



JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH



Přírodovědecká fakulta

POSUDEK OPONENTA NA BAKALÁŘSKOU PRÁCI

Autor práce: URBANOVÁ Rita

Název práce: Purifikace hemlipoglykoproteinu z hemolymfy klíštěte *Dermacentor marginatus*

Školitel práce: RNDr. Ján Štěrba, Ph.D.

Oponent práce: Mgr. Lenka Bučinská

Pracoviště oponenta: Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích,
Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

Mikrobiologický ústav AVČR, v.v.i., Sektor fototrofních mikroorganismů,
Opatovický mlýn, Novohradská 237, 379 81 Třeboň*

	Bodový rozsah hodnocení ¹	Body
(1) FORMÁLNÍ POŽADAVKY		
celkový rozsah práce (pro bakalářské práce min. 18 stran, pro diplomové práce min. 25 stran), vyváženost rozsahů jednotlivých částí, logická struktura práce (u experimentálních prací doporučení pro teoretickou část do 1/3 celkového rozsahu)	0-3	2
kvalita literární rešerše (množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru, aktuálnost zdrojů)	0-3	2
správnost používání citačních odkazů (přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratk časopisů)	0-3	2
grafická úprava textu a obrázků	0-3	2
adekvátnost a srozumitelnost výsledků a závěrů	0-3	3
úroveň souhrnu/anotace (i v angličtině)	0-3	2
jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví	0-3	2
správnost a úplnost legend u obrázků a tabulek (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	0-3	1
Formální požadavky – body celkem		16
(2) VĚCNÉ POŽADAVKY		
výstižnost formulace cílů práce	0-3	3
splnění cílů práce	0-3	3

¹ Bodový rozsah hodnocení: 0-nevyhovující, 1-vyhovuje, 2-průměrné, 3-excelentní. U teoretických prací hodnotíte jenom (1) Formální a (2) Věcné požadavky, u experimentálních prací i (3) Věcné požadavky experimentálních prací, u prací v cizím jazyce i (4) Jazykovou úroveň práce v cizím jazyce.

úroveň diskuse – interpretace výsledků, zařazení do kontextu v literatuře	0-3	1
Věcné požadavky – body celkem		7

(3) VĚCNÉ POŽADAVKY – EXPERIMENTÁLNÍ PRÁCE

logika postupu při vlastní výzkumné práci	0-3	3
úplnost popisu použitých metodik	0-3	2
experimentální náročnost práce, samostatnost při práci	0-3	2
úroveň zpracování experimentálních dat	0-3	2
aktuálnost použitých metod	0-3	3
přínos práce pro obor a publikovatelnost výsledků (po případném doplnění)	0-3	2
Věcné požadavky u experimentálních prací – body celkem		14

(4) PRÁCE V CIZÍM JAZYCE

jazyková a stylistická úroveň	0-3	
-------------------------------	-----	--

CELKEM BODŮ (MAX/ZÍSKANÝCH)

51²

37³

Připomínky a dotazy, na které má studentka reagovat při obhajobě:

Rita Urbanová se v bakalářské práci zabývala izolací hemlipoglykoproteinu (HLGP) z hemolymfy pijáka stepního, *Dermacentor marginatus*, pomocí dvou různých metod a jeho následnou přípravou pro další biochemickou charakterizaci. U získaného proteinu měla být podle plánu charakterizována jeho struktura a vazba se sacharidy. Získané výsledky bakalářské práce by tak přímo navázali na práci Dupejová a kolektiv (2011) a doplnili tak charakterizaci hemlipoglykoproteinu o další vazebnou specifitu k dalším sacharidům. Z textu práce je patrné, že si autorka vyzkoušela a osvojila řadu biochemických metod. V případě bakalářské práce nepovažuji dílčí neúspěch v experimentální části za závažný, měl by být ale vyvážen rešerší a samozřejmě také každý takový nezdar vhodně diskutován. Z toho vychází má hlavní výtka, kterou představuje celá kapitola – Diskuse. Autorka v diskusi pouze jinak formuluje předchozí kapitolu – Výsledky. Chybí mi alespoň pokus o srovnání výsledků ostatních autorů, důkladněji se zamyslet nad důvody neúspěchu v experimentální části a případně navrhnout postupy, které by napomohly k úspěchu. Na druhou stranu musím vyzdvihnout, že se autorka pustila do složitějších metod jako jsou povrchová resonance plasmonu či cirkulární dichroismus ve spolupráci s Národním centrem pro výzkum biomakromolekul v Brně na Masarykově univerzitě.

Připomínky dále v bodech:

- V literárním úvodu autorka uvádí velké množství informací k obecným tématům (klíšťata a jejich rozřazením do skupin, patogeny, které klíšťata přenáší, sliny a sání klíšťat, imunitu bezobratlých), a hlavní téma práce se poněkud ztrácí. Uvedené informace často na sebe ani nenasazují.
- Práce se má vztahovat k hemlipoglykoproteinu z hemolymfy klíštěte *Dermacentor marginatus*,

² Vyberte jednu z hodnot: 33 bodů pro teoretické práce, 36 bodů pro teoretické práce v cizím jazyce, 51 bodů pro experimentální práce, 54 bodů pro experimentální práce v cizím jazyce

³ Zadejte počet přidělených bodů.

proto bych, logicky čekala, že se autorka bude nejvíce věnovat tomuto tématu. Hemlipoglykoprotein je ale popisován velmi stroze výpisem jednotlivých faktů s citací pouze dvou prací Dupejová 2011 a Dupejová *et al.* 2011. I pokud bychom předpokládali, že je tento protein neznámý a existuje jen málo dostupné literatury, určitě mohla autorka alespoň srovnat funkčně podobné proteiny popsané z jiných klíšťat.

- Autorka často opakuje některá fakta. Například to, že lektiny váží sacharidy, se čtenář dozvídá nejméně třikrát, ale pokaždé v jiné podkapitole.
- V metodické části v popisu centrifugace bych doporučovala používat místo otáčky za minutu raději údaj o zrychlení v g. Metoda „elektroeluce“ je pro člověka věci neznalého napsána nesrozumitelně. Pro lepší pochopení metody by pomohl obrázek aparatury či alespoň uvedení typu přístroje či výrobce.
- V kapitole výsledky by nevadilo obrázky doplnit podrobnějším komentářem, aby se čtenář nemusel často vracet do kapitoly metodiky a dohledávat si znovu informace o daném pokusu. Výhradu mám i k samotným popisům obrázků, které ne vždy jasně sdělují co má čtenář v daném obrázku vidět. Přestože je tímto ztížená orientace v datech autorka zdárně a v logické posloupnosti předkládá své výsledky.
- U výsledku „5.2. Imunobloting“ autorka píše, že membránu „inkubovala s myšimi primárními protilátkami rozeznávající.“ Předpokládám, že se jedná o primární protilátku proti HLGP, kterou omylem v textu zapoměla dopsat.

Na autorku mám následující otázky:

- 1) Zkoumaný protein HLGP má molekulovou hmotnost 290 kDa, přesto je pro elektroforézu proteinů hemolymfy používán poměrně koncentrovaný gel (10%). Jaké další techniky separace proteinů či varianty elektroforéz by bylo možné použít, aby byl protein HLGP lépe oddělen ve směsi proteinů hemolymfy?
- 2) Na obrázku 6. “Neredukované a redukované proteiny hemolymfy *D. marginatus* přeblované na membránu” je šipkou označen protein HLGP značený protilátkou. Méně zřetelně jsou vidět ale i další proteiny včetně markeru. Znamená to tedy, že se také značí protilátkou proti HLGP?
- 3) Účinnost elektroeluce autorka ověřila elektroforézou gelových proužků. Obrázek 7 je tedy gel obarvený commasie, nebo autorka gel přeblovala a proteiny potvrdila značením protilátkou?
- 4) Koncentrace proteinu po refoldingu byla nízká, autorka konstatuje, že účinnost refoldingu proteinu HLGP byla okolo 7 či 4%. Jakým způsobem by autorka příště zkusila získat vyšší koncentrace refoldovaného proteinu HLGP?
- 5) Imunoprecipací bylo získáno malé množství proteinu HLGP a kvůli nízkým koncentracím nebyla imunoprecipitace potvrzena na SDS-PAGE gelu. Zkoušela autorka přeblovat gel s jednotlivými frakcemi na membránu a protein HLGP detekovat protilátkou?
- 6) Má studentka v plánu pokračovat v práci na tomto tématu? Pokud ano. Jakým způsobem se bude její práce ubírat a jaké nové metody využije v charakterizaci zkoumaného hemlipoglykoproteinu?

Případné chyby, které je nutno opravit:

Autorka ne vždy správně používá citace. Např. v úvodním odstavci, kterým uvádí zkoumaný hemlipoglykoprotein, chybí citace k předkládaným výrookům. Dál se v citované literatuře vyskytují chyby: Bakalářská práce J. Dupejové 2008 je v seznamu literatury, ale není nikde citovaná;

Magisterská práce J. Dupejové je uvedena s rokem 2010, přitom obhajoba práce byla až v roce 2011.

Práce Grubhoffer *et al.* 2008 je v literatuře uvedena bez ostatních autorů;

Citace Pattnaik, 2005 je uvedena chybně a v textu je s překlepem. Správně by měla vypadat, dle struktury ostatní literatury, takto:

Pattnaik P 2005. Surface plasmon resonance: applications in understanding receptor-ligand

interaction. Appl. Biochem. Biotechnol. 126, 79-92.

Tyto chyby nejsou nijak závažného charakteru a není nutné se k nim při obhajobě vracet.

Případně další komentář oponenta:

Závěr:

Předkládaná práce splňuje všechny nároky kladené na bakalářskou práci a i přes některé mé výhrady a připomínky práci k obhajobě doporučuji.

Práci

d o p o r u č u j i

k obhajobě a navrhuji známku velmi dobře

V Českých Budějovicích

dne 20.1.2013

.....


Podpis