Posudek oponenta bakalářské práce

Jméno a příjmení uchazeče: Jaroslav Kurfürst

Název práce: Hledání fysiologického partnera proteinu Ddi2 (DNA damage-inducible protein homolog 2)

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

	1. Rozsah BP a její členění
X	A - přiměřené, odpovídají charakteru BP 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 jiných zdrojů
X	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejména v umístění odkazů, či 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, eventuelně 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 či pravopisných chyb
	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby
	C - upokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné či 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
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5.:

Bakalářská práce Jaroslava Kurfürsta je napsána srozumitelně, v obvyklém členění, dobře graficky zpracována a po formální 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 proteinu, tak i k ubikvitinu a jeho roli v buněčné biologii. Jediné drobné výtky jsou, že seznam zkratek by měl být seřazen abecedně (chybí PMSF, u UCH je naopak jeden řádek navíc); poněkud chybí obrázky struktury proteinu Ddi2, když se v úvodu diskutuje v porovnání s Ddi1; v obr. 4.2 je místo absorbance při 280 nm vyneseno mAU a chybí vyznačení gradientu (druhá osa y); resin je česky nosič („pryskyřice“). Celkově je to však velmi kvalitní, čtivá a hezká práce, kterou plně doporučuji k obhajobě.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

1) Jaké bylo přesné složení použitého kultivačního média IMDM? Obsahovalo přidaný L-glutamin, HEPES či fetální hovězí sérum (FBS)?
2) Z obrázku 4.6, str. 50, dráhy 5 je vidět, že značná část proteinu Ddi2 se nezachytila na použitém magnetickém anti-FLAG nosiči. Neuvažoval jste o opakované purifikaci nenavázané frakce pro zvýšení celkového výtěžku?
3) Můžete nás seznámit s přesnou aminokyselinovou sekvencí Vámi použitých expresních konstruktů lineárního tetraubikvitinu a Ddi2? Tato informace v práci zcela chybí, stejně jako u všech obrázků agarosových či SDS-PAGE gelů chybí informace o očekávané délce/velikosti pozorovaných fragmentů/proteinů.
4) V diskuzi na str. 53 uvádíte, že lineární tetraubikvitin purifikaci sražením chloristanem „vydržel“. Z čeho tak usuzujete? Jak můžete z vámi uvedených výsledků potvrdit, že izolovaný protein má stále svou nativní konformaci a byl by vhodným substrátem pro stanovení deubikvitinasové aktivity? Jaké preparativní či analytické techniky by například bylo možno použít k charakterizaci Vašeho preparátu?
5) Proč jste nakonec připravený lineární tetraubikvitin nezařadil do provedeného testování hypotetické deubikvitinasové aktivity Ddi2?

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. 2017

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