



Posudek vedoucího diplomové práce

Název práce: **Purifikace rekombinantní vakuolární aminopeptidázy Ape3p patogenní kvasinky *Candida albicans***

Autor práce: **Bc. Ondřej Morávek**

Vedoucí diplomové práce: **Mgr. Barbora Jankovičová, Ph.D.**

Konzultanti diplomové práce: **doc. RNDr. Olga Heidingsfeld, CSc.; Ing. Lucie Michalcová**

Tématem předkládané diplomové práce je purifikace rekombinantní aminopeptidázy Ape3p kvasinky *Candida albicans*, která byla úspěšně připravena již v rámci předcházející práce bakalářské. Cílem bylo získat protein o vysoké čistotě a biologicky aktivní. Na práci je vidět, že jí autor věnoval nadprůměrné množství času a energie. Práce má přiměřený rozsah (87 stran), je napsána stylisticky dobře a čtivě a po formální stránce je důkladně zpracována.

Text teoretické části svědčí o velmi dobrém zvládnutí tématu. Podrobně jsou zde popsány expresní systémy používané při přípravě rekombinantních proteinů, dále pak metody purifikace rekombinantních proteinů, přehled vakuolárních proteáz, včetně metod stanovení enzymové aktivity. Z těchto informací student čerpal při realizaci experimentální části diplomové práce, v rámci které optimalizoval postup purifikace aminopeptidázy Ape3p s His-kotvou a zároveň stanovení její enzymatické aktivity. Při řešení dílčích úkolů student prokázal vysokou míru samostatnosti, pracoval pečlivě a s rozvahou. Jelikož se jedná o protein, který nebyl doposud *in vitro* charakterizován, práce byla v průběhu doprovázena řadou nepředvídatelných komplikací souvisejících především s jeho agregací. Nakonec se přes všechna úskalí podařilo najít vhodný způsob purifikace proteinu. Neúspěšné bylo ovšem stanovení jeho enzymové aktivity. Přestože student vynaložil nemalé úsilí a sérií experimentů se pokoušel postup optimalizovat, aktivitu se změřit nepodařilo. To ovšem nesnižuje kvalitu práce, i tato zjištění jsou přínosná pro případné navazující práce.

Závěrem lze konstatovat, že byly splněny všechny zadané cíle a z výše uvedených důvodů diplomovou práci **doporučuji k obhajobě** a hodnotím ji **stupněm A**.

V Pardubicích dne 20.5.2022

.....
Mgr. Barbora Jankovičová, Ph.D.