

OPONENTSKÝ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

Název práce: Imobilizovaná rekombinantní hyaluronan lyáza (SpHyl) - příprava nosiče pro fragmentační předkolonu

Autorka diplomové práce: Bc. Kristýna Dlouhá

Vedoucí diplomové práce: doc. RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.

Předložená diplomová práce je sepsaná na 90 stranách a je členěna obvyklým způsobem. Obsahuje uvedení do problematiky, metodiku i výsledky. Cíle práce jsou jasně formulovány.

V teoretické části je popsána struktura a funkce enzymů štěpících kyselinu hyaluronovou, dále používané metody imobilizace enzymů a metody stanovení aktivity solubilních i imobilizovaných enzymů.

Náplní experimentální části bylo stanovení aktivity solubilní hyaluronan-lyázy a následně imobilizace tohoto enzymu na vybrané magnetické částice. Byla posouzena účinnost imobilizace, ověřena operační stabilita a stanoveny hodnoty K_M a V_m pro solubilní i imobilizovaný enzym. Získané výsledky jsou shrnuty v obrázcích a tabulkách a diskutovány.

Ke zvolenému postupu zpracování diplomové práce nemám zásadní připomínky, považuji ho za metodologicky správný, v části teoretické i praktické vyvážený a logicky provázaný. Použité literární zdroje jsou aktuální a jejich rozsah přiměřený.

Studentka se bohužel při zpracování textu diplomové práce nevyvarovala chyb. K diplomové práci mám proto několik připomínek.

- V textu diplomové práce je relativně velké množství překlepů a gramatických chyb.
- V anglické verzi anotace je uveden termín „*hyaluronidase*“, což by odkazovalo na enzym z jiné třídy, než hyaluronan-lyáza.
- Některé obrázky jsou méně kvalitní, případně jsou v nich chyby nebo jsou chyby v jejich popiscích (např. obr. 5, 7, 9, 45).
- V seznamu použitých chemikálií chybí informace o použitém enzymu.
- Formát seznamu použitých zdrojů není jednotný.

Na studentku mám následující dotazy:

- Na str. 55 je uveden vztah pro výpočet aktivity. Bohužel není jasné, pro kterou ze závislostí A vs. t (obr. 19) to bylo počítáno. Můžete prosím vysvětlit, co bylo do daného vztahu dosazováno?

- Na str. 56 je uvedena hodnota $K_M = 9,37 \cdot 10^{-4}$ mol/l. Pokud ale byla k výpočtu použita rovnice regrese z obr. 20, jedná se o chybný výpočet. Prosím vysvětlete.
- Str. 79 a 80, obr. 51–53: Můžete prosím vysvětlit, čemu ve všech 3 grafech $1/v$ vs. $1/[S]$ odpovídají body ležící na ose x?
- Str. 80, obr. 53: V grafu závislosti $1/v$ vs. $1/[S]$ je rovnice regrese se záporným úsekem. Z takové rovnice nelze spočítat K_M a V_m , přesto jsou hodnoty kinetických parametrů uvedeny v tab. 7. Prosím vysvětlete.
- Na str. 80 v tab. 7 jsou kromě chybně uvedených jednotek K_M a V_m i chybně vypočítané hodnoty těchto kinetických parametrů, a to jak pro imobilizovaný, tak pro solubilní (viz poznámka výše) enzym. Můžete prosím uvést správné hodnoty a jednotky?

Závěrem lze konstatovat, že cílů práce bylo dosaženo a vzhledem k zaměření práce jsou získané výsledky prakticky aplikovatelné. S ohledem na tuto skutečnost považuji téma diplomové práce za aktuální. Diplomová práce odpovídá zadání a splňuje po formální stránce požadavky kladené na práci tohoto typu. Výše uvedené nedostatky ale bohužel její celkovou kvalitu snižují.

Diplomovou práci **doporučuji k obhajobě** a hodnotím klasifikačním stupněm **C**.

V Pardubicích 22. 5. 2024

Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.