

# Posudek oponenta

## disertační práce

**Mgr. Klára Konečná**

.....  
(hodnost, titul, jméno a příjmení studenta)

Název disertační práce: **Proteomová analýza secernovaných proteinů *Francisella tularensis***

Vypracoval oponent: **doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.**

Univerzita Pardubice, FCHT, katedra biologických a biochemických věd

Pokyny pro zpracování posudku oponenta (Studijní a zkušební řád DSP čl.15 odst. 8):

- a) zhodnocení jak DP splnila stanovený cíl,
- b) vyjádření k postupu řešení problému a k výsledkům DP s uvedením konkrétního přínosu studenta,
- c) vyjádření k významu pro rozvoj vědního oboru nebo pro praxi,
- d) vyjádření k formální úpravě DP a jazykové úrovni,
- e) vyjádření k publikacím studenta DSP

**“Proteomová analýza secernovaných proteinů *Francisella tularensis*“**

Předložená práce se zabývá identifikací a analýzou proteinů kultivačních filtrátů bakterie *Fr. tularensis*, konkrétně tří kmenů LVS, FSC200 a SchuS4. Autorka se zaměřila hlavně na analýzu proteinů, které by mohly pomoci s objasněním molekulárních mechanismů patogeneze onemocnění vyvolané touto intracelulární bakterií. Práce si všímá i mechanismu bakteriální sekrece zprostředkované membránovými vesikly.

Teoretická část obsahuje 11 kapitol a podává rozsáhlý a aktuální přehled o dané problematice. Je zde citováno celkem 260 prací! Dizertantka popisuje základní charakteristiku všech druhů a poddruhů patogenní bakterie *Fr. tularensis* a charakterizuje reakci imunitního systému na invazi tohoto vysoce nebezpečného patogenu. Velký prostor věnovala autorka také faktorům virulence bakterie a sekrečním systémům G- bakterií. Tato část je zpracována detailně a z textu jasně vyplývá, že dizertantka má rozsáhlé teoretické i praktické znalosti. Snaha o velký detail (vsuvky, závorky, vysvětlivky) však v některých kapitolách ubírá na přehlednosti a edukativním charakteru textu. Částečně to také souvisí s nedostatky ve formální a grafické úpravě textu, které zmíním později.

Z experimentální části vyplývá, že autorka zvládla velké množství různých technik od kultivačních přes biochemické metody separace a analýzy proteinů až po instrumentálně náročnou metodu hmotnostní spektrometrie spolu se softwarovým vyhodnocením naměřených spekter a jejich zpracováním v kontextu dostupných databází. Některé z laboratorních postupů týkajících se kultivace a analýzy sekretovaných proteinů nebo postup izolace vesikul vnější membrány autorka na pracovišti sama zaváděla a validovala. Autorka prokázala schopnost dobře se orientovat v řešené problematice, aktivně se zapojit a úspěšně řešit dílčí kroky výzkumu.

Práce má však nedostatky po formální stránce, což v celkovém dojmu a hodnocení ubírá dizertační práci na kvalitě. Pečlivější zpracování textu a důsledná jazyková kontrola včetně opravy gramatických chyb by práci významně prospěla. Je mojí povinností na tyto nedostatky upozornit. Jedná se o:

1. Nejednotné psaní slov obsahujících *óza* x *osa*.
2. Zajímavé, ale nevhodné odborné termíny typu „životní styl bakterie“, „sekreční mašinerie“, „rekrutovat makrofágy“, „makromolekulární mašinerie“, „nanáška“ a další.
3. Gramatické chyby v textu – skloňování (např. „ bez patogena“, „dlouhé tenké vlákna“), chybějící nebo nadbytečné čárky v souvětích, špatné psaní *y* x *i* (např. „kaspázi“).

Také ne úplně standardní formy zápisu a nedostatečná grafická úprava textu snižují přehlednost a čtivost práce. Konkrétně se jedná o dlouhé nadpisy kapitol, názvy obrázků s plným uvedením literárního zdroje a současně s jeho odkazem na seznam literatury, rozložení tabulek do 2 – 3 stránek, ačkoliv by pro větší přehlednost stačila pouhá úprava řádkování, odkazy na tabulky a obrázky, číslování obrázků není podle normy, názvy obrázků i legendy splývají s textem.

V experimentální části jsou nepřesnosti a nadbytečné údaje, které výrazně zhoršují orientaci v textu a jeho výstižnost. Jsou to anglické názvy chemikálií a reagensů v českém textu, nadbytečný popis základních laboratorních úkonů (např. sestavení aparatury, příprava a sušení gelu, navažování základních chemikálií), dvojjazyčný zápis chemikálií (str. 96 - 97), uvádění katalogových čísel chemikálií apod.

Je opravdu velká škoda, že dizertantka nevěnovala formální a grafické úpravě textu dostatečnou pozornost. Nesmíme zapomínat, že i schopnost přehledně zpracovat odborný text, bezchybně zaznamenat a vyhodnotit výsledky vědeckého bádání jsou nedílnou součástí vědecké práce.

V rámci diskuze bych ráda slyšela názor dizertantky na receptorové molekuly označované jako Toll like receptors (TLRs) a jejich význam v rámci nespecifické imunity a obrany organismů proti patogenům. Zaujalo mne také vyjádření TLR v seznamu zkratk. Prosím o vysvětlení.

Druhá otázka směřuje na funkci a význam chaperonů v buňce, které autorka zmiňuje na str. 138. Jaké je správné používání termínů chaperon a chaperonin?

V kapitole 3.8. autorka popisuje metodu pro průkaz přítomnosti vesikulů vnější membrány (OMV) metodou TEM. Jedná se o velice zajímavý metodický přístup. Zajímalo by mne, jak dlouho se autorka této problematice věnuje a zda existuje jiná metoda, pomocí níž lze ověřit přítomnost OMV, tzn. lze nějak validovat tuto kvalitativně novou metodu?

O kvalitě a významnosti dosažených výsledků svědčí publikace v prestižním mezinárodním časopise Proteomics, kde je autorka na prvním místě. Dizertantka je také spoluautorkou kapitoly Analysis of culture filtrate proteins of *Francisella tularensis* v knize „Proteomics, glycomics and antigenicity of BSL 3 and BSL 4 agents“, která je právě v tisku. Výsledky své práce dizertantka aktivně prezentovala na mezinárodních konferencích, tak jak je uvedeno v přehledu jejích aktivit.

Závěrem bych chtěla konstatovat, že předložená práce dokladuje schopnost autorky úspěšně řešit složité vědecké problémy, využívat nejmodernější postupy a přístupy a tvůrčím způsobem vyvíjet nové. Dizertantka splnila cíle vymezené v rámci dizertační práce. Uvedené připomínky formálního rázu nesnížily odbornou úroveň předložené práce.

**Vzhledem k výše uvedenému doporučuji přijetí práce k obhajobě**

V Praze dne 11. března 2011

doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.

Univerzita Pardubice, FCHT  
Katedra biologických a biochemických věd