

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:
RNDr. Lenka Horníková PhD

Datum:
8.9.2014

Autor:
Bc. Kristýna Blažková

Název práce:
Chemically modified Murine Polyomavirus-like particles and their interaction with Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA)

Cíle práce

Cílem práce bylo pomocí chemických modifikací změnit vazbu viru podobných částic (VLPs) tvořených hlavním kapsidovým proteinem myšího polyomaviru z přirozeného receptoru na molekulu membránově vázaného nádorového antigenu specifického pro prostatu.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému?

Předkládaná práce o rozsahu 70 stran má požadované členění. Obsahuje všechny náležitosti včetně českého i anglického abstraktu, klíčových slov a seznamu zkratk.

Literární přehled:

Literární přehled (19 stran) lze rozdělit do tří tematických částí. První se zabývá proteinem karboxypeptidázou glutamátu II a jeho vztahem k rakovině prostaty. Druhá část se zabývá využitím nanočástic jako cílených nosičů a třetí část je věnována polyomavirům jako vhodným kandidátům pro využití v cílených terapiích. Tato kapitola je psána přehledně, literární zdroje jsou relevantní a jsou správně citovány.

Materiál a metody:

Kapitola Materiál a metody (10 stran) je zpracována přehledně. Autorka použila celou škálu metod, které zahrnují práci s bakteriemi, izolaci fúzního proteinu metodou afinitní chromatografie, jeho následnou purifikaci metodou gelové filtrace, chemické modifikace VLPs a charakterizace specifity jejich vazby (metody SPR, fluorometrie, konfokální mikroskopie). V této kapitole pouze postrádám bližší charakterizaci použitých buněčných linií.

Experimentální část:

Kapitola Výsledky (16 stran) je psána pečlivě, jednotlivé experimenty jsou dobře dokumentovány. I přesto mám k této kapitole výhrady. Vzhledem k tomu, že prakticky celá práce pojednává o hlavním kapsidovém proteinu VP1 myšího polyomaviru a jeho fúzní variantě, je trochu zarážející, že v celé práci není ani jediná zmínka o jeho molekulové hmotnosti. Problém to působí hlavně v první části kapitoly, která celá pojednává o izolaci fúzního proteinu VP1 z bakterií. Jednotlivé kroky izolace jsou velmi pečlivě dokumentovány obrázky proteinových elektroforéz – bohužel bez informace o molekulové hmotnosti proteinu, nebo alespoň šipky v obrázku, která by daný protein označila. Čtenáři potom nezbyvá než autorce věřit, že se jí izolace podařila, a to hlavně v okamžiku, kdy se v jednotlivých drahách nachází větší množství proužků. Dále bych ocenila bližší charakterizaci částic BC SUB - jaká substituce byla provedena a jaké chování částic se dá očekávat vzhledem k prováděným experimentům.

Diskuze:

Kapitola Diskuze (3 strany) je největší slabinou této práce. Autorka spíše shrnuje svá data, než by se je pokusila srovnat s literaturou. U některých experimentů autorka navrhuje možná řešení vzniklých problémů (kap. 6.1, 6.2.3.), kdežto u jiných se čtenář dozví pouze informaci

o případných nedostatcích experimentů, ale jejich možné řešení není vůbec navrženo (kap. 6.3., 6.2.1). Ke kvalitě této kapitoly nepřispějí ani špatné odkazy na obrázky.

Závěry (Souhrn) :

Kapitola Souhrn výstižně shrnuje získané výsledky.

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Formální úroveň práce je dobrá. Práce je psaná anglicky, srozumitelně, pouze s malým množstvím překlepů. Necítím se kvalifikována hlouběji posuzovat její jazykovou úroveň, nicméně jednu výtku mám – kyselina fosfowolframová není v angličtině phosfowolframic acid.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Bohužel, celá práce působí jako by byla psána ve spěchu, což je někdy na vrub její srozumitelnosti. Nicméně, autorka získala zajímavá data, která by po dokončení mohla vést k praktickému využití VLPs v diagnostice a léčbě nádorů prostaty. Autorka vytyčené cíle splnila, práce splňuje požadavky na diplomovou práci, a proto ji doporučuji k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:

Připomínky:

V textu se objevuje několik formulačních nepřesností

str. 11- předpokládám, že N-glykosylace je posttranslační modifikace a ne posttranskripční modifikace

Jak podle analýzy frakcí z gelové filtrace pomocí SDS-PAGE poznáte, jestli frakce obsahuje pentamery, popřípadě částice?

Str. 34 uvádíte rozpis na 10 % gel, ten je ale ve skutečnosti na 12 % gel

U popisů elektroforetogramů by bylo lepší uvádět kolik procent frakce bylo nanášeno než objem, čtenáři by to usnadnilo orientaci.

Otázky:

1. Proč jste neizolovala protein GST-VP1 i z nerozpustné frakce?
2. Je pro Vámi plánované využití VLPs důležité, aby byly homogenní?
3. Udáváte, že jste při studiu vazby částic na buňky použila 220 μ l VLPs (10ng/ μ l) na miskou. Mohla byste tento údaj vyjádřit v počtu částic na buňku? Nemohla Vámi pozorovaná nespecifita vazby být dána vysokým množstvím použitých částic?
4. Mají buněčné linie LNCaP a PC3 přirozený receptor pro VLPs tvořené hlavním kapsidovým proteinem myšího polyomaviru?
5. Podle obrázku 23 se mi zdá, že se částice s navázaným inhibitorem váží ve větším množství na buňky neexprimující GCPII než na buňky exprimující GCPII. Jak si to vysvětlujete?
6. Vážou VLPs BC SUB kyselinu sialovou?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: