

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele: Ing. Petr Mlejnek, Ph.D.

Datum: 4.6.2013

Autor: Iveta Brabcová

Název práce: Úloha mitochondriálního genomu v ischemicko-reperfuzním poškození srdce u spontánně hypertenzních potkanů (SHR) adaptovaných na hypoxii.

Cíle práce

Předložená diplomová práce si klade za cíl zhodnotit vliv mitochondriálního genomu a adaptace na hypoxii na expresi vybraných genů v levé komoře srdeční u laboratorního potkana.

Konkrétně je prvním cílem nalezení vhodného referenčního genu pro relativní kvantifikaci mRNA transkriptů v levé komoře srdeční.

A následně chce autorka stanovit expresi vybraných genů energetického metabolismu, genů mitochondriální signalizace a biogeneze a genů podílejících se na regulaci oxidativního stresu.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): 106

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

Literární přehled je velmi obsáhlý, obsahuje 42 stran hutného a přesto velmi čtivého textu. Za velmi pěkné a informacemi nabitě považuji zejména kapitoly 2.4, 2.5 a 2.6, kde autorka velmi podrobně a logicky rozebírá struktury, mechanismy působení a hlavně fyziologickou úlohu genů a proteinů energetického metabolismu, mitochondriální signalizace a biogeneze a antioxidačního systému. Jejich výběr navíc odpovídá, těm kterými se pak zabývá v experimentální části.

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito? 7

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

Autorka jasně, stručně a výstižně popsala nejen postupy, ale i fyzikálně-chemické principy použitých metod. Z práce vyplývá, že metodám rozumí a má s nimi osobní intenzivní zkušenost. Je schopna připravit zvířata do experimentu, zajistit jejich adaptaci na normobarickou hypoxii a následně odebrat vzorky tkání a připravit je pro další zpracování. Je schopna ze vzorků vyizolovat RNA, změřit její koncentraci na přístroji NanoDrop, a

zhodnotit její kvalitu a čistotu pomocí elektroforézy v agarózovém gelu. Dále umí podle připravené RNA nasynthetizovat cDNA reverzní transkripcí a kvantifikovat relativní množství mRNA v původním vzorku pomocí Real-Time RT-PCR.

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO

Výsledky jsou shrnuty jasně a stručně a v přílohové části dokumentovány dostatečným množstvím přehledných graf a tabulek.

Množství získaných dat je dostatečné ke splnění vytčených cílů.

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

Autorka v diskuzi velmi zasvěceně komentuje získané výsledky, nastiňuje možné příčiny a následky zjištěných změn v expresi vybraných genů po adaptaci na hypoxii u experimentálních zvířat. Získané výsledky dává do souvislostí jak s metabolickými pochody tak i se signalizačními drahami (např. regulační drahou HIF). Dále autorka vhodně zmiňuje i výsledky získané jinou diplomantkou na stejných zvířatech (velikosti infarků myokardu) a dává je do kontextu s vlastními zjištěními.

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO

Výsledky jsou shrnuty jasně a stručně a výstižně.

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

Práce je sepsána čtivým jazykem, je logicky a přehledně členěná do kapitol a podkapitol. Grafy, tabulky a schemata jsou přehledné. Jazyková úroveň je velmi dobrá.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Cíle práce byly splněny.

Předloženou diplomovou práci Ivety Brabcové hodnotím VÝBORNĚ a DOPOPORUČUJI k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:

K práci bych měl několik drobných formálních připomínek, které však rozhodně nesnižují její hodnotu:

1. Bylo by vhodnější sjednotit koncovky přejatých slov (diméru vs. oligomeru – str. 13, ischemie vs. ischémie – str. 25).

Některé výrazy působí v jinak pěkném odborném textu nepatříčně: maximální životnost potkana (str.18), u laboratorních potkanů je vhodnější mluvit o březosti a březích příjemkyních embrií, než o těhotenství a těhotných matkách pěstounkách (str. 24).

2. Co myslí autorka pod pojmem „pracovní myokard“? (str. 12, 3.řádek odspodu)

3. Na straně 43, kap. 2.6.2, 1. Odstavec se vyskytuje pojem „peroxidem indukované cytosiny“. Nemá autorka namysli spíše cytokiny?
4. Na straně 30 v kapitole 2.4., 3. řádek autorka uvádí: Za anaerobních podmínek je většina energie pro srdeční sval získávána z mitochondrií procesem oxidativní fosforylace.....
Není oxidativní fosforylace atktivní spíše za aerobních podmínek?
5. Dále bych se autorky zeptal na design použitých primerů. Zda autorka navrhovala (nebo někdo z pracoviště) více párů primerů pro jednotlivé geny pak vybírala nejvhodnější.
6. A dále bych se rád zeptal, jak byla eliminována možná interakce primerů s případnou kontaminující genomickou DNA. Zda primery překrývají intron, nebo zda byla nějak ošetřena vyizolovaná RNA.

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: