

Posudek oponenta bakalářské práce

Jméno a příjmení uchazeče : Peter Mihalčín

Název práce: Příprava plazmidu, expresia a pilotná izolácia proteínu MafK – interakčného partnera hemového senzoru Bach1

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

2. Odborná správnost	
X	A - výborná, bez závažnějších připomínek
	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	
	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
X	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. :

Velice pěkná bakalářská práce zabývající se přípravou expresního vektoru, expresí a izolací myšního transkripčního faktoru MafK. Vyzdvihnul bych především kvalitně zpracované výsledky a detailní diskusi. Objem experimentální práce odpovídá spíše práci diplomové, student zvládnul skutečně široké portfolio experimentálních technik (práce s DNA, purifikace proteinů a jejich základní charakterizace) a získal cenné výsledky o proteinu, který se plánuje studovat v laboratoři doc. Martínkové.

K práci mám následující připomínky především formálního charakteru:

1. Obsah práce obsahuje cca. 55 kapitol, což mi přijde na 80 stran hodně a je to méně přehledné. Doporučil bych obsah lépe naformátovat (písmo tučně, kurzívou, odsazení). Trochu zbytečně mi přijde psát v úvodě o použitých metodách, když je možné stručnou teorii zmínit v kapitole materiál a metody u dané popisované metody. Tímto by se rovněž ušetřilo 13 kapitol v teoretickém úvodu. Navíc v kapitole použitý materiál a chemikálie autor najednou píše o přípravě agaru, kultivačního média, sterilního roztoku antibiotik atd., takže některé věci se v práci opakují i tři krát. Nezmiňoval bych se také ani o UV/VIS spektroskopii, která se považuje za základní biochemickou techniku.
2. Když se autor odkazuje na kapitolu v textu, je dobré uvést i stránku, kde se tato kapitola nachází. To samé platí i o obrázcích. Neuvádění stránek stěžuje orientaci v textu.
3. Autor se snaží vysvětlit funkci a vzájemné fungování proteinů Bach1 a MafK přibližně na deseti stránkách, kde mi ovšem chybí jakýkoliv obrázek ilustrující funkci těchto dvou proteinů, který by danou problematiku lépe objasnil.
4. V abstraktu, teoretickém úvodu ani v cílech práce není uvedeno s jakým proteinem bude autor pracovat - jestli je to protein lidský, krysí nebo myší. První zmínka je až v kapitole „Použité metody“ na stránce 42.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

1. V kapitole 1.3.3. (str. 22) píšete o různém exonovém uspořádání genů sMaf – můžete objasnit jaké jsou možnosti posttranskripčních úprav u proteinu MafK, co je to distální první exon, proximální první exon, s jakou variantou MafK jste pracoval ve své práci a jak se odlišuje od jiných variant?
2. V práci se zmiňujete o aktivní a inaktivní formě Bach1. Co to znamená pro jeho funkci jako transkripčního faktoru a interakci s proteinem MafK? Můžete objasnit jakým způsobem dochází a co je signálem pro vzniku heterodimeru Bach1-MafK? Váže se MafK na Bach1 jako dimer nebo jako monomer? Jaký je poměr Bach1-MafK v komplexu? Jaký je fyziologický oligomerní stav proteinu MafK a proč jste se snažili tento protein purifikovat v jeho monomerní formě?
3. Proč jste se rozhodli umístit His-tag na C-konec proteinu, když původní konstrukt obsahoval Flag-tag na N-konci? Mohlo mít toto nějaký vliv na stabilitu proteinu? Výtěžky proteinu MafK byly velice nízké – byl tento protein předtím úspěšně exprimován a izolován jinou skupinou? Jaký přístup k tomu využili?
4. Na obr. 10B v dráha 6 tvrdíte, že je nepřítomnost proteinu MafK způsobena špatným přenosem proteinu z gelu na membránu, zatímco pro dráhu 7 tvrdíte, že je protein nepřítomen z důvodu, že se veškerý zachytil na afinitní nosič. Můžete vysvětlit tuto nesrovnalost?

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: 4.6.2017

Jméno a příjmení, podpis oponenta : Mgr. Martin Stráňava, Ph.D.