

Oponentský posudek diplomové práce

Autor: **Bc. Andrea Křížová**

Název: **Identifikace purifikovaných biotransformačních enzymů pomocí hmotnostní spektrometrie**

Identifikace separovaných nebo purifikovaných proteinů se za posledních několik let stala rutinní součástí mnoha laboratoří zabývajících se analýzou proteinů. Ačkoliv se protokol ve své podstatě již stabilizoval, v některých případech je nutno jej modifikovat nebo optimalizovat, a to v závislosti jak na samotném vzorku, tak na cíli analýzy a podmínkách laboratorního provedení. Autorka předkládané diplomové práce úspěšně provedla optimalizaci tohoto protokolu pro rutinní identifikaci proteinů v laboratoři, kde prováděla svou diplomovou práci a zavedla postup k minimalizaci rizika kontaminace vzorku keratiny. Ve své práci také poukázala na vhodnost používání Coomassie Brilliant Blue G-250 pro detekci proteinů v gelu s ohledem na následnou MS identifikaci.

K předkládané práci mám následující připomínky, resp. dotazy:

- abstrakt (český i anglický): místo pojmu „klasická elektroforéza“ by možná (s ohledem na separaci proteinů bylo vhodnější používat pojem „klasická gelová elektroforéza“
- abstrakt (anglický), název práce: „spektrometry“ → „spectrometry“
- str. 9, ř. 4: „karcinom“ → „karcinomu“
- str. 11, ř. 12: „naporoti“ → „naproti“
- str. 14, ř. 21: „up řednostňovány“ → „upřednostňovány“
- str. 15, ř. 17: „enzymatiky“ → „enzymaticky“
- str. 15, ř. 18: „a nalyzují“ → „a analyzují“
- str. 15, ř. 19: „dostatečně“ → „dostatečné“
- str. 15, ř. 20: „posttranslačním“ → „posttranslačních“; a mnoho dalších překlepů dále
- str. 24, ř. 5 a dále: „Iontově měničová“ → „Iontově výměnná“
- str. 37, ř. 15: „glutamové peptidové vazby“ → „vazby za kyselinou glutamovou“
- str. 41, ř. 8: „letová trubice umístěná ve vakuu“ – letová trubice není umístěná ve vakuu, ale v ní je vytvořeno vakuum
- seznam literatury: není vše uspořádáno abecedně podle autorů, názvy časopisů nemají vždy stejný formát (někdy velká písmena na začátku slov, někdy ne)
- Proč proteomický přístup bottom-up (str. 15 diplomové práce) obtížně provádí podrobnou charakteristiku proteinů, obzvláště pro určování posttranslačních modifikací? Je třeba vždy pro analýzu posttranslačních modifikací analyzovat větší peptidy?
- Proč se analýza „top-down“ soustřeďuje pouze na proteiny o velikosti 11–21 kDa?

Přes uvedené připomínky předkládaná práce splňuje stanovené cíle zadání. Zpracovaný přehled literatury je v přiměřeném rozsahu a dodržuje citační normy. Obsahová a formální stránka práce je v pořádku, dobrý dojem narušuje jen několik překlepů a pravopisných chyb, které mohly být z podstatné části odstraněny při použití pravopisného korektoru. Téma práce je celkově dobře rozvržené a pokrývá vhodně danou problematiku. Proto **doporučuji předloženou diplomovou práci k obhajobě** a navrhuji hodnocení **v ý b o r n ě**.

V Hradci Králové dne 2. června 2014

.....
RNDr. Pavel Řehulka, Ph.D.
Ústav molekulární patologie FVZ UO
Třebešská 1575
500 01 Hradec Králové