



## OPONENTSKÝ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

Název práce: **Charakterizace nukleární kondenzace a fragmentace u modelového poškození buněk**

Autor práce: **Bc. Karolína Kynclová**

Vedoucí práce: **Mgr. Pavlína Nývltová, Ph.D.**

Oponent: **Doc. RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.**

Diplomová práce studentky **Karolíny Kynclové** se zabývá detekcí změn v buněčném jádře při procesu apoptózy buňky. Pro experimenty byla zvolena buněčná linie Jurkat, pro indukci apoptózy studentka využila cisplatinu, kamptotecin a staurosporin. Pro hodnocení změn studentka využila spektrofluorimetrickou metodu Hoechst 33258, stanovení aktivity mitochondriálních dehydrogenáz a stanovení glutathionu.

Diplomová práce je obvyklým způsobem členěna na teoretickou a experimentální část, na kterou navazují části výsledků a finální diskuze. Teoretická část má povahu rešerše, je zpracována s využitím více než 100 literárních zdrojů, což je úctyhodné množství pro zpracování diplomové práce. Literární zdroje jsou uvedeny v souladu s citační normou, i když se vyskytuje drobná nejednotnost. U internetových odkazů chybí datum citace. U některých (např. citace Arduengo, 2013) chybí odkaz úplně. Někde je uvedeno doi článku, jinde ne. Teoretická část je doplněna 12 obrázky a 4 tabulkami. Některé obrázky mají bohužel horší kvalitu. V práci se studentka nevyhnula drobným překlepům.

V experimentální části jsou přehledně popsány jednotlivé metody, které studentka využila. Výsledková část není rozsáhlá, ale je sepsána logicky a výsledky jsou odpovídajícím způsobem diskutovány.

K práci mám následující připomínky a na studentku některé dotazy. Dotazy k zodpovězení jsou zvýrazněny tučně:

### Teoretická část

**1. Pro zpracování teoretické části je z mého pohledu velice málo recentní literatury (od 2019) a studentka využila zejména starší zdroje. Byl k tomu nějaký důvod? Např. nedostupnost recentní literatury v dané problematice?**

### Experimentální část

2. str. 47 – příprava roztoků – u zásobního roztoku MCB chybí uvedení koncentrace. Zkratka MCB chybí v seznamu zkratk

3. Str. 48, kap. 3.5 – kultivace buněk Jurkat – je uvedeno, že do média bylo přidáno 10% fetálního bovinního sérum, 1 mM pyruvát, 2mM L-glutamin atd. **Jaká byla tedy výsledná koncentrace**

**těchto látek v roztoku pro kultivaci? Nebo se jedná o špatné vyjádření a uvedené koncentrace jsou koncentrace výsledné, ve kterých jsou buňky inkubovány?**

3. Str. 48, kap. 3.6 a 3.7 – správně by mělo být uvedeno „Množství GS v buňkách jsme vyjádřili jako průměr koncentrace GSH v procentech...“ a ne „ Množství GS v buňkách jsme vyjádřili jako průměr procent koncentrace GSH...“. Analogicky v kap. 3.7 – správně je „ ...jsme vyjádřili jako průměr dehydrogenázové aktivity buněk v procentech....“ namísto „ ...jsme vyjádřili jako průměr procent dehydrogenázové aktivity buněk....“

#### Výsledky

4. Str. 52 – obsahuje některé gramatické nepřesnosti – správně má být „po 24 h inkubaci“ ne „po 24 h inkubace“ – stejná nepřesnost se vyskytuje i v dalších částech

5. Str. 52, graf 1 – výsledky jsou komentovány tak, že pro posouzení vlivu CDDP byl zmíněn pouze „nejvýznamnější pokles koncentrace GSH. **Je nějaká konkrétní hranice poklesu GSH, která je pro poškození buněk významná?** Protože již koncentrace 10x nižší, tedy 5  $\mu$ M vede k cca 50% poklesu koncentrace, což je významný pokles.

**6. Str. 56, graf 3 – zde mám podobný dotaz. Studentka uvádí, že po 24 h inkubaci bylo detegováno statisticky významné zvýšení intenzity fluorescence pouze u 100 nM STS a 1000 nM CPT, ale pokud v grafu porovnáme s hodnotami u 25 i 50  $\mu$ M CDDP, tak tam jsou hodnoty podobné, ale nejsou komentovány jako statisticky významné. Jaký je proto důvod? Jaká je tedy hranice hodnoty RFU?**

#### Diskuze

V diskuzi bych doporučila pro lepší orientaci uvedení čísel grafů, kterých se diskuze týká.

Závěrem bych ráda uvedla, že i přes výše uvedené výtky a doporučení studentka splnila zadání diplomové práce. Práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji známkou **B**.

V Pardubicích 29. 5. 2023

**Doc. RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.**