

Posudek školitele bakalářské práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : Bc. Tomáš Ječmen

Název práce: **Mapování protein-proteinových interakcí systému cytochromu P450 metodami chemické modifikace a hmotnostní spektrometrie**

Hodnocení jednotlivých aspektů práce (ve standardní stupnici 1 až 4)

1. Samostatnost uchazeče/ky

Během zpracování zadaného tématu	1
Při sepisování práce	2

2. Komunikativnost, schopnost spolupráce

1

3. Zájem o práci a pracovní nasazení uchazeče/ky

1

Případný slovní komentář k bodům 1. až 3. :

Experimentální část práce je neuvěřitelně metodicky bohatá, použité metodiky vyžadují nejen velkou pečlivost, čistotu a standard laboratorní práce, ale kladou i vysoké nároky při obsluze použitých přístrojů a interpretaci získaných dat. Oceňuji, že uchazeč všechny experimenty úspěšně a s velkým nasazením zvládl.

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu ~~JE~~ / **NENÍ** (zakroužkujte) podmínkou přijetí práce

C. Celkový návrh

Práci doporučuji k přijetí k dalšímu řízení: **ANO** / ~~NE~~

Navrhovaná celková klasifikace

VÝBORNĚ

Datum vypracování posudku: v Praze dne 19. května 2010

Jméno a příjmení, podpis školitele (SIS) : RNDr. Miroslav Šulc, PhD.
katedra biochemie PřFUK

Školitelský posudek na diplomovou práci Tomáše Ječmena: Mapování protein-proteinových interakcí systému cytochromu P450 metodami chemické modifikace a hmotnostní spektrometrie

Student Tomáš Ječmen vypracoval 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 chemických a fotoafinitních 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 studentem na vypracování předkládané diplomové práce.

Následují vlastní výsledky optimalizace kompatibility proteinových preparátů a jejich vazebné aktivity spolu s podmínkami použitými pro fotoafinitní reakce. Důležitým krokem bylo nejen skloubení podmínek reakce s minimálním ovlivněním enzymové aktivity cytochromu P-450, ale i ovlivnění interakce přidávkem substrátu studovaného enzymu. Ze získaných výsledků je pro mne nejzajímavější a naprosto klíčové dokončení studia heterodimeru s cytochromem b_5 v rekonstituovaném systému s využitím chemických síťovacích reakcí. Zde bych chtěl poděkovat Prof. Marii Stiborové za rady a podnětné diskuse, které přispěly ke zjištění důležitosti cytochromu b_5 pro metabolickou aktivitu cytochromu P-450.

Metody hmotnostní spektrometrie, které diplomant využil pro identifikaci studovaných proteinů a kovalentních aduktů, 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. Diplomant prokázala jak schopnost práce s literaturou, tak schopnost prezentace získaných výsledků a jejich interpretaci. Zde bych chtěl zdůraznit, že experimentální část práce je neuvěřitelně metodicky bohatá a uchazeč ji úspěšně zvládl.

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

V Praze dne 19. května 2010

RNDr. Miroslav Šulc, PhD.
katedra biochemie PffUK