

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:

RNDr. Hana Španielová, PhD
Katedra genetiky a mikrobiologie PřF UK
Viničná 5, 128 43 Praha 2
e-mail: hs@natur.cuni.cz

Datum: 16.9.2009

Autor: **Denisa Kovářová**

Název práce:

Změny onkogenních vlastností nádorových buněk modulací exprese onkogenů. Příklad kuřecích nádorových linií transformovaných genem v-src.

Cíle práce:

Pomocí metody RNAi snížit hladinu onkoproteinu v-Src v kuřecích transformovaných buňkách PR9692 a PR9692-E9 a zjistit dopad tohoto umlčení na onkogenní potenciál těchto buněk *in vivo*.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): **109, 174 citací**

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, **ANO**

Je uveden seznam zkratk? **ANO**

Literární přehled:

- Odpovídá tématu? **ANO**
- Je napsán srozumitelně? **ANO výborně**
- Použila(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? **ANO**
- Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? **ANO (u některých informací však není uveden zdroj)**

Materiál a metody:

- Odpovídají použité metody experimentální kapitole? **ANO**
- Kolik metod bylo použito? **Metodicky velmi bohaté** (klonování – 16 konstruktů, PCR, rt-PCR, SDS-PAGE, Western Blotting, práce s tkáňovými kulturami, transfekce, virová infekce, FACS, práce se zvířaty /inokulace nádorů/).
- Jsou metody srozumitelně popsány? **ANO**

Experimentální část:

Experimenty jsou dobře navrženy a vesměs obsahují dostatečné množství kontrol.

- Je vysvětlen cíl experimentů? **ANO**
- Je dokumentace výsledků dostačující? **ANO**
- Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? **ANO**

Diskuze:

- Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? **ANO, ale diskuse je příliš dlouhá, protože nadbytečně rekapituluje výsledky.**
- Jsou výsledky porovnávány s literaturou? **ANO**
- Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? **ANO**

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? **ANO**

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň): **výborná**

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Diplomová práce má jasné cíle, které byly splněny. Obsahuje velké množství logicky na sebe navazujících experimentů, ve kterých autorka prokázala, že se dokáže úspěšně vypořádat i s řadou nečekaných experimentálních a technických problémů. Formální zpracování jen podtrhuje celkově vysokou úroveň práce. Diplomovou práci lze s radostí doporučit k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:

- **V textu výsledkové části není vhodné používat bez vysvětlení zkratku NK (negativní kontrola).**
- **U Obr. 5.19. chybí popisek (šipka) k Western blotu. Proč jsou detekovány dva proužky, když na Obr. 5.18. vyvolávaném stejnou protilátkou je jen jeden?**
- **Byla opravdu měřena koncentrace proteinů standardní Bradfordovou metodou ve vzorcích připravených v lyzačním pufru obsahujícím 1% Triton X-100, jak vyplývá z informací na str. 62? Nemohlo díky tomu dojít ke zkreslení všech výsledků při sledování snížené hladiny proteinu v-Src vzhledem k tomu, že nebyl používán žádný vnitřní standard?**
- **Proč nebyl jako vnitřní standard pro sledování snížené hladiny proteinu v-src použit např. protein GAPDH (35Kda), jehož gen se k tomuto účelu osvědčil při kvantitativní PCR?**
- **Proč nebyly pro inokulaci kuřat použity jako kontrola buňky infikované virem virRCAN(C)shvir- (místo/kromě RCAN(C)shsrc-GFP)?**
- **Bylo možno u buněk PR9692 a PR9692-E9 infikovaných virem RCAN(C)shsrc-cds (cds) nebo virem RCAN(C)shsrc-GFP pozorovat nějaké morfologické změny, které mohou souviset s jejich změněným nádorovým potenciálem?**
- **Byla kontrolována hladina v-Src v případě buněk PR9692-E9 infikovaných RCAN(C)shsrc-cds (cds) 18 dní po infekci? Existuje nějaké vysvětlení pro náhlou změnu nádorového potenciálu této linie oproti situaci 11 dní po infekci (žádné z nabízených vysvětlení na str.96, odst.2 nelze ve světle této změny uspokojivě přijmout)?**

Návrh hodnocení školitele nebo oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis školitele/opponenta: