

## Oponentský posudek diplomové práce

*Autor:* **Bc. Kateřina Hemalová**

*Název:* **Metoda izolace His-Tag proteinů pomocí  $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$  s důrazem na čistotu finálního produktu**

Předložená diplomová práce se zabývá metodou izolace proteinů s His-tagovou kotvou pomocí dvou různých stacionárních fází – IMAC a nanotrubičky na bázi  $\text{TiO}_2$  pokryté nanočásticemi  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Je zde provedena optimalizace purifikačního protokolu s cílem zlepšení eluce a snížení obsažených kontaminantů. V druhé části práce je pak testován vliv stacionární fáze a experimentálních podmínek na snížení obsahu LPS v eluční frakci s purifikovaným proteinem.

Diplomová práce obsahuje 99 stran textu standardně členěnou na úvod, teoretickou část, cíle, experimentální část, výsledky a diskuse, závěr a seznam použité literatury. Z formálního hlediska práce obsahuje relativně málo překlepů a nesrovnalostí, nicméně seznam obrázků by mohl být zkrácen (bez uvádění celých popisů) a seznam použitých zdrojů nebyl zkontrolován z hlediska správného formátování (např. cit. 1, 2, 29, 32 atd.).

Celá práce je svou strukturou experimentů logicky uspořádána a působí dobrým dojmem. Optimalizace experimentálních podmínek purifikace vedla k navržení vhodných podmínek pro purifikaci His-tagových proteinů a byla zde také zavedena metoda pro určení množství LPS ve vzorku.

K diplomové práci mám následující komentáře/otázky:

- V anglické anotaci: „nanoparticles“ → „nanotubes“.
- Str. 53, 6 ř.: „gen“ → „gel“.
- Mělo by smysl nějakým vhodným způsobem provést sekvenční purifikaci His-tagovaných proteinů pomocí obohacení na IMAC následovaného purifikací na  $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanotrubicích (např. za účelem úspěšnějšího odstranění různých typů kontaminantů)?
- Obr. 16: protein v dráze č. 7 by měl být hovězí sérový albumin (teor. hmotnost přibližně 66,4 kDa), ale nejintenzivnější proužek je pod markerem s 50 kDa. Můžete tuto skutečnost objasnit?

- Kap. 4.5: máte nějaké vysvětlení, proč v experimentu s promývacím roztokem obsahujícím 100 mM imidazol výsledná eluční frakce obsahuje více kontaminujících proteinů, než tomu bylo v případě použití 50 mM, resp. 200 mM imidazolu?

Celkově lze zhodnotit, že *studentka prokázala schopnost samostatné vědecké práce, předloženou diplomovou práci doporučuji k obhajobě a navrhuji známku „výborně“*.

V Hradci Králové, 3. září 2020

.....  
RNDr. Pavel Řehulka, Ph.D.  
Katedra molekulární patologie a biologie FVZ UO  
Třebešská 1575, CZ-50001 Hradec Králové  
tel.: +420-973 255 199  
e-mail: [pavel.rehulka@unob.cz](mailto:pavel.rehulka@unob.cz)