

## Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Bc. Lucie Vejvodová

Název práce: Oxidace ellipticinu lidskými cytochromy P450 exprimovanými v prokaryotním a eukaryotním systému

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

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

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

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

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

5. Formální a grafická úroveň práce	
	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
x	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo četnějšími drobnými chybami

## 5. Formální a grafická úroveň práce

**N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami**

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Předkládaná DP Bc. Lucie Vejvodové se zabývá aktuální problematikou, zahrnuje velké množství různě koncipovaných experimentálních systémů a z nich získaných výsledků. Vzhledem k tomu, že byly studovány lidské cytochromy P450 exprimované jak v prokaryotních tak eukaryotním systému, mají tyto výsledky značný praktický význam. K práci mám však několik připomínek. Na začátku úvodu se vyskytují odkazy na spíše starší tuzemské práce např. Klener, 1996; Hynie, 2003 apod. Doporučovala bych, aby řešerše byla raději zaměřena na co možná nejaktuálnější zahraničních publikace, a to i v dalších částech úvodu týkajících se enzymů I. fáze biotransformace.

Text úvodu je často členěn pomocí různorodých odrážek, což je vhodné např. pro prezentaci DP, v samotné práci však odrážky působí dle mého názoru rušivě a připomínají spíše poznámky než vědecký text.

V práci se vyskytuje několik překlepů a gramatických chyb. U enzymů chybí v úvodu uvedení enzymových čísel EC, v seznamu chemikálií uvedení z jakého jsou zdroje. U opticky aktivních látek chybí jejich konfigurace. Na str. 52 chybí jednotka koncentrace BSA. Pro NADPH:cytochrom P450 reduktasu jsou zavedeny 2 zkratky.

Na str. 58 uvádíte, že inkubační směsi obsahovaly jak exprimovaný 50 nM cytochrom P450 tak 50 nM cytochrom P450 bez bližšího určení, prosím vysvětlíte o jaké cytochromy se jednalo a proč byly inkubovány současně? Co znamenají 3 tečky v obrázku 27?

Několik malých připomínek mám také ke grafu (obr.) 28.: osa y by neměla začínat v záporné hodnotě, raději než E-06 bych doporučila použít  $\mu\text{mol (cyt c).min}^{-1}.\text{ml}^{-1}$  a do legendy nebo textu bych specifikovala, které látky absorbují při vlnové délce 417 a 413 nm.

Termínem vyšší hladina cytochromu myslíte vyšší množství proteinu nebo vyšší aktivitu cytochromu?

### B. Obhajoba

#### *Dotazy k obhajobě*

1. Mohla byste prosím blíže popsat, jak se pracuje se Supersomy<sup>TM</sup> a Bactosomy<sup>TM</sup>, v práci jsou uvedeny pouze názvy.
2. Na str. 64 uvádíte, že s jednotlivými isoformami cytochromů P450 se „koexprimuje“ NADPH:CYP reduktasa. Máte při sledování vlivu různých koncentrací NADPH:CYP reduktasy na oxidaci ellipticinu možnost zjistit celkové množství (koncentraci) tohoto enzymu v jednotlivých experimentech? Uváděný poměr CYP+CPR se vztahuje pouze na přidanou vámi izolovanou reduktasu nebo i na „koexprimovaný“ enzym?

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**

Navrhovaná celková klasifikace: velmi dobře

Datum vypracování posudku: 20.5.2013

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): RNDr. Veronika Doubnerová, Ph.D.