

## Posudek oponenta bakalářské práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Lenka Šimonová

Název práce: **Příprava glutamátcarboxypeptidasy III v savčím expresním systému**

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

1. Rozsah BP a její členění	
X	A - přiměřené, odpovídají charakteru BP 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	
X	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)
	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	
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
	<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. :

Jedná se o zdařilou bakalářskou práci, ve které se autorka zabývá přípravou rekombinantní glutamátcarboxypeptidasy III v savčím expresním systému. Autorka nejdříve zavedla savčí expresní systém HEK 293-6E a poté optimalizovala transfekční podmínky pro tento systém pomocí exprese zeleného fluorescenčního proteinu. Dále připravila pět expresních konstruktů GCPIII s použitím různých značek pro afinitní chromatografii (polyhistidinová kotva nebo Fc značka) na N- nebo C-konci. Následné testy exprese a enzymové aktivity ukázaly, že k produkci proteinu bude nejvhodnější plasmid pTT22SSP4, který produkuje GCPIII s histidinovou kotvou na N-konci, nebo plasmid pYD5 umožňující produkci GCPIII s Fc značkou také na N-konci rekombinantního proteinu. Formální úroveň práce je velmi vysoká, výskyt překlepů či formulačních nejasností je minimální.

## B. Obhajoba

### *Dotazy k obhajobě*

1. Jedna z testovaných afinitních značek byl Fc-tag. Můžete vysvětlit výhody tohoto fúzního partnera? Dále jaká je jeho velikost a rozpustnost? Počítá se s jeho odštěpením, nebo bude na GCPIII ponechán?
2. Čím si vysvětlujete, že konstrukt č. 6 (s plasmidem pTT28), který měl vysokou úroveň exprese, vykazoval mnohem nižší enzymovou aktivitu než konstrukty č. 3 a 5?
3. Je možné na základě strukturní homologie s GCPII vysvětlit proč umístění afinitní značky či jiného fúzního partnera na C-konci proteinu má vliv na enzymovou aktivitu GCPIII?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **NENÍ** podmínkou přijetí práce

## C. Celkový návrh

Navrhovaná celková klasifikace: výborně

Datum vypracování posudku: 11.6. 2017

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): prof. RNDr. Tomáš Obšil, Ph.D.