



Přírodovědecká
fakulta
Faculty
of Science

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

POSUDEK OPONENTA NA DIPLOMOVOU* PRÁCI

Autor práce: Bc. Johana Mustacová

Název práce: Porovnání promotorů pro využití v klíčícím (*Ixodes*) expresním systému

Školitel práce: RNDr. Ján Štěrba, Ph.D.

Oponent práce: RNDr. Zdeněk Franta, Ph.D.

Pracoviště oponenta: UCH

	Bodový rozsah hodnocení ¹	Body
(1) FORMÁLNÍ POŽADAVKY		
Celkový rozsah práce (pro bakalářské práce min. 18 stran, pro diplomové práce min. 25 stran), vyváženost rozsahů jednotlivých částí, logická struktura práce (u experimentálních prací doporučení pro teoretickou část do 1/3 celkového rozsahu)	0-3	3
Kvalita literární rešerše (počet použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru, aktuálnost zdrojů)	0-3	2
Správnost používání citačních odkazů (přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratek časopisů)	0-3	3
Grafická úprava textu a obrázků	0-3	3
Úroveň souhrnu/anotace (i v angličtině)	0-3	3
Jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví	0-3	3
Správnost a úplnost popisů u obrázků a tabulek (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	0-3	3
Formální požadavky – body celkem		20
(2) VĚCNÉ POŽADAVKY		
Splnění cílů práce	0-3	2
Schopnost porozumět výsledkům, jejich interpretace a jasný popis, srozumitelnost diskuze a závěrů	0-3	2
Úroveň diskuse – interpretace výsledků, zařazení do kontextu v literatuře (absence	0-3	3

* Nehodící se škrtněte

¹ Bodový rozsah hodnocení: 0-nevyhovující, 1-vyhovující, 2-průměrné, 3-excelentní. U teoretických prací hodnotěte jenom (1) Formální požadavky, u experimentálních prací i (2) Věcné požadavky a u prací v cizím jazyce i (3) Jazykovou úroveň práce v cizím jazyce.

diskuze výsledků s literaturou je nepřijatelná)

Logika postupu při vlastní výzkumné práci	0-3	2
Úplnost popisu použitých metodik	0-3	1,5
Experimentální náročnost práce, samostatnost při práci	0-3	2
Úroveň zpracování experimentálních dat	0-3	2,5
Aktuálnost použitých metod	0-3	2
Přínos práce pro obor a publikovatelnost výsledků (po případném doplnění)	0-3	3
Věcné požadavky u experimentálních prací – body celkem		20

(3) PRÁCE V CIZÍM JAZYCE

Jazyková a stylistická úroveň	0-3	
CELKEM BODŮ (MAX/ZÍSKANÝCH)	48	40

Komentář oponenta: Předložená magisterská práce se věnuje poměrně aktuální problematice genové manipulace u klíšťat. Magisterská práce čítá 64 stran a je rozdělena na úvod (13 stran), cíl práce (1 strana), materiál a metody (10 stran), výsledky (15 stran), diskuzi (7 stran), seznam zkratek (1 strana) a reference (16 stran). Autorka zde pracuje s klíšťecími buněčnými liniemi, které jsou v literatuře zatím jen málo popsány. Hlavním cílem autorčiny práce byla optimalizace transfekce různých typů klíšťecích buněk a následné otestování vhodných promotorů. Provedené pilotní experimenty mohou sloužit jako základ pro budoucí *in-vitro* studie, ikdyž získané výsledky bude nutno ověřit *in-vivo*.

Připomínky a dotazy, na které má student/-ka reagovat při obhajobě. Chyby, na které si má dávat student v budoucnu pozor:

1 – Oceňuji seznam zkratek uvedený na straně 48, ten ale neobsahuje všechny zkratky (seznam např. obsahuje PBS, ale ne DMEM, LB či TAE). Autorce bych doporučil do seznamu uvést i zkratky pro jednotlivé klíšťecí linie.

2 – Mohla by mi autorka upřesnit postup elektroporace? Z kapitoly 3.6.1 Transfekce klíšťecích buněk, to není moc jasné. Jde mi hlavně o to, kolik buněk bylo elektroporováno a v jakém pufru? Z textu mi vyplývá, že jste použili L-15 medium. Neměli jste problém se vznikem elektrického oblouku? Proč byl prováděn slepý vzorek obsahující PBS? Byla nějak ověřována životnost buněk po elektroporaci? Z vlastní zkušenosti vím, že výběr elektroporačního pufru je klíčový pro přežití buněk a účinnost celého procesu.

3 – kapitoly 3.8 Izolace RNA pro PCR a RT-PCR, 3.9 Syntéza cDNA, 3.10 Navržení primerů, 3.11 PCR a 3.12 qRT-PCR nemusí být, dle mého názoru, součástí M&M neboť výsledky z těchto pokusů nejsou v práci vůbec obsaženy.

4 – Proč byla prováděna optimalizace transfekce s DAOY buňkami? S buňkami se dále nepracovalo a plasmidy jsou komerční.

5 – Ověření transformace různých linií klíšťecích buněk probíhalo pomocí luminiscence. Ačkoli data ukazují určitý trend, srovnání je trochu obtížné z důvodu rozdílných časů měření

luminiscence. Autorce bych doporučil udržovat stejné podmínky pro všechny experimenty pro lepší vyhodnocení získaných dat.

6 – u obr. 18 je relativní luminiscence značně odlišná od výsledků prezentovaných v obr. 7. Přitom by se mělo jednat o ty samé podmínky. Autorka v diskuzi zmiňuje, že rozdíl by mohl být díky jiným časům měření či použití jiného kitu. Zkoušeli jste ověřit účinnost transfekce např. pomocí qPCR? Jaké byly reálné hodnoty luminiscence v těchto datech?

7 – obr. 25 zobrazuje morfologické rysy jednotlivých buněčných linií. Zde bych ocenil lepší popis a i větší zvětšení, neboť mě, jakožto laikovi, přijdou všechny zobrazené buňky téměř stejné a nevidím zde popisovanou heterogenitu. I když se jedná o výsledek autorčiny práce, obrázek by se hodil spíše do úvodu, kde se autorka jednotlivým buněčným liniím více věnuje.

Závěr: Navzdory všem mým komentářům a připomínkám jsem přesvědčen, že předložená magisterská práce bc. Johany Mustacové **splňuje** veškeré podmínky kladené Přírodovědeckou fakultou JČU v Českých Budějovicích.

Práci

d o p o r u č u j i *

k obhajobě a navrhuji známku 2 .²

V Českých Budějovicích dne 13.05.2021



.....

podpis

² Je možné navrhnout známku s tím, že navržená známka může být upravená při obhajobě (pokud se oponent nezúčastní obhajoby, v posudku navržená známka se do výsledné známky nezapočítává). Známky: výborně (1), velmi dobře (2), dobře (3), nevyhověl (4).