

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra biologických a lékařských věd

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Autor práce: **Lukáš Dušek**

Oponent/ka: **Mgr. Klára Konečná, Ph.D.**

Rok obhajoby: 2014

Název práce:

Identification of DNA sequence binding C/EBP and C/EBPb proteins involved in RANKL expression

Rozsah práce - počet stran: 77, počet grafů: 2, počet obrázků: 5, počet tabulek: 16, počet citací: 282, počet příloh: 1

Práce je: experimentální

Cíl práce je: zcela splněn

Jazyková a grafická úroveň: velmi dobrá

Zpracování teoretické části: výborné

Popis metod: výborný

Prezentace výsledků: výborná

Diskuze, závěry: výborné

Teoretický či praktický přínos práce: výborný

Případné poznámky k hodnocení:

Autor práce, Lukáš Dušek, se náplní experimentální části věnoval v zahraničí na "University of Ljubljana, Faculty of Pharmacy, Slovenia" v období od října roku 2012 do března roku 2013. Práce je velmi inspirativní, plná recentních poznatků a novodobých metodických přístupů z dané problematiky. Práce byla součástí studie, která byla finančně zajištěna grantem.

Teoretická část obsahuje nejnovější informace o: poznacích problematiky a regulaci metabolismu kostní tkáně, osteoporóze, o běžných léčebných přístupech při osteoporóze, o kandidátních léčivech pro léčbu osteoporózy, které jsou ve vývoji, ... atd.

Praktická část obsahuje: informace o principech užitých klíčových metodik ("dual luciferase assay, electrophoretic mobility shift assay"). V praktické části jsou popsány v posloupných krocích jednotlivé metodické přístupy zmíněných metod, spolu s popisem metodického přístupu při konstrukci plazmidů, transfekce kompetentních buněk vytvořenými plazmidy, izolace plazmidů z těchto kompetentních buněk, ověřování sekvence DNA izolovaných plazmidů, ... atd.

Připomínky, komentáře, náměty, výtky, podněty k diskuzi:

V rámci abstraktu (str. 7), vyjádření/obrat ... "Johnell and Kanis estimated that in 2000 more than 9.0 million of osteoporotic fractures occurred" mne přijde ne optimální/zavádějící, vhodnější by bylo např. ... "It was published by Johnell and Kanis, that there were estimated 9.0 million of osteoporotic fractures in the year 2000. Dále např. ... "As for theoretical goals, the aim was to identify current approach to the treatment of osteoporosis...". Nabízí se možná vhodnější vyjádření, " ..., the aim was to describe/define". Vzhledem ke kvalitě, rozsahu a přínosu práce bych volila jiný formát abstraktu, tj. s úseky "Background, Methods, Results, Conclusion, Keywords", tj. ve formátu, který dle mého názoru dokáže více potenciálního čtenáře zaujmout a oslovit. V českém abstraktu a obecně v textu psaném v českém jazyce, pokud je zapotřebí využít odborný termín psaný v cizím jazyce, pak je žádoucí tento termín vymežit např. uvozovkami, či psát kurzívou - viz. str. 9, „ osteoprotegerin (OPG)/receptor activator of nuclear factor kappa-B", „Noris Medical Library". Na str. 10, v česky psaném abstraktu figuruje vyjádření „konfliktní výsledky“, je ke zvážení použít jiného termínu, např. rozporuplné výsledky.

Kapitola "List of abbreviations" je nekompletní. Chybí zde například zkratky jako: NK-κB, RANK, RANKL, OCIF (str. 12), GnRH (str. 18), PTHrP, DHEA (str. 22) a další jako IGF-I, QCT, CaR, SERM, ODN, FMAD. Některé zkratky nejsou také při jejich prvním využití v textu řádně zavedeny (nezkrácená forma odborného termínu spolu se zkrácenou formou-zkratkou), např. str. 14 - M-CFU, str. 16 – PTH, str. 18 – GnRH, ER receptor. Na str. 26 není ujednocené užití zkratky BP, v názvu figuruje „Bisphosphonates (BP)", dále v textu je uvedena zkratka BPs.

Vhodné by také bylo ujednotit označení OPG/RANKL/RANK dráhy, používáno označení „OPG/RANKL/RANK axis“ (str. 33), nebo „OPG/RANKL/RANK pathway“, což je nejběžnější způsob, ve větě (str.15, poslední odstavec) by tedy bylo příhodnější psát místo "Third important member in this sequence", (byl na mysli faktor RANK) , "Third important member in this pathway".

