

# Oddělení buněčné a molekulární biologie

Centrum biomedicínských oborů 3. lékařské fakulty University Karlovy  
Ruská 87  
100 34 Praha 10

vedoucí: Doc. RNDr. Jan Kovář, DrSc.  
Tel/fax.: + 420 267 102 650  
e-mail: jan.kovar@lf3.cuni.cz

## Školitelský posudek na diplomovou práci

### Kamila Balušíkové

#### Vliv dostupnosti sloučenin železa na expresi molekul zúčastněných v transportu netransferinových iontů železa: In vitro studie na lidských buněčných liniích K562 a Caco-2

Kamila Balušíková působila na našem oddělení jako diplomant od roku 2004. Tématem její diplomové práce bylo studium vlivu dostupnosti netransferinového železa na expresi známých molekul, které se účastní transportu netransferinového železa přes plazmatickou membránu, na úrovni mRNA u buněk lidské linie K562 (erytroleukemie) a linie Caco-2 (kolorektální karcinom).

Naše oddělení se již tradičně zabývá problematikou transportu a metabolismu železa na molekulární úrovni. Poruchy transportu a metabolismu železa v organismu mají vztah ke vzniku různých závažných onemocnění (ateroskleróza, jaterní cirhóza, hemochromatóza atd.). Předkládaná diplomová práce prezentuje výsledky studií, které jsou součástí projektu zabývajícího se vlivem dostupnosti železa na expresi molekul zúčastněných v transportu netransferinového železa. Konkrétně se diplomová práce zabývá expresí uvedených molekul na úrovni mRNA.

Kamila Balušíková na modelu lidských buněk linie K562, které reprezentují buňky výrazným způsobem využívající železo v organismu, a buněk linie Caco-2, které reprezentují buňky účastnící se absorpce železa v organismu, sledovala vliv dostupnosti železa na hladinu mRNA (1) DMT1, (2) Dcytb, (3) ferroportinu, (4) hefestinu a (5) ceruloplasminu. Změny hladiny příslušné mRNA stanovovala pomocí metody „real-time PCR“. Dostupnost železa znamenala na jedné straně deprivaci železa (definované kultivační medium bez dodaného zdroje železa) a na druhé straně nefyziologicky vysokou hladinu netransferinového železa (500  $\mu$ M citrát železitý).

„Real-time PCR“ představuje technicky velmi náročnou a pracnou metodu, která však umožňuje přesně kvantifikovat změnu hladiny sledované mRNA oproti kontrole. Kamila Balušíková zvládla vlastní metodu „real-time PCR“ i všechny ostatní příslušné metody velmi dobře. Vedle metod kultivace živočišných buněk in vitro se jedná o metody izolace RNA a reverzní transkripce.

Vedle experimentální zručnosti a potřebné pracovitosti prokázala Kamila Balušíková i teoretické schopnosti. Prokázala velmi dobrou schopnost orientace v problematice. Je schopná odpovídajícím způsobem zhodnotit jak nové literární údaje, tak i vlastní experimentální data a zařadit je do celkového kontextu řešené problematiky.

Vlastní diplomová práce tvoří logický celek s vyváženým rozsahem jednotlivých kapitol a s těžištěm v experimentální části. Diplomová práce si klade za cíl zodpovědět některé jasné formulované experimentální otázky. Tyto otázky byly potom relevantním způsobem zodpovězeny a oddiskutovány.

Celkově lze shrnout, že Kamila Balušíková svým diplomantským působením na našem oddělení i předkládanou diplomovou prací jasně prokazuje, že je schopná kvalitní badatelské činnosti. Potvrzuje to nejen skutečnost, že bude ve své práci na našem oddělení pokračovat jako doktorand, ale i spoluautorství jedné publikace zaslané do tisku a několika konferenčních příspěvků. Domnívám se proto, že předkládaná práce určitě splňuje kritéria kladená na diplomové práce a doporučuji proto její přijetí k obhajobě. Dovoluji si navrhnout ohodnotit diplomovou práci Kamily Balušíkové známkou výborně.

V Praze 23.5.2006



doc. RNDr. Jan Kovář, DrSc.