

## Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : Bc. Tereza Krunclová

Název práce: Výzkum struktury  $\beta$ -N-acetylhexosaminidasy z *Penicillium oxalicum*.

### 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
	<b>N - nedostatečné</b>

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
	<b>N - nevyhovující, s hrubými chybami</b>

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
	<b>N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)</b>

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
	<b>N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami</b>

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
	<b>N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami</b>

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

V práci byla využita celá řada moderních metod výzkumu proteinů, které přinesly unikátní výsledky. Byly nalezeny oblasti, kde spolu interagují katalytická podjednotka  $\beta$ -N-acetylhexosaminidasy a její propeptid. Rovněž byly optimalizovány podmínky produkce a purifikace  $\beta$ -N-acetylhexosaminidasy z *Penicillium oxalicum*.

K práci mám pouze několik formálních připomínek:

1. na obr. 1 str. 12 je znázorněno že exoglykosidasa ( $\beta$ -N-acetylhexosaminidasa) odštěpuje ze sacharidového řetězce  $\beta$ -D-galaktosu namísto N-acetyl- $\beta$ -D-glukosamin.
2. V práci by neměly být použity hovorové výrazy jako zahuštěny, sesušeny, objemová aktivita (raději koncentrovány, odpařeny (vysušeny), aktivita vztažená na objem enzymového preparátu), nebo místo testovat na aktivitu stanovovat enzymovou aktivitu. Erlenmayerova baňka, Hamiltonova stříkačka velkými písmeny.
3. V seznamu roztoků chybí u pufrů 2. složky, např. u fosfátového pufru hydrogenfosforečnan, u citrátového pufru kyselina citronová, u pufru B je pouze koncentrace NaCl a NaN<sub>3</sub>. Není koncentrace NaN<sub>3</sub> namísto v mg uvedena v g?
4. str. 48 reakce katalyzovaná  $\beta$ -N-acetylhexosaminidasou, chybně uvedený produkt: N-acetyl- $\beta$ -D-glukosa namísto N-acetyl- $\beta$ -D-glukosamin.
5. Popisky obr. 37, 38 a 39 nejsou vyčerpávající. U obr. 37 nerozumím popisku N-nanáška vzorku na chromatograf. Obr. 38 a 39 by měly mít výstižnější popis než: "Polyakrylamidový gel po reakci EDC a  $\beta$ -N-acetylhexosaminidasy z *Penicillium oxalicum*". Není pak zřejmé, zda reakce s EDC byla provedena v gelu, nebo ve zkumavce a pak separována SDS elektroforézou, jak tomu bylo v tomto případě, avšak z popisku to nevyplývá. Raději Detekce produktů chemického zesíťení ( $\beta$ -N-acetylhexosaminidasy s EDC) po elektroforetické separaci v polyakrylamidovém gelu.

## B. Obhajoba

### Dotazy k obhajobě

1. **Jak se liší stanovení aktivity  $\beta$ -N-acetylhexosaminidasy od orientačního stanovení? Proč se jedná pouze o semikvantitativní stanovení a absorbance nemůže být v chromatogramech vyjadřována v jednotkách aktivity enzymu?**
2. **V úvodu na str. 31 uvádíte, že relativní molekulová hmotnost katalytické podjednotky  $\beta$ -N-acetylhexosaminidasy z *Penicillium oxalicum* je 65 000. Jak si vysvětlujete, že ve vašich výsledcích na obr. 36-39 má katalytická podjednotka relativní molekulovou hmotnost přibližně 55 000?**
3. **Ve vaší práci byly nalezeny a identifikovány 2 zesíťené peptidy a konkrétní aminokyseliny, mezi kterými došlo k síťení. Myslíte si, že takových míst ještě může být více? Daly by se identifikovat s využitím dalších síťovacích činidel?**

Stanovisko k opravě chyb v práci:

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

### **C. Celkový návrh**

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

Navrhovaná celková klasifikace

Datum vypracování posudku: 21.5.2012

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS):

RNDr. Veronika Doubnerová, Ph.D.