

**Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická**

**Katedra biologických a biochemických věd**

**Téma diplomové práce:** Příprava rekombinantního lidského ameloblastinu

**Jméno studentky:** Bc. Filip Petira

**Jméno oponenta:** Mgr. Sylva Janovská, Ph.D.

**Posudek oponenta**

Diplomant se ve své práci zabývá přípravou rekombinantního proteinu ameloblastinu v expresním systému *Escherichia coli*. Věnuje se rovněž přípravě vektoru pro kvasinkový expresní systém, který by obsahoval jak gen kódující ameloblastin, tak dvě mutantní varianty tohoto genu.

V teoretické části se diplomant zaměřuje na charakteristiku expresních systémů, diskutuje jejich výhody či nevýhody. Podrobně popisuje zejména kvasinkové expresní systémy a používané vektory. Dále se věnuje popisu ameloblastinu z hlediska primární a sekundární struktury a jeho úlohy při vývoji kostí a zubů. Teoretická část týkající se charakteristiky ameloblastinu má dobrou odbornou úroveň.

V experimentální části diplomant uvádí přesný postup exprese ameloblastinu v expresním systému *Escherichia coli*, následnou purifikaci proteinu afinitní chromatografií a návrh primerů pro klonování genu *AMBN* z darovaného vektoru pET28b-Trx-AMBN do vektoru pYEX-BX. Ve výsledkové části porovnává výstupy z afinitní chromatografie provedené v kolonovém nebo vsádkovém uspořádání, dále se zaměřuje na štěpení TEV proteázou. Hodnotí výsledky klonování genu *AMBN* do vektoru pYEX-BX. Výsledková část je doplněna 19 obrázky a 6 tabulkami.

K jednotlivým částem práce mám několik připomínek a dotazů:

- Diplomant by se měl vyvarovat používání anglickanismů, některé výrazy lze snadno přeložit (např. výrazy „refoldovat, overexprese“). Stejně tak kapitola týkající se přípravy roztoků pro barvení stříbrem by se neměla nazývat „Silver stain“.
- Na začátku teoretické části diplomant používá zkratky, které nejsou vysvětleny. Například zkratka *E.* jako *Escherichia*, *B.* jako *Bacillus*.
- Teoretická část je doplněna tabulkami a obrázky, avšak v textu na ně chybí odkazy.

