



Univerzita Komenského v Bratislave  
Lekárska fakulta

Ústav lekárskej  
biológie, genetiky  
a klinickej genetiky  
Sasinkova 4  
811 082 Bratislava

doc. RNDr. Ľuboš Danišovič, PhD.

Bratislava 20.10. 2022

Váž. pán

**Ing. Ján Strnadel, PhD.**

Laboratórium prietokovej cytometrie,  
fenotypizácie buniek a tkanivového  
inžinierstva

Jesseniova lekárska fakulta UK v Martine  
Martinské centrum pre biomedicínu  
Malá hora 11161/4D  
036 01 Martin

Vec: Posudok na skriptá

Vážený pán inžinier,

na základe Vašej žiadosti zo dňa 9.8. 2022 som vypracoval recenzný posudok na skriptá **„Úvod do bunkových kultúr a bunkového inžinierstva“**, ktoré som si dôkladne preštudoval, a môžem tvrdiť, že ide o kvalitný študijný text, ktorý využijú nielen študenti vysokých škôl s biomedicínskym zameraním v rámci pre-graduálneho vzdelávania, ale aj mladí vedeckí pracovníci, začínajúci svoj výskum vyžadujúci zvládnutie metód bunkových a tkanivových kultúr.

Skriptá sú precízne napísané na 94 stranách a sú členené na 16 kapitol, za ktorými nasleduje zoznam použitej literatúry a obrazová príloha.

V prvej kapitole autor uvádza čitateľa do problematiky, pričom poskytuje stručný prehľad histórie kultivácie buniek, presne vymedzuje definíciu bunkových línií a poskytuje dôležité informácie o ich využití v biomedicínskom výskume, pričom zvláštnu pozornosť venuje ich aplikácii v onkológii a regeneratívnej medicíne.





Druhá kapitola sa zameriava na dôkladný opis metodických postupov zakladania primárnych kultúr, prípravy bunkových línií a rutinných postupov pri manipulácii s nimi. Okrem toho opisuje možnosti základnej charakterizácie buniek počas *in vitro* expanzie.

V tretej kapitole poskytuje informácie o zmrazovaní buniek, pre potreby dlhodobej archivácie. Uvádza postup zmrazovania s využitím pomôcky „Mr. Frosty“, zloženie kryoprotektívnych médií, ako aj dôležitosť dôsledného označenia kryo-skúmaviek (s dôležitými informáciami konkrétnom type buniek, ich množstve, viabilite atď.). V tejto kapitole by bolo vhodné spomenúť aj možnosť využitia riadeného zmrazovania buniek s využitím sofistikovaných zariadení, ktoré na druhej strane nemusia byť vo vybavení všetkých laboratórií.

Z pohľadu praktického využitia bunkových kultúr, je veľmi dôležitá kapitola pojednávajúca o kontamináciách (mikrobiálne kontaminácie alebo kontaminácie iným typom buniek). Autor poskytuje viaceré príklady ako aj možnosti eliminácie primárnej kontaminácie, nakoľko kontaminované kultúry nie je v mnohých prípadoch možné zachrániť.

Ďalšie kapitoly (5. a 6.) pojednávajú o vybraných metódach génového inžinierstva, napr. riadené zvýšenie respektíve zníženie expresie génov (transfekcia alebo transdukcia, využitie RNAi, atď.) a znefunkčnenie niektorých proteínov, resp. inhibovanie proteín-proteín interakcií s využitím chemických inhibítorov.

Siedma kapitola je zameraná na možnosti sterilizácie rôznych roztokov a pracovných pomôcok. Logicky na ňu nadväzuje kapitola pojednávajúca o alikvótovaní roztokov a o ich uskladnení.

Za veľmi dôležité pokladám kapitoly 9 – 11, ktoré poskytujú dôkladné informácie a o možnostiach „nadstavbovej“ charakterizácie bunkových kultúr a línií, *in vitro* a *in vivo*. Autor dôkladne informuje o postupoch ako je karyotypová analýza, imunofluorescencia, imunocytochémia (vrátane možnosti automatizovaného vyhodnotenia získaných mikrofotografií), prietoková cytometria, ELISA, Western blot, detekcia chemiluminiscenčného signálu a denzitometria. Taktiež opisuje experimentálne možnosti s využitím viacerých animálnych modelov.







V dvanástej kapitole, sa formou konkrétneho projektu, pojednáva o možnosti využitia indukovaných pluripotentných buniek, v kontexte modelovania Huntingtonovej choroby. Ide o kombináciu viacerých metodických postupov, od odberu materiálu, cez založenie primárnej kultúry fibroblastov, ich reprogramovanie, až po expenziu iPSCs a ich riadenú diferenciáciu.

V ďalšej kapitole, autor poskytuje veľmi dôležité poznámky týkajúce sa etických a právnych súčastí, ktoré je nevyhnutné dodržiavať pri práci s bunkovými kultúrami a líniami.

Štrnásť kapitola opisuje štandardné prístrojové vybavenie laboratória bunkových a tkanivových kultúr.

Kapitola 15 poskytuje dôležité informácie pojednávajúce o bezpečnosti pri práci v laboratóriu bunkových kultúr, pričom detailne opisuje napríklad stupne biologickej bezpečnosti.

Za stručným záverom je uvedený zoznam povinnej literatúry. Uvedené zdroje je možné využiť pri detailnejšom poznávaní uvedenej problematiky.

Integrálnou súčasťou celého študijného materiálu sú vhodne zvolené kvalitné originálne obrázky a ilustrácie, ktoré vhodne dopĺňajú text. Z didaktickej stránky, vysoko hodnotím aj zaradenie poznámok a konkrétnych modelových situácií, ktoré vychádzajú z bohatých experimentálnych skúseností autora. Dá sa predpokladať, že čitateľovi poskytnú dostatočné množstvo informácií, vytvoria priestor na zamyslenie sa, a ktoré mu umožnia prekonať aj prípadné prvotné neúspechy a problémy.

Záverom konštatujem, že daný študijný text je na vysokej úrovni a odporúčam ho na publikovanie v plánovanom elektronickom formáte. Okrem toho navrhujem autorovi zvážiť, aspoň v prípade ďalšieho vydania, prípravu na publikovanie v knižnom formáte, nakoľko predpokladám, že táto učebnica si nájde miesto v knižnici študentov a mladých vedeckých pracovníkov, zaoberajúcich sa aspoň niektorými aspektami kultivácie buniek.

  
doc. RNDr. Ľuboš Danišovič, PhD.

