

Téma diplomové práce	DNA vázající proteiny gramnegativní bakterie Francisella tularensis
Jméno studenta, studentky	Alena Fučíková
Jméno oponenta	Mgr. Martin Hubálek

II. Posudek oponenta

Předložená diplomová práce studentky Aleny Fučíkové je vědeckou prací s cílem analyzovat bakteriální DNA vázající proteiny, které by mohly mít vliv na míru virulence bakterie *Francisella tularensis*. Na začátku práce si studentka vytyčila 6 dílčích cílů, které odpovídají struktuře běžné vědecké práce, tedy od literární rešerše až po zhodnocení výsledků v kontextu současného poznání v daném oboru. Po přečtení práce mohu napsat, že diplomová práce zcela dostatečně splnila požadavky, které jsou na řešení a sepsání takové práce kladeny.

Po formální stránce text diplomové práce splňuje požadavky gramatické i slohové. Nevyskytují se žádné chyby v členění, uspořádání ani formální úpravě textu. Vyjadřovací kultura studentky je dobrá, studentka nepoužívá cizojazyčné výrazy v jiných případech než je z hlediska srozumitelnosti nezbytně nutné.

Celkem 62 stran textu je členěno do 9 kapitol podle standardního postupu od úvodu, přes teoretickou a experimentální část, až po výsledky, diskuzi, závěr, souhrn v českém a anglickém jazyce a použitou literaturu. V teoretické části je na 20 stranách stručně a výstižně popsán současný stav vědomostí a metodologie, který se úzce vztahuje k použitým technikám v experimentální části. Celá kapitola je čtivá a vyvážená. Kladně hodnotím, že se studentka vyvarovala rozepisování určitých částí na úkor srozumitelnosti a přehlednosti. Je téměř obtížné nalézt nějaké, byť drobné chyby. Vyskytuje se pouze pár překlepů typu vynechaná předložka "o" na straně 16 nebo několik nepřesných vyjádření. Např. na straně 20 není jasné, zda zkratka MS v daném kontextu znamená obecně hmotnostní spektrometrii nebo měření v MS módu. Dále je na straně 24 uveden výraz "protože rozdíl hmot susedících iontů se rovná molekulové hmotnosti určité aminokyseliny". Bylo by třeba tento obrat pro věcnou správnost doplnit o výraz "rozdíl hmot susedních iontů v jedné fragmentační sérii". Kuriózně pak působí výraz "balík surových dat" na straně 25, který bych doporučil nahradit výrazem méně vulgárním.

V experimentální části jsou seřazeny přehledně informace o použitých materiálech, chemikáliích a softwarech před částí popisující postup experimentální práce - opět bez závažných chyb. V kapitole popisující složení roztoků chybí v případě DAB pufru objem rozpouštědla, do kterého se daný roztok připravuje. V kapitolách o přípravě vzorků a následné izolaci, studentka použila trochu jiné označení kapitol v závislosti na experimentálním uspořádání metod A, B a C. Pro větší čtenářskou přehlednost, bych doporučil doplnit tuto část například o shrnující tabulku, kde bude čtenáři jasné, jaké postupy se v daném kroku pro daný vzorek použily. Při vysvětlení postupu použití ultrafiltrů Centricon na straně 32, bych přes informaci, že bylo postupováno dle návodu výrobce, uvítal zmínku o tom, jaký pufr byl použit pro promývání vzorku. Od kapitoly 3.6. do kapitoly 3.8. přešla studentka do trpného rodu, k čemuž není z mého pohledu důvod.

Téma diplomové práce

**DNA vázající proteiny gramnegativní bakterie
Francisella tularensis**

Jméno studenta, studentky

Alena Fučíková

Jméno oponenta

Mgr. Martin Hubálek

II. Posudek oponenta

V kapitole Výsledky jsou prezentovány především proteiny, které byly použitým postupem identifikovány, a které podle dostupných informací interagují s molekulou DNA. Vyzdvihl bych fakt, že studentka dokázala velké množství identifikovaných proteinů rozřadit a čtenáři nabídnout pouze DNA vázající proteiny. Postrádám ovšem konkrétní informaci, podle jakých kritérií bylo 133 proteinů s možnou vazbou na nukleové kyseliny vybráno. Doporučil bych drobnou úpravu grafiky tabulky, kde bych uvítal jemnější řádkování a drobnější font, čímž by bylo docíleno větší přehlednosti. Uznávám ovšem, že je to otázka osobního názoru.

V kapitole Diskuse studentka komentuje vybrané proteiny podle jejich vztahu k virulenci a podle pravděpodobnosti výskytu motivu Helix-turn-helix. Zde bych snad vytkl přílišnou heslovitost, která čtenáři nabízí zkratkovitý pohled na danou problematiku a nenabízí příliš možností zamyslet se nad souvislostmi.

V závěru se pak čtenář dovídá, že studentka si je vědoma limitací použité metodiky, která poskytuje velké množství dat o proteinech, které nemusí být specifické a že je tedy nutné přistupovat k datům s opatrností. Dále studentka správně navrhuje jakým způsobem upravit experimentální postup pro získání přesnějších informací. Z vědeckého pohledu by rozhodně stálo za to navržený postup vyzkoušet a zjistit zda-li jsou její předpoklady správné.

Celkově lze shrnout, že diplomová práce je podařeným vědeckým dílem studentky, která zdárně pronikla do zkoumané problematiky a svým přístupem dokázala, že je schopna samostatné vědecké práce

Dotazy oponenta:

Kolik proteinů z celkových 850 je shodně identifikovaných použitím ss-DNA a ds-DNA?


Existuje nějaký alternativní postup, který by vedl k izolaci a identifikaci prokaryotických DNA vázajících proteinů?

Navrhovaná klasifikace

výborně

V Hradci Králové dne

28.5.2007


Podpis oponenta diplomové práce

Závěrem bych chtěl říci, že uvedené poznámky a dotazy nijak nesnižují kvalitu předložené práce, kterou hodnotím kladně. Tato práce shrnuje první kroky ve vývoji celkové koncepce identifikace a kvantifikace jednotlivých amfetaminů. Získané poznatky budou využity k zavedení LC-MS v rámci klinické a forenzní toxikologické praxe ÚKBD FN v Hradci Králové. Práce Lenky Haklové vyhovuje požadavkům kladeným na bakalářskou práci, a proto ji doporučuji přijmout k obhajobě.

Navrhovaná klasifikace **v ý b o r n ě**

V Hradci Králové dne 28.5.2007



Podpis oponenta bakalářské práce