

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra biochemických věd

Studijní program: Zdravotnická bioanalytika

Posudek oponenta diplomové práce

Oponent/ka: **Mgr. Hana Štambergová, Ph.D.**

Rok obhajoby: 2014

Autor/ka práce: **Bc. Iva Šplíchalová**

Název práce:

Optimalizace transfekcí eukaryontních buněčných linií

Rozsah práce: počet stran: 88, počet grafů: 4, počet obrázků: 5,

počet tabulek: 23, počet citací: 158, počet příloh: 0

Práce je: experimentální

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

Případné poznámky k hodnocení:

Předložená diplomová práce se věnuje problematice optimalizace transfekce eukaryotických buněčných linií, která je obvykle časově i finančně náročná a navíc vyžaduje rutinní osvojení si řady metod. Z tohoto pohledu mají výstupy diplomové práce bezesporu velký praktický přínos nejen pro společnost Generi Biotech, s.r.o., ale také pro samotnou autorku.

Teoretická část je zpracována poměrně pečlivě (22 stran), nicméně autorka se v některých kapitolách opakovaně vrací k již zmíněným informacím (např. str. 11, 13, 16, 25) nebo uvedené informace nezapadají do kontextu, což narušuje plynulost čtení textu. V teoretické části jsou i některé faktické chyby. Např. v kapitole 2.4 (str. 10) jsou jako příklad expresních systémů uvedeny viry. Vzhledem k tomu, že viry nemají vlastní proteosyntetický aparát, nemohou sloužit k produkci rekombinantních proteinů. (Další nepřesnost je uvedena např. v kapitole 2.6.1.1. str. 21). Metodická část je zpracována přehledně, někdy snad až příliš podrobně. V kapitole 4.2.7 Určování účinnosti transfekce by bylo vhodnější pro označení podkapitol uvést přesnější názvy použitých metodik (viz. Neubauerova komůrka, což není metoda, ale typ hemocytometru). V části optimalizace - použití transfekčního činidla a DNA by bylo vhodné uvést použité poměry místo jednotlivých objemů. Výsledková část je doplněna řadou vysvětlujících tabulek a grafů, což vzhledem k velkému množství dat usnadňuje orientaci. U sekce 'Výsledky' došlo ke spojení s diskuzí a následná kapitola 'Diskuze' je spíše zopakováním informací z teoretického úvodu, bez většího reflektování dosažených výsledků, což poněkud snižuje kvalitu práce. V celé práci by bylo vhodné sjednotit formátování, způsob uvádění zkratk a desetinných teček resp. čárek nebo popis obrázků (např. na str. 41 jsou popisky uvedeny v angličtině).

Dotazy a připomínky:

- 1) V teoretické části jsou uvedeny rostlinné expresní systémy, pro jaké rekombinantní proteiny je tento systém v praxi využíván?
- 2) Znáte nějaké další fyzikální metody transfekce?
- 3) Na str. 38 poslední věta podkapitoly Neubaurova komůrka - mohla byste vysvětlit způsob hodnocení účinnosti transfekce? (viz. dotaz č. 8)
- 4) Mohla byste vysvětlit způsob normalizace hodnot fluorescence? Proč byla hodnota RFU násobena 10 000?
- 5) Na str. 42 v řadě testovaných koncentrací buněk máte uvedenou hodnotu o řád vyšší (7×10^5). Z jakého důvodu zkoušeli právě tuto koncentraci buněk?
- 6) Str. 51 v předchozím experimentu jste vyhodnotili jako nejvhodnější počet buněk k transfekci (systém Ingenio Electroporation Solution) 7×10^5 /jamka. Proč jste v dalším experimentu vycházeli z počtu 6×10^5 /jamka?
- 7) Str. 58: "Nižší koncentrace byly testovány, protože dosažení konfluency buněčné linie HEK293, která by byla vhodná pro provádění transfekcí, často trvá velmi dlouho." Mohla byste toto tvrzení vysvětlit?
- 8) Str. 60: Účinnost transfekce je uváděna jako počet buněk. Mohla byste vysvětlit tento způsob hodnocení?

Celkové hodnocení: velmi dobře, k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové dne 23.5. 2014

.....
podpis oponentky / oponenta