

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: **Jakub Netolický**

Název práce: **Vliv cytochromu b₅ na enzymovou kinetiku hydroxylace Sudanu I lidským cytochromem P450 1A1**

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

1. Rozsah DP a její členění	
<input checked="" type="checkbox"/>	A - přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí
<input type="checkbox"/>	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
<input type="checkbox"/>	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
<input type="checkbox"/>	N - nedostatečné

2. Odborná správnost	
<input type="checkbox"/>	A - výborná, bez závažnějších připomínek
<input checked="" type="checkbox"/>	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
<input type="checkbox"/>	C - uspokojivá, s čtenějšími drobnými závadami
<input type="checkbox"/>	N - nevyhovující, s hrubými chybami

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

4. Jazyk práce	
<input type="checkbox"/>	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
<input checked="" type="checkbox"/>	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
<input type="checkbox"/>	C - uspokojivý, čtenější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
<input type="checkbox"/>	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

5. Formální a grafická úroveň práce	
<input type="checkbox"/>	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
<input checked="" type="checkbox"/>	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
<input type="checkbox"/>	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo čtenějšími drobnými chybami
<input type="checkbox"/>	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Diplomová práce studenta Jakuba Netolického je členěna obvyklým způsobem a i její rozsah je přiměřený pro práce tohoto typu.

V textu diplomové práce se však vyskytují četnější stylistické a jazykové nedostatky - nesprávné tvary slov, nevhodné formulace vět či nepřesná vyjádření, které mnohdy snižují čtivost práce a její srozumitelnost.

Také některé drobné chyby mohou být pro neznalé čtenáře matoucí (**str. 12** - peroxidasová cesta vede za uvolnění vodíku (správně peroxidu vodíku) do základního stavu, **str. 16** - cyt b₅ se podílí na biosyntéze plasmogenu (správně plasmalogenu), **str. 24** - další oxidací hlavních oxidačních produktů sudanu I vznikají dva dihydroxyderiváty 4',6' dihydroxy a 3',6' dihydroxy Sudan I (místo 3', 4' dihydroxy Sudan I), **str. 38** - v tabulce 7 je u poměrů cytochromu b₅ vůči CYP 1:1 a 1:3 špatně uvedena koncentrace cyt b₅ v inkubační směsi, což je pravděpodobně způsobeno špatným zaokrouhlením v celém sloupci tabulky, **str. 49** - v tab. 10 jsou prohozeny absorbance pro čas t₁ a t₂ a navíc není uvedeno číslo přeměny, jak se uvádí v popisku k tabulce)

K práci mám pak další připomínky:

V abstraktu práce mi chybí shrnutí dosažených výsledků.

Některé postupy v metodické části by mohly být popsány výstižněji, se všemi detailními informacemi, které by zjednodušili případné opakování experimentů.

Dle mého názoru není úplně ideální naměřená data korigovat na odpařování methanolu během HPLC analýzy, ale spíše bych se snažila tomuto problému předejít např. použitím inzertů do vialek. Navíc faktor f nezohledňuje jen odpaření methanolu, ale také účinnost extrakce.

Za nesprávné považuji uvádět výstupy z FPLC a HPLC analýzy (jednotky mAU) jako relativní absorbance či relativní plochy píku, i když tyto nejsou k ničemu vztahovány. Plochu píku nelze uvádět v mAU².

Diskuse je vedena srozumitelně, pouze postrádám ve větší míře porovnání dosažených výsledků se závěry jiných studií.

V některých případech není dodržen jednotný formát citací, zejména psaní názvu časopisů v plném znění či zkratkou. Některé citace (14, 25, 34), ač jsou uvedeny v seznamu literatury, tak nejsou použity v textu práce.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

- 1) Na obr. 3, str. 14 je znázorněno zastoupení hlavních isoform CYP v játrech člověka. Zaujalo mě, že nejvíce zastoupené isoformy jsou zde CYP2E1 a CYP2C9, i když ve většině mě známé literatury se uvádí jako majoritní isoforma CYP3A4. Mohl byste se pokusit objasnit, proč se tyto výsledky liší? Jaká metodika zde byla použita?
- 2) Koncentraci CPR jste měřil na spektrofotometru DeNovix v g/l, tedy z hodnoty absorbance při 280 nm a přepočítával na molární koncentraci. Nebylo by vhodnější využít jinou specifitější metodu pro stanovení tohoto proteinu? Jakou?
- 3) Na základě čeho se domníváte, že se na obr. 21 jedná o CPR s membránovou kotvou a bez této kotvy? Tyto formy se Vám podařilo ionexovou chromatografií oddělit, ale na elektroforéze výsledného preparátu (obr. 24) lze opět pozorovat obě tyto formy. Jak je to možné?
- 4) Proč se lišil objem extrakčního činidla dichlorbenzenu při optimalizaci extrakce Sudanu I (Tab. 6, str. 35)? Nemohlo to mít vliv na účinnost extrakce?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **JE** / **NENÍ** (zakroužkujte) podmínkou přijetí práce

C. Celkový návrh

Navrhovaná celková klasifikace: velmi dobře

Datum vypracování posudku: 28. 8. 2019

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): RNDr. Věra Černá, Ph.D.