

Posudek na diplomovou práci

- školitelský posudek
 oponentský posudek

Jméno posuzovatele:
 Petr Kaspárek
 Datum: 6/9/2019

Autor: Bc. Michal Kraus

Název práce:

Role mitochondriálního komplexu II v biologii nádorové buňky
 The role of mitochondrial complex II in cancer cell biology

Cíle práce (předmět rešerše, pracovní hypotéza...)

Cílem práce bylo roli mitochondriálního komplexu II v nádorové biologii, s využitím buněčných linií mutantních v genech Sdhaf2 a 4 (deficience a nadexprese). Dále využít tyto linie pro studium vlivu mutací na funkcionality CII komplexu a přípravu xenografového myšského modelu a tedy roli vybraných genů v rakovině

Struktura (členění) práce:

Práce je členěna logicky a přehledně, po čtivé literární rešerši následuje detailní popis použitých metod a rozsáhlá výsledková část, která je důkladně diskutována.

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány?
 Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů?

Ano

Pokud práce obsahuje (nadstandardně) i vlastní výsledky, jsou tyto výsledky adekvátním způsobem získány, zhodnoceny a diskutovány?

Ano, viz níže

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

Formální úroveň je velmi zdařilá, oceňuji výbornou angličtinu, vhodné ilustrace v rámci literární rešerše i ve výsledkové části

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Vytýčené cíle se podařilo splnit. Byly úspěšně připraveny jednotlivé mutantní linie a ověřena deficience pro jednotlivé geny. Vytvořené linie objasnily úlohu SDHAF 4 a zejména SDHAF2 v CII. Deficience obou genů vedla k nižší proliferaci buněk a diferenciacímu rustu tumoru oproti materské linie. Prezentované výsledky splňují publikační kvalitu a práci hodnotím výborně.

Otázky a připomínky oponenta:

- 1) Jaké spatřujete výhody použití Cpf1 systému oproti standardnější Cas9 (u kterého by šlo multiplex efektu dosáhnout kombinací jednotlivých plasmidů s gRNA)? Jaka byla efektivita mutagenese (% deficičních klonů)?
- 2) Jak si vysvětľujete obnovení exprese Sdhaf2 v KO linii potom, co byla deficeince overena na elektroforeze a WB?
- 3) Jak si vysvětľujete absenci SDHAF4 v materské buněčné linii? Overovali jste sekvencně endogenní variantu genu ve srovnání s cDNA použitou pro nadexpresi (která byla detekovatelná na proteinové úrovni)?
- 4) Tumory se začínají objevovat poměrně pozdě, je to pro vámi zvolenou linii běžné? Ověřovali jste na molekulární úrovni, že vzniklé tumory pocházejí z injikovaných buněk, případně plánujete jinou detailní analýzu derivovaných tumorů?
- 5) Proč nebyl klon Sdhaf2 KO9 použit pro tumor growth in vivo? Můžete detailněji vysvětlit rozpor mezi sníženou proliferací této linie a urychleným růstem nádoru in vivo?

Návrh hodnocení školitele nebo oponenta

 výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis školitele/opponenta:

Instrukce pro vyplnění:

- Prosíme oponenty i školitele o co nejstručnější a nejvýstižnější komentáře k jednotlivým bodům (dodržujte rozsah), tučně vyznačené rubriky jsou povinnou součástí posudku.