

## OPONENTSKÝ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

Název diplomové práce: **Modifikace kultivačních povrchů poly-D-lysinem**

Autor diplomové práce: **Bc. Veronika Vašíčková**

Vedoucí diplomové práce: **RNDr. Jiří Handl, Ph.D.**

Konzultant: **Mgr. Lenka Tichá**

Oponent: **Mgr. Lenka Šmíd, Ph.D.** (KBBV)

Autorka zpracovala obecné informace o 3D metodách kultivace buněk, popsala kultivační plasty a látky používané pro úpravu kultivačních povrchů. V závěru teoretické práce se věnovala buněčné linii SH-SY5Y, včetně jejího využití při studiích neurotoxicity. Teoretická část je srozumitelně sepsána, zejména pokud jde o popis metod, plastů a charakterizaci látek. Naopak pasáže týkající se interakce látek s buňkami postrádají přesnost, a to zejména v důsledku použití nepřesné buněčné terminologie, nevhodných překladů odborných termínů a nedostatečné návaznosti mezi odstavci a větami. V teoretické části bych očekávala větší důraz na poly-D-lyzin (PDL), který je klíčovou látkou pro experimentální část práce. Popis interakcí této látky s buňkami, uvedený v krátké kapitole 1.3.4.2, je příliš stručný.

V experimentální části práce diplomantka optimalizovala postup potažení kultivačního dna poly-D-lysinem pomocí různých koncentrací a časů inkubace. Na takto připravených destičkách testovala vliv  $\text{CdCl}_2$  na buňky SH-SY5Y stanovením dehydrogenázové aktivity a hladiny glutationu ve srovnání s modelem bez ošetření poly-D-lysinem. V textu však chybí zmínka, zda bylo během sedmidenní kultivace sfér ve 100  $\mu\text{l}$  měněno kultivační medium, což by mohlo ovlivnit viabilitu buněk.

V diplomové práci se vyskytují drobné nedostatky, jako jsou překlepy, nesprávné používání velkých písmen nebo umělé prodlužování práce například vložení prázdného prostoru před obrázky či nadměrnou velikostí obrázků.

K diplomové práci mám následující dotazy:

1. A) V kapitole 1.3.4.2. popisujete poly-D-lyzin jako látku zvyšující adhezi neuronových kultur. Ve vámi citované literatuře je uvedeno, že adsorbovaný poly-D-lyzin může způsobovat shlukování neuronů a omezovat jejich síťovou organizaci. Na obrázku 13D jsou vyobrazeny kultivované sféry SH-SY5Y, které vypadají jako shluky buněk bez síťové organizace, přichycené ke dnu. Nejedná se tedy spíše o 2D kultivaci než o 3D kultivaci či plovoucí neurosféry v pravém slova smyslu?

B) Na obrázku 14 prezentujete diferencované buňky SH-SY5Y, které rostou jako shluky buněk s výběžky. Nemohlo dojít vlivem poly-D-lyzinu k nescifické iniciaci diferenciaci neuroblastomové linie, například v kombinaci s delší kultivací buněk?

2. Uveďte další *in vitro* podmínky, které mohou vyvolat spontánní diferenciaci kultivovaných buněk.
3. Pomocí jakých specifických markerů a metod byste potvrdila diferencovaný, případně nediferencovaný fenotyp sfér buněk SH-SY5Y?

Rozsah práce hodnotím jako dostačující. Bez úvodních stran a seznamu literatury má práce 57 stran a obsahuje celkem 139 odborných zdrojů. Výsledková a diskusní část nejsou příliš rozsáhlé, a jsou doplněny třemi obrázky, třemi grafy a jednou tabulkou. Diplomantka splnila zadání diplomové práce a předložila kvalitně zpracovanou práci, kterou **hodnotím známkou C a doporučuji k obhajobě.**

V Pardubicích dne 23. 5. 2025

Mgr. Lenka Šmíd, Ph.D.  
oponent práce