



V Praze dne 29. 9. 2014

**Oponentský posudek**  
**disertační práce Mgr. Michaely Rajčanové**  
„Peptidové inhibitory imobilizované na magnetické nosiče a Sepharosu aplikované na separaci žaludečních aspartátových proteinů“

Disertační práce **Mgr. Michaely Rajčanové** je zaměřena na přípravu nových typů ligandů, které by umožňovaly po imobilizaci separaci aspartátových proteinů. Pro studium vazebných vlastností pepsinů byly syntetizovány čtyři heptapeptidy obsahující D-leucinylový zbytek (Val-D-Leu-Pro-Phe-Phe-Val-D-Leu, Val-D-Leu-Pro-Tyr-Phe-Val-D-Leu, Val-D-Leu-Pro-Tyr-Tyr-Val-D-Leu a Val-D-Leu-Pro-Phe-Tyr-Val-D-Leu). Připravené heptapeptidy imobilizované na agarosové magnetické částice byly použity pro studium jejich interakcí s prasečím pepsinem A a potkaním pepsinem C. Konkrétním cílem bylo najít rychlou a účinnou metodu k separaci lidského pepsinu A a pepsinu C, která by byla využitelná k diagnóze raného stadia rakoviny žaludku.

Téma práce je aktuální. Vypracování metody, která by umožnila diagnostikovat včasné stadium rakoviny žaludku, považuji za velmi významné.

Použité metody jsou standardní, vysoce selektivní afinitní chromatografie je použita k tomuto účelu správně.

Autorka uvádí v disertaci dvě publikace jako podklad své disertační práce, obě vyšlé v impaktovaném časopise Journal of Separation Science (IF 2,7), kde prošly recensním řízením. Mgr. Rajčanová je u obou publikací prvním autorem. Práce tak splňuje požadavky kladené na disertační práce na 1. Lékařské fakultě, tj. „minimálně dvě původní práce vztahující se k tématu disertace, přijaté k publikaci v mezinárodně uznávaných vědeckých časopisech s definovaným souhrnným „impakt faktorem“ vyšším než 1,0. Alespoň u jedné publikace musí být student prvním autorem. Klasická disertační práce by měla mít nejméně 60 – 80 stran bez citované literatury a příloh“, což předkládaná práce rovněž splňuje.

Práce je dobře sepsána. Je logicky členěna, výsledky jsou správně interpretovány.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

Na str. 21 se uvádí metody používané ke stanovení PGA a PGC. Mohla by autorka srovnat svojí metodu s těmito metodami popsány v literatuře?

K určení poměru PGA/PGC je nutné znát jejich kvantitu. Určovala jste kvantitativní složení PGA a PGC?

Syntetizovala jste sama některé peptidy? Je obdivuhodné, kolik experimentů bylo provedeno s tak malým množstvím syntetizovaných peptidů.

Str. 35 – gradientová eluce byla detekována .... Nebyly detekovány peptidy?



Jaká byla stabilita připravených nosičů s ligandy?

Str. 41 – Kapacita nosičů: Nebylo by vhodnější vztahovat množství navázaného pepsinu na 1 g nosiče místo 1 ml nosiče (objem kolony)?

Str. 44, kapitola 2.10.1.2 je nejasná. Opakovatelnost čeho se měřila?

Str. 53: Proč byl použit při syntéze D-leucin?

Str. 54, poslední věta: Pokud by se peptidy lišily pouze polohou a umístěním (není to totéž?) L-fenylalaninu a L-tyrozinu v heptapeptidech, pak by se molekulové hmotnosti nelišily vůbec.

U obrázků 3.4, 3.5 a 3.6 by měly být uvedeny parametry přímek.

V práci se uvádí, že vyvinutá metoda je rychlá, levná a jednoduchá. Mohla by autorka uvést konkrétní hodnoty: dobu analýzy, cenu analýzy, a porovnat s HPLC.

Závěr:

Výsledky disertace představují významný příspěvek k separačním metodám pro klinický výzkum a mají reálné uplatnění v klinické praxi. Autorka prokázala dobré teoretické znalosti zkoumané problematiky a schopnost tvůrčí vědecké práce. Doporučuji, aby disertační práce Mgr. Michaely Rajčánové byla přijata k obhajobě a aby se stala základem pro udělení vědecké hodnosti Ph.D.

Prof. RNDr. Věra Pacáková, CSc.