

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazečky: **Bc. Barbora Landová**

Název práce: Strukturní studie mechanismu opravy poškozené DNA Nei glykosylasou

A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce

1. Rozsah DP a její členění	
X	A - přiměřené, odpovídají charakteru DP 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	
	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	
	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
X	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

Shrnutí práce:

Úkolem studentky a předmětem předložené diplomové práce byla podrobná studie faktorů ovlivňujících vznik intermolekulárního kovalentního prokřížení DNA. Velká část práce byla věnována přípravě glykosylas, jmenovitě Formamidopyrimidin-DNA glykosylase (Fpg) a NEIL3 endonuklease (Endonuclease VIII-like III) a jejím dvěma variantám. Tyto glykosylasy patří do rodiny Fpg/Nei glykosylas, rozpoznávají intermolekulární kovalentní prokřížení DNA a podílejí se na jeho odstranění. Dále byl studován vliv sekvence DNA na vznik prokřížení a preference studovaných glykosylas vázat jedno- či dvouvláknovou DNA. Fpg glykosylasa byla v rámci předložené práce úspěšně zkrystalizována a její struktura byla vyřešena metodou molekulového nahrazení do rozlišení 2.9Å. Ráda bych zdůraznila, že předkládaná práce řeší experimentálně náročný projekt a studentka použila velmi široké spektrum metod.

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Rozsah a členění práce je odpovídající požadavkům pro diplomovou práci. Oceňuji velké množství využitých biochemických metod a komplexnost projektu, a proto hodnotím bod 1 stupněm A. Také citovaná literatura odpovídá požadované úrovni a též tedy hodnotím stupněm A.

Bohužel práce obsahuje celou řadu nepřesností, jazykových neobratností, nevysvětlených zkratk a nejasností ve výkladu. Dále jsem našla tyto formální nedostatky: 1) V úvodní části by bylo potřeba popsat, která část připravovaných proteinů má enzymatickou aktivitu, a vysvětlit volbu variant NEIL3 glykosylasy použitých v této práci. 2) Členění obrázků by mělo odpovídat popisku (např. obr. 1.5 a 1.7), analyzované frakce by měly být přesně popsány (např. obr. 5.3, 5.5, 5.8), názvy náplní chromatografických kolon (mS nebo SP sepharosa, mQ nebo Q sepharosa) a jednotlivých variant proteinů by měly zůstat jednotné v celém dokumentu (xNEIL3 K60Astop nebo xNEIL3 K60Ast). 3) Ve výsledkové části bych doporučila dosažené výsledky alespoň shrnout v několika větách. Jde o hlavní výstup práce a není tudíž dostatečné výsledky jen presentovat v grafické formě a ponechat čitatele, aby si závěry učinil sám. Také chybí informace, kolikrát byla jednotlivá měření prováděna, a jak byla určena odchylka (např. obr. 5.12 a 5.13) 4) V diskuzi je potřeba dosažené výsledky ještě více porovnat s informacemi z literatury, včetně citací. Z těchto důvodů hodnotím zbývající body 2,4 a 5 stupněm B.

Celkově hodnotím předkládanou diplomovou práci známkou B, kvůli nedostatkům v písemné presentaci výsledků, jinak je tato diplomová práce je vědecky velice přínosná, bylo využito mnoho metod a podařilo se dosáhnout stanovené náročné cíle.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

1. V kapitole 1.3 uvádíte, že délka řetězce ubikvitinů rozhoduje o tom, která dráha bude zodpovědná za opravu intermolekulárního kovalentního prokřížení. Je známo, kolik molekul se rozumí pod krátkým respektive dlouhým řetězcem?
2. Vysvětlíte volbu variant xNEIL3 glykosylasy.
3. Jaká je aktivita xNEIL3 konstruktů zkráceného na 264 aminokyselin v porovnání s plnodélným konstruktem?
4. V kapitole 5.2.2. je popsána příprava xNEIL3 K60A 264stop a Fpg na propojených ionexových kolonách MonoQ a SP sepharose. Po nanesení vzorku byla kolona MonoQ odpojována a protein eluován gradientem chloridu sodného jen z SP kolony. Popište účel kolony MonoQ. Jak jste si ověřila, že se připravovaný protein na MonoQ nevázal?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **NENÍ** podmínkou přijetí práce

C. Celkový návrh

Navrhovaná celková klasifikace: velmi dobře

Datum vypracování posudku: 14.5.2019

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): Dr.rer.nat. Vanda Lux

V Praze, dne