



**ÚOCHB AV ČR**

ÚSTAV ORGANICKE CHEMIE A BIOCHEMIE  
AKADEMIE VĚD ČESKÉ REPUBLIKY  
INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY AND BIOCHEMISTRY  
ACADEMY OF SCIENCES OF THE CZECH REPUBLIC

### **Posudek oponenta na diplomovou práci Jany Trýznové Inhibice purinnukleosidfosforylasy acyklickými nukleosidfosfonáty**

Jana Trýznová se ve své diplomové práci zabývala purifikací purinnukleosidfosforylasy (PNP) z T-lymfoblastoidů CCRF-CEM a dalším využitím tohoto enzymu pro inhibiční studie.

PNP je významným chemoterapeutickým cílem, její inhibice se může uplatnit v léčbě leukémií T-buněčného typu a autoimunitních onemocnění. Vzhledem k tomu, že na ÚOCHB AV ČR byly připraveny nové potenciální inhibitory PNP, které bylo třeba charakterizovat, ujala se diplomantka tohoto úkolu.

Práce je sepsána přehledně, cíle jsou jasně stanoveny a experimenty jsou dobře dokumentovány.

Diplomantka zvládla celou řadu experimentálních metod od práce s tkáňovými kulturami, přes různé typy chromatografie až po enzymovou kinetiku. Některé nezbytné nástroje si připravovala sama, např. nosič na afinitní chromatografii nebo radioaktivně značené substráty PNP. Podařilo se jí získat dostatečné množství purifikované PNP, aby ji mohla využít pro studium inhibičních vlastností série patnácti nově připravených acyklických nukleosidfosfonátů. Jejich inhibiční účinky studovala nejen s purifikovanou PNP, ale pokusila se najít i způsob testování inhibitorů přímo na buněčné linii CCRF-CEM. Diplomantka ověřila, že monofosfáty některých acyklických analogů nukleotidů jsou skutečně účinnými inhibitory PNP.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

1. Práce je sepsána přehledným, leč velmi úsporným stylem. Domnívám se, že čtenář, který není osobně zapojen do studia metabolismu purinů a inhibice příslušných enzymů, by u popisu jednotlivých experimentů uvítal alespoň pár řádek vysvětlujícího komentáře navíc.
2. Diplomantce se podařilo zjistit, že podjednotky enzymu, který získala, jsou identické a určila jejich molekulovou hmotnost. Je škoda, že se nepokusila charakterizovat posttranslační modifikace získané PNP, ačkoli jejich existenci předpokládá.
3. Bylo by zajímavé uvést, jakým způsobem byl vybírán ligand pro afinitní chromatografii a jaká je jeho interakční konstanta s PNP.

Závěrem lze shrnout, že předkládaná diplomová práce se týká aktuálního tématu. Diplomantka si dokázala poradit jak s úskalími experimentální práce, tak s interpretací výsledků. Na základě těchto skutečností doporučuji diplomovou práci Jany Trýznové k dalšímu řízení.

V Praze 25.5.2006

RNDr. Olga Hrušková-Heidingsfeldová, CSc.

