

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

Katedra Biochemických věd

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Oponent/ka: **RNDr. Lucie Škarydová, Ph.D.**

Rok obhajoby: 2014

Autor/ka práce: **Veronika Nešverová**

Název práce:

**Studies of the interaction between human AQP5 and PIP**

---

Rozsah práce: počet stran: 68, počet grafů: 0, počet obrázků: 25,

počet tabulek: 6, počet citací: 35, počet příloh: 0

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: zcela splněn
- b) Jazyková a grafická úroveň: výborná
- c) Zpracování teoretické části: výborné
- d) Popis metod: velmi dobrý
- e) Prezentace výsledků: velmi dobrá
- f) Diskuse, závěry: velmi dobré
- g) Teoretický či praktický přínos práce: velmi dobrý

Případné poznámky k hodnocení:

Předložená diplomová práce byla vypracována v rámci programu Erasmus, je napsána v angličtině a zabývá se přípravou rekombinantních forem aquaporinu 5 (AQP5) a proteinu indukovatelného prolaktinem (PIP) v expresním systému *P. pastoris* a počátkem studia jejich možné interakce. Teoretická část je velmi hezká, jednoduše a přehledně zpracovaná. Vysvětluje roli těchto proteinů v organismu a jejich roli v Sjörgrenově syndromu, která ale není dosud přesně objasněná (zejména PIP). Metodická část neobsahuje na začátku obvyklý výčet chemikálií a přístroje a proti teoretické části není tak přehledná. Navíc obsahuje mnoho vysvětlujících částí (např. str. 29 zdroje energie při různých fázích kultivace, str. 32-35 vysvětlování principu chromatografií atd.), které sem nepatří a některé by se daly spíše využít v diskusi ohledně volby postupu. Část výsledky a diskuse je v jedné části, což někdy usnadňuje interpretaci výsledků a jejich podrobnější diskusi. Bohužel zde se znaky diskuse vyskytují velmi ojediněle. I přesto, že studium těchto proteinů není zřejmě oblast, kde by probíhal bouřlivý výzkum, myslím, že by se daly některé části diskutovat (např. metodiky, výsledky výzkumu isoform těchto enzymů, případně jiných podobných proteinů) a ne jen popisovat výsledky. Kvalita teoretické části a části výsledky a diskuse jsou neporovnatelné. Cíle práce byly splněny, proteiny byly připraveny a byla sledována i jejich možná interakce, která zatím (použita jen jedna metoda) nebyla potvrzená.

Dotazy a připomínky:

Kapitola 2.1 na str. 11 neobsahuje ani jednu referenci

Některé obrázky nejsou dostatečně kvalitní - např. např. Fig. 22, str. 54 nebo fig. 18, str. 51, kde popisujete v textu tenký proužek odpovídající AQP5, ale na obrázku není nic patrné.

Jaká množství proteinu byla nanášena na SDS elektroforézu (např. obr. 12) a jaká metoda barvení Coomassie blue byla použita? Zdá se mi divné, že by supernatant z *P. pastoris* (1) téměř neobsahoval viditelné proužky

Proč mají pacienti se Sjörgrenovým syndromem 44xvyšší riziko rozvoje B-lymfomu?

Proč byla zvolena metoda koeluce pro studium interakcí? Jaké další jednoduché metody pro studium interakcí by se daly použít mimo zmiňované náročnější "Yeast two-hybrid"?

Jaké jsou rozdíly mezi stabilní a transientní interakcí proteinů? Zabýval se Ohashi et al. 2008 typem interakce mezi AQP5 a PIP? Jakým způsobem lze zachytit při studiu transientní interakce proteinů?

**Celkové hodnocení: velmi dobře, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci Králové dne 20. 5. 2012

.....  
podpis oponentky / oponenta