

Posudek oponenta diplomové práce

Autor práce: Bc. Kateřina Dostálová

Název práce: Lysosomal sequestration of anticancer drugs and multidrug resistance in cancer cells

Typ práce*: Diplomová

Kritérium hodnocení	Dílčí hodnocení**						
	A	B	C	D	E	F	nelze hodnotit
Celkový rozsah práce, vyváženost jednotlivých částí, struktura	X						
Kvalita teoretické části (množství poznatků z literární rešerše)			X				
Výstižnost formulace základního problému a cílů práce	X						
Logika postupu při vlastní rešeršní nebo experimentální práci	X						
Úplnost popisu použitých metodik a postupů	X						
Úroveň zpracování výsledků (grafy, tabulky, fotografie)		X					
Úroveň legend obrázků a tabulek (správnost, srozumitelnost a úplnost legend)	X						
Adekvátnost interpretace výsledků		X					
Způsob diskuse, začlenění do kontextu výzkumu na pracovišti a ve světě	X						
Výstižnost souhrnu	X						
Jazyková a stylistická úroveň, názvosloví				X			
Správnost citace použité literatury (přítomnost necitovaných zdrojů, jednotný styl, oficiální zkratky časopisů)			X				

Navrhovaná známka*: B

Komentář k práci, připomínky a dotazy.

Práci považuji celkově za zdařilou, odpovídající zvyklostem a požadavkům přírodovědných oborů. Experimenty jsou navrženy logicky, provedeny systematicky, dobře dokumentovány a popsány. Diskuse je adekvátní a závěry jsou jasně podpořeny dosaženými výsledky. Přesto mám k práci několik drobných výhrad.

Práce je psána anglicky a jazyková úroveň je spíše průměrná, ale obsahové sdělení je v naprosté většině jasné. Používání interpunkce je často nesprávné. Rozhodně ale oceňuji snahu o autorské psaní.

Poznámky:

* Nehodící se škrtněte / vymažte.

** Hodnocení křížkujte.

*** Do výsledné známky započítejte jen hodnocené položky

Teoretická část je z valné většiny postavena na učebnicových poznatcích. Hojně a opakovaně cituje několik přehledných prací, monografií a učebnic, a to zejména v obecnějších kapitolách 3.1.1. až 3.1.3. V odborných pracích je ale obvyklé odkazovat se na původní zdroje. Mezi světlé výjimky patří např. odkaz na práci O. Warburga z roku 1956 (str. 20).

Tabulky 1 a 2 jsou v textu prakticky bez komentáře. Příklady virálních onkogenů v tabulce 1 nejsou v textu vůbec komentovány. Navíc jsou mnohem častější deregulace jejich buněčných variant.

Některé informace nejsou zcela úplné, jako je např. role TSG p53 a RB1, které dle textu rozhodují o pokračování buněčné proliferace nebo spuštění buněčné smrti (str. 15, odstavec 2). O souvislostech s buněčnou diferenciací a senescencí není ani zmínka. V kapitole o buněčné smrti je zaveden pojem caspasy, ale není vysvětlen.

Neúplnost může místy dokonce vest ke zdánlivým rozporům. Např. definice TSG v textu (str. 10, odstavec 3) a jejich příklady v tabulce 2. Zdaleka ne všechny TSG jsou zodpovědné za supresi proliferace (např. BCRA1/2 v tabulce 2). Další příklad rozporu - TK sice katalyzuje transfer fosfátu na tyrosin, ale ten musí být součástí proteinu (str. 30).

Některá tvrzení jsou nesprávná: ... telomerase ... is transcriptionally silenced by the TERT gene ... (str. 17, odstavec 2). Ras není TK (str. 30). Mitotické buňky se neoznačují za tetraploidní (str. 39).

Kapitoly 3.1.3.3. až 3.1.3.5 měly být asi spíše spojeny.

V metodické části jsou časté formální chyby (nesprávné formátování chemických vzorců anorganických solí – např. KH_2PO_4 , NaCl ..., nevhodné používání termínu 1x PBS, nelogické uvedení dekahydrátu u koncentrace pyrofosfátu), někdy vzniklé zřejmě nesprávným překladem (str. 38: ... by using their products of dehydrogenases, ... by ethanol acidification). Chybí specifikace použitých statistických metod.

Formátování obrázků ve výsledkové části práce je velmi nevhodné, obrázky jsou často zbytečně velké a rozděleny na dvě strany. Redukce velikosti a uspořádání jejich částí na jednu stranu by výrazně přispěla ke zvýšení přehlednosti a čitelnosti.

Pro diskusi během obhajoby navrhuji následující otázky:

1. Jaký je vztah mezi mnohočetnou lékovou rezistencí, nádorovými kmenovými buňkami a jejich citlivostí k chemoterapeutikům? Kap. 3.2. by si zasloužila tuto souvislost zmínit.
2. S jak velkými kulturami byly zahájeny kultivace pro přípravu rezistentních klonů? Dá se očekávat získání rezistentní kultury selekcí preexistujících klonů nebo spíše indukce mutací a vznik nových klonů stresovým působením inhibitoru TK?
3. Jak byla měřena velikost lysosomů (např. obr. 14 a 15b)?
4. Bylo při analýze buněčného cyklu použito skutečně barvivo TMRE (str. 50)?
5. Odpovídají histogramy na obr. 17b (konkrétně zastoupení buněk v S fázi) grafu na obr. 17d?
6. Dle výsledků uvedených v obr. 21b došlo ke zvýšení exprese HSP70 v buňkách T98G 2SUN, v textu je výsledek komentován mírný nárůst. Buňky T98G 4SUN mají hladinu HSP70 nezměněnou, ale přitom je změna popisována jako signifikantní pokles (str. 53, odstavec 2). Prosím o vyjasnění.
7. Jak je to s rezistencí buněk K562 k sunitinibu? Rozdíl v citlivosti patentních a rezistentních buněk K562 je marginální (IC_{50} odpovídá 2,4 μM , respektive 3,5 μM), ale v textu je komentován různě. Ve výsledkové části je rozdíl popsán jako mírný (str. 56, odstavec 2), zatímco v diskusi jako signifikantní (str. 66, odstavec 1).
8. Daly by se provedené experimenty podpořit měřením (sub)celulárních koncentrací sunitinibu? Existuje způsob izolace intaktních lysosomů?

Závěr: Přes uvedené nedostatky práci jednoznačně doporučuji k obhajobě.

V Olomouci dne 2. 6. 2021

Vladimír Kryštof

Poznámky:

* Nehodící se škrtněte / vymažte.

** Hodnocení křížkujte.

*** Do výsledné známky započítejte jen hodnocené položky