



David Doležel
Institute of Entomology
Czech Academy of Sciences
and
University of South Bohemia
Faculty of Science
Braníšovská 31
370 05 České Budějovice
CZECH REPUBLIC

Phone: (+420 38) 777 5228
Fax: (+420 38) 530 0354
e-mail: dolezel@entu.cas.cz



Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci Bc. Jaroslavy Korbelové
“ Transkripční analýza vybraných stresových proteinů u larev octomilky,
***Drosophila melanogaster* ”**

Cílem magisterské práce Jaroslavy Korbelové bylo experimentální posouzení vlivu nízké teploty a aklimatizačních protokolů na stresovou odpověď larev octomilky. Práce je napsána na 33 stranách a to velmi čtivým způsobem. Přehlednost a ucelenost je možno ocenit zejména v pasážích popisujících jednotlivé typy heat shock proteinů – čtenář má tak možnost se v daném názvosloví neztratit a při troše trpělivosti snad i orientovat.

Po formální stránce práce obsahuje všechny náležitosti. Snad jen uvedení primerů (třeba formou tabulky v suplementu) by bylo žádoucí. Obdobně i další překlepy a chyby jsou nepodstatné:

např.:

str. 7, v textu: Korbelová (2009) – není v seznamu literatury
str. 11: použití zkratky tRNA bez jejího předešlého vysvětlení je lehce zavádějící, zejména vzhledem k tomu že se (obvykle) tato zkratka používá pro transferovou RNA; doporučuji spíše užívat zkratku tot RNA

Dotazy:

...DEPC voda....., nebovoda s přidavkem DEPC.... – zde prosím o vysvětlení, jak tato voda byla připravena a je v ní stále ještě DEPC?

Jakým způsobem jste se vyrovnávali s kontaminací genomické DNA, která je obvykle součástí RNA izolátů? Nebo máte důvod tyto kontaminace zanedbávat? Pak, prosím, vysvětlíte proč.

HSF a,b,c,d – čtyři isoformy transkripčního faktoru. Jak se tyto 4 isoformy projeví na výsledných proteinech? Dochází sestřihem k odstranění některých domén transkripčního faktoru, nebo k jeho jiným modifikacím?

Existují mutantní linie v některých studovaných genech? (například HSF, některé HSP)
Uved'te, prosím, jak by se daly použít pro další výzkum navazující na závěry této práce.

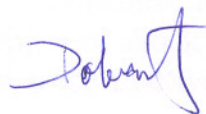
strana 27: „ Je zajímavé, že transkripce hsf a, hsf b je velmi podobná“

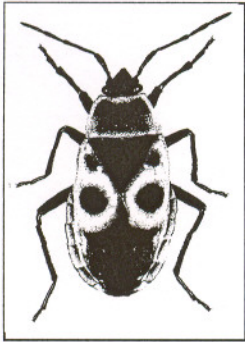
- prosím o přesnější vysvětlení tvrzení, ideálně též společné ukázání grafů srovnávaných hsf a hsp.

Závěrem mohu říci, že práce jednoznačně převyšuje svým experimentálním rozsahem požadavky kladené na magisterské diplomové práce a je velmi solidně napsaná. Jsem přesvědčen, že předložené dílo splňuje a převyšuje veškeré požadavky kladené na magisterskou diplomovou práci a doporučuji ji k obhajobě.

V Českých Budějovicích dne 19.5.2011

David Doležel





Dr Michal Žurovec
Biologické centrum AV ČR
Entomologický ústav
Branišovská 31
370 05 České Budějovice
Tel: 38777 5283
E-mail: zurovec@entu.cas.cz

Č. Budějovice, 19. května 2011

Posudek na magisterskou práci Jaroslavy Korbelové: „Transkripční analýza vybraných stresových proteinů u larev octomilky, *Drosophila melanogaster*“.

Práce je součástí výzkumu laboratoře Dr. Košťála, věnovanému chladové odolnosti. Zabývá se chladovou adaptací u drozofily, a sice měřením četnosti 13 transkriptů kódujících stresové proteiny, během 3 variant chladové aklimace a 4 časových bodů. Studentka zvládla některé metody molekulární biologie - včetně izolace RNA, reverzní transkripce a PCR. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny. Po formální stránce je práce velmi stručná, ale celkem jasná a psaná dobrou češtinou. Pouze se zde poměrně často objevují slangové výrazy „upregulace“ a „kognáty“. Rovněž nečetné anglické výrazy je potřeba psát do uvozovek (Master Mix, supermix, wandering stage).

K vlastnímu zpracování výsledku mám několik připomínek.

- 1) Ačkoliv data z RT-PCR uvedená ve výsledcích ukazují jasné profily s malými odchylkami, není zřejmé, zda primery použité pro analýzu produkovaly specifické fragmenty. Vzhledem k tomu, že se jedná o podstatu celé práce, je potřeba gely, případně „křivky tání“ ukázat.
- 2) Z práce není jasné, jak se autorka vypořádala s genomovou DNA ani jak velké fragmenty amplifikovala.
- 3) Nikde v práci není žádná informace o sekvencích primerů, ani jak byly navrženy (jak daleko od 3' konce, zda byly navrženy přes intron atd.).
- 4) V metodách není rovněž zmínka o tom, kolik larev bylo použito pro jednu izolaci RNA a zda byly pro analýzy použity vzorky z nezávislých izolací RNA a kolik bylo paralelních vzorků v jedné analýze.
- 5) Výsledkům by velmi pomohla nějaká shrnující nebo srovnávací tabulka. Práci by rovněž obohatil seznam zkratk.

K autorce mám ještě několik dotazů:

1) Bylo by možno odhadnout jaký podíl z celkové RNA tvoří jednotlivé studované transkripty?

2) Má autorka nějaké informace o tom, jak se chovají homologické geny u chladově odolné chymomyzy?

Celkově práce splňuje požadavky na magisterské práce a doporučuji ji k obhajobě.


Michal Žurovec