



BIOLOGICKÉ CENTRUM AV ČR

Ústav molekulární biologie rostlin
Branišovská 31, 370 05 České Budějovice
IČ: 60077344 DIČ: CZ60077344

Doc. RNDr. František Vácha, PhD

Tel: +420-387 775 533 Fax: +420-385 310 356 E-mail: vacha@umbr.cas.cz

Oponentský posudek magisterské práce

Název práce: „Functional characterization of *in vitro* activity of the *Trypanosoma brucei* mitochondrial RNA binding MPR1/MPR2 complex & Structural differentiations of DNA adducts formed by enantiometric analogues of antitumor cisplatin“

Autor: Jana Kopečná

Předložená diplomová práce se skládá ze dvou samostatných tématických okruhů, které na sebe nikterak nenavazují. Sice to nebývá obvyklé, ale autorka jistě měla k takto zvolené formě presentace výsledků své důvody, z nichž některé vysvětluje v předmluvě. Lze však konstatovat, že na obhajobu magisterské práce by podle mého názoru stačila samostatně jakákoli z těchto dvou částí. První část je dokonce v příloze zpracovaná a představená jako manuskript odeslaný do tisku.

V první části studovala autorka interakci různých molekul RNA s komplexem MRP1/MRP2 a jeho biologickou aktivitu. Vedle toho se zabývala i predikcí sekundární struktury a stability RNA duplexů za účelem objasnění tvorby „self-annealing non-cognate“ hybridních RNA.

V druhé části se autorka zaměřila na studium účinku *S,S* stereoizomeru diaminohexanu cisplatinu na DNA. Výsledky by měly přispět k poznání charakteru vazby různých stereoizomerů cisplatinu na DNA.

Celá práce je napsána v anglickém jazyce. Počet chyb a překlepů je minimální (např. písmeno O místo číslice 0 str. 13,16; Fig. XY str. 22; dvě stejné citace Malina et al. v seznamu publikací str. 52) jazykově je práce na dobré úrovni.

Je zřejmé, že autorka úspěšně zvládla značné množství různých experimentálních technik a získala tak velké množství výsledků. Také musela nastudovat a prakticky použít mnoho teoretických poznatků z různých oborů. Během své práce získala i zkušenosti ze zahraničního pobytu v laboratoři na René Descartes University v Paříži.

Předložená práce odpovídá z hlediska odborného i formálního nárokům kladeným na magisterskou práci a proto ji doporučuji k přijetí.

V Českých Budějovicích dne 29. ledna 2007

Doc. RNDr. František Vácha, Ph.D.

Dotazy k disertační práci:

- 1) Vysvětlíte prosím jaký význam má MRP1/MRP2 komplex pokud se k němu může elektrostaticky vázat v podstatě jakákoli molekula RNA.
- 2) Co se myslí tím, že *S,S* izomer je mutagenější než *R,R* izomer Pt-diaminocyklohexanu a co by to znamenalo pro případné využití *S,S* izomeru jako léčiva.



Biofizikální ústav AV ČR
Královopolská 135
61265 Brno
Česká Republika

Doc. RNDr. Oldřich Vrána, CSc.
telefon: 420-5-41517135 (přímý); 420-5-41517111 (ústředna);
fax: 420-5-41240499 (přímý); e-mail: vrana@ibp.cz

Diplomant: Jana Kopečná

Název: Functional characterization of in vitro activity of Trypanosoma brucei mitochondrial RNA binding MRP1/MRP2 complex.
Structural differentiation of DNA adducts formed by enantiomeric analogues of antitumor cisplatin.

Diplomova práce Jany Kopečné je souborem dvou zcela nezávislých studií. První, rozsáhlejší část shrnuje výsledky, které autorky získala při charakterizaci MRP1/MRP2 komplexu. během svého působení v domovské „Laboratoři strukturální biologie“ na Jihočeské univerzitě. Domnívám se, že samotná tato část by zcela postačovala jako podklad k diplomové práci. Druhá část diplomové práce se zabývá NMR analýzou Pt-DNA aduktů, které byly připraveny modifikací jednořetězového oligonukleotidu oxaliplatinou. Tato část práce se opírá o výsledky, které autorka získala během svého pobytu v laboratoři dr. Jiřího Kozelky v Paříži (Université René Descartes).

Po formální stránce jsou obě části zpracovány velmi profesionálně, jednotlivé kapitoly, tj. Úvod, Materiál a metody, Výsledky a diskuse jsou jasné a srozumitelné, jazyková úroveň zpracování je také velmi dobrá. Kvalita obrázků a schémat je více než uspokojivá. Jediný drobný nedostatek jsem našel pouze při citaci literatury (str. 52, práce Malina a spol. je citována dvakrát a ani v jednom případě ne zcela správně, Appendix lit. 39 je také asi uvedena nesprávně). Obrázek 7 na stránce 42: u presentovaného chromatogramu by bylo vhodné uvést osy.

Nadprůměrnou kvalitu diplomové práce, zejména její první části dokládá také fakt, že výsledky, která Jana Kopečná získala jsou součástí práce, která byla odeslána do časopisu : Molecular and Cellular Biology.

K práci mám tedy pouze tyto dotazy:

V práci autorka zmiňuje, že při studiu vazebné afinity použila jak PACE techniku, tak také PAGE elektroforézu za nativních podmínek (str. 20-22). První ze zmíněných technik však byla použita pouze v omezeném rozsahu. Některé důvody jsou krátce shrnuty na str.21, ale rád bych, kdyby se porovnání těchto dvou technik věnovala diplomantka poněkud více během své obhajoby.

O co se opírá tvrzení „.....difficult interpretation of these bands leading in high error in dissociation constant determinatio....“? (str. 21).

K druhé části práce, která je zjevně pouhým vykročením do oblasti studia protinádorového mechanismu platinových cytostatik bych měl pouze následující dotazy:

Měli jste nějaký speciální důvod pro purifikaci Pt-DNA aduktů na reverzní fázi? Bylo by pořadí chromatografických signálů stejné kdyby byla použita kolona s iontově výměnnou náplní?

Byly stejné strukturní studie provedené na systému Pt(SS-DACH)-ssDNA?

Závěr: Z předložené diplomové práce je zřejmé, že její cíle byly diplomantkou nepochybně splněny. Konstatuji tedy, že práce Jany Kopečné splňuje požadavky kladené na diplomovou práci a proto ji

doporučuji k obhajobě a po úspěšném obhájení doporučuji hodnotit známkou výborně.

V Brně, 29.1. 2007

doc. RNDr. Oldřich Vrána, CSc.