



Přírodovědecká fakulta
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Branišovská 31, 37005 České Budějovice

doc. Mgr. Tomáš Doležal, Ph.D. – Katedra molekulární biologie a genetiky
Tel: 387772229, E-mail: tomas.dolezal@prf.jcu.cz

Oponentský posudek na bakalářskou práci Jany Tománkové „Role genu *Socs3* v preimplantačním vývoji myších embryí“

Bakalářská práce Jany Tománkové je poměrně rozsáhlým dílem s 14 stranami úvodu a celkem 68 stranami. Po formální stránce má práce vše, co má mít, je pečlivě zpracovaná, velmi dobře a srozumitelně napsaná. Úvod jednoznačně ukazuje, že autorka pronikla do studované problematiky, zorientovala se v ní a dokázala o tom sepsat čtivý úvod. Cíle práce jsou dobře definované a metodologie je dostatečně detailní. Výsledky jsou přehledně a jasně prezentované a i velmi dobře popsány v textu. Konkrétně musím pochválit krásné elektroforetické gely, ty mě vždy velmi potěší, svědčí o pečlivosti studenta. Jana pak dokázala dát své výsledky i do širšího kontextu ve své diskuzi, kde se také snaží o vysvětlení některých svých neúspěchů. I to naznačuje, že Jana přistupovala ke své práci kriticky a že rozuměla tomu, co dělá. Práce obsahuje zanedbatelné minimum chyb. Celkově tedy na mě práce dělá velmi dobrý dojem, Jana vyzkoušela mnoho experimentálních přístupů a myslím, že ukázala skvělou motivaci a chuť do práce, že se jí snažila dělat na maximum, odvedla veliký kus práce a proto je mi líto, že spousta věcí nakonec buď dobře nefungovala, nebo nepřinesla snadno interpretovatelné výsledky. V tomto Janě prostě chybělo to potřebné štěstí, které bohužel ve vědecké práci hraje svou roli. **Přesto nemám absolutně žádných pochyb o tom, že si Jana zaslouží obhájit svou práci, a na základě písemné formy si dovoluji navrhnout i výborné hodnocení.**

Otázky a připomínky:

1. Str. 52: „Bez přítomnosti CRE je gen *Socs3* i s vloženými flox sekvencemi plně funkční.“ Jak se to ověřilo?
2. Str. 52-53: “Za tímto účelem byli kříženi samci *C57Bl6 Soc3 wt/fl* se samicemi *C57Bl6 Soc3 wt/fl*“ a “Mláďata, mající požadovaný genotyp *Socs3 fl/fl* byla dále křížena mezi sebou, což vedlo k udržení požadovaného genotypu také u jejich potomstva a vzniku myší linie *C57Bl6 Soc3 fl/fl*.” Jak byli získané myši *C57Bl6 Soc3 wt/fl*? A lze pak skutečně považovat vzniklou homozygotní linii za *C57Bl6 Soc3 fl/fl*, tj. kmen *C57Bl6* se *Socs3 fl/fl*?
3. Str. 55, poslední odstavec: proč není ukázán graf s počtem buněk a je pouze okomentován v textu? Tento experiment byl bez dalšího komentáře nějak zvláště opuštěn. Může se autorka k tomu vyjádřit? Pokud nefungovalo barvení, dalo by se alespoň ověřit, že došlo k delecí v genu *Socs3*?
4. Str. 57: „Kvůli malé délce insertu bylo velmi obtížné na agarózovém gelu určit, které PCR produkty jsou delší než produkt z původního plasmidu před vložením insertu.“ Lze použít jiný gel nebo jinou metodu, aby ten rozdíl byl snadno viditelný?

5. Str. 58: „Po potvrzení, že byl do plasmidu skutečně vložen připravený insert, byla z plasmidu pomocí PCR reakce amplifikována část DNA, nesoucí celou sgRNA sekvenci, přičemž jeden z primerů obsahoval sekvenci rozeznávanou T7 polymerázou. Tato sekvence byla během PCR reakce přidána k amplifikovanému fragmentu DNA pro sgRNA.“ Tomuto nerozumím – sloužilo toto skutečně k potvrzení inzertu? A jak byla sekvence přidána během PCR?

6. Autorka opakovaně kontrolovala na gelu RNA molekuly a opakovaně píše: „Protože se jednalo o DNA gel s použitím 1x TAE (a ne RNA-denaturující gel s použitím 1x BPE), dalo se očekávat, že RNA může být přítomna v různých konformacích, a proto může tvořit více bandů na gelu.“ Nebo byl použit nesprávně DNA ladder. Když toto dělala opakovaně, proč prostě nepoužila vhodnou metodologii pro RNA?

7. Str. 13: „Embryonální delece *Socs3* je letální mezi E11 a E13. Myší embrya podstupují běžný vývoj do E10.5, srovnatelný s kontrolními embryi bez jakýchkoliv anatomických abnormalit. Letalita je způsobena závažnými defekty placenty, ve kterých se nevyvine dostatečné cévní zásobení embrya (Roberts et al., 2001).“ Přes toto tvrzení autorka předpokládala, že umlčení nebo delece *Socs3* by mohlo vést k defektům v předchozích stádiích. Jak by tedy nakonec zhodnotila výsledky své práce v tomto kontextu, i když se jedná o první pokusy a je vše třeba zopakovat a především ověřit efekt manipulací na *Socs3*?

V Českých Budějovicích dne 8. 7. 2020

doc. Mgr. Tomáš Doležal, Ph.D.