

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele: Ing. Iva Pichová, CSc.

Datum: 6.9. 2011

Autor: Bc. Martina Belovičová

Název práce: Funkcia proteinu Pmp3p

Cíle práce

Provést analýzu funkce Pmp3p proteinu a studovat jeho lokalizaci v buňkách *Saccharomyces cerevisiae*

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): 93

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? Celá řada metod z molekulární biologie, mikrobiologie a biochemie

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí 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):

Velmi vysoká

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Vytčené cíle byly zcela splněny. Práce svým obsahem přesahuje rámec obvyklých diplomových prací. Byla provedena podrobná studie funkce proteinu Pmp3p. Pro analýzu funkce tohoto proteinu bylo připraveno několik mutovaných kmenů *S. cerevisia* a pomocí fluorescenční mikroskopie, imunochemické detekce, hmotové spektrometrie, izolace lipidových částic a analýzy proteinů byla určena lokalizace tohoto proteinu v kvasinkových buňkách. Kromě toho se podařilo prokázat, že tento proteolipid je stabilně přítomen během vývoje kolonie a neovlivňuje lokalizaci transportérů Ato3.

Literární úvod (24 stran) shrnuje velmi pěkně vědecké poznatky o současných znalostech Pmp3 rodiny proteinů. Přehled je jasně a logicky členěn, uvedené literární odkazy i doprovodné ilustrace jsou vhodně vybrány. Používaný **materiál a metody** jsou podrobně popsány na 22 stranách. Z přehledu metod je patrné, že autorka zvládla, kromě molekulárně biologických technik, také řadu mikrobiologických a biochemických technik. Kapitola **výsledky** má 30 stran a její součástí je řada velmi kvalitních mikroskopických obrázků. Formální zpracování této části je velmi kvalitní, výsledky jsou přehledně sepsány, každá kapitola je uvedena zdůvodněním a vytčením cíle a je zakončena shrnutím výsledků. **Diskuse** na 6 stranách shrnuje a logicky diskutuje získané výsledky a navrhuje další směry výzkumu.

Celkový dojem z diplomové práce je velmi dobrý, práce je napsána hezkým, čtivým způsobem.

Otázky a připomínky oponenta:

Jediné, co bych mohla vytknout, je několik překlepů (kapitola Obsah, str. 14 a několik dalších) a občasné používání anglicismů (str. 31, Running pufr). Popis některých metod je až příliš podrobný a obsahuje detaily, které nejsou důležité, např. popis skládání skel při přípravě SDS PAGE gelů.

K práci bych měla tyto dotazy:

Str. 41, Metoda izolace proteinů. Je zde řečeno, že obsah proteinů byl stanoven Bradfordovým činidlem. V této metodě mohou být použity různé typy barev Coomassie Brilliant blue. Jaké barvy bylo použito?

Na str. 61 je obrázek 4.12, na kterém je analyzována hladina Pmp3p proteinu během růstu kolonií. Jakým způsobem byla normalizovaná koncentrace proteinů použitých pro Western blot analýzu?

V práci se objevuje diskuse na str. 80 o velikosti Pmp3p-HA a jeho možné postranlační modifikaci. Nebyla provedena analýza modifikací pomocí hmotové spektrometrie? Je něco známo o postranlačnických modifikacích podobných proteinů?

Všechny mé drobné výhrady a dotazy by neměly zpochybnit vysokou kvalitu předkládané práce a chtěla bych závěrem konstatovat, že autorka prokázala své schopnosti k tvořivé vědecké práci, a proto navrhuji, aby diplomová práce byla hodnocena jako výborná.

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: