

## Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : **Tomáš Ječmen**

Název práce: **Mapování protein-proteinových interakcí systému cytochromu P450 metodami chemické modifikace a hmotnostní spektrometrie**

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

<b>1. Rozsah DP a její členění</b>	
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
	<b>N – nedostatečné</b>

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

<b>3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů</b>	
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
	<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. :

V práci se vyskytuje menší množství překlepů a neobratných vyjádření, které však nebrání ve správném pochopení textu. Mezi závažnější nepřesnosti, které by mohly být pro čtenáře matoucí, patří ne zcela správné reakční schéma síťovacího činidla EDC (Obr. 2), chybně uvedené jednotky na str. 21, 25 a 26 či chybějící vysvětlení zkratk TCEP a TFA. Se studentem Tomášem Ječmenem jsme se dohodli na opravě těchto nedostatků.

## B. Obhajoba

### *Dotazy k obhajobě*

- 1) K odstranění nežádoucích detergentů emulgenu E-911 a cholátu sodného z finálních preparátů purifikace jste použil jejich adsorbci na silikagel. Ten byl do vzorku aplikován v poměru 4 mg silikagelu na 1 mg emulgenu E-911. Jakým způsobem jste stanovil množství detergentů ve vašich preparátech a jak jste se přesvědčil, že opravdu došlo k jejich odstranění?
- 2) Co vás při izolaci cytochromu  $b_5$  vedlo k zařazení dalšího purifikačního kroku, ionexové chromatografie na koloně DEAE-Sepharosy CL-6B (3)? Na SDS elektroforese eluovaných frakcí předchozí chromatografie na koloně DEAE-Sepharosy CL-6B (2) již nejsou patrné žádné kontaminující proteiny.
- 3) Podařilo se vám přesně identifikovat aminokyselinu, která byla označena fotoafinitní sondou? Jak?
- 4) Peptidové mapování komplexu cytochromu P450 2B4 a cytochromu  $b_5$  spojeného pomocí síťovacího činidla EDC identifikovalo pět interagujících párů aminokyselinových zbytků, interakce se ovšem účastní pouze čtyři interagující aminokyseliny každého proteinu. Znamená to, že lysin 19 cytochromu  $b_5$  a glutamát 424 cytochromu P450 2B4 se účastní zároveň dvou interakcí? Jak si tento výsledek vysvětlujete?

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 1

Datum vypracování posudku: 19.5.2010

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): Věra Kotrbová