Hodnocení diplomové práce Bc. Kateřiny Rubínové

Název práce: **Mechanismy rezistence u mnohočetného myelomu - buněčný model**

Cílem diplomové práce byla kultivace buněk UHKT-944 rezistentních na inhibitory proteasomu (bortezomib a karfilzomib), které se v současné době používají při léčbě mnohočetného myelomu, a následně pomocí moderních proteomických metod nalézt rozdíly v hladině proteinů rezistentní buněčné linie v porovnání s kontrolními buňkami. Experimentální část diplomové práce probíhala v laboratořích Centra biomedicínského výzkumu Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Zde se studentka seznámila s postupy pro kultivaci, stanovení viability UHKT-944 buněk a přípravu vzorku buněk k LC-MS/MS analýze (příprava lyzátu, acetonová precipitace proteinů ze vzorku, enzymatické štěpení a izobarické TMT značení peptidů). Součástí diplomové práce byla také 2D LC-MS/MS analýza. Vzhledem k časové náročnosti LC-MS/MS analýz byly vzorky připravené studentkou Kateřinou Rubínovou zařazeny do již probíhajících 2D LC-MS/MS analýz.

V teoretické části diplomové práce popsala studentka mnohočetný myelom z hlediska klinických projevů onemocnění, současné metody diagnostiky a dále také molekulární mechanismy vzniku a rezistence mnohočetného myelomu. Studentka v teoretické části shrnula možnosti využití proteomických metod pro výzkum rezistence mnohočetného myelomu. Studentka byla při psaní této části aktivní a samostatně pracovala s dostupnými relevantními zdroji především z impaktovaných vědeckých časopisů.

Studentka se v rámci experimentální části věnovala zejména kultivaci UHKT-944 buněk. Nejprve stanovila výchozí koncentraci inhibitorů proteasomu pro kultivaci rezistentní buněčné linie a poté tuto koncentraci systematicky přidávala do kultivačního média k UHKT-944 buňkám. Snížení citlivosti UHKT-944 buněk k inhibitorům ověřila pomocí resazurinové eseje. Z buněk připravila buněčný lyzát a následně provedla enzymatické štěpení proteinů v lyzátu a izobarické značení peptidů. Vše podrobně popsala ve své diplomové práci, včetně samotné 2D LC-MS/MS analýzy, přestože ji studentka neprováděla samostatně, ale pro vyhodnocení získaných dat bylo nezbytné, aby studentka pochopila metodické principy LC-MS/MS. Experimentální část probíhala vždy podle pokynů školitele a studentka jednotlivé experimenty prováděla velmi pečlivě. Do diplomové práce poté zanesla všechny získané výsledky, které řádně diskutovala.

Kladně hodnotím především aktivní přístup studentky, její samostatnost při práci v laboratoři a při vyhodnocení výsledků. Náležitá pozornost byla také věnována formálním úpravám práce. Studentka splnila všechny zadané cíle, a proto diplomovou práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji známkou **A.**

V Hradci Králové, 17. 5. 2024

Mgr. Marie Vajrychová, Ph.D.
Školitel-specialista