

Bakalářská práce Kláry Mičulkové je práce metodická, zaměřená na zavedení metod proteinové exprese v laboratoři Prof. Sehnala. Autorka si zvolila 340 nt dlouhý úsek kódující sekvence ze sericinového genu, který získala pomocí RT PCR, zaklonovala jej do expresního vektoru testovala tvorbu odpovídajícího peptidu v bakteriálních lyzátech.

Po obsahové stránce je práce na odpovídající úrovni. Autorka zvládla řadu potřebných metod, což dokladuje kvalitními obrázky. Jediným dosti vážným nedostatkem je nepřítomnost negativní kontroly na klíčovém gelu dokladujícím produkci sericinového proteinů (obr. 6). Znamená to, že je potřeba ukázat, že lyzát buněk *E. coli* s expresí proteinu se liší od lyzátu buněk neobsahujících expresní konstrukt.

Po formální stránce je práce rovněž na poměrně dobré úrovni, obsahuje jen malé množství překlepů a čte se příjemně. Zde mne však zklamalo velmi stručné zpracování výsledků a úplná nepřítomnost diskuse. Výsledky jsou v práci zpracovány pouze formou popisu obrázků, což je jistě škoda. Naproti tomu oceňuji kvalitně zpracovanou úvodní část. Problémem je však zpracování citací, neboť se zde vyskytuje řada referencí, které nejsou uvedeny v seznamu literatury (např. ,str. 10 - Kissinger et al 1990, Str. 16 – Kludkiewicz et al. 2009), jiné citace jsou neuplné (např. Gandhi 2006) a další naopak chybí (např. není jasné, z čeho autorka čerpala uspořádání exonů genu *Ser-2* na str. 10 atd). Autorka cituje řadu nestandardních internetových odkazů, jež neprocházejí oponentním řízením a jejichž spolehlivost není zaručena.

K autorce mám tyto připomínky a dotazy:

- 1) Na obr. 2 je znázorněna snovací žláza bource. Obrázek je velmi zkreslený a zejména hruškovitá zadní část žlázy vůbec neodpovídá realitě. Rovněž konstatování o přeměnách vlákna I na vlákno II není podle mně známé literatury obecně přijatým modelem, jež by platil pro tvorbu hedvábných vláken. Může autorka uvést zdroj těchto informací?
- 2) Na straně 8 je zmíněný proces “*polymerizace fibroinů a sericinů do vlákna*”. Polymerizace se však vyznačuje tvorbou stabilních kovalentních vazeb mezi monomery, tím se liší od různých agregací založených na slabých interakcích molekul. Domnívám se, že nedochází ke kovalentním vazbám sericinů a fibroinů, proto se bude jednat o agregaci molekul nikoliv o polymerizaci.
- 3) Z formulace cíle bakalářské práce není jasné, na základě čeho autorka vybrala svou část genu pro expresi. V čem je tento úsek zajímavý a proč si jej autorka zvolila, když na str. 10 uvádí, že pro tzv. “*polymerizaci sericinů a jejich interakci s jinými proteiny je důležitý hlavní opakující se motiv*”?

Celkově práce splňuje požadavky na bakalářské práce a doporučuji ji k obhajobě. Jsem si vědom toho, že se jedná o první práci autorky a školitel byl zřejmě příliš zaneprázdněn. Navrhuji známku velmi dobře.