Příloha č.1 k Zápisu o obhajobě

Student: **Mgr. Linda KOUTOVÁ**
Datum narození: 1985
Studijní program: **Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie**
Datum obhajoby: **18. 9. 2019**

Průběh obhajoby: Obhajoba byla zahájena stručným představením dosavadní vědecké a profesní kariéry uchazečky ze strany předsedkyně komise. Doktorandka poté přednesla prezentaci, v níž uvedla přítomné publikum do problematiky AHL a možné role miRNA v patogenezi tohoto onemocnění, a poté představila hlavní cíle své dizertační práce. Nato seznámila přítomné se souborem pacientských vzorků, s nimiž pracovala, metodami, které používala, a shrnula výsledky, které získala. Uvedla rovněž možnosti praktického uplatnění těchto výsledků. Školitelka se stručně vyjádřila k práci doktorandky. První z oponentů neměl k práci žádné závažné připomínky ani otázky. Druhá oponentka měla připomínky k určité povrchnosti některých částí literárního přehledu a položila 4 dotazy, na které poté uchazečka odpověděla. Připomínka zazněla též k malé velikosti studovaného souboru vzorků. Následovala volná diskuse, v níž zazněla řada otázek. Ne na všechny uchazečka dokázala odpovědět, řadu věcí dovysvětlila, ale nad některými věcmi nedokázala uvažovat, nebylo zřejmé, že všemu, co sama dělala, skutečně rozumí. V neveřejném zasedání komise dlouze diskutovala o řadě nedostatků, kterými podle názoru většiny členů komise tato dizertační práce trpí. Výhrady zazněly jak k experimentálním aspektům (malá velikost hodnoceného souboru a z toho vyplývající

POKRAČOVÁNÍ NA DRUHÉ STRANĚ PROTOKOLU

podpis člena komise

podpis předsedkyně komise

neoprávněnost prezentovat získané výsledky a zejména je interpretovat nekriticky takovým způsobem, jakým to doktorandka v disertační práci i při její obhajobě učinila), obecná nedostatečnost skutečně kritického a vědeckého uvažování a neznalost několika základních věcí přímo se týkajících některých experimentů v práci obsažených a jejich metodických aspektů (např. primerů pro detekci miRNA pomocí qPCR, některých charakteristik hodnoceného souboru pacientů), neschopnost doktorandky kriticky si uvědomit některé problémy související s validací genů a miRNA a vhodné volby kontrolního souboru, a některých dalších aspektů práce. Zejména negativně byla komentována vlastní obhajoba práce a především reakce doktorandky ve volné diskusi, ale výhrady z úst členů komise zazněly i k formální stránce textu práce, kvality či spíše nekvality diskuse, literárního přehledu a ~~[illegible]~~ i výsledkové části. Členové komise se na závěr v tajném hlasování, které proběhlo s využitím hlasovacích lístků, jednoznačně shodli, že v současné podobě předložená práce nemůže sloužit jako podklad pro udělení Ph.D. titulu, zároveň však konstatovali, že práci je možné ze strany doktorandky vylepšit, přepracovat a podat v opravném termínu k obhajobě znovu. Pokud by z nějakého důvodu (např. nemožnost získat další pacientské vzorky k analýzám) nebylo možné přidat doplňující experimentální materiál, práci lze i tak (tj. se stávajícím souborem experimentálně získaných dat) přepracovat do podoby, která by mohla být přijatelná pro úspěšné dokončení doktorského studia. Členové komise vypracovali několik doporučení, jak tohoto dosáhnout, a tato doporučení byla doktorandce následně předána a tvoří přílohu tohoto zápisu. Na základě práce předložené k obhajobě, která se konala 18. 9. 2019, a zejména na základě vlastní obhajoby však všichni členové komise konstatují, že požadavek na prokázání schopnosti a připravenosti k samostatné činnosti v oblasti výzkumu nebo vývoje podle § 47 VŠ zákona zatím doktorandkou splněn nebyl.

Příloha k zápisu z obhajoby dizertační práce Mgr. Lindy Koutové, která se konala na PřF UK dne 18.9.2019 - požadavky komise pro úpravu dizertační práce před jejím podáním k opravnému termínu obhajoby.

Hlavní požadavek se týká výsledkové části práce:
Výsledky prezentované v předložené dizertační práci Mgr. Koutové neodpovídají nárokům kladeným na dizertační práci a to především jak rozsahem, tak i zpracováním. Je zcela nezbytné, aby část Výsledky byla výrazně rozšířena jednak ve smyslu množství experimentální práce, jednak ve smyslu analýzy získaných dat, jednak ve smyslu výzkumu a diskuse biologické podstaty popisovaných jevů. Rozšíření této části by pokud možno mělo být provedeno přidáním dalších nových výsledků souvisejících se studovanou problematikou. Pro úspěšné obhájení by mělo být minimálně provedeno ověření některých nálezů buď na širším souboru pacientů a/nebo pokusit se data validovat na vhodných modelových buněčných liniích. Validace nalezených miRNA by měla probíhat experimentálně na biologických replikátech nebo alespoň biologických vzorcích (např. zmíněné buněčné linie) a to jednak ve smyslu validace hladin příslušných miRNA, jednak ve smyslu validace vybraných cílových transkriptů. Pokud takové výsledky neexistují, resp. navrhované experimenty není možné z objektivních důvodů provést, je třeba maximálně vytěžit výsledky stávající. Je rozhodně třeba uvést všechny miRNA, které byly diferenciálně exprimované při srovnání kontrol a pacientů, pacientů před a po léčbě, pacientů dle diagnózy/závažnosti nálezů, případně podle cytologického nálezu. Dále by měl být proveden detailní rozbor výsledků z hlediska dalších dosud nezmiňovaných aspektů; při analýze výsledků by měla být zohledněna heterogenita kohorty pacientů (věk, muži, ženy) a jejich roztřídění do skupin dle FAB a WHO klasifikací; jakož i heterogenita kohorty zdravých jedinců (věk, muži, ženy).

Další požadavky na úpravu práce:
Opravit věcné a formální chyby v literárním přehledu, zmíněné v oponentském posudku doc. Zemanové.
Doplnit do metodické části informace o způsobu výběru kontrol a přesný popis izolace (respektive ten neodpovídá zmínce na jiných místech práce, že se jednalo o miRNA z mikrovesikulů).
Není zmíněna hodnota Fc a P pro určení diferenciálně exprimovaných miRNA.
Doplnit chybějící označení na některých grafech.
Podrobněji v diskusi rozvést biologickou podstatu popisovaných jevů; velmi detailně by měly být diskutované např. výhody použití plazmy/séra, i jaký je rozdíl v nalezených miRNA v pracích používajících jiný typ klinického materiálu. K diskusi by měly být vyhledány existující práce na modelových liniích.
V závěrech je třeba jasně zdůraznit novost získaných výsledků a musí zde rozhodně zaznít, že se jedná o velmi předběžné výsledky, získané na malém heterogenním souboru, není zde srovnání s modelem, provedena byla pouze technická validace dat, nikoliv validace na rozšířeném souboru, jak bývá zvykem. Proto lze získané výsledky brát jen jako určitá zajímavé pozorování; nelze z nich činit závěry takovým způsobem, jakým to je provedeno ve stávající verzi práce.