

Hodnocení diplomové práce studentky Bc. Adély Stýblové

Téma diplomové práce:

Optimalizace podmínek izolace miRNA z biologického materiálu pomocí TiO₂ mikrosfér

Cílem hodnocené diplomové práce byla izolace miRNA pomocí TiO₂ mikrosfér z biologických matic jako je buněčný lysát či sérum. Přičemž klíčovým úkolem bylo zavedení a optimalizace izolace miRNA z lidského séra, tak aby nedocházelo jejímu nežádoucímu rozkladu a bylo takto připravené vzorky možné hodnotit i pomocí PCR. Vlastní laboratorní práce probíhala v laboratořích Katedry biologických a biochemických věd především pod vedením Mgr. Denisy Smělé.

V teoretické části diplomové práce je shrnuta metodika pro analýzu nukleových kyselin, celkový přehled RNA a také se zaměřila na její izolaci. Velmi detailně pak studentka zpracovala část popisující různé druhy RNA a jejich využití v diagnostice. Studentka si při vlastním vypracování teoretické části počínala velmi samostatně, zpracovala velké množství relevantních zdrojů především ze zahraničních impaktovaných časopisů a nebyly třeba zásadní revize ze strany školitelů.

V rámci experimentální části práce studentka pracovala na izolaci miRNA pomocí TiO₂ mikrosfér. Po seznámení se s přípravou vzorků, jednotlivými technikami izolace miRNA a její analýzy provedla dílčí kroky optimalizace vedoucí k urychlení celého procesu zpracování vzorku. Po zbytek práce se věnovala především izolaci miRNA ze séra, kde bylo nutné vyřešit problém s rozkladem RNA v průběhu izolace i v původním vzorku. Byla testována celá řada přístupů, z nichž nejvýhodnější se ukázalo použití guanidinium thioxyanátu ve vazebném a promývacím roztoku. S jeho použitím a se zavedeným optimalizovaným protokolem bylo dosaženo úspěšné izolace miRNA ze séra. Následně se také podařilo vzorky zanalyzovat pomocí PCR. Jednotlivé kroky v rámci práce v laboratoři studentka prováděla vždy podle pokynů školitelů, zároveň však samostatně. Vlastní nápady byly vždy konzultovány a případně zavedeny do jednotlivých postupů. Při sepisování experimentální části práce bych ovšem ocenil jednoznačnější formulace a přehlednost textu, což bylo nutné často opravovat.

I přes to, že v průběhu práce byl omezený přístup do laboratoře, tak aktivní přístup studentky ke všem úkolům v rámci teoretické i experimentální části práce vedl k jejímu úspěšnému dokončení. Zvládla také komplexní postupy od přípravy vzorků, přes vlastní izolaci miRNA až po analýzu a vyhodnocení dat a vždy pracovala s minimem chyb.

Na základě výše uvedeného je zřejmé, že studentka splnila všechny zadané cíle a diplomovou práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji známkou

A

V Pardubicích 26. 8. 2021

Mgr. Rudolf Kupčík, Ph.D.

školitel