

Posudek školitele na diplomovou práci

školitelský posudek

Jméno školitele: Petr Svoboda

Datum: 28.5.2012

Autor: bc. Michaela Vaškovičová

Název práce:

Recognition of expressed double-stranded RNA in mammalian cells

Rozpoznávání dvojvláknové RNA v cicavčích buňkách

Zadané cíle práce, včetně tématu literárního přehledu:

Cílem práce bylo analyzovat efekt vybraných proteinů, které váží dvouvláknovou RNA (dsRNA), na účinnost RNA interference (RNAi) v různých savčích buňkách. Savčí RNAi je, na rozdíl od RNAi u bezobratlých nebo rostlin, v podstatě reliktní mechanismus s nízkou aktivitou. U savců je vyšší aktivita RNAi je v podstatě omezená pouze na vajíčka hlodavců. Jednou z příčin by mohla být nízká účinnost rozpoznání dsRNA, která RNAi spouští, respektive "odklonění" dsRNA do jiných mechanismů (např. interferonové odpovědi). Michaela proto testovala vybrané dsRNA vázající proteiny, které jsou svojí strukturální organizací blízké proteinům, které u bezobratlých nasměrují dsRNA do RNAi. Tomu odpovídá literární přehled, který shrnuje biologii dsRNA, včetně ostatních mechanismů, do kterých vstupuje dsRNA.

Přístup studenta k práci s literaturou:

Michaela měla velmi dobrý přístup k odborné literatuře. Během své práce musela sama vzhledat a načíst velké množství literatury, protože téma je velmi široké.

Přístup studenta k práci v laboratoři (přístup při učení se nových metod, aktivita, samostatnost, systematickosti práce i docházky do laboratoře):

Přístup Michaely k práci v laboratoři hodnotím jako výborný. V laboratoři Michaela trávila velké množství času, tak, jak jí dovolily ostatní studijní povinnosti. Michaela byla výrazná posila našeho týmu, na její výsledky bylo spolehnutí a její práce byla vždy velmi dobře organizovaná a pečlivě provedená.

Během pobytu v naší laboratoři se naučila řadu různých technik, od molekulárního klónování přes kultivace různých savčích buněk (včetně myších kmenových embryonálních buněk), luciferase assays, po základní proteomické/biochemické analýzy (western blotting, imunoprecipitace, chromatografie). Velká část její práce, která se do diplomky nedostala, zahrnovala testování potenciálu různých RNA aptamerů pro izolaci ribonukleoproteinových komplexů ze savčích buněk. Přestože se nakonec ukázalo, že testované aptamery jsou pro zamýšlený účel nevhodné, výsledky její práce byly kvalitní a pro laboratoř velmi důležité.

V rámci výsledků prezentovaných v diplomové práci Michaela zvládla klónování vybraných genů do expresních vektorů, ověření exprese pomocí western blotu, imunoprecipitaci proteinů a otestování jejich efektu na modelu ektopické exprese testovaných proteinů a reportérů v buněčné kultuře. Své výsledky prezentovala formou posterového sdělení na několika konferencích (2x v zahraničí). Její objev, že overexprese TARBP2 a PACT proteinů blokuje endogenní RNAi, ale ne mikroRNA mechanismus bude součástí odborné publikace.

Přístup studenta při sepisování práce:

Michaela k diplomové práci přistoupila velmi poctivě a s dobrým časovým rozvrhem. Ze čtyř diplomových prací, které dosud vznikly v mé laboratoři, bylo dokončení této práce časově nejméně stresující. Diplomovou práci psala samostatně. Jako školitel jsem s Michaelou diskutoval strukturu diplomové práce, konzultoval text a poskytoval komentáře k pracovním

verzím. Elektronickou verzi vznikající diplomové práce jsem neupravoval. Michaela do sepisování vložila značné úsilí. Myslím, že dobře zvládla základy vědeckého psaní v anglickém jazyce, jakkoliv by na svém psaném projevu měla do budoucna dále pracovat, zejména na podrobné diskusi a interpretaci výsledků v kontextu existujících znalostí.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Michaela splnila cíle práce a ukázala, že dokáže zvládnout projekt, získat kvalitní data, analyzovat je a prezentovat je v angličtině srozumitelným způsobem. Na základě těchto faktů práci doporučuji k přijetí. Celkové hodnocení: výborně

Návrh hodnocení školitele:

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis školitele:

Dvořák

ÚSTAV MOLEKULÁRNÍ GENETIKY
AV ČR, v.v.i.
Václavská 1083, 142 20 Praha 4
(28)