

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra biochemických věd

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Oponent/ka: **Mgr. Eva Novotná, Ph.D.**

Rok obhajoby: 2011

Autor/ka práce: Veronika Tobolová

Název práce:

**Klonování, exprese a purifikace lidské AKR1C2**

---

Rozsah práce: počet stran: 78, počet grafů: 0, počet obrázků: 24,

počet tabulek: 0, počet citací: 29

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: zcela splněn
- b) Jazyková a grafická úroveň: velmi dobrá
- c) Zpracování teoretické části: výborné
- d) Popis metod: výborný
- e) Prezentace výsledků: výborná
- f) Diskuse, závěry: výborné
- g) Teoretický či praktický přínos práce: výborný

Případné poznámky k hodnocení:

Předložená diplomová práce se zabývá klonováním, expresí a purifikací lidské AKR1C2. Práce je rozdělena na část teoretickou a experimentální. Samostatnou kapitolu tvoří výsledky a diskuse. V teoretické části jsou popsány enzymy patřící do AKR nadrodiny, jejich struktura a význam. Zvláště lze vyzdvihnout podrobné informace o významu lidské AKR1C2, které mohou sloužit jako inspirace pro další výzkum. Literární přehled zahrnuje také problematiku klonování s důrazem na techniky uplatněné ve vlastní praktické části a enzymy používané při manipulaci s DNA. Teoretická část je doplněna několika obrázky, které pomáhají k pochopení uvedených informací. Nechybí odkazy na literaturu, odkud byly tyto obrázky převzaty.

Experimentální část je organizována také přehledně. Podrobně jsou popsány jednotlivé postupy, které byly ke klonování použity, nechybí ani přehled médií a roztoků včetně jejich složení. Z metodické části, stejně jako z výsledků a diskuse lze poznat, že autorka se s jednotlivými metodami dobře seznámila a rozumí jejich principům. Veškeré výsledky jsou podloženy obrázky gelů a svědčí o značné pracovitosti. Celkový dojem z diplomové práce však zbytečně kazí větší množství překlepů, typografických chyb a nepřesných slovních obrátů. Diplomantka například nerozeznává rozdíly mezi 70% a 70 %, 594nm a 594 nm, není příliš úspěšná při používání pomlček, spojovníků a mezer.

Přínos této práce je však nepochybně velký a stanovený cíl práce byl zcela splněn. Práci doporučuji k obhajobě a navrhuji její hodnocení známkou výborně.

Dotazy a připomínky:

- 1) Při izolování enzymu zůstávala většina enzymu v peletě. Bylo by možné optimalizovat podmínky kultivace tak, abychom získali větší podíl enzymu v supernatantu?
- 2) Které další metody rozbití buněk byste doporučila k vyzkoušení, abychom zvýšili výtěžek enzymu?
- 3) Proč byly vzorky při purifikaci plazmidu pomocí Quiagen Plasmid Purification Kit po přidání P2 pufu inkubovány 5 minut při laboratorní teplotě s otevřeným víčkem?
- 4) Jakým způsobem byste pokračovala při dalším výzkumu AKR1C2?

**Celkové hodnocení: výborně, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci Králové dne 27.5. 2011

.....  
podpis oponentky / oponenta