



## POSUDEK OPONENTA NA DIPLOMOVOU\* PRÁCI

**Autor práce:** Bc. Jaroslav Ondruš

**Název práce:** Význam sialovaných glykoproteinů pro klíště *Ixodes ricinus*

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

**Oponent práce:** Mgr. Jaroslava Lieskovská, Ph.D.

**Pracoviště oponenta:** Katedra medicínské biologie, Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita

	Bodový rozsah hodnocení <sup>1</sup>	Body
<b>(1) FORMÁLNÍ POŽADAVKY</b>		
<b>celkový rozsah práce</b> (pro bakalářské práce min. 18 stran, pro diplomové práce min. 25 stran), <b>vyváženost rozsahů jednotlivých částí, logická struktura práce</b> (u experimentálních prací doporučení pro teoretickou část do 1/3 celkového rozsahu)	0–3	3
<b>kvalita literární rešerše</b> (množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru, aktuálnost zdrojů)	0–3	3
<b>správnost používání citačních odkazů</b> (přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratk časopisů)	0–3	3
<b>grafická úprava textu a obrázků</b>	0–3	3
<b>úroveň souhrnu/anotace</b> (i v angličtině)	0–3	3
<b>jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví</b>	0–3	3
<b>správnost a úplnost popisů u obrázků a tabulek</b> (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	0–3	3
<b>Formální požadavky - body celkem</b>		21
<b>(2) VĚCNÉ POŽADAVKY</b>		
<b>výstižnost formulace cílů práce</b>	0–3	3
<b>splnění cílů práce</b>	0–3	3
<b>úroveň diskuse - interpretace výsledků, zařazení do kontextu v literatuře</b> (absence diskuze výsledků s literaturou je nepřijatelná)	0–3	2

\* Nehodící se škrtněte

<sup>1</sup> 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.

Věcné požadavky - body celkem 8

### (3) VĚCNÉ POŽADAVKY - EXPERIMENTÁLNÍ PRÁCE

logika postupu při vlastní výzkumné práci	0-3	2,5
schopnost porozumět výsledkům, jejich interpretace a jasný popis, srozumitelnost diskuze a závěrů	0-3	2,5
úplnost popisu použitých metodik	0-3	3
experimentální náročnost práce, samostatnost při práci	0-3	3
úroveň zpracování experimentálních dat	0-3	2,5
aktuálnost použitých metod	0-3	3
přínos práce pro obor a publikovatelnost výsledků (po případném doplnění)	0-3	2,5
Věcné požadavky u experimentálních prací - body celkem		19

### (4) PRÁCE V CIZÍM JAZYCE

jazyková a stylistická úroveň 0-3

**CELKEM BODŮ (MAX/ZÍSKANÝCH) 48 0-54<sup>2</sup>**

#### Připomínky a dotazy, na které má student/-ka reagovat při obhajobě:

1. JAK/STAT je pojmenování signální dráhy, není to transkripční faktor (str.12).
2. Koncentrace glutaminu není uvedena správně (str. 26). Uvádí se jako výslední molární koncentrace, uvádět procentuální složení ze zásobního roztoku je nesprávně.
3. Opakovaně se v práci vyskytuje termín alkaická fosfatáza. Předpokládám, že autor ví, že se jedná o alkalickou fosfatázu. Četnost tohoto překlepu se však nedala přehlédnout. Poněkud úsměvné bylo se dozvědět, že autor kultivoval buňky v kultivátoru a ne v inkubátoru a používal blotící aparaturu a ne blotovací aparaturu. Je ten pelet, ne ta peleta.
4. V textu kapitoly Výsledky se zbytečně opakuje to, co je v legendě k obrázkům. Snižuje to srozumitelnost textu.
5. Skutečnost, že byly detekovány sialované glykoproteiny ve vajíčku není důkazem, že se tyto glykoproteiny účastní embryogeneze. Doporučuji opatrněji formulovat závěry.
6. Uvádíte, že byla detekována změna v obsahu sialovaných glykoproteinů ve 3-, 7-, 14- denních vajíčkách. Takovéto tvrzení by mělo být podloženo kvantitativní analýzou.

