

Posudek na bakalářskou práci

- školitelský posudek
 oponentský posudek

Jméno posuzovatele:
doc. RNDr. Dana Holá, Ph.D.

Datum:
 30.5.2018

Autor: *Julie Kadlecová*

Název práce: *Peptidy penetrující buněčné membrány – úskalí uvěznění v endosomu a jeho překonání*

- Práce je literární rešerší ve smyslu zveřejněných požadavků (pravidel).
 Práce obsahuje navíc i vlastní výsledky.

Cíle práce (předmět rešerše, pracovní hypotéza...)

Charakterizovat vstup PPM do buňky a popsat přístupy, které by umožnily jejich únik z endosomů v souvislosti dopravy možných terapeutik do buňky.

Struktura (členění) práce:

Klasická – abstrakty a klíčová slova, obsah, seznam použitých zkratk, úvod do problematiky, vlastní text rešerše, závěr a seznam použité literatury. Celkem 40 stran.

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány?

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů?

Autorka použila celkem 165 literárních pramenů, z toho cca 33 přehledových článků nebo knižních textů. Všechny práce uvedené v seznamu jsou (až na dvě výjimky, viz níže) správně citovány v textu. Je nicméně překvapivé, že většina literárních zdrojů je starších; z posledních pěti let je pouze 23 citací, z toho 11 je typu přehledových článků apod. Na jednu stranu je sice chvályhodné, že autorka šla do starší původní literatury, ale problematika PPM a jejich možného úniku z endosomů se studuje stále a měly by tudíž být zahrnuty i novější původní práce na toto téma – třeba i na úkor stručnějšího pojetí první části práce nebo méně podrobného popisování konkrétních experimentů v některých místech části druhé. Jistě by se dalo využít třeba původních prací uvedených v nedávném přehledovém článku, který se věnuje přímo tématu úniku PPM z endosomů (Le Cher et al. 2017, Biomolecular Concepts; tento článek autorka zřejmě nečetla), ale i dalších studií na toto téma, které jsou na webu k dispozici. K seznamu literatury mám dále několik formálních připomínek, které uvádím níže.

Pokud práce obsahuje (nadstandardně) i vlastní výsledky, jsou tyto výsledky adekvátním způsobem získány, zhodnoceny a diskutovány?

Práce neobsahuje vlastní výsledky.

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

Obrazová dokumentace je přejata z vybraných literárních zdrojů a mírně upravená (české překlady anglických termínů). Je vhodně zvolená a její grafická úroveň je dobrá. Popisky k obrázkům jsou přesné a naprosto dostačující k jejich samostatnému pochopení. Práce obsahuje celkem přijatelné množství překlepů (v průměru jeden na stránku), z mluvnického hlediska jsou častějším nedostatkem především čárky v souvětích a rozvitých větách (jejich absence nebo naopak nadbytečné použití). Jazyková úroveň je jinak relativně dobrá, i když na řadě míst práce trpí zbytečnými anglicismy a anglickým slovosledem ve větách (viz níže). Jednotlivé úrovně nadpisů bych doporučila odlišit i číselně, nejen velikostí písma, aby bylo zřejmější, co je hlavní kapitolou a co podkapitolou, aniž by se čtenář musel vracet k obsahu.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Cíle práce byly v podstatě splněny, i když rešerše mohla zpracovat jistě více původních pramenů zaměřených především na téma úniku PPM z endosomu (naopak jiné prameny šlo vynechat). První část práce, věnovaná klasifikaci PPM a mechanismům jejich internalizace do buněk, je určitě nezbytná k pochopení celé problematiky a je dobře, že v práci je zahrnuta. Mohla by však možná být poněkud kratší a autorka by se pak mohla více a lépe zaměřit na část druhou. To považuji za určitý nedostatek, koneckonců i proto, že věci popsané v první části práce již byly předmětem mnoha přehledových článků jak starších, tak zcela recentních. Musím v této souvislosti zmínit článek Guidotti et al. (2017) už jen proto, že první polovina bakalářské práce, zabývající se klasifikací PPM a mechanismy jejich internalizace do buněk, přesně dodržuje strukturu tohoto přehledového článku. To by samo o sobě nebylo nic špatného, protože to je asi nejlogičtější uspořádání a autorka tento článek také na několika místech cituje. Příliš se mi však nelíbilo, když jsem na více místech textu této části práce našla věty, které byly doslovným překladem anglických vět použitých v uvedeném článku (aniž by byly použity uvozovky pro doslovnou citaci a článek u příslušné věty zmíněn) – to by se stávat nemělo. Obdobná situace platila i pro zbytek práce – i tam se můžeme setkat s doslovnými překlady vět pocházejících z původních anglicky psaných zdrojových citací. Na některých místech je to z anglické organizace vět vysloveně zřejmé, ale našla jsem i méně zřejmé doslovné překlady. Dodávám nicméně, že se vždy jednalo pouze o jednotlivé věty, nikdy o celé odstavce a nepovažuji to tedy vysloveně za plagiátorství. Autorka by si ale rozhodně měla dát větší práci a pokusit se informace získané z literárních zdrojů zpracovat vlastními slovy skutečně v celém textu.

Otázky a připomínky oponenta:

Připomínky – nejhorší formulační nedostatky v textu práce:

- 1) „schopnost kationických PPM téměř nepodmíněného vstupu do buňky“ (str. 3)
- 2) „Posledním modelem používaným PPM k přímé translokaci jsou invertované micelové agregáty“ (str. 8)
- 3) „Bylo objeveno několik zásadních zjištění“ (str. 11)
- 4) „Bylo stanoveno tvrzení“ (str. 12)
- 5) „histidin ... využil svých silných vlastností“ (str. 17)
- 6) „buňkami ovarií divokého čínského křečka“ (str. 23)
- 7) „tento princip byl využit k detekci v současné studii“ (určitě ne ve vaší vlastní bakalářské práci – opět doslovný překlad z angličtiny z původního textu?) (str. 24)
- 8) „zabránění degradaci v endozomu obsahujícím PPM s připojeným nákladem byly demonstrovány popisem inspirativních metod, jež by podpořily ...“ (str. 27)

Připomínky – citace v textu a seznam literatury:

- 1) O kterou práci jde v případě citování Deshayes a kol (2004) na str. 13 (v seznamu je rozlišeno a a b)?
- 2) Práce Deshayes Sébastien a kol. (2006) na str. 13 by měla být citována bez křestního jména, a pak je nutné rozlišit tuto práci od jiné práce Deshayes a kol. (2006) (opět písmeny a a b v seznamu literatury).
- 3) Formát citací v seznamu literatury není vždy jednotný (iniciály vs plná křestní jména autorů, použití nestandardních zkratk názvů časopisů, nejednotné používání velkých písmen v názvech článků), což je nepochybně vyvoláno použitím citačního softwaru, aniž by pak došlo k důkladné kontrole. Je nutné si uvědomit, že citační software je sice dobrý sluha, ale špatný pán - při publikaci vědeckých článků mohou být i takovéto nedostatky někdy důvodem k jeho zamítnutí ještě před recenzním řízením.
- 4) U některých citací v seznamu literatury chybí uvedení stránek, někdy i

svazku/čísla časopisu (Brock a kol. 2018, Madani a kol. 2011, Roberts a kol. 2002, Schmidt a kol. 2016, Skehel a kol. 2011, Ulmschneider a Ulmschneider 2018, Vives a kol. 2003, Ye a kol. 2016).

- 5) *Knihy, resp. kapitoly v knihách, jsou ve všech případech citovány nesprávně;*
 6) *V češtině písmeno „ch“ následuje vždy až po „h“ (tedy ne např. pořadí Sadler, Scheller, Schmidt, Selbo, Shai ...“*

Otázky:

- 1) *Na str. 3 uvádíte, že penetratin po záměně Trp za Phe ztrácí svoji vlastnost prostoupit membránu. Proč tomu tak je (konkrétní důvod)?*
- 2) *Jaké jsou nevýhody alfa-helixu u sekundárních amfipatických PPM (str. 5 dole, srovnání s beta-skládaným listem)?*
- 3) *Byly translokační mechanismy navozením destabilizace membrány (str. 8) skutečně pozorovány, nebo jde jen o model?*
- 4) *Jak mohou PPM při současném použití inhibitorů endocytózy penetrovat buněčnou membránou pomocí různých podtypů endocytózy (str. 12)?*
- 5) *Jaký přínos tedy představují elektrostatické a hydrofóbní interakce pro vazbu PPM na membránu (str. 15, odkazujete se na práci Ziegler 2008, ale neuvádíte její konkrétní výsledek)?*
- 6) *Prosím o podrobnější vysvětlení vlastností dFTAT (dimerního fluorescenčního Tat peptidu) v souvislosti s únikem PPM z endosomů (tento peptid je jen zmíněn na str. 21, přitom se mu a jeho vlastnostem umožňujícím lepší únik z endosomů věnovalo několik původních studií, které v práci zmíněny nejsou).*
- 7) *Jak je zajištěno distancování terapeutika od fotosensibilizátoru v membráně endosomu (str. 22)?*
- 8) *Co se ví o tom, jaký vliv má použití PPM pro terapeutické účely na imunitní systém (jedná se zřejmě o jeden z problémů pro jejich možné využití)?*
- 9) *Na str. 21-22 rozebíráte, jak může vliv různých fluoroforů používaných k detekci pohybu PPM v buňce ovlivnit samotné chování těchto peptidů. Z předchozího textu jsem nabyla dojmu, že na značení fluorofory byla založena převážná většina existujících studií na toto téma. Do jaké míry lze tedy jejich výsledky a závěry považovat za „reálné“?*
- 10) *Co si myslíte o relativně nedávno popsané (Salerno a kol. 2016, J. Cell Sci., Ngwa a kol. 2017, PLoS ONE) strategii, která k úniku z endosomu využívá nekovalentní vazbu mezi PPM a jeho nákladem (v bakalářské práci tuto strategii nezmiňujete)?*
- 11) *V části práce věnované úniku PPM z endosomů popisujete spíše „základní“ experimenty (kdy PPM do buněk dopravovaly „klasická“ detekční agens (luciferáza, glutathion-S-transferáza, GFP ...) než experimenty s dopravou přímo terapeutik (jak je uvedeno v cílech práce). Byly takové experimenty prováděny? Opravdu ani jedna z aktuálně probíhajících klinických studií nevyužívá žádnou strategii úniku PPM z endosomů? Jak tedy tento problém překonávají, když endocytóza je hlavním vstupním mechanismem PPM do buněk?*
- 12) *Je podle vás využití PPM k dopravě terapeutik do buněk skutečně nadějným přístupem? Jaké další hlavní problémy (kromě zajištění úniku PPM z endosomů) jsou s využitím PPM k terapeutickým účelům spojeny?*

Návrh hodnocení školitele nebo oponenta

výborně velmi dobře až dobře nevyhověl(a)

Podpis školitele/opponenta: