

Oponentský posudek diplomové práce

Název diplomové práce: **Mechanismy rezistence u mnohočetného myelomu – buněčný model**

Autor práce: **Bc. Kateřina Rubínová**

Vedoucí práce: **doc. Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.**

Konzultant práce: **Mgr. Marie Vajrychová, Ph.D.**

Oponent práce: **Mgr. Barbora Jankovičová, Ph.D.**

Předložená diplomová práce se zabývá identifikací proteinů souvisejících s pozorovanou rezistencí nádorových plazmatických buněk na dva vybrané inhibitory proteasomu, které se používají v rámci terapie mnohočetného myelomu. Optimalizován byl především postup přípravy buněčných linií rezistentních na oba typy inhibitorů s následnou komplexní proteomickou analýzou vedoucí k odhalení proteinů, které by mohly souviset právě s navozenou rezistencí.

Diplomová práce má klasické členění. Zahrnuje krátký úvod, následuje teoretická část (13 stran), konkretizace cílů diplomové práce, experimentální část (11 stran), výsledky jsou shrnuty na 11 stránkách, a závěr pak na celé jedné stránce. V průběhu práce i v seznamu literatury (celkem 100 citací) studentka správně používá a dodržuje citační normy. Celkový rozsah práce je 61 stran, což je v souladu se zadáním.

Teoretická část se věnuje jednak charakterizaci mnohočetného myelomu zahrnující informace o projevech, molekulárních mechanismech, diagnostice a léčbě tohoto onemocnění, dále jsou zmíněny základní informace o rezistenci na inhibitory proteasomu a nakonec pak podrobný popis proteomických metod využívajících hmotnostní spektrometrii a izobarické značení peptidů umožňujících identifikaci a kvantifikaci klinicky významných proteinů, v tomto případě proteinů souvisejících se studovanou rezistencí. V experimentální části jsou popsány postupy použité jednak pro přípravu a kultivaci rezistentních buněčných linií přes počáteční fenotypizaci původní buněčné kultury a stanovení výchozích koncentrací testovaných inhibitorů, dále pak postupy související s přípravou vzorků pro proteomickou analýzu včetně vlastní MS analýzy a vyhodnocení výsledků. Získané výsledky jsou doloženy formou grafů a tabulek ve výsledkové části, kde jsou patřičně diskutovány.

Práce je napsána stylisticky dobře a čtivě, s přiměřeným množstvím překlepů. Po formální stránce práce splňuje požadavky na ni kladené a lze také konstatovat, že bylo dosaženo zadaných cílů. V práci se vyskytuje pár nepřesností např. v obsahu chybně uvedené čísla stran u seznamu obrázků a tabulek a absence podkapitol třetí úrovně (např. 1.1.1), v experimentální části by bylo vhodné kapitole č. 10 izobarické značené peptidů předřadit kapitole 3.8 odsolení značených peptidů, v kapitole 3.10 není jasné, jaké množství peptidů se použilo pro značení, v seznamu přístrojů jsou některé položky neúplně popsány. Tyto drobné nedostatky však nesnižují kvalitu práce.

Na studentku mám následující doplňující otázky:

- 1) V kapitole 1.1.1 je nepřesně uveden název bílkoviny vyskytující se v krvi a moči pacientů s mnohočetným myelomem. Upřesněte prosím a uveďte, jakým jiným výrazem se tato bílkovina také označuje.
- 2) Pro stanovení citlivosti buněk na testované inhibitory byla použita resazurinová esej, popište prosím princip této metody.
- 3) V kapitole 4.7 je uvedeno, že nejvyšší změna hladiny byla vyhodnocena u proteinu IGS15, není uveden název tohoto proteinu v textu ani ve zkratkách, prosím o uvedení této informace včetně stručného klinického významu tohoto proteinu.

Závěrem bych ráda podotkla, že v práci bylo získáno velké množství originálních výsledků, jejichž celkové vyhodnocení přesahuje rámec diplomové práce a i když jsou některé uvedené výsledky nejednoznačné a zatím spíše hypotetické, budou zajisté přínosné pro navazující práce. Práci **doporučuji k obhajobě** a z výše uvedených důvodů ji hodnotím stupněm **B**.

V Pardubicích dne 24.5.2024

.....
Mgr. Barbora Jankovičová, Ph.D.