

**UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra biochemických věd

Studijní program: Bioanalytická LDZ

Posudek oponenta diplomové práce

Rok obhajoby: 2023

Autor/ka práce: **Bc. Dominika Papinčáková**
Vedoucí práce: prof. RNDr. Lenka Skálová, Ph.D.
Konzultant/ka: PharmDr. Barbora Vítovcová
Oponent/ka: Mgr. Lenka Laštovičková, Ph.D.
Název práce: **Příprava STAT3-knockoutované buněčné linie glioblastoma multiforme pomocí metody CRISPR-Cas9**

Rozsah práce: 82 stran, 21 obrázků, 8 tabulek, 78 citací

Hodnocení práce:

- | | |
|--|-------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: | výborná |
| b) Náročnost použitých metod: | výborná |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): | velmi dobré |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat: | výborná |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): | výborné |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: | výborné |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: | velmi dobrá |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: | výborná |
| i) Splnění cílů práce: | výborné |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů: | výborné |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň): | velmi dobrá |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | výborná |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Autorka se ve své práci zabývá přípravou STAT3-knockoutované buněčné linie U87MG metodou CRISPR-Cas9. Diplomová práce je tak kombinací velice zajímavého terapeutického cíle na poli rakoviny (STAT3) a velice aktuální techniky genového inženýrství (CRISPR-Cas9). Práce je členěna standardně. Velké množství citací převážně zahraničních zdrojů svědčí o dobré teoretické přípravě studentky, ačkoli na konci některých odstavců teoretické části chybí uvedení zdroje. Oceňuji aktuálnost citované literatury - více jak třetina je z období posledních 5 let. V práci se vyskytuje jen minimum překlepů, nicméně autorka má někdy problém se správným skloňováním či gramatikou (např. Obr. 5 má být "fosforylácia", str. 24 má být "Predmetom ... bolo porovnávanie kontrolných bunkových línii", v kapitole 5 má být "izbová teplota" a jiné). Práce je na některých místech kombinací vícero jazyků (např. Obr. 15, kde je popis ve slovenštině, legenda a název osy v češtině a čísla s desetinnou tečkou místo čárky, co je typické pro anglické texty). V celé práci chybí odkazy na obrázky a použití tzv. tvrdé mezery, co často oddělí předložku na konci řádku od slova na začátku dalšího či čísla od jednotek.

V rámci diplomové práce bylo použito velké množství metod, co hodnotím velice kladně. V metodické části se autorce tyto metody nepodařilo prezentovat příliš přehledně. Některé informace v této části dokonce chybí (např. bližší specifikace použitých chemikálií - výrobce, čistota apod.; Jaké pasáže buněk se používaly?; V čem byl rozpuštěn TMZ?; Jak byl připraven 192mM glycin?; Jaký byl program pro amplifikaci DNA?; Jaké byly podmínky kvantifikace RNA v přístroji NanoDrop200?; kapitola 5.4.3 je psáno ředění 1:5 a následně 80 µl k 20 µl; centrifugační podmínky jsou jednou udávány jako rpm jindy jako g; a jiné). Naopak výsledková část je zpracována přehledně a je také vhodně doplněná grafy či obrázky. Získaná data jsou následně shrnuta a popsána v kontextu celého experimentu na 5 stranách diskuse. Chybí zde ale diskuse dosažených výsledků s dostupnou literaturou. Nicméně i přes výše zmíněné nedostatky práce splňuje požadavky kladené na tento typ prací, a proto ji doporučuji k obhajobě.

Dotazy a připomínky:

1. V rámci diplomové práce bylo použito velké množství metod. Práce musela být velice náročná na čas a zajisté vyžadovala velkou manuální zručnost. Zajímalo by mě, jestli autorka všechny uvedené experimenty dělala sama, nebo byly některé metody v práci jenom popsány a autorka dostala ke zpracování pouze výsledky (například v rámci spolupráce s jiným pracovištěm).
2. Jsou ve vědeckých publikacích dostupné informace o knockoutování STAT3 například na jiných liniích? Budťo metodou CRISPR-Cas9, případně jinou? Jestli ano, mohla by autorka uvést příklady?
3. Jakou dobu je známá technika CRISPR-Cas9? Má mimo výzkumného využití i reálné využití v praxi? Pokud ano, kde je již tato technika využívána?
4. Může autorka vysvětlit rozdíl mezi CRISPR a CRISPR-Cas9?

hodnocení, práce je: výborná

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

26. května 2023

podpis oponenta/ky