

# Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická

## Katedra biologických a biochemických věd

### Posudek školitele

**Téma diplomové práce:** Optimalizace použití trypsinu imobilizovaného na magnetických mikročásticích pro proteomické účely

**Jméno studentky:** Bc. Kateřina Netušilová

**Vedoucí práce:** Mgr. Martin Hubálek, Ph.D.  
Doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.

Otázka rychlosti a účinnosti proteolytického štěpení je téma, které se v oblasti proteomiky objevuje jako neustále nedořešené. Existuje několik přístupů, jak lze stávající postupy vylepšit. Kateřina Netušilová se ve své diplomové práci zaměřila na použití enzymu imobilizovaného na magnetických částicích. Výsledkem její práce je srovnání účinnosti štěpení v roztoku se štěpením pomocí imobilizovaného enzymu. Vcelku jednoduché téma se v průběhu práce rozrostlo do značně složitého úkolu. Studentka si v první řadě musela osvojit postupy jak proteolytického štěpení, tak i analýzu jeho výsledků. Původní úvahy vedly k použití techniky MALDI-TOF jako hlavní analytické vyhodnocovací techniky. S postupem práce se ukázalo, že tato technika nedostačuje zejména ke správné kvantifikaci rozštěpených peptidů, tudíž studentka přidala ještě techniku kapalinové chromatografie. To sebou přineslo zvýšené nároky díky ovládnutí více přístrojů a také vyhodnocení jejich výstupů. Výrazně se tím i prodloužila doba pro analýzu. Díky tomu se nepodařilo studentce vyhodnotit všechny připravené experimentální vzorky, které měla připravené. Zdůrazňuji tuto skutečnost zejména z toho důvodu, že výsledky, které studentka ve své práci získala nejsou jednoznačné. Pokud by se podařilo analyzovat i opakované vzorky, měla by studentka větší šanci utvořit jednoznačnější závěry své práce. Přes tyto nedostatky, které, jak vyplývá i z vysvětlení, byly spíše odrazem obtížnosti tématu, se studentce podařilo práci úspěšně dokončit. Poradila si se všem nástrahami experimentů i se sepsáním práce. Prokázala, že techniky nutné pro její práci ovládá bez problémů a dokáže úspěšně provést experiment od jeho návrhu až po jeho vyhodnocení.

**Diplomovou práci považuji za úspěšně vypracovanou a splňující cíle zadání. Doporučuji ke obhajobě s klasifikací výborně.**

V Hradci Králové dne 20.5.2009

  
Mgr. Martin Hubálek, Ph.D.