

Témata disertačních prací

Materiálové inženýrství

Vývoj originálních metod na síťování hyaluronanu ve vodě

Síťování hyaluronanu je proces, který je hodně používán při přípravě omezeně rozpustných, biokompatibilních a biodegradovatelných materiálů aplikovatelných v tkáňovém inženýrství. Vzhledem k finální aplikaci by samotný síťovací proces měl probíhat ve vodě, v podmínkách pokud možno blízkých podmínkám fyziologickým. Jako síťovací činidla je možné použít bifunkční nebo multifunkční linkery, které budou mít dostatečnou reaktivitu na uskutečnění reakce minimálně ve dvou stupních. Při výběru potenciálních metod je nutné zvážit také toxicitu použitých sloučenin. Přístupy, které používají větší množství vysoce toxických látek, nejsou z důvodu možné aplikace in situ přijatelné. Navržené řešení by mělo být originální a patentovatelné.

Konzultant: Mgr. Radovan Buffa PhD.

Studium homogenity distribuce derivátů hyaluronanu

Student by se zabýval studiem distribuce modifikovaných skupin u derivátů hyaluronanu. Strukturální analýza derivátů polysacharidů je náročné a v posledních letech mnoho diskutované téma. I když progres v charakterizaci látek je pozorován na všech strukturálních úrovních (monomer, polymer, supramolekulární architektura), dodnes jsou výsledky naměřené v rámci sady porovnatelných vzorků typicky prezentovány jako „více heterogenní“, „méně rozpustné“, „lépe dosažitelné pro enzymy“ atd. Cílem disertační práce je popsat distribuci substituentů v řetězci derivátů hyaluronanu a také to, jak je tato distribuce ovlivněna způsobem a podmínkami provedení modifikační reakce. To vše ale musí být úzce spojeno s optimalizací vlastností připravených derivátů ve vztahu k jejich zamýšlené medicínské aplikaci. Tato problematika je široce interdisciplinární a předpokládá znalosti a zájem uchazeče o obory jako je fyzikální a analytická chemie, statistika, biologie a farmacie.

Konzultant: Mgr. Martina Hermannová, Ph.D.

Vývoj hydrogelů na bázi hyaluronanu pro využití v tkáňovém inženýrství a regenerativní medicíně

Anotace: Hlavní náplní práce bude vývoj metod přípravy hydrogelů obsahujících hyaluronan, jeho deriváty, případně další biopolymery. Vytvořené materiály budou hodnoceny pomocí chemických a fyzikálně chemických metod. Dále bude sledován vliv těchto parametrů na schopnost proliferace a diferenciaci vybraných typů buněk. Důraz bude kladen na rozvoj schopnosti interdisciplinární spolupráce s odborníky z oblastí organické a fyzikální chemie, buněčné fyziologie a medicíny.

Konzultant: Mgr. Martin Pravda, Ph.D.

Development of novel materials for peripheral nerve repair

The student will develop novel synthetic approaches to produce copolymers, bioconjugates and grafted polymers. The biomaterials will be used to form robust and well organized polymeric networks. The hierarchically organized network should be preferably made of biocompatible polymers. The complex microstructure of these materials can be extended for application in biomedical field specifically peripheral nerve regeneration. The material can be as well used for encapsulation of nanoparticles, drugs, cells or growth factors. The student will develop, optimize and scale up novel materials made of chemically modified sodium hyaluronan, but the project also may include other biopolymers and their bioconjugates. The results will be involved in a project co-founded by EU and CONTIPRO. Opportunities for international collaboration and travel to world-class academic and industrial partners and attend scientific events therefore it is recommended excellent knowledge of the English language.

Konzultant: Gloria Huerta-Angeles, Ph.D.

Polymerní filmy na bázi modifikovaného hyaluronanu pro aplikace v medicíně

Tenké filmy z biokompatibilních a biodegradabilních polymerů mají řadu využití v medicíně, například pro přípravu zdravotnických prostředků nebo ve tkáňovém inženýrství. Mezi materiály vhodné pro přípravu takovýchto filmů patří hyaluronan, případně jeho chemicky modifikované formy. Cílem této disertační práce je systematické studium aplikačně významných vlastností tenkých polymerních filmů na bázi modifikovaného hyaluronanu. Důraz bude kladen na strukturní a morfologické charakteristiky na různých měřítkách, mechanické vlastnosti, chování filmu v různých prostředích a jeho mechanickou i chemickou stabilitu. Naměřená data budou interpretována s pomocí teorie a korelována s podmínkami přípravy filmů. Získané poznatky pak budou použity nejen k optimalizaci vlastností stávajících materiálů, ale také k vývoji hyaluronových filmů s unikátními vlastnostmi, které umožní jejich použití v nových medicínských aplikacích.

Konzultant: Ing. Josef Chmelař, Ph.D.

Konstrukce strojů a zařízení

Studium fyzikálních jevů při elektrostatickém zvlákňování

Student se podrobně seznámí s technologií elektrostatického zvlákňování a se všemi faktory ovlivňujícími tento proces. V teoretické části se zaměří na fyzikální jevy při laboratorní a průmyslové výrobě nanomateriálů. V experimentální části budou vybrané jevy studovány a prověřovány na přístrojích 4SPIN®.

Konzultant: Ing. Marek Pokorný, Ph.D.

Problematika stárnutí kůže

Charakterizace epidermálního stárnutí na molekulární úrovni a možnosti jeho ovlivnění

Epidermis je vrchní vrstva kůže tvořená převážně buněčnou složkou, konkrétně keratinocyty. Je hranicí mezi organismem a jeho vnějším prostředím. Zabraňuje nadbytečným únikům vody kůží a naopak chrání před negativními vlivy okolí a patogeny. Nezanedbatelná je rovněž funkce estetická. Všechny tyto funkce jsou však s přibývajícím věkem narušeny. Podíl na tom má jak genetická výbava jedince tak kumulativní poškození vnějšími vlivy obzvláště vlivem UV záření. Tato práce se bude věnovat sledování rozdílů v genové a proteinové expresi v epidermis v závislosti na věku a účinkem UV záření jako hlavního vnějšího faktoru stárnutí kůže. Dalším cílem pak bude na základě získaných výsledků navrhnout a ověřit možnosti pozitivního ovlivnění těchto změn.

Konzultant: Mgr. Iva Dolečková, Ph.D.

Nosiče biologicky aktivních látek

Studium interakce hydrofobizovaného hyaluronanu s vybranými nízkými i vysokomolekulárními látkami

Hyaluronan modifikovaný hydrofobními zbytky může vstupovat do celé řady různých interakcí vedoucích až ke tvorbě micel, které mohou být s výhodou využity jako nosiče léčivé látky, protože hyaluronan je schopen interagovat se specifickým receptorem na povrchu určitých buněk. Studium tvorby premicelárních útvarů a micel samotných, charakteru interakce s vybranými buňkami a podmínek uvolňování aktivních látek z micel pod vlivem chemických i biologických faktorů, bude náplní této doktorské práce. Vedle toho budou studovány interakce nosiče s celou řadou biopolymerů i nízkomolekulárních látek, s kterými se může potkat na své cestě krevním řečištěm i ve tkáních. Jak je z výše uvedeného zřejmé, jedná se o interdisciplinární práci, jejíž těžiště bude zejména v oblasti fyzikální chemie, student se však setká i s organickou chemií a buněčnou biologii.

Konzultant: doc. RNDr. Vladimír Velebný, CSc.

Optimalizace struktury derivátů kyseliny hyaluronové pro nosičové aplikace

V současné době máme k dispozici řadu vyvinutých a vyvíjených derivátů hyaluronanu, které jsou schopné tvořit nosičové systémy v podobě polymerních micel. Tyto deriváty však mají řadu nedostatků, které snižují jejich efektivitu v intravenózních in vivo aplikacích. Hlavním nedostatkem je jejich nestabilita v prostředí proteinů a tedy snížené možnosti intravenózní aplikace. Vzhledem k tomu, že vlastnosti derivátu jsou výrazně ovlivněny jejich strukturou, stávající hydrofobizované deriváty je ještě potřebné dodatečně modifikovat nebo pozměnit. Metody dodatečné modifikace lze přejmout z již známých postupů z literatury (např. PEGylace), upřednostněny však budou originální (patentovatelné) způsoby syntézy. V případě experimentálně potvrzené zvýšené stability optimalizovaných derivátů, bude důraz kladen na možnost

zavedení této syntézy z hlediska zamýšlené intravenózní aplikace (omezené použití toxických reakčních činidel apod.) a převedení syntézy do velkého měřítka.

Konzultant: Ing. Daniela Šmejkalová, Ph.D.