Je zvyklostí, pokud nejde o informace všeobecně známé, nebo zažité a známé pro danou problematiku, uvádět odkaz(y) na literární zdroje v rámci každého odstavce/ukončení/oddělení souvislého větného celku. Toto není zcela splněno, např. na str. 12 (druhý odstavec), str. 14 (první tři odstavce).

V textu lze nalézt přepis, např. na str. 12, slovo "demosumab", namísto denosumab; na str. 13 "...is necessary for possible implementing", myšleno asi „for possible implementation“; str. 22 „dehydroepiandrosterone“ namísto „dehydroepiandrosterone“; str. 37 – RANLK, druhý odstavec; str. 37, čtvrtý odstavec, ..."Cells are then lized and the lizate", namísto "Cells are then lysed and the lysate ..."; str. 42 "LB broad" namísto "LB broth"; str. 59, 60 "biitin labeled" namísto "biotin labeled".

Výrazy latinského původu, *in vitro*, *in vivo*, *post hoc*, *et al.*, je vhodné psát kurzívou (str. 19, 23, ...).

Tabulky v experimentální části (viz. str. 40, 44, 52) si zaslouží více upřesňující podobu, tj. doplnění "hlavičky tabulek", např. "Reaction component, Volume"; str. 43, 47, pro přehlednost doplnit např. "Plasmid, Absorbance; str. 59, 60 doplnit např. "Gel column, Volume".

Pokud má být splněno pravidlo "jednoznačnosti, srozumitelnosti" u tabulek, či grafů, je více než vhodné zavádět v rámci tabulek, grafů, obrázků legendy/vysvětlivky, kde je uveden význam zkratk. To postrádám např. u "Table 15" (str. 55, SD, N°), v rámci kapitoly "Appendix" (Len, Pur, HPLC, DDST, MW - a uvést jednotky (Da?), Tm°).

V experimentální části, u některých položek „Materials/other materials“ chybí uvedení výrobce, u kterého je komerční produkt dostupný (str. 41 – „DpnI restriction enzyme“ a specifikace toho restričního enzymu; DH5α competent cells“ - bližší specifikace buněk, výrobce, nebo kdo laskavě poskytl buňky V kapitole 4.3.5 chybí uvedení centrifugy v "Other materials" a také proto by bylo vhodnější vyjádřit podmínky centrifugace (str. 45) namísto počtem otáček (rpm), v podobě centrifugační síly (×g). V kapitole 4.3.6 nejsou specifikovány "Bacterial cultures", o jaké jde bakterie, jak byly získány. Pokud byl obrázek na str. 48 odněkud převzat, je také žádoucí toto přiznat a zdroj uvést. Podobně je vhodné také specifikovat položky "Other materials" na str. 52 a např. uvést/doplnit k tomuto i "nylon membrane", či "CCD camera".

V práci se občas vyskytují velmi složité komplexní věty, složené z několika vět vedlejších (přítomných bez oddělovacích čárek), které pro čtenáře dostatečně neznalé této problematiky mohou být nesrozumitelné, viz. str. 15 ... "Mice over-expressing the new tumor necrosis factor (TNF) receptor related molecules for screening by researchers at Amgen Inc. (USA) have developed severe osteopetrosis due their lack of osteoclasts in the bones ...", či str. 18 "Reid and coworkers have questioned VEGF angiogenesis mechanism in OPG expression in vitro HuDMEC and T47D breast cancer cell line because cell-to-cell contact was required for proper effect whereas VEGF, bFGF and TGF-β had no effect on HuDMEC OPG levels".

Dotazy a připomínky:

Dotaz č.: 1 - Popiště a vysvětlete, prosím, proces transfekce buněčné linie HOS uvedený na schématu na str. 48.

Dotaz č.: 2 - Které z Vámi uvedených metodik jste se věnoval především? Můžete nám nastínit časovou, technickou, či finanční náročnost této metodiky, případně, pokud tomu tak je, i další možnosti její aplikace/využitelnosti?

Dotaz č.: 3 - Můžete nám vysvětlit princip práce s bioinformatickým nástrojem zmíněným ve Vaší práci („Noris Medical Library/TF Serch tool“), můžete objasnit hodnotu „score“ (uvedeno na str. 39), její význam, jak pohlížet na výstup z této bioinformatické analýzy?

Závěrem, práci považuji za velmi hodnotnou, je zcela patrné, že se autor intenzivně problematice věnoval, teoretická/rešeršní část práce vychází z téměř tří set, často zcela recentních, vědecky hodnotných publikací. I přes výše zmíněné připomínky navrhuji hodnocení: výborně.

Celkové hodnocení: výborně, práci k obhajobě: doporučuji

.....

V Hradci Králové, dne: 29.5.2014

Podpis oponenta/oponentky