Posudek oponenta na diplomovou práci

■ oponentský posudek	Jméno posuzovatele: RNDr., Karina Savvulidi Vargová, Ph.D
	Datum: 28.8.2018

Autor: Bc. Dominika Karasová

Název práce: Molekulární mechanizmy mutageneze a rezistence u buněčných linií CML.

Cíle práce

1. Identifikace genů zapojených do buněčné odpovědi na poškození DNA pomocí metody RT^2 Profiler PCR Arrays.
2. Charakterizace proliferační schopnosti a citlivosti buněk KCL-22 k Imatinibu (IM) v závislosti na stáří buněčné kultury a na expresi molekuly CD38.
3. Určit roli exprese BCR-ABL v mutagenezi KCL-22 pomocí metody RT-qPCR.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO
Rozsah práce (počet stran): 83 stran
Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova? ANO
Je uveden seznam zkratek? ANO

Literární přehled:
Odpovídá tématu? ANO
Je napsán srozumitelně? ANO
Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO
Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO

Materiál a metody:
Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO
Kolik metod bylo použito? 6 (kultivace buněk, izolace RNA, měření proliferace buněk (absorbanční esej), měření apoptózy (průtoková cytometrie), MTT assay (absorbanční esej), RT^2 Profiler PCR Arrays)
Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

Experimentální část:
Je vysvětlen cíl experimentů? ANO
Je dokumentace výsledků dostačující? ANO Postrádám však u grafů STDEVA (Obrázek 1, Obrázek 4, Obrázek 5, Obrázek 6). Nebo se jedná o monoplikáty (jedno opakování)?
Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO

Diskuze:
Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO
Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO
Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO (jsou uvedeny plány a návrhy na další experimentální práci).

Závěry (Souhrn) :
Jsou výstižné? ANO

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):
Předložená práce je z formální strany na vysoké úrovni. Avšak u některých grafů a obrázků (např. Graf 1, str.4; Obr.3, str. 11) v literárním úvodu je nižší grafická kvalita, co zhoršuje jejich čitelnost.
Dále v literárním úvodu (v části 2.4 Charakteristika CML) postrádám typický obrázek

morfologie CML buněk.
Obecně vzato, text je napsán srozumitelně a čitelně (i když s drobnými překlepy).

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:
Autorka ve své diplomové práci navrženou hypotézu potvrdila a vytýčené cíle splnila. Předloženou práci celkově hodnotím pozitivně a doporučuji k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:

Otázky:
1. Jaké mikroRNA se podílí na vzniku rezistence nezávislé na BCR-ABL1 u CML?
2. Jak si autorka vysvětluje vyšší citlivost na IM u časné kultury KCL-22? Jaký mechanizmus se tady dle ní uplatňuje?
3. Zkoušeli jste vytvořit/vypěstovat linii KCL-22 rezistentní na jiný typ inhibitoru TKI – např. Dasatinib? Předpokládali byste částečně podobný seznam změněných genů účastnících se poškození DNA a její reparací?
4. Jak plánujete dále sledovat vliv nově nalezených genů *XRCC6* a *PARP1* na mutagenezi KCL-22 buněk?

Připomínky:
Studentka uvádí všechna názvy lidských genů bez kurzívy; správně by měli být kurzívou a kapitálkami.
V části Materiál a metody (4.9 Měření apoptózy) postrádám detailnější popis postupu měření apoptózy pomocí průtokové cytometrie (včetně dot-plotů a gatovací strategie).
V tabulce č. 2 Použité reagencie, roztoky a kity, a jejích charakteristika chybí základní informace o použité protilátce anti CD38.

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

☐ výborně ■ velmi dobře ☐ dobře ☐ nevyhověl(a)

Podpis oponenta: