

## Posudek na diplomovou práci Jany Rybářové nazvanou „Regulace transkripce mikroRNA klastru miR-17-92 v průběhu diferenciacie makrofágů“

Předložená diplomová práce se skládá z osmdesáti šesti stran v klasickém členění na Literární přehled, Cíle diplomové práce, Materiál a metody, Výsledky, Diskusi, Shrnutí výsledků a Závěr.

Diplomová práce má zřetelně stanovené cíle, které se autorce podařilo splnit. Jana Rybářová zvládla velké množství metod a získala, zdá se, zajímavé a hodnotné výsledky. Bohužel formální stránka práce již není zcela povedená. Zejména jazyková úroveň textu je velmi nízká. Text obsahuje velké množství laboratorního slangu, anglikanismů, či přímo anglických slov i tam, kde to není nutné. Stavba vět často neodpovídá pravidlům českého jazyka a lze v ní nezřídka vysledovat vliv angličtiny. Uvádím pouze několik slov a slovních spojení jako příklad: putativní, „sběrná tuba“ jako špatný překlad slovního spojení „collection tube“, annealing, vortexovat, eppendorfka, aktivita renilly, transkripční esej atd. Jazykové nedostatky lze však v práci najít téměř na každé stránce. Práce obsahuje i občasné překlepy, které jsou pak často zopakovány na více místech. Některé z nich jsou, ač zavádějící, humorné; například přejmenování soupravy „DNeasy Blood & Tissue Kit“ od firmy Qiagen na „DNasy Blood ...“. Ostatně firma Qiagen měla v této práci „šťěstí“, protože i další její souprava byla přejmenována na „MinElute PCR Purification Kit“. Co znamená anglický výraz „fucation“ necht' si čtenář či posluchač dohledá sám.

Literární přehled z větší své části patří ke slabším částem práce. Podle mého soudu se autorka zbytečně pokoušela obsáhnout příliš široké téma, což vedlo k tomu, že některé kapitoly jsou psány povrchně, s odkazy na přehledové články nebo dokonce učebnice. Literární přehled v diplomové práci je odborným textem. I když se často jedná o první pokus studenta na tomto poli, měl by text vyčerpat problematiku v celé její hloubce a neomezovat se na obecná tvrzení ze zastaralých pramenů, jako jsou v extrémním případě citované Úvod do molekulární biologie od Prof. Rozsypala, či české vydání Základů buněčné biologie od Albertse a kolektivu. Podle mého soudu autorka nemusela vůbec zpracovávat obecné kapitoly „Regulace genové exprese“ nebo „Krvetvorba a diferenciacie makrofágů“. Naopak nutno říci, že kapitola „miR-17-92 klastr“, která je svoji problematikou evidentně autorčině srdci nejbližší, je z obsahového hlediska zpracována velmi pěkně. Autorka prokázala svoji schopnost orientovat se v odborné literatuře, pouze se dle mého soudu díky své nezkušenosti trochu utopila v její šíři.

Z odborných dotazů a připomínek vybírám.

Autorka uvádí v práci větší počet sloupcových grafů, kde jsou často zobrazeny zřejmě chybové úsečky. V celé práci není popsáno, o jaké chybové úsečky se jedná, jak byly počítány, z kolika experimentů, zda se jednalo o technická nebo biologická opakování atd. V mnoha případech se jedná o zobrazení normalizovaných hodnot, tedy v tomto případě zřejmě podílu aktivit dvou různých luciferáz. Způsob normalizace získaných dat však není nikde vysvětlen. Výpočet případné odchylky by měl odrážet skutečnost, že se jedná o podíl dvou nezávisle měřených hodnot. Není též uvedeno, co bylo zdrojem aktivity luciferázy použité pro normalizaci; zda se jednalo o enzym produkovaný stabilní linií, zda se jednalo o kotransfekci kontrolním vektorem a jaké bylo případně množství transfekovaného vektoru. Znalost těchto údajů je důležitá i pro některé závěry předložené diplomové práce. Pokud by například množství transfekovaného vektoru a tím i měřené aktivity kontrolní luciferázy z *Renilla reniformis* byly ve všech experimentech přibližně stejné, svědčilo by to o velkých rozdílech v měřených aktivitách světluškové luciferázy mezi jednotlivými experimenty. To je samozřejmě v některých případech v pořádku. Například, pokud budeme uvažovat, že měřená aktivita kontrolní luciferázy použité pro normalizaci v experimentech uvedených na Obr. 18 a Obr. 19 je stejná, pak by to znamenalo,

že příspěvek kryptické (bazální) transkripce samotného vektoru pGL3-basic je v experimentu uvedeném na Obr. 18 zanedbatelný. Tento předpoklad je ostatně zřetelný i z experimentu uvedeného na Obr. 20, kde je příspěvek bazální transkripce plasmidu pGL3-basic v rozsahu experimentální chyby. Takový závěr je ovšem v určitém rozporu s autorčím tvrzením uvedeným v poslední větě na straně 64. Ze stejného důvodu bych byl ovšem opatrný k výsledkům uvedeným na Obr. 25. Obecně pro diplomovou práci doporučuji uvádět kromě shrnujících grafů i prvotní data, která nejen umožní lepší orientaci čtenáře ve výsledcích, ale i autorovi jejich přehledné zpracování pomůže při výsledné analýze.

Závěrem lze říci, že autorka provedla velké množství kvalitní experimentální práce. Vlastní sepsání práce a presentace výsledků ve formě odborného textu již nejsou tolik povedené. Přesto lze říci, že předložená práce v dostatečné míře splňuje nároky kladené na práci diplomovou a doporučuji aby byla přijata k obhajobě. Práci bych na hodnotící škále ohodnotil jako velmi dobrou.

V Říčanech, 18. září 2010

RNDr. Martin Pospíšek, Ph.D.