

## Posudek oponenta na diplomovou práci

X oponentský posudek

Jméno posuzovatele: Šárka Němečková

Datum: 5.9.2011

**Autor: Alexandra Kozmanová**

**Název práce: Příprava monoklonální protilátky proti hlavnímu štruktúrnemu proteínu VP1 BK vírusu a konštrukcia plazmidov pre vyhl'adávanie proteínových intrerakcií metódou BiFC**

### Cíle práce

*Studium lidského polyomaviru BK.*

- 1. Získání přehledu o problematice formou literární rešerše*
- 2. Příprava monoklonální protilátky proti hlavnímu štruktúrnemu proteínu VP1 viru BK.*
- 3. Zavedení experimentálního systému pro studium proteínových interakcí m BiFC na modelu minoritního štruktúrného proteínu VP3 myšího polyomaviru.*

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

Rozsah práce (počet stran): 129

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

*Metody jsou náležitě popsány. Výjimkou je popis provádění průtokové cytometrie, jejíž výsledek je součástí práce (obr.5.1.6). Autorka v diskuzi uvádí, že tuto metodu sama neprováděla.*

Kolik metod bylo použito? *Bylo použito přibližně 40 metod.*

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 odpovědi na zadané otázky? ANO

– co chybí, v čem je nedostačující?

*Na obr. 5.1.12. – Neutralizační test - chybí pozitivní kontrola neutralizace s jinou protilátkou proti BKV. Negativní kontrola by měla obsahovat jinou monoklonální protilátku a ne jen vynechání testované protilátky.*

**Diskuze:**

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

*Jde o skutečnou diskuzi jejíž náplní je popis průběhu pokusů, odůvodnění postupu práce, srovnání s dřívějšími výsledky a s výsledky získanými v jiných systémech. Je navržen další postup řešení započatých úkolů.*

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):

Úroveň práce je dobrá. Strany 23-30 byly do výtisku vloženy 2x. Chyb a překlepů je poměrně málo. Patří mezi ně:

0,02% roztok verzenu (pravděpodobně jde o 0,02% EDTA).

**Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

*Poslání práce bylo spíše praktického a přípravného charakteru neboť cílem bylo získání potřebných reagentů (protilátek) a zavedení experimentálního systému (zkonstruování plazmidů). Tento úkol se podařilo splnit i když štěstí diplomantce přálo jen částečně – získala jednu monoklonální protilátku a připravila dva plazmidy ze čtyř. Diplomantka zvládla všechny metody, které k splnění cílů potřebovala a při práci postupovala přímou a nejkratší cestou k získání výsledků.*

**Otázky a připomínky oponenta:**

- 1. V literárním přehledu je krátká kapitola 2.2. věnovaná struktuře virionu myšího polyomaviru. Tato velmi stručná informace by se dala včlenit do kapitol týkajících se BKV a použít ke srovnání obou virů.*
- 2. V literárním přehledu v kapitole o organizaci genomu se nezmiňujete o virové mikroRNA a o její funkci u polyomavirů. Mohla byste toto doplnit při prezentaci.*
- 3. V kapitole „Výsledky“ se podle výsledku neutralizačního testu na obr 5.1.12. spíše zdá, že vysoké koncentrace protilátky (c,d) proti VP1 zvyšují množství infikovaných buněk (28, 20 pozitivních buněk) ve srovnání s virem inkubovaným s ředěnou protilátkou (e,f-4,4 pozitivní buňky) anebo bez inkubace s protilátkou (g-12). Pokud obrázky skutečně reprezentují průběh pokusu, mohly by spíše svědčit o jevu „antibody dependent enhancement“. Mohla byste se pokusit o interpretaci tohoto výsledku.*

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta: