

Posudek oponenta na diplomovou práci

Student: Bc. Viktorie Scholasterová

Vedoucí práce: Ing. Larisa Chmelíková

Akademický rok: 2020/2021

Oponent: Mgr. Zdenka Fohlerová, Ph.D.

Téma: Studium migrace mesenchymálních kmenových buněk v extracelulárním matrix na principu chemotaxe

Diplomová práce studentky Viktorie Scholasterové se zabývá studiem migrací mesenchymálních kmenových buněk v kolagenovém gelu vlivem působení chemoatraktantů a s použitím komerčních Transwell jamek.

Studentka splnila zadání diplomové práce, jednotlivé dílčí kroky jsou v práci na sebe navazující, jsou rozumně popsány, experimentálně řešeny a diskutovány. Práce svým rozsahem a strukturou splňuje požadavky kladené na diplomovou práci a je v ní minimum gramatických chyb. Prezentace grafů, obrázků a práce s literaturou je na přijatelné úrovni. V práci se studentka potýkala s řadou problémů včetně barvení buněk, nastavení snímání vzorků či reprodukovatelnosti experimentu, což mírně komplikovalo úspěšnost dosažených výsledky. Z hlediska prezenční a formální úrovně bych upozornila na následující body:

- tři a více citovaných, po sobě jdoucích referencí oddělených čárkou je vhodnější psát do jedné závorky. Např. str. 18 - [8], [9],[10],[11] citovat jako [8-11].
- pro reprodukovatelnost výsledků je vhodné u chemikálií zmínit výrobce, rozpouštědlo, pH pufru, koncentraci fluorescenčních barviček, procentuální koncentraci vyjádřit jako např. procenta objemová, hmotnostní atd. Dále není jasné složení kultivačního média (byl zde přídatek séra, antibiotik atd.?). Při popisu experimentů je vhodné psát vedle objemu i koncentrace základních roztoků látek.
- str. 41: Obr. 4.1 - v textu by měly být citovány všechny obrázky, nejlépe v abecedním pořadí (viz např. Obr. 4.1e a 4.1c; 4.1f a 4.1d, není zmíněn Obr. 4.1b).
- str. 48 – tabulky by měly být přehledné. V podstatě by měly být udělané tak, aby čtenář nemusel hledat v textu, co zkratky znamenají, popř. by vše důležité mělo být zmíněno v legendě. Také % by měly být součástí sloupků s vypočítanými hodnotami. Ve vašem případě to vypadá, že sloupek s (I-III) je vyjádřen v procentech.
- uvedené tabulky s hodnotami, vzhledem k tomu, že dále jednotlivé experimenty popisujete a prezentujete graficky, bych zařadila až na konec jako tabulku sumarizující výsledky pro přehlednost.
- k obrázkům z mikroskopu je vhodné přiřadit měřítko.
- str. 62 - pokud popisujete jen zkratky, není potřeba zmiňovat v názvu „veličiny a symboly“.

Otázky oponenta:

1. Proč se buňky pasážují při zhruba 70% pokrytím adherentního povrchu?
2. Jaká byla přibližně tloušťka naneseného kolagenového gelu s buňkami na inserty? V textu píšete, že na buňky také působila gravitace. Lze zajistit, aby buňky byly v gelu rovnoměrně distribuovány a přitom nikterak nebyla omezena jejich migrace?
3. Jak byste zjistila životaschopnost buněk v kolagenovém gelu?
4. Barvení jader pomocí DAPI a nežádoucí obarvení cytoplazmy – myslím, že problém nebyl v použitém Tritonu, jak se snažíte nastínit a tedy předpokládám, uvolnění mitochondriální DNA. Dle vámi uvedeného protokolu bych se spíše zaměřila na otázku možného použití vysoké koncentrace DAPI barvičky (koncentraci neuvádíte, tudíž nemůžu posoudit) a zkrácení doby barvení (15 min by mělo být dostačující). Dále je zabarvení cytoplazmy typické pro kontaminaci buněk mykoplazmaty. Existuje nějaká další fluorescenční barvička, kterou by se dalo DAPI nahradit?

Celkově práci hodnotím jako kladně a tematicky jako aktuální. Určitě bych doporučila otestovat barvení buněk předem na miskách. Také bych se více zaměřila na vlastnosti a konzistenci naneseného kolagenového gelu, životaschopnost buněk a jejich migraci v tomto kolagenovém gelu. Dále bych vyzkoušela nanést buňky až na vrstvu kolagenu.

Práci doporučuji k obhajobě s výsledným hodnocením B (86 bodů).

V Brně dne 2.6.2019

Mgr. Zdenka Fohlerová, Ph.D.