

Posudek oponenta na diplomovou práci

<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: Václav Vopálenský
	Datum: 3. 6. 2015
Autor: Alžběta Kloudová	
Název práce: Studium genové exprese faktorů signální dráhy oxysterolů u pacientek s karcinomem prsu	
Cíle práce Cílem této diplomové práce je stanovení hladiny genové exprese genů účastnících se metabolismu a transportu oxysterolů, případně hladiny genové exprese genů signálních drah ovlivňovaných oxysteroly, se zaměřením na srovnání ER pozitivních a ER negativních nádorů karcinomu prsu. Dalším z cílů je stanovení prognostického významu vybraných genů v souladu s klinicko-patologickými daty pacientek.	
Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO Rozsah práce (počet stran): 103 Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova ANO Je uveden seznam zkratk? ANO	
Literární přehled: Odpovídá tématu? ANO Je napsán srozumitelně? ANO Použila autorka v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO Autorka cituje 188 prací.	
Materiál a metody: Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO Kolik metod bylo použito? cca 3-5 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? víceméně 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	
Závěry (Souhrn) : Jsou výstižné? ANO	

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

Formální úroveň práce je velmi dobrá, překlepy se nevyskytují (až na str. 82; soubotu pacientek), anglikanismů (downregulace, knockdown) či laboratorního slangu (96-jamkové plato) je pomálu. Možná jen kvalita obrázků v literárním úvodu by mohla být lepší. Jazyková úroveň je výborná, práce je velmi čtivá s logickým tokem textu, autorka velmi pěkně a srozumitelně popisuje i vcelku komplikovanou problematiku metabolismu oxysterolů.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Cíle vytyčené v této práci byly splněny. Jakožto pilotní studie podává primární informace o úrovni exprese vybraných genu nejenom oxysterolového metabolismu. Přináší zajímavé výsledky, které po doplnění (například o imunodetekční analýzy) jistě najdou uplatnění. Ačkoliv je samotná práce po obsahové i formální stránce velmi kvalitní, přesto trpí obvyklým neduhem prací tohoto typu. Autorka sice prokázala, že umí produkovat kvalitní výsledky, nicméně ke své práci používala vlastně pouze dvě až tři metody. A to je dle mého názoru na absolventku naší fakulty vcelku málo.

Navzdory všem výše i níže uvedeným připomínkám doporučuji práci k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:

Nejprve bych si dovilil pár připomínek, některé z nich jsou spíše formálního charakteru:

- 1/ Dle mého názoru je lepší uvádět popisky obrázků a tabulek vždy nad konkrétní položkou.
- 2/ Zkratka *et al.* se obvykle uvádí v textu práce kurzívou.
- 3/ Spíš než LBD protein by mělo být uvedeno LBD doména (str. 17).
- 4/ Při psaní chemických sloučenin je lepší používat dolní ($MgCl_2$) či horní indexy (Mg^{2+}).
- 5/ Ethidium bromid se píše s měkkým *i* po h.
- 6/ Formulace „Nepřítomnost OSBP v buňkách vyvolává třikrát vyšší stabilitu proteinu“ (str. 35) asi není nejtěsnější.

A nyní pár otázek:

- 1/ Existuje nějaké srovnání vazebných afinit různých SERMs, SERDs a estradiolu k estrogenovému receptoru (str. 23)?
- 2/ Jak vysoká je hladina oxysterolů v lidském těle? Liší se jejich hladina v různých tkáních či buněčných liniích?
- 3/ Z velmi pěkně a přehledně sepsaného seznamu použitých metodik si nejsem jist, co všechno prováděla diplomantka, a co bylo děláno někým jiným. Prosím tedy o upřesnění.
- 4/ RIN číslo 3 (str. 50) značí zcela degradovanou RNA. Není možné ovlivnění výsledků analýzy genové exprese při použití RNA o RIN 3-5 (RIN 5 je částečně degradovaná RNA)?
- 5/ Jak jste dospěli k číslu charakterizujícímu účinnost reakce? Platí, že účinnost reakce 1 = 100%?
- 6/ Mimo seznamu genů vybraných pro RQ-PCR metodiku by bylo vhodné uvést i primery použité pro následné amplifikace.
- 7/ Dle mne by bylo vhodné uvést, alespoň u některých genů, i nenormalizované křivky.
- 8/ Na straně 71 uvádíte: „V souboru 50 pacientek byla zahrnuta jedna žena, která před samotným chirurgickým odstraněním nádoru podstoupila neoadjuvantní terapii. Při vynechání genových expresí tohoto vzorku ze statistického testování nebyly sledovány žádné

rozdíly ve výsledcích, proto byl vzorek v analýze ponechán“. Není to přílišné zkreslení výsledků?

9/ Jakým způsobem se produkt genu HMGCS2 podílí na hormonální rezistenci u ER+ pacientek?

10/ Na straně 82 uvádíte, že limitujícím faktorem Vaší studie je malý soubor patientských vzorků. Jak obsáhlá by dle Vás měla být „ideální“ studie?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: