

Posudek vedoucího

Autor práce: Petr Plevák

Název práce: Příprava rekombinantního enzymu metabolismu sacharidů v sóji

Typ práce*: Bakalářská práce

Jméno vedoucího práce: RNDr. Lenka Dzurová, Ph.D

	Kritérium hodnocení	Hodnocení						
		A	B	C	D	E	F	nelze hodnotit
1	zájem o řešenou problematiku (četnost diskusí s vedoucím, znalost relevantní literatury)				X			
2	samostatnost při sepisování práce			X				
3	úroveň jazykového projevu		X					
4	pracovní aktivita			X				
5	manuální zručnost, pečlivost a spolehlivost				X			
6	samostatné provádění experimentů			X				
7	vyhodnocování a interpretace experimentálních výsledků				X			

Poznámka 1: Pokud charakter práce nedovoluje použít některé z Kriterií hodnocení, použijte sloupec "nelze hodnotit"

Poznámka 2: Hodnocení křížkujte

Poznámka 3: Do výsledné známky započítejte jen hodnocené položky

* - doplňte „bakalářská“ nebo „diplomová“

Známka	C
---------------	---

Komentář k práci, připomínky a dotazy (nepovinné), slovní zhodnocení proč vedoucí hodnotil tímto způsobem (zejména při horším známkování)

Hlavním cílem bakalářské práce Petra Pleváka bylo připravit kvasinkový expresní systém pro produkci rekombinantní α -galaktosidasy MelA z *Bacillus subtilis* var. *natto*. Předkládaná práce přináší souhrnný a ucelený teoretický přehled o sacharidech a jejich metabolismu, enzymech v něm aktivních se zaměřením především na α -galaktosidasy. Experimentální část je věnována přípravě dvou plasmidových konstruktů *pGAPZaA::MelA* a *pPICZaA::MelA* pro expresi v kvasinkách za použití metod molekulární biologie. Poté byly optimalizovány podmínky exprese rekombinantní α -galaktosidasy. Kontrola produkce α -galaktosidasy v různých typech médií byla sledována pomocí SDS-PAGE nebo spektrofotometrickým měřením enzymatické aktivity.

I přesto, že se v práci nacházejí drobné gramatické a stylistické chyby, a že se během řešení bakalářské práce nepodařilo zcela optimalizovat podmínky exprese a tím zcela naplnit stanovený cíl práce, považuji tuto bakalářskou práci za kvalitní. Věřím, že v budoucnu bude možné optimalizovat expresní podmínky a budeme schopni připravit α -galaktosidasu stabilní i při velmi nízkém pH.

Do budoucna však doporučuji Petrovi Plevákovi věnovat větší pozornost řešené problematice, jak teoretické, tak praktické. Nevynímaje zvýšení pozornosti při realizaci experimentů a psaní poznámek

k provedeným experimentům. Pak by se student vyhnul milnému popisu metod nebo zhodnocení výsledků v průběhu sepisování závěrečné práce. Také doporučuji věnovat více času samotnému psaní práce a její finalizaci.

K práci mám několik připomínek a otázek:

1. připomínka: Bylo by vhodné, aby v práci byly zavedeny zkratky již v textu a ne jenom uvedené vysvětlení v seznamu použitých zkratek jako např. ATP, NADH, FADH₂, NAD apod.
2. připomínka: Doporučovala bych dávat větší pozor při tvorbě popisků obrázků, které jsou často nedostatečné, a na samotné umístění obrázku v textu, aby nedocházelo k tomu, že odkaz na obrázek je na jedné straně a vlastní obrázek je o dvě strany později. Také by bylo vhodné, aby označování použitých primerů bylo stejné, jelikož se jedná o ty samé primery použité v různých experimentech a jejich popis by bylo vhodné doplnit o hodnoty T_m a GC.
1. otázka: Proč jste v některých experimentech používal medium s nízkým obsahem soli? Jaký gen rezistence nesou použité vektory pPICZαA a pGAPZαA?
2. otázka: V kapitole 4.3 Optimalizace exprese MelA v *P. pastoris* X-33 uvádíte, že pro expresi proteinu byly vyzkoušeny přídavky indukčních látek (glukosa pro pGAPZαA::MelA a methanol pro pPICZαA::MelA). Jak je to možné, když na jiném místě v práci uvádíte, že pGAPZαA je konstitutivní vektor? K čemu jste tedy vůbec glukosu přidával?

Závěr: práci doporučuji / ~~nedoporučuji~~ k obhajobě.

V Olomouci dne 20.05.2016

Podpis:

