

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : **Jiří Zahradník**

Název práce: Purifikace a charakterizace vybraných enzymů z *Rhizobium radiobacter* R89 katalyzujících oxidačně-redukční reakce na uhlíku C-hydroxylovaných morfinových skeletů

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 - uspokojivý, 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.:

Diplomová práce studenta Jiřího Zahradníka je napsána srozumitelně, vyskytuje se v ní menší množství překlepů a neobratných vyjádření či opominutí, které však většinou nebrání ve správném pochopení textu. Ne zcela jednotně a správně jsou psány výrazy jako ethan, ethyl atd., pro psaní názvů enzymů uchazeč zvolil možnost s koncovkou -áza. Za největší nedostatek práce považuji některé chybějící údaje v kapitole č. 4.2 Metody, což by mohlo zkomplikovat jejich pozdější reprodukovatelnost. Občas se vyskytují menší nepřesnosti jako je odkaz na jinou kapitolu v textu, chybějící část obrázku elektroforézy, ze které autor odečítal nejlepší podmínky exprese (str. 58). Chromatogram z purifikace enzymu NGTNR (str. 61) ne zcela přesně odpovídá následné analýze pomocí SDS elektroforézy. Domnívám se, že tyto chyby vznikly patrně zkracováním původně rozsáhlejšího textu diplomové práce. Všechny připomínky jsem s Bc. Jiřím Zahradníkem již osobně konzultovala a případné nejasnosti byly vysvětleny. Na druhou stranu musím vyzdvihnout množství výsledků, kterých autor během vypracování diplomové práce dosáhl a které ani všechny nemohly být do práce zařazeny.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

- 1) Pro amplifikaci genu scMDH (morfin dehydrogenasa s krátkým řetězcem) jste použil dvojici primerů s poměrně dost odlišnou teplotou tání (64°C a 86°C) a navíc u zpětného primeru je tato teplota neobvykle vysoká. Neměl jste s tímto velkým rozdílem teplot při PCR reakci problémy? Případně jak jste je řešil?
- 2) Látky morfinové řady jste analyzoval zejména prostřednictvím HPLC a detekce byla prováděna při 281 nm. Běžně se pro stanovení látek s aromatickým kruhem využívá 280 nm. Má Vámi zvolená vlnová délka nějaký důvod?
- 3) Nová glycerol trinitrát reduktasa (NGTNR) patří do široké rodiny tzv. starých žlutých enzymů (OYE). Tyto proteiny ve své molekule obsahují FMN. Ví se jakým způsobem je v NGTNR FMN vázán? Nedošlo při expresi a následné purifikaci ke ztrátě tohoto kofaktoru? Stanovoval jste nějakým způsobem obsah FMN ve výsledném preparátu NGTNR?
- 4) Jaká by mohla být fyziologická funkce Vámi studovaných enzymů NGTNR a scMDH?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

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

C. Celkový návrh

Práci **doporučuji** k přijetí k dalšímu řízení: **ANO** / **NE**

Navrhovaná celková klasifikace: výborně

Datum vypracování posudku: 23. 5. 2013

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): RNDr. Věra Černá, Ph.D.