

POSUDEK VEDOUCÍHO DIPLOMOVÉ PRÁCE

Název práce: **Elektrochemické stanovení kinetických parametrů solubilní a imobilizované proteinkinázy A**

Autor práce: **Bc. Kristina Malíková**

Vedoucí práce: **Doc. RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.**

Konzultant diplomové práce: **Doc. Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.**

Diplomová práce studentky **Kristiny Malíkové** je zaměřena na elektrochemické stanovení aktivity proteinkinázy A (PKA) a kinetických parametrů imobilizované PKA. Práce navazovala na předešlou diplomovou práci, ale bylo nutné optimalizovat některé další parametry elektrochemické detekce. V rámci práce byly také testovány jiné elektrody a modifikován postup stanovení aktivity. Jako standardní metoda byla použita zavedená metoda MALDI TOF/MS pro ověření účinnosti imobilizace enzymu a fosforylace substrátu za modifikovaných podmínek.

Diplomová práce je obvyklým způsobem členěna na teoretickou a experimentální část, na kterou navazuje část výsledková a diskusní. Celkový rozsah práce je 78 stran, je doplněna 17 obrázky a 8 tabulkami. Pro zpracování teoretické části použila studentka 69 zdrojů, které jsou citovány v souladu s citační normou a jedná se o vědecké práce.

V průběhu experimentální práce si studentka osvojila všechny metody, které byly nezbytné pro dosažení vytyčených cílů. Analýzu MALDI TOF/MS sama neprováděla, obdržela naměřená data a byla seznámena se způsobem jejich vyhodnocení. Již v průběhu experimentální práce byla patrná určitá nejistota studentky, ať již v případě rozvržení práce, tak i s vyhodnocením výsledků. Sama nepřicházela s návrhy další experimentů dle dosažených výsledků.

Sepisování vlastní práce bylo problematické. Studentka práci sepisovala ve značné časové tísní, bohužel zřejmě neodhadla, jaký čas sepsání práce zabere. Teoretickou část studentka nezvládla sepsat s dostatečným předstihem, první část (necelých 5 stran) jsem obdržela v polovině března, po opakovaném upozornění v polovině dubna přibližně 10 stran. První verzi obsahující teoretickou část (nekompletní), experimentální část a část výsledků k první kontrole jsem obdržela 2. 5., tedy 8 dní před termínem odevzdání. To vše se výrazně podepsalo na kvalitě výsledné práce, co se týká jejího vlastního zpracování. S ohledem na velké množství oprav, které práce vyžadovala, rozhodně nebylo možné práci zpracovat tak, aby měla dobrou kvalitu.

Teoretická část mohla být zpracována lépe, v textu jsou obtížně pochopitelné pasáže, což vzniklo zřejmě překladem z anglického textu, a nezbyl čas na úpravu vyjádření vedoucí k lepší srozumitelnosti. Experimentální část obsahuje všechny postupy metod, které studentka využívala. K této části nemám výhrady. Ve výsledkové části jsou dosažené výsledky

komentovány velice stručně a nedostatečně diskutovány, některé připomínky nebyly do finální verze zapracovány. Vzhledem k časové tísni už však nebyla možná další korekce ze strany vedoucí práce a s ohledem na množství připomínek se studentka nevyvarovala chyb. Přestože kinetické parametry imobilizované PKA se nepodařily stanovit, dosažené výsledky naznačují, že změnou uspořádání systému a jeho úpravou by tato metoda mohla být použitelná.

Závěrem bych ráda uvedla, že experimenty související s tématem, které studentka řešila, jsou náročné, vyžadují pečlivost a preciznost, a kterýkoliv z dílčích kroků může ovlivnit výsledek. Z tohoto pohledu studentka zvládla zadané úkoly a splnila tak zadání práce. S ohledem na množství provedených experimentů, čas strávený v laboratoři a také s ohledem na dosavadní studijní výsledky studentky práci doporučuji k obhajobě, nicméně vzhledem k mým výše uvedeným zásadním výhradám a okolnostem zpracování ji hodnotím známkou E.

V Pardubicích 24. 5. 2024

Doc. RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.