



Posudek na diplomovou práci Aleny Dobiášové

Bc. Alena Dobiášová předkládá diplomovou práci s (velmi dlouhým) názvem "Molekulární charakterizace nového subtypu dětské akutní lymfoblastické leukémie s liniovým přesmykem v časně fázi léčby onemocnění." Cíle práce již byly pravděpodobně shrnuty studentkou a školitelem a proto mi dovoluji se zabývat rovnou textem samotným. Studovaná problematika je však navýsost aktuální a zajímavou vědeckou otázkou, je studována za pomoci nejmodernějších metodik a ještě to může být skutečně užitečné, což si zaslouží velkou pochvalu.

Název práce nabízí velký prostor pro čtenářovu fantazii ohledně skutečného tématu práce, kterým je srovnání methylačních profilů nového subtypu akutní lymfoblastické leukémie (ALL) s běžnou formou ALL. V teoretickém úvodu se autorka tedy věnuje methylaci DNA, stručně i metodám zjišťování methylace DNA a poté i bioinformatickým metodám zápisu methylace, tedy formátům methylovaných sekvencí.

Seznam zkratk je zpracován pečlivě a přes velkou snahu jsem nenašel jedinou chybějící zkratku.

Teoretický úvod je relativně stručný, ale srozumitelný a poskytuje dostatek informací pro další pochopení textu. V textu bych však ocenil více vysvětlujících obrázků, v textu jsem dale nenašel odkaz na tabulku 2 a autora se nevyhnula ani několika překlepům.

Cíle práce přibližují zámery autorky a rozsah problematiky, ale postrádal jsem v nich zdůvodnění, proč by zrovna methylace měla hrát důležitou úlohu v definování nového subtypu ALL.

Metodická část podrobně popisuje metody autorkou používané i metody přípravy dat, které autorka sama nedělala (pokud jsem správně pochopil) a tudíž by snad ani nemuseli být součástí diplomové práce. Překvapilo mě, že informace o pacientech byly umístěny až na konci kapitoly. Čekal bych je z důvodu větší srozumitelnosti textu na úplném začátku, ale uznávám, že jde o subjektivní pohled.

Společná kapitola výsledky a diskuze je naplněna grafy a tabulkami v bezprecedentním množství – obsahuje 36 obrázků a 11 grafů – každopádně dost na 2 diplomové práce.

Autorka pracovala , a to bych chtěl vyzdvihnout, s obrovským množstvím dat – na začátku měla 4 000 0000 sekvencí, což je množství, které by samo o sobě mnoho jiným zcela bránila i jen se započítám práce. Alena Dobiášová se nezalekla a dovedla práci až do konce na kterém identifikovala 20 potenciálně zajímavých genů, které mohou díky rozdílnému methylačnímu profilu, sloužit k pochopení rozdílu mezi dvěma studovanými typy ALL.

V části výsledky a diskuze jsem jako laik v oblasti studia methylace nebyl vždy schopen sledovat argumentaci autorky a situaci neusnadňovaly ani neformátována velká čísla. Mnohokrát jsem počítal kolik nul v dlouhých číslech vlastně je a znovu obdivoval jaké kouzla dovede způsobit dobře umístěná mezera (např. po každé třetí nule). Obtížné bylo také spárovat odkazy na obrázky a obrázky, neboť mezi nimi mohlo být i několik stránek. Číslování obrázků také striktně neodpovídá tomu v jakém pořadí se objevují v textu. V této kapitole bych ocenil, pokud by obsahovala více diskuse získaných výsledků, které jsou mimo vši pochybnost nesmírně zajímavé. Zdálo se mi, že nakonec pro všechny ty třísky, není prakticky vidět les. Některé z otázek, které mě napadaly a marně jsem na ně hledal odpověď v kapitole Výsledky a diskuze si dovoluji položit níže. Předpokládám však, že na tomto projektu bude předkladatelka či někdo jiný dale pokračovat, protože nabízí celou řadu zajímavých biologických problémů a pečlivou interpretaci získaných dat bude možné získat ještě mnoho nových poznatků.

Práce je doplněna více než 100 citacemi, které jsou použity správně a dostatečně.

Celkově jde o velmi pěknou práci na extrémně zajímavé téma. Práce je psána velmi pěknou češtinou s minimem cizojazyčných novotvarů. Autorka v průběhu práce významně vylepšila protocol pro přípravu sekvencí. Výhrady mám však především ke kvalitě diskuse práce, na kterou snad autorce nezbylo dost času. Jednoznačně však doporučuji práci k přijetí a vzhledem k výše uvedenému navrhuji známku velmi dobře.

Otázky:

Proč jste se rozhodli studovat zrovna metylaci při hledání rozdílů mezi dvěma typy ALL? Proč ne třeba mutace či rozdíly v expresi genů?

Mohla byste prosím posat princip metody detekce methylocí ze sekvenačních dat, kterou jste používali ve své práci?

Proč byla kontrolní skupina menší než skupina s novým typem ALL? Nemohlo to ovlivnit výsledky?

Úplně jsem bohužel nepochopil jak jste se dostali ze 176 + něco málo zajímavých genů k 20 finálním. Respektive mi z textu nebylo jasné, zda omezující podmínky na straně 62 druhý odstavec platí jen pro těch několik vámi vtipovaných genů nebo pro všechny. Mohla byste prosím vysvětlit?

Promotorovou oblast definujete jako +/- 1000 bazí od začátku transkripce. Jde o okolo 1000 bazí od začátku transkripce nebo nebo 1000 bazí před a 1000 bazí po začátku transkripce? Pokud jde o druhou možnost, proč berete jako promotorou oblast i významnou část kódující oblasti?

Má těch 20 vtipovaných genů něco společného? Doménu, expresi? Něco, co by Vám pomohlo pochopit mechanismus vzniku nového typu?

Existují obdobné práce, které by takto srovnávali methylační profily jiných typů nádorů?

V Praze 29.5.2014

Marian Novotný