

## Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : Petra Fousová

Název práce: Effect of selected food supplements on metabolism of food-born carcinogens

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

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

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

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

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

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

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

V práci je uvedeno 94 referencí, z nichž značná část je staršího data. V experimentální části jsou jiným formátováním uvedeny 2 reference (Hodek et al 1999 a Riddles 1983), které se v seznamu použité literatury nevyskytují. V práci se vyskytuje velké množství překlepů a gramatických chyb, objevují se i chyby faktické (např. v popisu obrázku 1 je uvedeno, že NADPH:CYP reduktáza je vázána na membránu hydrofilním koncem).

V popisu metody SDS-PAGE je uvedeno, že bylo nanášeno 20ul vzorku mikrosomů o koncentraci 2mg/ml naředěného 3:1, tedy 30ug. Oproti tomu v popisu obrázku 10 je uvedeno, že bylo nanášeno 18ug. Dále v popisu metody ELISA je špatně uveden postup (zaměněn roztok protilátek s peptidovým antigenem).

Při stanovování aktivity N-acetyltransferáz (NAT) byl použit jaterní cytosol z potkanů premedikovaných PhIP, jehož izolace ani původ nebyl popsán v rámci kapitoly materiál a metody. Stejně tak není uveden zdroj acetylkoenzymu A, který byl použit při stanovení aktivity.

Obrázek č. 10 (imunodetekce exprese cytochromu P450 1A1 metodou western blot) je upraven velmi nestandardně. Jsou vyřezány jednotlivé části membrány (samostatné vzorky), mezi nimi je mezera. Není jasné, jestli vše pochází z jedné membrány a je tedy porovnatelné či nikoliv. Dále je v textu uvedeno, že výsledek pro proximální část tenkého střeva byl ve dvou experimentech protichůdný. Jednou nebyl detekován žádný signál, podruhé ano. Vyplývá z toho, že experiment byl tedy opakován celkově dvakrát pokaždé s jiným výsledkem? Kromě toho není použita žádná kontrola o tom, že bylo všude nanášeno stejné množství proteinů a přenos na membránu byl úspěšný a rovnoměrný. Stejně tak u obrázku č. 16 (imunodetekce rekombinantních NAT pomocí připravených protilátek) není žádná kontrola množství nanášeného proteinu, ani není informace o množství nanášeného proteinu nikde uvedena. Na druhou stranu je v metodách uvedeno barvení SDS-PAGE pomocí Coomassie Brilliant Blue, které není použito ve výsledkové části.

## B. Obhajoba

### *Dotazy k obhajobě*

1. Jak byla provedena analýza aktivity cytochromu P450 1A1 (CYP1A1) a N-acetyltransferáz (NAT)? V popisu obrázku je uvedeno, že hodnota je průměr ze 3 nebo 2 měření. Není ale zřejmé zda-li se jedná o nezávislé experimenty nebo triplikát jednoho experimentu.
2. V kapitole 1.1.2 uvádíte, že aktivita N-acetyltransferáz u potkanů je vysoká, zatímco u lidí je střední. Má otázka tedy je, jak byla aktivita NAT porovnáвана a jestli může být rozdílná v různých tkáních organismu nebo v závislosti na post-translačních modifikacích.
3. Při měření aktivity NAT jste vycházela z předpokladu silné substrátové specifity jednotlivých NAT pro dané použité substráty. Zkoušela jste substráty zaměnit a vyzkoušet tedy specifitu těchto enzymů? V diskuzi uvádíte, že bude nutné navrhnout specifický inhibitor NAT pro zjištění specifity reakce. V současné době tedy neexistuje žádný více či méně specifický inhibitor NAT?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

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

## C. Celkový návrh

Navrhovaná celková klasifikace (~~výborně, velmi dobře, dobře, neprospěl~~)

Datum vypracování posudku: 1.9.2014

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): RNDr. Kamila Burdová