



UNIVERSITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
Katedra Buněčné biologie

Ing., RNDr. Vladimír Krylov, Ph.D.
Viničná 7
128 44 Praha 2

tel: 420 2 21951773
fax: 420 2 21951758
e – mail: vkrylov@natur.cuni.cz

Věc: Oponentský posudek na diplomovou práci

Diplomová práce Terezy Böhmové 'Regulace PKB/Akt fosforylace během znovuzahájení meiosis' je klasicky členěna a obsahuje celkem 7 kapitol. Cílem práce, který by měl být součástí samostatné kapitoly, bylo objasnění mechanismu fosforylace PKB na Thr308 a Ser473 v rámci následné aktivace fosfodiesterázy PDE3A a znovuzahájení meiozy u myších oocytů. Dále si autorka vytýčila přípravu expresních vektorů kódujících mRNA pro PTEN a konstitutivně aktivní PKB.

Literární přehled je vyčerpávající a autorka jasně prokázala, že je schopná pracovat s odbornou vědeckou literaturou. Přesto bych na tomto místě podotknul, že slohová úprava textu je spíše podprůměrná a místy nelze přes dlouhé a šroubované věty ani pochopit význam sdělovaného. Jako příklad uvádím následující větu: 'Oba koaktivátory váží APC/C s větší afinitou, je-li fosforylován (Fang, Yu et al. 1998) (pozitivně APC/C^{CDC20} ovlivňuje fosforylace *cycBCDK1* komplexem, případně Polo podobnou kinázou 1 (PLK1) ve spolupráci s CDK1, naopak PKA zprostředkovaná APC/C fosforylace jeho aktivitu inhibuje) (Kotani, Tugendreich et al.1998).' Tato věta také slouží jako příklad špatně uváděných citací v celém textu. Místo (Kotani, Tugendreich et al., 1998) má být (Kotani et al., 1998). Dále bych rád upozornil na fakt, že v nadpisech kapitol se nepoužívají zkratky (BC lze nahradit souslovím Buněčný cyklus). Text se obecně hemží anglikanismy (např. předošetření – pretreatment), mnohdy je použit i anglický slovosled. V kontrastu s tím je text kapitol 2.2.2.1 až 2.3.4., který je psán jasně a srozumitelně, až diplomantku podezřívám, že měla k dispozici česky psanou předlohu zpracovanou zkušeným autorem. Na druhou stranu velmi kladně hodnotím obrázkovou dokumentaci, která vhodně doplňuje text.

Kapitola Materiál a metody je psaná jasně a srozumitelně. Výhradu mám k některým termínům, jako např. na str. 38 'oholené oocyty'. Lepší je podle mého názoru použít sousloví

'denudované oocyty'. Upper a lower primery na str. 41 bych nahradil termíny forward a reverse. Na téže straně autorka píše o AscI nukleáze. Nejedná se o restriční endonukleázu ?

Kapitola Výsledky jasně a srozumitelně shrnuje naměřená data. Na tomto místě bych upozornil, že by tato kapitola neměla obsahovat odkazy na citace. Na str. 43, obr.č.1c autorka uvádí relativní hodnoty intenzity bandů na elektroforeogramu. Na obrázku je patrný jediný band, a to u skupiny GVBD. Přesto jsou pod ostatními skupinami uvedeny hodnoty. Jak k nim autorka dospěla?

Na závěr bych chtěl říci, že všechny uvedené výtky nikterak nesnižují odbornou hodnotu předložené diplomové práce. Experimentální design byl perfektně připraven a autorka prokázala, že je schopná ze získaných výsledků vyvodit logické závěry. Diplomová práce bezpochybně přinesla zajímavé výsledky a změnila současný pohled na fosforylaci a aktivaci PKB během znovuzahájení meiozy u myši.

Doporučuji tuto práci přijmout jako práci diplomovou a hodnotím ji stupněm výborně.

V Praze dne 15.5. 2009

Ing., RNDr. Vladimír Krylov, Ph.D.

Otázka oponenta:

Proč byly jako pozitivní kontrola fosforylace PKB použity myší embryonální fibroblasty kultivované v DMEM médiu s přídatkem 10% séra (FCS) a jako negativní kontrola fibroblasty kultivované 36 hod v 0,2% FCS ?