

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:

Václav Vopálenský

Datum:

7.9.2015

Autor:

Jana Blažková

Název práce:

Dopravní systémy na bázi syntetických hydrofilních polymerů pro přenos a řízené uvolňování siRNA

Cíle práce

Cílem práce byla příprava, fyzikálně-chemická charakterizace a následné testování biologické funkčnosti komplexů polykationtů s siRNA či konjugátů hydrofilních polymerů s siRNA, přičemž jak polykationty tak i konjugáty hydrofilních polymerů byly připraveny přímo autorkou diplomové práce.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): 72

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova ANO

Je uveden seznam zkratk? ANO

Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? ANO

Použila autorka v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? Vcelku ANO, autorka použila celkem 79 literárních zdrojů. Pouze 2 citace (White 2008, str. 13; Putnam et al, 2001, str. 29) uvedené v textu práce nejsou zařazeny v seznamu literatury. Nicméně bych si dovolil podotknout, že *et al.* se píše kurzívou a že zvolený formát citací (Fire, Xu *et al.* 1998) není úplně klasický. U citací Lee *et al.* (strana 6), Siomi and Siomi (strana 8) či Gatinol *et al.* (strana 9) nejsou uvedeny v textu práce roky vydání.

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito? Autorka použila značné množství syntetických postupů (popsáno na 13 stranách) a další fyzikálně-chemické a biochemické metody (dohromady 10 stran). Metodicky je tato práce naprosto v normě.

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? Asi ANO. Problém je pouze ten, že autorka většinou ukazuje ve výsledkové části pouze jeden reprezentativní obrázek z daného tyou experimentu. Ostatní výsledky jsou poté shrnuty v tabulce či grafu. Dle mne by bylo lepší uvést všechna hrubá data.

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky?
ANO

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? spíše NE

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? NE

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? spíše NE

Největší problém této práce spatřuji ve spojení kapitol Výsledky a Diskuse do jednoho útvaru (celkem 19 stran). Výsledkem je stav, kdy zatímco výsledky jsou popsány vcelku rozumně, tak stopy po diskuzi jsou velmi nezřetelné, skoro bych řekl, že téměř nepřítomné. O tom svědčí i to, že jediná citace v této části (z roku 1984) nemá nic společného s případnou diskuzí. A pokud máte v kapitole Výsledky a diskuse přímo uvedeno „Tento trend zjevně souvisí s ionizační schopností amino skupiny polykationtu při daném pH a je plně v souladu s literárními údaji.“ (str. 56) tak by asi bylo vhodné citace uvést.

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO, jedná se o velmi pěkné shrnutí získaných poznatků

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

Po formální stránce je tato práce víceméně v pořádku. Vyskytují se zde sice překlepy v lehce větší míře, než je obvyklé a také pár anglikanismů, obojí je nicméně ještě v tolerovatelné hladině. Textu by tedy určitě prospěla pečlivější korekce, která by také bezpochyby odhalila i dva naprosto shodné odstavce na straně 10. Text je vcelku logický a pochopitelný, vyskytují se sice drobné formulační nepřesnosti či zkratkovitá vyjádření, nicméně v míře ne vyšší než obvyklé. Obrazová dokumentace je na dobré úrovni, tedy až na úplně nepřítomný obrázek 2-7 (odkaz na něj je na straně 20).

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Cíle práce autorka splnila. Práci doporučuji k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:

Nejprve bych si dovolil pár formálních připomínek:

1/ Každou zkratku je třeba vysvětlit při prvním použití (což se nezdařilo např. u zkratk RI, LS). Mimoto se autorce nepodařilo seznam zkratk dobře naformátovat, jsou zde dva „přesahující“ řádky.

2/ Je třeba dodržovat jeden ze způsobů psaní cizích či přejatých slov. Vybrat si tedy buď

liposomy nebo lipozomy (strana 16).

3/ U elektroforéz je vhodné alespoň naznačit pozice markerových fragmentů.

4/ U TLC (str. 40) by bylo vhodné specifikovat použitou kapalnou fází.

A nyní otázky:

1/ Jaký je mechanismus rozpoznání a účinku tasiRNA? Jak se liší od mi/siRNA?

2/ V kapitole 4.2 Syntetické postupy jsou některé z nich bez citací. Z čeho jste v případě těchto postupů vycházela? A jak je definováno katalytické množství?

3/ Pokud připravujete konjugát polymeru s jednořetězcovou siRNA (strana 37) nemůže následně nastat problém s vytvořením duplexu po přidání „antisense“ RNA?

4/ Kontrolovali jste stabilitu siRNA po 18 hodinové inkubaci při pokojové teplotě (strana 37)?

5/ Platí tvrzení, že „koncentrace přirozeně se vyskytujícího redukčního činidla L-glutathionu uvnitř buněk je řádově 1000 × větší než v krevní plasmě“ (str. 51) pro všechny buněčné typy?

6/ Na obrázku 5-5 (str. 55) jsou uvedeny polyplexy po přidání „antisense“ vlákna?

7/ Testovali jste i vyšší poměr N/P u PEK6 (str. 55)? Pokud ne, dá se odhadnout, kdy dojde k úplné kompenzaci nábojů?

8/ Je distribuce hydrodynamických průměrů u všech PEK podobná jako u PEK4 (str. 56)?

9/ Byly testovány i jiné polyplexy než PEK1 a PEK4 v *in vitro* systému (str. 61)?

10/ Jak vypadá situace u obrázku 5-10 (strana 62) po 24 hodinách? V jakém vztahu je vlastně tento obrázek ke grafu na obrázku 5-11? Opravdu jste buňky inkubovala 48 hodin v HEPES pufru? Možná by nebylo na škodu v tomto případě ukázat i světelné pole mikroskopu.

11/ Příliš nerozumím grafům na straně 63, respektive tomu, proč jste k PK1/2/4/6, PLL a PEI přidávala 1250 nM siRNA, když se má jednat o negativní kontrolu? Čím si vysvětlujete to, že je fluorescence nejvyšší u PLL-siRNA (50 nM), tj. u pozitivní kontroly?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: