

ERRATA

(k bakalářské práci: „ Enzymatické modifikace GlcNAc – thiazolinových inhibitorů β -N-acetylhexosaminidas; autorka Ingrida Šmeringaiová)

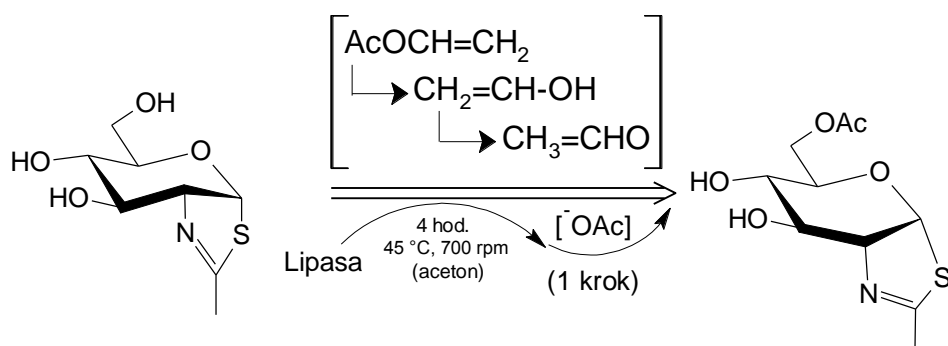
Strana 22 – zdroj vektoru hexosaminidasy ze *S.plicatus*

Streptomyces plicatus – vektor pET15b (GeneArt®, Life Technologies)

Strana 29 – oprava postupu SDS elektroforézy

Pro prozkoumání čistoty frakcí z afinitní chromatografie byla použita SDS-PAGE. Standardním postupem byl připraven gelový sendvič, mezi skla byl nalit 10% separační gel (4 ml destilovaná H_2O ; 3,3 ml 30% w/v roztok akrylamidu; 2,5 ml 1,5M Tris pH 8.8; 100 μ l 10% SDS; 100 μ l 10% amonium persulfát; 4 μ l TEMED) a přelit n-butanolem. Po ztuhnutí gelu byl nalit zaostřovací gel (2,7 ml destilovaná H_2O ; 670 μ l 30% roztok akrylamidu; 500 μ l 1,5M Tris pH 6.8; 40 μ l 10% w/v SDS; 40 μ l amonium persulfát; 4 μ l TEMED), do něhož byl vsunut hřebínek. Mezitím byly připraveny vzorky enzymu. Z každé frakce z afinitní chromatografie bylo do PE mikrozkušavky pipetováno 15 μ l vzorku, do kterého byly přidány 4 μ l barviva (zásobní roztok - 0,25 g Coomassie Blue Brilliant, 90 ml voda/methanol (1:1), 10 ml 99% kyseliny octové). Obsah byl chvíli homogenizován na Vortexu. Takto připravené vzorky ze všech frakcí byly inkubovány 5 min při 99 °C v termomixeru, a pak byly centrifugovány (13 500 g \times 2 min). Tyto vzorky byly v množství 5 μ l pipetovány do jamek SDS gelu. Do první jamky každého gelu byl pipetován proteinový marker (molekulové hmotnosti - 97, 66, 45, 30, 14, 4 kDa). Elektroforéza probíhala cca 1 hodinu při 130 V, 75 A, 15 W, v 1 \times koncentrovaném elektrodovém pufru, který vznikl naředěním 5 \times koncentrovaného zásobního pufru o složení: Tris (15,1 g, 0,125 mol), Glycin (94,0 g, 1,252 mol), SDS (10% w/v) (50 ml), 900 ml destilovaná H_2O .

Strana 32 – oprava Obr. 13



Strana 28 a 37 – podmínky exprese

- strana 28: místo „4 litrové baňky“ má být „4 \times jednolitrové baňky“, do každé litrové baňky bylo nalito 0,5 litru média

- strana 37: správně, jedná se o litrové baňky (stejně jako strana 28), a do každé nalito 0,5 litru média

Strana 38 a 39 – statistické vyhodnocení výsledků a změna měřítka osy x v grafech

- čísla nad sloupci v grafu opovídají směrodatní odchylce σ , pro počet měření jednoho radu 3

