

Oponentský posudek na magisterskou práci

Anna Nováková (2019) Horizontal transfer of mitochondria and its role in carcinogenesis

Diplomová práce Anny Novákové je zaměřena na studium fenoménu horizontálního přenosu mitochondrií na modelu dvou nádorových buněčných linií s nefukčními mitochondriemi, a to jak *in vitro*, tak *in vivo*. Práce se dále věnuje vizualizaci mitochondriálního přenosu mezi buňkami pomocí „tunneling nanotubes“.

Hodnocení výsledků z hlediska tvůrčího přínosu

Práce je metodicky nadmíru bohatá a prezentuje kvalitní výsledky, které jsou již částečně zařazeny do dvou publikací ve vysoce impaktovaných časopisech a to Dong et al., 2017 publikované v *Elife* a Bajzikova et al., 2019 publikované nedávno v *Cell Metabolism*. Anna Nováková(/Růžičková) je spoluautorkou obou těchto publikací.

Formální kvalita předloženého spisu

Práce má klasické členění, kvalita obrázků a tabulek je vesměs velmi dobrá.

Jazyk

Práce je psána v anglickém jazyce a podle názoru oponenta vcelku kvalitní angličtinou. Občas se přesto vyskytují formulační problémy a běžné drobné gramatické nepřesnosti a překlepy.

Hodnocení částí předkládaného spisu

Literární přehled - Úvod

Představuje čtivý text s bohatou obrazovou dokumentací a věnuje se popisu změn v metabolismu nádorových buněk a dosavadními poznatky ohledně přenosu mitochondrií mezi buňkami. Po formulační i formální stránce představuje tato kapitola nejlepší část práce.

Materiál a metody

Práce je metodicky velmi bohatá, metody jsou dokumentovány podrobně avšak věcně.

Výsledky

Výsledková část je psána spíše strohým popisným stylem bez hlubších zdůvodnění, proč byly dané experimenty prováděny. Tento styl je sice vyžadován některými časopisy, ale pro diplomovou práci bych očekával bližší zdůvodnění a osobně preferuji popis výsledků ve formě uceleného „příběhu“.

Diskuze + Závěr

Kapitola diskuze je obsáhlá a vesměs zdařilá. Pro lepší čitelnost a srozumitelnost by bylo vhodnější, kdyby tato 8 stran čistého textu dlouhá kapitola byla rozdělena na dvě části kopírující tak dvě hlavní otázky, které si autorka klade.

Dle názoru oponenta Anna Nováková prokázala, že je s pomocí nadmíru široké škály metodických postupů nejen schopna získat data vynikající úrovně, ale je i kriticky zhodnotit.

Dílčí připomínky k práci:

V úvodu je velká část první kapitoly věnována popisu Warburgovu efektu. Citován je však pouze relativně recentní (2011) přehledový článek. I když je původní práce psána německy, a tedy si ji nejspíš autorka nebude moci přečíst, tak si myslím, že by se v této kapitole měla objevit citace na původní článek z roku 1924.

Str. 33 – tabulka se „Softwears“ pravděpodobně popisuje programové vybavení tedy „Software“.

Str. 34 - popis přípravy rho buněk. Byla tato metodika opravdu použita autorkou? Ve výsledkové části to není zmíněno.

Str. 34 - Obr. 4.3.: zde by místo popisu fotolitografie, která pravděpodobně nebyla a nebude prováděna autorkou, bylo vhodnější umístit schéma mikročipu použitého pro analýzu TNT.

Str. 54 – kapitola 5.1.2. (Determination of mtDNA content in B16 sub-lines by STED microscopy). Jsou prezentovány jen vybrané fluorescenční obrázky demonstrující distribuci mtDNA v jednotlivých liniích. Chybí však kvantifikace množství mtDNA v jednotlivých liniích.

Str. 46 - Obr. 5.3.: prezentované výsledky neodpovídají popisu v textu. Nejspíš prohozené označení rho0 a rho0 DP linie.

Str. 61 - Obr 5.15. chyba v popisku: α -tubulin je vizualizován v zelené barvě a ne v červené.

V celé výsledkové části chybí odkaz na Obr. 5.10.

Celá diskuze: odkazy na obrázky jsou ve valné většině případů posunuty o +1 (např.: odkaz na Obr. 5.4 by měl správně odkazovat na Obr. 5.3).

Citace: dvě citace v seznamu zdrojových publikací nejsou úplné.

Otázky na autorku:

Proč byl původní model pro zkoumání horizontálního přenosu mitochondrií založených na melanomových buňkách B16 rozšířen o buňky 4T1 odvozené z prsního karcinomu?

Jak bylo prováděno barvení mtDNA? Ze seznamu protilátek i popisu Obr. 5.11 s zdá, že byla použita protilátka proti myší DNA. Jestli je tomu tak, proč tato protilátka nebarví i jadernou DNA?

Jak by jste kvantifikovala množství mtDNA v jednotlivých liniích na základě fluorescenčních signálů jak jsou ukázány v Obr. 5.5.?

Jak byly připraveny sub-linie z nádorů 4T1 rho buněk, když podle Obr. 5.6. (str. 50) byla velikost primárních nádorů tvořených těmito buňkami ve dnech 0-25 pod detekčním limitem?

Je růst TNTs směrový přímo k poškozeným buňkám nebo se jedná o růst náhodný? Jsou pro případný směrový růst TNTs známy látky které by fungovaly jako chemoatraktans?

Doc. RNDr. Daniel Rösel, PhD.

V Praze dne 22.5. 2019