

Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická

Katedra biologických a biochemických věd

Téma diplomové práce: Optimalizace podmínek vazby kináz GSK-3 a MAPK na superparamagnetické částice

Jméno studentky: Bc. Martina Panýrová

Jméno oponenta: doc. Ing. Lenka Hernychová, Ph.D.

Posudek oponenta

Diplomová práce byla zaměřena na řešení vybrané problematiky Evropského vědeckého projektu NeuroTas zabývajícího se včasnou a rychlou diagnostikou neurodegenerativních chorob. Níže uvedené cíle předložené diplomové práce byly proto definovány tak, aby byly v souladu s cíli vědeckého projektu:

- 1) optimalizace podmínek fosforylace vybraných substrátů a enzymů
- 2) optimalizace imobilizace enzymů na superparamagnetické částice
- 3) příprava hyperfosforylovaného tau proteinu.

Úvod diplomové práce je věnován popisu Alzheimerovy nemoci, klinickým příznakům, patogenezi choroby a možnostem diagnostiky. Dále zde jsou uvedeny vlastnosti a funkce kináz (především GSK-3, MAPKs) a popis imobilizace enzymů na magnetické částice. Úvod má velmi dobrou odbornou úroveň a myslím si, že by se mohl použít k didaktickým účelům, např. jako podklad pro tvorbu skript či přednášek. Text je také obohacen o názorné barevné obrázky, které pomáhají pochopit problematiku popsanou v textové části.

V experimentální části autorka uvádí pečlivě vypracované protokoly, které používala pro fosforylace vybraných peptidů/proteinů, imobilizace enzymů, spektrofotometrická stanovení a hmotnostní spektrometrii. Ve výsledcích autorka diskutuje optimalizaci podmínek fosforylace a imobilizace, v mnoha přílohách jsou pak připojena přehledná spektra z hmotnostního spektrometru.

Autorka by si měla dávat pozor při vyjádření hodnocení některých výsledků. Příkladem je poslední věta na str. 71. Cituji: „.....při analýze na MALDI-TOF dochází k upřednostnění nefosforylovaných skupin, které se **sami** ionizují a tím, že stoupá intenzita jejich píků, dochází k poklesu fosforylovaných skupin, které se naopak ionizují špatně.“ Je třeba si

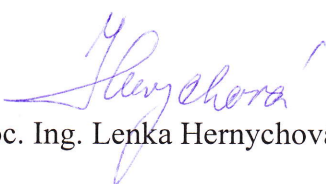
uvědomit, že MALDI ionizace probíhá za přítomnosti matrice, proto není vhodné vyjádření, že se nefosforylované skupiny (lépe peptidy) sami ionizují. Stačilo by tedy vyjádření: „Nefosforylované peptidy se ionizují v MALDI ionizaci lépe než peptidy fosforylované“.

Diplomová práce obsahuje 98 citací včetně webových adres. U všech typů citací jsou dodrženy citační normy. Rozsah práce je 139 stran, 42 příloh, dále je v textu uvedeno 16 tabulek, 6 obrázků a 3 grafy. Práce je napsaná stylisticky velmi dobře a čtivě, podává jednoduché, ale výstižné vysvětlení k odborným pojmům. Líbí se mi, že autorka nepoužívá anglikanismy.

Diplomantce bych ráda položila jednu otázku: *V závěru své diplomové práce uvádíte, že průkaz fosforylace pomocí hmotnostní spektrometrie byl problematický. Mohla byste uvést metodiku, která by mohla výskyt fosfoproteinů v hmotnostních spektrech výrazně vylepšit?*

Celkově hodnotím diplomovou práci známkou **výborně**, a to hlavně vzhledem k velmi dobře odborně a didakticky koncipované práci, kvalitě získaných výsledků a splnění všech zadaných cílů.

V Hradci Králové dne 21.5. 2010


doc. Ing. Lenka Hernychová, Ph.D.