

## Posudek oponenta na diplomovou práci

X  oponentský posudek

Jméno posuzovatele: RNDr. Šárka Němečková, PhD.

Datum: 21. srpna 2018

Autor: Michal Mrkáček

Název práce:

Studium interakcí hlavního strukturního proteinu polyomavirů se strukturami  
hostitelských buněk

### Cíle práce

**Studovat vazbu pentamerů proteinu VP1 myšího polyomaviru na izolované buněčné mikrotubuly bez přítomnosti dalších proteinů.**

**Zkonstruovat systém pro identifikování potenciálních interakčních partnerů proteinu VP1 BK, vyizolovat pomocí něj dotyčné komplexy a provést jejich analýzu metodou hmotnostní spektrometrie.**

**Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému?** ANO NE

Rozsah práce (počet stran): 116

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO

Je uveden seznam zkratek? ANO

### Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? ANO

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO

### Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito? 26 základních metod používaných při práci s DNA, proteiny, bakteriemi a buňkami in vitro.

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

### Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO - v čem jsou nedostatky?

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky?

ANO – co chybí, v čem je nedostačující?

**Diskuze:**

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO

**Závěry (Souhrn) :**

Jsou výstižné? ANO

**Formální úroveň práce** (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Odborná úroveň textu, obrazová dokumentace, grafické vyjádření výsledků i mapy plazmidů mají vynikající úroveň. Jazyková úroveň textu by zasluhovala další korekturu, odstranění slangových výrazů a gramatických chyb. Z neznámého důvodu autor v celé práci ignoruje mužský rod slova pentamer a píše v ženském rodě o pentamerách, což působí směšně.

**Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

Popis experimentální činnosti v kapitolách metody a výsledky svědčí o velmi pečlivé práci autora. Všechny plánované cíle splnil. Zvládl přípravu rozpustné frakce VP1 pentamerů a ukázal, že vyizolované pentamery VP1 se na mikrotubuly připravené pomocí kitu nevážou. V druhé části práce zkonstruoval všechny potřebné plazmidy, ověřil produkci fúzních proteinů a připravil komplexy s buněčnými produkty, jež byly následně analyzovány hmotnostní spektrometrií. Výtěžkem této části je seznam kandidátních proteinů, které se pravděpodobně účastní infekce BKV a které by měly být dále studovány. Kromě hodnotné experimentální části je velmi kvalitní součástí této diplomové práce kapitola Diskuze, kde autor podrobně rozebírá negativní výsledek první části a dále analyzuje a vysvětluje výsledky z druhé části práce. Mezi přednosti práce je nutné započítat i obsah literárního přehledu, který je zaměřen na charakterizaci myšího a lidského BK polyomaviru a to zejména v souvislosti se strukturou virionu a průběhu infekčního cyklu. Celkově lze hodnotit diplomovou práci jako vynikající.

**Otázky a připomínky oponenta:**

Microtubule Binding Protein Spin-Down Assay Biochem Kit pracuje s čistými čerstvě polymerovanými mikrotubuly. Přirozeně se však na mikrotubuly vážou různé další ligandy, které by mohly zprostředkovat vazbu VP1 v buňkách. Pokud by takovéto proteiny byly součástí MAP vzorku nestálo by za to testovat dohromady mikrotubuly+MAP+VP1?

Máte informaci jaké proteiny MAP obsahuje?

Pro vazebný pokus BKV VP1 jste používal buněčný lyzát, který obsahoval cytosolovou frakci. Přesto jste při izolaci interagujících proteinů pozoroval kontaminaci DNA, kterou jste musel odstranit. Ve výsledku analýzy byla také řada jaderných proteinů. Jak si to vysvětlujete?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

X  výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta: