

## **Opravný lístek k diplomové práci**

Přírodovědecká fakulta UK, katedra biochemie

Název práce: Význam V-ATPasy pro rezistenci nádorových buněk

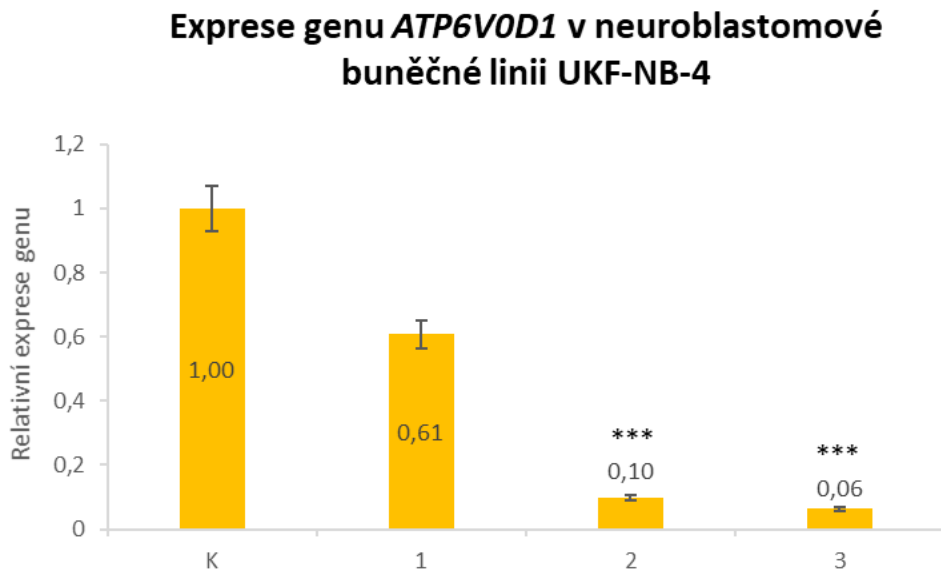
Autor práce: Bc. Kristýna Suchánková

Školitel: Prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc.

Zkratka siNC označuje molekuly siRNA, které nemají v použitém vzorku buněk žádný cílový gen, slouží jako negativní kontrola.

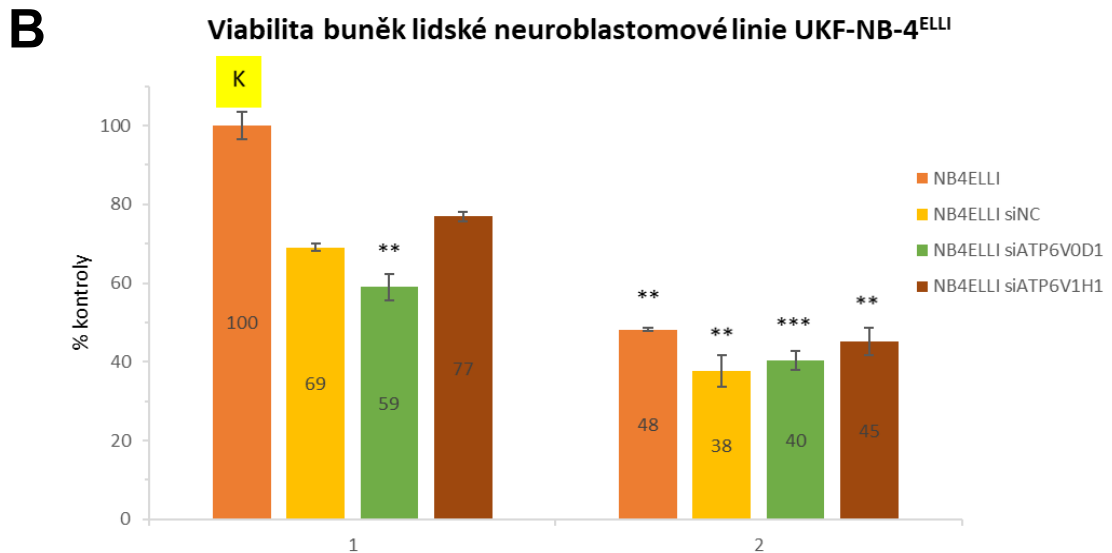
Doplnění k metodě „Stanovení viability buněk neuroblastomových linií pomocí činidla PrestoBlue“ popsané v kapitole 3.3.14, str. 49 – 50: neuroblastomové buněčné linie bez ellipticinu byly po transfekci siRNA inkubovány 48 hodin v inkubátoru Thermo Scientific HeraCell Vios 160i (USA) při teplotě 37 °C, 5% oxidu uhličitém a 95% vlhkosti, poté jim bylo odebráno médium a do destiček bylo pipetováno 350 µl kompletního média bez ellipticinu. Destičky byly inkubovány 48 hodin za stejných podmínek. Buňky bez transfekce siRNA byly inkubovány analogicky. Následný postup je popsán ve zmíněné kapitole diplomové práce.

V popisících obrázků (*Obr. 12*, str. 51; *Obr. 14*, str. 54; *Obr. 15*, str. 54) byla v rámci statistického zpracování dat chybně označena signifikance \*, která má být značením pro  $p < 0,05$ . Chybné značení bylo opraveno v grafu na *Obr. 14*, str. 54.



*Obr. 14:* Expresse genu *ATP6V0D1* membránové domény enzymu V-ATPasy v neuroblastomové buněčné linii UKF-NB-4 transfekované molekulami siRNA. K – UKF-NB-4 siNC, zvoleno jako kontrola; 1 – UKF-NB-4 siNC inkubované 24 hodin s  $5 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  koncentrací ellipticinu; 2 – UKF-NB-4 siATP6V0D1; 3 – UKF-NB-4 siATP6V0D1 inkubované 24 hodin s  $5 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  koncentrací ellipticinu. Signifikance  $p < 0,001$  značena \*\*\*. Hodnoty jsou průměrem dvou nezávislých měření (biologický duplikát), data jsou vyhodnocena softwarem REST-384-beta. Statistické vyhodnocení výsledků bylo taktéž provedeno v softwaru REST-384-beta.

Pro statistické vyhodnocení výsledků byl v práci chybně zvolen párový t-test místo dvouvýběrového t-testu, který byl přepočítán pomocí matematické funkce v tabulkovém softwaru Microsoft Excel. Rozdílné hodnoty byly opraveny v grafu na *Obr. 21B*, str. 61.



*Obr. 21B*: Stanovení viability buněk pomocí činidla PrestoBlue v neuroblastomové buněčné linii UKF-NB-4<sup>ELLI</sup> inkubované s molekulami siRNA a následně 48 hodin s 5  $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  koncentrací elliptycinu. Jako kontrolní linie (K) byly zvoleny buňky, které nebyly transfekovány molekulami siRNA, všechny ostatní hodnoty byly vztaženy k této kontrolní linii. 1 – buňky ovlivněné transfekcí příslušnou siRNA; 2 – buňky transfekované příslušnou siRNA a následně inkubované s 5  $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  koncentrací elliptycinu. Signifikance  $p < 0,01$  značena \*\*, signifikance  $p < 0,001$  značena \*\*\*. Hodnoty jsou průměrem dvou nezávislých měření a data byla statisticky vyhodnocena v tabulkovém softwaru Microsoft Excel, významnost výsledků byla vyhodnocena dvouvýběrovým t-testem.