

POSUDEK OPONENTA

BARBORA KOUTNÍKOVÁ – Stanovení exprese vinkulinu pomocí RT-PCR

- bakalářská práce

Barbora Koutníková si ve své práci dala za cíl optimalizovat metodu RT-PCR pro zhodnocení genové exprese genu *VCL*. Změny exprese tohoto genu, který je blíže popsán v teoretické části práce, souvisí dle současných studií s nádorovou proliferací karcinomu prostaty. Sestavení a optimalizace metody by tudíž mohla přispět v procesu hledání nových časných markerů tohoto karcinomu. Cílem práce, kromě již zmíněné optimalizace metody, bylo též shrnutí informací o karcinomu prostaty s důrazem na genetické změny provázající vznik tohoto karcinomu. Po sestavení RT-PCR byla stanovena relativní exprese genu *VCL* u vybraných pacientů s karcinomem prostaty a benigní hyperplazii prostaty.

Studentka prokázala teoretickou znalost problematiky v 24 stran dlouhém teoretickém úvodu, shrnujícím informace o karcinomu prostaty, vinkulinu, genové expresi a možnostech jejího zhodnocení metodou PCR, včetně modifikací. Na dalších 9 stranách byl popsán cíl práce, experimentální část zaměřená na pracovní postup a použité reagenty. Výsledky jsou popsány na 3 stranách a posléze diskutovány na 2 stranách textu. Práce je doplněna 47 citacemi.

Teoretický úvod je věcný a stručný a vztahuje se k zadané problematice. Přesto k němu mám tyto připomínky:

- 1) Odstavec o klasifikaci adenokarcinomu je až zbytečně odborný. Na podrobné dělení jednotlivých druhů adenokarcinomu ve zbytku textu nejsou žádné odkazy a tento odstavec je proto nad rámec práce.
- 2) V odstavci: Genetické změny u karcinomu prostaty je popsáno velké množství genů uplatňujících se při vzniku, či v průběhu tohoto onemocnění. Chybí mi zde ale základní rozdělení genů zapojených do onkogeneze. Rád bych se tedy studentky zeptal, jak se rozdělují základní skupiny genů, jejichž mutace jsou příčinou maligní transformace.
- 3) Pro kompletní informace o karcinomu prostaty by bylo vhodné teoretickou část práce doplnit o krátký odstavec o léčbě tohoto onemocnění

Experimentální část je jasná a přehledná. V sekci materiál a metody nechybí nic podstatného. Použité metody pomohly ke splnění vytčených cílů a výsledky jsou srozumitelné. Mám proto jen doplňující otázky:

- 1) Jakou metodou byla izolována mRNA?
- 2) Jaký je rozdíl mezi T_m a T_a ? Proč nelze jako anealingovou teplotu použít T_m uváděnou dodavatelem?
- 3) Jak veliký byl výsledný produkt RT-PCR?

Poslední připomínku mám k formátování celé práce. Ta je sice přehledná, tabulky a obrázky jsou řádně popsány, velmi často však dochází k chybnému zalomení řádků. Na jejich koncích se vyskytují výrazy, které by měli být na začátku následujících řádků.

Přes uvedené připomínky a doplňující dotazy konstatuji, že Barbora Koutníková prokázala dobrou znalost studované problematiky. Dokázala pracovat s odbornou literaturou a vhodně ocitovala dostatečné množství literárních zdrojů. Samostatnou prací optimalizovala potřebné laboratorní metody a získala tak experimentální data. Zavedla tak do praxe stanovení exprese genu **VCL** a na její práci proto bude možné v laboratoři jednoduše navázat. Práce se proto může stát základním kamenem v další hledání kandidátních genů karcinomu prostaty.

V Praze dne 12.5.2013


Mgr. Michal Černý