

## Posudek oponenta diplomové práce

Oponentka: **Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.**

Autor práce: **Bc. Lay Valin**

Název práce: **Optimization of isolation of RNA from yeasts for the purpose of transcription analysis**

Vedoucí práce: **prof. Mgr. Roman Kand'ár, Ph.D.**

Diplomová práce se zabývá výběrem metody vhodné pro izolaci RNA ze tří druhů kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* a *Candida parapsilosis*). Porovnávány byly dva postupy a klíčovými kritérii při výběru bylo množství a čistota izolované RNA. V teoretickém úvodu srozumitelně popisuje strukturu kvasinek, jejich geny, metodickou část studia transkriptomu a RNA, včetně kvality extrakčních technik a metod PCR. V experimentální části jsou popsány použité postupy zahrnující metody izolace RNA, dále metoda agarózové elektroforézy sloužící k ověření čistoty RNA a spektrofotometrické stanovení koncentrace RNA. Získané výsledky jsou přehledně doloženy formou obrázků a tabulek ve výsledkové části a jsou zde diskutovány. Diskuze ukazuje na vhodný způsob uvažování diplomanta a srovnání s dostupnými daty v literatuře.

Cílem práce bylo nalezení optimálního postupu izolace RNA ze tří vybraných modelových druhů kvasinek z pohledu čistoty (kvality) a kvantity. Cíle práce jsou stanovené jasně, a jsou z údajů v teoretické části dostatečně zdůvodněné.

Odborná úroveň práce je velmi dobrá, bez závažných připomínek. Rozsah a členění práce je přiměřené, odpovídá charakteru DP a významu jednotlivých částí (85 stran textu vč. seznamu literárních zdrojů). Zahrnuje krátký úvod, následuje teoretická část (38 stran), výčet cílů diplomové práce, experimentální část (9 stran), výsledky jsou shrnuty a diskutovány na 13 stránkách, a závěr pak na necelých dvou stránkách. Uvedení použitých literárních a jiných zdrojů je adekvátní, převzaté údaje jsou citované a celkový počet citací (přibl. 100) odpovídá charakteru práce a dokonce převyšuje. Jazyk práce je anglický. Formální a grafická úprava odpovídá typu práce.

Dotazy k práci a komentáře:

1. Na s. 21 a 27 práce jsou uvedeny velikosti kvasinek v **mm**; „*some species can grow to lengths of 20–50 mm, others may only be 2-3 mm long*“. Také na s. 23 je velikost jádra uvedena v **mm** (1,5 mm). Jistě jde pouze o překlep **µm** anebo automatické opravy textu. Pro zajímavost, jakých velikostí mohou dosahovat údajně největší kvasinky *Dipodascus*?
2. Na s. 27 ve volném překladu uvádíte, že – *kvasinky lze uchovat po celá léta jejich lyofilizací nebo zmrazením na 280 stupňů v glycerolu*. Zřejmě jste chtěla uvést, že – kvasinky se udržují zmrazením na -80 ° v glycerolu.
3. Samotná práce s RNA vyžaduje určitá specifika ve srovnání např. s DNA, tato problematika není v práci dostatečně popsána, uveďte prosím, jaká jsou úskalí při práci se vzorky RNA a jaké konkrétní zásady práce jste používala vy sama.
4. V práci zmiňujete, že hodnoty koncentrace automaticky počítal použitý spektrofotometr. Jaký výpočetní vztah zde byl použit, popř. uveďte výpočetní vztahy, které lze použít pro výpočet koncentrace RNA z hodnot naměřené absorbance.
5. Vytyčených cílů bylo dosaženo, pouze bych vzhledem k názvu práce a dalším možným navazujícím experimentům (např. real-time PCR) očekávala větší míru testování různých parametrů, ne pouze srovnání dvou základních postupů. **Jaké další parametry by v rámci použitých metod izolaci RNA bylo možné optimalizovat? Existují ještě i další možnosti izolace RNA, než uvádíte?**
6. Předpokládám, že **výběr metody izolace RNA** z kvasinek ve vaší práci směřuje k nějakému dalšímu, konkrétnímu cíli. **Můžete toto více rozvést?**

Práce splnila zadání, **doporučuji** ji k obhajobě, a vzhledem k dotazům a komentářům ji hodnotím stupněm **C**.

Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.