

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele: Mgr. Dita Strachotová, Ph.D.

Datum: 29.8.2024

Autor: Bc. Lenka Březinová

Název práce:

Inhibitory Mdm2 a p53 v buňkách akutní myeloidní leukemie

Cíle práce

Byly stanoveny následující tři dílčí cíle práce:

charakterizovat účinek inhibitorů RG7112 a RITA ovlivňujících interakci mezi Mdm2 a p53 na buňky AML, popsat způsob interakce exosomů různého původu s AML buňkami a vyšetřit vliv přítomnosti exosomů na citlivost AML buněk k inhibitorům Mdm2-p53 interakce.

Cíle práce i celá problematika jsou velmi aktuální.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO ~~NE~~

Rozsah práce (počet stran): 117 (dále viz. Přípomínky)

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova? ANO ~~NE~~

Je uveden seznam zkratk? ANO ~~NE~~

Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO ~~NE~~

Je napsán srozumitelně? ANO ~~NE~~

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO ~~NE~~

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO ~~NE~~

Autorka cituje více než 100 literárních zdrojů (z toho cca 10 je souhrnných článků, které jsou v přehledu použité literatury označeny hvězdičkou).

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO ~~NE~~

Kolik metod bylo použito? Bylo použito cca 16 metod (sekce metod čítá 14 kapitol s tím, že 14. kapitola obsahuje ještě podkapitoly zahrnující 2 druhy barvení a fixaci buněk).

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO ~~NE~~

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO ~~NE~~

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO ~~NE~~ - v čem jsou nedostatky?

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky?

ANO ~~NE~~ – co chybí, v čem je nedostačující?

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO NE

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO NE

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO NE

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO NE

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

Obrazovou dokumentaci a grafiku považuji za velmi zdařilou.

Jazyková úroveň práce je dobrá, i když se místy vyskytují neobratné formulace, které pravděpodobně vznikly překladem anglických pramenů do češtiny (např. str. 7 zvýšená exprese MDM2 a jeho proteinu), popř. používáním „laboratorního slangu“. Překlepy jsou opravdu sporadické (viz Přípomínky), pouze občas je k nalezení chyba v interpunkci (např. str. 67 dole).

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Dílčí cíle diplomové práce byly splněny. Literární přehled dobře uvádí čtenáře do problematiky diplomové práce. Použité metody jsou dobře popsány. Autorka použila 2 experimentální léčiva RITA a RG7112 a testovala jejich vliv na různé typy buněčných linií i na obsah exosomů. Dále se autorka věnovala přenosu exosomů mezi různými buněčnými liniemi, kdy zjistila odlišné chování izolovaných exosomů po přidání k buňkám různých linií. Experimentální část je velmi rozsáhlá. Předpokládám, že téma přineslo řadu otázek, jejichž zodpovězení dalece přesahovalo rámec práce diplomové (což sama autorka na některých místech zmiňuje). Z tohoto důvodu oceňuji zpracování výsledkové části, které vzhledem k množství výsledků jistě nebylo snadné. Rovněž obrazová dokumentace je na velmi dobré úrovni, schémata a obrázky byly vhodně voleny. Práce splňuje všechny požadavky kladené na práci diplomovou a doporučuji ji proto k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:**Otázky**

Str. 3: Jaký je mechanismus působení standardních chemoterapeutik cytarabinu a antracyklinových antibiotik?

Str. 9:

Cituji: „*Nadějně jsou výsledky studií kombinujících použití nutlinu-3a s dalšími terapiemi. U AML buněk byla pozorována zvýšená apoptóza v kombinaci s léčivými standardně používanými pro léčbu AML (cytarabin, antracyklin) (Kojima et al. 2005)*“. Na straně 3 jste zmínila, že u starších pacientů není často možné používat vysoké dávky standardních chemoterapeutik. Nevíte, zda kombinace s nutlinem-3a umožňuje např. snížení dávky standardních chemoterapeutik?

Str. 42: Pro reverzní transkripci v PCR cyklu jste využila kit (SensiFAST cDNA Synthesis Kit). V tabulce 1 uvádíte PCR program využitý pro syntézu cDNA. Co se přesně děje v jednotlivých krocích tohoto PCR programu?

Str. 53-54: Co vše je alarmujícím znakem křivek tání při posuzování správného provedení qPCR?

Str. 54-56: Teoretická otázka – analyzovala jste i primární AML vzorky z leukodoplece z hlediska exprese vybraných genů a vzorky byly poměrně heterogenní – dalo by se ze získaných výsledků odhadnout, zda by mohla být pro některého z pacientů léčba některým z experimentálních léčiv přínosná (pokud zanedbáme např. nutnost dokončení klinických testů).

Str. 57, Obrázek 16 – Jak dlouhý měl být správný produkt genu PMAIP1? Je některý z většího množství produktů na gelu ten správný?

Str. 68 a Obrázek 24: Jaké mohou být důvody k tomu, že protein CD9 nebyl detekovaný v exosomech linie K562 ve všech třech biologických opakováních?

Připomínky

Obrázek 10, MDM2 – neměly dvě hvězdičky značit statisticky významný rozdíl mezi kontrolou a RITA (spíše než jak je naznačeno mezi kontrolou a RG7112) ?

Kontroly jsou někdy značeny K, někdy Ctrl.

Číslování stran práce je atypické a začíná až stranou úvodu. Pokud by byla práce číslována od titulní strany, byl by rozsah práce 127 stran.

Nalezené překlepy:

Str. 53, legenda obrázku 12: Lader místo Ladder

Str. 63: p53S46 místo p53pS46

Návrh hodnocení oponenta

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: