

Posudek školitele na diplomovou práci

Autor: Bc. Matěj Běhounek

Název práce: Buněčná smrt jako důsledek železem indukovaného buněčného poškození

Náplní diplomové práce Matěje Běhounka bylo vytvořit buněčné *in vitro* modely pro zkoumání vlivu nadbytku železa u hepatocytů a pankreatických beta buněk a na těchto modelech zkoumat děje, které při nadbytku železa vedou k buněčnému poškození a to jak při akutním, tak při dlouhodobém působení vysokých hladin železa na vybrané buněčné linie.

Práce byla rozdělena do čtyř cílů, přičemž již první cíl, tedy vytvoření buněčných *in vitro* modelů znamenal pro Matěje velkou výzvu. Nastavení experimentálních podmínek a zvolení optimálního kultivačního média znamenalo opakované a časově velmi náročné provádění experimentů s buněčnými liniemi, kdy ke stanovení buněčného růstu a přežívání nebyly používány žádné eseje, ale počítání pomocí Bürkerovy komůrky. Obrovská část Matějových experimentů tak není viditelnou součástí odevzdané diplomové práce. Obzvláště zde bych tak chtěla ocenit Matějovu trpělivost a vysoké pracovní nasazení, neboť v důsledku neočekávaných komplikací s vybraným kultivačním médiem musel v podstatě všechny do té doby hotové výsledky opakovat. Zároveň bych tak chtěla upozornit na Matějův nesnadný úkol vytvořit i dlouhodobý *in vitro* model. Buněčné linie byly v tomto případě kultivovány v nadbytku železa po dobu minimálně čtyř měsíců za současné přípravy vzorků pro následnou analýzu. Matěj přitom během své diplomové práce zvládl vytvořit dvě časově oddělené paralely těchto modelů.

Zbývající cíle této diplomové práce byly řešeny především prostřednictvím western blot analýzy, nicméně v obrovském rozsahu, který v podstatě kapacitně neumožňoval zařazení dalších metod. Svěřenou metodu zvládl Matěj technicky výborně. Byl schopen samostatně rozhodovat o zvolených podmínkách analýzy a řešit případné problémy, mezi něž bohužel patřily i vleklé technické potíže s detekčním systémem, které na pracovišti řešíme doposud. Skvěle zvládnutou laboratorní činností Matěje bych zde podpořila i faktem, že mu po půl roce působení na našem pracovišti byla nabídnuta pozice laboranta, kterou Matěj vykonával bez jakýchkoli obtíží. Práce s buněčnými liniemi a western blot analýza se tak pro něj během diplomové práce stala rutinou.

Při přípravě samotné diplomové práce mě až překvapilo Matějovo zaujetí problémem a výborná práce s literaturou. Přípravu například literárního přehledu pojal Matěj možná až příliš poctivě a mnoho byt' zajímavých částí musel redukovat. Osobně se mi literární přehled Matějovi diplomové práce velmi líbí. Stejně tak je velmi podrobně sepsána i metodická část práce a obsahuje tak všechny nezbytné informace pro opakování experimentů. V kapitole výsledky

jen z množství uvedených výsledků vyplývá, že Matěj věnoval práci v laboratoři mnoho času. Obrázky jsou svým obsahem velmi rozsáhlé a jejich kvalita poukazuje na dobré zvládnutí metodologie. Jednoznačně se jedná o obrázky vhodné k uveřejnění v odborné publikaci. V diskusi pak Matěj dává jednotlivé výsledky do kontextu s literaturou, hodnotí jejich význam a úlohu ve studovaném problému. Poukazuje i na nově zaznamenané skutečnosti a diskutuje jejich možnou roli a důležitost dalšího studia. V závěru Matěj velmi přehledně shrnuje celou diplomovou práci a zodpovědně odpovídá na všechny stanovené cíle. Paradoxně tak byla Matějovým hlavním problémem při sepisování diplomové práce přílišná poctivost a s tím tedy spojená délka přípravy jednotlivých textů.

Závěrem lze shrnout, že diplomová práce Matěje Běhounka splnila požadované cíle a přispěla tak k objasnění některých otázek, které v současnosti v naší laboratoři řešíme. Výsledky jeho diplomové práce budou sloužit jako základ pro další studium dané problematiky a zcela jistě budou prezentovány jak na konferencích, tak ve formě odborné publikace.

Matěj pracoval po celou dobu diplomového projektu velice kvalitně, samostatně a spolehlivě, odvedl velké množství práce a velmi dobře se zapojil do práce v laboratoři. Je schopný psát odborný text, samostatně plánovat a provádět experimenty a výsledky kriticky vyhodnotit a konfrontovat s literaturou. Diplomovou práci Matěje Běhounka hodnotím jako kvalitní a plně ji doporučuji k obhajobě. Jako hodnocení diplomové práce navrhuji známku výborně.

V Praze, 11. 9. 2016

RNDr. Kamila Balušíková, Ph.D.