

## Posudek na bakalářskou / ~~magisterskou práci~~

školitelský posudek  
 oponentský posudek

bakalářská práce  
 magisterská práce

**Autor: Vašová Kateřina**

**Název práce: Příprava rekombinantních monoaminoxidáz**

**Oponent: RNDr. Alena Myslivcová Fučíková, Ph.D.**

### Struktura/členění práce:

Bakalářská práce má klasické členění experimentálních prací. Samotný úvod práce se mi zdá dost stručný, neprovázaný, vzhledem k tomu, že jde o část, která má čtenáře nalákat na další čtení, bych řekla, že není zcela dostačující. Navíc se již v úvodu vyskytují dříve nevysvětlené zkratky, což je pak problém i zbytku práce (např. MAO, CNS). Seznam zkratek pak v práci zcela chybí. Teoretická část je z větší části zaměřena na rešerši problematiky monoaminoxidáz. Studentka se věnuje jak struktuře samotných enzymů, tak jejich roli v organismu, zejména pak v lidském mozku, synapsích, a v neposlední řadě uvádí příklady syndromů, spojených s poruchou či chyběním těchto enzymů. V kapitole o genech uvádí porovnání proteinových sekvencí, zařadila bych tedy tento úsek pod proteiny, zároveň zde tedy mohla studentka ukázat pro větší názornost zmíněné srovnání sekvencí (nukleotidových i aminokyselinových) např. pomocí nástroje BLAST. Kapitola Patologie má zcela nevhodný název. Patologie je medicínsko-vědní obor, nadpis je zavádějící a nic neříkající. V rámci této kapitoly studentka píše o inhibitech monoaminoxidáz. Většinou jde o názvy účinných látek, není nutné je uvádět napsané s prvním velkým písmenem, paracetamol se též nepíše s velkým písmenem, Paralen jako konkrétní lék pak ano. Dále zde doporučuji sjednotit název klogylin/clorgylin/selegilin – jde o stejnou látku. Věta: Právě rychlá degradace mozkových monoaminů jako je serotonin, norepinefrin a dopamin je důležitá pro správné fungování synaptické štěrbiny neurotransmise, mi nedává smysl. Větu: Pokud u lidí nastanou delece v genové oblasti chromozomu X, kde se vyskytují i geny pro MAO, mohou nastat velké problémy, bych spíše nepoužila v odborné práci. Závěr teoretické části pak tvoří krátká rešerše týkající se přípravy rekombinantních proteinů. Zde bych v kapitole expresní vektory poněkud více rozvedla jejich typy a hlavně zmínila, že jsou to vektory se silným promotorem. V kapitole Bakteriální expresní systémy mě zajímá význam obratu minimální médium.

U použitého materiálu by bylo lepší uvádět i sídlo firmy a konkrétní produkt, tedy nestačí např. uvést pouze: centrifuga (Eppendorf).

Praktická část je přehledně dále rozdělena na jednotlivé použité techniky, u některých z nich je na začátku krátký teoretický úvod, který by možná slušel všem uvedeným technikám a rozšířila bych jím teoretickou část, kde tyto informace trochu chybí. K praktické části dále nemám vážnějších připomínek. Pouze bych navrhovala jinak formulovat větu: Do směsi byl přidán 1 objem gelu isopropanolu (ke každému 100 mg gelu bylo tedy přidáno 100 µl isopropanolu) a vše bylo jednoduše promícháno – je zavádějící.

### **Literární zdroje, citace a jejich použití:**

Literární zdroje použité v práci jsou aktuální a v dostatečném množství, správně uvedené. Ačkoliv citační styl založený na APA úplně nepreferuji v experimentálních pracích, citační styl odpovídá normám, seznam literatury je zpracován pečlivě, všechna sdělení jsou v textu citována správně. Je výborné, že studentka vycházela z velkého množství anglicky psané odborné literatury.

### **Výsledky a jejich zhodnocení:**

Studentka výsledky prezentuje v kapitole společně s diskusí. Občas je u výsledků znovu opakován postup, který byl součástí experimentální části práce, kde bych jej i příště nechala. Dále by mě zajímaly výsledky sekvenace, která byla zadána a kterou studentka sice sama nedělala, ale výsledky by měly být součástí této práce. Nejsou nikde zmíněny ani diskutovány. Obecně podíl diskuse na této kapitole je velmi malý. Chápu, že obvykle jde o problematickou kapitolu. Nicméně diskuse je nedílnou součástí experimentální práce a doporučovala bych ji příště nepodceňovat. Stejně tak je na tom velmi stručný závěr, který bych též hodnotila jako nedostatečný.

### **Formální úroveň:**

Práce po formální stránce spíše splňuje požadavky na ni kladené, nicméně jsou zde jisté rezervy pro budoucí práce. Zde bych vytkla nedostatečnou práci s již výše zmíněnými zkratkami. Pravidlem by mělo být, že v nadpisech, a tím pádem i v obsahu, by se zkratky neměly vyskytovat. Dále se zkratky používají tak, že nejprve se při prvním výskytu napíše celý tvar a do závorky zkratka a potom už se používá jen zkratka. Zkratky mají být uvedeny v samostatném seznamu. Dále se v práci občas vyskytne na konci řádku neslabičná předložka nebo číslo, které na dalším řádku pokračuje procenty. Na pár místech jsou procenta špatně uvedena s mezerou nebo bez mezery, stejně tak číslovky. Občas chybí v souvětí čárky. V odborné práci dále nedoporučuji používat počestěná původem anglická slova jako např. „target“. Lze jej pohodlně nahradit českým ekvivalentem. Kladně hodnotím kvalitní popisky obrázků! Studentka občas používá latinské názvy, zejm. částí lidského těla. Kurzívou se případně píšou pouze originálně napsané názvy, jakmile studentka použije skloňování dle pravidel českého pravopisu, kurzíva se nepoužívá (např. *substantia nigra*, ale ve striatu). Thalamus se píše s h.

### **Splnění cílů práce:**

Cíle práce, tak jak byly definovány, byly splněny.

### **Celkové hodnocení:**

Bakalářská práce je co do obsahu poměrně zajímavá a experimentálně zdařilá. I přes množství formálních i obsahových výtek a nedostatků u vybraných kapitol musím konstatovat, že studentka prokázala dobrou laboratorní zručnost a výsledek, kterého dosáhla je dobrý. Vypracování této práce vyplývá z podmínek uvedených v § 46 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb., práce obsahuje všechny předepsané náležitosti, a proto ji doporučuji k obhajobě.

**Otázky:**

1. Eukaryotní proteiny jsou často posttranslačně modifikované. *E. coli* nevlastní moc aparátů na PTM. Proč jste tedy MAO do *E. coli* klonovali?
2. Dají se tyto rekombinantní připravené enzymy využít i při léčbě jiných onemocnění?
3. Kde byl získán klonovaný gen?
4. Jakým způsobem byla na protein umístěna kotva? Na jaký konec proteinu a hraje volba konce nějakou roli?
5. Byl klonován celý gen?

V Hradci Králové dne 22. 8. 2019

RNDr. Alena Myslivcová Fučíková, Ph.D.