

POSUDEK ŠKOLITELE

název práce: Hledání nových biomarkerů neplodnosti mužů pomocí transkriptomu spermií

jméno studenta: Anastasiya Semyakina

Popis experimentální práce z pohledu školitele

Cílem studie bylo prověřit, zda se transkriptom spermií získaných z ejakulátu mužů, kteří trpí infertilitou, liší od transkriptomu spermií plodných mužů. Naše laboratoř získala vyčištěné spermie v roztoku RNAlater, úkolem diplomantky bylo 1) prověřit možnosti izolace RNA ze spermií a vhodnou metodu zavést. Tato část práce byla provedena ve spolupráci se školitelem, diplomantka pak samostatně izolovala RNA z většiny vzorků. Ve spolupráci se školitelem a další vědeckou pracovnící laboratoře pak provedla měření koncentrace a kontrolu kvality pomocí Bioanalyzeru (Agilent); 2) provést vlastní analýzu transkriptomu pomocí mikročipů Affymetrix. Diplomantka pracovala ve dvojici spolu se zkušenou pracovnící naší laboratoře, jak v „mokrém“ části, tak v základním statistickém vyhodnocení; 3) ověření výsledku transkriptomického experimentu pomocí kvantitativní RT-PCR. V této části provedla diplomantka většinu experimentů samostatně, včetně návrhu primerů a statistického vyhodnocení, menšinu provedl školitel.

Hodnocení experimentální práce

Diplomantka zvládla na dobré úrovni základní experimentální metody práce s RNA a DNA, tj. izolaci nukleových kyselin, měření koncentrace a kontrolu kvality, gelovou elektroforézu, end-point PCR a PCR v reálném čase. Je schopna samostatné práce v laboratoři. Prokázala schopnost konceptuálního plánování experimentů, schopnost odhalit jejich případné slabiny, a navrhnout vhodnou metodu statistického hodnocení výsledků. Z hlediska celkového přínosu pro naši laboratoř, pokud bude tato studie publikována, kvalifikuje se Anastasiya Semyakina na spoluautorství rukopisu, přesné pořadí na seznamu autorů však ještě není jasné.

Hodnocení textu diplomové práce

Diplomová práce je přiměřeného rozsahu. Úvod a literární přehled je dostatečného rozsahu, uvítal bych větší přehlednost řazení jednotlivých podtémat, celek však plní svůj účel, tj. zasazení řešené problematiky do kontextu.

Metodická část je velmi podrobná, subjektivně se mi dá místy až příliš podrobná, jsem si však vědom toho, že můj pohled může být zkreslen vlastní detailní znalostí této práce.

Výsledky jsou vcelku popsány dobře, uvítal bych jen větší důraz na jejich grafickou prezentaci, která ve vhodné formě umožní snazší orientaci v experimentálních výstupech. V částech, které ukazují výsledky kvantitativní PCR je správně všude uvedena hladina významnosti, avšak chybí mi odhad velikost efektu, tj. poměr expresí nebo fold-change.

Diskuze splňuje svůj účel. Přál bych si větší prostor věnovaný srovnání s podobnými studii, včetně rozdílů ve způsobu výběru vzorků pro experiment a dalších konkrétních odlišností, které mohlo mít vliv na porovnatelnost výsledků.

V Praze dne 10. 9. 2018

doc. MUDr. František Liška, Ph. D.

Ústav biologie a lékařské genetiky

1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy