

Izolace a analýza hydrofobinů pomocí moderních instrumentálních technik

Předložená diplomová práce popisuje vývoj nové techniky izolace hydrofobinů jako látek potenciálně technologicky velmi významných s širokými možnostmi uplatnění. Hned na začátku bych rád zdůraznil, že formální i obsahová část předložené práce plně demonstrují množství práce vykonané Bc. Zelenou.

Teoretická část práce shrnuje základní poznatky o hydrofobinech spolu s jednotlivými metodami jejich stanovení. Tato část dokazuje velmi dobrou orientaci diplomantky v řešené problematice, potvrzenou navíc dobrou prací s literaturou. Oceňuji doplnění literární zdrojů k použitým obrázkům, což nebývá vždy zvykem. Experimentální část práce popisuje podrobně jednotlivé kroky úpravy a charakterizace použitých vzorků, spolu s použitými metodami.

Hlavní náplní práce je vývoj nové metody vedoucí k izolaci a analýze hydrofobinů. Vzhledem k vysoké kvalitě práce se mi jen obtížně hledají připomínky, přesto si dovoluji několik obecnějších poznámek, s cílem rozvinout debatu nad předloženou prací.

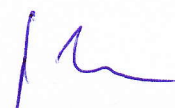
Podstatnou část tvoří snaha optimalizovat obtížné potupy proteolytického štěpení, zejména z hlediska nutnosti pracovat v kyselém prostředí. Použití pepsinu vedlo k úplné, avšak nespecifické, proteolýze hydrofobinů. Uvažovala diplomantka o možnosti optimalizace tohoto postupu vzhledem s cílem zvýšení specifity reakce (úprava pH a doby reakce, použití vodně-organického prostředí, apod.)?

Druhá část práce se věnuje izolaci hydrofobinů z modelových směsí ostatních proteinů. Elegantní použití teflonových částic vede ke specifickému zachytu a pozdější eluci hydrofobinů z modelových směsí. Domnívám se, že podrobnější charakterizace množství použitých částic, stejně tak jako jejich cílené zachycení na inertní nosič by mohlo vést k dalšímu zvýšení kapacity použité izolační metody. Testovala diplomantka efekt velikosti použitých částic na jejich izolační schopnosti?

Bylo by možné použít dvourozměrnou gelovou elektroforézu ke specifické izolaci hydrofobinů ze směsí? Jaké experimentální podmínky by bylo nutné dodržet?

Jak již bylo řečeno, předložená diplomová práce je velmi kvalitní, proto ji doporučuji k obhajobě a hodnotím známkou

výborně.


RNDr. Jiří Urban, Ph.D.