

Oponentský posudek diplomové práce

Autor: **Bc. Zuzana Pláteníková**

Název: **Využití imobilizovaného lysozymu pro fragmentaci bakteriálních buněk pro MS analýzu**

Identifikace bakteriálních vzorků je důležitým úkolem v diagnostice a rozvoj hmotnostní spektrometrie umožňuje aplikaci alternativních metod pro řešení tohoto úkolu. Předložená práce se zabývá identifikací Gram pozitivních bakterií pomocí měření profilů extrahovaných bílkovin metodou technikou MALDI-TOF MS. Řeší se zde problém účinné extrakce proteinů z Gram pozitivních bakterií pomocí narušení jejich buněčné stěny lysozymem imobilizovaným na magnetických mikročásticích.

K předkládané práci mám následující připomínky, resp. dotazy:

- str. 6, ř. 3, souhrn: „přípraven“ → „přípraven“
- str. 7, ř. 12–13: „4-methylumbelliferyl- β -DN,N',N''-triacetylchitotriosid“ → „4-methylumbelliferyl- β -D-N,N',N''-triacetylchitotriosid“
- str. 8, ř. 15: „analyzátozem(Matrix“ → „analyzátozem (Matrix“
- str. 12, ř. 23: „byla testována“ → „byl testován“
- str. 13, ř. 31: „sekvenční homologie“ → „sekvenční homologii“
- str. 26, ř. 29: „dvojkovým“ → „dvojnásobným“
- str. 29, ř. 6–7: „opožďená“ → „zpožděná“; navíc důvod použití zpožděné extrakce není srovnávání rozdílů kinetické energie srážkami, ale tím, že rychlejší ionty (s větší kinetickou energií) se dostanou v prostoru dále od destičky a proto jsou pak vystaveny působení nižšího napětí
- str. 30, ř. 18–25: Jsou pro reprodukovatelné výsledky důležitější podmínky kultivace bakterií nebo následná příprava vzorku a MS analýza?
- str. 36, ř. 3 a 5 a též str. 56, ř. 12–13: asi by zde měl být větší font
- str. 37, Tab. 2: nemělo by zde být místo „25“ → „50“ a místo „75“ → „50“
- str. 52, Tab. 9: rozsah MS spekter není v Da
- str. 53, ř. 4–6: problém nespočívá v tom, že by laser nerozbil buňku, ale ve skutečnosti, že proteiny nejsou správně kokrystalizovány s MALDI maticí
- str. 53, ř. 19–24: V úvodu (str. 19) se uvádí, že turbidimetrická metoda je méně citlivější než fluorescenční metoda. Je tedy Vámi používaná metoda pomocí bakteriálního substrátu nejcitlivější?
- str. 56, ř. 15: „lysozymu46,536“ → „lysozymu 46,536“
- Seznam literatury: drobné nejednotnosti, např. formátování čísel svazků

Přes uvedené připomínky předkládaná práce splňuje stanovené cíle zadání. Obsahová stránka práce obsahuje ucelené výsledky a formální stránka práce je na dobré úrovni. Téma práce je celkově dobře zpracované a vzniklé problémy adekvátně řešeny s dobrým výsledkem. Proto **doporučuji předloženou diplomovou práci k obhajobě** a navrhuji hodnocení **výborně**.

V Hradci Králové dne 31. května 2013

Řehulka

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