



Přírodovědecká
fakulta
Faculty
of Science

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

POSUDEK OPONENTA NA BAKALÁŘSKOU/DIPLOMOVOU* PRÁCI

Autor práce: Bc. Vendula Flanderová

Název práce: Krystalizační studie lytických enzymů bakteriofágů LysAm24, LysSi3 a LysSt11

Školitel práce: Mgr. Tatyana Prudnikova, PhD.

Oponent práce: Mgr. Mário Benko, PhD.

Pracoviště oponenta: Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, Virologický ústav

	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	3
Kvalita literární rešerše (počet 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	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	3
Správnost a úplnost popisů u obrázků a tabulek (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	0-3	2
Formální požadavky – body celkem	21	18
(2) VĚCNÉ POŽADAVKY		
Splnění cílů práce	0-3	3
Schopnost porozumět výsledkům, jejich interpretace a jasný popis, srozumitelnost diskuze a závěrů	0-3	3
Úroveň diskuse – interpretace výsledků, zařazení do kontextu v literatuře (absence	0-3	2

* Nehodící se škrtněte

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

diskuze výsledků s literaturou je nepřijatelná)		
Logika postupu při vlastní výzkumné práci	0-3	3
Úplnost popisu použitých metodik	0-3	3
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	3
Věcné požadavky u experimentálních prací – body celkem	27	26
(3) PRÁCE V CIZÍM JAZYCE		
Jazyková a stylistická úroveň	0-3	
CELKEM BODŮ (MAX/ZÍSKANÝCH)	48/51²	44³

Komentář oponenta:

Predložená diplomová práca je vypracovaná na 64 stranách, pozostáva z ôsmych kapitol vrátane úvodu, literárneho prehľadu, materiálu a metód, výsledkov, diskusie a záveru. Práca zodpovedá štandardnému členeniu diplomovej práce a je doplnená o 22 obrázkov a samostatnú kapitolu prílohy na konci práce, ktorá obsahuje rozpis použitých kryštalizačných činidiel a 13 schématických tabuliek kryštalizačných platničiek.

V úvode práce autor vyzdvihuje dôležitosť enzýmov ako biokatalyzátorov so zameraním sa na lytické enzýmy bakteriálneho pôvodu a zdôrazňuje dôležitosť trojdimenzionálnej štruktúry proteínov, ktorá je nevyhnutná pre ich hlbšie štúdium. Ciele práce sú jasne a zrozumiteľne zadefinované v rámci úvodu práce.

V literárnom prehľade sú dôsledne popísané elementárne princípy kryštalizácie proteínov a Röntgenovej difrakcie, pričom celý priebeh difrakčného experimentu je popísaný chronologicky od počiatku až po zber a analýzu difrakčných dát. Na konci teoretického úvodu sú analyzované lytické enzýmy, konkrétne lytické enzýmy izolované z bakteriofágov LysAm24, LysSi3 a LysSt11.

V časti materiál a metódy je popísaný postup kryštalizácie enzýmov LysAm24, LysSi3 a LysSt11 pomocou metódy sediacej kvapky s využitím komerčného kryštalizačného skriningového kitu PEG/Ion 1 a PEG/Ion 2. Kryštalizačné experimenty sú schématicky znázornené na konci práce

² Vyberte jednu z hodnot: 48 bodů pro experimentální práce, 51 bodů pro experimentální práce v cizím jazyce

³ Zadejte počet přidělených bodů.

v časti prílohy, pričom každá sediaca kvapka pozostáva zo štyroch rôznych pomerov roztoku proteínu a precipitantu. Vzniknuté kryštály boli podrobené testovaniu, aby sa odlišili proteínové kryštály od anorganických. Proteínové kryštály boli následne analyzované pomocou rtg žiarenia na synchrotróne. Difrakčné dáta boli využité pri tvorbe 3D štruktúry lytických enzýmov s využitím programu VMD.

Výsledky a diskusia sú napísané na veľmi dobrej úrovni. V experimentálnej časti práce je popísaná kryštalizácia lytických enzýmov bakteriofágov LysAm24, LysSi3 a LysSt11, pričom na kryštalizáciu bolo použitých 96 rôznych kryštalizačných činidiel a 386 odlišných kryštalizačných podmienok, v chlade pri 4°C metódou sediacej kvapky. Celkovo sa podarilo počas kryštalizačných experimentov vykryštalizovať všetky tri lytické enzýmy. Kryštály boli podrobené rtg difrakčnej analýze, v prípade lytického enzýmu bakteriofága LysAm24 a LysSt11 difraktovali kryštály v rozlíšení 1,7 a 2Å, v prípade enzýmu LysSi3 difraktovali kryštály v rozlíšení 1,5Å. Pomocou metódy molekulárneho nahradenia bola vyriešená 3D štruktúra enzýmu LysSi3 vychádzajúca z homológnej štruktúry modelu 6ET6. V prípade zvyšných dvoch enzýmov je potrebná ďalšia optimalizácia kryštalizačných podmienok s cieľom získať kryštál, ktorý bude difraktovať vo väčšom rozlíšení.

Otázky:

1. Vykonalí ste na stanovenie vhodnej koncentrácie enzýmov pred samotnou kryštalizáciou test pomocou komerčných skriningových kitov (Pre-Crystallization Test)?
2. Testovali ste stabilitu enzýmov pomocou diferenčnej skenovacej fluorometrie (DSF) alebo Thermofluor analýzy?
3. Skúšali ste kryštalizovať aj pomocou metódy vysiacej kvapky, alebo pod olejom, prípadne v kapiláre?
4. Pipetovali ste kryštalizačné kvapky manuálne, alebo pomocou kryštalizačného robota?
5. Skúšali ste kryštalizovať enzýmy aj pri rôznych teplotách, alebo iba pri 4°C?
6. Akým spôsobom plánujete optimalizovať kryštalizačné podmienky v prípade enzýmov LysAm24 a LysSt11.

Připomínky a dotazy, na které má student/-ka reagovat při obhajobě. Chyby, na které si má dávat student v budoucnu pozor:

- V literárnom prehľade sú niektoré kapitoly zbytočne krátke (viď. 2.2; 2.6 a 2.7), odporúčal by som v budúcnosti pre prehľadnosť textu členiť ich ako podkapitoly.
- Naopak ciele práce sú zahrnuté v rámci úvodu práce, bolo by vhodné ich vyčleniť ako samostatnú kapitolu.
- Odporúčal by som používať v literárnom prehľade čo najviac aktuálnych zdrojov
- Je vhodné používať obrázky s čo najväčším rozlíšením, niektoré obrázky kryštálov sú príliš veľké, čím sa znižuje ich kontrast
- Popis pod obrázkami by mohol byť detailnejší
- V závere práce boli opísané difrakčné obrazce s nameraným rozlíšením 2Å pre obidva enzýmy LysAm24 a LysSi3, v prípade enzýmu LysSt11 → 1,5Å. Avšak difrakčné obrazce pre enzým LysSt11 boli namerané v rozlíšení 2 Å, v prípade enzýmu LysAm24 → 1,7 Å a pre enzým LysSi3 → 1,5 Å.

Závěr:

V závere môžem konštatovať, že predmetná práca spĺňa všetky náležitosti diplomovej práce a je napísaná na dobrej úrovni. Pripomienky a komentáre mali povahu predovšetkým formálneho charakteru. Ciele práce boli splnené, autor preukázal dostatočné znalosti z problematiky kryštalizácie lytických enzýmov, ako teoretické, tak aj experimentálne. Práca nevykazuje znaky plagiátorstva. Prácu hodnotím výslednou známku výborná (1).

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 **v ý b o r n ě (1) .⁴**

V Bratislave **dňa 8.1.2021**



⁴ Je možné navrhnout známku s tím, že navrhovaná známka môže byť upravená při obhajobě (pokud se oponent nezúčastní obhajoby, v posudku navrhovaná známka se do výsledné známky nezapočítává). Známky: výborně (1), velmi dobře (2), dobře (3), nevyhověl (4).