

Posudek diplomové práce Zuzany Bialkové **Chitinolytický systém anaerobní houby rodu Orpinomyces**

Diplomová práce Zuzany Bialkové se zabývá studiem chitin štěpících enzymů pocházejících z anaerobní houby žijící v žaludku, konkrétně bachoru, přežvýkavců. Symbiosa přežvýkavců s mikroorganismy dovoluje těmto živočichům využívat energii uloženou ve složitých rostlinných polysacharidech. I když enzymy degradující chitin v tomto procesu nemají patrně konkrétní úlohu, jsou důležité pro vlastní život anaerobních hub.

Z enzymologického hlediska představuje práce prvotní orientační studii. Autorka ale musela věnovat velké úsilí vytipování vlastního zdroje enzymu počínaje výběrem přežvýkavce a hodnocení jednotlivých anaerobních hub žijících v jejich žaludku až po výběr konkrétního kmene houby rodu Orpinomyces. Této části práce fakticky nerozumím a nemohu ji hodnotit.

Práce je sepsána na základě četných experimentů a pokud kandidátka zodpoví mé dotazy případně dotazy z pléna, doporučuji ji přijmout jako práci diplomovou.

Dotazy a připomínky

- Str. 17: Zná kandidátka rozdíl mezi molem a molekulou?
- Str. 20: V posledním vydání Enzymové nomenklatury (1992) už byly N-acetylglukosaminidasa a N-acetylhexosaminidasa zahrnuty pod jedno číslo, a to EC 3.2.1.52.
- Str. 21: Co mám rozumět větou... komponenty buněčných stěn jsou uhlovodíky ve formě polysacharidů...?
- Str.36 a další: Vysvětlete způsob vyjadřování aktivity enzymů. Aktivita enzymu je vlastně rychlost enzymové reakce za jistých podmínek, tzn. změna/ čas. Vy naměřené změny (absorbance) časem násobíte. Týká se všech chitinolytických enzymů. U proteas už je to správně.
- Str. 41: Metoda Bradfordové pro stanovení koncentrace proteinů je citlivá v rozsahu 2 – 20 μg proteinu, vy uvádíte hodnoty 100krát vyšší.
- Tab. 5-9: Porovnání aktivit enzymů v různých frakcích by mělo smysl, kdybyste uváděla aktivitu specifickou nebo celkovou a ne koncentraci enzymu (a/ml), když objem frakcí může být různý.
- Str.60: Nesouhlasím s tím, že denaturace proteinu znamená, že se ruší vazby.
- Str. 65, 76: Čím si autorka vysvětluje aktivační účinek jodacetátu a jodacetaminu na endochitinasu, když naopak inhibiční účinek iontů (Co^{2+} , Mn^{2+}) vysvětluje interakcí s –SH skupinami?

- Str.69: Má autorka nějaké vysvětlení pro tak širokou škálu molekulových hmotností pro jeden enzym?
- Formální nedostatky: U firem je nutné uvádět také místo působení, co to je PAB k. aminobenzoové(31), K_2SO_4 (31), dH_2O (36). Také je používán nepřijatelný laboratorní slang. Např. vzorky byly stočeny, velikost membrán místo velikost porů, d₂blet, ap. Popis obr. 18 až 22 je nedostatečný.

V Praze 15.5.2006

Doc. ⁶Jana Barthová