

Posudek oponenta na diplomovou práci

x <input type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: RNDr. Blanka Zikánová
	Datum: 1.6.2012
Autor: Bc. Dana Chytrá	
Název práce: Charakterizace glycinové smyčky alfa podjednotky mitochondriální procesující peptidasy <i>Sacharomyces cerevisiae</i> .	
Cíle práce Cílem práce bylo metodou cílené mutagenese připravit konstrukt se záměnou tryptofanu v pozici 223 α podjednotky mitochondriální procesující peptidázy a zavést reportérový tryptofanový zbytek do vybrané pozice v glycinové smyčce této podjednotky. Následně ověřit stabilitu a aktivitu MPP a porovnat ji s MPP z divokého kmene <i>S. cerevisiae</i> . Dále metodou časově rozlišené fluorescenční spektroskopie sledovat dynamiku reportérového tryptofanového zbytku v glycinové smyčce a pro možnost měření fluorescence MPP zabudovat analog tryptofanu do α -MPP.	
Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO Rozsah práce (počet stran): 105 Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO Je uveden seznam zkratk? ANO	
Literární přehled: Odpovídá tématu? ANO Je napsán srozumitelně? ANO Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO Autorka vycházela z 95 zdrojů, téměř třetina z nich je za posledních 5 let. Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO	
Materiál a metody: Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO Kolik metod bylo použito? Bc. Dana Chytrá využila ke své práci velký počet metod – kultivační techniky, izolace plazmidové DNA a její enzymatické úpravy, PCR, horizontální elektroforéza, SDS-PAGE, nativní elektroforéza, purifikace proteinů (metaloafinitní chromatografie, gelová chromatografie) aj. Jsou metody srozumitelně popsány? Ano, výborně. Každá metoda je uvedena stručným principem, a vysvětlením k čemu byla použita, samozřejmě nechybí ani konkrétní postup. Chválím i doplnění podkapitoly materiál o použitý software. Na str. 42, poznámka k použitým primerům. „Tučně označené aminokyseliny....“ Správně asi mělo být – tučně označené báze....	
Experimentální část: Je vysvětlen cíl experimentů? ANO	

<p>Je dokumentace výsledků dostačující? ANO, jen některé obrázky např.4.2. nebo 4.6. by mohly být větší. Pokud je výsledek v obr.4.5.A nevýrazný (intenzita), stačilo by označit jej šipkou. Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO, ráda bych se zeptala z kolika opakování experimentu jste vycházela při porovnání enzymatických aktivit MPP s reportérovou α MPP a MPP z divokého kmene?</p>
<p>Diskuze: Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO, zejména s pracemi a výsledky laboratoře, kde působila diplomantka. Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO Diskuze je poměrně rozsáhlá, 6 stran textu.</p>
<p>Závěry (Souhrn) : Jsou výstižné? ANO, jen bych vynechala informace o plánovaných experimentech.</p>
<p>Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň): Jazyková úroveň je výborná, autorka se úspěšně a srozumitelnou formou vyrovnala i s vysvětlením experimentů/ výsledků v kap.4.5.2. Měření časově rozlišené fluorescence. Všechny tabulky a obrázky mají vyčerpávající komentář. Připomínku mám pouze ke kvalitě některých obrázků, výsledků elektroforéz, v experimentální části.</p>
<p>Splnění cílů práce a celkové hodnocení: Bc. Dana Chytrá si vytkla řadu cílů (5), při jejich řešení se potýkala s řadou experimentálních problémů, ale všechny cíle se jí podařilo splnit. Práce splňuje všechny požadavky, a doporučuji ji k přijetí k obhajobě.</p>
<p>Otázky a připomínky oponenta: 1/ V tab.4.6. uvádíte očekávané velikosti fragmentů amplifikované DNA po štěpení RE a z obr.4.4.C je patrné, že se vám nepodařilo všechny vizualizovat. Máte pro to nějaké vysvětlení? 2/ Na obr.4.8.B je kromě 2 signálů odpovídajícím MDH a odštěpené presekvenci z myši vidět ještě jeden signál o menší molekulové hmotnosti. O jaký produkt se jedná? 3/ Proč byla použita pro testování aktivity α-MPP jako substrát MDH s presekvencí z melounu? 4/ Na str.82 uvádíte, že poměrový rozdíl změřených hodnot mezi samotnou α-MPP a α-MPP se substrátem byl u obou variant, reportérový tryptofanový zbytek v pozicích 289 a 299, srovnatelný. To znamená, že pohyblivost GRL byla srovnatelná. Z dat uvedených v tab.4.7. na str. 76 se mi zdá, že aktivita α-MPP s tryptofanovým zbytkem pozici 299(uvedená v % ve srovnání s aktivitou MPP divokého kmene) je vyšší než u α-MPP s tryptofanovým zbytkem v pozici 289. Je tedy nějaký vztah mezi pohyblivostí GRL a aktivitou MPP?</p>

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)
<input type="checkbox"/> výborně <input type="checkbox"/> velmi dobře <input type="checkbox"/> dobře <input type="checkbox"/> nevyhověl(a)
Podpis oponenta: