritickým diskutováním, překladatelka potvrdila, že má předpoklady pro samostatnou, tvořivou a systematickou výzkumnou práci. Studie splnila stanovené cíle a je přínosem jak z hlediska obecných poznatků, tak i obohacením sbírkových buněčných linií.

Navrhuji, aby předložená práce byla uznána jako práce diplomová a byla v tomto smyslu kladně hodnocena.

V Praze dne 18.9.2011

RNDr. Jiří Škvor, CSc.  
1.LF UK v Praze