

Posudek oponenta bakalářské práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Dominik Musil

Název práce: Analýza posttranslačních modifikací proteinů hmotnostní spektrometrií

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	
	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

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Na předkládanou práci lze koukat ze dvou pohledů. Z pohledu experimentálního se jedná o velmi zdařilou práci s velkým penzum odvedené práce. Předkladatel si očividně osvojil celou řadu nových technik včetně jejich interpretace, což kvitují. Bohužel celkový dojem kazí formální zpracování a velké množství i odborných chyb (výčet uvádím níže). Naopak oceňuji diskusi, která je psána velmi čtivě a předkladatel v ní skutečně své výsledky diskutuje, což mnohdy nebývá u bakalářských prací zvykem.

Výčet chyb práce (bez gram.chyb):

Ve zkrátkách se vyskytují i zkratky, které tam nepatří, veličiny jako je čas apod.

PBS pufr je označen jako fyziologický roztok.

Odstavec 1 úvodu práce obsahuje velké penzum informací bez jediné citace.

V kontextu práce by mělo být psáno slovo izolace se s (isolace).

Autor vytváří nesmyslně odstavce téměř za každou druhou a někdy i za každou první větou.

V textu se často vyskytují anglické výrazy, pro které existuje daleko lepší český ekvivalent assay, transkribovány atd.

Není vysvětleno, co je TE pufr.

Některé přístroje jsou popsány jen jejich komerčním názvem a není patrné jaká jejich funkce.

Chybí původ u bakteriálních kmenů a některých plasmidů.

V odstavci 6.3.2 je uvedeno “dle doporučeného návodu”, ale není uvedeno, kým doporučeného.

V odborném textu by se měl upřednostňovat termín elektroforetická separace nikoliv elektroforesa.

Isopyknická centrifugace se píše vždy s y.

Chybí informace o koncentracích jednotlivých složek roztoku A při stanovení koncentrace pomocí BCA.

V odstavci 6.7.2 je popsáno, že někdy bylo ze vzorků odebráno 5 a někdy 10 mikrolitrů, mělo by být popsáno, kdy to tak jak.

V odstavci 6.7.3 je uvedeno, že byl ke vzorkům přidán aceton nebo acetonitril. Mělo by být popsáno, do kterých to byl aceton a do kterých acetonitril.

V odstavci 6.7.5 je napsáno, že byl gel odbarven 50% ethanol a 10% kyselinou octvou. Ve skutečnosti byl gel odbarven jedním roztokem obsahující ethanol, vodu a kyselinu octovou v poměru 50:40:10 (v/v).

V odstavci 6.8 není uvedeno jaká proteasa byla použita ke štěpení proteinů.

Uvádět koncentraci s přesností na 3 desetinná místa, tak jak to je v Tab.4 je vzhledem k chybě měření nesprávné.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

1. Na str. 7. odst 1 píšete "...existuje pouze 20 základních proteinogenních AMK,..." Je tomu ovšem skutečně tak?
2. Byly pro elektroforetickou separaci v agarosovém gelu (str. 32 obr. 8) použity stejné nanášky vzorků plasmidů před a po štěpení restriční endonukleasou? Pokud ano, čím si vysvětlujete velký rozdíl ve velikosti proužků pro vzorky před a po štěpení?
3. Ve výsledcích na str. 42 píšete, že koncentrace vzorků byla stanovena různými metodami, mimo jiné pomocí "Qubit". Nicméně v metodické sekci práce není žádné takové stanovení popsáno. Můžete tedy popsat, co je Qubit, o jaký typ měření koncentrace se jedná a jak probíhalo?
4. Na obr. 13C na str. 46 je záznam polyakrylamidového gelu po nanesení vzorků virových proteinů. Čím si vysvětlujete, že vzorky 3T6_pLUC a WOP_pLUC na něm nejsou viditelné?
5. Analýza fosforylace proteinu VP1 pomocí hmotnostní spektrometrie odhalila, že aminokyseliny T63 a T156 jsou fosforylovány a peptid 58-76 je dokonce fosforylován dvojnásobně, z čehož autor usuzuje, že fosforylován je rovněž S66. Byly aminokyseliny T63 a T156 fosforylovány ve všech peptidech anebo byly ve spektru identifikovány rovněž peptidy, v nichž jsou T63 a T156 nefosforylovány? Lze na základě MS/MS analýzy Obr.14 na str. 49 vyloučit, že druhou fosforylovanou aminokyselinou v peptidu 58-76 je T68?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **JE** / ~~**NE**~~ (zakroužkujte) podmínkou přijetí práce

C. Celkový návrh

Práci doporučuji k přijetí k dalšímu řízení: **ANO** / ~~**NE**~~

Navrhovaná celková klasifikace: velmi dobře

Datum vypracování posudku: 28.8.2019

Jméno a příjmení, podpis oponenta : Zdeněk Kukačka