

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Bc. Lenka ŠIMONOVÁ

Název práce:

Interaction of a surface marker of immune cells with low-molecular weight ligands and their polymer conjugates

A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označte právě jednu z možností)

1. Rozsah DP a její členění	
X	A - přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí
	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
	N - nedostatečné

2. Odborná správnost	
X	A - výborná, bez závažnějších připomínek
	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
	C - uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami
	N - nevyhovující, s hrubými chybami

3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů	
X	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejm. v umístění odkazů, nebo s celkově nižším počtem citací
	C - s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, přednášky, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat
	N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)

4. Jazyk práce	
X	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
	C - uspokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

5. Formální a grafická úroveň práce	
X	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo četnějšími drobnými chybami
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Hlavním cílem diplomové práce Bc. Lenky Šimonové, která byla vypracována na ÚOCHB AV ČR ve skupině doc. RNDr. Jana Konvalinky, CSc., bylo připravit rekombinantní protein CD73, dále optimalizovat metodu DIANA pro testování inhibitorů tohoto proteinu, připravit polymerní konjugát obsahující vhodný inhibitor CD73 (tzv. Anti-CD73 iBody) a charakterizovat interakci tohoto iBody s CD73. Protein CD73 je membránová ektonukleotidasa, která je vysoce exprimována v některých typech leukocytů a v nádorových buňkách. Enzymová aktivita tohoto proteinu (tvorba adenosinu) se podílí na potlačení imunitní protinádorové reakce. Proto je tento enzym a jeho inhibice cílem intenzivního studia. Vytčené cíle práce byly splněny, podařilo se připravit protein CD73 pomocí eukaryotického expresního systému, po optimalizaci metody DIANA bylo provedeno otestování knihovny nízkomolekulárních látek ÚOCHB AV ČR, přičemž bylo identifikováno několik slibných sloučenin jakožto nanomolárních inhibitorů CD73. Dále byl připraven polymerní konjugát anti-CD73 iBody a bylo ukázáno, že váže CD73 s EC50 100 nM.

Po formální stránce je práce psána velmi pečlivě čtivou angličtinou, z literárního úvodu je zřejmé, že si autorka osvojila řadu znalostí z imunologie. K práci mám několik drobných výtek, které specifikuji v rámci dotazů. Podle mého názoru se jedná o velmi kvalitní diplomovou práci, jejíž výsledky významně přispěly k vývoji nástrojů pro studium a inhibici proteinu CD73. Autorka si v rámci práce osvojila řadu metod molekulární biologie a proteinové biochemie. Práci plně doporučuji k obhajobě.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

1. Vámi stanovená inhibiční konstanta K_i pro inhibitor PSB12379 (114 nM, str. 44) se podstatně liší od hodnoty uvedené v literatuře (2 nM, str. 21). V diskusi tento rozdíl vysvětlujete „technickým problémem“ použité metody (MG assay). Můžete toto více diskutovat?
2. Pro inhibici CD73 probou P4 byla získána hodnota IC_{50} $1.03 \pm 1.2 \mu M$, tedy chyba měření (SD či SE?) byla větší než vlastní hodnota měřené veličiny. Nejedná se o překlep? Pokud ne, mohla by autorka tuto záležitost okomentovat? Dále pro vazbu proby P4 byla následně získána K_D 0.9 nM (kap. 6.5.3 na str. 47). Jak si autorka vysvětluje, že s takovou vazebnou afinitou je IC_{50} v μM oblasti?
3. Některé grafy obsahují experimentální chyby (u Fig. 17 není uvedeno, zda se jedná o SD či SE), ale některé ne (Fig. 19 a Fig. 23). Znamená to, že měření bylo provedeno pouze jednou? A pokud ano, proč.
4. Jaké bude primární využití připraveného anti-CD73 iBody?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **NENÍ** podmínkou přijetí práce

C. Celkový návrh

Navrhovaná celková klasifikace: výborně

Datum vypracování posudku: 11.5. 2019

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): prof. RNDr. Tomáš Obšil, Ph.D.