

Posudek oponenta diplomové práce

Autor práce: Bc. Jiří Novotný

Název práce: MS analýza proteinů a jejich posttranslačních modifikací se zaměřením na fosforylaci.

V předložené diplomové práci se Bc. Jiří Novotný zabývá analýzou proteinů pomocí spojení různých separačních technik s hmotnostní spektrometrií. Významná část práce je věnována izolaci fosfopeptidů s využitím nanomateriálů.

V teoretické části se diplomant věnuje proteinům, posttranslačním modifikacím a celkové proteomické analýze. V rámci proteomické analýzy je pozornost věnována izolacím proteinů s využitím nanočástic a následně hmotnostní spektrometrii a jejímu spojení se separačními technikami. Celá teoretická práce je velice obsáhlá, avšak kvantita zvítězila nad kvalitou. Pro seznámení čtenáře s danou problematikou by plně stačila polovina kvalitně napsaných informací, což nebyl případ této diplomové práce. V experimentální části jsou popsány podmínky a postupy analýzy a závěrem jsou diskutovány dosažené výsledky, které jsou doloženy obrázky a tabulkami.

Celá diplomová práce je psána prapodivným jazykem, který se lehce podobá jazyku českému. Diplomant si nelámá hlavu s interpunkcí, s mezerami, s vhodnou volbou odstavců ani s gramatikou. Některé odstavce se v textu vyskytují vícekrát. Vypadá to, jakoby práci po sobě ani nečetl. Z pozice čtenáře bylo velmi obtížné sledovat text a pochopit co chtěl autor napsat. Po technické stránce se zde vyskytují nesmyslné a chybné formulace, vyplývající ze špatných teoretických základů používaných experimentálních technik. Autor nesprávně přejímá anglické výrazy, které se běžně vyskytují v mluveném projevu, ale v psané projevu se nesmí objevit (např. pozitiv, negativ). V teoretické části chybí odkazy na použité obrázky, citace mají nesprávný formát a často se vyskytuje chybné použití křížových odkazů (str. 78, 84, 90). Z časových důvodů se nebudu věnovat výčtu jednotlivých prohřešků, vybrala jsem několik zásadních připomínek. U některých z nich je nutné vysvětlení autora.

Připomínky a náměty k diskuzi:

Str. 37 – Co znamená zkratka TNT? Není vysvětlena v textu ani v seznamu zkratk. Trinitrotoluen jistě nebyl analyzován.

Str. 38 – „...sonifikován v 5% propanolu...“. Vysvětlete význam slova sonifikace a nahraďte ho správným výrazem, který má být v práci použit!

Str. 38 – „...vzorky jsou podrobeny kapalinové chromatografii na reverzní fázi...“. Vzorky jsou analyzovány kapalinovou chromatografií v systémech s obrácenými (reverzními) fázemi.

Str. 38 – Jak se diplomant zmínil, stacionární fáze v systémech s obrácenými fázemi je nepolární, tudíž to nemůže být silikagel s krátkými řetězci. Jedná se převážně o chemicky vázaný octadecyl. 18 uhlíků není krátký uhlovodíkový řetězec.

Str. 39 – „.....náboj nabývá celočíselné kladné hodnoty...“ náboj závisí na typu ionizace, buď bude kladný nebo záporný

Str. 40 – Kapitola 1.7.2 – „Základem každého hmotnostního analyzátoru je iontový zdroj, hmotnostní analyzátor a detektor“. Tyto tři základní části tvoří hmotnostní spektrometr, ne analyzátor. To je jen jedna část.

Str. 41-42. – Ionizace elektrosprejem není poměrně šetrná, jak tvrdí diplomant, ale je společně s MALDI jedna z nešetrnějších ionizačních technik, proto po zavedení těchto dvou ionizačních technik došlo k obrovskému pokroku v analýze proteinů. Nastudujte a vysvětlete princip ionizace elektrosprejem! V diplomové práci není uvedený přesně.

Str. 45 – Co myslí diplomant výrazem „kvalitativně těžké (inertnější) ionty“?

Str. 46 – Chybně popsany SRM mód záznamu iontů – první kvadrupól vybírá daný ion ne rozsah iontů.

Str. 50 – Co myslel diplomant, že ICR je nedestruktivní analyzátor? Hmotnostní spektrometr obecně patří mezi destruktivní detektory.

Str. 57 – Vysvětlete, jak se liší mikrogradientová eluce od normální gradientové eluce!

Str. 67 – Kapitola 2.7.2 - nikde není uvedeno číslování kolon. Co znamená kolona 1?

Str. 73 – Co znamená výraz „záchytná kolona“?

Str. 75 – Hodnoty logických ztrát se vyjadřují jako hodnoty m/z , ne jen jako nějaká čísla.

Str. 92-93 – Graf 1 a 2 – kvalita obrázků není moc dobrá, text je rozmazaný. Obrázky popisují to samé. Navíc v textu není diskutován graf 2. Dle mého názoru je graf 2 nadbytečný.

Str. 92-93 – Tabulky 9 a 10 – opět popisují stejné informace, mohly být spojené v jednu tabulku.

Příloha – Tabulky, které jsou delší a nevejdou se na jednu stranu, se na každé další straně na horním řádku doplňují hlavičkou.

Závěrem mohu konstatovat, že diplomant Jiří Novotný splnil i přes výše uvedené připomínky zadání diplomové práce. Doporučuji tuto diplomovou práci k obhajobě a vzhledem k velkému množství nepřesností a celkové kvalitě práce ji hodnotím

E.

doc. Ing. Lenka Česlová, Ph.D.