

<b>Posudek oponenta na diplomovou práci</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: Michaela Schierová
	Datum: 27.5.2014
Autor: <b>Kateřina Holková</b>	
Název práce: <b>Genom enterovirů z dětské stolice: kombinace next-generation a klasického Sangerova sekvenování</b>	
<b>Cíle práce</b>  Předložená diplomová práce je na naší katedře mírně atypická. Těžiště experimentální části zahrnuje návrh postupu pro bioinformatickou analýzu dat z NGS populace virů v netradičních biologických vzorcích.	
<b>Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO</b> Rozsah práce (počet stran): 90 Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO Je uveden seznam zkratk? ANO	
<b>Literární přehled:</b> Odpovídá tématu? ANO Je napsán srozumitelně? ANO Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO Jsou použité literární zdroje dostatečné ANO, Seznam použité literatury zahrnuje 76 literárních zdrojů, z toho 13 je z posledních dvou let. Jsou v práci správně citovány? Způsob citování v práci není jednotný. Střídá se varianta citování 1. autora s citováním všech autorů, někdy je v textu uveden i název práce (v kapitole 2.3.4). V Seznamu literatury je chyba hned u první citace, dále např. u knihy od Nei a Kumar (2000) chybí vydavatel, u citace Barboni <i>et al</i> rok vydání.	
<b>Materiál a metody:</b> Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO Jsou metody srozumitelně popsány? většinou ANO  Autorka v metodické části popisuje princip NGS a detailně Sangerovo sekvencování. Stěžejní částí je popis metod pro zpracování dat z NGS a pro konstrukci fylogenetických stromů. V této části jde o volný přechod mezi přehledem literatury, metodikou a vlastními výsledky. Mohu však konstatovat, že s takovým pojetím v daném případě souhlasím. Nejméně zdařilý je popis souboru vzorků a dat, které byly podrobeny další analýze.	
<b>Experimentální část:</b> Je vysvětlen cíl experimentů? spíš NE, vyplývá však z cílů diplomové práce. Chybí mi vysvětlení, jaký cíl si autorka kladla při analýze vzorků z tkáňové kultury a jaký cíl měla analýza vzorků ze stolice.	

Především však není jednoznačně uvedeno, že autorka ve své práci vstupuje do analýzy po dokončení NGS sekvencování, a proto v Metodách i Výsledcích chybějí informace o vstupním množství materiálu, množství izolované RNA, podmínkách reverzní transkripce apod.

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO

Dokumentace zahrnuje výběr 10 grafů a 8 tabulek, 2 obrázky dokumentují elektroforetické gely v podprůměrné kvalitě.

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO

#### **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

Diskuse je na sedmi stranách, zahrnuje hezkou úvahu o úloze NGS při analýze viromů, dále porovnání výsledků analýzy u první a druhé skupiny vzorků. Velmi zajímavá je zmínka o NGS analýze viromu malawských dětí, pomocí které se potvrdila metoda zpracování dat z NGS navržená v této diplomové práci.

#### **Závěry (Souhrn) :**

Jsou výstižné? NE

V závěru zmiňujete, že jste analyzovala 22 vzorků, avšak z Výsledků vyplývá, že kompletní analýzu jste provedla pouze u 10 vzorků, odvozených z tkáňové kultury. To nelze ze Závěru vyvodit.

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

Text je doplněn 25 obrázky a 13 tabulkami, většinou v dobré kvalitě, u některých obrázků je nutné hledat vysvětlení v textu. U dvou obrázků (t.j. 20 a 21) ve výsledkové části v mém výtisku chyběl obsah. V práci lze nalézt řadu překlepů, chyb ve skloňování, chybějících slov, nejasných nebo neobratných formulací.

#### **Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

Autorka předložila metodicky zaměřenou diplomovou práci s velmi pěkným literárním přehledem, méně zdařilou metodickou částí, dobře zpracovanými výsledky a diskusí. Zadané téma bylo náročné. Podle mého názoru je poměrně obtížné prezentovat data o postupu analýzy, přestože časové nároky na získání výsledků byly značné. Kvalitu práce bohužel snižuje podceněná závěrečná editace textu.

Diplomovou práci Kateřiny Holkové doporučuji k obhajobě.

**Otázky a připomínky oponenta:**

- 1) Jaké důvody Vás vedly k analýze viromu ze stolice dětí predisponovaných k diabetu, pokud předchozí studie vyloučily souvislost mezi výskytem enterovirů ve stolici a vznikem diabetes?
- 2) Jaký je předpokládaný počet různých virů ve stolici, jaký ve vzorcích z tkáňové kultury?
- 3) Je podle Vašeho názoru pro analýzu viromu dostatečné osekvenovat primární vzorky, např. ze stolice, nebo je nutné pracovat se vzorky převedenými do tkáňové kultury?
- 4) Cílem Vaší práce bylo navrhnout postup pro zpracování dat z NGS. V práci je uvedena jedna strategie, která byla úspěšně otestována. Chybí mi však dokumentace alternativních pokusů a zdůvodnění, proč je takový přístup méně vhodný.
- 5) Jak bylo zjištěno, že se protein 2B zúčastňuje syntézy RNA?
- 6) Na str. 42 jste zavedla pojem „početní rozdílnost mezi liniemi“. Co vyjadřuje? Podle mého názoru nevystihuje podstatu, pokud bude vyjmut z kontextu. (42/63)
- 7) Jak je definována „průměrná hodnota kvality úseku DNA“ při NGS? 49/73 Co je výsledné skóre kvality a jeho řád? (47/71)
- 8) Co označuje parametr „míra shody“ v souhrnné tabulce 7? (Jedná se o % shody s referenční sekvencí nebo je tam jiný vztah?) (56/76)
- 9) Zjistila jste, že jen malý podíl kontigů odpovídá enterovirovým sekvencím. Pokusila jste se zjistit původ ostatních sekvencí? (57/78)

**Připomínky:**

O špatné editaci textu svědčí především Seznam zkratk, který je směsí anglické a české verze, s chybami, např. DNA je popsána jako deoxynukleová kyselina. V Seznamu chybí např.. proteiny CXXL10. INF gama a STLA4.

17/24 Pokud je studie zvaná DiMe stěžejní pro studium diabetu, měla by být v práci lépe popsána. Popis v textu na str. 17 neodpovídá údajům v tabulce 2 na str. 19. Totéž platí o studii DIPP. U DiMe na str. 17 popisujete dětské pacienty, v tabulce jejich sourozence. U DIPP děti predisponované k diabetes vs děti s opakovanými enterovirovými infekcemi.

65/83 Při zmínce o referenční sekvenci doporučuji vždy uvádět její označení.

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta: