

Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Oldřicha Mazala

Bc. Oldřich Mazal předkládá k obhajobě diplomovou práci na téma „Změna exprese Tel/Aml1 regulovaných genů účinkem inhibitorů deacetyláz histonů“. Předmětem této práce bylo zkoumání změn exprese u devíti vybraných genů před a po působení inhibitoru deacetyláz histonů, kyseliny valproové, na celkem dvaceti vzorcích buněk linie REH. Jako kontrola sloužilo stejné množství vzorků buněk linie NALM6, celkem bylo –jak je uvedeno v kapitole 4- zpracováno 46 vzorků (včetně kontrol).

Práce je členěna klasickým způsobem, přičemž největší část je věnována literárnímu přehledu (35 stran), jehož většina popisuje klinické dělení, diagnostiku a léčbu akutních leukémií. Materiál a pět použitých metod (kultivace buněk *in vitro*, izolace RNA a reverzní transkripce, qRT-PCR a statistické hodnocení experimentů) jsou vypsány na pěti stranách. Kapitola výsledky obsahuje především tabulky a grafy. Zjištěná data jsou diskutována a shrnuta na sedmi stranách.

Práce obsahuje dostačující seznam citací. Citace však nejsou v textu vždy adekvátně zařazovány - část literárního přehledu jakékoli citace zcela postrádá. Druhou mojí výtkou k části „Literární úvod“ je ne zcela správné užívání zkratk. Zkratky nestačí uvést v seznamu zkratk, ale je nutné je zavádět přímo v textu (tj. při prvním použití zkratky použít zároveň i nezkrácený výraz). Velmi se tím usnadní orientace čtenáře v textu. Literární přehled dále obsahuje drobné stylistické nedostatky, jeden příklad za všechny: „Transplantace kostní dřeně je využívána pouze přesně definovanou skupinu dětí vysokého rizika“ (str. 28). Popisy k obrázkům nejsou vždy na téže straně jako obrázky.

Ke kapitole popisující materiál a metody nemám připomínek.

Co se týče kapitoly „Výsledky“ obsahuje, jak již bylo řečeno výše, převážně tabulky a grafy s velmi stručným popisem. Tabulky obsahují shrnutí výsledků získaných zpracováním obvykle 10 vzorků ovlivněných VPA a 10 kontrol pomocí qRT-PCR. V tabulkách a grafech však zcela chybí jakékoli míry či jednotky (nebo naznačení že se jedná o poměr mezi nějakými hodnotami). U některých grafů (8, 11, 13, 16) se zdá, že směrodatná odchylka je stejná, nebo dokonce větší než naměřená hodnota – jsou takové výsledky opravdu statisticky validní? U grafů č 9 a 19 došlo (alespoň u mého výtisku práce) při zpracování k chybě a odchylka je vyznačena jako čára táhnoucí se přes celý graf.

Výsledky jsou utříděny v kapitolách „Diskuse“ a „Souhrn“. Tyto dvě kapitoly se bezpochyby řadí mezi nejlepší části práce. Jsou zpracovány velmi přehledně, citace jsou

v nich řádně začleněny. Výsledky jsou diskutovány na úrovni a závěry jsou jednoznačné a jasné, stejně jako vytýčení cílů dalšího výzkumu.

Domnívám se že cíle práce byly splněny a doporučuji přijmout práci jako práci diplomovou.

Otázky:

1. V kapitole 2.1.1 na str. 11 jsou leukémie rozděleny na akutní a chronické s následující definicí: akutní leukémie – rychlé dělení málo zralých buněk, chronická – pomalé dělení zralejších buněk. A na téže straně je definována akutní myeloblastická leukémie jako „Je odvozena od prekurzorů a zralých granulocytů“ Co je tedy hlavním kritériem dělení na akutní a chronické leukémie? Zralost, nebo rychlost dělení? Kde je hranice mezi málo zralými a zralejšími buňkami (např. pre-B jsou málo zralé nebo zralejší)?
2. V kapitole 5.3. (str. 53) se uvádí: „Výsledky byly počítány tak, že každý z duplikátů daného genu byl vydělen oběma duplikáty kontrolního genu ABL...“ Mohl by uchazeč tuto větu přeformulovat a vysvětlit lépe z jakých hodnot počítal výsledky?
3. V kapitole 2.8.2 (str. 32) jsou uvedeny a částečně porovnány tři metody měření MRN (FACS, PCR a RT-PCR). U prvních dvou je uvedeno že mají „nízkou senzitivitu“, u poslední údaj o senzitivitě chybí. Výše na téže stránce přitom uvádíte, že „Jako hranice detekovatelnosti (MRN) je nyní uznávána 10^{-4} , tj. detekce jedné leukemické buňky mezi 10 000 normálními.“ Jakou metodou se stanovuje ona „hranice detekovatelnosti“. Jaká je řádově senzitivita tří Vámi uváděných metod?
4. V kapitole „Výsledky“ jsou u některých genů uváděny výsledky zpracování méně než deseti vzorků s konstatováním, že vzorek číslo byl poškozen. Co si máme představit pod slovem „poškozen“? Proč uchazeč celý proces nezopakoval s dalšími vzorky?
5. V diskusi na str. 73 je porovnávána exprese genu PDGFRB na buňkách linie REH a NALM6. Buňky NALM6 přitom nesou chimerický gen TEL/PDGFRB. Není možné že tato skutečnost ovlivnila odpověď buněk na VPA? Jsou v tomto případě buňky NALM6 opravdu dobrou kontrolou?

RNDr. Alena Morávková, Ph.D.

