

Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická

Katedra biologických a biochemických věd

Téma diplomové práce: Imobilizace lysozymu na magnetické částice pro účely obohacení bakteriálních extraktů určených k identifikaci mikroorganismů

Jméno studentky: Bc. Lucie Holubová

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

Posudek oponenta

Cílem diplomové práce bylo zavedení vhodné metody umožňující rychlou identifikaci grampozitivních bakterií pomocí hmotnostní spektrometrie. Pro snadnější štěpení buněčných stěn byl využit jednak lysozym solubilní a pak i lysozym imobilizovaný na různých typech magnetických partikulí.

Z předložené diplomové práce lze vyčíst zájem studentky o dané téma. V teoretické části přehledně uvádí informace dostupné o lysozymu (např. struktura, aktivita, katalytický účinek), seznamuje se stavbou membrány u grampozitivních bakterií, informuje o technikách imobilizace enzymů a popisuje hmotnostní spektrometrii v kontextu s identifikací bakteriálních agens. Velmi kladně hodnotím podrobně a precizně vypracované metodické postupy pro stanovení aktivity lysozymu, jeho imobilizace a dále kultivace bakterií, přípravy vzorků pro hmotnostní spektrometrii včetně jejich měření, které jsou uvedeny v experimentální části diplomové práce. V části „Výsledky a diskuse“ podrobně interpretuje získané výsledky, které dokládá přehlednými grafy, obrázky a tabulkami.

Diplomová práce obsahuje 81 citací včetně odkazů na různé webové stránky. U všech typů citací jsou dodrženy citační normy. Rozsah práce je 103 stran, v textu je uvedeno 14 tabulek a 39 obrázků. Práce je napsaná stylisticky velmi dobře a čtivě, v textu se nevyskytují pravopisné chyby.

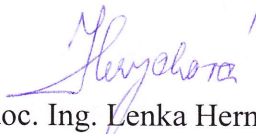
Práce splňuje stanovené cíle zadání a i když odzkoušení solubilního a imobilizovaného lysozymu nepřineslo pozitivní výsledek, je práce velmi cenná. Ukazuje úskalí této navržené metody a nabádá buď k další optimalizaci nebo k volbě zcela jiného metodického přístupu.

K diplomové práci mám pouze jednu výtku. U hmotnostních spekter, která jsou uvedena např. na obrázcích 28, 29, 32, 33, chybí v legendě upřesnění, že se jedná o spektra měřená v lineárním módu. Dále by měly být ve spektrech pro lepší přehlednost označeny pouze píky s vyšší intenzitou (zde jsou v dolní části spektra často nečitelné, překrývající se číselné údaje) a hodnoty m/z by měly být zaokrouhleny na celé číslo (bez desetinných míst), což souvisí s přesností měření v lineárním módu.

Diplomantce bych ráda položila jednu otázku: *Uvedla byste důvody proč přítomnost lysozymu v bakteriální suspenzi nepřispěla k obohacení hmotnostních spekter?*

Závěrečné hodnocení: Bc. Lucie Holubová zavedla metody pro stanovení aktivity lysozymu, imobilizovala lysozym na magnetické nosiče a pomocí hmotnostní spektrometrie odzkoušela vliv lysozymu na bakteriální suspenze. Všechny zadané cíle splnila, proto celkově hodnotím diplomovou práci známkou **výborně**.

V Hradci Králové dne 19.5. 2010


doc. Ing. Lenka Hernychová, Ph.D.