

Posudek diplomové práce studenta Bc. Rudolfa Kupčíka

Zadáním předložené diplomové práce bylo zavést efektivní metody pro izolaci fosfoproteinů a fosfopeptidů bakteriálního původu, konkrétně u bakterie *Francisella tularensis*. Výchozí podmínky separace byly založeny na bioafinitní interakci kovových iontů s fosfoskupinami separovaných látek, tzv. IMAC nebo TiO₂. V případě úspěšného ověření afinitních nosičů se vzorky standardní směsi fosforylovaných a nefosforylovaných peptidů bylo záměrem celý systém přenést do mikrofluidního zařízení a pokusit se o izolaci a průkaz fosforylovaných proteinů bakteriálního lyzátu *Fr. tularensis*. K tomuto využít metody hmotnostní spektrometrie.

Rozsáhlá rešeršní práce, kde autor shrnul doposud publikované informace o materiálech, výrobních procesech a struktuře mikrofluidních analytických zařízení, principu hmotnostní spektrometrie a kde shrnul informace o významu fosforylace pro eukaryotní i prokaryotní buňky na molekulární úrovni, byla zpracována s erudicí a dostatečným přehledem. Podrobně popsané metody izolace fosforylovaných proteinů se staly základem práce experimentální.

Při řešení dílčích kroků experimentální části a volbě metod vycházel diplomant z přístrojového vybavení laboratoře domovské katedry a možností spolupráce s Dr. Pavlem Řehulkou z pracoviště Univerzity obrany v Hradci králové, kde mají s kultivací a proteomickou analýzou bakterií *Fr. tularensis* dlouholeté zkušenosti. K separaci byly použity mimo klasického kolonového uspořádání i dva různé komerčně dostupné mikrofluidní systémy.

Při řešení dílčích úkolů experimentální části student dodržoval pokyny vedoucího práce, konzultoval vlastní návrhy postupu, prokazoval schopnost samostatného úsudku při plánování i vyhodnocování jednotlivých pokusů. V laboratoři pracoval pečlivě a s rozvahou.

Závěrem chci ocenit velice pečlivé a graficky kvalitní vypracování diplomové práce s přesnou a přehlednou prezentací výsledků. Je též nutné zdůraznit, že během své práce student izoloval a potvrdil fosforylaci u dvou doposud nepopsaných proteinů bakterie. Výsledky budou základem pro připravovanou publikaci v impaktovaném časopise. Student splnil všechny zadané úkoly a práci hodnotím známkou

výborně.

V Pardubicích 24. 5. 2012

Doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph. D.


vedoucí práce