POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI

Marty Zajacové

Stanovenie expresných markerov génov HLA II. triedy

Na úvod bych chtěl konstatovat, že předložená diplomová práce je psána slovenským jazykem, tudíž se necítím kompetentní hodnotit slohové nuance, zdá se však, že obsahuje minimum překlepů a formálních nedostatků, přestože obsahuje velké množství komplexně strukturovaných tabulek. Dále bych chtěl vyzdvihnout intelektuální náročnost práce, zabývá se totiž velice komplexní a na mnoha úrovních strukturovanou problematikou, kdy jsou zpracovávána vysoce polymorfní genetická data v kontextu metylačních vzorů na poměrně rozsáhlém souboru dárců biologického materiálu. V několika ohledech se jedná o práci pionýrskou, neboť podobné téma nebylo překvapivě dosud s několika málo výjimkami zpracováno. Autorka měla nelehký úkol zorientovat se v zřejmě nejkomplexnější genetické problematice – polymorfismu genů MHC II komplexu a jejich regulačních oblastí. Je zřejmé, že dobře pochopila tuto historicky se komplikovaně vyvíjející problematiku se složitým názvoslovím a nejednoznačnostmi, navíc se stále vyvíjející. Je zřejmé, že se dobře orientuje v logice regulačních sekvencí a jsou jí jasné cíle práce. V práci je srozumitelně vysvětleno, proč je důležité a zajímavé se zaměřit právě na epigenetickou úroveň regulace exprese MHC glykoproteinů II třídy.

V ***literárním přehledu*** autorka shrnuje dostupná literární data. *Osobně bych se přimlouval místo přehledových článků a učebnic (Hořejší, Bartůňková) citovat originální zdrojové publikace. Dále bych se přimlouval za nepřechylování jmén autorů v citacích (např. str. 44 –Klitz vs. Klitza). Jednu citaci se mi v seznamu literatury nepodařilo dohledat (Černá, 2002).* Kapitola ***materiál a metody*** je stručná a dobře zpracovaná, obsahuje důležité informace a umožňuje reprodukování a pochopení experimentů. Metodický rozsah, který si během magisterského studia osvojila je dostatečný pro vytvoření kvalitní diplomové práce.
Výsledky prokazují vědeckou kompetentnost autorky. Získané výsledky jsou přehledně formulované a logicky uspořádané. V této části jsou výsledky průběžně diskutovány, tudíž následující dvoustránková ***Diskuse*** pouze shrnuje nejvýznamnější kontroverze se světovou literaturou a validitu a relevanci dat.

K práci mám několik dotazů:

1. Na straně 17 je zmíněno, že exprese molekul HLA je řízena na několika úrovních – transkripční, translační a postranslační. Dále popisována regulace na úrovni transkripční. Můžete dát příklad regulace na úrovni translační a posttranslační?

2. V práci jsou zmíněny plány pro postgraduální studium. Plánujete též korelovat genetická a epigenetická data se studiem skutečné exprese na úrovni proteinu/povrchové exprese jednotlivých alelických variant s různými regulačními sekvencemi/rozdílnou metylací?

3. Buněčným materiálem pro amplifikaci příslušných genových fragmentů v kombinaci s bisulfátovou modifikací byly buňky periferní krve. Pokud jsem pochopil správně, neseparovali jste jednotlivé buněčné krevní subpopulace a do experimentu vstupující DNA tak byla směsí nukleové kyselin původně se nalézající v různých buněčných typech. Není možné, že by tento fakt mohl komplikovat validitu experimentálních dat, pokud by existovala rozdílná regulační metylace v různých krevních buněčných typech?

4. V práci je napsáno, že izolace DNA probíhala z krve odebrané do zkumavek obsahujících EDTA, nepíše se, zda byla krev zpracovávána okamžitě po odběru, či zda tomu bylo jinak. Bylo všech 89 biologických vzorků zpracováváno stejným způsobem?

5. Na straně 56 je diskutována možnost mikrochimérismu jako vysvětlení nestandardních výsledků, jaká je pravděpodobnost, že dojde ve vašem experimentálním uspořádání k záchytu a analýze mikrochimérní buněčné populace?

Celkově hodnotím předloženou diplomovou práci jako kvalitní. Chtěl bych ještě jednou zdůraznit intelektuální náročnost analýzy komplexních genetických a epigenetických dat v kontextu obrovské alelické variability. Hodnotící komisi doporučuji kladné hodnocení.

V Praze 18.9.2010 ***Doc. RNDr. Jan Černý, Ph.D.***