

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra Biochemických věd

Studijní program: Zdravotnická bioanalytika

Posudek oponenta diplomové práce

Oponent/ka: **RNDr. Lucie Zemanová, Ph.D.**

Rok obhajoby: 2015

Autor/ka práce: **Bc. Lenka Poláková**

Název práce:

Inhibiční studie lidské 17beta-HSD3

Rozsah práce: počet stran: 55, počet grafů: 0, počet obrázků: 14,

počet tabulek: 20, počet citací: 44, počet příloh: 0

Práce je: experimentální

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

Případné poznámky k hodnocení:

Diplomová práce se zabývá možností inhibice enzymu 17beta-HSD3, který hraje důležitou roli v rozvoji hormon-dependentních nádorů prostaty a může být potenciálním cílem pro léčbu tohoto onemocnění. Celá diplomová práce je psána poměrně úsporně. Například teoretická část, ale obsahuje většinu podstatných informací, které jsou podané jasně a stručně. Pouze část zabývající se inhibitory 17beta-HSD3 zcela jistě nepokrývá šíři dosud popsaných inhibitorů, které například dobře popisují souhrnné články D. Poiriera z roku 2003 a 2009. Navíc u některých uvedených látek (ftaláty, alkaloidy, flavonoidy) není uvedena informace o inhibičním účinku na 17beta-HSD3. V teoretické části by mohl být také obecně vysvětlen princip inhibice enzymů, když je tématem práce. Některé obrázky v teoretické části mají horší kvalitu (např. Obr. 9). Do sekce metodika nepatří vysvětlování principů metod (např. princip metod BCA a Bradfordové pro stanovení bílkovin), též bych uvítala názvy testovaných látek v češtině. Výsledková část je poměrně krátká i přesto, že některé výsledky jsou dublované (stejně výsledky uvedeny v tabulce i na obrázku, např. tab. 9 a obr. 10 nebo tab. 12 a obr. 11 a další). Diskuse je opět velmi krátká a popisuje obtíže v průběhu vypracování diplomové práce a jen částečně diskutuje výsledky v kontextu s dalšími pracemi. I když jde o výsledky z velké míry zcela nové, je možné je srovnávat alespoň s podobnými experimenty (např. kinetické parametry krysí 17beta-HSD3) či příbuznými popsanými inhibitory (např. bajkalein je flavon z nichž někteří zástupci byly také ve vaší studii testovány). Celkově lze říci, že diplomová práce přináší zcela nové, zajímavé výsledky, ale zpracování samotné práce pokulhává.

Dotazy a připomínky:

Popisky všech obrázků a tabulek jsou velmi úsporné, princip samonosnosti popisků není zachován.

V práci jsou některé překlepy (např. flavoniodů str. 33 a jinde, bichanin A na str. 42), ale i faktické chyby (např. str 48 Km místo IC50)

V úvodu píšete, že je testosteron syntetizován v Leydigových buňkách varlat, ale pak mluvíte o roli 17beta-HSD3 v karcinomu prostaty, kde se podílí na syntéze testosteronu. Vysvětlíte. V práci chybí výsledky z přípravy mikrosomální Sf9 frakce (popsáno v metodice), kde byla, předpokládám, detekována produkce cílového enzymu pomocí western blottingu. Byly tyto experimenty provedeny? Proč nejsou uvedeny?

V jaké formě se používal 17beta-HSD3 v jiných studiích zabývajících se jeho inhibicí? Proč se používá enzym produkovaný v Sf9 buňkách?

Ve výsledkové části bych uvítala alespoň snahu o analýzu výsledků screeningu inhibičního účinku testovaných látek v závislosti na strukturním typu těchto látek. Můžete osvětlit jakých strukturních typů jsou vámi nalezené inhibitory? Byly testovány i další látky těchto typů? Jaký měly inhibiční účinek? Proč nejsou názvy testovaných látek v češtině? Je vhodný název flavonoidy pro druhou skupinu testovaných látek?

Na str. 36 píšete o optimalizaci množství enzymu v reakční směsi? Proč byla vybrána nakonec koncentrace 0,5 ug/rcí?

Byla použita kontrola pro screening inhibiční aktivity? Jaká a proč?

V diskusi na str. 48 pojednáváte o rozdílech v IC50 biochaninu A mezi vaší prací a publikací s tím, že není jasné čím jsou rozdíly způsobeny. Jaké faktory obecně ovlivňují stanovení inhibičního účinku látek a IC50?

Celkové hodnocení: velmi dobře, k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové dne 20. 5. 2012

.....
podpis oponentky / oponenta