

Posudek diplomové práce
**Neutrální ribonukleázy *Solanum tuberosum* a
jejich vliv na normální a nádorové tkáně**

**Jiřina Mrázková, Katedra antropologie a genetiky člověka, PřF UK
v Praze, 2007**

Předložená práce obsahuje 87 stran a je formálně členěna do devíti hlavních kapitol. V úvodu autorka zařazuje téma práce v kontextu onkologického výzkumu, a zdůrazňuje výhody aplikace rostlinných RNAs před živočišnými. Teoretická část pak na 30 stranách přehledně a stručně seznamuje jak s mezinárodní klasifikací RNAs, tak i s kancerogenezí, vybranými typy nádorů a aplikovanými metodami.

Cílem studie byla tematicky rozsáhlá experimentální práce, která pokryla jak izolační přípravu vlastních enzymových preparátů a jejich charakterizaci, tak i stabilizaci a studium jejich účinku na *in vivo* modelu. Již samotnou semipreparativní izolaci senescentních RNAs brambor lze považovat za prioritní, jejich stabilizace PEG₅₀₀₀ pak je světovou prioritou včetně studia jejich tkáňové penetrace a farmakokinetiky. Čistota, bioaktivita a molekulová hmotnost nativních i modifikovaných RNAs byla sledována testy *in vitro* a SDS-PAGE, včetně selektivních substrátových barvení gelů. Pro vlastní sledování účinku na lidské nádorové buňky byl nativní preparát RNAs konjugován s PEG₅₀₀₀ značeným FITC. *In vivo* testování probíhalo na bezthymových myších se subkutánně transplantovaným prostatickým nebo pankreatickým tumorem. Fluorometricky byla kvantifikována distribuce v tělních tekutinách, v tkáních byl tento speciální fluoreskující konjugát sledován fluorescenční mikroskopií na kryomikrořezech.

Zde bych měla doporučení, aby zkratky jako např. FITC nebyly skloňovány (např. koncentrace FITCu) a s ohledem na tabulku fluorescenčních barviv mám dotaz na autorku práce, zda zná, které fluorochromy lze používat na tzv. simultánní fluorescenční barvení.

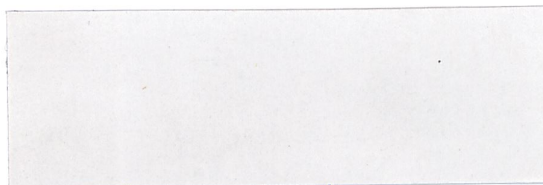
Práce je jasně a přesně formulována, nezabíhá do nadbytečných podrobností a je precizně zpracována. Graficky je na vysoké úrovni, všechna vyobrazení a tabulky jsou ostré a čitelné, u převzatých schémat jsou citovány zdroje. V záhlaví stránek je vždy uveden název kapitoly, což maximálně usnadňuje orientaci v jednotlivých oddílech. Seznam zkratek a použité literatury jsou pečlivě zpracovány. Práce obsahuje 72 literárních odkazů, které dostatečně dokládají, že se autorka dobře orientuje v daném oboru.

Studie je dobře formulována a diskutována, obsahuje průkazný materiál o tom, že byly splněny všechny cíle, které byly v úvodu předpokládány. Metodicky je práce dostatečně široká a náročná, zahrnuje rozsáhlou škálu experimentů potřebných jak pro izolaci a charakterizaci enzymových preparátů a jejich modifikaci, tak i ověření účinků na modelu *in vivo*.

Závěrem shrnuji:

Vzhledem k tomu, že práce studuje jako první ve světě dynamiku penetrace a klírens RNAs ze *Solanum tuberosum* na modelu transplantovaných lidských nádorů, považuji ji za velice přínosnou z hlediska obecných poznatků. Práce navíc využívá originální neradioaktivní

vizualizační metodu, je kvalitně a přehledně doložena, zpracována a diskutována. K jejímu vypracování nemám závažnějších připomínek a z těchto důvodů doporučuji přijetí této diplomové práce a její vysoce pozitivní hodnocení.



Doc.RNDr. Pavla Poučková, CSc.
Ústav biofyzika a informatiky I.LF UK v Praze

V Praze dne 17.9.2007

Doporučená klasifikace: výborně