

Diplomová práce: **Kultivace neurálních kmenových buněk pro studium neurogeneze**

Autor: Bc. Martina Peřinová

Konzultant diplomové práce: Mgr. Jana Chvátalová, prof. MUDr. Jaroslav Mokrý, Ph.D., LFHK UK

Vedoucí diplomové práce: doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D., KBBV UPCE

Produkce nervových a gliových buněk (neurogeneze) vychází z tkáňově specifických neurálních kmenových buněk (NKB). NKB lze studovat v kontextu nervových tkání, resp. mikroprostředí, které je hostí, anebo v tkáňových kulturách. Pro studium *in vitro* se tradičně využívají NKB izolované z embryonálních mozků. Pluripotentní buňky mají schopnost generovat jakékoli buňky těla; v kombinaci s řízenou diferenciací představují nový nástroj s potenciálním využitím pro studium časných fází neurogeneze. Předkládaná práce Bc. Martiny Peřinové měla za cíl využít ke studiu neurogeneze NKB získané nejen z nervové tkáně, ale i embryonálních kmenových buněk s pomocí buněčných kultur, tkáňových řezů, imunocytochemie a qRT-PCR.

Studentka se během své práce v laboratoři na zadaném tématu naučila pracovat s NKB, osvojila si principy kultivace buněk, jejich pasážování, diferenciaci, kryokonzervace a práce s fázovým kontrastem. Pro charakteristiku niche subependymální zóny použila studentka metody imunofenotypizace založené na imunoperoxidázových technikách i imunofluorescenci. NKB izolovala z mozku 13,5denních myších embryí pomocí metody neurosfér. K navození neurogeneze z pluripotentních myších ES buněk jednak využila retinovou kyselinu a jednak kultivační media, v nichž byla modulována hladina základních faktorů regulujících neurogenezi. V rámci studia vlivu těchto faktorů vyhodnotila M. Peřinová i vliv BMP4 a LIF s využitím analýzy genové transkripce pomocí kvantitativní RT-PCR. Přes složitou problematiku se studentka výborně obeznámila i s cizojazyčnou odbornou literaturou a nabyté znalosti zúročila při sepsání úvodních částí i v diskuzi své diplomové práce. Samotná práce je členěna podle klasického schématu, rozsah je dle mého názoru naprosto dostatečný, text je sepsán přehledně, čtivě, věcně a je přiměřeně doplněn obrázky, grafy, tabulkami a citacemi v souladu s kladenými požadavky.

Diplomová práce Bc. Martiny Peřinové zcela splňuje všechny původně kladené cíle, celkově ji považuji za velmi zdařilou a **doporučuji ji k obhajobě.**

Mé celkové závěrečné hodnocení diplomové práce je: **A**

V Pardubicích 30. 5.2019

prof. MUDr. Jaroslav Mokrý, Ph.D.


doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.