

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:

RNDr. Jiří Král, Dr.

Datum: 24.5.2011

Autor: Veronika Mančíková

Název práce:

Molecular characterization of selected defense factors in Lumbricidae

Cíle práce

Máloštětinatci (Oligochaeta) jsou významnou modelovou skupinou pro studium evoluce imunologických mechanismů. Předložená práce je zajímavým srovnáním imunologických charakteristik dvou blízce příbuzných druhů žížal z rodu *Eisenia*. Životní prostředí druhu *E. andrei* je mnohem bohatší na potencionální patogeny než u *E. fetida*. U obou druhů byla z reverzních transkriptů mRNA odvozena sekvence dvou imunologicky aktivních proteinů, lysozymu a CCF. Pomocí kvantitativní PCR byla porovnána intenzita transkripce genů pro tyto proteiny. Stejnou technikou byla porovnána i expese hemolytických proteinů důležitých v imunologické odezvě, fetidinů a lyseninů. Další experimenty umožnily porovnat coelomové tekutiny obou druhů z imunologického hlediska (cytolytické efekty, aktivita proteáz, lysozymu).

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran) 93

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova ANO

Je uveden seznam zkratk? ANO

Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? ANO

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO

Diplomová práce zahrnuje obsáhlý literární přehled. Po stručném uvedení do anatomické stavby žížal následuje podrobná charakteristika buněčných (fagocytóza, enkapsulace, hojení ran) a humorálních imunologických mechanismů těchto živočichů (proteázy, profenoloxidázová dráha, coelomový cytolytický faktor CCF, hemolytické molekuly, lysozym, antimikrobiální peptidy).

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito? 15²

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

V práci byla použita řada metod, čemuž odpovídá značná délka metodické části. U řady metod byly k dispozici kity. Všechny metody jsou pečlivě popsány a vysvětleny. Metodika jsou doplněna seznamem použitých chemikálií, enzymů, kitů a přístrojů.

²izolace RNA, syntéza cDNA, PCR, real-time PCR, RACE (rapid amplification of cDNA ends), klonování, transformace bakterií, sekvenování DNA, stanovení koncentrace proteinů, cytolytický test, hemolytický test, stanovení aktivity lysozymu, stanovení aktivity proteáz, dvě metody polyakrylamidové gelové elektroforézy

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO

Získané výsledky naznačují, že *E. andrei* disponuje skutečně účinnějším imunitním systémem. Sekvence genů CCF a lysozymu je sice u obou druhů velmi podobná stejně jako úroveň jejich transkripce, zásadně se však liší transkripce lyseninů a fetidinu. Tyto molekuly nejsou u *E. fetida* exprimovány. Oba druhy se liší také proteolytickými vlastnostmi coelomové tekutiny.

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO

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):

Diplomová práce je vypracována v angličtině. Po jazykové stránce je kvalitní, srozumitelná a obsahuje jen minimum překlepů, výsledky jiných autorů jsou vesměs řádně citovány. Latinské názvy taxonů se však píšou kurzívou jen na rodové a nižší úrovni. Obrazová dokumentace je dostatečná, bez větších formálních nedostatků. Práce je doplněna obsáhlým seznamem literatury, který čítá více než sto citací. Považuji za poměrně neobvyklé uvádět v seznamu literatury názvy článků v uvozovkách.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Předložená diplomová práce dokumentuje schopnost autorky orientovat se v dané problematice a analyzovat adekvátním způsobem získané výsledky, jakož i její zaujetí pro danou problematiku. Studie splňuje požadavky kladené na diplomové práce, a proto ji jednoznačně doporučuji k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:

1. V abstraktech nejsou uvedeny informace o získaných výsledcích. Znamená to, že se jedná o citlivá data, které by nebylo vhodné zpřístupňovat před jejich publikováním?
2. anglický abstrakt, 2. odst. – nesprávná formulace: they have been regarded as members of subspecies (správně: as subspecies)
3. str. 14, poslední odst. – *E. fetida* je endemit jihočeských lesů?
4. str. 20. poslední odst. a dále v textu – bezobratlé nelze považovat za taxonomickou jednotku. Jedná se o zcela polyfyletický, umělý taxon (některé skupiny “bezobratlých“ jsou příbuznější s obratlovci než s jinými bezobratlými)
5. str. 26, druhý odst. – anti TIP (nevysvětlená zkratka)
6. str. 38, první odst. – při syntéze cDNA bylo skutečně používáno 0,1M DDT?
7. str. 42, první odst. – synthesis of the 3' and 5' end of mRNA (pravděpodobně cDNA)
8. tab. 3 – ke kterým genům patří primery AP a AUAP?
9. str. 46, třetí odst. - 1µl of salt solution (chybí bližší údaj o roztoku)
10. str. 48, třetí odst. – BLAST (nevysvětlená zkratka)
11. str. 49, čtvrtý odst. – „cell suspension“ nikoliv „cell solution“
12. str. 50, poslední odstavec – chybí údaj o tom v jakém poměru nebo množství jsou zastoupeny složky fosfátového pufru
13. ve výsledcích jsou v několika případech zbytečně opakovány metodické aspekty

vysvětlené podrobně v předchozí metodické kapitole

14. str. 63, popis obr. 6 – lysenin 1 a 2 (podobně u fetidinu) jsou produkovány alelami genu? (není vysvětleno)

15. str. 64, obr. 8 a str. 70, obr. 13a – špatně čitelné popisky obrázků

16. str. 64, obr. 13 – v obrázku by měl být vyznačen proteolytický pruh specifický pro *E. fetida*, jež je uváděn v textu

17. str. 74, poslední odst. – v diskusi se uvádí, že geny pro fetidin a lysenin jsou přítomny také v genomu *E. fetida*, i když nejsou exprimovány a dále že tyto výsledky nejsou v práci uvedeny. Jedná se o nepublikované výsledky autorky?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně (definitivní klasifikaci mohu navrhnout až po obhajobě práce)

Podpis oponenta: Jiří Král