Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická

Katedra biologických a biochemických věd

Téma diplomové práce: Proteomová analýza *Mycoplasma hominis*

Jméno studentky: Bc. Kristýna Hanáková

Jméno oponenta: PharmDr. Ivona Pávková, Ph.D.

Posudek oponenta

Předložená diplomová práce se zabývá proteomickou analýzou membránových proteinů bakterie *Mycoplasma hominis*. Za tímto účelem byly připraveny frakce obohacené o membránové proteiny pomocí karbonátové extrakce. Proteomická analýza pak byla provedena klasickým gelovým přístupem, spočívající v separaci proteinů pomocí dvourozměrné gelové elektroforézy s následnou identifikací proteinů z jednotlivých proteinových skvrn prostřednictvím hmotnostní spektrometrie. Nad rámec vymezených cílů byly připraveny i 2-D proteinové mapy celobuněčného lyzátu.

V teoretické části diplomové práce se jedna kapitola zabývá popisem bakterie *M. hominis* a v další části jsou popsány základní metodické postupy v proteomice. Teoretická část má dobrou úroveň – text je srozumitelný, logicky uspořádaný a obsahově zcela dostačující. V experimentální části autorka přehledně a výstižně uvádí metodické postupy, které používala pro kultivace bakterie *M. hominis*, přípravu proteinových vzorků, provedení dvourozměrné elektroforézy a identifikaci proteinů hmotnostní spektrometrií. Ve výsledcích jsou pak znázorněny a popsány připravené dvourozměrné gely jak celobuněčného lyzátu*M. hominid* tak i frakcí obohacených o membránové proteiny. Dále je zde tabulka s identifikovanými proteiny a ukázky spekter z hmotnostního spektrometru. V diskuzi jsou shrnuty získané výsledky; velká část je věnována popisu nalezených proteinů. Závěrem autorka navrhuje i další postup v řešené problematice.

Diplomová práce splňuje veškeré zásady pro vypracování. Rozsah práce je 77 stran, v textu je uvedeno 10 tabulek a 9 obrázků. Práce obsahuje 130 citací – u všech jsou dodrženy citační normy. Text je napsán dobře – čtivě a výstižně.

K celkovému provedení a sepsání diplomové práce nemám žádné zásadní připomínky. Dovoluji si uvést jen drobnější spíše stylistické připomínky k samotnému textu. Autorce se nepodařilo zcela vyhnout používání anglikanismů, nebo některé výrazy nejsou zcela dobře přeformulovány do českého jazyka. Výsledkem jsou pak ne zcela smysluplná sousloví či výrazy s nevhodným významem, například: „...dráha *využívá utilizaci* glykolytické části...." na str. 16, „...disulfidová činnost..." str. 60, „ konfirmace metodou MS/MS" na str. 57 a další. Občas je potřeba dbát zvýšené pozornosti při správné interpretaci citovaných dat: Jestliže autorka popisuje *bakteriální* elongační faktor Tu, není vhodné ve výčtu uvádět i funkci, která byla popsána výhradně u *eukaryotického* proteinu (vazba na aktinová vlákna a mikrotubuly – dle citace Moore et al., 1998). Obdobně není zcela přesné označit *schopnost invaze M. hominis* do hostitelských buněk za faktor virulence. Faktorem virulence jsou spíš molekuly nebo struktury, díky kterým získává bakterie tuto schopnost.

Diplomantce bych ráda položila několik otázek:

1. Cílem Vaší diplomové práce byla příprava vzorku obohaceného o membránové proteiny a jeho následná proteomická analýza. Proč jste připravila i 2-D gely z celobuněčných lyzátů?
2. Ve výsledkové části uvádíte, že MS analýza byla provedena jen s vybranými proteinovými skvrnami. Na základě čeho byl proveden jejich výběr?
3. Fosfoglycerátkináza či DNA-dependentní RNA polymeráza jsou proteiny, u nichž se běžně uvádí cytosolická lokalizace. Jak si vysvětlujete jeho přítomnost ve frakci obohacené o membránové proteiny?

Diplomová práce je po stránce experimentální i teoretické dobře vypracována. Získané výsledky jsou kvalitní a využitelné v dalších návazných projektech. Celkově proto hodnotím práci známkou výborně.

V Hradci Králové dne 18. května 2015

PharmDr. Ivona Pávková, Ph.D.