

Téma diplomové práce	Proteomová analýza stresem indukovaných proteinů bakterie <i>Francisella tularensis</i> LVS
Jméno studenta, studentky	Lukáš Kučera
Jméno oponenta	Mgr. Klára Konečná

II. Posudek oponenta

Autor, Lukáš Kučera, vypracoval diplomovou práci na téma: " Proteomová analýza stresem indukovaných proteinů bakterie *Francisella tularensis* LVS" v rozsahu 57 stran.

V sekci: „ Úvod“ je jednoznačně vytyčen záměr a nechybí odůvodnění volby tématu.

V sekci: „Teoretická část“ se autor věnoval popisu nejen vlastního mikroorganismu, ale také metodám proteomové analýzy, a to především principům jednotlivých metod. Uvedené informace jsou přehledně členěny do kapitol a podkapitol. Autor se zde rozepisuje o principech a možnostech všech metod volených ve své experimentální části. Autor se v této sekci nevyvaroval drobným nedostatkům formálního rázu, a to: zkratka FDA (na str. 9) není nejdříve uvedena v plném znění v textu, slovo navíc? (str. 10, odst. 2 - Studie s mutanty ukázaly, že regulace O-antigen je nezbytný ; str. 12, konec odst. 2 – Obecný postup při zahrnuje přípravu vzorku , v kapitole 2.2.1.4 Detekce separovaných proteinů v gelech – autor píše, že pro MALDI-TOF analýzu je třeba použít detekční metodu , která je kompatibilní s MALDI-TOF. V dalším odstavci se věnuje popisu dvou detekčních metod, z nichž jedna je nekompatibilní (stříbření gelů). Domnívám se, že nezasvěcený čtenář by si z kontextu mohl vyvodit, že lze volit pro následnou hmotnostní analýzu obě detekční techniky (tak tomu ale není). V kapitole „Experimentální část“ je ale tato nesrovnalost uvedena na pravou míru.

V sekci „Experimentální část“ – je podrobně vypsán seznam všech přístrojů, pomůcek a chemikálií. U biologického materiálu mi chybí bližší specifikace bakterie, tj. kmen s označením LVS/m (LVS/m – jde o nějaké pracovní označení?). V kapitole „Chemikálie, reagentie“ – myslím, že by zde měla být jednotnost (jednou jsou chemikálie uvedeny v AJ, př. „Bensonase“, jindy jsou uvedeny v ČJ, př. dusičnan stříbrný, Vhodnější dle mého názoru, z důvodu snazší dohledatelnosti, je uvést je v jazyce (formě) , ve kterém jsou vedeny v katalogu (na internetových stránkách) daných firem. Na druhou stranu velice oceňuji podrobnost, přehlednost a jednoznačnost v uvedení roztoků (kap. 3.1.4 Roztoky). Autor i zde se nevyhl drobným nedostatkům formálního rázu, tj. str. 30 odst. 2 - ...srážení bílkovin jsem provedl k zkoncentrování vzorku , str. 33, odst. 2 - ...jsem slil z aparatury pufr a vyjmul skleněné desky s gely. Ty jsem pak rozebral, označil a následně podrobil stříbření. (koho, co – desky podrobil stříbření?).

Sekce „ Výsledky“ - první věta: Bakterie jsem kultivoval při teplotě 37°C 270 minut, při teplotě 42 °C 240 minut a při teplotě 25 °C po dobu 22 hodin.....Časová závislost v grafu 1 je jen v rozmezí 0 – 300 min. (nikoliv 22 hodin, překlep u časového údaje 22 hodin? Důvod odlišné doby kultivace?). Obrázek 3: chybí mi legenda, co je to SSP, PPM.

Sekce „Diskuse“ – v této části dává autor do kontextu s dostupnými informacemi výsledky své analýzy, tj. autor dohledal informace o jednotlivých proteinech, které se mu zadařilo identifikovat, popisuje jejich předpokládané funkce. Příhodnější se mi zdá uvádět nejen počeštěné názvy proteinů, ale především názvy proteinů získané při výstupu z databáze (viz. str. 44).

Sekce „Závěr“ – Autor hodnotí výsledky své práce a uvádí v návaznost další záměry.

Chybí „Souhrn“ v ČJ a AJ.

Sekce „Literatura“ – je uvedeno 48 literárních odkazů, zvyklostí bývá, že latinské názvy mikroorganismů jsou uvedeny kurzívou (tak tomu zde není). Domnívám se rovněž, že literární odkazy 1, 3, 4 jsou převzaty (články datované rokem 1914, 1912).

Dotazy na autora: 1- Na str. 28 píšete, že teplota 42°C působí jako teplotní stresor (nikoliv o teplotě 37°C) , teplota 37°C – teplota teplokrevného hostitele je rovněž pro řadu patogenních bakterií induktorem patogenních mechanismů, je tomu u tohoto patogena jinak?

2- Na str. 29 se věnujete vlastnímu zpracování vzorku. Píšete, že cílem zpracování vzorku je rozrušit buňku. Co je tím myšleno? O proteiny jakého buněčného kompartmentu jste se především zajímal (cytosolické proteiny, membránové,). Můžete uvést princip „rozrušení“?