

## Posudek školitele na průběh diplomové práce **Petry Jedkové** *Neutrální ribonukleasy *Triticum sp.* a jejich vliv na normální a nádorové tkáně*

Diplomová práce byla zpracována v letech 2005 – 2007 v laboratořích katedry antropologie a genetiky člověka PřF UK v Praze, jako dílčí část studie vlivu RNAs na lidské buňky, na níž participují pracoviště AV ČR v Liběchově a českých Budějovicích, UK v Praze a ÚHKKT.

Cílem práce byla izolace RNAsových isoenzymů senescentní pšenice, příprava jejich stabilizované formy a studium účinku po modelovém jednorázovém podání bezthymovým myším s transplantovanými lidskými nádorovými buňkami. Byly použity linie pankreatického karcinomu PA-TU-8902 a metastatická prostatická linie LNCAP. Pro *in vivo* studii byl připraven speciální konjugát s FITC kovalentně vázaným na farmaceuticky akceptovanou látku –PEG 5000. Tato originální metoda dovoluje neradioaktivní sledování distribuce konjugátu v hostiteli a nádorové tkáni. Diplomantka celou technologii, včetně homogenizace a tlakové dekantace senescentní suroviny, samostatně provedla. Bylo nutno provést dlouhou škálu kontrolních testů, neboť bylo potřeba některé kroky rozdělit do dílčích šarží, které se ve finalizačním stupni spojovaly dle ověřených aktivit a SDS-PAGE testů. Na krystalografickou analýzu další šarže těchto *de novo* izolovaných enzymů je připraveno italské pracoviště profesorky F.Sicca, na odd.medicínské biochemie University v Sienně.

Pro účely práce bylo potřeba zavést a rutinně zvládnout řadu technik, jejichž provádění bylo časově náročné a které, vzhledem k povaze práce s nativními preparáty, kladly vysoké nároky na časovou souslednost. Diplomantka zvládla výborně nejen teoretickou, ale i experimentální část práce, pracovala cílevědomě a vytrvale, zvládla celou škálu technik a experimentů, z nichž některé bylo nutno opakovat, což je průvodním jevem při zkoušení nového postupu na buněčné a molekulární úrovni. Velmi dobře zvládla i metodiky, které bylo nutno provádět mimo naše laboratoře (např. přípravu celé škály různých silných kryorežů a odběr materiálů v *in vivo* experimentu).

Jednotlivé kroky diplomové práce pravidelně konzultovala se školitelem a zvládala průběžně analyzovat etapy realizovaných experimentů. Výsledná diplomová práce je samostatnou autorskou prací, kterou nebylo potřeba výrazněji korigovat.

Závěrem chci podotknout, že v práci byla zvládnuta unikátní příprava rostlinné RNasy *de novo* a dále cesta pro neizotopové sledování dynamiky průniku a exkrece stabilizovaných forem enzymaticky účinných bioaktivních vektorů. Protože tato metodika byla ověřena jak pro kryomikroskopickou, tak i fluorocytochemickou techniku na tkáňové úrovni a dále i fluorospektrofotometrické hodnocení homogenizátů a tělních tekutin, položila práce vynikající aplikační základ pro další kinetické studie.

Z důvodu úspěšné práce autorky a pozitivních výstupů srovnatelných se špičkovými světovými pracovišti, je pokračování práce anotováno jako téma pro postgraduální studium.

V Praze dne 15. 9. 2007

RNDr. Jiří Skváb, CSc.  
vedoucí diplomové práce

Navazuje: *vj kornat*