

**Název diplomové práce: Využití průtokové cytometrie při studiu protinádorové aktivity
vybraných isochinolinových alkaloidů**

Autor diplomové práce: Bc. Štěpánka Vlasáková

Pracoviště: Katedra biologických a biochemických věd, Fakulta chemicko – technologická,
Univerzita Pardubice

Vedoucí práce: RNDr. Radim Havelek, Ph.D.

Oponent: Ing. Ivo Doskočil, Ph.D., Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Fakulta
agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze

Posudek:

Předložená diplomová práce má celkem 95 stran textu, 26 obrázků a 17 grafů. Diplomová práce je dle zvyklostí členěna na 7 hlavních kapitol (teoretickou a experimentální část, dále výsledky, diskuzi, závěr, seznam zkratk a seznam literatury). Jednotlivým kapitolám předchází krátká anotace práce, která představuje práci v českém a anglickém jazyce. Seznam literatury obsahuje přes 120 citačních pramenů.

Záměrem teoretické části byla charakterizace reakce buněk na působení cytotoxických a cytostatických látek využívaných při léčbě nádorového onemocnění. V experimentální části je věnována pozornost cytotoxickým a antiproliferačním aktivitám testovaných isochinolinových alkaloidů pomocí *in vitro* metod s využitím xCELLigence a průtokové cytometrie na buněčných liniích MRC-5, A2780, A549, Jurkat a MOLT-4.

Celkové pojetí diplomové práce je velmi zdařilé. V teoretické části práce autorka zmiňuje využití průtokové cytometrie při studiu účinku bioaktivních látek na buněčné linie. V další části se věnuje vlivu cytotoxických a cytostatických látek na buňky a isochinolinovým alkaloidům jako možným budoucím zdrojům nových protinádorových léčiv.

V experimentální části práce autorka zmiňuje použitý materiál a následně metody kultivace buněčných linií, počítání viability pomocí Trypanové modři. Následuje využití xCELLigence, stanovení apoptózy pomocí vazby Annexinu V a propidium jodidu a analýza buněčného cyklu podle obsahu DNA, kdy studentka testovala 4 látky v rozmezí koncentrací

1 - 50 μM dle jednotlivých metod. Dosažené výsledky jsou prezentovány přehlednými obrázky a grafy se slovním doprovodem. Dosažené výsledky jsou dostatečně diskutovány.

K práci mám tyto připomínky: V práci se vyskytují občasné překlepy. Na str. 21. „(například HLA molekuly)“ autorka má uvedenou pouze zkratku. Dále bych doporučil sjednotit názvy rostlin, kdy autorka práce uvádí latinský název a jednou český. Vhodné je využívat v celé práci stejnou formu psaní jmen rostlin. Na straně 77 je autorka zaměnila μg za mg .

K autorce mám následující dotazy:

- 1) V práci zmiňujete počítání viability po 24 h pomocí Trypanové modře. Pomocí čeho dalšího by šlo stanovovat viabilitu? Jsou nějaké rozdíly viability při různé době inkubace?
- 2) Od jaké koncentrace se látky považují za účinné? Je rozdíl mezi čistými látkami a hrubými extrakty z rostlin?

Závěr:

Závěrem konstatuji, že předložená práce splňuje kritéria kladená na diplomovou práci. Závěry diplomové práce mohou rozšiřovat poznání mezi aktivitou a strukturou alkaloidů

Vzhledem k výše uvedenému doporučuji práci k obhajobě se známkou výborně.

V Praze dne 2. června 2017

Ing. Ivo Doskočil, Ph.D.

