

Posudek oponenta

Autor práce: Bc. Lukáš Lenart

Název práce: Využití CRISPR/Cas9 systému k přípravě buněčného modelu cystické fibrózy pro vysokokapacitní testování látek

Typ práce*: diplomová

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						

Poznámka 1: Pokud charakter práce nedovoluje použít některé z Kriteříí 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)

A

Konkrétní připomínky a dotazy (možno připojit samostatný list), slovní zhodnocení proč oponent hodnotil tímto způsobem (zejména při horším známkování)

V předložené diplomové práci se autor Lukáš Lenart věnuje tvorbě buněčných modelů pro studium cystické fibrózy. V rámci teoretické části práce sepsal ucelený přehled aktuálních informací o podstatě cystické fibrózy včetně její léčby a také o CRISPR/Cas9 systému a technologii HiBiT/LgBiT, které byly použity k vytvoření buněčných modelů. Tato část práce je na velmi dobré úrovni. V experimentální části práce se autor zabývá validací WT-CFTR-HiBiT

buněčného modelu a také návrhem CRISPR/Cas9 systému pro vnesení mutace $\Delta F508/\Delta F508$ -CFTR. Detailně popisuje účinnost sekvenčně odlišných gRNA stanovenou dvěma nezávislými metodami, a to za použití T7 endonukleázy I a TIDE analýzy. Kladně hodnotím ověření WT-CFTR-HiBiT buněčného modelu pro použití k vysokokapacitnímu screeningu chemických látek modulujících aktivitu CFTR a optimalizaci postupu získání polyklonálních linií $\Delta F508/\Delta F508$ -CFTR-HiBiT. Diplomová práce Lukáše Lenarta je vypracována velmi pečlivě a přehledně. Práci bych pouze doplnila o tabulku složení reakční směsi PCR v podkapitole 4.4.8 Validace primerů pro amplifikaci modifikované oblasti CFTR.

K práci mám tyto doplňující dotazy:

- 1) Jaká je incidence cystické fibrózy v České republice?
- 2) Popište podrobněji mechanismus účinku a vazebné místo lumakaftoru, elexakaftoru, tezakaftoru, ivakaftoru, nesolikaftoru, posenakaftoru, dirokaftoru. Zároveň uveďte jejich chemickou strukturu. Vyzkoušel jste efekt některé z uvedených látek na WT-CFTR-HiBiT reporterovou linii?
- 3) V podkapitole 5.1.3 Specifické snížení exprese WT-CFTR-HiBiT pomocí RNA interference uvádíte maximální snížení exprese CFTR na 40 % až 50 % oproti kontrole. Uveďte způsoby jakými by bylo možné dosáhnout výraznějšího snížení hladiny CFTR.
- 4) Lze očekávat u $\Delta F508$ -CFTR-HiBiT polyklonálních linií snížení proliferace vlivem introdukce mutací do lokusu CFTR? Vyzkoušel jste detekci CFTR proteinu v získaných polyklonálních liniích? Srovnání by Vám mohlo usnadnit následnou izolaci monoklonální linie $\Delta F508/\Delta F508$ -CFTR-HiBiT.

Závěr: práci ne/doporučuji k obhajobě

V Olomouci dne: 22.5.2023

Podpis:

Mgr. Agáta Kubíčková