

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : Ing. Jana Havlíková

Název práce: Studium mechanismu opravy mezivláknových křížových vazeb indukovaných alkoholem pomocí nukleasy SLX4-XPF-ERCC1

A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označte právě jednu z možností)

1. Rozsah DP a její členění	
X	A - přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí
	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
	N - nedostatečné

2. Odborná správnost	
x	A - výborná, bez závažnějších připomínek
	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
	C - uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami
	N - nevyhovující, s hrubými chybami

3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů	
x	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejm. v umístění odkazů, nebo s celkově nižším počtem citací
	C - s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, přednášky, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat
	N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)

4. Jazyk práce	
x	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
	C - uspokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

5. Formální a grafická úroveň práce	
	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
x	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo četnějšími drobnými chybami
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Tato diplomová práce je velice obsáhlá, experimentálně náročná a odpovídá charakterem téměř doktorské práci. Obsahuje expresi nukleasového komplexu SLX4-XFP-ERCC1 v hmyzích buňkách a jeho víceřadovou purifikaci. Dále je popsána příprava DNA substrátu s mezivláčkovým křížením a kinetické studie prokazující, že připravená nukleasa je aktivní a schopná štěpit křížení. Použitím různých DNA substrátů navrhla autorka i mechanismus reakce. Oceňuji detailní diskuzi, která dokazuje výborné porozumění studovanému tématu.

Ve všech bodech jsem volila hodnocení A, jen v bodě 5 jsem ohodnotila B, protože na několika místech byly překlepy nebo chybějící písmena, ale smysl věty bylo možné vždy pochopit a není potřeba dodatečné opravy. Navrhovala bych také, aby chromatogramy autorka v budoucnu překreslovala např. v program Excel nebo Graphpad Prism, aby byla lépe čitelná čísla frakcí nebo aby je označila dodatečně v obrázku (např. Obr. 9A). V některé citace v diskuzi již nejsou citovány i číslem citace ale jen jménem 1. autora. Ale opět se jedná jen o malé nedostatky.

Ing. Janě Havlíkové se podařilo splnit všechny vytyčené cíle a sepsat velmi srozumitelnou a inovativní diplomovou práci, která jistě bude brzy publikována a rozšiřuje současné porozumění mechanismu opravy mezivláčkových křížových vazeb na DNA.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

1. Co je známo o funkci a struktuře jednotlivých proteinů v komplexu? Mohou fungovat i samostatně nebo jsou součástí i jiných komplexů?
2. Existují již podobné *in vitro* studie na jiné části Fanconiho nebo jiné dráhy?
3. Během purifikace má protein SLX4 po odštěpení MBP kotvy podobné chování v SDS-polyakryamidové elektroforéze jako protein XFP. Jak byste ověřila, že jsou opravdu oba proteiny v komplexu přítomné a nedošlo např. k degradaci jednoho z nich?
4. Jak si vysvětlujete částečnou aktivitu SXEM? Jelikož většinou vznikaly nespecifické produkty, mohl by některý jiný protein komplexu mít nespecifickou aktivitu nebo toto štěpení probíhat jinak než s využitím argininu 679?
5. V obrázku 21 se DNA substrát ICL1 ve vzorcích s inkubací 40 min jeví jako menší než po 2 minutách nebo v kontrole. Jak byste vysvětlila tento jev?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **NENÍ** podmínkou přijetí práce

Stanovisko k výsledku automatické antiplagiátorské kontrole práce aplikací „TURNITIN“:

procento shody s jinými texty v databázi

jedná se o **PRÁCI ORIGINÁLNÍ** - v případě, že je podezření, že posuzovaná práce je plagiát, prosím zdůvodněte

C. Celkový návrh

Navrhovaná celková klasifikace (výborně, velmi dobře, dobře, neprospěl) **VÝBORNĚ**

Datum vypracování posudku: 4.9.2023

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): Dr. rer. nat. Vanda Lux

Vanda Lux