

Oponentský posudek k diplomové práci

Diplomovou práci vypracovala Bc. Martina Čapková pod názvem :

Studium membránové lokalizace konservovaného hypotetického lipoproteinu bakterie *Francisella tularensis* s využitím molekulárně-biologických metod

Školitelé: Doc. Ing. Lenka Hernychová, Ph. D., Ing. Marcela Šimšová, Ph. D.

Oponent: RNDr. Lenka Sadílková

Předkládaná diplomová práce je zaměřena na studium jednoho z virulentních faktorů intracelulární patogenní bakterie *Francisella tularensis*. Zmíněný mikroorganismus představuje reálné nebezpečí v případě zneužití pro vojenské, či teroristické záměry. Onemocnění, které vyvolává je, pokud neléčeno, smrtelné až v 60 % případů. Vývoj účinné vakcíny je tedy nanejvýše žádaný a předmětem studia pro mnoho vědeckých týmů. Paní Bc. Martina Čapková zpracováním této diplomové práce vyhověla nejen požadavkům zadání, ale též přispěla k výsledkům práce širší skupiny vědeckých pracovníků podílejících se zde v naší republice na výzkumu v této oblasti.


Diplomantka si osvojila široké spektrum metod nejen z oblasti molekulární biologie, ale i biochemie. Připravila sadu funkčních vektorů umožňujících expresi samotného lipoproteinu FTT1103 s N-koncovou signální sekvencí a též bez ní, a dále i expresi fúzního FTT1103 s reportérovým proteinem PhoA (alkalická fosfatáza) a kontrolního proteinu PhoA v systému *Escherichia coli*. Využití vhodně zvolených imunochemických metod umožnilo též navrhnout model topologie lipoproteinu FTT1103. Další potřebné experimenty vedoucí k potvrzení navrženého modelu by vyžadovaly větší

množství času, přesahující rozsahem časový úsek vymezený pro zpracování diplomové práce.

Po formální stránce je diplomová práce zpracována kvalitně, mám pouze drobné výhrady týkající se naprosto zbytečných překlepů, jejichž výčet zde nebudu uvádět. Též řazení informací prezentovaných v jednotlivých kapitolách teoretické části by bylo možné promyslet lépe. Naproti tomu považuji za potřebné vyzdvihnout zejména dokonalou přehlednost a strukturu textu, precizní a velmi názorné zpracování obrázků a tabulek a přesnost jejich popisu. V neposlední řadě velmi kladně hodnotím obsahovou bohatost a faktickou správnost prezentace informací získaných z odborných publikací. V souvislosti s tímto bych očekávala poněkud bohatší komentář v části diskuse.

Celkově působí diplomová práce velmi kvalitně a je zřejmé, že diplomantka věnovala značné úsilí získání experimentálních dat i zpracování vlastní práce. S tímto závěrem navrhuji ohodnocení diplomové práce paní Bc. Martiny Čapkové stupněm výborným.

V Praze dne 18. května 2009



.....

Podpis oponenta

PŘÍLOHA

Prosím paní Bc. Martinu Čapkovou o zodpovězení následujících otázek:

1. Znáte nějaké jiné druhy reportérových genů, proč jste zvolila právě fúzi s *phoA*?
2. Na straně 57 a dále popisujete, že jste nebyla za pomoci monoklonální anti-PhoA protilátky detekovat žádný z exprimovaných proteinů a naproti tomu poukazujete na možnou kontaminaci bakteriálních linií po provedení detekce polyklonální anti-FTT1103. Mohla byste tato konstatování vysvětlit?
3. Jaké metody byste navrhovala pro další studium lokalizace lipoproteinu FTT1103, zejména pokud jde o jeho vztah k vnější membráně?