

**UNIVERZITA KARLOVA**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra biochemických věd

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Autor/ka práce: **Růžena Melicharová**

Vedoucí/školitel/ka práce: PharmDr. Anna Jirkovská, Ph.D.

Rok obhajoby: 2020

Konzultant/ka práce: Mgr. Veronika Skalická

Oponent/ka práce: RNDr. Eva Novotná, Ph.D.

Název práce:

**Detekce kovalentních komplexů proteinů s DNA s použitím fluorescenční mikroskopie**

---

Rozsah práce: počet stran: 68, počet obrázků: 20, počet tabulek: 0, počet citací: 88

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: výborné
- g) Teoretický či praktický přínos práce: výborný

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení: Diplomová práce se zabývá stanovením množství kovalentních komplexů topoizomerasy II s DNA vzniklých po působení dexrazoxanu a BNS-22 (inhibitory TopII), XK-469 (topoisomerasový jed), a jejich kombinací s daunorubicinem. Diplomová práce obsahuje přehledně zpracovanou teoretickou část, kde je vysvětlena nejen problematika týkající se TopII a látek, které ovlivňují její funkci, ale jsou zde představeny také metody, pomocí kterých je možné kovalentní komplexy detekovat. Z uvedených metod byla v experimentální části diplomové práce použita metoda TARDIS. V rámci experimentální části autorka diplomové práce tuto metodu nejprve optimalizovala a až poté přistoupila k jednotlivým experimentům. Pokusy byly prováděny u dvou buněčných modelů (buněčné linie HL-60 a primárních potkaních neonatálních kardiomyocytů). Izolace kardiomyocytů, jejich kultivace, práce s buněčnou linií HL-60 i samotné experimenty a jejich vyhodnocení jsou dobře a jasně popsány. Získané výsledky jsou prezentovány formou obrázků a grafů. Velmi kladně lze také hodnotit rozsáhlou diskuzi. Diplomové práci bych pouze vytkla, že u některých obrázků chybí odkaz v textu (Obr. 1–6).

Závěrem lze konstatovat, že téma diplomové práce je vysoce aktuální a získané poznatky mohou přispět k objasnění mechanismu účinku studovaných látek.

K diplomové práci mám pouze několik připomínek a dotazů.

Dotazy a připomínky:

Připomínky:

- 1) Hsp90 je heat shock protein nikoliv heat shock protein (str. 20).
- 2) V grafech (Obr. 14, 15, 17–20) jsou použity písmena a zkratky c, d, ns, d1,2. Nikde ale není definováno, co přesně znamenají.

Dotazy:

- 1) V teoretické části je zmíněna topoisomerasa I. Jaký význam má tento enzym v lidském organismu? Existují i jiné topoisomerasy kromě TopI a II?
- 2) K uvolnění kardiomyocytů byl použit enzymatický roztok accutasa. Jaké je složení tohoto roztoku a jaké jsou jeho výhody oproti trypsinu?
- 3) V rámci diplomové práce se podařilo potvrdit závislost účinku daunorubicinu na použité koncentraci. U 10 uM koncentrace došlo k významnému poklesu v množství pozorovaných kovalentních komplexů. Lze takto vysoké koncentrace dosáhnout i v klinické praxi? Jakých koncentrací dosahuje daunorubicin v lidském organismu?

**Celkové hodnocení, práce je: výborná, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci Králové dne 26. 5. 2020

.....  
podpis oponentky / oponenta