Podrobná charakterizace a popis chování nosičových systémů na bázi kyseliny hyaluronové pro nosičové aplikace

V současné době máme k dispozici řadu hydrofobizovaných derivátů kyseliny hyaluronové, které agregují ve vodných prostředích a tvoří hydrofobní domény, kam lze fyzikálně vázat malé nepolární molekuly léčiv. Z prozatímní charakterizace vyplývá, že tyto nosičové systémy by měly být polymerní micely s velmi nízkou kritickou agregační koncentrací a velikostí okolo cca 100 nm. Nejsou však k dispozici informace týkající se podrobné charakterizace nosičových systémů, zejména vlivu různých parametrů jako jsou molekulová hmotnost derivátu, typ derivátu, stupeň substituce derivátu, typ léčiva, rozpouštědlo, teplota, pH a podobně na agregační chování hydrofobizovaných derivátů. Hlavní náplní této dizertační práce bude kompletní charakterizace nosičových systémů z fyzikálně chemického a analytického pohledu, včetně návrhu a vývoje metodik nutných pro dosažení daného cíle. Získaná data z charakterizace budou dále použita na kritické posouzení jednotlivých derivátů jako nosičů léčiv pro intravenózní aplikace. Součástí práce budou i návrhy na změny hydrofobizované struktury, které by mohly vést ke zvýšené efektivitě nesení léčiv do cílového místa in vivo.

Konzultant: Ing. Daniela Šmejkalová, Ph.D.

Interakce polymerních micel z hydrofobizovaného hyaluronanu s endotelem

U polymerních micel na bázi hydrofobizovaného hyaluronanu byla již potvrzena jejich schopnost transportovat aktivní látky do buněk na in vitro úrovni. Pokusy na úrovni ex vivo (transepidermální transport) a in vivo (transport protinádorových látek do nádoru) tato pozorování potvrdila. Intravenózní podání je hlavní cesta pro tento typ nosičů v nejen protinádorových aplikacích. Při tomto podání dochází nejen k intenzivním interakcím micely se složkami krve, ale i s výstelkou cév (endotelem). Tato interakce může zásadně ovlivňovat účinnost transportu aktivních látek a zároveň může docházet i k ovlivňování funkce endotelu. Hlavními složkami hydrofobizovaného hyaluronanu je bioaktivní polysacharid s nízkou molekulovou hmotností (přibližně 15 kDa) a delší mastná kyselina, která v organismu plní více významných funkcí. Struktura a funkce endotelu jsou navíc často pozměněny během patologických změn (např. propustný endotel nádorů). Tyto změny mohou dále ovlivňovat interakce s micelami. Hlavní náplní této práce bude studium interakcí micel s jednotlivými typy endoteliálních buněk v různých modelových podmínkách. Dále bude sledován přímý vliv derivátů a z nich vytvořených micel na fyziologii endoteliálních buněk. Součástí bude i vytvoření modelů vybraných patologických jevů endotelu (např. EPR efektu). Získané výsledky budou sloužit pro další pochopení mechanismů transportu léčiv pomocí tohoto typu nosičů a pro jeho další optimalizaci.

Konzultant: Mgr. Kristina Nešporová, Ph.D.

Využití systému CRISPR/Cas9 ve studium biologie hyaluronanu

Kyselina hyaluronová (HA) je nejjednodušším glykosaminoglykanem v lidském organismu, jejíž nejvýznamnější známou funkcí je pasivní hydratace, lubrikace a výplň. Přesto se vyvinula celá řada specifických receptorů, enzymů a dalších vazebných partnerů, kteří s ní interagují. Tento fakt a navíc celá řada již publikovaných prací poskytuje komplexní ale stále nekompletní obrázek o jejím významu v řadě fyziologických a patologických jevů. Rozvoj metody CRISPR/Cas9 umožňuje sledovat funkci jednotlivých genů s nižším procentem nescifických vedlejších efektů díky možnosti řídit, ve kterém místě DNA dojde k její modifikaci. S využitím této metody by byly připraveny různé modifikované buněčné linie kombinující delece jednotlivých HA-vazebných receptorů či enzymů zajišťujících metabolismus HA. Následně budou sledovány další změny ve fenotypu takto modifikovaných buněk.

Využity budou jak screenovací metody jako microarray pro sledování změn v genové expresi na úrovni celého genomu, tak metody zaměřené cíleně na procesy spojené s metabolismem a signalizací HA – migrace, proliferace, DAMP-signalizace.

Získané výsledky budou sloužit pro rozvoj poznání v oblasti základní biologie, ale také pro případný rozvoj biomedicínských aplikací tohoto polysacharidu.

Konzultant: Mgr. Kristina Nešporová, Ph.D.

Post doc téma

Optimalizace nedostatků nanonosičových systémů na bázi hyaluronanu pro intravenózní aplikace.

Hlavní náplní práce bude nalézt vhodnou modifikaci kyseliny hyaluronové tak, aby vzniklý amfifilní systém tvořil polymerní micely, které nebudou dezintegrovány v krevním řečišti.

Konzultant: Ing. Daniela Šmejkalová, Ph.D.