



Posudek oponenta bakalářské práce

Fakulta:	Fakulta rybnářství a ochrany vod
Ústav:	Ústav akvakultury
Student:	Martin Papež, DiS
Studijní obor:	Zootechnika, Rybnářství
Název bakalářské práce:	Biodegradace environmentálních polutantů - strukturní charakterizace nového typu halogenalkandehalogenasy DbeA z Bradyrhizobium elkanii USDA94
Oponent bakalářské práce:	Doc. RNDr. Jiří Brynda, CSc.
Povolání oponenta:	vědecký pracovník

Hodnocení práce:

Volba tematu práce a její význam: (1) vysoce aktuální a významné téma

Komentář: Využití bakteriálních a mikrobiálních organismů k čištění kontaminovaných lokalit je jedním z možných způsobů, jak degradovat polychlorované polutanty uniklé do životního prostředí. Tuto jejich schopnost způsobují halogenalkandehalogenasy, což jsou mikrobiální enzymy, které katalyzují hydrolytické štěpení vazby mezi halogenem a uhlíkem. Spolupráce Ústavu komplexních systémů, FROV, JCU a Masarykovy university v Brně přispěla významně k objevu důležitých poznatků využitelných v proteinovém inženýrství výše uvedených enzymů a mikroorganismů. Další enzym, Xylanasa je pak průmyslově důležitý enzym při výrobě papíru

Formulace cílů práce: (1) cíle byly velmi vhodně formulovány

Komentář: Úspěšná krystalizace, jenž poskytne kvalitně difraktující krystaly je základem rentgenové strukturní analýzy. Krystaly difraktující na vysokém rozlišení vedou vyřešení kompletní struktury a funkce enzymu.

Metodika zpracování: (2) vhodně zvolena a formulována

Komentář: Krystalizace byly provedeny standardními metodami.

Práce s daty a informacemi: (2) použitá data aktuální, práce s informacemi dostatečná vzhledem k tématu

Komentář: Data byla zpracována na standardními metodami. Mám však výhradu k výčtu použitých programů. Uvádět pouze program MOSFILM, dále jen obecně CCP4 soubor programů a pak už jen programy Coot a VMD je nedostatečné. Dále by bylo vhodnější sjednotit uváděnou přesnost koncentrací na smysluplný počet desetinných míst např.: poslední řádek kapitoly 3.5.1.

Celkový postup řešení: (1) postup řešení naprosto správný

Komentář: Celkový postup řešení je správný a na práci je zřetelně vidět zkušenost pracovníků školícího pracoviště.

Teoretické zázemí autora: (1) autor významné autory citoval a zná teorii dané problematiky

Komentář: Rozsah citací autora považuji za adekvátní rozsahu práce. Student byl s problematikou proteinové krystalografie v rozsahu potřebném pro zadanou úlohu.

Práce s odbornou literaturou (citace, norma): (3) autor dodržel citační normu, dopustil se více chyb

Komentář: Autor citoval původní práce různými způsoby a zjevně se nedržel jedné citační normy u původních článků, viz. Andrew G. W. Leslie: Acta Cryst., 2006, D62, 48–57 Cowtan, K., 2006. Acta Cryst. D62, 1002–1011 Citace jsou ale jednoznačné, a pokud jsem dohledával i přesné. U některých citací jsem nepochopil na co konkrétně odkazují, např.: Prokop, Z., Damborsky, J., Nagata, Y. & Janssen, D. B., 2004, WO 2006/079295 A2.

Úroveň jazykového zpracování: (1) práce je jazykově naprosto správně zpracovaná

Komentář: Práce se zdá být jazykově správně zpracována.

Přesnost formulací a práce s odborným jazykem: (2) autor má dostatečný pojmový aparát

Komentář: Z textu práce je zřejmé, že autor problematice dobře rozumí a má zvládnutou terminologii užívanou v oboru. Zdá se však, že během bakalářské práce velice těsně spolupracoval kolegou Pavlem Němcem, protože se dopustil podobných drobných prohřešků jako např.: v kapitole 3.8.1. používá komerční označení činidla "modrá barva IzIt [Hampton Research, CA, USA]" na místo přesného označení methylenová modř (CI 52015, systematický název 3,7-bis(dimethylamino)-fenothiazin-5-ium-chlorid) a podobně. Dalším nalezeným a to i meritorním prohřeškem je v nadpis kapitoly 3.3.2. Nejedná se o koncentrovaný svrchní gel, ale naopak gel zředěný ve kterém dochází k zakoncentrování vzorků před vstupem do separačního gelu, tedy správně koncentrační gel.

Formální zpracování - celkový dojem: (2) práce je formálně v pořádku, celkový dojem je dobrý

Komentář: Mám pouze drobné výhrady, především k doprovodným ilustracím, např. znázornění struktur obsahuje příliš mnoho detailů a je nepřehledné, obrázky 9-12. Také obrázek 6 mohl být získán v lepší kvalitě, tak, aby barvení krystalů bylo jasně zřetelné.

Splnění cílů práce: (2) cíle práce včetně dílčích byly splněny

Komentář: Všechny zadané cíle byly splněny a na základě těchto výsledků lze dále postupovat v práci.

Formulace závěrů práce: (2) závěry jsou správně formulovány a jsou významné pro další využití

Komentář: Závěr práce je velice stručný (18 řádek). V této části mohl student konkrétněji popsat vliv měněných parametrů krystalizace na rychlost růstu krystalů, jejich počet a především makroskopickou kvalitu a velikost, která je většinou rozhodující pro intenzitu difrakcí a tedy kvalitu dat.

Odborný přínos práce a její praktické využití: (2) práce je po odborné a praktické stránce dobře využitelná

Komentář: Studované metody krystalizace budou jistě využity při nárůstu krystalů pro difrakční experimenty a to nejen pro jednotlivé mutované formy enzymu, ale i jejich komplexy s interagujícími sloučeninami (substráty, inhibitory a kofaktory).

Celkové hodnocení práce

Návrh hodnocení práce známkou: velmi dobře

Doporučuji práci k obhajobě: ANO

Otázky k obhajobě

Otázka 1: V kapitole diskuse 5.3. Krystalizace pod olejem, uvádíte: "Krystaly obou proteinů byly vytvořeny v řadách, ve kterých byly stejné objemy roztoku proteinu a srážecího činidla. Krystaly byly vytvořeny i v řadách, kde objem roztoku proteinu byl větší než objem srážecího činidla. Naopak v řadách, kde byl větší objem srážecího činidla a menší roztoku proteinu, krystaly nevznikly." Jaké je vaše vysvětlení pozorovaného jevu?

Otázka 2: V kapitole diskuse 5.5. píšete, že "Na základě použití programů WinCoot a VMD byla vymodelována halogenalkandehalogenasa DbeA.". Ani jeden z těchto programů však neurčuje fáze jednotlivých difrakcí. Moje otázka proto zní: Jak byla řešena problematika fází?

Další připomínky, vyjádření a náměty k obhajobě práce resp. k jejímu dalšímu využití:

Nemám dalších připomínek.

Datum: 28. 05. 2013

Podpis oponenta bakalářské práce:

