

HODNOCENÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Oponent DP

Jméno a příjmení studenta: Magdaléna Vondrusová

Název diplomové práce: Biologické a biochemické účinky nových inhibitorů proliferace

Studijní obor: Molekulární a buněčná biologie

Garantující katedra: Katedra buněčné biologie a genetiky

Předmět hodnocení	Hodnocení				Nelze hodnotit
	1	2	3	4	
Splnění požadavků zadání	1				
Úroveň jazykového zpracování		2			
Úroveň grafického zpracování	1				
Využití odborné literatury	1				
Zvládnutí použitých metod*	1				
Způsob zpracování a vyhodnocení výsledků*		2			
Interpretace výsledků a diskuse*			3		
Závěry práce a jejich formulace*	1				
Vlastní přínos					Nelze hodnotit

Hodnocení: 1 = výborně, 2 = velmi dobře, 3 = dobře, 4 = nevyhověl.

Stěžejní připomínky k práci a dotazy:

Předkládaná práce řeší zajímavou a v současné době aktuální problematiku hledání nových protinádorových léčiv přírodního původu. Její kvalitu však výrazně snižují drobné překlepy či nevhodné formulace, které ne vždy dávají čtenáři smysl. Z těchto jmenujme pouze některé, jako např. str.9 – kancerogeneze, str.10 – „loss of heterozygosity“, str. 13 – „katalyzuje fosforylaci threoninového zbytku na T smyčku..“, str.9 – „Obecně existuje šest získaných vlastností maligního nádoru a genomická nestabilita, je podmínkou jejich akumulace.“, str.14 – poslední věta dole - „objevilo se jejich studiem buněčných extraktů...“, str.19, druhý odstavec – Kontrolní přechodu G2/M dohlíží na integritu DNA, str.13 – „..degradace cyklinu je kontrolována transkripcí a ubiquitinylací „ , str.13 – „Např: exprese proteinu p27 je důsledkem nedostatku mitogenních signálů, způsobuje....“, atd. Dále by bylo vhodné sjednotit používání některých zkratk např. Bcl-2 vs bcl-2 (str.58), cytochrom c vs cytochrom C (str. 32 vs str. 23), značit lidské geny tak jak je zvykem velkými písmeny, ne malými (str.10), nezačínat novou větu „Např.“ (str.12), ujasnit si zda jednotka napětí jsou miliampéry (str. 40 – bod 4), nepoužívat zkratku MeOH, jež se většinou synonymizuje se sloučeninou metanolem, pro označení methoxy skupiny (str.29), atd. Některá tvrzení nejsou pravdivá, jako např. str.17 „fosforylován inhibitorem p27Kip1“ (pokud je p27Kip1 enzym, tak jaké je prosím jeho EC číslo?), str.31 – „..skrze

inhibici translokace c-Jun/c-Fos kinas.“ (kinas? Odkdy? Prosím reference), str.26 – mylné představení aromatické struktury B jako benzopyranu, jádra C jako benzenového jádra, str.26 – mylné uvedení, že cytochrom P450 má regulační enzymy CYP1A1, atd.

První uvedené výsledky na str.43 (5.1) nejsou dílem studentky a proto by neměly být uváděny jako samostatná kapitola ve výsledcích, spíše jako odstavec či jen jako zmínka v některé z dalších kapitol. Navíc, tyto výsledky byly získány metodou, o které není v kapitole metody ani zmínka. Ve výsledcích na str. 44 studentka uvádí, že působením alantolactonu se buňky akumulují v G1 fázi. Vzhledem k jen jednomu provedení experimentu a nepřilíš přesvědčivým rozdílům, se zdá být toto tvrzení přehnané. Analogicky tvrzení o akumulaci buněk v G2/M působením tashinonu II. Bez statistické analýzy jsou tato dvě tvrzení na pováženou, zvlášť když u sloučenin eupatorinu a andrographolidu jsou poměrně vysoké odchylky. Analogicky tomuto je nesprávné tvrzení, že wogonin neovlivňuje buněčný cyklus. V popisu výsledků není uvedeno, co představuje parametr debris v grafech na str. 45.

Co představují tyto debris a jak si lze vysvětlit prapodivný trend v těchto debris u eupatorinu na rozdíl od ostatních sloučenin?

Poněkud nelogicky vyhlíží graf 1 (str.47) s distribucí fosfohistonu H3 po stimulaci andrographolidem pod záznamy průtokové cytometrie po stimulaci eupatorinem a vice versa na str.48. Pro jedince neznalého v problematice nikde z řešeršní části nevyplývá, co vlastně markery fosfohiston H3 a cyklin B reprezentují. Toto je výborně vysvětleno až v kapitole diskuze (str.57). Stejně tak není patrné, co za jednotku mají grafy 1-4 (str.47-49).

Na str.51 se uvádí, že štěpení PARP bylo indukováno při 25 μ M koncentraci andrographolidu a 10 a 20 μ M koncentraci eupatorinu, ale výrazný pokles či ztráta v koncentracích nižších je rovněž patrný a není o něm v textu ani zmínka. Jak si lze tato pozorování vysvětlit?

Co se týče detekce proteinu Bcl-2, nikde není uvedeno, co vlastně protilátka proti tomuto proteinu chytá. Na str.51 se uvádí, že inkubace s eupatorinem vede k nárůstu fosforylované formy v 10 μ M a úbytku proteinu při 20 μ M koncentraci. Nicméně z obr.15 není zřejmé, kterou formu má studentka na mysli. Podobné je to i u působení andrographolidu. Další tvrzení na str.51 říká něco o snížené aktivitě proteinu Mcl-1. Nejsem přesvědčen, že WB metoda vypovídá něco o aktivitě, zvlášť, když je detekován jen celkový obsah proteinu. Navíc tvrzení na o tom, že imunodetekce tubulinu byla použita jako kontrola koncentrace detekovaných proteinů není zcela správné, je to kontrola dávkování.

Působením eupatorinu lze pozorovat jakýsi bifázový efekt na hladinu Mcl-1, jak si to lze vysvětlit?

Graficky by bylo vhodné rozměrově sjednotit výsledky na str.52.

Data na str.52 ukazují nárůst množství cyklinu B, zatímco na str.49 v grafu 3 data ukazují nulový nárůst po stimulaci andrographolidem. Jak si lze tento rozdíl vysvětlit?

Oponent nesouhlasí s tvrzením na str.53, že s rostoucí koncentrací eupatorinu narůstá počet multipolárních dělicích vřetének, neboť dle oponenta je jejich počet u 10 a 20 μ M

koncentrace srovnatelný (obr.16). Oproti tomu působení andrographolidu výrazně zvyšuje množství multipolárních dělicích vřetének, což je patrné z obr.17, ale studentka uvádí, že „Multipolární dělicí vřeténka jsou vidět podstatně méně ve srovnání s působením eupatorinu.“, přičemž koncentrační nárůst je patrný na první pohled.

V teoretické části (str.24) se uvádí, že mitotická katastrofa má několik společných znaků s apoptosou, ale jeden z jejích znaků (multipolární dělicí vřeténka) byl pozorován v buněčné linii HeLa po působení eupatorinu a andrographolidu. V diskuzi (str.58) studentka tvrdí, že sledovala schopnost eupatorinu a andrographolidu vyvolat apoptosu. Nevede tedy spíše působení těchto látek na základě pozorování multipolárních dělicích vřetének k mitotické katastrofě?

Stručné slovní zdůvodnění závěrečného hodnocení oponentem:

Zajímavá práce, jejíž hodnota je snížena množstvím drobných formálních i věcných chyb v textu. Navíc interpretace některých výsledků je přinejmenším mlhavá. Na základě těchto i výše uvedených skutečností hodnotím diplomovou práci známkou velmi dobře

Doporučení práce k obhajobě:

ano

Celkové hodnocení práce známkou (slovně): **velmi dobře**

Datum: 19.5.2010

RADIM VRZAL