

Posudek práce

předložené na Přírodovědecké fakultě JU

- posudek vedoucího
 bakalářské práce
- posudek oponenta
 diplomové práce

Autor: Aneta Sládková

Název práce: **Sledování dimerizace receptorů spřažených s G-proteiny pomocí dvoufotonové polarizační mikroskopie**

Studijní program a obor: Biologie

Rok odevzdání: 2017

Jméno a tituly vedoucího/opponenta: Mgr. Josef Lazar, Ph.D.

Pracoviště: MBU AV ČR, v.v.i., Nové Hradky

Kontaktní e-mail: lazar@nh.cas.cz

Odborná úroveň práce:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Věcné chyby:

- téměř žádné vzhledem k rozsahu přiměřený počet méně podstatné četné závažné

Výsledky:

- originální původní i převzaté netriviální kompilace citované z literatury opsané

Rozsah práce:

- veliký standardní dostatečný nedostatečný

Grafická, jazyková a formální úroveň:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Tiskové chyby:

- téměř žádné vzhledem k rozsahu a tématu přiměřený počet četné

Celková úroveň práce:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Slovní vyjádření, komentáře a připomínky vedoucího/oponenta:

Cílem předložené práce bylo zjistit, zda je možné techniku dvoufotonové polarizační mikroskopie (2PPM), vyvinutou pracovištěm školitele, využít k detekci dimerizace membránových proteinů. Významnou výhodou techniky 2PPM oproti jiným zobrazovacím technikám (např. FRET) je nutnost přítomnosti fluorescenční značky pouze v polovině přítomných molekul zkoumaného proteinu. Proto by tato technika měla umožnit pozorování dimerizace za podmínek bližších přirozeným než je v současnosti možné. K ověření tohoto nového přístupu byl zvolen metabotropní glutamátový receptor mGluR1, o němž je známo že tvoří dimery. V rámci bakalářské práce bylo usilováno o vytvoření konstruktů kodujících pouze samotný protein mGluR1, a to z konstruktů kodujících fluorescentně značený protein, mGluR1-YFP. Prostřednictvím polymerázové řetězové reakce byla připravena DNA očekávané velikosti, avšak její množství bylo přes optimalizaci reakčních podmínek malé a neumožnilo získání požadovaného plasmidu. Ten byl nakonec získán jako dar od spolupracující laboratoře. Oba konstrukty byly vpraveny do buněk savčích tkáňových kultur a transfekované buňky byly podrobeny zkoumání technikou 2PPM. Analýza zobrazovacích dat získaných zatím v omezeném rozsahu však nepodporuje schopnost techniky 2PPM detekovat přítomnost proteinových dimerů.

Během práce na projektu vyvinula Aneta Sládková úsilí dostatečné pro bakalářskou práci. Získala praktické zkušenosti s technikami molekulární biologie (PCR, elektroforéza, ligace, transformace, příprava plasmidů), buněčné biologie (pasážování, transfekce) i pokročilé optické mikroskopie. Její porozumění zkoumané problematice i použitým technikám je však zatím někdy nejisté, a samostatnost práce v laboratoři je proto zatím spíše omezená.

Vykonaná práce splňuje požadavky bakalářského studia a doporučuji ji ke schválení.

Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

Práci

doporučuji

nedoporučuji

uznat jako diplomovou/bakalářskou.

Navrhuji hodnocení stupněm:

výborně velmi dobře dobře neprospěl/a

Místo, datum a podpis vedoucího/oponenta: České Budějovice, 17.1.2018, Josef Lazar

Josef Lazar