

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Rychlá** Jméno: **Nikola** Osobní číslo: **465758**
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**
Studijní program: **Specializace ve zdravotnictví**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název práce: **Mutantní glykosidasy se změněnou substrátovou specifitou**

II. HODNOCENÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Kritéria hodnocení práce		Počet bodů
1.	Splnění cíle a vhodnost struktury obsahu bakalářské práce z hlediska zadaného tématu (splnění zadání). (0 - 30)*	30
2.	Teoretická úroveň a využití dostupné literatury v bakalářské práci. (0 - 20)*	20
3.	Formální náležitosti a úprava obsahu bakalářské práce (úroveň psaní, označení struktury textu, grafy, tabulky, citace v textu, seznam použité literatury apod.). (0 - 10)*	7
4.	Rozsah realizačních prací, aplikovaných vědomostí a znalostí, úroveň metodologického zpracování a závěrů práce. (0 - 40)*	38
5.	Celkový počet bodů	95

* Slovní hodnocení uveďte v komentáři.

III. NÁVRH OTÁZEK K OBHAJOBĚ

1. Celkový výtěžek mutovaného enzymu z 200 ml média se pohyboval mezi 1,6-3,2 mg oproti 47 mg u divokého typu enzymu. Mohla byste prosím uvést důvody pro řádově nižší výtěžky?

2. Celková aktivita mutované formy enzymu je výrazně snížena po několika dnech skladování ve 4 oC. Jaké mechanismy přispívají ke ztrátě aktivity?

3. V práci se uvádí, že celkové výtěžky DNA po izolaci se pohybují kolem 5 mikrogramů, což je hraniční množství pro PCR. Nicméně literatura uvádí, že optimální množství DNA pro PCR se pohybuje v desítkách nanogramů. Můžete prosím vysvětlit tuto nesrovnalost?

IV. CELKOVÉ HODNOCENÍ ÚROVNĚ VYPRACOVÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Hodnocení**:	A (výborně)	B (velmi dobře)	C (dobře)	D (uspokojivě)	E (dostatečně)	F (nedostatečně)
Počet bodů:	100 - 90	89 - 80	79 - 70	69 - 60	59 - 50	< 50
	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

** v případě hodnocení F (nedostatečně) uveďte podrobný komentář

Bakalářskou práci hodnotím výše uvedeným klasifikačním stupněm a doporučuji/nedoporučuji k obhajobě.

V. KOMENTÁŘ

Bakalářská práce Nikolky Rychlé se zabývá heterologní produkcí a biochemickou charakterizací bodové mutanty (R218H) enzymu β -N-acetylhexosamidázy z *Talaromyces flavus*, a zároveň sekvenční analýzou mutantních β -N-acetylhexosaminidáz připravených pomocí tzv. řízené evoluce. V rámci předkládané práce se autorce podařilo připravit expresní systém na produkci rekombinantního enzymu v kvasince *Pichia pastoris*, tento enzym následně vyprodukovat, izolovat do vysoké čistoty, a v nedílné řadě také stanovit jeho enzymovou kinetiku a závislost aktivity tohoto enzymu na pH a teplotě. Součástí bakalářské práce byla také izolace chromozomální DNA z buněk *Pichia pastoris* nesoucích mutantní verze genu pro expresi enzymu β -N-acetylhexosaminidázy (připravených pomocí metody tzv. řízené evoluce) a jejich sekvenční analýza. Pod vedením zkušené školitelky se autorka seznámila se širokou škálou experimentálních přístupů, zahrnujících molekulární biologii, proteinovou biochemii, enzymologii a bioinformatiku, a důkazem pochopení těchto metod a tématu je výsledná bakalářská práce.

Po formální stránce je práce členěna na 7 kapitol (Úvod, Současný stav poznání, Cíle práce, Metodika, Výsledky, Diskuze a Závěr), které jsou následně uzavřeny seznamem 31 odkazů na vědeckou literaturu. Toto uspořádání práce je běžné pro publikování odborných textů a předkládaná bakalářská práce odpovídá těmto standardům. Kapitola Současný stav poznání (15 stran) stručně a srozumitelně seznamuje čtenáře s enzymatickou aktivitou glykosidáz, jejich heterologní produkcí a biotechnologického využití. Cíle práce jsou jasně vytyčeny a odpovídají rozsahu bakalářské práce. Kapitola Metodika (14 stran) obsahuje popis použitých metod, které jsou v textu detailně popsány. V kapitole Výsledky (9 stran) autorka detailně popisuje a velmi srozumitelně shrnuje dosažené výsledky své práce. Výsledky práce jsou diskutovány na 3 stranách textu.

Práce je psaná v českém jazyce, který nevytváří nadměrnou květnatost výjadřování, a místy trpí nepřesnými formulacemi či zbytečným násilným překladem některých odborných výrazů z angličtiny do češtiny. Nicméně množství jazykových překlepů a nepřesností je vzhledem k rozsahu práce minimální.

Drobné poznámky k textu:

str. 23 "2-15 kilo bází" nahradit raději výrazem "2 000 - 15 000 páru bází"

str. 23 "rezistenci na antibiotikum" , správně "rezistenci k antibiotiku"

str. 18, "médium obsahuje převážně protein našeho zájmu" nahradit raději výrazem "médium obsahuje převážně studovaný protein"

str.34, "Gel byl zalit puřem pro elektroforézu" nahradit raději výrazem "Gel byl ponořen do elektroforetické vany"

str. 44, "Ze screeningu aktivit " nahradit raději výrazem "měření enzymových aktivit"

Obrázek 9, chybí popis os, čísla na osách nejsou zřetelná

Obrázek 9, "SDS gel po purifikaci varianty TfHex R218H" nahradit raději výrazem "Elektroforetická analýza proteinového složení TfHex R218H vzorku (purifikátu)"

Jméno a příjmení: Mgr. Ladislav Bumba, PhD.

Organizace: Laboratoř molekulární biologie bakteriálních patogenů

Kontaktní adresa: MBÚ AV ČR, Vídeňská 1083 14220 Praha 4

Podpis:

Datum: