

*Diplomová práce:* **Stanovení glutathion-S-transferasy v lyzátech hepatocytů**

*Autor:* Bc. Veronika Mrkvová

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

Glutathion-S-transferasy jsou velmi důležité enzymy, které se účastní detoxikace potenciálně škodlivých látek, stejně jako metabolismu látek endogenních. Hlavním mechanismem, kterým jsou tyto reakce zajištěny, je konjugace s glutathionem, t.j. hlavním intracelulárním nebílkovinným thiolem. S ohledem na širokou škálu rolí, jež tyto enzymy v buňkách hrají, je pro popis detoxikačního aparátu zcela zásadní znalost aktivity glutathion-S-transferas, resp. možnost její modulace.

Jedním z hlavních cílů této práce bylo zavedení metody pro stanovení aktivity glutathion-S-transferasy (GST), a to nejprve u purifikovaného enzymu, kdy se studentka zaměřila na sledování vlivu teploty, koncentrace substrátů reakce a složení pufrů na vlastní detekovanou aktivitu GST. Po optimalizaci podmínek detekce bylo stanovení následně využito při sledování enzymové aktivity v biologických vzorcích, kterými byly lyzáty potkaních hepatocytů. Jako poslední úkol studentka řešila určení optimálních koncentrací vhodného GST inhibitoru, jímž byla zvolena kyselina ethakrinová.

V průběhu řešení diplomové práce se diplomantka detailně seznámila s optimalizací enzymatické spektrofotometrické metody. Stejně tak si i osvojila základní návyky při práci s biologickým materiálem – jeho zpracováním, uchováváním a preanalytickou přípravou. Po získání těchto praktických dovedností Bc. Veronika Mrkvová pracovala zcela samostatně, pečlivě a stejně tak je nutné vyzdvihnout i aktivní přístup k plánování vlastních experimentů. Výsledky, kterých bylo dosaženo (zvláště ty týkající se inhibice GST *in vitro*), jsou velmi zajímavé a budou využity pro další experimenty s tkáňovými kulturami, kdy bude aktivita GST cíleně inhibována a tím i bude u hepatocytů snížena schopnost detoxikace.

Rozsah předložené práce je dostatečný, přehledně sepsaný text je vhodně doplněn obrázky, grafy, tabulkami a citacemi, které autorka čerpala v převážné míře ze zahraničních recenzovaných periodik. Práce je rozčleněna dle klasického schématu.

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

Závěrečné hodnocení: **výborně**

V Pardubicích 20.5.2010

  
RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.