

Posudek školitele na diplomovou práci Bc. Johanky Kučerové: **“Úloha exprese buněčného prionového proteinu v diferenciaci neuronálních buněčných linií”**

Diplomová práce Bc. Johanky Kučerové navazuje na téma bakalářské práce, kterou Johanka vypracovala v mé laboratoři. Zatímco bakalářská práce byla zaměřena především na rešerši dostupných pramenů o úloze buněčného prionového proteinu (PrP^C) v procesu embryogeneze a diference buněčných populací, její diplomová práce je již čistě experimentální a zaměřená na práci s buněčnými liniemi schopnými propagovat priony. Jedním z problémů, které buněčné modely prionové infekce mají, je fakt, že prionová infekce nezpůsobuje buňkám v kultuře, na rozdíl od buněk v mozku, žádné detekovatelné potíže. Buňky se množí bez známek ztráty vitality a při každém dělení dojde zároveň i k rozdělení množství akumulovaných prionů. To samo o sobě může být důvodem, proč v exponenciálně rostoucích kulturách nepozorujeme žádný toxický vliv propagovaných prionů. Situaci by tak mohl vyřešit model diferencovaných, nedělících se buněk, v kterých by hladina akumulovaných prionů nebyla snižována.

Johanka se při studiu úlohy PrP^C ve své diplomové práci zaměřila na unikátní myší neurální buněčnou linii CAD5, která je odvozená od katecholaminergní neurálních buněk myšního nádoru. Tato linie je schopna propagovat řadu prionových kmenů a navíc je schopna diferenciaci do buněk připomínajících zralé neurální buňky. Johanka si položila dvě otázky:

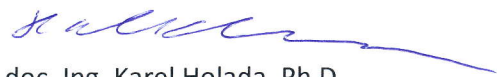
- 1) zda míra exprese PrP^C ovlivňuje proces diferenciaci CAD5 buněk
- 2) jaký je vliv prionové infekce na diferenciaci CAD5 buněk

Johanka zavedla metodu diferenciaci CAD5 kultur v médiu DMEM bez séra. Popsala změny v morfologii buněk a zástavu jejich dělení. Dále zjistila, že exprese PrP^C v průběhu diference CAD5 buněk výrazně vzrůstá. Odpověď na otázku vlivu míry exprese PrP^C na diferenciaci se pokusila nalézt pomocí linií CAD5 buněk se sníženou expresí PrP^C pomocí RNA interference. Vzhledem k tomu, že tyto linie dostupné v mé laboratoři nedávaly konkluzivní odpověď, připravila nové linie CAD5 buněk se sníženou expresí PrP^C. Pro analýzu diferenciaci použila řadu laboratorních technik, včetně kontinuálního měření buněčného indexu pomocí iCELLigence, western blotu, kvantitativní PCR a světelné mikroskopie.

Johanka prokázala schopnost samostatně řešit i komplikované experimentální úlohy, zdravý úsudek a pracovitost. Její diplomová práce má po formální stránce klasickou strukturu a ve stručnosti dokumentuje úsilí, které věnovala práci na zodpovězení položených otázek.

Z pohledu školitele Johanka s diplomovou prací uspěla (návrh hodnocení: velmi dobře), a proto ji doporučuji k obhajobě a věřím v její kladný výsledek.

V Praze, 24. května, 2016



doc. Ing. Karel Holada, Ph.D.

Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. LF UK v Praze

Studničkova 7, 128 20 Praha 2

tel. 22496 8503, mail: karel.holada@lf1.cuni.cz