

Školitelský posudek na diplomovou práci Jany Michalové: **MEMBRÁNOVÝ PROTEIN CYTOCHROM P450 2B4 A JEHO INTERAKCE S OSTATNÍMI SLOŽKAMI JATERNÍHO MONOOXYGENASOVÉHO SYSTÉMU.**

Studentka Jana Michalová vypracovala svou diplomovou práci na dvou pracovištích: na katedře biochemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy, a v laboratoři studia molekulární struktury Mikrobiologického ústavu AVČR. Předkládaná diplomová práce se zabývá mapováním interakcí membránového proteinu cytochrom P-450 2B4 a jeho katalytických partnerů jaterního monooxygenasového systému králíka obecného.

Téma membránového monooxygenasového systému je přehledně zpracováno v úvodní kapitole spolu s metodikou hmotnostní spektrometrie a chemických modifikačních technik.

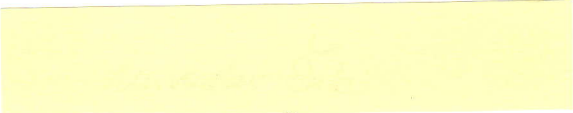
Další část je věnovaná použitým metodám. Pro přehlednost jsou metody izolace membránových proteinů cytochromu P-450 2B4, NADPH:P-450 oxidoreduktasy a cytochromu  $b_5$  uvedeny v kapitole výsledky. Již samotné množství použitých biochemických metod a metodických přístupů naznačuje čas věnovaný studentkou na vypracování předkládané diplomové práce. Následují vlastní výsledky optimalizace kompatibility proteinových preparátů a jejich enzymové aktivity spolu s podmínkami použitými pro chemické síťovací reakce. Důležitým krokem bylo nejen skloubení podmínek reakce s minimálním ovlivněním enzymové aktivity, ale i odstranění všech sloučenin použitých v průběhu celé izolace proteinů, které mohou interferovat při modifikační reakci (např. použité detergenty). Ze získaných výsledků je pro mne nejzajímavější naprosto klíčová přítomnost cytochromu  $b_5$  v rekonstituovaném systému pro tvorbu heterodimeru a kvantitativní i kvalitativní ovlivnění interakce přidavkem jednotlivých substrátů síťovaných enzymů. Zde bych chtěl poděkovat Doc. Marii Stiborové za radu a podnětnou diskusi, která pomohla k překonání krizového období a přispěla ke zjištění důležitosti cytochromu  $b_5$  a vzájemnému doplnění s výsledky metabolických studií získanými v její laboratoři.

Metody hmotnostní spektrometrie, které diplomantka využila pro identifikaci studovaných proteinů, vyžadují nejen velkou pečlivost, čistotu a standard laboratorní práce, ale kladou i vysoké nároky při obsluze použitých přístrojů a interpretaci získaných dat.

Diplomová práce je sepsaná přehledně, jasně a stručně. Diplomantka prokázala jak schopnost práce s literaturou, tak schopnost presentace získaných výsledků a jejich interpretaci. Zde bych mohl jen vytknout jistou počáteční nekoncentrovanost diplomantky při vlastním sepsování práce.

Podle mého názoru předkládaná práce Jany Michalové splňuje požadavky kladené na diplomovou práci na katedře biochemie, doporučuji ji k obhajobě a navrhuji její hodnocení stupněm výborně.

V Praze dne 14. září 2006

  
Dr. Miroslav Šulc  
katedra biochemie PřFUK