

Oponentský posudek na diplomovou práci Ing. Dominiky Tučkové „Efektivita vyhledávání sekundárních metabolitů sinic se specifickou aktivitou proti lidským nádorovým buňkám pomocí metod "highthroughput" screeningu“

Diplomová práce Ing. Tučkové ve své úvodní části přehledně a zajímavě zpracovává informace o nádorových onemocněních a jejich rozdělení. Velmi dobře jsou zpracované kapitoly zabývající se kancerogenezi a buněčnými a molekulárními základy nádorového onemocnění. Přivítal bych pouze zmínění teorie imunologickém dohledu organismu (teorie EEE).

Rozdíly metabolismu nádorové a normální buňky jsou popsány přehledně a detailně. Vhodná by byla ale i zmínka o vysoké podobnosti metabolismu nádorových buněk a efektorových buněk imunitního systému, která znesnadňuje terapeutické zásahy na této úrovni.

Přínosným je i podrobný popis apoptózy nádorových buněk a jeho rozdílnosti od nekrózy. Rovněž kladně hodnotím i zpracování kapitoly o nádorové terapii. Přivítal bych informaci o nových metodách nádorové imunoterapie (checkpoint inhibitory, CAR-T cells) i když respektuji, že při celkovém zaměření práce tyto informace nejsou klíčové. Vzhledem k zaměření práce jsou naopak adekvátní podrobné informace o rakovině prsu a informace o sinicích a jejich sekundárních metabolitech.

Cíle práce by měly být formulovány průzračněji a odrážet i efektivitu vyhledávání sekundárních metabolitů zmíněnou v názvu práce.

V části Metodika možná nebylo nutné vyjmenovávat běžné chemikálie a přístroje, ale na závadu to není. V části 3.5.1 je třeba uvést výslednou koncentraci aditiv. Rovněž v 3.5.2 by měl obsahovat údaj o koncentraci trypsinu a EDTA, který byl pravděpodobně v trypsinizační směsi použit. V kapitole 3.5.3 – při centrifugaci vždy uvádět „g“ a ne otáčky. Kapitola 3.4. a 3.9. má překrývající se obsah.

Celkově v kapitole Metodika není jasná celková posloupnost jednotlivých kroků. Této části by pomohlo přehledné grafické schéma jednotlivých kroků a uspořádání jednotlivých částí metodiky tak, aby odráželo časovou následnost. Ta začíná být zřejmá z kapitoly výsledky, ale přehlednější uspořádání metodiky by bylo jen k prospěchu.

V metodice by mělo být poskytnuto více informací k HTS analýze, aby bylo možno všechny následné výsledky dobře srovnávat a interpretovat. Např. není jasné, jakým způsobem byla určována výchozí koncentrace 25 mikrogramů/ml. Taky bych přivítal informaci o objemu a tvaru jamek. V kapitole 4.2 bych chápal splnění priority 1, ale ne kritéria 2 a 3, která jsou kritérii pro vyloučení.

Kapitola Výsledky je psána logicky a srozumitelně a je výsledky jsou dokumentovány řadou grafů. Diskuze se zamýšlí velice dobře nad možnými příčinami zjištěných výsledků a reflektuje dobře i relevantní literární poznatky.

Drobné překlepy:

Str. 24 omylem místo zánětlivé stimuly je uvedeno protizánětlivé.

Str. 26 death receptors místo death receptros

St., 32: nukleonových

Stránka 50 – PBS místo PSB

Str. 82 – odstranit nalezenou chybu – zdroj

Otázky:

Předpokládám, že v CO₂ inkubátoru byla miska s vodou, zaručující nasycenost vodními parami. Bylo nutné i tak dávat vodu do okrajových jamek?

Jak si vysvětlujete zvýšení viability buněk při navýšení jejich počtu z 5 000 na 13 000 (4.3.1)

Čemu věříte více, HTS analýze nebo vlastním výsledkům a proč? I když u obou metod se použije stejná koncentrace buněk a především stejná koncentrace účinné látky, jsou výsledky rozdílné. Diskutujte prosím možný vliv rozdílných objemů a rozdílné geometrie jamek.

V kapitole 4.4 a 4.6 se používalo 5000 buněk na jamku, což neodpovídá HTS (mělo by být 13 000). Jaký byl důvod?

V obrázcích 36 - 39 nebylo nikde dosaženo statistické významnosti rozdílů?

Čím si vysvětlujete nádory stimulující efekty (4.7., 4.8. 4.9, 4.10) Proč zrovna u linie U937?

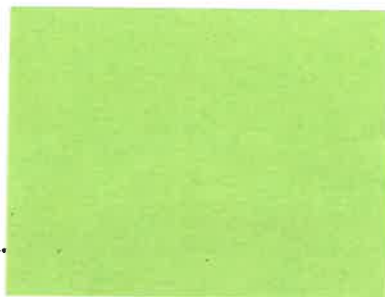
Snižování inhibičních efektů při čištění jednotlivých látek si vysvětlujete synergií s ostatními látkami. Zkoušeli jste možnost synergie zpětným smícháním vyčištěných látek (824,4 + 393,3 + 874,3 + 607,3). Nebylo by to sice přesně opakem toho, k čemu dochází při purifikaci, ale mohlo by to být zajímavé.

Je dno jamek u HTS ploché? Dochází opravdu k plnému pokrytí dna jamek? Může být rozdíl mezi HTS a manuálním ověřováním ve vyčerpanosti média? Jak to vypadalo se změnou pH (barvy) média v obou případech?

Práce je psána dobrou češtinou, přehledně a srozumitelně. Citování prací používá systém používaný v publikacích, který je praktický a rychlý. Rozsah použitých pramenů je plně dostatečný.

Diplomová práce spojuje kvalitní rešerši s velkým množstvím experimentální práce a otevírá řadu otázek pro další výzkum. Práci plně doporučuji k obhajobě a hodnotím známkou 1-2 s tím, že výsledné hodnocení by mělo reflektovat přehlednost a srozumitelnost prezentace.

V Českých Budějovicích dne 18.5.2021



RNDr. Jan Ženka, CSc.

oponent