

Téma diplomové práce

**Vliv genetických faktorů na farmakokinetiku léků**

Jméno studenta, studentky

*ZDENKA*  
**Petra Hadrabová**

Jméno oponenta

**PharmDr. Lukáš Červený, Ph.D.**

## II. Posudek oponenta

Experimentální diplomová práce Zdeňky Hadrabové s názvem "Příprava rekombinantní cDNA některých lékových transportérů" je vypracována na 62 stranách, práce obsahuje 7 obrázků, 12 tabulek a dvě přílohy. Cílem diplomové práce bylo připravit rekombinantní cDNA lékového transportéru MRP3. MRP3 patří do rodiny ABC transportérů a jde o typického zástupce zodpovědného za transport organických aniontů konjugovaných s glukuronátem, sulfátem či GSH. Oceňuji, že se diplomantka seznámila s rutinními metodami molekulární biologie jako jsou PCR, PCR v reálném čase, gelová elektroforéza, enzymové restrikce, klonování, chemická transformace a elektroporace E.coli apod. Cíl práce připravit rekombinantní cDNA ABC transportéru MRP3 byl bez výhrady naplněn, takže vše lze shrnout tak, že experimentální část diplomové práce byla úspěšná. Horší už je to se zpracováním textu diplomové práce, ke kterému mám jisté připomínky:

1. Chybí abstrakt v českém a anglickém jazyce, 2. MRP je zkratka multidrug resistance-associated proteins nikoliv multidrug resistance (MDR) (str. 9), 3. na straně 9 hodnotami v exponenciální fázi asi diplomantka myslí hodnoty Ct (je dobré občas nebyť vágní), 4. Sh ble gen by mělo být kurzívou stejně jako E.coli, 5. dále máme tři typy restrikčních endonukleáz, nikoliv dvě, nicméně druhá skupina restrikčních endonukleáz je rozdělena na dva typy - tvořící tupé a kohezní konce (vše str. 21), 6. není firma Sigma, ale Sigma-Aldrich (str. 25), 7. není transluminátor, ale transiluminátor (str. 26), 8. metody by si určitě přály samy sebe zestručnit a opisovat doslova protokol poskytovaný firmou Qiagen je taktéž zbytečné (str. 41 - 42), 9. na straně 34 a 35 je chyba, Taq polymeráza má terminální transferázovou aktivitu na 3'-konci, tak A se připojuje tam, nikoliv na 5'-konec a za poslední diskuzi a závěr neslouží k tomu, aby se ve zkratce řeklo, co bylo napsáno, ale aby byly výsledky uvedeny do kontextu. V tomto případě to znamená, za jakým účelem byla cDNA MRP3 připravována, kdo to kdy dělal, jak, jaké jsou možnosti přípravy, výhody nevýhody apod. To zcela chybí.

Otázky: 1. V úvodu zmiňujete, že defekty ABC transportérů mohou být příčinou neurologických onemocnění, mohla by jste uvést kterých? 2. Uvádíte, že nevýhodou použití interkalačních barev je nespecifita vazby a vznik signálů za přítomnosti nespecifických produktů PCR a také tzv. dimerů primerů? Dimery primerů tedy nepatří do skupiny nespecifických produktů? 3. Jakým mechanismem by mělo užití betainu zvýšit specifitu a efektivitu PCR reakce?

Práce splňuje nároky kladené na diplomovou práci, proto ji doporučuji k přijetí s velmi dobrým hodnocením.

Navrhovaná klasifikace **Velmi dobře**

V Hradci Králové dne 24.5.2009

  
Podpis oponenta diplomové práce