

## Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Anna Dvorská

Název práce: Strukturní biologie komplexu potkaních NK buněčných receptorů NKR-P1B a Clrb

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

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

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

3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů	
	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
X	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
	<b>N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)</b>

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, čtenější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
	<b>N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami</b>

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

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

1. Některé části textu jsou umístěny do nesprávných kapitol, např. text na str. 38 patří do kapitoly Materiál. Diskuse pak obsahuje z velké části pouze opětovné shrnutí výsledků, skutečných diskusních bodů je v ní méně. Ve výsledcích se naopak opakují rozsáhlé pasáže z metodické sekce.
2. Interpretace některých experimentů není zcela jasná. Metoda měření anizotropie fluorescence není vztažena k žádnému teoretickému modelu interakce receptoru s ligandem, proto není jasné, co má být z výsledků patrné. Navíc graf na obr. 5.7 nemá správně popsanou osu x. Bližší vztah k teoretickým modelům chybí i u dalších metod, SPR a diferenční skenovací fluorimetrie.
3. V seznamu literárních zdrojů by každá citace měla obsahovat jména všech autorů citované práce. V mnoha případech tomu tak není, je uveden jen první autor a zkratka „et al.“. Tam, kde je uvedeno více autorů, jsou mezi jejich jmény pomlčky, což je přinejmenším neobvyklé. Formát citací není zcela jednotný, např. poslední stránka článků je někde uvedena celá a jinde jen koncovými číslicemi (srov. citace 3 a 4), někde je uvedeno číslo svazku v rámci ročníku, jinde ne.

Na str. 47, řádku 7 je uveden poměr rClrb a rNKR-P1B 1:2500. Z textu vyplývá, že jde o poměr převrácený, 2500:1 (rClrb je více). To je žádoucí opravit formou opravného lístku.

I přes uvedené připomínky a skutečnost, že ne všechny experimenty se podařilo dotáhnout ke kýženému cíli, obsahuje práce řadu hodnotných výsledků, a navíc významně přispívá k rozvoji nových metodik na pracovišti. Proto ji doporučuji k obhajobě.

## B. Obhajoba

### *Dotazy k obhajobě*

1. V diplomové práci je jako indikátor unfoldingu proteinu v metodě diferenční skenovací fluorimetrie použita SYPRO oranž. K obdobnému účelu se často používá také 8-anilino-1-naftalensulfonová kyselina (ANS). Můžete vysvětlit, proč byla zvolena právě SYPRO oranž a jaké jsou její výhody oproti ANS?
2. Na obrázku 5.12 je vidět, že křivky denaturace proteinu se s rostoucí koncentrací proteinu posouvají směrem k nižším teplotám. To by v případě teplotně indukovaného unfoldingu proteinů nemělo nastávat. Pokud by do hry vstupovala ještě disociace dimeru, posouvaly by se křivky opačným směrem. Čím si tedy tento efekt vysvětlujete? Jak byla nakonec stanovena teplota tání uvedená v obr. 5.13?
3. Metoda SPR, která byla použita pro studium interakce proteinů rClrb a rNKR-P1B, vykazuje u negativní kontroly vysoký signál daný nespecifickou vazbou proteinu rClrb na imobilizované proteiny. Z čeho tedy soudíte, že malý rozdíl, který se navíc projevuje jen od 2500-násobného nadbytku ligandu, je opravdu signálem specifické vazby? Lze pozorované závislosti podložit vhodným teoretickým modelem?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **JE** NENÍ (zakroužkujte) podmínkou přijetí práce

### **C. Celkový návrh**

Práci doporučuji k přijetí k dalšímu řízení: **ANO** / NE

Navrhovaná celková klasifikace: velmi dobře

Datum vypracování posudku: 27.5.2014

Jméno a příjmení, podpis oponenta : Marek Ingr