

Posudek oponenta

Autor práce: Zuzana Saňáková

Název práce: Chromatografické metody pro purifikaci rekombinantních proteinů

Typ práce*: Bakalářská

Jméno oponenta práce:
Ing. Štěpán Koudelka, Ph.D.

Kritérium hodnocení		Hodnocení						
		A	B	C	D	E	F	nelze hodnotit
1	rozsah práce, vyváženost rozsahů jednotlivých částí a jejich strukturovanost		X					
2	kvalita literární rešerše (např. množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru)		X					
3	naplnění cílů podle zadání práce a poznatků z literární rešerše	X						
4	správnost a úplnost legend u obrázků a tabulek (např. srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)		X					
5	správnost používání citačních odkazů (např. přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací)			X				
6	výstižnost souhrnu práce v českém a anglickém jazyce		X					
7	grafická úprava textu a obrázků		X					
8	jazyková a stylistická úroveň, respektování platné nomenklatury a terminologie		X					
9	volba vhodných experimentálních metod	X						
10	srozumitelnost a výstižnost popisu používaných metod		X					
11	úroveň zpracování experimentálních dat			X				
12	adekvátnost interpretace dílčích experimentálních dat			X				
13	diskuze (souhrn získaných výsledků a jejich začlenění do kontextu dosavadního výzkumu)			X				

Poznámka 1: Pokud charakter práce nedovoluje použít některé z Kriterií hodnocení, použijte sloupec "nelze hodnotit"

Poznámka 2: Hodnocení křížkujte

Poznámka 3: Do výsledné známky se započítávají jen hodnotitelné položky

* - doplňte „bakalářská“ nebo „diplomová“

Známka

C

Konkrétní připomínky a dotazy (možno připojit samostatný list), slovní zhodnocení proč oponent hodnotil tímto způsobem (zejména při horším známkování)

Autorka v předložené bakalářské práci zpracovala téma „Chromatografické metody v purifikaci rekombinantních proteinů“. V literárním přehledu jsou sumarizovány chromatografické metody zaměřené na kapalinovou chromatografii. Kapitoly věnované metodám gelové permeační chromatografie (GPC) a iontové výměnné chromatografie (IEC), které byly použity při experimentech, detailně popisují princip metod, typy gelů, matric a nosičů, mobilních fází a dále jejich použití a aplikace. Dále jsou v literárním přehledu popsány metody, chromatofokusace, afinitní chromatografie a vysokoúčinné kapalinové chromatografie, které jsou aplikovatelné pro separaci proteinů. Literární přehled je strukturován logicky s minimem překlepů.

V experimentální části autorka použila metody GPC a IEC pro separaci polymorfního imunoglobulinu IgA (analyt) od ostatních proteinů ve vzorku lidské plasmy. V preparativním chromatografickém uspořádání byly jímány jednotlivé frakce, ve kterých byla následně detekována přítomnost analytu pomocí elektroforézy v gradientovém gelu. Z výsledků autorka závěrem uvádí, že pro tento typ analýzy je vhodnější použití GPC metody s ohledem na purifikaci a separaci analytu a také jednoduššího provedení analýzy.

K bakalářské práci mám následující připomínky:

- cíle práce jsou splněny, ale název práce neodpovídá obsahu ve smyslu separace rekombinantních proteinů
- str. 39., rovnice stanovení účinnosti kolony je špatně, její správná formulace je: $n = 16 \cdot (t_r/t_w)^2$, n – počet teoretických pater, t_r – retenční čas, t_w – šířka píku při základně (existuje i formulace s poloviční výškou píku)
- str. 52, ř. 3, nejasná formulace, u GPC se proteiny separují díky odlišné molekulové hmotnosti
- str. 52, ř. 8-10, popisuje mrtvý a eluční objemy Tabulky 3 (str. 46), ve které jsou ale uvedeny pouze eluční časy
- použitá literatura by měla obsahovat vyšší počet odborných recenzovaných nebo impaktovaných publikací
- chyby v citacích: Scott, 2003 není jednoznačný odkaz, v seznamu jsou 2 publikace Scott, 2003; Keller & Giddings, 2016 citován s opačným pořadím autorů; apod.

Dotazy:

- 1) Lze na základě provedených experimentů stanovit molekulovou hmotnost polymerního imunoglobulinu IgA?
- 2) Z obrázku 12 není patrný rozpad polymerního imunoglobulinu IgA na řetězce těžký, lehký a J za redukčních podmínek. Byla identita potvrzena? Jaké byly molekulové hmotnosti řetězců?
- 3) Z jakého důvodu byla provedena centrifugace vzorku před analýzou? Proč byl centrifugovaný vzorek analyzován pouze u metody IEC?

Závěr: práci doporučuji k obhajobě