Posudek oponenta bakalářské práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Karolína Janoušková

Název práce: **Charakterizace rekombinantní myší glutamátkarboxypeptidasy III**

A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označte **právě jednu** z možností)

1. Rozsah BP a její členění	
X	A - přiměřené, odpovídají charakteru BP a významu jednotlivých částí
	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
	N - nedostatečné

2. Odborná správnost	
X	A - výborná, bez závažnějších připomínek
	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
	C - uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami
	N - nevyhovující, s hrubými chybami

3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů	
X	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejm. v umístění odkazů, nebo s celkově nižším počtem citací
	C - s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, přednášky, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat
	N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)

4. Jazyk práce	
	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
X	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
	C - upokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

5. Formální a grafická úroveň práce	
X	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo četnějšími drobnými chybami
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Jedná se o pěknou bakalářskou práci, ve které se autorka zabývala purifikací rekombinantní ektodomény myší glutamátkarboxypeptidasy III (GCPIII) exprimované v eukaryotickém expresním systému a charakterizací kinetických vlastností připraveného enzymu. Autorka nejdříve úspěšně připravila požadovaný enzym a poté stanovila kinetické parametry K_M a k_{cat} v reakcích se substráty NAAG, BCG a $PteGlu_2$. To následně umožnilo srovnání myší verze GCPIII s lidským ortologem. Dále byla v práci porovnána aktivita dimerní a monomerní formy GCPIII a bylo zjištěno, že monomerní forma vykazuje výrazně nižší aktivitu.

Formální úroveň práce je dobrá, výskyt překlepů či formulačních nejasností je relativně malý. Nicméně mám několik drobných připomínek: 1. na některých stranách (např. str. 1) zůstalo příliš volného místa; 2. číslovky 1-10 by bylo v řadě případů vhodnější psát slovně; chromozom má raménka (nikoli ramínka, str. 2); autorka občas používá hantýrku (např. str. 5 ….vedou ke snížení glutamátu …., spíše by mělo být …vedou ke snížení koncentrace glutamátu….), název kapitoly 3.1.3. „Další“ by mohl být více rozveden, např. „Další použitý materiál a chemikálie“.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě
1. Na str. 22 je uvedeno, že purifikace GCPIII byla prováděna při teplotě 4 °C, aby protein nedenaturoval? Je to ten hlavní důvod, proč se purifikace rekombinantních proteinů často provádí při této teplotě? 2. V práci porovnáváte aktivity monomerní a dimerní formy GCPIII. Myslíte, že testované vzorky obsahovaly pouze monomerní či dimerní formu enzymu? 3. Co způsobuje, že velká část proteinu je přítomna ve formě neaktivního protomeru? Jaká část proteinu je odpovědná za dimerizaci GCPIII a jak velký je dimerizační povrch? 4. Lze s použitím strukturních dat vysvětlit pozorované katalytické rozdíly mezi myší a lidskou GCPIII?

Stanovisko k opravě chyb v práci:
opravný lístek/oprava v textu **NENÍ** podmínkou přijetí práce

C. Celkový návrh

Navrhovaná celková klasifikace: výborně

Datum vypracování posudku: 4.6. 2019

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): prof. RNDr. Tomáš Obšil, Ph.D.