

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Bc. Samuel Pažický

Název práce: Study of NKp30 oligomerization and its interaction with B7-H6
(*Studium oligomerizace proteinu NKp30 a jeho interakce s B7-H6*)

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

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 nekorresponduje 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	
	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
X	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. :

Předkládaná práce navazuje na bakalářskou práci uchazeče a další BP ze stejné laboratoře. Jejím cílem je strukturní charakterizace receptoru NKp30 a jeho interakce s ligandem B7-H6. Práce je sepsána v anglickém jazyce, který má celkem slušnou úroveň, ale přesto lze narazit na absenci určitých i neurčitých členů, drobné stylistické neobratnosti či nevhodně použitá slova. Každopádně oceňuji autorovou snahu a odvahu se do sepsání v angličtině pustit.

Po formální stránce je práce dobře členěná a výsledky dobře diskutovány. Měl bych drobné výtky k práci s literaturou – teoretický úvod více čerpá v začátku z přehledových článků a v seznamu literatury jsou drobnější chyby ve formátování (pojem „electronic collection“, občasné chyby či nejednotnost v citačním stylu). Autora bych také upozornil na drobnou nesourodost v používání a definování zkratk a další drobné nedostatky – např. psaní Czech Republic vs. Czech republic (seznam přístrojů), psaní mezer mezi číselnou hodnotou a jednotkou (metody), nejednotné užívání desetinné čárky nebo tečky (v angličtině spíše tečka). Nejasný je čtenáři důvod použití glutathion sepharosy po deglykosylaci (str. 43) a ne zcela jednoznačně dohledatelné podmínky pro deglykosylaci studovaných proteinů – absence popisu pufrů GP a G5, pH jednotlivých podmínek deglykosylace (kap. 4.4.3. a 5.1.2. a 5.1.6.), atd.

Navzdory výše uvedeným výhradám však oceňuji šíři použitých experimentálních technik a pokus o syntézu mnoha různých druhů výsledků a práci doporučuji k dalšímu řízení.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

Z teoretického úvodu (kap. 1.2.4.) a výsledků vyplývá poněkud komplexnější chování v tvorbě komplexu NKp30/B7-H6 v závislosti na expresním systému a typu glykosylace. Mohl byste tuto problematiku krátce diskutovat a zejména zmínit důvod, proč jste použili expresní systém s omezeným glykosylačním aparátem?

Cílem řady experimentů bylo charakterizovat tvorbu komplexu NKp30/B7-H6 a jedním z výstupů je i určení hodnoty disociační konstanty tohoto komplexu. Můžete stručně shrnout za jakých koncentrací proteinů byly jednotlivé experimenty prováděny a jak to mohlo ovlivnit vámi získaný výsledek z pohledu množství komplexu přítomného v roztoku?

V kap. 5.1.5. uvádíte, že se nepodařilo charakterizovat glykosylaci na posledním místě mB7-H6 (Asn242). Nepodařilo se toto místo zachytit při digesci v experimentech H/D výměny, kdy se dosahuje vysokých (úplných) pokrytí sekvence?

Je možné, aby vámi použitý expresní systém produkoval protein s N-vázanými glykany obsahujícími fukosu? Respektive máte vysvětlení pro ostatní píky, které jsou ve spektru v obr. 20 viditelné?

Na str. 62 komentujete vzdálenost získanou z chemického sítění a délku daného činidla. Můžete diskutovat jaké faktory je třeba zohlednit u této techniky při odhadu vzdálenosti dvou aminokyselin v proteinové struktuře?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

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

C. Celkový návrh

Navrhovaná celková klasifikace (výborně, velmi dobře, dobře, neprospěl)

Výborně - velmi dobře

Datum vypracování posudku: 31.8.2016

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): Petr Man