

Posudek oponenta na diplomovou práci

<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: MUDr. Petr Hubáček, Ph.D.
	Datum: 5.9.2016
Autor: Bc. Barbora Pokrývková	
Název práce: Metylace regulačních oblastí HPV 16 u tonsilárních karcinomů s integrovanou a extrachromozomální formou viru	
Cíle práce Tato práce se snaží potvrdit či vyvrátit hypotézu, jež zní: „Methylace CpG (5'-cytosine-phosphate-guanine-3', 5'-cytosin-fosfát-guanin-3') dinukleotidů E2 vazebných míst regulační oblasti HPV 16 funguje jako alternativní mechanismus pro inhibici represivní funkce proteinu E2, což stejně jako v případě integrace viru v místě genu <i>E2</i> též vede ke zvýšené expresi proteinů E6 a E7.“	
Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO Rozsah práce (počet stran): 100 (včetně seznamu literatury) 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	
Materiál a metody: Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO Kolik metod bylo použito? 10 (Extraakce DNA, RNA, Sekvenování – Sangerovo, NGS, PCR – APOT, dvojkolové, emulzní, RQ-PCR, RT-RQ-PCR, Southern blot) Jsou metody srozumitelně popsány? ANO	
Experimentální část: Je vysvětlen cíl experimentů? ANO Je dokumentace výsledků dostačující? ANO Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO – nicméně validita studie by byla větší při větším počtu vzorků nádorů (N=18)	
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? NE	
Závěry (Souhrn) : Jsou výstižné? ANO	
Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň): Práce po formální a obrazové stránce dobře zpracována.	

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Cíl práce byl splněn – ve smyslu otestování hypotézy a jejího potvrzení ve smyslu vyšší metylace E2 BS3 a celkové HPVE2 BS234 u integrovaných HPV. Přes to, že chápu obtížnost komplexního přístupu uvedeného v práci, její hlavní limit daný počtem vzorků vede k tomu, že například rozdíl ve virové náloži mezi nádory s integrovaným a extrachromozomálním HPV není statisticky signifikantní, ačkoli je možný vztah naznačen. V práci není uvedeno, šlo-li o veškeré dosažitelné dlaždicobuněčné karcinomy hlavy a krku, a zda-li by o něco méně komplexní přístup, ale na více vzorcích, nemohl být pro celkové poznání trochu přínosnější.

Celkově ale podle mě práce zcela splňuje kritéria diplomové práce.

Otázky a připomínky oponenta:

Připomínky - Na několika místech (například hned v prvním odstavci při výčtu onemocnění asociovaných s HPV) chybí po zkonstatování stavu citace.

Otázky:

1. Ve struktuře virionu HPV je uvedeno 7 nestrukturních a dva strukturní geny, tedy 9, ale v přehledu je jich uvedeno jen 8 (L1 a L2 a E1, E2, E4, E5, E6, E7). Jak je to tedy s E3?
2. Je známo jakým mechanismem dochází k integraci HPV do genomu? V práci je uvedena nestabilita způsobená E6 a E7. Jde tedy o náhodné vazby například v místech zlomů?
3. Methylace je jistě jedním z mechanismů ovlivnění exprese genů. Jiný lidský onkogenní virus, byť stran genové výbavy mnohem komplexnější, EBV, však k takovým regulacím kromě metylace používá také regulaci pomocí mi-RNA. Jak je to s těmito v regulaci interferujícími RNA u HPV?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta:


MUDr. Petr Hubáček