



Karel Bezouška, PhD.

Associate Professor of Biochemistry,

CHARLES UNIVERSITY, FACULTY OF SCIENCE

Department of Biochemistry

Hlavova 2030, 128 40 Praha 2

Czech Republic

Phone: (++420) 2 2195 1272 Fax: (++420) 2 4106-2383

E-mail: bezouska@biomed.cas.cz

Head, Laboratory of Protein Architecture, Institute of Microbiology,

Academy of Sciences of Czech Republic, Vídeňská 1083,

14220 Praha 4, Czech Republic

Posudek školitele na bakalářskou práci Georgie Christofi nazvanou „Fluorescence labeling of NK cell receptors for binding studies“

Bakalářská práce Georgie Christofi se zabývá aktuální problematikou optimalizace metod fluorescenčního značení proteinů, které nacházejí stále vzrůstající uplatnění v mnohých oblastech současného biomedicínského výzkumu. Proteiny studované v naší laboratoři, zejména rekombinantní rozpustné receptory přirozených zabíječských buněk a jiných leukocytů, byly pro potřeby vazebných testů až doposud značeny zejména pomocí radioaktivních značek, zejména isotopem jodu ^{125}I a síry ^{35}S . Radioaktivní značení vyhovuje dobře rutinnímu provozu výzkumné laboratoře, je citlivé, robustní, dobře funguje pro celou řadu proteinů, metoda detekce (kapalinová scintilace) má ohromný dynamický rozsah. S rozvojem současné proteomiky, zejména techniky proteinových a oligosacharidových čipů však vystupují na povrch některé nevýhody radioaktivního značení, zejména vysoká cena a omezená trvanlivost vlastních radionuklidů, stejně jako obtíže při současném měření několika proteinů v témže vzorku. Tento vývoj nás v poslední době vedl ke snaze vyvinout metody fluorescenčního značení námi zkoumaných receptorů, a bakalářská práce Georgie Christofi představovala v této souvislosti důležitou počáteční pilotní studii.

Do laboratoře docházela Georgia pravidelně, o projekt projevovala velký zájem, a pilně se snažila překonávat jednotlivá úskalí projektu. Protože se tradiční přístup založený na použití isothiokyanátem znečasných fluorescenčních sond pro značení isoform NKR-P1 receptoru neosvědčoval, navrhla postup jiný založený na N-hydroxysukcinimidové chemii. Tento postup již byl úspěšný, byly získány preparáty s vysokým stupněm modifikace vhodné pro použití ve vazebných testech. Preparáty jevíly vazebné charakteristiky identické neznačeným nebo radioaktivně značeným proteinům.

Při zpracování výsledků do předkládané bakalářské práce postupovala Georgia samostatně, i když poněkud přecenila své síly při tvorbě anglického textu. Nicméně po několika revizích se podařilo vytvořit práci, která je dobrým vyjádřením úspěšné experimentální práce kandidátky v naší laboratoři. Použité metody jsou popsány dostatečně podrobně, a umožňují případnou reprodukci prováděných experimentů. Práce přináší řadu zajímavých výsledků, které jsou v ní prezentovány přehlednou formou. Práce je uzavřená diskusí nastiňující perspektivu dalšího výzkumu. Určité rezervy se i ve finální verzi vyskytují při prezentaci výsledků, kdy by měl být uveden jejich poněkud podrobnější popis.

Přes uvedené nedostatky se domnívám, že předkládaná **bakalářská práce splňuje požadavky** kladené na bakalářské práce předkládané na katedře biochemie, a **doporučuji ji k obhajobě.**

Praha, 18.9.2006

Doc. RNDr. Karel Bezouška CSc.