

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Bc. Renata Rybáriková

Název práce: Rekombinantní exprese a funkční charakterizace rostlinných Kunitzových inhibitorů

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	
x	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
	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	
	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
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Diplomová práce Bc. Renaty Rybárikové je velmi kvalitně sepsána. Tematika peptidasových inhibitorů je v rámci teoretického úvodu zpracována velmi přehledně a podrobně, odkazuje se na řadu předchozích studií a graficky vhodně doplněna. Mé výhrady k odborné správnosti a

formální úroveň práce se váží zejména na metodologickou sekci, kde při popisu některých metod nejsou vždy uvedeny koncentrace reagentů, jsou zaměňovány desetinné čárky a tečky a číslování kapitoly "Metody" je zjevně omylem shodné s kapitolou „Materiály" a na metodickou část se dále ve výsledkové části odkazuje chybně. Při sepisování případně další akademické práce zahrnující molekulární klonování bych také studentce doporučila uvádět přesné sekvence genů, případně mapu plasmidu (například v přílohové části).

Rozsah výsledků a jejich podrobná a kriticky orientovaná diskuze svědčí o tom, že studentka se tématu věnovala poměrně rozsáhle a porozuměla řadě biochemických metod. Na její práci budou zřejmě navazovat další projekty v laboratoři Dr. Michaela Mareše. I přes drobné formální chyby a odborné nedostatečnosti hodnotím práci velmi pozitivně a doporučuji ji k obhajobě.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

1. Vzhledem k tomu, že proteinový inhibitor rPDI byl purifikován z expresního média a jeho koncentrace v jednotlivých frakcích je na všech prezentovaných gelech velmi nízká, je velmi těžké okometricky odhadnout, jaká je účinnost jednotlivých kroků purifikace a jsou-li všechny purifikační kroky efektivní? Mohla byste prosím průběh purifikace kriticky zhodnotit?
2. Inhibiční specifita rPDI je srovnávána s nativním PDI, získaným zřejmě v rámci laboratoře Dr. Mareše z lilku brambor. Mohla byste stručně uvést, jak byl nativní PDI izolován a byla-li s takto připraveným vzorkem zkoušena krystalizace? Případně bylo odstranění glykosylace u rPDI (oproti nativnímu PDI) během rekombinantní exprese motivováno dřívějšími krystalizačními pokusy a nebo bylo cílem rekombinantní exprese zejména navýšení výtěžku a čistoty proteinu?
3. Účinnost připravených inhibitorů byla v rámci práce testována na několika různých aspartátových a serinových peptidasach, a to s velmi různou výslednou škálou hodnot IC50. V práci se mi nikde nepodařilo dohledat, jaké byly řádové koncentrace testovaných peptidas a vyvodit, zda-li v některých případech nemohla mít zvolená koncentrace vliv na hodnotu IC50. Prosím můžete tuto informaci doplnit?
4. Při čtení teoretického úvodu mě zaujala strukturní rozmanitost proteinových inhibitorů peptidas obecně. Jedná se také o proteiny velmi různých velikostí, jejichž uspořádání v mnoha případech naznačuje ještě další biologické funkce. Můžete prosím shrnout, jak často jsou evidovány u těchto proteinů další paralelní funkce (kromě inhibice proteas/peptidas)?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

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

Prosím o opravu číslování sub-kapitol v sekci 3, kde sub-kapitola Materiály (3.1) a Metody (3.1) a jejich součásti mají shodné číslování, zatímco v textu jsou odkazy na části Metody vedeny jako 3.2.xx

Stanovisko k výsledku automatické antiplagiátorské kontrole práce aplikací „TURNITIN“:

procento shody s jinými texty v databázi

jedná se o **PRÁCI ORIGINÁLNÍ**/ ~~**PLAGIÁT**~~ (zakroužkujte) - v případě, že je podezření, že posuzovaná práce je plagiát, prosím zdůvodněte

C. Celkový návrh

Navrhovaná celková klasifikace (výborně, velmi dobře, dobře, neprospěl): **VÝBORNĚ**

Datum vypracování posudku: 5.7.2021

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): Klára Hlouchová