

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:
Mgr. Radka Václavíková Ph.D.
Datum: 5.9.2015

Autor:
Bc. Petra Bendová

Název práce:
Stanovování metylací v promotorových oblastech genů řídících metabolismus 5 - fluorouracilu

Cíle práce

Hlavním cílem diplomové práce bylo stanovení hladin metylací CpG ostrůvků promotorových oblastí celkem 14 genů metabolismu 5-Fluorouracilu a následně provnání zjištěných dat s prognózou a přežíváním pacientů s kolorektálním karcinomem. Cíle jsou v předkládané práci jasně a výstižně formulovány a jejich rozsah je adekvátní vzhledem k požadavkům kladeným na práce obdobného typu.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO NE

Rozsah práce (počet stran): 71

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO NE

Je uveden seznam zkratk? ANO NE

Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO NE

Je napsán srozumitelně? ANO NE

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO NE

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO NE

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO NE

Kolik metod bylo použito?

Bylo použito celkem 7 různých technologií přes sběr vzorků nádorové a nenádorové tkáně, izolaci DNA z tkání, stanovení kvality, kvantity DNA a bisulfítickou konverzi vzorků DNA po samotné metody měření jako je real time PCR, HRM analýza, gelová elektroforéza a její hodnocení a následně provedení statistického hodnocení výsledků, které v případě sledování asociací analýz s klinicko-patologickými daty pacientů vyžaduje značné znalosti v oblasti statistického zpracování dat.

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO NE

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO NE

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO NE — v čem jsou nedostatky?

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky?

ANO NE — co chybí, v čem je nedostačující?

V experimentální části je nejprve vhodně uvedeno celé schéma prováděných metod a měření a následně jsou uvedeny všechny hlavní výsledky měření metylací studovaných genů se zvýrazněnými hlavními výstupy měření. Následně jsou uvedeny v grafické podobě výsledky statistického stanovení významnosti hladin metylací ve vztahu k prognóze pacientek a jejich přežívání na základě užívání 5-FU v léčebném režimu.

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO NE

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO NE

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO NE

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO NE

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Po formální stránce je práce členěna obvyklým způsobem, úvodní část je doplněna celou řadou schémat, které vhodně doplňují zpracované literární údaje. Metodická a výsledková část jsou doplněny tabulkami a grafy shrnujícími značné množství zjištěných dat. Přes občasné překlepy v práci, které nebrání v plynulosti čtení textu je práce slohově velmi dobře zpracována, autorka v tomto směru dokáže výstižně a jasně formulovat získaná data a porovnat je s literárními zdroji.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Diplomová práce Bc. Petry Bendové se zabývá jedním z epigenetických mechanismů regulace genové exprese konkrétně metylacemi promotorových částí genů, které jsou v současné době velmi aktuálním vědeckým tématem vzhledem k působení genetických faktorů na prognózu i predikci výstupu terapie nádorových onemocnění. Pro celou řadu genů není studium metylací běžně zavedenou metodou, tudíž autorka musela během práce prokázat značné laboratorní dovednosti a metodickou zručnost.

Dle mého názoru byly cíle práce beze zbytku splněny, podařilo se stanovit metylace všech uvedených genů a pro 3 kandidátní geny s významnou metylací provést i jejich studium ve validačních souborech CRC pacientů.

Z diplomové práce vyplývá, že zejména geny DPYS a UPB1 prokazovaly významné rozdíly v hladinách metylací mezi nádorovou a nenádorovou tkání potvrzené pro gen DPYS i ve validačním souboru. Hypermethylace těchto dvou genů mají rovněž vliv na prognózu pacientů s kolorektálním karcinomem. Celá práce je velmi konzistentní, věnuje se do hloubky uvedenému tématu a nepůsobí roztržitě. Uvedené výsledky tvoří dobrý základ pro další vědecké bádání v oblasti epigenetické regulace genové exprese a její dopady na funkci genů podílejících se na metabolismu 5-FU, ale i dalších protinádorových léčiv a solidních nádorů.

Otázky a připomínky oponenta:

- 1) V úvodní části jsou uvedeny nádory, kde je využíván k léčbě 5-FU. V jakých léčebných režimech je 5-FU využíván v terapii nádorů uváděných v práci (CRC, nádor pankreasu, prsu, ovaria)? Jde spíše o monoterapii nebo využití v kombinovaných léčebných režimech a jde o lék první volby? Uveďte zejména, jak je to v případě kolorektálního karcinomu, který byl v této práci sledován.
- 2) Na jakém základě jste zvolila vstupní množství DNA do bisulfitické konverze? Zkoušela jste koncentrační řadu DNA pro otestování, v jakých hladinách je ještě konverze úspěšná? Výrobce deklaruje 1ng DNA, je to reálné?
- 3) Jaké jsou obecné požadavky na typ fluorescenčního barviva využívaného pro HRM analýzu?
- 4) Jak velké úseky jednotlivých genů obecně a v jaké části genu jste použila pro analýzu CpG oblastí v programu Methyl Primer Express? Kolik CpG ostrůvků jste obvykle nacházela a jakým způsobem jste vybrala konkrétní sledovaný úsek? V diplomové práci by mohl být uveden, jako zajímavá obrazová ukázka, nějaký konkrétní záznam CpG oblastí identifikovaných zmiňovaným softwarem.
- 5) Po formální stránce mám připomínku pouze k Tab.4 ve výsledkové části. Tato

tabulka by dle mého názoru byla srozumitelnější při rozdělení na více částí (např. A,B,C) vždy shrnujících výsledky hladiny metylací pro jednotlivé soubory testovací i oba validační, lépe by se pak sledovala data uváděná v textu, ale jedná se čistě o formální záležitost.

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: