

Oponentský posudek bakalářské práce

Lucie Potůčková

Název práce: **Studium NADP-dependentní malátdehydrogenasy (dekarboxylační)**

Oponent: Ing. Karel Müller

Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Cílem této bakalářské práce bylo izolovat enzym NADP-dependentní malát dehydrogenasu (dekarboxylační) pro imunizaci a přípravu protilátek. Autorka též studovala aktivitu tohoto enzymu v různých tkáních kapra obecného.

Tyto úkoly zahrnují pochopení a provedení hned několika metodik. Byly použity techniky izolační, příkladem srážení síranem amonným, ionexová, gelová a velmi zajímavá a účinná afinitní chromatografie. Při izolaci je třeba sledovat požadovaný protein, zde autorka sledovala spektrofotometricky aktivitu enzymu. Elektromigrační metody byly použity mimo jiné i pro sledování čistoty purifikátu. Též práce s rostlinným i živočišným materiálem dává mnoho zkušeností pro další práci v laboratoři.

Práce je zpracována přehledně, doplněna řadou obrázků a grafů. Zde bych měl také pár připomínek. V obrázcích 1 a 3 postrádám znázornění elučních podmínek. V tabulce 1 se udávají hodnoty na 3-4 platné číslice. Pochybuji, že tato přesnost měření je s použitými metodami možná. Kromě těchto dvou připomínek a drobných formálních chyb v textu jsem nenalezl vážnější problém.

Dotazy:

- 1) Tvrdíte, že jste získala čistý enzymový preparát. V dráze 5a na obr.4 je pouze jeden pruh, ale máte ověřeno, že skutečně jde o vámi hledaný protein?
- 2) Z obr.1 nevyplývá, zda jste měřila aktivitu enzymu ve všech frakcích získaných po ionexové chromatografii. Můžete vyloučit, že v nezachycené frakci proteinů není přítomen i váš enzym?
- 3) Aktivitu enzymu jste měřila s použitím Mg^{2+} iontů jako kofaktoru. Zkoušela jste použít i jiný dvojmocný iont jako kofaktor a porovnat afinitu rostlinného a živočišného enzymu k těmto iontům?

Autorka prokázala dostatečnou schopnost orientace ve světové literatuře a třídit získané informace. Na základě výše popsaných skutečností doporučuji práci přijmout k obhajobě.