#### Otázky:

1. Proč je na obrázku 11 str. 47 kontrola F menší? Je správně říkat vajíčku 14 dní po jeho nakladení stále vajíčko?
1. Z vašich experimentů vyvozujete, že glykanová část na sérových proteinech je kritická pro jejich rozpoznání klíštěcími buňkami. Byl růst klíštěcích buněk IRE/CTVM19 v přítomnosti značených sérových proteinů na glykanové části srovnatelný s růstem buněk v přítomnosti sérových proteinů značených na proteinové části?
2. Obsahují klíštěcí sliny enzymy umožňující sializaci proteinů, např. trans-sialidázu? Je známo,

<sup>2</sup> Zadejte počet přidělených bodů.

jestli sialová kyselina nebo sialované glykoproteiny ovlivňují přenos patogenů přenašenými klíšťaty?

3. Na jakém principu je založena dealbuminizace séra použitím sefárových kuliček?
4. V biologických systémech se azidové skupiny vůbec nevyskytují? Jaká koncentrace azidu by již mohla být pro buňky toxická? Jaké jsou obecně nevýhody bioortogonální chemie, případně Click reakce.
5. Obrázky 22 a 23 zobrazují dvoudimenzionální SDS-PAGE značeného séra pomocí Coomassie Blue. Sérum je směsí různých proteinů. Jak si vysvětlujete to, že byl zabarven jenom jeden spot?
6. Přibližně 68 kDa sérový protein představuje nejsilnější signál ve vašich western blotech. Dá se odhadnout, o jaký protein se jedná?
7. Předpokládáte, že přítomnost sérových proteinů setrvá v klíštěcích buňkách po dobu více než 3-10 dnů. Je to obvyklé? Očekávala bych, že i když některé sérové proteiny mohou být internalizovány, po tak dlouhé době dochází k jejich rozložení. Prosím komentář.
8. Profil značených glykoproteinů z klíštěcích buněk po kultivaci se značenými sérovými glykoproteiny je srovnatelný s profilem samotných značených sérových glykoproteinů. Usuzuji z toho správně, že enzymy jako trans-sialidáza v buněčné linii IRE nejsou? Nebo je nepřítomnost nových sialovaných proteinů/bandů daná necitlivostí metody?
9. Pokuste se navrhnout experiment, dle kterého by bylo možné zjistit, jestli jsou za vazbu glykoproteinu na buňky IRE zodpovědné jejich sialoskupiny/glykanová část.

#### Chyby, na které si má dávat student v budoucnu pozor:

Vyhnout se zbytečnému opakování popisu jednotlivých experimentů a jejich principů v části výsledky i v části diskuse.

#### Případně další komentář oponenta:

Autor této práce jasně prokázal, že se dokáže bez problémů zorientovat v odborné literatuře a je schopen napsat odborný text. Zvládl široké spektrum experimentálních metod, které jsou přesně a detailně popsány, a tudíž mohou sloužit i jako protokol. Ráda bych vyzdvihla schopnost autora kriticky zhodnotit získané data a dát je do kontextu s dostupnými poznatky z literatury.

#### Závěr:

Konstatuji, že předložená diplomová práce splňuje všechny předpoklady kladené na diplomovou práci na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity a doporučuji ji k obhajobě.

Práci

d o p o r u č u j i \*

k obhajobě a navrhuji známku 1 .<sup>3</sup>

V Českých Budějovicích dne 9.1. 2017.



Mgr. Jaroslava Lieskovská, Ph.D.

<sup>3</sup> Je možné navrhnout známku s tím, že navržená známka může být upravená při obhajobě (pokud se oponent nezúčastní obhajoby, v posudku navržená známka se do výsledné známky nezapočítává)



## POSUDEK OPONENTA NA BAKALÁŘSKOU/DIPLOMOVOU\* PRÁCI

Autor práce: Bc. Jaroslav Ondruš

Název práce: Význam sialovaných glykoproteinů pro klíště *Ixodes ricinus*

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

Oponent práce: Mgr. Lenka Malinovská, Ph.D.

Pracoviště oponenta: CEITEC Masarykova univerzita

	Bodový rozsah hodnocení <sup>1</sup>	Body
<b>(1) FORMÁLNÍ POŽADAVKY</b>		
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	3
kvalita literární rešerše (množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru, aktuálnost zdrojů)	0–3	3
správnost používání citačních odkazů (přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratk časopisů)	0–3	3
grafická úprava textu a obrázků	0–3	2
úroveň souhrnu/anotace (i v angličtině)	0–3	3
jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví	0–3	2
správnost a úplnost popisů u obrázků a tabulek (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	0–3	3
Formální požadavky - body celkem		19
<b>(2) VĚCNÉ POŽADAVKY</b>		
výstižnost formulace cílů práce	0–3	3
splnění cílů práce	0–3	3
úroveň diskuse - interpretace výsledků, zařazení do kontextu v literatuře (absence diskuze výsledků s literaturou je nepřijatelná)	0–3	3

\* Nehodící se škrtněte

<sup>1</sup> Bodový rozsah hodnocení: 0-nevyhovující, 1-vyhovuje, 2-průměrné, 3-excelentní. U teoretických prací hodnotěte 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.

