

Oponentský posudek diplomové práce Bc. Libora Kuboška: Imobilizace fosfatázy na magnetické částice

Cílem diplomové práce bylo připravit enzymatický reaktor s imobilizovanou kyselou fosfatázou z brambor, charakterizovat připravený enzymatický reaktor pomocí substrátu p-nitrofenylfosfátu a poté porovnat jeho vlastnosti s volnou formou kyselé fosfatázy, použít enzymatický reaktor k defosforylaci modelového proteinu prasečího pepsinu A a **tento cíl byl splněn**.

Literární přehled je zpracován přehledně dle citačních norem, teoretická část velice rozsáhlá, členění práce odpovídá zvyklostem. Zvolené metody jsou odpovídající daným požadavkům a diplomant zvládl množství nejrůznějších metodik. Experimentální výsledky a způsob jejich dosažení jsou velmi hodnotné.

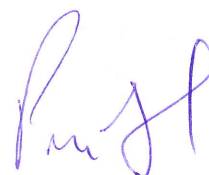
Práce je velice aktuální, rozvoj proteomiky vyžaduje v současné době nové analytické metody.

Moje připomínky:

- Lepší výraz než „obalené“ je „pokryté“, totéž str. 12 a dále
- Ortodoxní ctitelé českého názvosloví dávají přednost označení „enzymový“ místo „enzymatický“, „enzymatický je údajně germanismus (enzymatische). Podobný termín však užívá i angličtina (enzymatic), takže asi nejde o nomenklaturní chybu (str. 12).
- Str. 26 – tisková chyba „betonit“ místo „bentonit“
- Str. 34 – bylo by vhodné uvést, jakým způsobem se tam aldehydová skupina dostala: je součástí nosiče, byla vnesena nějakým bifunkčním činidlem (jakým) atp. Zájemce si to může najít v citované práci, je však vhodné uvést alespoň nezákladnější informaci přesto, že tento fakt je zřejmý z obr. 15, na straně 48. Popis postupu na str. 34 však tomuto obr. předchází. Vysvětlení by mělo být při prvním výskytu.
- Str. 47 – zvýšení specifické aktivity po imobilizaci je poměrně častý jev. Dosud nebylo uspokojivě vysvětleno. Obvykle je pozorováno také při sledování tepelné inaktivace, kdy v počátku aktivita stoupá.
- Str. 49, předposlední odstavec – „bramborové kyselé fosfatázy“ je poněkud neobratné, obvyklejší je „kyselé fosfatázy brambor“.
- Str. 50 – zajímavé by mohlo být zjištění, jestli EDTA chrání fosfatázu před nepříznivými účinky kovových iontů.

Uvedené námitky považuji za nepodstatné a nijak nesnižují kvalitu diplomové práce. Experimentální část byla provedena odpovídajícími metodami a odpovídá zadání úkolu. Vyvozené závěry vyplývají z experimentů. Práce je logicky členěna.

Práci doporučuji k obhajobě a hodnotím známkou 1 (výborně).



V Praze 17. května 2010

RNDr. Petr Příklad, PhD.

Ústav patologické fyziologie

1. lékařská fakulta

Univerzita Karlova v Praze