

Posudek oponenta bakalářské práce

Jméno a příjmení uchazeče: Jakub Hejdánek

Název práce: Molekulární charakterizace vazby inhibitorů neuraminidasy viru chřipky

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

1. Rozsah BP a její členění	
<input checked="" type="checkbox"/>	A - přiměřené, odpovídají charakteru BP a významu jednotlivých částí
<input type="checkbox"/>	B - nevyrovnané, členění není logické nebo rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
<input type="checkbox"/>	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
<input type="checkbox"/>	N - nedostatečné

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

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

4. Jazyk práce	
<input checked="" type="checkbox"/>	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických či pravopisných chyb
<input type="checkbox"/>	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby
<input type="checkbox"/>	C - uspokojivý, čtenější slohové neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné či nejednoznačné formulace
<input type="checkbox"/>	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

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

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5.:

Bakalářská práce Jakuba Hejdánka je napsána srozumitelně, v obvyklém členění, dobře graficky zpracována a po odborné stránce splňuje všechny nároky na bakalářskou práci. Počet citací je na bakalářskou práci poměrně vysoký, přitom jsou však citace dobře formálně zpracovány. V textu se vyskytuje jen málo překlepů, opravný lístek není nutný. Jazyk práce se i poměrně dobře vyvaroval výrazům laboratorního slangu či jiným stylistickým neobratnostem. Oceňuji také podrobný literární úvod, s pěkným přehledem jak ke studovanému enzymu, tak i k terapeutickým možnostem chřipkového onemocnění. Jedinou drobnou výtku či spíše doporučení do budoucna mám k výsledkové části, kde bych přeci jen uvítal poněkud obsáhlejší popis zisku či výpočtu kinetických parametrů – např. výnosy pro určení inhibičních konstant nejsou uvedeny vůbec. Zejména ty experimenty či jejich vyhodnocení, které student neprováděl zcela samostatně, ale pod vedením odborného spolupracovníka, je vhodné tím více rozebrat a čtenáři přiblížit. Celkově je to však velmi kvalitní, čtivá a hezká práce, kterou plně doporučuji k obhajobě.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

- 1) Purifikace mutantní neuraminidasy byla provedena jedнокrokovou afinitní purifikací a její čistota ověřena pomocí SDS elektroforézy. Jste však schopen vyloučit, že Vámi připravený enzymový preparát neobsahoval např. jisté množství sice rozpustné, avšak agregované formy proteinu, či jeho jiné oligomerní stavy než očekávaný tetramer? Toto by nebylo pozorovatelné pomocí SDS elektroforézy a ani úspěšná krystalizace proteinu tuto možnost nevylučuje, neboť krystalizace je sama o sobě purifikačním krokem, avšak mohlo by to ovlivnit výsledky kinetické i termodynamické analýzy, které byly vztahovány na celkovou koncentraci proteinu určenou BCA stanovením či celkovou aminokyselinovou analýzou. Ani zisk očekávané hodnoty Michaelisovy konstanty není argument vylučující nehomogenitu připraveného enzymu. Jaké analytické techniky by například bylo možno použít k charakterizaci Vašeho preparátu?
- 2) Můžete nás seznámit s přesnou aminokyselinovou sekvencí Vámi použitého expresního konstruktů mutantní neuraminidasy? Tato informace v práci zcela chybí. Obsahoval použitý konstrukt místa N-glykosylace? Analyzovali jste nějak případné post-translační modifikace Vámi připraveného proteinu? Pokud ne, jak by to bylo možné provést?
- 3) Vámi studovaný mutant neuraminidasy viru chřipky vykazoval oproti jejímu „divokému typu“ (mimořádně, co je na něm tak divokého?;) sníženou citlivost k inhibitorům, ale také snížené katalytické vlastnosti vůči vlastnímu substrátu. V tomto směru se tedy vskutku mutace S247N sama o sobě příliš nebezpečně nejeví. Nebylo by zajímavější či neuvažujete o studiu přímo několikanásobných mutantů, např. S247N+H275Y+další stabilizující mutace?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

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

C. Celkový návrh

Navrhovaná celková klasifikace (výborně, velmi dobře, dobře, neprospěl): výborně

Datum vypracování posudku: 8. 6. 2016

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): RNDr. Ondřej Vaněk, PhD.