

ŠKOLITELSKÝ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE Bc. MICHAELY VONDRÁČKOVÉ

Diplomová práce Bc. Michaely Vondráčkové nazvaná “**Nádorový supresor NDRG1 a jeho ovlivnění chelátory železa**” zkoumá úlohu proteinu NDRG1 při protinádorovém působení chelátorů železa. Protein NDRG1 je považován za tzv. “tumor supresor,” čili jde o protein, který brání nádorovému bujení a který je indukován pomocí hypoxie.

Cílem práce bylo popsat účinky několika chelátorů železa na tento protein a také zjistit, zda hraje důležitou úlohu v cytostatické a cytotoxické aktivitě těchto látek. V práci byly zahrnuty i nově syntetizované mitochondriálně cílené chelátory železa, o jejichž vlivu na protein NDRG1 není nic známo.

Autorka zvolila jako model buněčnou linii rakoviny prsu MCF7, na níž testovala vliv necílených chelátorů železa (DFO, DFX) a mitochondriálně cílených chelátorů železa (mitoDFO, mitoDFX) na protein NDRG1 a porovnávala je s účinky experimentálního chelátoru Dp44mT, který výrazně zvyšuje hladinu proteinu NDRG1, a který, dle několika studií, hraje důležitou roli v protinádorové aktivitě této látky. Dále pak vytvořila buněčné linie, které nejsou schopny syntetizovat normální a funkční protein NDRG1, a sledovala jejich proliferaci a senzitivitu vůči chelátorům železa. Studentka si osvojila relativně širokou škálu metod, od sledování proteinové hladiny na úrovni western blotu po metody průtokové cytometrie a konfokální mikroskopie. Důležitou metodikou pak také bylo sledování buněčné proliferace a buněčné smrti v reálném čase pomocí high throughput mikroskopu Etaluma 720.

Ve své diplomové práci pak autorka ukázala, že zvýšení hladiny proteinu NDRG1 je závislé na typu chelatuujících látek a také typu buněčné linie. Nejsilnějším induktorem NDRG1 se ukázal Dp44mT, následovaný mitoDFX, naopak mitoDFO indukovalo tento protein relativně málo a jen v nejvyšší testované koncentraci. Analýza proliferace *NDRG1* KO buněk pak ukázala, že proliferují pomaleji oproti kontrolním buňkám, ve kterých nebyl lokus *NDRG1* poškozen. Důležitým zjištěním je fakt, že *NDRG1* KO jsou stále citlivé k cytostatickému i cytotoxickému působení mitoDFX, což ukazuje, že tento protein není nutný pro účinek mitochondriálně cílených chelátorů, i když je jimi indukován. Z pilotních pokusů se naopak zdá, že mitochondriálně cílené chelátory železa by mohly indukovat tzv. “immunogenní buněčnou smrt,” což by mohlo objasnit pozorování, že látka funguje výrazně lépe v imunokompetentním myším modelu.

Michaela Vondráčková je velmi snaživá a pilná a pečlivá, své práci se věnovala s nasazením a nadšením a nakonec se rozhodla práci sepsat v jazyce anglickém, za což ji velmi chválím. Autorka prokázala, že je schopna experimenty naplánovat, provést a vyvodit z nich relevantní závěry. Dále se naučila práci s literárními databázemi a prokázala, že je schopna nalézt a využít dostupné prameny. Práce má 108 stran a relativně obsáhlý literární úvod následovaný výčtem metod, výsledků a diskusí, která syntetizuje již známé poznatky s těmi, které autorka zjistila. Práce je dle mého názoru zdařilá a plní své zadání a cíle.

Závěrem bych chtěl její práci doporučit k obhajobě a popřát jí další vědecké i osobní úspěchy.


Mgr. Jaroslav Truksa Ph.D.