

Oponentský posudek dizertační práce Mgr. Hany Radilové

Využití metody RNA interference pro cílenou inhibici exprese genů na úrovni mRNA

Dizertační práce Mgr. Hany Radilové byla vypracována v rámci postgraduálního studia na Farmaceutické fakultě Univerzity Karlovy v Hradci Králové (školitel: Prof. RNDr. Eva Kvasničková, CSc.) v molekulárně-biologické laboratoři firmy GENERI BIOTECH s.r.o. Práce je zaměřena na studium vztahů mezi geny souvisejícími s metabolismem kyseliny arachidonové. Metodicky je práce založena na využití metody RNA interference a dalších metod molekulární biologie na buněčné linii rakoviny děložního čípku - Hep2. Cílem práce bylo vytvoření buněčného modelu se specificky sníženou expresí vždy jedné z izoform cyklooxygenázy (COX-1 nebo COX-2). Podstatná část výsledku již prošla recenzním řízením a byla přijata k publikaci v odborném časopise (Hradilova, H et al., 2009. COX-1 is coupled with mPGES-1 and ABCC4 in human cervix cancer cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*.) Práce je napsána v češtině a zachovává klasickou strukturu kapitol (literární přehled, experimentální a výsledková část a diskuze).

Poslední dobou jsem neměl mnoho příležitostí číst tak rozsáhlý a přitom dobře napsaný molekulárně biologický text v českém jazyce. Autorka má můj obdiv za vysokou jazykovou a odbornou kulturu textu. Literární úvod dizertační práce představuje ucelený přehled metody RNA interference a především metabolismu kyseliny arachidonové, cíle práce jsou přesně formulovány. Experimentální část je dokladem, že autorka dokonale ovládá velmi široké spektrum technicky náročných a vyspělých metod molekulární biologie a práce s tkáňovými kulturami. Popsaný postup, zvolené kontroly, jednotlivé optimalizace a kvalita provedení a zpracování výsledků vlastních experimentů svědčí o pečlivosti a vysoké kvalitě práce autorky i celého pracoviště. Diskuze a souhrn dostatečně prezentuje nejdůležitější výsledky a jejich souvislosti. V závěru nechybí ani popis plánovaných navazujících studií.

Jedinou zásadní připomínku mám k publikační aktivitě autorky, která je podle mého názoru spíše podprůměrná. Věřím však, že připravený model je pouze velice slibným začátkem pro zajímavý a důležitý výzkum v oblastech souvisejících přímo s klinickou praxí. Doporučuji autorce, aby během obhajoby rozvedla možné směry budoucího výzkumu, případně zmínila již probíhající navazující studie.

Po formální stránce mám dvě drobné připomínky: a) případné doplnění popisu mechanismu RNA interference o schéma struktury shRNA by napomohlo snadnějšímu porozumění textu, b) na stránce 64 došlo k záměně zkratky HPRT1 za COX-1.

K odborné stránce mám tyto doplňující otázky:

- Proč byly zvoleny při testu vlivu exogenního PGE₂ na expresi ABCC4 uvedené koncentrace PGE₂? Jaké byly absolutní hodnoty PGE₂ v ELISA testu?
- k diskusi na str. 80 - Co je známo o regulaci transportérů ABCC4 na úrovni proteinu?
- Můžete blíže rozebrat, jak si vysvětľujete navýšení hladiny mRNA pro COX2 během RNA interference?

Mgr. Hana Hradilová ve své dizertační práci prokázala, že je schopna samostatné vědecké práce a doporučuji proto, aby předložená dizertace Mgr. Hany Radilové byla přijata jako podklad pro udělení vědecké hodnosti Ph.D.

V Praze, 31.7.2009



RNDr. Pavel Flachs, Ph.D.

Fyziologický ústav Akademie věd ČR, v.v.i.

Vídeňská 1083

142 20 Praha 4 Krč

Tel: 241 063 707

E-mail: flachs@biomed.cas.cz