Věcné požadavky - body celkem		9
<b>(3) VĚCNÉ POŽADAVKY - EXPERIMENTÁLNÍ PRÁCE</b>		
logika postupu při vlastní výzkumné práci	0-3	3
schopnost porozumět výsledkům, jejich interpretace a jasný popis, srozumitelnost diskuze a závěrů	0-3	3
úplnost popisu použitých metodik	0-3	2
experimentální náročnost práce, samostatnost při práci	0-3	3
úroveň zpracování experimentálních dat	0-3	3
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		19
<b>(4) PRÁCE V CIZÍM JAZYCE</b>		
jazyková a stylistická úroveň	0-3	-
<b>CELKEM BODŮ (MAX/ZÍSKANÝCH)</b>	<b>51<sup>2</sup></b>	<b>47</b>

Připomínky a dotazy, na které má student/-ka reagovat při obhajobě:

- 1) Na straně 17 se píše: „V savčím systému existuje transferáza H, která je  $\alpha$ 1,2-fukosyltransferázou exprimovanou v prekurzorech červených krvinek, jež syntetizuje antigen H a to připojením  $\alpha$ 1,2-fukózy na terminální galaktózu oligosacharidů několika krvinkových glykanů. U jedinců s A nebo B krevní skupinou je tento antigen nasyntetizován a dále zpracován jinými glykosyltransferázami, ovšem u 0 chybí.“ Znamená to, že u krevní skupiny 0 není H antigen?
- 2) Na straně 17 se rovněž píše: „Fukóza může v některých případech být silně imunogenní, příkladem budiž krevní systém AB0.“ Znamená to, že v případě nekompatibility krevních skupin (AB0) je imunitní reakce vedena cíleně proti fukóze?
- 3) Prosím o detailnější schéma/fotografii krmítka pro *in vitro* feeding klíšťat.
- 4) V kapitole Materiál chybí u mnoha roztoků, označených jako pufrý, hodnota pH. Bylo pH těchto pufrů upravováno? Minimálně u zaostřovacího pufru pro SDS-PAGE bych to očekávala.
- 5) Je možné detekovat metabolicky vytvořené sialované glykoproteiny i u samců? Lze efektivně zavést ManNAz do klíštěte jinak než sáním krve?

<sup>2</sup> 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

6) Při „Click“ reakci používané v práci obecně reaguje sloučenina s azidovou skupinou se sloučeninou s alkynovou skupinou. Je možné, že se ve vajíčkách a larvách hromadí (a reaguje) nemetabolizovaný ManNAz?

Chyby, na které si má dávat student v budoucnu pozor:

1) Vzhledem k úctyhodnému rozsahu práce není počet překlepů přehnaně velký, přesto doporučuji příště věnovat více pozornosti kontrole textu, zvláště odborným termínům, zde by se překlepy neměly vyskytovat vůbec (viz např. „tularaémie“, „cytosklet deticek“, „proteniny“, „kyselina isalová“, Pribright vs. Pirbright atd.).

2) Pozor na dvojakost ve psaní odborných termínů (mannóza/manóza, *N*-acetylmannosamin/*N*-acetyl-mannosamin/*N*-Acetylmannosamin) a správné používání ustálených zkratek (m.n.m. vs. m n.m.)

3) Způsob citací (<sup>10</sup>, <sup>11</sup>, <sup>12</sup>) nepovažuji graficky za příliš šťastný.

Případně další komentář oponenta:

Z předložené diplomové práce je patrné, že jí student věnoval mnoho času a úsilí. Teoretická část přehledně shrnuje danou problematiku a je, jako celá práce, podepřená více než dostatečným množstvím citačních odkazů. Metodicky je práce pestrá, od náročné práce s živými organismy po biochemické metody charakterizace proteinů. Při řešení diplomové práce se podařilo získat zajímavé výsledky a její cíl („přispět do mozaiky poznání problematiky“) byl více než splněn.

Závěr:

Práci

d o p o r u č u j i / n e d o p o r u č u j i \*

k obhajobě a navrhuji známku

**A**

V Brně

dne 10.1.2017



.....  
podpis