

Diplomová práce: **Stanovení biotransformační kapacity buněk**

Autor: Bc. Martina Z e m i n o v á

Vedoucí diplomové práce: doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.

Konzultant diplomové práce: doc. Ing. Petr Česla, Ph.D.; Ing. Nikola Vaňková

Biotransformační kapacita buněk zodpovídá za schopnost metabolizace exogenních látek. U *in vitro* testů toxicity právě tato aktivita rozhoduje, zda mohou být dané typy buněk využity k testování dané látky, či nikoliv. Vzhledem k tomu, že se na biotransformaci xenobiotik podílí celá řada enzymů a enzymových systémů, je nutné pro přesnou charakterizaci odlišit stanovení aktivity jednotlivých typů a podtypů. Mezi pro metabolismus xenobiotik nejdůležitější enzymové systémy patří cytochrom P450. A právě stanovení aktivity jednoho z jeho izoenzymů bylo náplní předložené diplomové práce.

Plánovaným cílem diplomové práce tedy bylo zavést metodu, či metody, ke sledování aktivity daného izoenzymu CYP. Nakonec byl po studiu literatury vybrán izoenzym CYP 1A2. Studentka Bc. Martina Zeminová nejprve zkomponovala údaje z literatury zabývající se možnými metodickými přístupy ke stanovení aktivity. Následně vybrané metody zaváděla a optimalizovala. Jednalo se o metody spektrální (spektrofluorimetrické/ spektrofotometrické) a separační (HPLC/UV, LC/MS). Po optimalizaci metod studentka optimalizovala také preanalytickou fázi přípravy vzorků, kdy konečným cílem bylo stanovit aktivity CYP 1A2 v intaktních buňkách minimálně třech buněčných linií.

Jak bylo uvedeno, studentka se během řešení diplomové práce seznámila s širokou škálou bioanalytických metod, stejně jako se základní preanalytickou prací s buňkami kultivovanými *in vitro*. S ohledem na to je patrné, že její diplomová práce je komplexního charakteru a konečným výsledkem byla charakterizace aktivity CYP 1A2 v buňkách ledvinného, jaterního a plicního původu. Při řešení diplomové práce diplomantka pracovala velmi samostatně, aktivně a je nutné vyzdvihnout samostatné zvládnutí všech používaných metod. I přes drobné problémy s dodržováním předem daných lhůt je nutné vyzdvihnout schopnost studentky při organizaci pokusů odehrávajících se na různých pracovištích FCHT. Diplomová práce je členěna dle klasického schématu, rozsah je dle mého názoru zcela dostatečný, text je sepsán přehledně a je přiměřeně doplněn obrázky, grafy, tabulkami a citacemi.

Diplomová práce Bc. Martiny Zeminové zcela splňuje všechny původně kladené cíle, celkově ji považuji za velmi zdařilou a **doporučuji ji k obhajobě.**

Mé celkové závěrečné hodnocení diplomové práce je: **výborně-M**

V Pardubicích 23.5.2017


doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.