

## Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : Robert Valenta

Název práce: Kinetické vlastnosti  $\beta$ -N-acetylhexosaminidasy z rostlin tabáku

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

1. Rozsah DP a její členění	
	A - přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí
X	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
	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
X	C - uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami
	<b>N - nevyhovující, s hrubými chybami</b>

3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů	
	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>

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

5. Formální a grafická úroveň práce	
	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
X	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. :

Dle mého názoru by se mohlo jednat o pěknou práci, a to jak odborně tak i metodicky. Bohužel některé použité metodiky, jejich popis, získané výsledky a jejich interpretace mi připadají nesprávné. Podobně nevyrovnaně působí i forma textu, kdy v některých částech se připomínky školitelky pravděpodobně nepromítly do finální verze textu.

ad1 kapitola o glykosylaci proteinů (1.3.) je v rozsahu 9 stran z 22 úvodu. Dle názvu bych očekával kapitolu o enzymové kinetice, která chybí.

ad2. doporučoval bych významně bohatší metodiku a komentář výsledků, v této formě jsou nereprodukovatelné (chybí typ použitých procent, podmínky ekvibrace kolon, množství pufru pro rozpuštění precipitátů, použité koncentrace substrátů/inhibitorů ...)

ad3. nezvyklá forma citací (rok na konci), citace 4

ad4 celá řada formulačních neobratností, anglikanismů (offline), laboratorního žargonu (např. skládání proteinu, pík, slít frakce), chybějící předložky (např. preparát jsem nanesl kolonu ...).

ad5 používání zkratk bez jejich uvedení a vysvětlení při prvním použití v textu, formát nadpisů, odstavců a obrázků (obrovské mezery v textu), chybějící popisky či hodnoty (např. tab1).

## B. Obhajoba

### *Dotazy k obhajobě*

1. Na základě čeho odhadujete stanovenou relativní molekulovou hmotnost (široký eluční vrchol u gelové chromatografie S300, široký proužek získaný na nativní elektroforéze)? Jak byla hodnota odečtena? Která hodnota pohyblivosti RuBisCo byla použita (z dráhy 3 nebo 5)?

2. Na str. 51 komentujete elektroforeogram po deglykosylacích Endo H (obr. 13). Jedná se o nesprávnou interpretaci a použitou metodiku. Správné je hodnocení experimentu s ConA-Sepharosou, kde se proteiny vázaly a deglykosylace tedy neproběhla. Taková je i interpretace v závěru. Proč jste stejnou metodiku nepoužili i u ostatních deglykosylačních enzymů?

3. Proč nazýváte odsolovací krok gelovou chromatografií na koloně S300? Opravdu došlo k odsolení v případě S300(I)?

4. Finální preparát dle elektroforeogramu na obr. 12 je směsí celé řady proteinů. Proč kromě precipitace a afinitní chromatografie nebylo použito dalších separačních kroků? Všechny hodnoty aktivity (vztažené na mg proteinu) a stanovené kinetické parametry s takovýmto preparátem jsou zatíženy vysokou chybou.

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** (dle průběhu obhajoby)

Navrhovaná celková klasifikace (dle průběhu obhajoby)

Datum vypracování posudku: 4.září 2013

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): Doc. RNDr. Miroslav Šulc, Ph.D.