

Posudek oponenta na diplomovou práci

Autor práce: Bc. Adéla Franková

Název práce: Exprese heterologního proteinu kódujícího polyfenoloxidasu hrachu

Oponent práce: Mgr. Jana Sekaninová, PhD.

Poř. číslo	Kritérium hodnocení	Body (0-5)
1	Ucelenost a aktuálnost rešeršní části práce	5
2	Kvalita úvodní části práce (množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru)	5
3	Naplnění cílů práce	5
4	Logika postupu při vlastní rešeršní nebo experimentální práci	5
5	Úplnost popisu používaných metodik a postupů	5
6	Úroveň zpracování výsledků (vhodné používání grafů a tabulek atd.)	5
7	Adekvátnost interpretace získaných výsledků a jejich diskuse	5
8	Výstižnost souhrnů práce v českém a anglickém jazyce	5
9	Grafická úprava textu a obrázků	4
10	Jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví	4
11	Správnost a úplnost legend u obrázků a tabulek (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	4
12	Správnost používání citačních odkazů (přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratk časopisů)	4
Celkem bodů		56

max
60

Diplomová práce Adély Frankové je velmi kvalitní, studentka odvedla velký kus práce. V teoretické části přehledně shrnula dosavadní poznatky o výskytu a funkci enzymu polyfenoloxidasu u rostlin. Cíl experimentální části práce, kterým bylo exprimovat PPO protein z planého hrachu v buňkách *E. Coli* a dále jej biochemicky charakterizovat, byl splněn. V rámci praxe studentka zvládla různé metodiky jak z oblasti molekulární biologie, tak biochemie, konkrétně enzymologie. Získané výsledky jsou velmi cenné, neboť se jedná o pilotní práci, kdy byla poprvé provedena optimalizace exprese, získán rekombinantní PePPO, který byl dále biochemicky charakterizován.

Konkrétní připomínky a dotazy (možno připojit samostatný list)

- V textu se opakovaně vyskytuje nesprávné používání přídavného jména enzymatická aktivita nebo oxidativní, správné české skloňování je enzymová a oxidační.
- U obrázků chybí odkazy na původní zdroj, např. Obr. 7, 8, 10, ..., Tab. 1.
- Nekvalitní zpracování některých obrázků, např. Obr. 10.
- V legendě k obrázkům nejsou vysvětleny všechny použité zkratky.

- Zarovnání textu legendy u obrázků by mělo být do bloku (např. Obr. 11, 13, 14,...).
- V seznamu literatury chybí citace použité v textu: Mishra a Gautam, 2016, Li et al., 2019 a Rosano a Ceccarelli, 2014. Naopak jsou v seznamu navíc tyto: Bentley et al., 1990, Molitor et al., 2016 a Nokthai et al., 2010.
- V seznamu zkratk jsou zkratky či znaky běžně používané, které tam být nemusí, např. °C, g, KCl, l, min, ml, mmol, µl, µmol,... Naopak některé chybí, např. TA klonování, GST, DCT...

Dotazy:

1. Předpokládám, že zkratka PePPO vznikla z latinského názvu planého hrachu *Pisum elatius*, je to tak? Mohlo by to být zmíněné i v práci, nebo v seznamu zkratk.
2. Podle čeho jste volila koncentrace inhibitorů při studiu inhibice PePPO?
3. V kapitole 3.2.19 uvádíte, že hodnota K_m PePPO pro dopamin a tyramin je 0,5-1,0. Doplňte prosím jednotky.
4. Pro testování reaktivity PePPO s katecholy a fenoly jako substráty jste použila fotografické vyhodnocení. Proč jste nesledovala změnu zbarvení např. spektrofotometricky?
5. V kapitole metody popisujete přípravu gelů pro SDS-PAGE. Proč jste dělicí gel převrstvila vodou a ne např. *n*-butanolem?
6. Prosím vysvětlíte, jak jste prováděla toto vyhodnocení: „Absorbance byla měřena do té doby, než byla křivka aspoň 3 cm lineární.“ (Kap. 3.2.9.)
7. Ve výsledcích píšete, že blank pro pPSG na gelu A Obr. 13 nebyl průkazný, bylo toto stanovení provedeno pouze jednou? Čím si to vysvětlujete?
8. Pokud jsem se v popiscích Obr. 13 dobře zorientovala, tak Vám tam nesedí číslování vzorků, chybí č. 21? Čísla kolonií s inzertem jsou patrně taky o jedno číslo posunutá? Celkově by obrázek mohl být lépe graficky zpracovaný, pro lepší orientaci.
9. V kapitole 4.3 píšete, že podle výsledků sekvenování plasmid pPSG z kolonie č. 24 inzert neobsahuje, přitom to bylo ale potvrzeno pomocí C-PCR. Jak je to možné?

Chyby, které je nutno opravit

Závěr: práci doporučuji / nedoporučuji k obhajobě.

V Olomouci dne: 12.5.2023

Podpis

Hodnocení:

- A- 56-60
- B- 51-55
- C- 46-50
- D- 41-45
- E- 36 -40
- F- 35 a méně