



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. Jan Černý

Název práce: Antivirotické účinky biologicky aktivních látek z přírodních zdrojů v kombinaci s imunomodulačními látkami proti viru klíšťové encefalitidy

Školitel práce: RNDr. Ján Štěrba, PhD

Oponent práce: RNDr. Zdeněk Franta, PhD

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	2,5
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 zkratk časopisů)	0-3	3
Grafická úprava textu a obrázků	0-3	1
Úroveň souhrnu/annotace (i v angličtině)	0-3	2,5
Jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví	0-3	2
Správnost a úplnost popisů u obrázků a tabulek (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	0-3	1
Formální požadavky – body celkem		14
(2) VĚCNÉ POŽADAVKY		
Splnění cílů práce	0-3	1,5
Schopnost porozumět výsledkům, jejich interpretace a jasný popis, srozumitelnost diskuze a závěrů	0-3	1,5
Úroveň diskuze – interpretace výsledků, zařazení do kontextu v literatuře (absence diskuze výsledků s literaturou je nepřijatelná)	0-3	2

¹ Bodový rozsah hodnocení: 0-nevyhovující, 1-vyhovující, 2-průměrné, 3-excelentní. U teoretických prací hodnotíte 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.

Logika postupu při vlastní výzkumné práci	0-3	2
Úplnost popisu použitých metodik	0-3	1
Experimentální náročnost práce, samostatnost při práci	0-3	2
Úroveň zpracování experimentálních dat	0-3	2
Aktuálnost použitých metod	0-3	2
Přínos práce pro obor a publikovatelnost výsledků (po případném doplnění)	0-3	2,5
Věcné požadavky u experimentálních prací – body celkem		16,5
(3) PRÁCE V CIZÍM JAZYCE		
Jazyková a stylistická úroveň	0-3	
CELKEM BODŮ (MAX/ZÍSKANÝCH)		
	48/51²	0-51³

Komentář oponenta:

Předložená diplomová práce je sice poměrně obsáhlá, ale působí na mě spíše jako beletrie, než vědecká literatura. Spoustu věcí autor několikrát opakuje, či vkládá text, který není pro danou část práce důležitý (např. první odstavec v kapitole 2.2, či druhý odstavec diskuze popisující znovu historii objevení adamantanu). Pro čtenáře je občas složité sledovat autorovu myšlenku a zejména kapitola Materiál a metody by měla být napsána mnohem stručněji! Kvalita některých obrázků (např. 1, 2, 4 či 7) i tabulek (Tab2) je poměrně špatná. Závěry vyvozené ze získaných výsledků mi nepřijdou úplně přesvědčivé.

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

Úvod:

- 1: Na str. 6 autor udává, že horizontální typ přenosu je zastoupen tzv. co-feedingem. Existuje i jiný typ horizontálního přenosu?
- 2: V kapitole 2.1 autor uvádí epidemiologické data VKE. Tyto data jsou ale více jak 10 let stará. Může autor uvést aktuální data? Dá se z těchto dat říct, že nárůst případů onemocnění VKE je díky vzrůstající prevalenci u klíšťat či účinnější detekci VKE u lidí?
- 3: V kapitole 2.2 autor popisuje molekulární strukturu VKE. Zde bych očekával trochu detailnější informace o NS proteinech či 5' a 3' nekódujících oblastech.
- 4: Ve stejné kapitole autor píše že: „laboratorní pokusy prokázaly důležitou roli nízkého pH při vstupu a výstupu z buňky. Může mi autor tuto větu vysvětlit?
- 5: Chybí mi informace proč autor vybral zrovna tyto tři deriváty adamantanu (amantadin, 2-aminoadamantan hydrochlorid, kyselina adamantankarboxylová)

² Vyberte jednu z hodnot: 48 bodů pro experimentální práce, 51 bodů pro experimentální práce v cizím jazyce

³ Zadejte počet přidělených bodů.

M&M

6: Opravdu nebylo živné médium za celou dobu cytotoxického experimentu vyměněno?

Provedli jste kontrolu životaschopnosti buněk před provedením MTT testu?

7: Kapitola 5,6, zejména její část týkající se qRT PCR mi přijde hodně neúplná. Chybí mi zde podstatné informace a poprosím autora o jejich doplnění během obhajoby.

Jedná se zejména o přípravu cDNA templátu (použité primery, teplota). Informace o qPCR primerech pro testovaný i referenční gen (nasedací teploty, délka amplikonů, kam v genu primery nasedají). Co bylo použito jako reference gen a proč? (HPRT mi moc neříká)

Testovali jste účinnost reakce pro jednotlivé geny? Teplota pro melting analýzu byla opravdu 95?

Výsledky

8: Proč autor stanovil hodnotu 75% absorbance za hranici cytotoxicity, když následně pracuje s LC_{50} .

9: Z cytotoxických experimentů je patrné, že spousta koncentrací spíše zvyšuje viabilitu buněk. Má pro to autor nějaké vysvětlení?

10: Závěry vyvozené z této části práce (test cytotoxicity) mi nepřijdou přesvědčivé. Jak by autor vysvětlil, že koncentrace 7,8ng/ml může být považována za cytotoxickou, zatímco koncentrace 500ng/ml nemá žádný efekt? Opakoval autor pokusy se stejným výsledkem?

11: Cytotoxické výsledky s vyššími koncentracemi látek vypadají slibněji, ale pokud se dostaneme k hodnotám LC_{50} , tak nejsou velmi průkazné. Může autor uvést, jak byla počítána LC_{50} ?

12: Závěry vyvozené z výsledků v kapitole 6.2 mi opět přijdou mírně zavádějící a pozorovaný efekt mi přijde spíše náhodný než způsobený testovanou látkou.

13: Proč při testování virové nálože metodou plakové titrace nebylo využito dat z předešlého pokusu, ale byly zvoleny vyšší koncentrace, které v předchozím pokusu vyšli negativně?

14: qPCR výsledků mi chybí několik důležitých kontrol a poprosil bych autora o doplnění
V tab 9 chybí čistota (poměr 260/280) měřené RNA

Poprosil bych o dodání kontroly kvality izolované RNA gelovou elektroforézou, neboť spektrofotometr je schopen změřit i degradovanou RNA
Chybí mi melting analýza

Chybí mi zde negativní kontrola (pouze DMSO bez viru) a kontrola s testovanou látkou (zda nedochází ke změně genové exprese v závislosti na aplikaci testované látky).

15: Co znamená colorcouding v tabulce 10 a 11

Závěr:

Přes všechny mé otázky a připomínky se domnívám, že předložená magisterská diplomová práce **splňuje** veškeré podmínky kladené Přírodovědeckou fakultou JČU.

Práci

d o p o r u č u j i

k obhajobě a navrhuji známku 2-3 .⁴

⁴ 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). Znamky: výborně (1), velmi dobře (2), dobře (3), nevyhověl (4).

V českých Budějovicích

dne

14.01.2020

Zdeněk Frank

.....
podpis