

## Posudek oponenta na diplomovou práci

<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: Mgr. Lenka Horníková, Ph.D
	Datum: 12. 9. 2012
Autor: Pavel Čepek	
Název práce: Epigenetická regulace genů HLA II třídy a jejich role u autoimunitních onemocnění	
<b>Cíle práce</b> Cílem předložené práce bylo popsat úroveň methylace promotoru genu <i>HLA DQA1</i> a stanovit míru exprese jednotlivých alel tohoto genu u pacientů s onemocněním diabetes mellitus 1. typu.	
<b>Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému?</b> Předkládaná práce o rozsahu 86 stran má požadované členění. Obsahuje všechny náležitosti včetně českého i anglického abstraktu, klíčových slov, seznamu zkratk a také kapitoly Přílohy.	
<b>Literární přehled:</b> Literární přehled (14 stran) se zabývá HLA genovým komplexem a jeho souvislostí s onemocněním diabetes mellitus 1. typu. Je zde také zařazena kapitola věnovaná významu methylace DNA a jejímu vztahu k epigenetice. Literární přehled je zpracován přehledně, autor použil relevantní zdroje a tyto údaje jsou správně citovány.	
<b>Materiál a metody:</b> Kapitola Materiál a metody (27 stran) je zpracována velmi pečlivě a přehledně. Autor detailně a srozumitelně popisuje použité metody a postupy, které zahrnují izolaci monocytů a B lymfocytů z plné krve, izolaci nukleových kyselin z těchto buněk, bisulfítové sekvenování a kvantitativní PCR.	
<b>Experimentální část:</b> Kapitola Výsledky (12 stran) je dle mého názoru největší slabinou této práce. Zcela mi zde chybí vysvětlení, proč je daný experiment prováděn, čtenáři, který se detailně neorientuje v daném tématu, mohou být některé experimentální záměry nejasné. Jako zcela nevyhovující považuji obrazovou dokumentaci u HLA genotypizace (kap. 5.1.) obr. 5. Vyhodnocení genotypizace alely <i>HLA DQA1*0301</i> má být provedeno na základě velikosti získaných fragmentů DNA. Vzhledem k tomu, že zde není prezentován marker molekulových hmotností, postrádá prezentace této elektroforézy smysl. Čtenáři nezbývá než autorovi věřit. Z práce je patrné, že autor musel zpracovat velké množství vzorků a následně i dat, proto velmi kladně hodnotím, že v této kapitole autor prezentuje pouze vybraná, podstatná data. Získaná data jsou v plné šíři prezentována v příloze, ale autor se na ně bohužel neodkazuje.	
<b>Diskuze:</b> Kapitola Diskuze (2 strany) není sice velmi obsáhlá, ale dle mého názoru dostačující. Autor si je vědom nedostatků jím prezentované pilotní studie (malý počet zkoumaných pacientů a tím i malá statistická průkaznost některých výsledků) a i přes to se je snaží střízlivě hodnotit a dát do kontextu s několika málo podobnými studiemi. Přijde mi jen škoda, že další směřování této studie je naznačeno až v kapitole Závěr.	
<b>Závěry (Souhrn) :</b> Závěr je výstižným souhrnem nejdůležitějších výsledků.	
<b>Formální úroveň práce</b> (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň): Formální úroveň práce je dobrá, v textu se objevuje minimum překlepů a chyb. Autor by si	

jen měl dát pozor na používání laboratorního slangu jako např. „rozhojekování“.

**Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

I když mám k některým částem práce výhrady, předloženou diplomovou práci hodnotím jako zdařilou. Autorovi se podařilo splnit vytyčené cíle a získat cenná data, která mohou sloužit jako základ pro navazující rozsáhlejší studii. Práci proto doporučuji k obhajobě.

**Otázky a připomínky oponenta:**

**Otázky:**

1. Proč jste nejprve prováděli HLA genotypizaci, když hlavním cílem této práce bylo určit methylační stav promotoru genu *HLA DQA1*? Byli na základě těchto výsledků někteří pacienti z následující studie vyřazeni?
2. Čím si vysvětlujete překvapivě vysoký výskyt protektivních alel ve vámi zkoumaném vzorku pacientů?
3. Proč jste chtěli porovnávat methylační profily promotoru genu *HLA DQA1* mezi populací monocytů a B lymfocytů? Předpokládáte nějaký rozdíl, který by mohl mít vliv na průběh onemocnění?
4. Na straně 31 uvádíte seznam primerů a sond, které byly použity při kvantitativní PCR. Tučně mají být uvedeny ty, které jste sám navrhoval, ale tučně není vyznačena ani jedna sekvence. Můžete se k tomu nějak vyjádřit?

**Připomínky:**

1. Pro čtenáře by bylo jistě přehlednější, kdyby tabulky byly prezentovány na jedné stránce (tab. 1, tab. 16)

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta: