

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra biologických a lékařských věd

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Oponent/ka: **PharmDr. Lukáš Červený, Ph.D.**

Rok obhajoby: 2014

Autor/ka práce: **Jana Zelníková**

Název práce:

**Využití deep-sequencing při studiu závislostí průběhu lentivirové infekce na
variabilitě receptorů přirozené imunity**

Rozsah práce: počet stran: 114, počet grafů: 10, počet obrázků: 4,

počet tabulek: 21, počet citací: 81, počet příloh: 1

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: zcela splněn
- b) Jazyková a grafická úroveň: výborná
- c) Zpracování teoretické části: velmi dobré
- d) Popis metod: dobrý
- e) Prezentace výsledků: výborná
- f) Diskuse, závěry: výborné
- g) Teoretický či praktický přínos práce: výborný

Případné poznámky k hodnocení: Cílem práce bylo korelovat výskyt a expresi určitých variant molekul MHC I. třídy s mírou progresu onemocnění vyvolaného SIV u modelového organismu makak rhesus. Pro daný účel byla využita moderní metoda pyrosekvenování. Vysoce oceňuji vědecký rozsah práce a erudovaný kriticky-analytický přístup, který byl v práci využit. Z pohledu výsledkového se jedná o práci, která dalece přesahuje nároky na diplomovou práci. Formální zpracování sice s výsledkovou kvalitou značně kontrastuje, ale zároveň vypovídá o samostatném vkladu řešitelky.

Dotazy a připomínky:

Připomínka k formálnímu zpracování diplomové práce mám celou řadu, níže uvádím jen vybrané příklady.

1. Citovat nerecenzované internetové zdroje typu Wikipedia a WikiSkripta mi přijde velice nešťastné, když existují recenzované tištěné zdroje, případně weby WHO či AIDSinfo.
2. Kompletní absence citací v kapitole "Úvod" (zdvojuje tato kapitola "kapitola" Abstrakt?)
3. Věta "Dlouhodobým záměrem vědců na celém světě, je odhalit kompletní paletu MHC molekul I. třídy u makaků" silně přeceňuje význam tématu diplomové práce a působí až úsměvně.
4. Na straně 15 je užit pojem linie MHC I. třídy, ale pro nezasvěceného čtenáře je tento pojem vysvětlen až na straně 17.
5. Na jednu stranu oceňuji pečlivost popisu metod (věřím, že tato DP by mohla plně sloužit jako velice podrobný návod sekvenace využívající přístroje Roche GS Junior), ale na druhou

stranu si nemyslím, že připravit manuál pro práci s přístrojem je účelem vědecké publikace, jakou tato DP je. Popis např. na straně 58-59 je až extrémní. Rozsah popisu experimentální činnosti velmi komplikuje celkovou orientaci v textu a v tématu. Zároveň není zřejmé, proč experimentální část popisuje např. purifikaci RNA, když první věta kapitoly 5 začíná "Obdrželi jsme 15 vzorků RNA...." V kapitole 5.4.1 jsem se dozvěděl, jak postupovat při syntéze cDNA, že mám dát do reakce 5 µl vzorku RNA, ale kolik RNA obsahuje 5 µl vzorku už uvedeno není. Podobně na straně 36 není v tabulce uvedeno, kolik ng DNA bylo přidáváno do PCR reakce. Na straně 33 jsou dva obrázky gelů z gradientové PCR, ale jaká teplota odpovídá danému proužku, není jasné. Navíc není zcela zřejmý důvod výběru teploty 53,1 stupňů Celsia (dle mého, bylo možné vybrat kteroukoliv teplotu annealingu).

6. Na straně 41 by bylo dobré pro úplnost vysvětlit logiku výpočtu molekul DNA v 1 µl (co je hodnota 656,6?)

7. Ilustrativní schéma (obrázek) pyrosekvenování by určitě také zvýšilo přehlednost DP za předpokladu jejího současného celkového zestručnění.

8. V názvu DP se objevuje pojem "receptory přirozené imunity", tak bych očekával, že se v textu objeví i nějaká kapitola vysvětlující tento pojem (zlepšilo by to pochopitelnost a čitelnost textu).

9. Na straně 11 je např. tvrzení "Z těchto tří druhů byl nejvíce prozkoumán indický druh makak rhesus v souvislosti s infekcí SIV." U takového tvrzení bych předpokládal, že bude buď několik referencí podporujících tvrzení, že je tento organismus v kontextu s SIV nejvíce prozkoumaný, nebo odkaz na přehledovou publikaci. Dále ve výčtu citací, jako se objevuje např. v poslední větě kapitoly 4.2.2, bych preferoval, aby všechny byly v jedné závorce, to je (Donald a spol., 2010; Worobey a spol., 2010)

Dotazy:

1. Jaký je rozdíl mezi alelou a alelickou variantou (oba pojmy v textu užíváte a často i v jedné větě)?

2. Pozorovali jste, že např. Mamu-B*029 je odlišně exprimován. Co je důvodem nebo jaký mechanismus se uplatňuje v interindividuální variabilitě exprese jedné (stejně) alely?

3. Uvádíte, že molekuly MHC I. třídy a jejich rozdělení je komplikovanější než u člověka. Existují alely popsány jako důležité pro kontrolu HIV infekce u makaka, které pak byly nalezeny i u člověka nebo naopak alely, které byly identifikovány u člověka a pak byly popsány u makaka?

4. Jaký je rozdíl v SIV a HIV? Vyvolává HIV nemoc u makaků a SIV u člověka? Jsou popsány nějaké rozdíly patogenezi? Existují publikace popisující přenositelnost výsledků týkajících se SIV na HIV infekce?

Celkové hodnocení: výborně, k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové dne 28.5. 2014

.....
podpis oponentky / oponenta