

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Barbora Kalousková

Název práce: Příprava lidského NK buněčného aktivačního receptoru NKp80 a jeho ligandu AICL

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 nebo rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
	N - nedostatečné

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 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	
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 četnějšími drobnými chybami

5. Formální a grafická úroveň práce

N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Předkládaná diplomová práce je velmi dobrá po stránce odborné i formální. Autorce se v ní podařilo optimalizovat postup přípravy dvou proteinů a ve spolupráci s dalšími spolupracovníky je i charakterizovat několika biofyzikálními metodami. Rozsah i kvalita výsledků je tedy zcela uspokojivá, práce je navíc sepsána přehledně, logicky a jazykově správně, a to, až na drobné chybičky, jak pravopisně, tak i slohově. Proto práci hodnotím v téměř všech kritériích nejvyšší známkou. Část „odborná správnost“ hodnotím stupněm B z toho důvodu, že výsledky některých experimentů nejsou prezentovány v dostatečném rozsahu. Jde hlavně o ty části, u nichž je uvedeno, že je prováděl někdo jiný – nejmarkantnějším příkladem je metoda hmotnostní spektrometrie. Určitě by srozumitelnosti interpretace prospělo, kdyby i zde byla prezentována primární data z experimentů. Stejně tak by bylo vhodné ukázat obrázek gelu z SDS PAGE elektroforézy proteinu NKp80_F2 produkovaného v PB linii po GPC odpovídající obr. 17. V metodické části v tabulce 3 pak není zcela jasné, co znamená koncentrační údaj u předpokládaného komplexu dvou proteinů. I přes tyto drobné nedostatky se však práce jeví jako velmi kvalitní, a navíc otevírá cestu k dalšímu zajímavému výzkumu.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

1. Z elektroforézy SDS PAGE na obr. 14 i GPC na obrázku 15 se jeví, že ve vzorcích proteinového konstruktu NKp80_F1 je v malém množství přítomen i protein NKp80_F2 a naopak. Přítomnost kratšího NKp80_F2 v delším NKp80_F1 by bylo možno vysvětlit proteolytickým štěpením, ale opačně je důvod nejasný. Jak si tento jev vysvětlujete?
2. Výsledky dynamického rozptylu světla i sedimentační analýzy ukazují, že za podmínek experimentu nevzniká komplex proteinů NKp80 a AICL. To je v diskusi odůvodňováno nízkou koncentrací proteinů v daných experimentech. Nicméně pokud uvažujeme v úvodu práce uvedenou disociační konstantu $48 \mu\text{M}$, potom by při koncentraci použité v DLS (ač tento údaj není zcela jednoznačný) měla být koncentrace komplexu cca $5 \mu\text{M}$ při celkové koncentraci každé ze složek cca $20 \mu\text{M}$, komplex by měl tedy tvořit cca 25% veškerého proteinu (v případě stechiometrického poměru složek). U sedimentační analýzy je to asi 12%. To jsou však hodnoty, které by měly být detekovatelné. Proto se ptám: a) Existuje i jiný přijatelný důvod, proč komplex nevznikl či nebyl pozorován? b) Proč nebyly uvedené analýzy provedeny i s koncentrovanějšími proteiny, aby byla tvorba komplexu posílena?

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: výborně.

Datum vypracování posudku: 21.5.2016

Jméno a příjmení, podpis oponenta : Marek Ingr