

Posudek oponenta na diplomovou práci

<input type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: RNDr. Mgr.Radka Václavíková Ph.D.
	Datum: 2.9.2019
Autor: Bc. Alexandra Dolníková	
Název práce: Faktory ovlivňující odpověď kolorektálního karcinomu na chemoterapeutickou léčbu	
Cíle práce Předkládaná diplomová práce si kladla za cíl identifikovat miRNA regulující protein MRE11, funkčně ji analyzovat v sensitivních a rezistentních buněčných liniích kolorektálního karcinomu a validovat výsledky na skupině pacientů s kolorektálním karcinomem. Všechny cíle práce jsou jasně a stručně deklarovány a podařilo se je v rámci diplomové práce splnit a získaná data vyhodnotit.	
Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO NE Rozsah práce (počet stran): 92 včetně referencí 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? 10 různých experimentálních metodik 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 odpovědi na zadané otázky? ANO NE —co chybí, v čem je nedostačující?	
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):

Celá práce je po formální stránce zpracována velmi dobře, úvodní část je obohacena názornými obrázky, schémata a tabulkami, stejně jako výsledková část, kde je použita řada názorných grafů a obrázků. Jazykovou úroveň slovenského jazyka použitého v diplomové práci posuzuji dle srozumitelnosti a možnosti vlastního posouzení jako dobrou. V práci se vyskytují jen ojedinělé překlepy či chyby ve formátování.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Diplomová práce Bc. Alexandry Dolníkové se zabývá velmi aktuální problematikou regulačních vlastností krátkých nekódujících RNA a jejich využitelnosti jako potenciálních terapeutických markerů a cílů. Konkrétně byla v práci nejprve *in silico* predikována miRNA regulující důležitý sensorický protein dvouřetězcových zlomů MRE11, její funkce byla následně ověřována *in vitro* metodami v sensitivních a rezistentních buněčných liniích kolorektálního karcinomu a tyto *in vitro* výsledky pak validovány na skupině pacientů s kolorektálním karcinomem.

Úvod diplomové práce odpovídá pracím obdobného charakteru, velmi detailně je popsána epidemiologie kolorektálního karcinomu, úloha DNA reparačních mechanismů a microRNA v souvislosti s rozvojem, diagnostikou a prognózou nádorových onemocnění.

V předkládané diplomové práci bylo použito poměrně široké spektrum různých *in vitro* metodik a také molekulárně-biologických metod včetně poměrně pracné metody Comet assay. Metody jsou dostatečně podrobně popsány a složení všech reagensů a pufrů je správně uvedeno.

Z výsledkové části je patrné, že se Bc. Alexandře Dolníkové podařilo definovat miR-140 jako potenciální regulátor MRE11 proteinu, dále funkční analýzou prokázat vliv miR-140 na viabilitu zejména sensitivních buněk kolorektálního karcinomu a zjistit vliv miR-140 na samotnou expresi MRE11 proteinu a validovat pozorování na vzorcích pacientů s kolorektálním karcinomem. Výsledky diplomové práce jsou doplněny řadou velmi názorných grafů a obrázků imunodetekce stanovených proteinů a měření poškození molekul DNA.

Celkově považuji předkládanou diplomovou práci za velmi kvalitní, navíc moc pěkně formulovanou v metodické, výsledkové a diskusní části.

Otázky a připomínky oponenta:

1. V úvodní části je zmiňována úloha DNA reparačního systému ve vývoji fenoménu lékové rezistence nádorových buněk. Vznik mnohočetné lékové rezistence (MDR) je poměrně obecný multifaktoriální proces. V práci nejsou zmíněny obecně další možné faktory přispívající ke vzniku MDR, víte o které faktory vzniku MDR se jedná kromě alterace DNA reparačních mechanismů?
2. V práci bylo použito několik buněčných linií kolorektálního karcinomu epitelového typu. Víte jak a zda se linie liší genetickým profilem zvláště některých důležitých determinantů typu p53, KRAS, BRCA1/2 apod.?
3. Při hodnocení viability buněk byla používána poměrně dlouhá 12ti denní doba kultivace. Neměli jste problémy s přerůstáním buněk při této delší kultivaci?
4. Na str.48 při popisu procesu reversní transkripce nejsou uvedeny podmínky samotného procesu rev. transkripce v termocyleru.
5. Ve výsledkové části jsou uvedeny endogenní hladiny miR-140 ve sledovaných

sensitivních buněčných liniích kolorektálního karcinomu . Byly nalezeny významné rozdíly bazálních hladin exprese miR-140 mezi těmito senzitivními liniemi a rezistentní linií OxR testovanou v další fázi práce?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: