

Posudek oponenta

Autor práce: Michael Sniehotta

Název práce: Analýza buněčného cyklu pomocí fluorescenční mikroskopie

Typ práce*: bakalářská

	Kritérium hodnocení	Hodnocení						
		A	B	C	D	E	F	nelze hodnotit
1	rozsah práce, vyváženost rozsahů jednotlivých částí a jejich strukturovanost		x					
2	kvalita literární rešerše (např. množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru)	x						
3	naplnění cílů podle zadání práce a poznatků z literární rešerše		x					
4	správnost a úplnost legend u obrázků a tabulek (např. srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)			x				
5	správnost používání citačních odkazů (např. přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací)	x						
6	výstižnost souhrnu práce v českém a anglickém jazyce			x				
7	grafická úprava textu a obrázků				x			
8	jazyková a stylistická úroveň, respektování platné nomenklatury a terminologie			x				
9	volba vhodných experimentálních metod			x				
10	srozumitelnost a výstižnost popisu používaných metod				x			
11	úroveň zpracování experimentálních dat			x				
12	adekvátnost interpretace dílčích experimentálních dat		x					
13	diskuze (souhrn získaných výsledků a jejich začlenění do kontextu dosavadního výzkumu)			x				

plagiátorství	Ano	Ne	
---------------	-----	----	--

Poznámka 1: Pokud charakter práce nedovoluje použít některé z Kriterií hodnocení, použijte sloupec "nelze hodnotit"

Poznámka 2: Hodnocení křížkujte

Poznámka 3: Do výsledné známky se započítávají jen hodnotitelné položky

* - vyberte „bakalářská“ nebo „diplomová“

**Známka
(A-F)**

C

Konkrétní připomínky a dotazy

Bakalářská práce studenta oboru molekulární a buněčná biologie Michaela Sniehotty se věnuje využití fluorescenční mikroskopie při analýze buněčného cyklu. Práce je standardně členěna a obsahuje v textu překlady (*daunrobucinu*, *doxorubicinu*, *zmněa*, *napipeotváno*, *kulatostji*) přítomné i v souhrnu, na který je soustředěna velká pozornost. Cíle práce jsou

neurčitě formulovány jako rešerše a výčet metod užitých v experimentální části, takže je těžké posoudit naplnění cílů.

Teoretická část pokrývá buněčný cyklus nádorových buněk a jeho regulaci. Oceňuji šíři, která je věnována chemoterapeutikům a také úctyhodný počet 147 citací.

Část Materiál a metody a také Výsledky obsahuje řadu nepřesností anebo údaje chybí. Výhrady uvádím níže:

1. V podkapitole 4.8.5 MTS test a jeho vyhodnocení chybí bližší informace ke zpracování dat v Excelu-výpočtu IC50.
2. V podkapitole je pod bodem 4.9.1 zmíněna příprava buněk U2OS-FUCCI, ale z kontextu práce vyplývá, že šlo spíše o nasazení buněk již dříve vytvořené stabilní linie a transfekce nebyla její součástí.
3. Chybí údaj o přesné délce inkubace s cytostatiky a počtu nezávislých biologických opakování. V podkapitole 4.9.2 Ošetření buněk (pro mikroskopickou analýzu) je informace o dvou replikátech pro každou koncentraci (podle přílohy 5 a 6 patrně v totožné destičce) a k délce inkubace uvedeno: *Destička byla poté inkubována do následujícího dne* (otázka č. 1 k obhajobě).
4. Ve stejné podkapitole není popsáno, jak probíhala obrazová analýza např. jakým způsobem byla provedena segmentace obrazu a určovány objekty/jádra.
5. Na straně 39 se mimo detekce červené a zelené fluorescence hovoří o „třetím kanálu“ s excitací o vlnové délce 405 nm a emisí 445 nm, v celé práci ale nebyl zřejmě využitý.
6. V části Výsledky není u grafů 1 a 2 na straně 41 a 42 patrné, proč byly použité zvolené koncentrace a proč byly u bortezomibu použity pouze dvě koncentrace místo čtyř (otázka č. 2 k obhajobě).
7. Vinkristin byl používán v kombinaci s doxorubicinem bez bližšího vysvětlení proč nebyly testovány zvlášť.
8. U výřezů z mikroskopických snímků bych se přikláněl k přiložení měřítka zvláště pokud některá léčiva měla vliv na velikost jader anebo je panel složený z více snímků o různém zvětšení. Například obr. 18 působí velmi syrově a není žádná informace o použitém zvětšení ani v legendě.

9. Podrobnější legenda k obrázkům by prospěla k lepší orientaci a pochopení získaných poznatků např. popisky k obrázku č. 18 na straně 47 získávají plný smysl až po přečtení několika odstavců na straně 44.

Diskuze je méně čtivá než rešerše a obsahuje komplikovaná nebo nejednoznačná souvětí, například: *Gemcitabin je antagonistou pyrimidinu, který stejně jako ostatní DNA poškozující cytostatika blokuje buňky v S či G2 fázi mechanismem zahrnujícím kinázu Chk1.*

Nesprávné je tvrzení na straně 64, že se *vinkristin společně s taxolem řadí do skupiny cytostatik zvaných vinca alkaloidy.*

V diskuzi Michael správně přichází k poznatku, že některé typy sloučenin nejsou vhodné pro monitorování buněčného cyklu FUCCI systémem. V závěru píše už jen o „určitých nedostacích“ systému FUCCI a obrazové analýzy, ale bylo by lepší takové příklady uvést, aby závěr měl i samostatně svůj význam.

Celkově se experimentální část práce četla těžko a podstatné informace bylo obtížné najít nebo úplně chyběly. Navrhuju proto známku C.

Otázky:

1. Souhrn obsahuje tvrzení, že v G1 fázi *nejúčinněji blokuji buňky cytostatika palbociclib a taxol*. Tento nečekaný výsledek mohl pro taxol vzniknout jen zvolenými podmínkami. Můžete během obhajoby doplnit chybějící informace k délce inkubace s cytostatiky, porovnat s rychlostí proliferace dané buněčné linie nebo s pomocí literatury navrhnout jak by mohla být použitým FUCCI systémem studována i antimitotika?
2. Prosím o upřesnění použitých koncentrací, počtu biologických replikátů a proč nebyly doxorubicin a vinkristin testovány samostatně, ale v kombinaci.
3. V tabulce 2 rešerše jsou cytostatika rozdělena na fázově specifická a fázově nespecifická. Odlišovaly se od sebe tyto skupiny nějakým obecným efektem i v praktické části?

Závěr: práci doporučuji k obhajobě

V Olomouci dne: 25.5. 2023



Podpis: (jméno)