



CENTRUM REGIONU HANÁ PRO BIOTECHNOLOGICKÝ A ZEMĚDĚLSKÝ VÝZKUM

Posudek na diplomovou práci Bc. Denisy Suchánkové s názvem

Chemická derivatizace proteinů a peptidů pro usnadnění jejich *de novo* sekvenace

Práce je obhajována ve studijním oboru Analýza biologických materiálů na Fakultě chemicko-technologické Univerzity Pardubice. Školitelem byl RNDr. Pavel Řehulka. Téma souvisí s využitím derivatizace peptidů pro účely sekvenční analýzy pomocí hmotnostní spektrometrie kvůli možnosti snadnější interpretace tandemových hmotnostních spekter. Celkový rozsah práce je 93 číslovaných stran, má všechny formální náležitosti, jako je shrnutí v jazyce českém i anglickém, seznam použitých zkratk, úvod a přehled cílů práce. Zhruba jedna třetina rozsahu je věnována teoretické části, kde je podán ucelený přehled nejvýznamnějších informací o proteinech, vědní disciplíně proteomice a využití hmotnostní spektrometrie pro analýzu proteinů, zejména jejich identifikaci cestou určení aminokyselinové sekvence.

V části experimentální je uveden přehled vybavení a materiálu a detailní popis provedených experimentů. Výsledková část je spojena s diskusí, vše je ukončeno závěrečným přehledem, seznamem citovaných zdrojů a přílohou. Výsledková část obsahuje hmotnostně spektrometrická měření s peptidy odvozenými trypsinovým štěpením myoglobinu a podrobenými modifikačním reakcím, např. guanidylací, reakcím se sulfonačními činidly, dimethylací a esterifikací. Dále bylo také vyzkoušeno obohacení peptidů modifikovaných sulfonovanými činidly dvěma různými chromatografickými metodami. Výsledky jednotlivých experimentů jsou dokumentovány příklady naměřených hmotnostních spekter často dokládajících optimalizování modifikačního kroku.

Text diplomové práce je napsán velmi pěknou češtinou, přesto se autorka nevyvarovala gramatických chyb, např. opakovaně v přičestí minulém, kdy „peptidy“ jsou rozhodně neživotným podstatným jménem. Používá také hodně anglismy: enzymatické, monoizotopické, disulfidický, peptidický, ubiquitinace namísto českých variant enzymové, monoizotopové, disulfidové, peptidové, ubikvitinylace. Formální chybou je rovněž umístování doprovodného textu k obrázkům na nestejnou stránku, což ztěžuje zpracování velkého množství informací na malém prostoru.

K ověřeným a správně interpretovaným a diskutovaným výsledkům nemám zásadních připomínek.

Drobné připomínky:

1) chybičky v seznamu zkratk

EDC – N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylkarbodiimid hydrochlorid

PAGE – polyakrylamidová gelová elektroforéza

PITC – fenylisothiocyanát

2) Tabulka 1, nedokonalé zarovnání textu v hlavičkách sloupců

3) Specifické komentáře:

- str. 17, výzkum v proteomice, ne výzkum proteomiky;

- str. 18, ionizační technika, ne ionizační metoda;



EVROPSKÁ UNIE
EVROPSKÝ FOND PRO REGIONÁLNÍ ROZVOJ
INVESTICE DO VAŠÍ BUDOUCNOSTI



CENTRUM REGIONU HANÁ PRO BIOTECHNOLOGICKÝ A ZEMĚDĚLSKÝ VÝZKUM

- str. 18, anglické názvy high-throughput, high-coverage, bottom-up, shotgun a top-down by v českém textu měly být v uvozovkách tj. např. „high-throughput“;
- str. 20, peptidový fingerprint, ne proteinový fingerprint;
- str. 26, u vysvětlení tvorby c- a z- iontů postrádám specifikaci uhlíkového atomu – alfa-uhlík;
- str. 28, obrázek, thiazolinon, ne thiozolinon;
- str. 33, **DOTAZ** - jak je to se zabudováním ^{18}O u peptidů končících lysinem a argininem? Literatura udává, že zabudování jednoho či dvou ^{18}O závisí na charakteru peptidu.
- str. 42, významově chybný text „Vialka s 200 ng trypsinu byla rozpuštěna ve 100 μl 50 mM NH_4HCO_3 .“;
- str. 47, 48 nahoře, **DOTAZ** - proč byl použit gradient, když byly peptidy sbírány do zkumavky, chápu pro postupnou eluci na destičku, ale proč do zkumavky nebyla eluce jedнокrokově?
- str. 61, **DOTAZ** - lze roztok Na_3PO_4 bez nastavení pH kyselinou fosforečnou opravdu považovat za pufr?

Závěrem mohu konstatovat vysokou úroveň teoretických znalostí autorky a schopnost využít je pro experimentální činnost v laboratoři. Práce splnila stanovené cíle zadání, v celkovém hodnocení je velmi kvalitní a propracovaná. Doporučuji ji proto k obhajobě bez zásadních výhrad.

V Olomouci dne 21. 5. 2017

Prof. Mgr. Marek Šebela, Dr.