

## Posudek oponenta na diplomovou práci

<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	<b>Jméno posuzovatele:</b> RNDr. Vlasta Němcová, Ph.D.
	<b>Datum:</b> 5. 9. 2019
<b>Autor:</b> Bc. Katarína Buranovská	
<b>Název práce:</b> Analysis of circulating markers in patients with solid tumours	
<b>Cíle práce</b>  Cílem práce bylo navrhnout a optimalizovat metody pro izolaci a kvantifikaci „cell-free DNA“ z plazmy a séra a následně pomocí zavedené metodiky zjistit, zda se liší hladiny „cell-free DNA“ a cirkulující nádorové DNA v krvi u zdravých jedinců a pacientů s čtyřmi různými typy solidních nádorů.	
<b>Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému?</b> ANO <del>NE</del> Rozsah práce (počet stran): 105 stran vlastní diplomové práce + 4 strany příloh Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO <del>NE</del> Je uveden seznam zkratk? ANO <del>NE</del>	
<b>Literární přehled:</b> Odpovídá tématu? ANO <del>NE</del> Je napsán srozumitelně? ANO <del>NE</del> Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO <del>NE</del> Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO <del>NE</del>	
<b>Materiál a metody:</b> Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO <del>NE</del> Kolik metod bylo použito? 6 Jsou metody srozumitelně popsány? ANO <del>NE</del>	
<b>Experimentální část:</b> Je vysvětlen cíl experimentů? ANO <del>NE</del> Je dokumentace výsledků dostačující? ANO <del>NE</del> - v čem jsou nedostatky? Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO <del>NE</del> – co chybí, v čem je nedostačující?	
<b>Diskuze:</b> Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO <del>NE</del> Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO <del>NE</del> Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO <del>NE</del>	
<b>Závěry (Souhrn) :</b> Jsou výstižné? ANO <del>NE</del>	

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

Vlastní práce je psána anglicky, jazyková úroveň by však mohla být lepší. Vyskytují se i velmi nepřesné formulace – např. „all of the primers were measured using MCF-7 standard curve“ (str. 50). Korektura angličtiny by textu též prospěla, autorka má tendenci k dodržování českého slovosledu (např. „During qPCR optimisation were tested several variations of qPCR programs in order to achieve the highest possible specificity and sensitivity of reactions“, str. 59). Překlepy se v textu nevyskytují.

Práce obsahuje 35 obrázků a 18 tabulek ve velmi dobré grafické kvalitě, jejich množství a popisky jsou dostačující a vhodně doplňují vlastní text. Číslování tabulek je ale chybné, např. označení „Table 6“ se vyskytuje 3x (str. 47, 50 a 54). Tohoto nedostatku si však studentka byla vědoma při odevzdávání práce, čestně na to upozornila a slíbila do obhajoby dodat opravenou verzi práce. V práci se vyskytují i další, spíše drobnější formální nedostatky. Např. popisky obrázků č. 1, 18 a 31 nejsou zarovnané do bloku jako popisky ostatních obrázků. Seznam zkratk by bylo vhodné doplnit ještě o některé další použité zkratky, např. lncRNA (long non-coding RNA) nebo IHC (immunohistochemistry), nicméně toto opomenutí nemá zásadnější vliv na pochopení textu, neboť se vesměs jedná o víceméně běžně používané zkratky.

Autorka správně cituje 177 literárních zdrojů, což je na diplomovou práci nadstandardní množství. Z toho 44 citací (tj. 25% všech citací) je na práce z roku 2017 a mladší, což dokládá jak aktuálnost zadaného tématu diplomové práce, tak nutnost neustále sledovat dění na příslušném výzkumném poli autorkou.

**Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

Přes všechny výtky k formálním stránkám práce hodnotím diplomovou práci Kataríny Buranovské jako zdařilou a přečetla jsem si ji s chutí. Téma diplomové práce je velmi aktuální. Autorka splnila veškeré vytyčené cíle. Prokázala, že je schopna nastudovat vědeckou literaturu, je schopna naplánovat a provést vlastní experimenty a na jejich základě vyvodit příslušné závěry. Kladně hodnotím to, že se autorka musela při experimentální práci poprat i s různými metodickými problémy a vhodným způsobem je vyřešila. Musela zvládnout i práci s klinickými daty pacientů a jejich statistickou analýzu. Věřím, že i formální nedostatky diplomové práce by byly odstraněny, kdyby autorka měla více času na finální úpravy rukopisu, jejichž časovou náročnost zřejmě trochu podcenila.

V příloze diplomové práce autorka dokládá, že výsledky svého projektu prezentovala na konferenci „XVIII. Setkání biochemiků a molekulárních biologů“ pořádané v roce 2017 v Brně, kde byl její poster dokonce vyhlášen za nejlepší posterovou prezentaci. Mimo to prezentovala své výsledky v rámci výměnného pobytu na „University of Oslo“ v Norsku. Autorka tak během své diplomové práce velmi dobře reprezentovala i své pracoviště.

Diplomovou práci Kataríny Buranovské doporučuji k obhajobě. Přeji autorce úspěšnou obhajobu a mnoho dalších úspěchů.

**Otázky a připomínky oponenta:**

1) Jak byly navrženy sekvence primerů pro detekci beta-aktinu (str. 50)? Navrhovala je autorka sama? Jsou nějaké speciální požadavky na sekvenci primerů, pokud je plánováno použití pro kvantifikaci cfDNA?

2) Při optimalizaci jste testovala, zda použití glykogenu při izolaci cfDNA zvýší výtěžek. Vámi prezentované výsledky ukazují (Figure 14 na str. 58), že přidání glykogenu kýžený efekt nemá, ale překvapivě u poloviny vzorků použitých pro tento test dokonce vede k tomu, že se nepodařilo izolovat žádnou cfDNA. Byl tento experiment opakován? Nejednalo se o nějaký technický problém či chybu? Máte pro tento efekt přidání glykogenu nějaké vysvětlení?

3) Jako jeden z mechanismů, kterými se do krve dostává cfDNA, uvádíte vedle uvolňování při apoptóze a nekróze i sekreci z buněk (Figure 9 a str. 28). Je něco známo o molekulárních mechanismech sekrece cfDNA?

4) V kapitole „Limitations“ (str. 40) zmiňujete srovnávací experiment, kdy 53 laboratoří při izolaci cfDNA z totožného vzorku dosáhlo výtěžku, který se lišil téměř 10x mezi jednotlivými pracovišti (Malentacchi et al. 2015). Zmiňujete i mnoho dalších faktorů, které ovlivňují jak kvalitu a výtěžek izolace cfDNA, tak výsledek její analýzy. Vzhledem k těmto komplikacím práce s cfDNA, jak reálná je podle Vás možnost rutinního využití cfDNA v prevenci, diagnostice nebo léčbě nádorových onemocnění v dohledné době?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta: