

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : **Bc. Natálie KROFTOVÁ**

Název práce: **Oxidace benzo[a]pyrenu cytochromem P450 1A1 exprimovaným v prokaryotickém a eukaryotickém systému**

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 četnějšími 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 checked="" type="checkbox"/>	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
<input type="checkbox"/>	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
<input type="checkbox"/>	C - uspokojivý, četnější 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 checked="" type="checkbox"/>	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
<input 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 četnějšími drobnými chybami
<input type="checkbox"/>	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Úvodní část předkládané diplomové práce je velmi pečlivě a přehledně sepsána, text je doplněn několika obrázky či schémata, které dále napomáhají snadnější orientaci v dané problematice. Metodická část je logicky uspořádána, takže lze velice dobře sledovat průběh a návaznost práce, zároveň je vždy nastíněn i princip použité metody. Výsledky jsou dokumentovány několika přehlednými grafy a tabulkami. Měla bych připomínku pouze k vyhodnocení některých chromatogramů, konkrétně např. na obr. 22 A (str.67), kde je detekován i “velmi malý pík” jako metabolit M3, (popř. dále pík M4 a M5), který by dle mého názoru už mohl být spíše součástí šumu. V těchto případech bych doporučovala spíše takovéto píky vůbec nevyhodnocovat. Dále by bylo vhodné v této části práce uvést i charakteristiky (enzymovou aktivitu či koncentraci proteinu) použitých enzymových systémů (baktosomy a supersomy). Drobnou poznámku bych měla ještě k tabulce č. 2 (str.64), kdy se ne zcela shoduje popisek v tabulce s legendou (např. c_b oproti c_p , či s.a oproti a_{sp}) a zároveň hodnoty a_{celk} , které by dle mého názoru měly být součinem hodnot V (objemu) a cytochrom c reduktasové aktivity nejsou ve dvou případech (pro MF a SOL) zcela správně uvedeny. Zřejmě pouze nedopatřením je mezi str. 74 a 75 vložen čistý list papíru, aniž by však došlo k výpadku textu. Diskuse je vedena velmi srozumitelně a logicky, autorka též navrhuje možnosti dalšího směřování výzkumu dané problematiky.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

- 1) Jakým způsobem jste detekovali jednotlivé metabolity BaP, jinými slovy, jak jste přiřadili jednotlivé vrcholy k příslušným metabolitům?
- 2) K detekci cytochromu P450 2B4 a cytochromu b_5 při izolaci využíváte vlnové délky 417 nm (pro cyt. P450) a 413 nm (pro cyt. b_5). Jaká strukturní část těchto proteinů je zodpovědná za absorpci v těchto vlnových délkách?
- 3) Při HPLC chromatografii benzo[a]pyrenu a jeho metabolitů vzniklých oxidací lidským cytochromem P450 1A1 exprimovaným v prokaryotickém systému (obr .28 str 75) máte vrchol s retenčním časem 30 minut označen jako EH, tedy epoxidhydrolasa nebo jiné látky domníváte se tedy , že by tento protein mohl být součástí extraktu, není možné, že zdenaturoval přidáním ethylacetátu?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

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

C. Celkový návrh

Práci **doporučuji** k přijetí k dalšímu řízení: **ANO** / **NE**

Navrhovaná celková klasifikace: Výborně

Datum vypracování posudku: 28.5.2013

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): Mgr. Božena Kubíčková