

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče: **Bc. Filip Wichterle**

Název práce: **Produkce cysteinových katepsinů a strukturní charakterizace jejich interakce s peptidomimetickými inhibitory**

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

1. Rozsah DP a její členění	
X	A - přiměřené, odpovídají charakteru DP 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	
	A - výborná, bez závažnějších připomínek
X	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. :

Práce je logicky členěna a srozumitelná, dobře se čte. Práce je metodicky bohatá. **Práci doporučuji k obhajobě s klasifikací výborně.**

Níže uvádím pouze mírné nedostatky, o kterých si myslím, že by je autor měl znát:

- Používání pojmu „*aminokyselina*“ namísto „*aminokyselinový zbytek*“ (obecně), konkrétně pak např. místo cystein a arginin může být cysteinový a argininový zbytek nebo cysteinyl a arginyl.
- Názvy restrikčních endonukleas: místo *NotI*, *Xho I*... má být *NotI*, *XhoI* (kursiva)
- Výraz „neoptimálnější“ (viz str. 54, řádek 3) nemá z pohledu definice „*optima*“ smysl.
- legenda obr. 13 a 14 - místo výrazu „*standardu molekulových hmotností*“ má být např. „*standardu délek DNA*“
- prosím, aby se autor v budoucnosti vyvaroval chyb na obr. 15. Pro požadovaný účel je nutné prezentovat **lineární** průběh reakce změna vs. čas (popř. směrnice), tj. zvolit vhodné množství vzorku. Prezentovaný typ dat se dle mého názoru ani nehodí pro kvalitativní natož pak pro kvantitativní posouzení míry exprese katepsinů u jednotlivých klonů transformantů. Pravděpodobně mělo být použito podstatně menší vzorku (kultivačního média)

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

Otázka 1:

Předpokládám, že je na obr. 22 (str. 59) prezentována závislost *relativní aktivity* katepsinů na koncentraci inhibitorů, přičemž osa y je mylně označena jako *% inhibice*.

Jaký byl počet nezávislých měření (*n*) a jaká regresní rovnice byla použita? Prosím, zdůvodněte její použití.

Otázka 2:

Při měření účinnosti inhibice byly před přidavkem fluorescenčního substrátu (zahájení reakce) katepsiny 10 min preinkubovány s příslušným inhibitorem. Dokázal by autor diskutovat průběh enzymové reakce v čase (fluorescence versus čas) při zahájení reakce přidavkem enzymu?

Otázka 3:

Prosím autora aby detailněji vysvětlil Obr. 16 a důvod jeho prezentace v práci? Jsou na elektroforeogramech přítomny proužky požadovaných expresní produktů? Byla použita negativní kontrola (např. netransformovaný kmen *P. pastoris*)?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **NENÍ** (zakroužkujte) podmínkou přijetí práce

Stanovisko k výsledku automatické antiplagiátorské kontrole práce aplikací „TURNITIN“:

procento shody s jinými texty v databázi: Jedná se o **PRÁCI ORIGINÁLNÍ**

C. Celkový návrh

Navrhovaná celková klasifikace: **VÝBORNĚ**

Datum vypracování posudku: 6. 9. 2022

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): Zdeněk Knejzlík