

## Oponentský posudek diplomové práce Martina Černého „Izolace a charakterizace fosfoenolpyruvátkarboxylasy ze semen *Zea mays*“

---

Diplomová práce Martina Černého se zabývá velice zajímavou problematikou. Jde o studium rostlinné fosfoenolpyruvátkarboxylasy (PEPC), enzymu, který hraje významnou úlohu v několika klíčových dějích rostlinného metabolismu. Práce se konkrétně zabývá enzymem přítomným v semenech kukuřice, jedná se tedy o studium nefotosynthetické formy enzymu. Volbu kukuřice jako modelové rostliny považuji za velice vhodnou. Jedná se o C4 rostlinu, jejíž fotosynthetická forma PEPC patří mezi nejlépe prozkoumané PEPC vůbec. Poznatky získané v diplomové práci tedy mohou být porovnány s touto formou enzymu. Z diplomové práce je patrné, že se autor seznámil se širokou škálou metodik, které se používají v enzymologických studiích. Jsou to metody užívané pro izolaci enzymu (různé typy chromatografií), elektroforesa, spektrofotometre, kinetické studie. Zvládnuté metodické postupy pak kolega Černý aplikoval ve vlastní experimentální práci. Výsledky diplomové práce jsou vysoce hodnotné. Martinu Černému se podařilo izolovat PEPC ze semen kukuřice ve vysoce čisté formě a detailně charakterizovat její základní vlastnosti. Za velice podstatné výsledky považuji poznatky získané ze studia úlohy fosforylace enzymu v regulaci (modulaci) enzymové aktivity PEPC a výsledky získané studiem současného působení několika modulátorů na funkci enzymu. Odborná úroveň práce je tedy vysoká. Tvoří, dle mého názoru, velice dobrý základ pro další výzkum nutný k řešení problematiky studované v laboratoři školitelky Martina Černého, RNDr. Heleny Ryšlavé, CSc. Výsledky získané v diplomové práci doporučuji co nejdříve publikovat v hodnotném impaktovaném časopise.

Drobným problémem diplomové práce Martina Černého je však způsob presentace výsledků. Autorovi bych doporučila soustavnou práci s českou literaturou a trénink ve formulaci a popisu experimentů v českém jazyce. Práce rovněž obsahuje mnoho výrazů z laboratorního slangu, které nejsou pro diplomové práce vhodné (např. **odsolený** enzym, stupeň **načištění** enzymu, **naměřené** výsledky, v **dubletech**, **housekeeping**).

K práci mám následující dotazy a připomínky:

- 1) V práci je uváděna zkratka pro koncentrace inhibitoru způsobující 50% poklas aktivity jako  $I_{50}$ . Doporučuji používat raději  $IC_{50}$ .
- 2) Jak je definována jednotka enzymové aktivity (v práci označovaná zkratkou U) a kde je v práci uvedena?

- 3) Proč se kapitola 3.2.1 nazývá GENOM KUKUŘICE? Tato kapitola o genomu kukuřice nepojednává.
- 4) Kapitola 3.8 „Stanovení fosfátu“. Není zřejmé o jaké metodě se v kapitole píše. Jedná se o metodu popsanou v kapitole 2.4.13? Upozorňuji však na to, že ani v kapitole 2.4.13 metoda není přesně popsána.
- 5) V práci jsou diskutovány vlastnosti enzymu, PEPC, i z jiných rostlin než kukuřice. Jednou z nich je autorem onačovaný ricin. Tomuto označení nerozumím. Ricin není rostlina. Jedná se o rostlinu skočec?
- 6) V diskusi na str. 59 je v poslední větě před kapitolou 4.7 uvedena věta: „Celý navržený model je ukázán na Obr. 50 (str 61)“. Doporučuji doplnit informaci o model „čeho“ se jedná.

**Závěr:**

Diplomová práce Martina Černého dle mého názoru splňuje požadavky kladené na diplomové práce studijního oboru Biochemie. Proto ji plně doporučuji k přijetí k obhajobě a dalšímu řízení.

V Praze, 27.5.2007



Doc. RNDr. Marie Stiborová, DrSc.