

## Oponentský posudek na bakalářskou práci Jana Vondráka

### „Molekulární charakteristika vybraných vzácných nádorových onemocnění“

Předložená práce se zabývá molekulárními charakteristikami vzácných nádorů slinných žláz, které se vyznačují variabilním histologickým nálezem komplikujícím jejich diagnostiku. Práce je standardně členěná. Úvod v první kapitole velmi stručně seznamuje čtenáře s nádory a jejich rozdělením na benigní a maligní. Tato část by jistě mohla být zpracována detailněji s důrazem na proces kancerogeneze a molekulární mechanismy, které k ní vedou. Druhá kapitola je věnována nádorům slinných žláz, jejich incidenci, diagnostice a významným chromozomálním přestavbám, které mohou být použity k jejich klasifikaci. Poslední kapitola Úvodu je věnována použitým molekulárním metodám. Text není moc informativní, protože se omezuje jen na základní principy. Uvítal bych více informací např. o používaných „*break apart*“ sondách nebo o soupravách pro přípravu sekvenačních knihoven.

Motivace práce je přesto jasná. Jejím cílem je pomocí molekulárních metod identifikovat fúzní transkripty charakteristické pro vybrané nádory slinných žláz.

Kapitola Materiál a metody je psána spíše formou protokolů, které jsou místy velmi detailní (např. ředění roztoků). Většina metod byla prováděna pomocí komerčních souprav a tak by bylo možné metody zestručnit odkazem na manuál výrobce. Izolace RNA byla prováděna pomocí robota, příprava knihoven pak pomocí soupravy s lyofilizovanými reakčními směsmi. Z textu však není jasné složení hybridizační směsi použité při fluorescenční *in situ* hybridizaci (FISH) a zda byly použité hybridizační sondy komerčně dostupné nebo byly navrženy specificky pro tuto práci. Také není jasné, na jaké geny cílí komerční soupravy použité pro přípravu sekvenačních knihoven a detaily zpracování získaných sekvenačních dat.

Výsledky jsou zpracovány v tabulce a popsány v textu. Autor našel fúzní transkripty v sekvenačních datech u 109 ze 135 vyšetřených vzorků. Tři z nich dosud nebyly popsány a jsou doloženy schémata, anotovanými zamapovanými sekvencemi a výsledky FISH. Bohužel chybí detailnější popis těchto výsledků v textu. Diskuse je bezesporu nejzdařilejší částí práce. Autor pro jednotlivé nádory shrnuje přestavby, které jsou pro ně charakteristické, zahrnuté geny, jejich funkci a předpokládaný molekulární mechanismus, kterým fúzní geny přispívají ke vzniku malignity. Závěr shrnuje hlavní poznatky práce. Lze konstatovat, že autor splnil vytyčený cíl.

Celkově se mi práce líbí, i když její kvalitu snižuje formální stránka. Obrázky jsou v angličtině často s nedostatečným popiskem, práce obsahuje velké množství překlepů, anglických slov a žargonu (např. „rearanž“). Práce však s přehledem splňuje požadavky kladené na kvalifikační práce na PřF JU a já ji doporučuji k obhajobě, ke které mám následující otázky:

1. V Diskuzi se uvádí: „V průběhu přípravy bakalářské práce bylo pomocí NGS nalezeno v naší laboratoři značné množství genových aberací v nádorech slinných žláz.“ Jaký byl tedy vlastní podíl autora na prezentované laboratorní práci a výsledcích?
2. Jaké bylo složení hybridizační směsi použité při FISH?
3. Byly použité „*break apart*“ sondy komerčně dostupné nebo byly navrženy specificky pro tuto práci? Jak dlouhé a v jaké vzdálenosti od sebe jsou navrhovány?
4. Proč se používá k určení pozitivních vzorku po FISH „cut off“ hodnota a neprovádí se statistické srovnání s negativní kontrolou?
5. Na jaké geny cílí komerční soupravy použité pro přípravu sekvenačních knihoven.
6. Jaké kroky zahrnovala bioinformatická analýza dat?

V Českých Budějovicích dne 17. 1. 2022

RNDr. Petr Nguyen, Ph.D.