

Téma diplomové práce	Purifikace a charakterizace membranově vázané reductasy z lidské jaterní tkáně
Jméno studenta, studentky	Vendula Pelcová
Jméno oponenta	Eva Kvasničková Prof. RNDr. CSc.

II. Posudek oponenta

Předložená metodická diplomová práce je průkopnická na naší katedře a současná ve světové literatuře. Navrhuje postup při zjištění a charakterizaci neznámé enzymové bílkoviny s předpokládaným mechanismem účinku. Z experimentální části i prezentovaných výsledků vyplývá, že posluchačka musela věnovat práci mimořádné úsilí, pracovní zaujatost i laboratorní zručnost. Práce je mimořádně pečlivě sepsána, dobrou češtinou (s drobnými výjimkami) a oceňuji stylizaci práce u posluchače, který nemá zkušenosti s psaním vědecké práce. Text je doplněn instruktivními obrázky (původ obr. není uveden).

Některé dotazy, poznámky a připomínky :

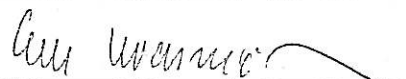
1. Výběr neznámé reductasy byl považován za model pro zavedení i osvojení si metodiky, anebo cíleně pro její předpokládané katalytické vlastnosti vůči důležitým xenobiotikům - lékům. Velmi oceňuji zavedení metody k izolaci enzymů vázaných na membrány.
2. Je velmi rozumné, že jste zvolila modelový substrát, o kterém existuje řada seriosních informací. Jaký předpokládáte podíl aktivity nového enzymu na vzniku redukováného metabolitu oracinu v porovnání s 11-beta hydroxysteroiddehydrogenasou? Bylo by možné zobecnit (vzhledem ke struktuře a prostorovému uspořádání substrátu, jeho fyzikálním a chemickým vlastnostem.....) ?
3. Jednotlivé postupy byly uskutečňovány na základě zkušeností Vašeho školitele ze zahraničního pobytu. Musela jste některé stupně modifikovat podle charakteru izolovaného enzymu, nebo podmínek v laboratoři?
4. Jak byl stabilní dihydrooracin vůči 45°C při vakuovém odpařování? Navazovala jste na již známé znalosti o stabilitě metabolitu ?
5. Myslím si, že bylo rozumné přesně popsat jednotlivé postupy. Jde o novou metodiku a pro další pracovníky, kteří budou pokračovat vlastně nezbytné.
6. Je známo z jiných experimentů, že čištění vzorků je velký problém vzhledem i k výtěžku. Myslíte, že by bylo možné zkrátit počet purifikačních kroků?
7. Myslíte si, že postup, který jste použila pro enzym vázaný na membrány bude možno použít (s drobnými modifikacemi) i pro další membránové enzymy s jinými mechanismy účinku ?

Předloženou práci považuji za velmi přínosnou pro výzkumné zaměření katedry a dalších pracovišť obdobného zaměření. Bylo jí věnováno velmi mnoho práce a úsilí, pracovní aktivity i nadšení.

Práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji jako výbornou.

Navrhovaná klasifikace

V Hradci Králové dne 29. 5. 2006



Podpis oponenta diplomové práce

Téma diplomové práce	Purifikace a charakterizace membránově vázané reductasy z lidské jaterní tkáně.
Jméno studenta, studentky	Vendula Pelcová
Jméno vedoucího diplomové práce	Doc. Ing. Vladimír Wsól, Ph.D.

I. Posudek vedoucího diplomové práce

Diplomantka Vendula Pelcová se zapojila do výzkumné práce ihned po absolvování předmětu xenobiochemie a její téma zasahovalo experimentálně do výzkumu, který se na katedře nově zaváděl a navazoval na zkušenosti získané ve spolupráci se skupinou prof. Masera.

Diplomantka zvládla ve velmi krátké době velké množství technik, které při své experimentální práci využívala a svým experimentům věnovala skutečně výrazně nadstandardní čas. Složitost práce spočívala především v tom, že některé metody nebyly do té doby na katedře zavedeny a bylo nutné je zavést a ověřit jejich použitelnost.

Vendula Pelcová své výsledky také úspěšně prezentovala letos v dubnu na studentské vědecké konferenci ve svém příspěvku "Purifikace a identifikace enzymů redukcujících karbonylovou skupinu". S velkým uspokojením konstatuji, že diplomantka Vendula Pelcová pracovala po dobu dvou let na naší katedře výrazně nadstandardně, velice pečlivě, po většinu času zcela samostatně a svými výsledky výrazně přispěla k řešenímu projektu hledání nových lidských mikrosomálních reductas, ve kterém bude ještě experimentálně pokračovat.

Navrhovaná klasifikace **výborně**

V Hradci Králové dne 31.5.2006



Podpis vedoucího diplomové práce

Téma diplomové práce	Purifikace a charakterizace membránově vázané reductasy z lidské jaterní tkáně
Jméno studenta, studentky	Vendula Pelcová
Obhajoba diplomové práce konaná dne	1.6.2006

III. Průběh obhajoby

Posluchačka pracovala na zavedení nové metody izolace a purifikace membránového enzymu. Projevila velký zájem o práci, školitel ocenil její a mimořádnou laboratorní zručnost při řešení problému, které bude použitelné i pro další membránově vázané proteiny.

Školitel velmi ocenil množství vložené práce a úsilí a výborné výsledky této průkopnické práce.

Oponentka vyjádřila uznání práce, dobrou úroveň předloženého testu, jazyk i stylistickou obratnost. Domnívá se, že rozsah práce i její významnost překračuje rámec dobré diplomové práce.

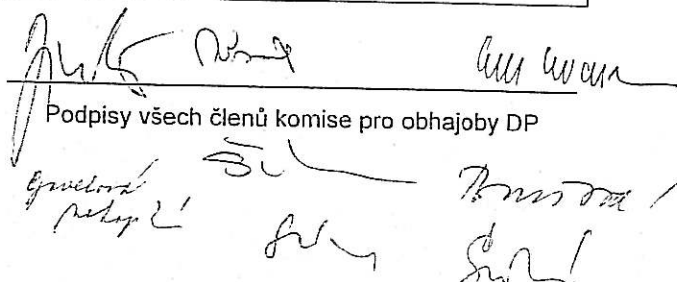
Dotazy a připomínky :

1. K metodice práce a jednotlivých krokům vč. modifikace pro vybraný enzym. Jak bude použitelný postup pro další membránově vázané proteiny?
2. Ke konečné charakterizaci Vámi připraveného enzymu je nutné učinit další kroky. Které?
3. Jak se hodnotí čistota purifikovaného enzymu?

Diplomantka odpovídala dobře, pohotově a projevila značnou znalost problému.

Klasifikace

V Hradci Králové dne 1.6.2006


Podpisy všech členů komise pro obhajoby DP