

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmakologie a toxikologie

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Autor/ka práce: **Josef Kunrt**

Vedoucí/školitel/ka práce: PharmDr. Eduard Jirkovský, Ph.D.

Konzultant/ka práce:

Rok obhajoby: 2020

Oponent/ka práce: RNDr. Miloslav Macháček, Ph.D.

Název práce:

Lokalizace FUBP3 proteinu v buněčné linii lidského cervikálního karcinomu

Rozsah práce: počet stran: 78, počet obrázků: 29, počet tabulek: 4, počet citací: 77

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: zcela splněn
- b) Jazyková a grafická úroveň: výborná
- c) Zpracování teoretické části: výborné
- d) Popis metod: výborný
- e) Prezentace výsledků: výborná
- f) Diskuse, závěry: výborné
- g) Teoretický či praktický přínos práce: velmi dobrý

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení: Diplomová práce Josefa Kunrta se zabývala studiem exprese proteinu FUBP3, který je spojován s osteoporózou, a byla vypracována na zahraničním pracovišti ve spolupráci s Assist. Prof. Nika Lovšin, M.Chem., PhD. (University of Ljubljana). Teoretická část se zabývá osteoporózou a biologií kostí. V metodické části jsou velmi dobře a důkladně popsány všechny experimentální postupy. DP je z tohoto hlediska relativně bohatá práce zahrnující tvorbu a izolaci plazmidu z E. coli, transfekci HeLa buněk, imunofluorescenci apod. Samotná DP je sepsaná v anglickém jazyce a je text je dobře napsaný a čtivý. Cíle práce jsou splněny. Celkově práci hodnotím velmi kladně a mám tak k ní jen následující dotazy a připomínky.

Dotazy a připomínky:

- 1) Diplomová práce se zabývá tématem osteoporózy. Proč byla k vizualizace FUBP3 (a vůbec ke studiu) použita nádorová linie HeLa odvozená od cervikálního karcinomu? Nebyla by lepší buněčná linie odvozená od buněk přítomných v kostní tkáni (hFOB 1.19, MC3T3, K7M2, MG-63, 143B apod.)?
- 2) V čem je výhoda použití montovacího média obsahující DAPI? Proč jste použili montovací médium obsahující fluorescenční sondu pro jádra (DAPI)? Nebylo by lepší použít čisté montovací médium a jádra značit zvlášť (byla by tak možnost použití jiné sondy a nenavázaná sonda by mohla být v následném kroku z preparátu omytá (snížení signálu na pozadí))?

Připomínka 1 - daný mikroskopický systém umí jen automatické nastavení expozice, nebo je možnost manuální? Např. obr. 8-10 má kanály přepálené – takovéto snímky by nešly použít

pro kvantifikaci a následné porovnání exprese mezi jednotlivými vzorky. Stejně tak určení lokalizace je pak obtížné, ne-li nemožné.

Připomínka 2 - pro výřezy zobrazující kolokalizace (např. obr. 22) bych doporučil nepoužívat do složených kanálů brightfield. Dále pak, pro potvrzení kolokalizace ukázat kvantitativní data - např. profil intenzity jednotlivých fluorescenčních kanálů apod.

Celkové hodnocení, práce je: výborná, k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové dne 31. 5. 2020

.....
podpis oponentky / oponenta