

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:
Mgr. Martin Sztacho Ph.D.

Datum:
22. 8. 2019

Autor:
Bc. Petra Kremserová

Název práce:

Role of PML in ribosomal stress

Cíle práce

Autorka si v předložené práci klade za hlavní cíl vyvinout postup biotinového značení proteinů v okolí PML kompartmentů. Tento přístup by měl umožnit identifikaci PML interagujících proteinů v závislosti na jeho lokalizaci pomocí hmotnostní spektrometrie. Ve vedlejších cílech je tvorba nástrojů a jejich důkladné testování. Hlavní a vedlejší cíle práce jsou dle mého názoru dobře definované a svým rozsahem převyšují požadavky diplomové práce.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): 104

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova ANO

Je uveden seznam zkratk? 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? Více než 20

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO

Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky? ANO

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):

Práce je rozdělena do následujících částí: Úvod, Literární přehled, Cíle, Materiál a metody, Výsledky, Diskuze, Závěr, Seznam použité literatury. Velice oceňuji rozhodnutí autorky vypracovat práci v anglickém jazyce. Text je srozumitelný a jeho úroveň odpovídá nárokům diplomové práce. Přesto bych autorce doporučil při budoucím psaní vědeckých prací používat krátké, jednoduché a výstižné věty, bez použití slov, které celkové sdělení nijak nepřesňují. Větší pozornost by měla věnovat kvalitě obrázků z mikroskopie v tištěné formě. Tento nedostatek je pravděpodobně zapříčiněn tiskem, neboť v elektronické verzi je vše v pořádku. Po formální stránce je však práce dobře vypracována, jen s občasnými minoritními nedostatky jako: chybějící měřítko u mikroskopických obrázků, či jejich uvádění v pixelech (např. Obr. 25, 26). Dále, občas nevýstižný název a málo podrobný popis obrázků či schémat (např. Obr. 8, 14, Schéma 4.). Nebo neúplný popis zobrazených dat jako v grafu 3., kde není uvedeno co znázorňují chybové úsečky. V části „Citations“ (Seznam použité literatury) není použit jednotný formát uváděných citací. Např. v některých jsou vypsáni všichni autoři, jinde pouze autor první s následným „et al.“.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Práce popisuje postup při Biotinovém značení proteinů pomocí ligázy v blízkosti PML-obsahujících telicích či perinukleolárním kompartmentu. Autorka si dává za cíl použít tuto pokročilou metodu a identifikovat tak proteiny, které mají různou vaznost na PML v různých kompartmentech za normální a stresové situace (poškození DNA). Předkládaná práce obsahuje množství kvalitních dat, která mají logickou návaznost. Celkem práce obsahuje 41 obrázků, 4 grafy a 33 tabulek. K dosažení vytyčených cílů autorka používá množství metod pro ověření použitelnosti této metody a klade důraz na testování, zda přidání Biotin ligázové domény nezpůsobuje tvorbu arteficiálních interakcí či jiného nefyziologického chování proteinů. Při těchto experimentech je využíváno především kombinace metod buněčné biologie (jako např. molekulárně-biologické klonování, transfekce plasmidové DNA, western blotting, apod.) a především fluorescenční mikroskopie. Jak již bylo zmíněno, data jsou kvalitní a kriticky vyhodnocena. Bohužel celkový dojem trochu kazí již vytykané formální nedostatky v textu, nepříliš kontrastní obrázky (pouze u tištěné verze), nečitelnost a mnohdy nešťastně koncipovaný popis obrázků. Dle mého názoru rozsah a kvalita dat získaných v této práci převyšuje kritéria pro diplomovou práci. Získaná data bezesporu poslouží při navazujícím výzkumu a pravděpodobně dají základ kvalitní vědecké publikaci. Tudíž doporučuji aby předložená práce byla postoupena k obhajobě a v případě jejího úspěšného obhájení byl Bc. Petře Kremserové udělen titul Mgr.

Otázky a připomínky oponenta:

1 – V práci autorka popisuje, že různá úroveň exprese PML vede k vytváření arteficiálních struktur popř. změny v PML lokalizaci. V těchto experimentech používá silný CMV promotor. Bylo by, dle jejího názoru, možné použít promotor slabší popř. inducibilní systém a jaký by očekávala efekt?

2 – Jaký je podle autorky důvod nedetegovatelné lokalizace PML do perinukleolárního kompartmentu v stabilních buněčných liniích po opůsobení doxorubicinem, když u

tranzientní exprese se tato lokalizace potvrdila?

3 – Na str. 85 se popisuje, že buňky stabilně exprimující PML-BioID deleční mutantu produkují více biotinylovaných proteinů. Čím by to podle autorky mohlo být způsobené?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: