

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazečky: Bc. Růžena Lišková

Název práce: REKOMBINANTNÍ PŘÍPRAVA TRANSKRIPČNÍHO FAKTORU TEAD

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

1. Rozsah DP a její členění	
	A - přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí
X	B - nevyrovnané, členění není logické nebo 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	
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	
X	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
	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.

Předložená práce REKOMBINANTNÍ PŘÍPRAVA TRANSKRIPČNÍHO FAKTORU TEAD svým rozsahem a členěním odpovídá charakteru diplomové práce. Výhrady mám k teoretické části, kde je nedostatečný popis některých obrázků, případně je popis umístěn ve vlastním textu na jiné straně. Další nedostatky jsou v kapitolách 4. Metody a 5. Výsledky. V kapitole Metody jsou uváděny příliš konkrétní popisy metod / výsledků – např. 4.3.4 Výměna pufrů dialýzou. Naopak v kapitole výsledky je v některých případech popisována metoda daného postupu příliš obecně.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

- 1) Jedním z prvních dílčích cílů byla příprava dvou expresních vektorů pro produkci celého proteinu TEAD1 a jeho DNA vazebné domény. Dále byla popsána pouze produkce, příprava a izolace DNA vazebné domény. Zkoušela jste přípravu a izolaci i celého TEAD1 proteinu?
- 2) Při ověření produkce DNA vazebné domény jste použila imunodetekci polyhistidinové kotvy (např. obr. 28). Jakým způsobem si vysvětlujete velmi silný nespecifický signál při použití různých koncentrací induktoru?
- 3) Při afinitní purifikaci na Ni-NTA agarose byla kolona nejprve promyta pufrům obsahující vysokou koncentraci imidazolu. Byl imidazol následně odstraněn jiným způsobem než uvádíte, tedy pouze promytím kolony ekvilibračním pufrům?
- 4) Uvádíte, že teoretická velikost DNA vazebné domény je 11,8 kDa, ale na polyakrylamidovém gelu byla detekována ve větší velikosti. Máte nějaké vysvětlení pro pomalejší migraci DNA vazebné domény v polyakrylamidovém gelu?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

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

C. Celkový návrh

Práci doporučuji k přijetí k dalšímu řízení: **ANO**

Navrhovaná celková klasifikace: výborně

Datum vypracování posudku: 19. 5. 2016

Jméno a příjmení, podpis oponenta: Ondřej Staněk