

## Posudek oponenta bakalářské práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : **H. ILLICHOVÁ**

Název práce: **Příprava rekombinantního kathepsinu C z krevničky střevní**

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

<b>1. Rozsah BP a její členění</b>	
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
	<b>N - nedostatečné</b>

<b>2. Odborná správnost</b>	
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
	<b>N - nevyhovující, s hrubými chybami</b>

<b>3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů</b>	
	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
x	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
	<b>N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)</b>

<b>4. Jazyk práce</b>	
	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
	<b>N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami</b>

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

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Autorka se seznámila se základními molekulárně biologickými technikami, které se při studiu funkce a vlastností rekombinantních proteinů používají. Konkrétně se uchazečka pokusila připravit rekombinantní kathepsin C z krevničky střevní ve dvou rozdílných expresních systémech. Po formální stránce je práce členěna obvyklým způsobem, vyhovujícím pracím obdobného charakteru.

**ad 1 a 3.** V úvodu se autorka věnuje problematice onemocnění způsobeného různými druhy krevniček. Nicméně postrádám úvod do použité metodiky tj. různých možností heterologní exprese proteinů. Dále v kapitole „Výsledky“ autorka uvádí některé informace, které by měly být uvedeny spíše v kapitole „Metody“ a jiné, které naopak typicky zařazujeme do kapitoly „Diskuse“. Také kapitola „Diskuse“ je spíše shrnutím výsledků, popřípadě plánů na další výzkum – postrádám srovnání dosažených poznatků s literaturou, případně kritické zhodnocení výsledků. Zarážející je, že v celé kapitole „Diskuse“ není jediný literární odkaz!

**ad 2 a 4.** Další připomínku mám k některým neobratným formulacím („samice... mají vyšší specifickou aktivitu než samci“ na str. 17 atd.) a k používání neoborných výrazů („na elektroforézu ... bylo nanášeno“ na str. 26; „buňky byly rozetřeny“ na str. 23 atd.). Na str. 23 není zcela jasně popsáno jakým způsobem byla učiněna selekce transformovaných buněk *P. pastoris*.

**ad 5.** Práce navíc obsahuje celou řadu překlepů, nepřesností a formálních pochybení (např. nejednotný styl zápisu enzymů – „peptidázy“ na str. 47 vers. „proteasy“ na str. 9; „thiol“ je uveden místo thiolátu na str. 10 atd.). Dále není příliš pečlivě vypracována část „Materiál a metody“ – chybí např. zdroj použité T4 DNA ligasy nebo ampicilínu. Velmi nešťastné je přehození str. 39 se stranou 40.

Na druhou stranu je třeba vyzdvihnout, že práce poskytuje zajímavé předběžné výsledky a využívá velmi rozmanitou paletu moderních technik. Velkou výhodou uchazečky je participace v početné výzkumné skupině, která umožňuje uchazečce přístup k řadě unikátních postupů a přístrojů. Většinu z výše zmíněných připomínek lze jistě přičíst nezkušenosti autorky a tomu, že se jedná o její první vědeckou práci. Předloženou diplomovou práci hodnotím celkově kladně a doporučuji ji k obhajobě.

## B. Obhajoba

### Dotazy k obhajobě

1. Ve své bakalářské práci jste studovala dva expresní systémy pro přípravu rekombinantního proteinu kathepsinu C původně z krevničky střevní (konkrétně expresi v kvasince *Pichia pastoris* a prvokovi *Leishmania tarentolae*). Byla v minulosti vyzkoušená exprese cílového proteinu také v *E. coli*? Proč jste nepoužila tento nejjednodušší expresní systém?

2. Na str. 49 na obr. 27 je uveden výsledek amplifikace úseku DNA studovaného proteinu pomocí metody PCR pro klonování do plazmidu pLEXY-sat2. Celkem byly připraveny 4 konstrukty. Podle obr. 26 na str. 48 by konstrukty 1 a 3 měly být kratší než konstrukty 2 a 4. Proč jsou však na obr. 27 kratší konstrukty 1 a 2?

3. V práci uvádíte, že inhibitor kathepsinu C by byl vhodným terapeutickým nástrojem v případě léčby člověka infikovaného krevničkou střevní. Na druhou stranu uvádíte, že kathepsin C je přítomen ve většině tkání savců a plní řadu klíčových funkcí. Prosím, vyjádřete se k tomu, že by případný inhibitor kathepsinu C z krevničky pravděpodobně inhiboval i daný protein fyziologicky přítomný v těle hostitele.

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **NENÍ** podmínkou přijetí práce

## **C. Celkový návrh**

Navrhovaná celková klasifikace: **bude záviset na výkonu u obhajoby práce – předběžně  
VÝBORNĚ**

Datum vypracování posudku: 31. 5. 2015

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): Doc. RNDr. Markéta Martínková, Ph.D.