

UK v Praze Přírodovědecká fakulta  
Katedra buněčné biologie

**Posudek školitele na diplomovou práci**

školitelský posudek

Jméno školitele:

Ing. Lucie Láníková, Ph.D.

Datum:

14. 5. 2018

Autor:

Bc. Linda Berková

Název práce:

Molekulární podstata autosomálně dominantní polycytémie

**Zadané cíle práce, včetně tématu literárního přehledu:**

V současné době je známo několik mutací v genech, které jsou zodpovědné za primární (*EPOR*) nebo sekundární (*VHL*, *HIF2a*, *PHD2*) vrozené polycytémie. Podle publikovaných výsledků však existuje více než 30 % pacientů s vrozenou polycytémií, u kterých molekulární podstata není známa. Ve spolupráci s laboratoří světového experta na problematiku vrozených i získaných polycytémii prof. JT Prchala (University of Utah, Salt Lake City, USA), byla za použití nové generace sekvenovacích metod a pokročilých počítačových algoritmů objevena nová varianta (resp. single nucleotide polymorphism, SNP) v genu pro erythropoietin (*EPO*), která by mohla být příčinou onemocnění u studované rodiny. Cílem diplomové práce byla funkční charakteristika této varianty v 5'UTR oblasti *EPO* genu.

Bylo navrženo několik dílčích cílů:

1. zvolit vhodný buněčný typ pro modelování onemocnění (buněčná linie musí exprimovat *EPO* gen),
2. připravit všechny komponenty CRISPR/Cas9 editovacího systému (plasmid exprimující Cas9 a vhodnou sgRNA, reportérový plasmid pro selekci, plasmid s upraveným homologním templátem vhodným pro editaci),
3. správně kultivovat a genotypovat editované klony,
4. vybrané klony, u kterých proběhla homologní rekombinace, použít pro funkční studie.

**Přístup studenta k práci s literaturou, v laboratoři, při sepisování práce včetně celkového hodnocení:**

V teoretickém úvodu studentka shrnuje základní vědecké poznatky o erythropoietinu, drahách, které ovlivňují jeho expresi a u klíčových komponent pak popisuje jejich chemické a biologické vlastnosti. Úvod také obsahuje informace o klinických projevech polycytémie, známých příčinách a možné léčbě. Osnovu a obsah této kapitoly DP studentka vytvořila sama bez zásahu školitelky, informace jsou ucelené, logicky na sebe navazují. Několik pasáží obsahuje velké množství informací, které jsou relevantní, ale příliš konkrétní a detailní a většina čtenářů se v nich bude hůře orientovat. Nicméně napsat opravdu přehledný a čtivý vědecký text vyžaduje mnoho zkušeností a věřím, že je studentka časem získá. Metodická část je sepsaná velmi precizně, obsahuje detailní popis všech metod, reakcí, reagensů a přístrojů. V tomto případě přílišná detailnost nevadí, je důkazem, že studentka protokol pro každou z uvedených metod osobně četla, pochopila a úspěšně použila. Výsledky a diskuze obsahují všechny relevantní informace, které studentka během svého působení v laboratoři získala a zpracovala.

Přístup studentky k laboratorní práci byl vynikající. V DP jsou uvedeny jen finální výsledky, nicméně každému kroku předcházela dlouhá a náročná optimalizace. Studentka se sama

UK v Praze Přírodovědecká fakulta  
Katedra buněčné biologie

snažila najít nová technická řešení a experimenty úspěšně provést.

DP jako celek (sepsaný text + práce v laboratoři) hodnotím velmi pozitivně. Studentka nenechala nic na poslední chvíli, na textu i experimentech pracovala postupně, vše si rozmyslela a dovedla ke zdárnému konci – získali jsme minimálně jednu editovanou buněčnou linii a funkční studie ukázaly, že daná varianta v 5'UTR oblasti může mít vliv na expresi *EPO* genu. Nicméně budou potřeba ještě další studie, abychom popsali molekulární mechanismus, který vede k polycytemickému fenotypu u pacientů.

Návrh hodnocení školitele: VÝBORNĚ

Podpis školitele:

