

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmakologie a toxikologie

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Autor/ka práce: **Martin Svoreň**

Vedoucí/školitel/ka práce: PharmDr. Martina Čečková, Ph.D.

Rok obhajoby: 2017

Konzultant/ka práce: PD Dr. Bernd Evert

Oponent/ka práce: RNDr. Jakub Hofman, Ph.D.

Název práce:

Analysis of genomic regions bound and regulated by Ataxin-3

Rozsah práce: počet stran: 69, počet obrázků: 19, počet tabulek: 5, počet citací: 43

Práce je: experimentální

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

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení: V předložené diplomové práci vypracované v rámci projektu ERASMUS se autor věnuje regulaci specifických genomových oblastí ataxinem-3. Práce je psána v anglickém jazyce, je logicky členěna, má vysokou úroveň jazykové úpravy a vyskytuje se v ní pouze minimum překlepů a nesprávných gramatických formulací. Teoretická část práce je sice nezvykle krátká, tento nedostatek je však kompenzován v části experimentální. Metodický a experimentální rozsah práce je nadstandardní, výsledky jsou pečlivě popsány a odpovídajícím způsobem diskutovány. Celková úroveň práce je velmi vysoká, očekávám, že výsledky budou tvořit signifikantní část publikace v impaktovaném časopise. Mimoto oceňuji schopnost autora orientovat se v tak složitém tématu, jakým regulace genové exprese bezesporu je. Po obsahové ani grafické stránce k práci nemám žádné zásadní výhrady, mám pouze několik připomínek a dotazů.

Dotazy a připomínky:

Připomínky:

- 1) Uspořádání sekcí a podsekcí v teoretické části není zcela intuitivní.
- 2) V práci není jednotné uvádění jednotek, v některých případech se mezi číslem a jednotkou vyskytuje mezera, v jiných nikoliv.
- 3) V práci je zbytečně duplikováno uvádění zdrojů reagensů a materiálu. Tato informace je souhrnně uvedena v sekci Materials a poté znova uváděna v popisu metod. Měl by být zvolen buď jeden nebo druhý přístup.
- 4) Sekce 4.3.2 by měla být pro lepší pochopení detailněji zpracována. U obrázku 2 navíc chybí statistika.

5) Obrázek 13 je v rámci sekce 4.3.8.2 chybně interpretován. Z obrázku je zřejmá statistická signifikance změn, toto však není v textu zohledněno. Tato chyba se přenáší i do sekce Discussion and conclusions.

6) V sekci 4.3.10.1 je z obrázku 18 vyvozován závěr, že aktivace genomické sekvence THBS1 je závislá na ataxinu-3, což může mít vztah k patogenezi Machado-Josephovy nemoci. Ačkoliv z obrázku jsou zřejmé změny vůči kontrole, nejsou statisticky signifikantní. V tomto případě je chybné z dat vyvozovat výše popsaný závěr.

Dotazy:

1) V sekcích 4.2.4.1 a 4.2.4.2 je pro prakticky stejný účel použito pokaždé jiné interkalační barvivo. Vzhledem k prokázané kancerogenitě etidium bromidu se od jeho využívání v molekulárně biologických laboratořích upouští. Mělo použití etidium bromidu v druhém případě nějaký racionální důvod?

2) Pro amplifikaci vybraných genomických sekvencí byla jako templát použita genomová DNA pocházející ze tří odlišných buněčných linií. V práci není popsán důvod, proč se použily 3 linie a jaká byla kritéria při jejich výběru. V navazující části také není zmíněno, z jaké linie pocházely amplikony následně použité pro molekulární klonování. Mohl byste tuto situaci osvětlit?

3) Amplikony, které byly následně klonovány do TOPO vektoru, byly namnoženy pomocí primerů nesoucích sekvence rozpoznávané restrikčními enzymy. Tyto sekvence a příslušné restrikční byly dále použity pro překlonování do cílového vektoru pGL4.23. Z jakého důvodu jste prováděli klonování do vektoru TOPO, když při tomto uspořádání je možné klonovat přímo do cílového vektoru pGL4.23?

Celkové hodnocení, práce je: výborná, k obhajobě: doporučuji

V Hradci králové dne 25.5.2017

.....
podpis oponentky / oponenta