

## Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : **Iveta Vranová**

Název práce:

**Mechanismus působení protinádorového léčiva ellipticinu v cílových tkáních jeho účinku**

**A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označte právě jednu z možností)**

<b>1. Rozsah DP a její členění</b>	
<input checked="" type="checkbox"/>	A - přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí
<input type="checkbox"/>	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
<input type="checkbox"/>	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
<input type="checkbox"/>	<b>N - nedostatečné</b>

<b>2. Odborná správnost</b>	
<input type="checkbox"/>	A - výborná, bez závažnějších připomínek
<input checked="" type="checkbox"/>	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
<input type="checkbox"/>	C - uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami
<input type="checkbox"/>	<b>N - nevyhovující, s hrubými chybami</b>

<b>3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů</b>	
<input type="checkbox"/>	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
<input checked="" type="checkbox"/>	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejm. v umístění odkazů, nebo s celkově nižším počtem citací
<input type="checkbox"/>	C - s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, přednášky, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat
<input type="checkbox"/>	<b>N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)</b>

<b>4. Jazyk práce</b>	
<input type="checkbox"/>	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
<input type="checkbox"/>	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
<input checked="" type="checkbox"/>	C - uspokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
<input type="checkbox"/>	<b>N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami</b>

<b>5. Formální a grafická úroveň práce</b>	
<input type="checkbox"/>	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
<input checked="" type="checkbox"/>	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
<input type="checkbox"/>	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo četnějšími drobnými chybami
<input type="checkbox"/>	<b>N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami</b>

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Z diplomové práce je patrné, že se autorka zhostila řešení zadané problematiky úspěšně. Autorka se seznámila s širokou škálou technik, které se při studiu metabolismu xenobiotik (v tomto případě ellipticinu) a jejich vlivu na modelové organismy používají. Po formální stránce je práce členěna obvyklým způsobem, vyhovujícím pracím obdobného charakteru.

Velmi nešťastné je ovšem autorčino nakládání se zkratkami. Na začátku práce je sice uveden seznam zkratk. Nicméně v práci se vyskytuje řada zkratk, které v seznamu uvedeny nejsou (např. PBS na str. 49, PVDF na str. 48, TAE na str. 55 atd.). Autorka zároveň často nerespektuje vysvětlení zkratky v případě prvního použití v textu (XRE na str. 15, HIF-1 na str. 23, RP-HPLC na str. 47 atd.). Navíc, jsou zavedeny zkratky, které pak již dále v textu využity nejsou (např. MPO, LPO a HRP na str. 34) a naopak některé zavedené zkratky na některých místech střídá s použitím plných výrazů (např. cytochrom P450 a CYP na str. 20, polycyklické aromatické uhlovodíky a PAH na str. 22 a 24, NADPH:cytochrom P450 reduktasa a CRP na str. 9, 12, 24 a 25).

Práce obsahuje poměrně velké množství překlepů, nejednoznačných formulací a nepřesností. To bohužel úroveň práce snižuje a komplikuje srozumitelnost pro čtenáře. Kdyby autorka věnovala práci v poslední fázi přípravy více času, jistě by to práci velmi pomohlo. Například chyba v sumární rovnici monooxygenasové reakce katalyzované MFO systémem na str. 12; „...zvýšení hladiny transkripce.“ str. 14; nečíslovaná tabulka na str. 40; „Agarosa byla rozpuštěna v mikrovlnné troubě...“ str. 51; nejednotnost koncovek –asa (většina enzymů) a –áza (str. 4); v kapitolách 1.1.4., 1.1.5. a 1.2.2. je dle mého názoru málo primárních literárních odkazů; nejednoznačný popis metody – složení pufru P1 str. 42; popis SDS-elektroforézy str. 47; přenos obarvených proteinů z PAGE gelu na membránu str. 48; nejasné ředění protilátek str. 49; nevedena nutnost aseptické práce str. 49 a 51; chybí koncentrace ampicilinu str. 51; chybí enzymová aktivita použitých enzymových preparátů str. 57 a 58; jen u stanovení aktivity reduktasy je uvedena práce v tripletech str. 45; str. 76 u údaje o koncentraci má být  $\mu\text{l}$  místo ml. V celé práci autorka používá desetinou čárku, jen v tabulce 2 (str. 59) a 3 (str. 80) používá desetinou tečku. Na str. 56 je uvedeno nepřesný vztah pro výpočet koncentrace plasmidové DNA. Čistota plastidové DNA je popisována poměrem absorbcí při 260 a 280 nm bez bližšího vysvětlení vztahu tohoto poměru s dalšími parametry (str. 71 a 77).

Dále shledávám problém s těmito obrázky: Na obrázku č. 21 je sledována exprese CYP1A2 a GAPDH v játrech potkanů za různých podmínek. V textu se popisuje s odvoláním na tento obrázek i exprese CYP1A2 v ledvinách a plicích, na obrázku tyto data však uvedeny nejsou. Na obrázku č. 40 na str. 77 jsou vzorky 2 a 3 popsány naopak. Na obrázku č. 36 na str. 74 chybí vzorek označený v textu jako P2 a naopak vzorek na obrázku označený jako P1 není v komentáři pod obrázkem popsán vůbec.

Další připomínku mám ke grafům na straně 69 (obr. 30) a na straně 70 (obr. 31). Na osách y jsou aktivita CYP3A (obr. 30) nebo aktivita NADPH:cytochromP450 reduktasy (obr. 31), nicméně mi chybí vztažení tohoto parametru na jednotkové množství proteinu v testovaných vzorcích, jak je tomu u dalších stanovení.

Na druhou stranu je třeba vyzdvihnout, že práce kvalitně zpracovává velmi zajímavou a aktuální problematiku působení ellipticinu v cílových tkáních jeho účinku. Práci celkově hodnotím kladně a doporučuji ji k obhajobě.

## B. Obhajoba

### Dotazy k obhajobě

1. V práci popisujete přípravu cytochromu P450 2S1 (str. 71 druhý odstavec): „Pro indukci exprese požadovaného genu bylo do kultivační směsi přidáno IPTG a kyselina delta-aminolevulová.“ Prosím vysvětlete, proč se do kultivačního média přidává kyselina delta-aminolevulová.
2. Na str. 16 v kapitole 1.4 se zaměřujete na cytochrom b5. Můžete vysvětlit, proč redukovaná forma cytochromu b5 na rozdíl od redukované formy cytochromů P450 neváže CO?
3. V kapitole „Cíl práce“ na str. 36 zmiňujete jako jeden z cílů práce připravit orfánový cytochrom P450 2S1. Prosím vysvětlete, co znamená pojem orfánový cytochrom P450?
4. Na obrázku č. 25 (str. 64) jste sledovala expresi cytochromu b5 pomocí imunodetekce a na obrázku č. 26 (str. 65) je specifický obsah cytochromu b5 stanovený spektrofotometricky ve stejných orgánech (játra, plíce, ledviny). Jak si vysvětlujete nesrovnatelnosti v těchto dvou přístupech? Imunodetekce zachytila jen velmi malé množství cytochromu b5 ve vzorcích ledvin (i když bylo použito vyšší výchozí množství vzorků vzhledem k vzorkům jater) a úplně selhala ve vzorcích plic. Na rozdíl od spektroskopického přístupu, který odhalil největší specifický obsah cytochromu b5 právě v plicích a naopak nejmenší v játrech.

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: **VELMI DOBŘE / VÝBORNĚ** (v závislosti na obhajobě)

Datum vypracování posudku: 4. září 2012

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): RNDr. Markéta Martínková, PhD.