

## **Posudek školitele bakalářské práce studentky Pavlína Kočové**

### **Bakalářská práce „Identifikace diferenciálně exprimovaných proteinů v savčích buňkách v průběhu infekce virem s využitím bioortogonální chemie (L-azidohomoalaninu)“**

Pavlína Kočová nastoupila do naší laboratoře v dubnu 2013. Jako studentka oboru Biomedicínská laboratorní technika projevila zájem o téma zaměřené tak trochu infekčně, současně se ale nebránila ani biochemii. Téma práce jsme proto měli vybrané velmi rychle, protože úzce souviselo s aktuálními projekty v laboratoři.

Bioortogonální chemie v kombinaci s tzv. Click reakcí je použitelná v různých vědeckých oborech a umožňuje sledovat dynamiku živých systémů, v některých případech dokonce real-time sledování. U bakalářské práce Pavlína jsme se proto zaměřili na sledování změn v proteosyntéze infikovaných buněk, kdy bioortogonální chemie umožňuje identifikaci pouze proteinů tvořených v daném časovém úseku infekce bez kontaminací staršími dosud nedegradovanými proteiny.

Pavlína mohla při své práci navázat na předchozí zkušenosti členů laboratoře s Click chemií, přesto ale její práce představuje vytvoření nového, dosud nepoužívaného, postupu pro detekci a následnou purifikaci a identifikaci takto značených proteinů z infikovaných buněk.

Jako studentka oboru Biomedicínská laboratorní technika neměla Pavlína ve svém druhém roku studia nikterak závratné zkušenosti s metodami v biochemii, přesto se jí nezalekla a velmi rychle teoreticky i prakticky zvládla všechny potřebné postupy a velmi rychle začala pracovat téměř samostatně. Z mého pohledu velmi vhodným způsobem přijala a následně velmi rychle se vypořádala s prvními problémy, které se objevily – ukázalo se totiž, že i v případě použití azidohomoalaninu nefunguje systém streptavidin-<sup>biotin</sup>~~avidin~~ tak, jak bychom očekávali a tím jen potvrdila naše předchozí zkušenosti, díky kterým jsme tento systém již téměř úplně opustili.

Postupně se Pavlíně podařilo naznačit nově tvořené proteiny v infikovaných buňkách pomocí bioortogonální a Click chemie a purifikovat je. Další problémy se

objevily až v konečném kroku a to při identifikaci proteinů pomocí hmotnostní spektrometrie. Tady je potřebné říct, že to není neúspěch studentky, důvodem jsou spíše problémy při MS analýze, které jsou ale zvládnutelné a tak v budoucnu předpokládám úspěch i v tomto směru.

Kromě experimentální práce je součástí povinností bakalářského studenta i sepsání samotné práce. Co se týče psaní práce, podobně jako mnozí kolegové Pavlína, i ona začala psát trochu později a rozběh byl o něco pomalejší. Velmi brzo se to změnilo a Pavlína byla schopná sepsat a dokončit práci dokonce v předstihu a stala se tak jednou z velmi mála studentek a studentů v naší laboratoři, která se nemusela stresovat tím, jestli stihne odevzdat práci na studijní oddělení.

Závěrem hodnotím Pavlínu Kočovou jako velmi šikovnou a schopnou studentku a jsem velmi rád, že se rozhodla pokračovat v práci u nás i v průběhu magisterského studia.

Předloženou bakalářskou práci tedy doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích, dne 29.5.2014



RNDr. Ján Štěrba, Ph.D.