

Posudek oponenta na diplomovou práci

<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: Petr Svoboda
	Datum: 31.5. 2017
Autor: Bc. Jana Kráčmarová	
Název práce: Role of MAPK in regulation of cytoplasmic polyadenylation during meiotic maturation of mammalian oocytes	
Cíle práce Cílem práce bylo otestovat roli MAPK kinázy v kontrole cytoplazmatické polyadenylace mRNA kódující cyklin B1 ve vajíčkách myši a prasat. Autorka studovala (1) korelaci mezi přítomností MAPK aktivity a polyadenylací cyklin B1 mRNA, (2) efekt inhibice MAPK aktivity pomocí různých koncentrací inhibitoru GDC-0994, (3) vliv přítomnosti kumulárních buněk, a (4) rozdíly mezi myšimi a prasečími oocyty.	
Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO NE Rozsah práce (počet stran): <i>76 i s dvěma stranami příloh</i> Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO NE Je uveden seznam zkratk? ANO NE	
Literární přehled: Odpovídá tématu? ANO NE Je napsán srozumitelně? ANO NE Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO NE Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO NE	
Materiál a metody: Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO NE Kolik metod bylo použito? <i>Metod byla použita celá řada, nelze jednoduše vzjádřit číslem</i> Jsou metody srozumitelně popsány? ANO NE	
Experimentální část: Je vysvětlen cíl experimentů? ANO NE Je dokumentace výsledků dostačující? ANO NE - v čem jsou nedostatky? Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO NE – co chybí, v čem je nedostačující? <i>Jakkoliv je zde vhodné zdůraznit, že práce přinesla na jednom modelovém systému negativní výsledky a na druhém výsledky, které nejsou zcela jednoznačné..</i>	
Diskuze: Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO NE Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO NE Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO NE	
Závěry (Souhrn) : Jsou výstižné? ANO NE <i>Jsou dostatečně výstižné, ale mohly by být lépe formulovány.</i>	

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

Formální úroveň práce je dobrá. Oceňuji snahu zpracovat diplomovou práci v angličtině, jakkoliv zároveň musím kriticky zhodnotit množství gramatických chyb, zejména členů a interpunkce. Práci by určitě prospěla ještě jedna jazyková revize. Důležité však je, že i přes tyto nedostatky je práce napsaná jasně srozumitelnou angličtinou. V úvodu mě pak trochu překvapila absence citací, než jsem se na jeho konci dostal k odkazu na shrnující články. Pro shrnutí oogeneze bych určitě doporučil uvádět také review: Edson et al. (2009) The mammalian ovary from genesis to revelation. Endocr Rev. 30(6):624-712. Oceňuji velmi podrobně zpracovanou metodickou část. Kriticky naopak hodnotím poslední větu abstraktu, jejíž strohá nihilistická formulace se do textu nehodí a myslím, že výsledky by se daly interpretovat pozitivněji. Je škoda, že shrnutí výsledku na konci abstraktu není formulováno aspoň tak dobře jako diskuse. Poslední větu by bylo vhodné zkrátit a rozvinout dále, např.: A possible role of MAPK in CPEB-mediated cytoplasmic polyadenylation is unclear (vs. could neither be confirmed nor ruled out) because ...

V části 4.9. bych doporučil uvést, jaké parametry t-testu byly použité, protože je možné si vybrat z několika variant. Nicméně přes všechny výtky hodnotím práci jako nadprůměrnou zejména co se týče formulování myšlenek v diskusi.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Cílem práce bylo otestovat roli MAPK kinázy v kontrole cytoplazmatické polyadenylace mRNA kódující cyklin B1 ve vajíčkách myši a prasat. Cíl práce byl splněn. Autorka nejprve analyzovala korelaci mezi přítomností MAPK aktivity a polyadenylací cyklin B1 mRNA, kde ukázala, že polyadenylace cyklin B1 mRNA se začíná objevovat již před aktivací MAPK kinázy (jejíž samotná aktivace je závislá na dormantní mRNA pro MOS kinázu), nicméně délka polyA roste i po aktivaci MAPK. Autorka dále na myších oocytech testovala efekt inhibice MAPK aktivity pomocí různých koncentrací inhibitoru GDC-0994 a vliv přítomnosti kumulárních buněk. Zde získala data ukazující rozdíly mezi oocyty bez kumulárních buněk a s kumulárními buňkami. Zejména změny popsané v oocytech s kumulárními buňkami jsou zajímavý směr budoucího výzkumu. Experimenty provedené na prasečích oocytech odhalily některé rozdíly ve srovnání s myšimi oocyty.

Co se týče experimentálního designu, jisté výhrady mám k tomu, že celý diplomní projekt je založený na korelaci případně chemické inhibici proteinu a lépe nevyužívá dostupné myši mutanty. Z pohledu zvědavého oponenta je také trochu škoda, že do práce nemohly být nebyly zahrnuty i jiné modely (kráva a křeček), geny a technologie (včetně mutantů) a větší počet studovaných genů. To by umožnilo lépe rozhodnout zda je cytoplazmatická mRNA polyadenylace graduální kontinuální či vícestupňový proces. Nicméně objem dat a rozsah zvládnutých metod je na diplomovou práci dostatečný.

Z technického hlediska bych každopádně příště doporučil přidat podrobnější analýzu Western blotu, kde by byla provedena kontrola signálu na ředící řadě lyzátu, aby se ukázal spodní detekční limit a zároveň se otestovala linearita signálu. Tak by bylo možné podložit čísla (minimálním detekčním limitem), jaká hladina signálu může uniknout detekci.

Abych shrnul hodnocení: na práci lze nalézt drobné, zejména formální, nedostatky, nicméně co se týče rozsahu diplomové práce, rozpětí použitých metod a celkového zpracování, jedná se z mého pohledu o nadprůměrnou práci, kterou bonifikuje vypracování v angličtině. Proto jsem se nakonec rozhodl udělit známku výbornou, přestože diplomová práce by si určitě zasloužila jednu pořádnou revizi a přeformulování některých komplikovaných či neohrabaných formulací, nad kterými jsem občas zaskřípal zuby.

Otázky a připomínky oponenta:

Jak různorodý či uniformní je recruitment dormantních mRNA během meiozy? Chovají se všechny stejně?

Je-li recruitment dormantní Mos mRNA na začátku procesu vedoucího k aktivaci MAPK po znovuzahájení meiozy, proč autorka předpokládá, že dormantní mRNA kódující cyclin B1 se nebude chovat jako Mos mRNA a místo toho bude její regulace záviset na MAPK?

Proč si autorka vybrala cyclin B1 mRNA, která je spjata s regulací MPF a nikoliv nějakou jinou a funkčně méně exponovanou dormantní mRNA nebo lncRNA?

Jaký je detekční limit, resp. dynamické rozpětí signálu western blotů?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: