



Mgr. Irena Selicharová, Dr.
Tel. +420 220 183 236
E-mail: selicharova@uochb.cas.cz

Posudek školitele na diplomovou práci

Jany Mládkové

Studium rozdílů v expresi proteinů vázajících glutathion v buněčných liniích nádorů prsu a v primárních kulturách prsních epitelových buněk

Jana Mládková vypracovávala svou diplomovou práci v Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR, skupina Dr. Jiráčka. Cílem práce bylo ověřit možnosti cílené prefrakcionace buněčných lysátů pro následnou proteomickou analýzu.

Proteomika je rychle se rozvíjející obor, který na rozdíl od klasických biochemických metod umožňuje současnou analýzu mnoha buněčných proteinů a skrývá potenciál odhalovat těžko předvídatelné souvislosti v rámci fyziologických stavů buňky. Analýza a interpretace proteomických dat je však nebývale složitá. Jednou z překážek získání využitelných poznatků z proteomického experimentu je koncentrační rozsah kvantit jednotlivých typů proteinů v buňce (stavební proteiny versus transkripční faktory). Spojení afinitní chromatografie s následnou analýzou získaných frakcí pomocí dvojrozměrné elektroforézy se jeví jako možný přístup k nabohacení méně abundančních proteinů a jejich následné proteomické analýze.

Jana ve své diplomové práci separovala proteiny z lysátů buněčných linií odvozených z nádorů prsu pomocí afinitní chromatografie na koloně glutathion (GSH) Sepharosy 4B a získané frakce analyzovala pomocí dvojrozměrné elektroforézy. Chromatografie na koloně GSH Sepharose 4B byla zvolena neboť GSH afinitní proteiny mohou hrát důležitou roli při karcinogenezi. Izolované GSH afinitní proteiny se podařilo identifikovat. Jana dále proměřila aktivity GSH transferázy a glyoxalázy 1 v buňkách odvozených z pacientek s nádory prsu a snažila se odhadnout souvislost mezi intenzitami odpovídajících spotů na dvojrozměrných gelech a specifickou aktivitou enzymů. Některé výsledky Janiny práce byly do značné míry překvapivé a ukázaly opodstatněnost zvoleného přístupu. Překvapením byly například velké rozdíly mezi jednotlivými buněčnými liniemi v obsahu GSH afinitních proteinů nebo izolace proteinů u kterých afinita ke GSH nebyla očekávána.

Jana pracovala samostatně, aktivně se podílela na řešení metodických problémů, které se během práce vyskytly. Výborně se zhostila nelehké interpretace získaných výsledků, která obnáší především pečlivé studium velkého množství literatury. Velmi oceňuji její samostatnost a pečlivost při sepisování práce.

Vzhledem k uvedeným skutečnostem doporučuji předkládanou diplomovou práci přijmout k obhajobě.

V Praze, 22.5.2009

Mgr. Irena Selicharová, Dr.