

Posudek oponenta

na diplomovou práci Šárky Pokorné
„Vliv nevodných rozpouštědel a iontů na strukturu a stabilitu
 α -laktalbuminu“

Předkládaná diplomová práce se zabývá studiem konformačních stavů α -laktalbuminu indukovanými jednosytnými, ve vodě rozpustnými alkoholy a vlivem teploty na stabilitu α -laktalbuminu. Pro sledování změn struktury byly zvoleny metody derivační a diferenční spektroskopie, které omezují informace o změnách molekuly na okolí aromatických aminokyselinových zbytků, ale přesto si myslím, že získané experimentální výsledky přesvědčivě dokumentují nejen změny struktury v okolí chromoforních skupin, ale v jistém zobecnění i celé molekuly.

V teoretické části diplomové práce autorka velmi komplexně přibližuje soudobé znalosti o molekule α -laktalbuminu (jeho strukturu, funkci a především závislost stability proteinu na koncentraci kationtů, na teplotě a přítomnosti perturbantů).

Z formálního hlediska bych rád zdůraznil, že se v textu téměř nevyskytují překlepy a celá práce je standardně členěna a sepsána velmi čtivým a srozumitelným způsobem. Jediný nedostatek spatřuji pouze v chybně uvedených odkazech na obrázky na straně 40 a 66.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

1. Diplomová práce je nazvána „Vliv nevodných rozpouštědel a iontů na strukturu a stabilitu α -laktalbuminu“. Rád bych se zeptal, proč byl v experimentální části vliv iontů na stabilitu α -laktalbuminu opomenut.
2. Dále by mě zajímalo, proč byly vybrány právě jednosytné alkoholy, a ne jiná rozpouštědla?
3. Vliv studovaných jednosytných alkoholů methanolu, ethanolu a prop-2-olu na molekulu α -laktalbuminu byl sledován v rozmezí hmotnostních procent rozpouštědla od 0 až do 52 popř. 56%, z čehož vyplývá moje další otázka: Proč nebyly sledovány strukturální změny α -laktalbuminu i při vyšších koncentracích zvolených perturbantů?
4. V závěrečném shrnutí výsledků je uvedeno, že při perturbaci α -laktalbuminu jednosytnými alkoholy protein přechází do stavu „molten globule“. Z tohoto závěru vyplývá moje další otázka: Kterými z použitých metod bylo prokázáno popř. by bylo možné prokázat, že nativní struktura α -laktalbuminu přechází v přechodný stav tzv. „molten globule“ nebo přímo v denaturovaný protein?

5. V práci je uvedeno, že dochází k výraznému zvětšení absorpce fenylalaninu v důsledku zvýšení koncentrace z 43 na 52% ethanolu, zatímco ve spektrech proteinu perturbovaného methanolem k podobnému jevu nedochází (str.57). Čím si uvedený jev vysvětlujete?

Uvedené připomínky hodnotím jako nezávažné a v žádném případě nesnižují hodnotu práce, kterou považuji za velmi vysokou. Proto práci plně doporučuji k obhajobě a k dalšímu řízení.

Navrhuji předloženou práci hodnotit známkou „**výborně**“.

V Praze, 10. 9. 2008

Mgr. Karel Naiman

