

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci RNDr. Denisy Petráčkové
„Využití gelově-založených proteomových technik při analýze genové exprese
u prokaryontních a eukaryontních modelů“

Oponent: RNDr. Jan Nešvera, CSc., Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.

Doktorská disertační práce RNDr. Denisy Petráčkové se zabývá využitím gelově-separačních proteomových metod pro řešení různých vědeckých projektů. Konkrétně se jedná o analýzu membránového proteomu bakterie *Bacillus subtilis* vystavené pH stresu, o sledování změn v celkovém proteomu bakterie *Escherichia coli* rezistentní k erytromycinu v průběhu kultivace za přítomnosti subletálních koncentrací tohoto antibiotika a o detekci specifických proteinů v kostní plazmě dětí s diagnostikovanou akutní lymfoblastickou leukémií. Kromě potvrzení významu použitých metod pro získání teoretických poznatků (membránový proteom u bacilů) ukazuje předložená práce i cesty pro potenciální praktické využití poznatků získaných těmito přístupy (poznání mechanismů rezistence bakterií k antibiotikům, vyhledávání markerů pro včasnou diagnózu akutní lymfoblastické leukémie).

Úspěšné zvládnutí gelově-separačních proteomových metod a jejich modifikace navržené pro řešení konkrétních problémů umožnily autorce získat prioritní výsledky. Dokumentovaný objem výsledků i jejich zpracování a interpretace svědčí o péči autorky a o jejích schopnostech pro vědeckou práci.

Vlastní disertační práce je svým obsahem, rozsahem (133 stran, 36 obrázků a grafů, 8 tabulek) i formou srovnatelná s obvyklým standardem disertačních prací. Rozsáhlý Literární přehled svědčí o dobré teoretické připravenosti autorky, stejně jako seznam citované literatury. Z oddílu Materiál a metody je patrná metodická náročnost předložené práce. Výsledky, rozdělené do tří částí podle řešené problematiky, jsou zpracovány velmi přehledně a jsou vhodně dokumentovány řadou obrázků a tabulek. Bohatá diskuse podrobně rozebírá získané výsledky a svědčí o interpretačních schopnostech autorky. Rozdělení diskuse na podkapitoly vztahující se k jednotlivým částem Výsledků a na shrnující podkapitulu velmi pomáhá čtenáři k pochopení podstaty disertační práce. Celá práce je logicky uspořádaná a velmi čtivá.

K práci mám následující dotazy a připomínky:

1. V textu na str. 64 jsou uvedeny délky lag fáze jednotlivých kultur. Uvedené lag fáze nejsou ovšem znázorněny na Obr. 9. Znamená to, že čas 0 na Obr. 9 neodpovídá počátku kultivace, ale počátku exponenciální fáze růstu kultur ?
2. Během kultivace s erytromycinem vznikly vysoce rezistentní kmeny *E. coli* (Obr. 17). Byly tyto kmeny izolovány a počítá se do budoucna s jejich analýzou ?
3. Jak lze vysvětlit, že v tabulkách 4 a 5 je pro některou skvrnu (např. SSP 2107, 4105, 8403) uvedeno několik proteinů a naopak jeden protein je přiřazen k různým skvrnám (např. laktosový represor k SSP 7306, 8306, 8403) ?
4. Na Obr. 30 je jako unikátní v I. sérii kontroly uveden protein 3108, zatímco v příslušném textu (str. 96) protein SSP 3113, unikátní protein v II. sérii kontroly je pak zmíněn pouze v textu a není znázorněn na příslušném obrázku. V textu zmíněných 7 proteinů se 4x vyšší koncentrací ve II. sérii nemocných není v příslušném obrázku pravděpodobně znázorněno správně.
5. Na Obr. 31 jsou uvedeny 4 proteiny identifikované jen u kontroly, zatímco podle výsledků uvedených v příslušné Tab. 7 u nemocných chybí pouze 3 z nich.
6. Z drobných nepřesností a neobratností uvádím např. formulace „Nevýhodou bylo velké množství výsledných dat“ v Abstraktu, „v či mezi buňkami“ (str. 25, 3. ř.), „plasmatických membránových proteinů“ (str. 25, 8. ř.) nebo „bicinchroninic acid“ (str. 51).

Uvedené připomínky nijak nesnižují vysokou odbornou úroveň předložené doktorské disertační práce, která jasně prokazuje schopnost autorky samostatně vědecky pracovat a interpretovat získané výsledky. Proto doporučuji přijmout práci k obhajobě.

V Praze, 9. 11. 2011

RNDr. Jan Nešvera, CSc.