

Posudek oponenta

Autor práce: Anna Kabotová

Název práce: Metody detekce replikační aktivity lidských buněk a standardizace jejich použití pro analýzu buněčného cyklu

Typ práce*: bakalářská

	Kritérium hodnocení	Hodnocení						
		A	B	C	D	E	F	nelze hodnotit
1	rozsah práce, vyváženost rozsahů jednotlivých částí a jejich strukturovanost	x						
2	kvalita literární rešerše (např. množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru)	x						
3	naplnění cílů podle zadání práce a poznatků z literární rešerše	x						
4	správnost a úplnost legend u obrázků a tabulek (např. srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)		x					
5	správnost používání citačních odkazů (např. přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací)	x						
6	výstižnost souhrnu práce v českém a anglickém jazyce	x						
7	grafická úprava textu a obrázků		x					
8	jazyková a stylistická úroveň, respektování platné nomenklatury a terminologie		x					
9	volba vhodných experimentálních metod	x						
10	srozumitelnost a výstižnost popisu používaných metod	x						
11	úroveň zpracování experimentálních dat	x						
12	adekvátnost interpretace dílčích experimentálních dat	x						
13	diskuze (souhrn získaných výsledků a jejich začlenění do kontextu dosavadního výzkumu)	x						

Poznámka 1: Pokud charakter práce nedovoluje použít některé z Kriterií hodnocení, použijte sloupec "nelze hodnotit"

Poznámka 2: Hodnocení křížkujte

Poznámka 3: Do výsledné známky se započítávají jen hodnotitelné položky

* - vyberte „bakalářská“ nebo „diplomová“

Známka
(A-F)

A

Konkrétní připomínky a dotazy (možno připojit samostatný list), slovní zhodnocení proč oponent hodnotil tímto způsobem (zejména při horším známkování)

Závěr: práci doporučuji k obhajobě

Autorka předkládané bakalářské práce se asi na 70 stranách poměrně detailně zabývá vybranými přístupy detekce replikační aktivity a jejich hodnocením z hlediska použití pro vybrané účely. Součástí práce je i rešerše na téma organizace a replikace DNA.

Cíle práce jsou jasně definované, což v souvislosti s vhodně zvolenou strukturou jednotlivých částí, umožňuje snadnou orientaci v textu a sledování realizace jednotlivých cílů.

Rešeršní část je dostatečně podrobná, aniž by zabíhala do zbytečných detailů a poskytuje nutné informace pro experimentální část a následnou interpretaci obdržených dat.

Metodická část přesně popisuje průběh jednotlivých experimentů a měření.

Experimentální část je poměrně rozsáhlá a zahrnuje i bohatou dokumentaci obdržených dat ve formě grafů a tabulek. Vřazení grafů a tabulek výrazně zvyšuje přehlednost a srozumitelnost práce.

Diskuse je vhodně členěná a dovoluje srovnání dosažených výsledků s různými citovanými zdroji. Její přehlednost je zvýšena díky přítomnosti tabulkového shrnutí.

Ačkoli jsem v průběhu kontroly textu zaznamenal i několik překlepů, drobných nesrovnalostí v definici obsahu práce mezi úvodem, cíli práce a závěry a rovněž chyb ve formátování (např. v Seznamu tabulek nebo na konci str. 54), tato drobná pochybení jsou řídká a nemají vliv na kvalitu předkládaných výsledků. Snad jen v některých částech by textu slušelo ubrat pár ukazovacích zájmen (strana 5), v části „Obsah“ by asi bylo lépe volit namísto termínu „odhalení“ termín „detekce“ a u obrázku 3 namísto „vlákno opoždující“ nebo „vedoucí“ obrátit slovosled na „vedoucí vlákno“ a „opoždující se vlákno“. Současně se v metodické části zbytečně opakuje princip FUCCI konstruktů z rešeršní části.

Celkově hodnotím práci jako velice zdařilou a podle mých zkušeností s mikroskopickými technikami i časově náročnou, jelikož za každým grafem je nutné pravděpodobně vidět desetitisíce vyhodnocených buněk.

Dotazy:

1. Byl signál DAPI u kontrolních buněk snímán při stejném nastavení mikroskopu jako u buněk s BrdU (např. v obr. 7)?
2. Zkoušela jste definovat jádra v případě použití 4N HCl pomocí fázového kontrastu a případně jaký byl výsledek?
3. V případě primárních linií byly porovnávány metody pro detekci DNA provedeny ten samý den?
4. Zkoušela jste na detekci EdU použít komerční kit a porovnat výsledky s Vaším postupem?
5. V diskusi píšete, že oproti citované práci došlo ve Vašich experimentech k vyššímu snížení fluorescence u FUCCI buněk po použití nízké koncentrace HCl a exonukleázy III. Jako možný důvod je uvedena nižší hodnota excitace. Není možné, že důvodem je např. odlišná doba snímání? Případně může existovat souvislost s citlivostí kamery?
6. Používala jste i jiné klony anti-BrdU protilátek a pokud ano, pozorovala jste rozdíly mezi klony?
7. Jak dlouho průměrně trvala analýza jednoho vzorku a kolik buněk bylo zpravidla hodnoceno?
8. Která z použitých metod byla z hlediska metodiky nejjednodušší na provedení?
9. Pozorovala jste rozdíl v histogramech integrální intenzity DAPI mezi nádorovými buňkami a diploidními fibroblasty?

V Olomouci dne: 26. 5. 2021

Podpis:



RNDr. Karel Koberna, CSc.